(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0073200
(43) 공개일자 2025년05월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 5/117 (2006.01) *A61K 51/04* (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 5/1024 (2013.01)
A61K 51/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7012384
(22) 출원일자(국제) 2023년05월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년04월16일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/063469
(87) 국제공개번호 WO 2024/061483
국제공개일자 2024년03월28일
(30) 우선권주장
22196630.2 2022년09월20일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
테크니쉐 유니베르시테트 뮌헨
독일, 디-80333 뮌헨, 아르시스슈트라쎄 21
유니베르씨타트 아우크스부르크
독일 86159 아우크스부르크 유니베르씨타트슈트라세 2
(72) 발명자
귄터, 토마스
독일 87656 게르마링겐 아우프키르허 슈트라세 4
홀츠라이트너, 나딘
독일 80992 뮌헨 난가-파르바트-슈트라세 38
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

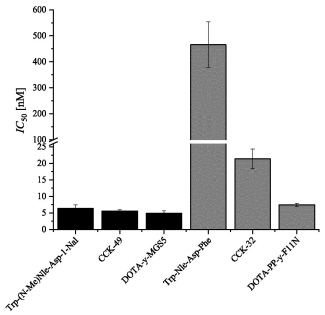
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **영상화 및 표적화된 방사선요법을 위한 신규한 미니가스트린-유래된 콜레시스토키닌 2 수용체 결합 분자**

(57) 요 약

본 발명은 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 테트라펩티드로서, 화학식 (I) Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4 (화학식 (I))에 의해 나타내어진 테트라펩티드 또는 그의 염에 관한 것이며, 여기서 Xaa1은 Trp, β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp, Phe, 1-Nal, 2-Nal, Tyr 또는 p-아미노-Phe이고, Xaa2는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산, 및 바람직하게는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는, 지방족 측쇄를 함유하는 N-메틸 아미노산이고, Xaa3은 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는 아미노산이고, Xaa4는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 또는 그의 아미드이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 51/088 (2020.05)
(72) 발명자
베스터, 한스 위르겐
독일 85301 슈바이텐키르헨 암 항 7
라파, 콘스탄틴
독일 60314 프랑크푸르트 암 마인 하나우어 란트슈트라세 21

명 세 서

청구범위

청구항 1

콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 테트라펩티드로서, 화학식 (I)에 의해 나타내어진 테트라펩티드 또는 그의 염:

Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4 (화학식 (I))

여기서

Xaa1은 Trp, β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp, Phe, 1-Nal, 2-Nal, Tyr 또는 p-아미노-Phe이고,

Xaa2는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산, 및 바람직하게는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는, 지방족 측쇄를 함유하는 N-메틸 아미노산이고,

Xaa3은 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는 아미노산이고,

Xaa4는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 또는 그의 아미드이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Xaa2가 (N-Me)Nle, (N-Me)Met, (N-Me)Ile, (N-Me)Leu, (N-Me)Val, (N-Me)Gly, (N-Me)Ala, (N-Me)Glu이고, 바람직하게는 (N-Me)Nle 또는 (N-Me)Met이고, 가장 바람직하게는 (N-Me)Nle인 테트라펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, Xaa3이 Asp, 이소아스파르테이트, Glu 또는 이소글루타민이고, 바람직하게는 Asp인 테트라펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Xaa4가 1-Nal, Phe, Trp, Tyr, 2-Nal, p-아미노-Phe 또는 상기 중 어느 하나의 아미드이고, 바람직하게는 1-Nal, Phe, Tyr 또는 상기 중 어느 하나의 아미드이고, 가장 바람직하게는 1-Nal 또는 Tyr 또는 1-Nal 또는 Tyr의 아미드인 테트라펩티드.

청구항 5

단일 분자 내에 하기를 포함하는 접합체:

(a) 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 테트라펩티드, 및

(b) 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성할 수 있는 1개 이상의 킬레이트화 기 또는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 함유하는 1개 이상의 킬레이트화 기.

청구항 6

제5항에 있어서, 킬레이트화 기가 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온의 존재 또는 부재 하의 DOTA 또는 DOTAGA이며, 여기서 DOTA 및 DOTAGA는 바람직하게는 그의 카르복실 기 중 하나로 아미드 결합을 통해 접합체의 나머지에 결합되는 것인 접합체.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 하기를 단일 분자 내에 추가로 포함하는 접합체:

(c) 하기로부터 선택된 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}:

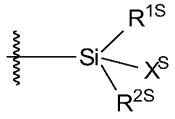
(i) 규소 원자 및 플루오린 원자를 포함하며, 여기서 플루오린 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, ^{19}F의 ^{18}F에 의한 동위원소 교환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있거나 또는 ^{18}F로 표지된 모이어티;

(ii) 규소 원자 및 히드록시 기를 포함하며, 여기서 히드록시 기는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, OH의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티; 및

(iii) 규소 원자 및 수소 원자를 포함하며, 여기서 수소 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, H의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티.

청구항 8

제7항에 있어서, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}가 하기 화학식 (S-1)의 기를 함유하는 것인 접합체 화합물:



(S-1)

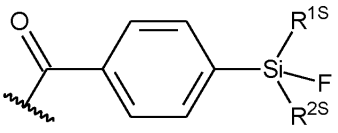
여기서

X^S는 F, OH 또는 H이고;

R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이다.

청구항 9

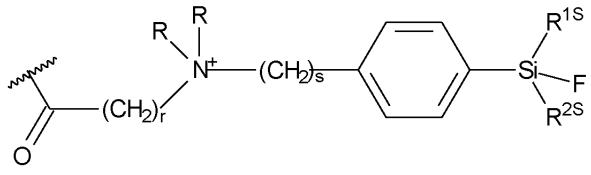
제7항에 있어서, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}가 화학식 (S-3) 내지 (S-7) 중 어느 하나에 의해 나타내어진 구조를 갖는 것인 접합체 화합물:



(S-3)

여기서

R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기임;

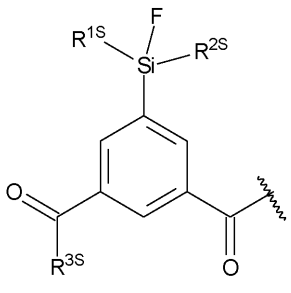


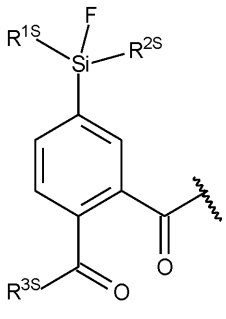
(S-4)

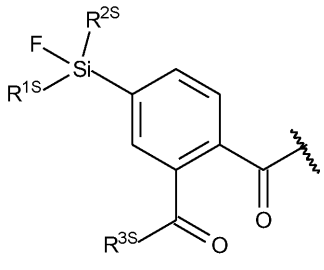
여기서 r은 1, 2 또는 3이고, $-(CH_2)_s-$에서의 s는 1 내지 6의 정수이고,

R 기는 독립적으로 H 또는 C_1 내지 C_6 알킬이고,

R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기임;


(S-5)


(S-6)


(S-7)

여기서:

R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고;

R^{3S}는 하기로부터 선택됨:

(i) -OH 또는 $-O^-$,

(ii) 당 모이어티 또는 아미노 당 모이어티,

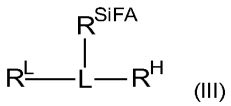
(iii) 아미노산 모이어티 또는 올리고펩티드 모이어티,

(iv) PEG 모이어티;

및 (ii), (iii) 및 (iv) 중 2종 이상의 조합.

청구항 10

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (III)에 의해 나타내어진 접합체:


(III)

여기서:

R^L은 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 함유할 수 있는, 제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 1개 이상의 킬레이트화 기이고;

L은 연결 모이어티이고;

R^H는 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 테트라펩티드이고;

R^{SiFA}는 존재하거나 또는 존재하지 않으며, 존재하는 경우에는, 제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같은 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티이다.

청구항 11

제10항에 있어서, 연결 모이어티가 D/L-디아미노프로피온산 (D/L-Dap), D/L-디아미노부티르산 (D/L-Dab), D/L-오르니틴 (D/L-Orn) 또는 D/L-리신 (D/L-Lys)을 포함하며, 여기서 SiFA는, 존재하는 경우에, 커플링 기 -NH-를 제공하는 이들 아미노산에 함유된 $-NH_2$ 기를 사용하여 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys에 접합되며, 여기서 $-NH_2$ 기의 1개의 수소 원자와의 결합이 SiFA와의 결합으로 대체되고,

여기서 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys는 바람직하게는 연결 모이어티의 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys가 R^L 및/또는 R^{SiFA}에 직접 연결되도록 위치하는 것인

접합체.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 연결 모이어티가 폴리에틸렌글리콜 (PEG), 바람직하게는 $(PEG)_{3-11}$을, 임의적으로 폴리-L/D-히드록시프롤린 (L/D-Hyp), 바람직하게는 $(Hyp)_{1-8}$, 및/또는 α- 또는 ɣ-glu, 바람직하게는 ɣ-glu와 함께 포함하며,

여기서 링커는 가장 바람직하게는 하기를 포함하는 것인 접합체:

y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$ 또는 y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$.

청구항 13

제5항 또는 제9항에 있어서, 접합체가 하기와 같이 나타내어지며:

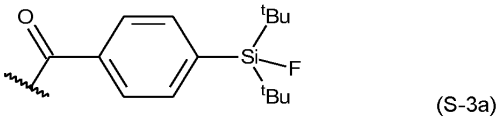
DOTA-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2,

DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-$(PEG)_7$-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2,

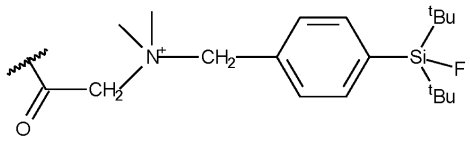
DOTA-dap(SiFA)-y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2,

DOTA-dap(SiFAlin)-y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2,

여기서 SiFA는 화학식 (S-3a)의 모이어티를 나타내고, SiFAlin은 화학식 (S-4a)의 모이어티를 나타내고:



(S-3a)



(S-4a)

여기서 DOTA는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 임의적으로 함유하는 것인

접합체.

청구항 14

화학식 (IV)에 의해 나타내어진, 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 접합체 화합물:

R^L-dap(R^{SiFA})-R^{GABA}-L-R^H (IV)

여기서:

R^{L}은 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 임의적으로 함유하는, DOTA 또는 DOTAGA이고;

dap(R^{SiFA})는 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}를 보유하는 dap 기이고;

R^{GABA}는 존재하거나 또는 존재하지 않으며, 존재하는 경우에는, 1개 이상의 γ-아미노부티르산 (GABA), 바람직하게는 $(GABA)_{1-3}$이고;

L은 적어도 5개, 바람직하게는 적어도 6개의 α- 또는 γ-glu, 가장 바람직하게는 6 내지 9개의 α- 또는 γ-glu를 포함하는 연결 모이어티이며, 여기서 γ-glu가 α-glu보다 바람직하고;

R^{H}는 Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2이거나 또는 그를 포함한다.

청구항 15

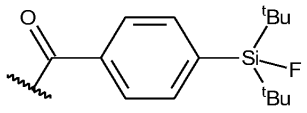
제14항에 있어서, 접합체가 하기와 같이 나타내어지며:

DOTAGA-dap(SiFA)-$(\gamma\text{-glu})_6$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2,

DOTAGA-dap(SiFA)-$(\alpha\text{-glu})_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2,

DOTA-dap(SiFA)-$(\gamma\text{-glu})_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2,

여기서 SiFA는 화학식 (S-3a)의 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티를 나타내고:



(S-3a)

여기서 DOTA 또는 DOTAGA는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 임의적으로 함유하는 것인

접합체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 테트라펩티드로서, 화학식 (I) Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4 (화학식 (I))에 의해 나타내어진 테트라펩티드 또는 그의 염에 관한 것이며, 여기서 Xaa1은 Trp, β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp, Phe, 1-Nal, 2-Nal, Tyr 또는 p-아미노-Phe이고, Xaa2는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산, 및 바람직하게는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는, 지방족 측쇄를 함유하는 N-메틸 아미노산이고, Xaa3은 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는 아미노산이고, Xaa4는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 또는 그의 아미드이다.

배 경 기 술

[0002] 본 명세서에는 특허 출원 및 제조업체의 매뉴얼을 포함한 다수의 문헌이 인용되어 있다. 이들 문헌의 개시내용은, 본 발명의 특허가능성과 관련없는 것으로 간주되지만, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 보다 구체적으로, 모든 참조된 문헌은 각각의 개별 문헌이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로 포함되는 것으로 지시된 것과 동일한 정도로 참조로 포함된다.

[0003] 신경내분비 신생물인, 수질성 갑상선암 (MTC)은 미국에서 전체 갑상선암의 1-2%를 차지하는 것으로 보고된다 [1]. 일반적으로, 갑상선암은 미국에서 새로 발생하는 전체 암 사례의 대략 3%를 차지하며, 이러한 이유로 MTC는 희귀병으로 간주된다 [2]. 다양한 스크리닝 방법 및 생검 기술을 통한 MTC 검출에서의 개선에도 불구하고, 평균 생존 기간이 여전히 그리 길지 않으며 (8.6 ± 7.6년), 특히 전이가 이미 시작된 경우에는 더욱 그러하다 [3-7].

[0004] MTC 환자 중 대략 70% 및 30%가 각각 산발성 및 유전성/가족성 유형을 앓는다 [8]. 유전성 MTC의 진단을 위해서는, DNA의 분자 분석을 통한 수용체 티로신 키나제 (RET) 원종양유전자 돌연변이의 검출이 적용된다. 이를 통해, MTC 발병의 위험이 있는 환자가 정기적으로 검사를 받을 수 있어, MTC 병변의 조기 검출을 가능하게 한다 [9,10].

[0005] 산발성 MTC의 진단은 통상적으로 세침 흡인 후에 이루어진다. 그의 신경내분비 기원을 고려하면, 칼시토닌의 생산이 이 종양의 특징적인 특색이다. 칼슘 또는 합성 가스트린 유사체인 펜타가스트린의 주입은 칼시토닌의 분비를, 특히 MTC 세포로부터의 분비를 자극한다 [9,11]. 따라서, 칼시토닌 수준의 상승은 MTC에 대한 강력한 지표이다. 그러나, 생화학적 시험은 단지 종양/전이의 존재를 지시할 뿐이며, 여기서 위치결정은 종종 불가능하다 [12]. 이들 스크리닝 방법을 보완하여, 양전자 방출 단층촬영/컴퓨터 단층촬영 (PET/CT)을 사용한 분자 영상화를 통해 종양 및 전이의 보다 우수한 조기 위치결정이 달성될 수 있다 [13,14].

[0006] 최근 발표된 MTC 영상화에 대한 EANM 진료 지침은 ^{68}Ga-표지된 소마토스타틴 유사체, [^{18}F]플루오로데옥시글루코스 ([^{18}F]FDG) 및 [^{18}F]플루오로디히드록시페닐알라닌 ([^{18}F]F-DOPA)을 권장한다 [15]. 후향적 분석에서, [^{18}F]F-DOPA PET/CT가 [^{18}F]FDG PET/CT (17%) 또는 ^{68}Ga-표지된 소마토스타틴 유사체를 사용하여 수행된 PET/CT (33%)와 비교하여 재발성 MTC를 갖는 환자에서 향상된 검출률 (72%)을 보였다 [16]. 흥미롭게도, [^{18}F]F-DOPA PET는 원발성 종양에 대해 우수한 민감도 (86%)를 나타내지만, 림프절 (LN) 및 원격 전이에 대해서는 각각 중간 (57%) 내지 낮은 (6%) 민감도를 나타낸다 [17]. 더욱이, 문헌의 최근 메타-분석에서 보고된 바와 같이, [^{18}F]F-DOPA PET 또는 PET/CT의 환자별 검출률이 재발성 MTC가 의심되는 환자에서 66% (95% 신뢰 구간, 58-74%)에 불과하다 [18].

[0007] 전이성 질환을 갖는 환자를 위한 치료 옵션은 여전히 제한적이다. 외부 빔 방사선 또는 통상적인 화학요법 어느 것도 충분한 치료 효율성을 제시하지 않았으며, 따라서 권장되지 않는다 [1,19,20]. 일반적인 형태의 갑상선암과 달리, MTC는 소포곁 세포의 악성 탈분화로부터 기원한다. 이들 세포는 아이오딘을 축적하지 않기 때문에, 방사성 아이오딘 요법이 치료 옵션이 되지 못한다 [21,22]. 이러한 이유로, 갑상선 전절제술 및 중앙 구역 경부림프절 청소술이 MTC의 사례에서 여전히 가장 빈번하게 수행된다 [1,23]. 그러나, 일반적으로, 국소 및 원격 전이가 일어난 환자의 10년 생존율은 각각 76% 및 40%였다 [6]. 티로신 키나제 억제제 예컨대 셀퍼카티닙, 반데타닙 또는 카보잔티닙이 (대부분 무진행) 생존기간을 연장시키는 것으로 제시된 바 있다 [1]. 그러나, 이 요법은 다양한 관련된 부작용 예컨대 특히 고혈압, 신장 독성 및 간독성과 연관된다 [1,24].

[0008] 지난 수십 년에 걸쳐, 핵 의학 분야는 그의 비-침습성 영상화 및 요법 기회로 인해 유력한 대안으로 부상하였다 [13,14]. 그에 따라, 상기에 언급된 스크리닝 방법을 보완하여, 분자 영상화를 통해 종양 및 전이의 위치결정이 이루어질 수 있었다. 1990년대에 소마토스타틴 수용체 아형 2 (sstr2)-특이적 리간드를 적용하는 소마토스타틴 수용체 섬광조영술 (SRS)을 통한 MTC의 진단이 최초로 달성되었다. 진단에서의 적절한 개선에도 불구하고, 많은 MTC-음성 스캔이, 특히 전이성 확산이 일어난 환자에게서, 여전히 보고되었다 [25]. 이러한 이유로, 특히 진행된 질환 및 전이에 대해, MTC 표적화를 위한 신규한 옵션이 필요하였다.

[0009] 1997년에 루비(*Reubi*) 등에 의해 보고된 바와 같이, MTC는 콜레시스토키닌 수용체 A (CCK-A) 및 B (CCK-B)를 과다발현하며, 후자는 또한 가스트린 수용체 또는 CCK-2 수용체 (CCK-2R)로도 공지되어 있다 [26]. 2006년에, 고타트(*Gotthardt*) 등은 MTC-유래된 전이에서 CCK-2R 발현이 sstr2 발현보다 훨씬 더 높다는 것을 제시하였다 (각각 94% 대 40%) [27]. 그 이후로, 내인성 리간드 CCK 또는 미니가스트린에 기반하는 CCK-2R-특이적 트레이서의 개발이 증가하였다 [28,29].

발명의 내용

[0010] 상기 내용을 고려하면, MTC와 같은 CCK-2R-발현 암을 진단하고 치료하기 위한 추가의 옵션이 계속해서 필요하다. 이러한 필요가 본 발명에 의해 해결된다.

[0011] 따라서, 제1 측면에서, 본 발명은 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 테트라펩티드로서, 화학식 (I) Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4 (화학식 (I))에 의해 나타내어진 테트라펩티드 또는 그의 염에 관한 것이며, 여기서 Xaa1은 Trp, β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp, Phe, 1-Nal, 2-Nal, Tyr 또는 p-아미노-Phe이고, Xaa2는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산, 및 바람직하게는 N-메틸 기가 알파 탄

소에 위치하는, 지방족 측쇄를 함유하는 N-메틸 아미노산이고, Xaa3은 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는 아미노산이고, Xaa4는 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 또는 그의 아미드이다.

[0012] 본원에 사용된 용어 "테트라펩티드"는 펩티드 결합을 통해 공유 연결된 4개의 아미노산으로 이루어진 펩티드를 나타낸다.

[0013] 테트라펩티드의 염은 바람직하게는 제약상 허용되는 염이다.

[0014] 제1 아미노산은 Xaa1로 지정되고, Trp, β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp, Phe, 1-Nal, 2-Nal, Tyr 또는 p-아미노-Phe일 수 있다. H 원자 중 1개 이상이라 함은 바람직하게는 1 또는 2개의 H 원자이고, 바람직하게는 1개의 H 원자이다. 치환기 중에서도 C_1 내지 C_3 알킬이 바람직하고, C_1 내지 C_3 알킬은 바람직하게는 에틸 또는 메틸, 가장 바람직하게는 메틸이다.

[0015] 제2 아미노산은 Xaa2로 지정되고, N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산, 및 바람직하게는 N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는, 지방족 측쇄를 함유하는 N-메틸 아미노산일 수 있다. N-메틸 아미노산은 바람직하게는 22종의 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산 (알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린, 셀레노시스테인 및 피롤리신 (피롤리신은 인간 단백질 합성에 사용되지 않음을 주목함))으로부터 유래된다. N-메틸 기가 알파 탄소에 위치하는 N-메틸 아미노산은 이들 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산에 기반하여, 알파 C 원자의 NH_2 기를 N-메틸 기로 대체함으로써 수득될 수 있다. 22종의 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산 중에서, 알라닌, 이소류신, 류신, 프롤린, 발린 및 메티오닌이 지방족 측쇄를 갖는다. 지방족 측쇄를 갖는 아미노산은 본원에서 또한 지방족 아미노산이라고도 지칭된다. 지방족 아미노산은 비극성이며 소수성이다.

[0016] 유기 화학에서, 알파 탄소 (Cα)는 관능기 - 예컨대 22종의 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산의 경우에 COOH 기에 부착된 첫 번째 탄소 원자를 지칭한다. 따라서, 이러한 아미노산은 또한 알파-아미노산이라고도 한다. 두 번째 탄소 원자는 베타 탄소 (Cβ)라 칭해지며, 명명 체계는 그리스어 알파벳 순서로 계속된다.

[0017] 제3 아미노산은 Xaa3으로 지정되고, 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는 아미노산일 수 있다. 아미노산 Xaa3은 바람직하게는 알파-아미노산이다. 22종의 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산 중에서, 2종의 아미노산, 즉, 아스파르테이트 (Asp) 및 글루탐산 또는 글루타메이트 (Glu)가 중성 pH에서 산성 측쇄를 갖는다.

[0018] 제4 아미노산은 Xaa4로 지정되고, 방향족 측쇄를 갖는 아미노산 또는 그의 아미드일 수 있다. 22종의 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산 중에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 티로신이 방향족 측쇄를 갖는 아미노산이다. 히스티딘도 방향족 고리를 함유하지만, 그의 염기성 특성으로 인해 관련 기술분야에서, 그리고 또한 본원에서 주로 극성 아미노산 또는 지방족 측쇄를 함유하는 아미노산으로 분류된다. 방향족 측쇄를 갖는 아미노산의 아미드의 경우에, 테트라펩티드의 정상적인 C-말단은 $-NH_2$이다. 이러한 아미드는 본원에서 또한 Xaa4-NH2로도 지칭된다. 테트라펩티드 Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4 (화학식 (I))의 C-말단은 바람직하게는 아미드이다. 이러한 경우에, 테트라펩티드는 Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4-NH2로 나타내어질 수 있다.

[0019] 본 발명의 테트라펩티드는 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합한다. CCK-2R은 또한 콜레시스토키닌 B 수용체로도 공지되어 있다. 이 단백질은 뇌 및 위장관의 조절 펩티드인 가스트린 및 콜레시스토키닌 (CCK)에 대한 G 단백질-커플링 수용체이다. 이 단백질은, 황산화 및 비황산화된 CCK 유사체 둘 다에 대해 높은 친화도를 가지며 주로 중추 신경계 및 위장관에서 발견되는 B형 가스트린 수용체이다. 인트론을 포함하는 미스스플라이싱된 전사체 변이체가 결장직장, 췌장 종양 및 갑상선암 (특히 수질성 갑상선암 (MTC)) 세포에서 관찰되었다.

[0020] 테트라펩티드는 바람직하게는 CCK-2R에 특이적으로 결합한다. 특이적 결합이란, 결합 분자가 CCK-2R 이외의 다른 단백질 또는 펩티드에는 본질적으로 결합하지 않거나 또는 결합하지 않는다는 것을 나타낸다. 특히, 결합 분자가 CCK-2R 이외의 다른 콜레시스토키닌 수용체에는 결합할 수 없는 것이 바람직하다. 테트라펩티드는, 예를 들어, 단지 연구 목적으로 적합하다. 예를 들어, 테트라펩티드는 면역검정, 예컨대 ELISA 또는 웨스턴 블롯에서 CCK-2R을 포착하기 위해 사용될 수 있다. 면역검정은 샘플 (예를 들어, 용액)에서의 CCK-2R의 존재 또는 농도를 측정할 수 있는 생화학적 시험이다. 본원 하기에서 추가로 설명될 것처럼, 테트라펩티드는 CCK-2R의 발현과 연관된 질환에 대한 의학적 및 진단학적 적용에 특히 적합하다.

[0021] 첨부된 실시예로부터 알 수 있는 바와 같이, 본 발명의 제1 측면의 테트라펩티드는 7개의 아미노산을 갖는 선행 기술의 CCK-R2 결합제 미니가스트린의 4개의 N-말단 아미노산, 즉, Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal 모티프와 동일하거나 또는 매우 유사하다. 높은 CCK-2R 친화도를 위해 미니가스트린의 단지 4개의 N-말단 아미노산 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2만이 필요하다는 발견은 놀라웠으며, 유리하게도 CCK-R2의 보다 작은 결합제를 초래한다. F11N을 포함한, 많은 선행 기술의 CCK-R2 결합제가 7개의 아미노산으로 이루어진다는 것이 주목된다. F11N의 4개의 N-말단 아미노산은 H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2와 밀접한 관련이 있지만, 높은 CCK-2R 친화도를 제시하지 않았다. 따라서, 테트라펩티드의 특히 Xaa2 위치에서의 (N-Me) 아미노산이 CCK-R2 결합을 보장하는데 있어서 중요한 것으로 생각된다. 본 발명자들이 아는 한, 4개의 아미노산으로만 이루어진 펩티드성 고친화도 CCK-2R 리간드는 선행 기술로부터 공지되어 있지 않다. 또한 첨부된 실시예에서, 테트라펩티드가 방사성 또는 비방사성 양이온과 복합체를 형성할 수 있는 킬레이터와 함께 PEG 쇄와 같은 링커 모이어티에 연결될 때에도 그의 높은 CCK-2R 친화도가 유지된다는 것이 제시된다. 이러한 이유로, 테트라펩티드는 단독으로 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 또한 진단학적으로 또는 의학적으로 유용한 추가의 CCK-2R 결합 화합물의 설계에서 핵심 요소가 될 수도 있다.

[0022] 본 발명의 제1 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, Xaa1은 Trp이다.

[0023] 첨부된 실시예에 의해, Xaa1 위치에서의 Trp가 CCK-2R에 대해 가장 높은 결합 친화도를 제시한다는 것이 밝혀졌다. β-(3-벤조티에닐)-알라닌, 및 1H-인돌-3-일의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 Trp는 Trp와 매우 유사하며, 따라서 이 또한 작용할 것이라고 추정된다.

[0024] 또한, 본 발명의 제1 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, Xaa2는 (N-Me)Nle, (N-Me)Met, (N-Me)Ile, (N-Me)Leu, (N-Me)Val, (N-Me)Gly, (N-Me)Ala, (N-Me)Glu이고, 바람직하게는 (N-Me)Nle 또는 (N-Me)Met이고, 가장 바람직하게는 (N-Me)Nle이다.

[0025] 첨부된 실시예는 미니가스트린의 4개의 N-말단 아미노산과 동일하거나 또는 매우 유사한 테트라펩티드를 사용한 시험을 통해, Xaa2 위치에서의 (N-Me)Nle가 CCK-2R에 대해 가장 높은 결합 친화도를 제시한다는 것을 밝혀내었다. (N-Me)Ile, (N-Me)Leu, (N-Me)Val, (N-Me)Gly, (N-Me)Ala, (N-Me)Glu가 (N-Me)Nle와 유사하고, (N-Me)Met가 (N-Me)Nle와 매우 유사하기 때문에, 특히 이들 대체물이 (N-Me)Nle 대신에 사용될 수 있는 것으로 생각된다.

[0026] 본 발명의 제1 측면의 추가의 바람직한 실시양태에 따르면, Xaa3은 Asp, 이소아스파르테이트, Glu 또는 이소글루타민이고, 바람직하게는 Asp이다.

[0027] 첨부된 실시예는 또한 미니가스트린의 4개의 N-말단 아미노산과 동일하거나 또는 매우 유사한 다양한 테트라펩티드를 사용한 시험을 통해, Xaa3 위치에서의 Asp가 CCK-2R에 대해 가장 높은 결합 친화도를 제시한다는 것을 밝혀내었다. 이소아스파르테이트, Glu 또는 이소글루타민이 Asp와 매우 유사하기 때문에, 특히 이들 대체물이 Asp 대신에 사용될 수 있는 것으로 생각된다. 대체물 중에서도 Glu가 바람직한데, 그 이유는 단백질성 아미노산 또는 단백질생성 아미노산이기 때문이다.

[0028] 본 발명의 제1 측면의 또 다른 추가의 바람직한 실시양태에 따르면, Xaa4는 1-Nal, Phe, Trp, Tyr, 2-Nal 또는 아미노-Phe이고, 바람직하게는 1-Nal, Phe, Tyr 또는 상기 중 어느 하나의 아미드이고, 가장 바람직하게는 1-Nal 또는 Tyr 또는 1-Nal 또는 Tyr의 아미드이다.

[0029] 첨부된 실시예는 또한 미니가스트린의 4개의 N-말단 아미노산과 동일하거나 또는 매우 유사한 테트라펩티드를 사용한 시험을 통해, Xaa4 위치에서의 1-Nal 또는 Tyr이 CCK-2R에 대해 가장 높은 결합 친화도를 제시한다는 것을 밝혀내었다. Phe, Trp, 2-Nal 및 아미노-Phe가 1-Nal 또는 Tyr과 매우 유사하기 때문에, 특히 이들 대체물이 1-Nal 또는 Tyr 대신에 사용될 수 있는 것으로 생각된다.

[0030] 1-Nal, Phe, Trp, Tyr 또는 2-Nal 및 파라-아미노-Phe 뿐만 아니라 그의 아미드는 모두 치환기로서 H 원자를 갖는 방향족 고리 측쇄가 발견될 수 있는 아미노산이다. 따라서, Xaa4는 또한 1-Nal, Phe, Trp, Tyr 또는 2-Nal, p-아미노-Phe 또는 그의 아미드의 유도체로서, 여기서 측쇄 방향족 고리의 H 원자 중 1개 이상이 C_1 내지 C_3 알킬, -OH, -SH, -F, 및 -Cl로부터 각각의 H 원자에 대해 독립적으로 선택된 치환기로 대체된 유도체일 수 있다. H 원자 중 1개 이상이라 함은 바람직하게는 1 또는 2개의 H 원자이고, 바람직하게는 1개의 H 원자이다.

치환기 중에서도 C_1 내지 C_3 알킬이 바람직하고, C_1 내지 C_3 알킬은 바람직하게는 에틸 또는 메틸, 가장 바람직하게는 메틸이다.

[0031] 본 발명의 제1 측면의 또 다른 바람직한 실시양태에 따르면, 테트라펩티드는 100 nM 이하, 바람직하게는 20 nM 이하, 가장 바람직하게는 7.5 nM 이하의 반수-최대 억제 농도 (IC_{50})로서 기술된 CCK-2R 결합 친화도를 갖는다.

[0032] 미니가스트린의 4개의 N-말단 아미노산과 동일한 테트라펩티드가 CCK-2R에 대해 6.4 ± 1.0 nM의 IC_{50}을 나타낸다는 것이 첨부된 실시예의 표 2에 제시되어 있다. 심지어 테트라펩티드 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Phe-NH_2 및 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Tyr-NH_2는 CCK-2R에 대해 4.5 ± 0.6 nM 및 5.7 ± 0.5 nM의 IC_{50}을 나타내어, 약간 더 우수하였다. 테트라펩티드 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Trp-NH_2는 18.8 ± 0.5 nM의 IC_{50}을, 그리고 테트라펩티드 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-2-Nal-NH_2는 102 ± 9 nM의 IC_{50}을 여전히 유지하였다.

[0033] 이들 특정한 시험된 펩티드는 상기 바람직한 실시양태의 범위에 포함되며, 이러한 바람직한 실시양태의 IC_{50} 값이 예시된 테트라펩티드에 의해 정확히 뒷받침된다는 것을 제시한다.

[0034] 제2 측면에서, 본 발명은 단일 분자 내에 하기를 포함하는 접합체에 관한 것이다:

[0035] (a) 본 발명의 제1 측면의 테트라펩티드, 및 (b) 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성할 수 있는 1개 이상의 킬레이트화 기 또는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 함유하는 1개 이상의 킬레이트화 기.

[0036] 1개 이상의 킬레이트화 기는 바람직하게는 1 또는 2개의 킬레이트화 기, 가장 바람직하게는 1개의 킬레이트화 기이다.

[0037] 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성할 수 있는 킬레이트화 기란, 킬레이트화 기가 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성하고 있지는 않지만, 여전히 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성할 수 있는 상태를 지칭한다. 이러한 경우에, 비방사성 또는 방사성 양이온은 본 발명의 제2 측면의 접합체의 일부가 아니다.

[0038] 그에 반해, 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 함유하는 킬레이트화 기에서는, 비방사성 또는 방사성 양이온이 킬레이트화 기와 복합체를 형성하고 있으므로, 비방사성 또는 방사성 양이온이 본 발명의 제2 측면의 접합체의 일부이다.

[0039] 적합한 킬레이트화 기가 유래될 수 있는 다양한 킬레이트화 작용제가 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 본 발명과 관련하여 사용될 수 있다. 킬레이트화 기로서 작용하기에 적합한, 금속- 또는 양이온-킬레이트화 작용제, 예를 들어 대환식 또는 비환식 화합물이 여러 제조업체로부터 입수가능하다. 수많은 킬레이트화 작용제가 통상의 기술자에 의해 규격품 방식으로 추가의 수고스러움 없이 사용될 수 있다는 것이 이해될 것이다. 추가로, 킬레이트화 기가 주어진 양이온과 킬레이트를 형성하는데 있어서 적합성을 갖기 위해서는, 킬레이트화 기가 대상 양이온을 포함하는 킬레이트 복합체에서 킬레이트화된 리간드를 제공할 수 있어야 하며, 킬레이트화 기가 킬레이트 복합체에서 양이온의 유일한 리간드를 제공하지는 않는다는 것이 이해될 것이다. 따라서, 킬레이트화 기가 킬레이트화된 방사성 또는 비방사성 양이온을 함유한다면, 양이온은 복합체 양이온, 예를 들어 킬레이트화 기 이외의 추가의 배위된 리간드, 예컨대 옥소 리간드를 보유하는 금속 이온일 수 있다.

[0040] 예를 들어, 킬레이트화 기는 (i) 8 내지 20개의 고리 원자를 가지며, 그 중 2개 이상, 바람직하게는 3개 이상이 산소 원자 및 질소 원자로부터 선택된 것인 대환식 고리 구조; 및 (ii) 8 내지 20개의 주쇄 원자를 가지며, 그 중 2개 이상, 바람직하게는 3개 이상이 산소 원자 및 질소 원자로부터 선택된 헤테로원자인 비환식, 개방된 쇄 킬레이트화 구조 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 제2 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 킬레이트화 기는 비스(카르복시메틸)-1,4,8,11-테트라아자비시클로[6.6.2]헥사데칸 (CBTE2a), 시클로헥실-1,2-디아민테트라아세트산 (CDTA), 4-(1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데스-1-일)-메틸벤조산 (CPTA), N'-[5-[아세틸(히드록시)아미노]펜틸]-N-[5-[[4-[5-아미노펜틸-(히드록시)아미노]-4-옥소부타노일]아미노]펜틸]-N-히드록시부탄디아미드 (DFO), 4,11-비스(카르복시메틸)-1,4,8,11-테트라아자비시클로[6.6.2]헥사데칸 (DO2A), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-N,N',N",N"'-테트라아세트산 (DOTA), 2-[1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-4,7,10-트리아세트산]-펜탄디오산 (DOTAGA 또는 DOTA-GA), N,N'-디피리독실에틸렌디아민-N,N'-디아세테이트-5,5'-비스(포스페이트) (DPDP), 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 에틸렌디아민-N,N'-테트라아세트산 (EDTA), 에틸렌글리콜-O,O-비스(2-아미노에틸)-N,N,N',N'-테트라아

세트산 (EGTA), N,N-비스(히드록시벤질)-에틸렌디아민-N,N'-디아세트산 (HBED), 히드록시에틸디아민트리아세트산 (HEDTA), 1-(p-니트로벤질)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-4,7,10-트리아세테이트 (HP-DOA3), 6-히드라지닐-N-메틸피리딘-3-카르복스아미드 (HYNIC), 1,4,7-트리아자시클로노난-1-숙신산-4,7-디아세트산 (NODASA), 1-(1-카르복시-3-카르복시프로필)-4,7-(카르복시)-1,4,7-트리아자시클로노난 (NODAGA), 1,4,7-트리아자시클로노난 트리아세트산 (NOTA), 4,11-비스(카르복시메틸)-1,4,8,11-테트라아자비시클로[6.6.2]헥사데칸 (TE2A), 1,4,8,11-테트라아자시클로도데칸-1,4,8,11-테트라아세트산 (TETA), 터피리딘-비스(메틸렌아민) 테트라아세트산 (TMT), 1,4,7,10-테트라아자시클로트리데칸-N,N',N",N"'-테트라아세트산 (TRITA), 및 트리에틸렌테트라아민헥사아세트산 (TTHA), N,N'-비스[(6-카르복시-2-피리딘)메틸]-4,13-디아자-18-크라운-6 (H_2macropa), 4-아미노-4-{2-[(3-히드록시-1,6-디메틸-4-옥소-1,4-디히드로-피리딘-2-일메틸)-카르바모일]-에틸} 헵탄디오산 비스-[(3-히드록시-1,6-디메틸-4-옥소-1,4-디히드로-피리딘-2-일메틸)-아미드] (THP), 1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리스[메틸렌(2-카르복시에틸)포스핀산 (TRAP), 2-(4,7,10-트리스(2-아미노-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1-일)아세트산 (DO3AM), 및 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라키스[메틸렌(2-카르복시에틸포스핀산)] (DOTPI), S-2-(4-이소티오시아네이토벤질)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸 테트라아세트산, 메르캅토아세틸-트리세린 (mas_3), 히드라지노니코틴산 (HYNIC) 및 N4 킬레이터로부터 선택된 킬레이트화 작용제로부터 유래될 수 있는 기이다. 킬레이트화 기는 전형적으로 상기에 언급된 킬레이트화 작용제 중 하나의 관능기, 예를 들어 카르복실 기를 사용하여 제공되어, 킬레이트화 기를 함유하는 접합체의 나머지와 결합, 예를 들어 아미드 결합을 형성한다.

[0042] DOTA, DOTAGA, DOTAM, DO3AM, NOTA 및 NODAGA가 보다 바람직하다.

[0043] 통상의 기술자에 의해 이해될 것처럼, 본 발명의 접합체의 킬레이트화 기는 편의상 상기에 열거된 킬레이트화 작용제로부터, 킬레이트화 기를 화합물의 나머지에 부착시키는, 예를 들어 -C(O)-, -NH-, -S- 및 -O-로부터 선택된 커플링 기를 제공하는 킬레이트화 작용제에 함유된 관능기, 예컨대 카르복실산 기, 아미드 기, 아미노 기, 히드록시 기, 또는 티올 관능기를 사용하여 유래될 수 있다. 바람직하게는, 카르복실산 기를 사용하여 커플링 기 -C(O)- (카르보닐)를 제공함으로써 아미드 결합을 형성한다. 커플링 기는 접합체, 예컨대 테트라펩티드 그 자체에 포함된 추가의 상보적인 커플링 기에 공유 연결될 수 있으므로, 2개의 커플링 기가 조합되어 결합 단위, 예컨대 아미드 결합 -C(O)-NH-를 형성한다.

[0044] 대안적으로, 통상의 기술자에 의해 이해될 것처럼, 본 발명의 접합체의 킬레이트화 기는 편의상 상기에 열거된 킬레이트화 작용제로부터, 접합체의 다른 부분, 바람직하게는 테트라펩티드 또는 킬레이트화 기와 테트라펩티드 사이의 링커와 화학 결합을 형성할 수 있는 추가의 관능기의 도입 또는 그러한 관능기를 갖는 추가의 기의 도입에 의해, 예컨대 아민에 연결될 수 있는 이소티오시아네이트를 갖는 추가의 잔기로 변형된 킬레이터로부터 유래될 수 있다. 통상의 기술자에 의해 이해될 것처럼, 전형적으로 "생체접합 전략"으로서 요약되는, 그 외 다른 접합 전략이 또한 본 발명의 접합체의 킬레이트화 기를 연결하는데 사용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 제2 측면의 추가의 바람직한 실시양태에 따르면, 킬레이트화 기는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온의 존재 또는 부재 하에 DOTA 또는 DOTAGA로부터 유래될 수 있는 기이며, 여기서 DOTA 및 DOTAGA는 바람직하게는 그의 카르복실 기 중 하나로 아미드 결합을 통해 접합체의 나머지에 결합된다.

[0046] 아민은 테트라펩티드 내의 아민 (예를 들어 아미노산의 N-말단 아민 기 또는 측쇄 아민) 또는 킬레이트화 기와 테트라펩티드를 연결하는 링커 내의 아민일 수 있다.

[0047] 본 발명의 제2 측면의 또 다른 바람직한 실시양태에 따르면, 방사성 또는 비방사성 양이온은 ^{43}Sc, ^{44}Sc, ^{47}Sc, ^{51}Cr, ^{52m}Mn, ^{55}Co, ^{57}Co, ^{58}Co, ^{52}Fe, ^{56}Ni, ^{57}Ni, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{66}Ga, ^{68}Ga, ^{67}Ga, ^{89}Zr, ^{90}Y, ^{86}Y, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ^{97}Ru, ^{105}Rh, ^{109}Pd, ^{111}Ag, ^{110m}In, ^{111}In, ^{113m}In, ^{114m}In, ^{117m}Sn, ^{121}Sn, ^{127}Te, ^{142}Pr, ^{143}Pr, ^{147}Nd, ^{149}Gd, ^{149}Pm, ^{151}Pm, ^{149}Tb, ^{152}Tb, ^{155}Tb, ^{153}Sm, ^{156}Eu, ^{157}Gd, ^{155}Tb, ^{161}Tb, ^{164}Tb, ^{161}Ho, ^{166}Ho, ^{157}Dy, ^{165}Dy, ^{166}Dy, ^{160}Er, ^{165}Er, ^{169}Er, ^{171}Er, ^{166}Yb, ^{169}Yb, ^{175}Yb, ^{167}Tm, ^{172}Tm, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{186g}Re, ^{188}Re, ^{188}W, ^{191}Pt, ^{195m}Pt, ^{194}Ir, ^{197}Hg, ^{198}Au, ^{199}Au, ^{212}Pb, ^{203}Pb, ^{211}At, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{223}Ra, ^{224}Ra, ^{225}Ac, ^{226}Th 및 ^{227}Th의 양이온, 및 그의 비방사성 동위원소의 양이온으로부터 선택되거나, 또는 ^{18}F 또는 ^{19}F를 포함하는 양이온성 분자, 예컨대 ^{18}F-$[AlF]^{2+}$ 또는 ^{18}F-$[ScF]^{2+}$이다.

[0048] 상기 양이온 군 중에서, 양이온은 바람직하게는 ^{68}Ga, ^{90}Y 및 ^{177}Lu의 방사성 양이온 및 Ga, Y 또는 Lu의 비방사

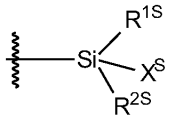
성 양이온으로부터 선택된다.

[0049] ^{68}Ga는 제약 분자를 위한 트레이서로서 빈번하게 사용된다. ^{90}Y는 다양한 종양을 치료하는 잠재력을 갖지만, 간세포성 암종 (HCC), 백혈병, 및 림프종의 치료에서 중요한 역할을 한다. ^{177}Lu는 관련 기술분야에서 항암 요법 또는 섬광조영술 (의학 영상화)을 목적으로 하는, 제약 분자의 방사성표지를 위해 사용된다.

[0050] 본 발명의 제2 측면의 또 다른 바람직한 실시양태에 따르면, 접합체는 (c) 하기로부터 선택된 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}를 단일 분자 내에 추가로 포함한다: (i) 규소 원자 및 플루오린 원자를 포함하며, 여기서 플루오린 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, ^{19}F의 ^{18}F에 의한 동위원소 교환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있거나 또는 ^{18}F로 표지된 모이어티; (ii) 규소 원자 및 히드록시 기를 포함하며, 여기서 히드록시 기는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, OH의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티; 및 (iii) 규소 원자 및 수소 원자를 포함하며, 여기서 수소 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, H의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티.

[0051] 간단히 규소 플루오라이드 수용체 모이어티라고도 지칭되는, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}의 사용은 ^{18}F 표지를 도입하기 위한 매력적인 접근법을 나타낸다. 예를 들어, 문헌 [Lindner et al., Bioconjugate Chemistry 25, 738-749 (2014)]에 규소 플루오라이드 수용체 모이어티가 기재되어 있다. 규소계 플루오라이드 수용체를 사용하여 ^{18}F-표지된 화합물이 ^{18}F-^{19}F 동위원소 교환 반응에 의해, 뿐만 아니라 예를 들어 각각 문헌 [Mu L et al., Angew Chem Int Ed Engl. 2008;47(26):4922-5] 및 [Hoehne A et al., Bioconjug Chem. 2008 Sep;19(9):1871-9]에서의 ^{18}F-OH 및 또한 ^{18}F-H 치환 반응에 의해 제조될 수 있다는 것이 문헌에서 입증된 바 있다. 그러나, 규소-플루오라이드 결합을 보존하기 위해, 규소계 플루오라이드 수용체는 빈번하게 입체적으로 복잡한 기, 예를 들어 Si(tert-부틸)$_2$X (여기서 X는 F 또는 ^{18}F임)에서처럼 Si-F 및 Si-^{18}F 규소 기에 2개의 tert-부틸 기를 필요로 한다. 이는 또한 규소 플루오라이드 수용체가 큰 소수성을 갖도록 한다. 표적 분자, 특히 CCK-2R인 표적 단백질과의 결합과 관련하여, 규소계 플루오라이드 수용체에 의해 제공되는 소수성 모이어티는 문헌 [Zhang et al., Journal of the American Chemical Society 132, 12711-12716 (2010)]에 기재되어 있는 방사선-진단 또는 -치료용 화합물과 소수성 포켓의 상호작용을 확립하기 위한 목적으로 활용될 수 있다. 그러나, 결합 전에, 친지성이 보다 높은 수준으로 분자에 도입되는 것은 생체내에서 적합한 생체분포가 이루어지는, 즉, 비-표적 조직에서의 비특이적 결합이 적은 방사성제약의 개발과 관련하여 심각한 문제를 제기한다.

[0052] 본 발명의 제2 측면의 보다 바람직한 실시양태에 따르면, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}는 하기 화학식 (S-1)의 기를 함유한다:



(S-1)

[0053]

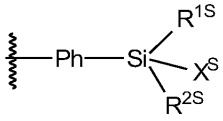
[0054] 여기서

[0055] X^S는 F, OH 또는 H, 바람직하게는 F이고;

[0056] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다.

[0057] 물결선은 접합체 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다.

[0058] 보다 바람직하게는, 모이어티 R^{SiFA}는 화학식 (S-2)의 기를 함유한다:



(S-2)

[0059]

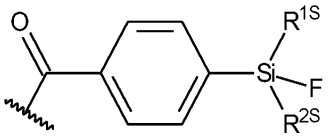
[0060] 여기서

[0061] X^S는 F, OH 또는 H, 바람직하게는 F이고;

[0062] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이고;

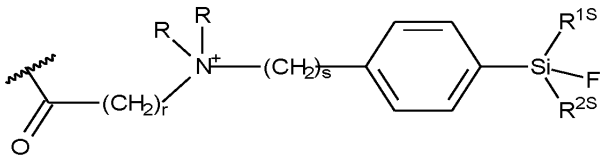
[0063] Ph는 페닐렌 기 ($-C_6H_4-$)이며, 여기서 수소 원자 중 1개 이상, 예컨대 1, 2 또는 3개는 치환기로서의 유기 관능기로 대체될 수 있다. 물결선은 접합체 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다.

[0064] 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}가 하기 화학식 (S-3) 및 (S-4) 중 하나에 의해, 또는 하기 화학식 (S-5) 내지 (S-7) 중 하나에 의해 나타내어진 구조를 갖는 것이 또한 추가로 바람직하다.



(S-3)

[0065]



(S-4)

[0066]

[0067] 화학식 (S-3)의 모이어티에서, R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다. 물결선은 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다.

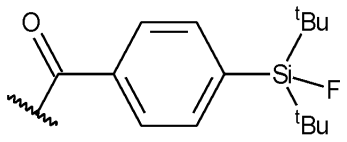
[0068] 화학식 (S-4)의 모이어티에서, r은 1, 2 또는 3, 바람직하게는 1이고, $-(CH_2)_s-$에서의 s는 1 내지 6의 정수, 바람직하게는 1이고,

[0069] R 기는 독립적으로 H 또는 C_1 내지 C_6 알킬, 바람직하게는 H 또는 C_1 내지 C_2 알킬, 보다 바람직하게는 둘 다 메틸이고,

[0070] R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다. 물결선은 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다. 2개의 치환기 R을 보유하는, 화학식 (S-4)에서 지시된 양으로 하전된 4급 암모늄 기를 위한 예시적인 반대이온으로서, 트리플루오로 아세테이트 음이온, 아세테이트 음이온, 또는 할로게나이드 음이온 예컨대 클로라이드 이온이 언급될 수 있다.

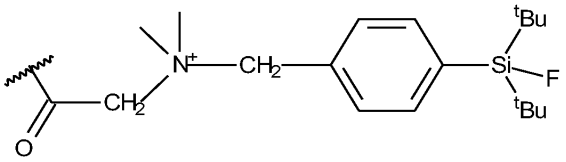
[0071] 통상의 기술자에 의해 이해될 것처럼, 화학식 (S-3) 및 (S-4)에서 지시된 플루오린 원자는 ^{18}F 원자, 또는 ^{19}F의 ^{18}F에 의한 동위원소 교환에 의해 ^{18}F를 제공하도록 교환될 수 있는 ^{19}F 원자일 수 있다.

[0072] 추가로, 화학식 (S-3)의 모이어티는 바람직하게는 화학식 (S-3a)의 모이어티 (본원에서 또한 "SiFA"로 지칭됨)이고, 화학식 (S-4)의 모이어티는 바람직하게는 화학식 (S-4a)의 모이어티 (본원에서 또한 "SiFAlin"으로 지칭됨)이다:



(S-3a)

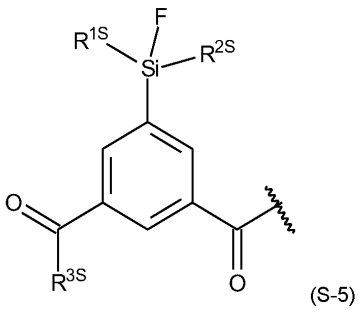
[0073]



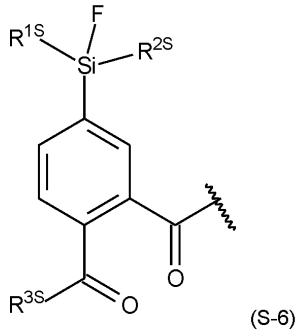
(S-4a)

[0074]

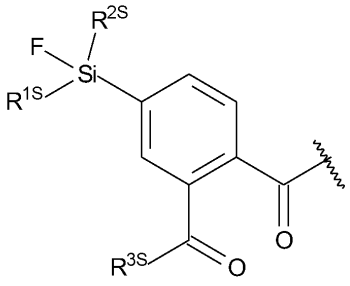
[0075] 여기서 ^{t}Bu는 tert-부틸 기를 지시한다. 물결선은 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다. (S-4)와 관련하여 상기에 언급된 바와 같이, 2개의 메틸 치환기를 보유하는, 화학식 (S-4a)에서 지시된 양으로 하전된 4급 암모늄 기를 위한 예시적인 반대이온은 트리플루오로 아세테이트 음이온, 아세테이트 음이온, 또는 할로게나이드 음이온 예컨대 클로라이드 이온이다.



(S-5)



(S-6)



(S-7)

[0076]

[0077] 여기서:

[0078] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이고;

[0079] R^{3S}는 하기로부터 선택된다:

[0080] (i) -OH 또는 $-O^{-}$,

[0081] (ii) 당 모이어티 또는 아미노 당 모이어티,

[0082] (iii) 아미노산 모이어티 또는 올리고펩티드 모이어티,

[0083] (iv) PEG 모이어티;

[0084] 및 (ii), (iii) 및 (iv) 중 2종 이상의 조합.

[0085] 물결선은 접합체 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다.

[0086] R^{3S}가 $-O^-$를 나타낸다면, 상기 화학식에서 제시된 방향족 고리의 $-C(=O)R^{3S}$ 치환기는 탈양성자화된 카르복실레이트 기 $-C(=O)O^-$인 것으로 이해될 것이다.

[0087] 화학식 (S-5), (S-6) 및 (S-7) 중에서도, 화학식 (S-5)가 바람직하다.

[0088] 바람직하게는, R^{3S}로서의 아미노산 모이어티는, 아미노 기 및 카르복실 기 이외에, 추가의 염기성 또는 산성 관능기를 포함하는 친수성 아미노산으로부터 유래되거나, 또는 R^{3S}로서의 올리고펩티드 모이어티는, 아미노 기 및 카르복실 기 이외에, 추가의 염기성 또는 산성 관능기를 포함하는 적어도 1종의 친수성 아미노산을 갖는 올리고펩티드로부터 유래된다.

[0089] 바람직하게는, R^{3S}로서의 올리고펩티드 모이어티는 2 내지 10개, 바람직하게는 2 내지 5개, 보다 바람직하게는 2 또는 3개의 아미노산 모이어티를 포함하는 선형 또는 분지형 모이어티이다.

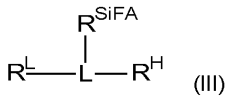
[0090] 친수성 아미노산은 바람직하게는 리신 및 글루탐산으로부터 선택된다.

[0091] R^{3S}로서의 PEG 모이어티는 바람직하게는 화학식 $-NH-(CH_2-CH_2-O)_X-R^{P1}$의 모이어티이며, 여기서 개방된 결합을 제공하는 질소 원자는 R^{3S}가 부착되어 있는 탄소 원자와 함께 아미드 결합 -NH-C(O)-를 형성하고, X는 2 내지 10, 바람직하게는 4 내지 10의 정수, 보다 바람직하게는 8이고, R^{P1}은 $-CH_2-COOH$ 및 $-CH_2-CH_2-COOH$로부터 선택된다.

[0092] R^{3S}로서의 당 모이어티 또는 아미노 당 모이어티는 바람직하게는 6-아미노-6-데옥시-D-갈락토피라노스 및 그의 상응하는 호변이성질체로부터 유래된 잔기이다.

[0093] R^{3S}는 보다 바람직하게는 -OH 및 $-O^-$로부터 선택된다. R^{1S} 및 R^{2S}가 tert-부틸 기를 나타내고, R^{3S}가 -OH 또는 $-O^-$를 나타내는 것인 화학식 (S-5)의 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티는 본원에서 또한 "SiFA-ipa"로 지칭된다.

[0094] 본 발명의 제2 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 접합체는 화학식 (III)에 의해 나타내어진다:

[0095] 
(III)

[0096] 여기서:

[0097] R^L은 본원에서 상기에 정의된 바와 같은 1개 이상의 킬레이트화 기이며, 여기서 킬레이트화 기는 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 임의적으로 함유하고;

[0098] L은 연결 모이어티이고;

[0099] R^H는 본 발명의 제1 측면의 테트라펩티드이고;

[0100] R^{SiFA}는 존재하거나 또는 존재하지 않으며, 존재하는 경우에는, 본원에서 상기에 정의된 바와 같은 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티이다.

[0101] 연결 모이어티는 킬레이트화 기와 테트라펩티드를 연결할 수 있는 임의의 모이어티일 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0102] 1개 이상의 킬레이트화 기는 바람직하게는 1개의 킬레이트화 기이다.

[0103] 본 발명의 제2 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 연결 모이어티는 D/L-디아미노프로피온산 (D/L-Dap), D/L-

디아미노부티르산 (D/L-Dab), D/L-오르니틴 (D/L-Orn) 또는 D/L-리신 (D/L-Lys)을 포함하며, 여기서 SiFA는, 존재하는 경우에, 커플링 기 -NH-를 제공하는 이들 아미노산에 함유된 $-NH_2$ 기를 사용하여 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys에 접합되며, 여기서 $-NH_2$ 기의 1개의 수소 원자와의 결합이 SiFA와의 결합으로 대체되고, 여기서 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys는 바람직하게는 연결 모이어티의 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys가 R^L 및/또는 R^{SiFA}에 직접 연결되도록 위치한다.

[0104] 따라서, 이러한 바람직한 실시양태에 따른 연결 모이어티는 접합체에 대한 R^{SiFA}의 연결을 위한 자리로서 작용할 수 있거나 또는 작용한다. 옵션 D/L-Dap, D/L-Dab, D/L-Orn 또는 D/L-Lys 중에서도, 옵션 D/L-Dap가 가장 바람직하다.

[0105] 본 발명의 제2 측면의 추가의 바람직한 실시양태에 따르면, 연결 모이어티는 폴리에틸렌글리콜 PEG, 바람직하게는 $(PEG)_{3-11}$을, 임의적으로 폴리-L/D-히드록시프롤린 (L/D-Hyp), 바람직하게는 $(Hyp)_{1-8}$, 및/또는 α- 또는 ɣ-glu, 바람직하게는 ɣ-glu와 함께 포함하며, 여기서 링커는 가장 바람직하게는 y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$ 또는 y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$을 포함한다.

[0106] 따라서, 이러한 바람직한 실시양태에 따른 모이어티는 바람직하게는 접합체에 대한 R^{SiFA}의 연결을 위한 자리로서 작용할 수 있거나 또는 작용하는 상기에 기재된 바람직한 실시양태에 따른 연결 모이어티와 함께 사용된다. L/D-Hyp는 바람직하게는 L-Hyp이다.

[0107] 이러한 바람직한 실시양태에 따른 연결 모이어티는 1개 이상의 킬레이트화 기와 테트라펩티드를 연결할 뿐만 아니라, 1개 이상의 킬레이트화 기와 테트라펩티드 사이의 소정의 거리를 제공한다. 첨부된 실시예에서, 링커에 의해 DOTA와 같은 입체적으로 복잡한 킬레이터와 테트라펩티드 사이에 소정의 거리를 두는 것이 높은 CCK-2R 친화도에 유리한 것으로 제시된다.

[0108] 본 발명의 제2 측면의 추가의 바람직한 실시양태에 따르면, 접합체는 DOTA-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2, DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-$(PEG)_7$-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2, DOTA-dap(SiFA)-y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2, 또는 DOTA-dap(SiFAlin)-y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2에 의해 나타내어지며, 여기서 DOTA 킬레이터는 본원에서 상기에 기재된 바와 같이 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온, 바람직하게는 ^{nat}Lu, ^{nat}Ga, ^{177}Lu 또는 ^{68}Ga의 양이온을 임의적으로 함유한다.

[0109] 상기 4종의 접합체 중에서도, DOTA-dap(SiFA)-y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2가 가장 바람직하다. 이러한 실시양태는 첨부된 실시예에서 예시된 바와 같이 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티의 존재 및 부재 하에 가장 우수한 대상에 관한 것이며, 이들이 임상 적용을 위한 매우 우수한 후보인 것으로 생각된다.

[0110] DOTA-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 킬레이터로서의 DOTA, 링커로서의 ɣ-glu-$(PEG)_3$ 및 테트라펩티드 -(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2로 이루어진다. DOTA는 본원에서 상기에 기재된 바와 같은 비방사성 또는 방사성 양이온, 예컨대 ^{nat}Lu, ^{nat}Ga, ^{177}Lu 또는 ^{68}Ga의 양이온과 복합체를 형성할 수 있다. 바람직하게는, DOTA는 본원에 기재된 바와 같은 치료학적 및 진단학적 적용을 위해 본원에서 상기에 기재된 바와 같은 비방사성 또는 방사성 양이온과 복합체를 형성한다. DOTA-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 실시예에서 DOTA-CCK-66으로 지칭되고, 실시예는 DOTA-CCK-66이 치료진단제로서 특히 적합하다는 것을 제시한다. 종양 마우스에 투여 시, 이는 다른 조직을 배경으로 하여 종양에서 특이적으로 풍부화되는데; **도 11**을 참조한다. DOTA-CCK-66은 임상적으로 적용되는 화합물 [^{68}Ga]Ga-/[^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하여 개선된 생체내 데이터를 나타냈다. 종양/배경 비가 비슷하거나 또는 심지어 전자의 경우에 향상되며, 이는 PEG 링커와 조합된 테트라펩티드의 설계에 기인하는 것일 수 있다.

[0111] DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-$(PEG)_7$-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 킬레이터로서의 DOTA, SiFA 모이어티 (즉, 상기에 제시된 바와 같은 화학식 (S-3a)의 모이어티)를 연결하기 위한 자리로서의 dap, 링커로서의

-glu-$(PEG)_7$-ɣ-glu-$(PEG)_3$ 및 테트라펩티드 Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2로 이루어진다. DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-$(PEG)_7$-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 실시예에서 DOTA-rhCCK-70으로 지칭된다. DOTA-rhCCK-70도 종양 마우스에 투여한 지 24h 후에 종양에서 높은 활성 수준을 나타냈다. DOTA 킬레이터는 본원에서 상기에 기재된 바와 같이 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온, 바람직하게는 ^{nat}Lu, ^{nat}Ga, ^{177}Lu 또는 ^{68}Ga의 양이온을 함유할 수 있다.

[0112] DOTA-dap(SiFA)-y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 킬레이터로서의 DOTA, SiFA 모이어티 (즉, 상기에 제시된 바와 같은 화학식 (S-3a)의 모이어티)를 연결하기 위한 자리로서의 dap, 링커로서의 -y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$- 및 테트라펩티드 Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2로 이루어진다. DOTA-dap(SiFA)-y-glu-$(Hyp)_6$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal은 실시예에서 DOTA-rhCCK-84로 지칭된다. 실시예에서 예시된 바와 같이 다수의 시험 화합물에서, 친지성 및 CCK-2R 친화도가 폴리-L-히드록시프롤린 링커를 통해 다루어졌다. 이들 시험된 화합물 중에서, DOTA-rhCCK-84가 유리하게도 가장 높은 친수성 ($logD_{7.4}$ = -2.14 ± 0.06) 및 CCK-2R 친화도 (IC_{50} = 7.87 ± 0.3)를 나타냈다. 또한, DOTA-rhCCK-84는 종양 마우스에 투여한 지 24 h 후에 종양에서 가장 높은 활성 수준 중 하나를 나타낸 반면에, 신장에서의 활성 수준은 낮았다. DOTA 킬레이터는 본원에서 상기에 기재된 바와 같이 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온, 바람직하게는 ^{nat}Lu, ^{nat}Ga, ^{177}Lu 또는 ^{68}Ga의 양이온을 함유할 수 있다.

[0113] DOTA-dap(SiFAlin)-y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2는 킬레이터로서의 DOTA, SiFAlin 모이어티 (즉, 상기에 제시된 바와 같은 화학식 (S-4a)의 모이어티)를 연결하기 위한 자리로서의 dap, 링커로서의 -y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$- 및 테트라펩티드 Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2로 이루어진다. DOTA-dap(SiFAlin)-y-glu-$(PEG)_4$-y-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal은 실시예에서 DOTA-rhCCK-91로 지칭된다. DOTA-rhCCK-91은 유리하게도 [^{nat}Lu]루테튬 (IC_{50} = 8.56 ± 0.7) 또는 [^{nat}Ga]갈륨 (IC_{50} = 8.24 ± 1.6)으로 표지된 경우에 높은 CCK-2R 친화도를 나타냈다. DOTA 킬레이터 기는 본원에서 상기에 기재된 바와 같이 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온, 바람직하게는 ^{nat}Lu, ^{nat}Ga, ^{177}Lu 또는 ^{68}Ga의 양이온을 함유할 수 있다.

[0114] 제3 측면에서, 본 발명은 암의 시험관내 또는 생체외 진단에서의 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체의 용도에 관한 것이다.

[0115] 이와 관련된 제4 측면에서, 본 발명은 샘플에서의 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)의 존재를 시험관내 또는 생체외 검출하기 위한 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체의 용도로서, 여기서 샘플은 바람직하게는 암 환자 또는 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체로부터 수득된 것인 용도에 관한 것이다.

[0116] 제5 측면에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체를 샘플과 접촉시키는 단계, 및 (b) 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체의 CCK-2R과의 결합을 검출하는 단계를 포함하는, 샘플에서의 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)의 존재를 검출하기 위한 시험관내 또는 생체외 방법으로서, 여기서 샘플은 바람직하게는 암 환자 또는 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체로부터 수득된 것인 방법에 관한 것이다.

[0117] 암의 시험관내 또는 생체외 진단은 인체 또는 동물체 상에서 실시되지 않으며, 그 대신에 통상적으로 암을 진단하려는 대상체로부터 수득된 샘플에 기반하여 수행된다.

[0118] 샘플은 체액 또는 조직 샘플일 수 있다. 체액은 바람직하게는 전혈, 혈청 또는 혈장으로부터 선택된 혈액 샘플이다. 조직 샘플은 바람직하게는 암성인 것으로 추정되는 조직, 예컨대 유방, 폐, 간 또는 결장 조직의 것이다.

[0119] 제6 측면에서, 본 발명은 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체를 포함하는 제약 조성물 또는 진단 조성물에 관한 것이다.

[0120] 본원에 사용된 용어 "조성물"은 하기에서 또한 집합적으로 화합물이라고도 지칭되는, 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체를 적어도 포함하는 조성물을 지칭한다.

[0121] 본원에 기재된 바와 같은 모든 제약학적 및 진단학적 적용과 관련하여, 본 발명의 이들 측면에서의 킬레이터는

바람직하게는 방사성 양이온과 복합체를 형성한다는 것이 이해되어야 한다. 방사성 양이온의 성질은 계획된 제약학적 또는 진단학적 적용에 따라 선택될 수 있다. 예를 들어, 진단학적 적용을 위해서는 상대적으로 짧은 반감기 및 여전히 검출될 수 있는 상대적으로 약한 방사선을 갖는 방사성 양이온이 일반적으로 요구되는 반면에, 치료학적 적용을 위해서는 종양 세포를 파괴하도록 상대적으로 긴 반감기 및 상대적으로 강한 방사선을 갖는 방사성 양이온이 일반적으로 요구된다.

[0122] 본 발명에 따르면, 용어 "제약 조성물"은 질환을 치료 또는 예방하기 위해 투여되어야 하는 환자, 바람직하게는 인간 환자에게 투여하기 위한 조성물을 나타낸다. 본 발명의 제약 조성물은 상기에 언급된 바와 같은 본 발명의 화합물을 포함한다. 이는 본 발명의 화합물의 특징을 변경시킴으로써, 예를 들어, 그의 기능을 안정화, 조정 및/또는 활성화시킬 수 있는 추가의 분자를 임의적으로 포함할 수 있다. 조성물은 고체, 액체 또는 기체상 형태일 수 있으며, 특히 분말(들), 정제(들), 용액(들) 또는 에어로졸(들)의 형태일 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 제약상 허용되는 담체를 임의적으로 그리고 추가적으로 포함할 수 있다. 적합한 제약 담체의 예는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 포스페이트 완충 염수 용액, 물, 에멀젼, 예컨대 오일/물 에멀젼, 다양한 유형의 습윤제, 멸균 용액, DMSO를 포함한 유기 용매 등을 포함한다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지되어 있는 통상적인 방법에 의해 제제화될 수 있다. 이들 제약 조성물은 적합한 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 투여 요법은 담당 의사 및 임상 인자에 의해 결정될 것이다. 의학 기술분야에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 어느 한 환자에 대한 투여량은 환자의 신체치수, 체표면적, 연령, 투여될 특정한 화합물, 성별, 투여 시간 및 경로, 전반적인 건강상태, 및 공동으로 투여될 다른 약물을 포함한 많은 인자에 따라 달라진다. 주어진 상황에 맞는 치료 유효량이 일상적인 실험을 통해 용이하게 결정될 것이며, 통상의 임상의 또는 의사의 기술과 판단 범위 내에서 결정된다. 일반적으로, 제약 조성물의 규칙적인 투여 요법은 1일에 1 μg 내지 5 g 단위의 범위에 있을 것이다. 그러나, 보다 바람직한 투여량은 1일에 0.01 mg 내지 100 mg, 보다 더 바람직하게는 0.01 mg 내지 50 mg, 가장 바람직하게는 0.01 mg 내지 10 mg의 범위일 수 있다.

[0123] 본 발명에 따르면, 용어 "진단 조성물"은 질환을 진단하기 위해 투여되어야 하는 환자, 바람직하게는 인간 환자에게 투여하기 위한 조성물을 나타낸다. 본 발명의 진단 조성물은 상기에 언급된 본 발명의 화합물을 포함한다. 이는 제약 조성물과 동일한 추가의 분자를 임의적으로 포함할 수 있으며, 또한 제약 조성물과 동일한 형태일 수 있다. 제약 조성물의 상기의 바람직한 성분 및 제제화가 필요한 변경을 가하여 진단 조성물에도 적용된다.

[0124] 제7 측면에서, 본 발명은 암을 치료 또는 예방하기 위한 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체 또는 제약 조성물에 관한 것이다.

[0125] 제8 측면에서, 본 발명은 대상체에서의 암의 생체내 진단 방법에 사용하기 위한 본 발명의 테트라펩티드 또는 접합체 또는 제약 조성물에 관한 것이다.

[0126] 본원에 언급된 대상체는 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간이다.

[0127] 암은, 생리학적 기능을 보유하지 않으며 제어되지 않는, 통상적으로 급속한 세포 증식으로부터 발생하는 비정상적인 악성 신생 조직이다. 암은 바람직하게는 유방암, 난소암, 자궁내막암, 질암, 외음부암, 방광암, 타액선암, 췌장암, 갑상선암, 신장암, 폐암, 상부 위장관과 관련된 암, 결장암, 결장직장암, 전립선암, 두경부의 편평-세포 암종, 자궁경부암, 교모세포종, 악성 복수, 림프종 및 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 상기 암 목록 중에서도 결장직장암, 췌장암 및 갑상선암이 바람직한데, 그 이유는 이들 암 유형에서 비정상적인 CCK-2R 발현이 이미 밝혀졌기 때문이다. 갑상선암, 특히 수질성 갑상선암 (MTC)이 첨부된 실시예에 의한 이러한 암 유형의 예시와 관련하여 가장 바람직하다.

[0128] 암은 바람직하게는 고형 암이다. 고형 암은, 액체 형태의 암과 대조적으로, 낭종 또는 액체 부분을 통상적으로 함유하지 않는 비정상적인 조직 덩어리이다.

[0129] 제9 측면에서, 본 발명은 화학식 (IV) R^{L}-dap(R^{SiFA})-R^{GABA}-L-R^{H} (IV)에 의해 나타내어진, 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)에 결합하는 접합체 화합물에 관한 것이며, 여기서:

[0130] R^{L}은 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을 임의적으로 함유하는, DOTA 또는 DOTAGA이고;

[0131] dap(R^{SiFA})는 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}를 보유하는 dap 기이고;

[0132] R^{GABA}는 존재하거나 또는 존재하지 않으며, 존재하는 경우에는, 1개 이상의 γ-아미노부티르산 (GABA), 바람직하

게는 $(GABA)_{1-3}$이고;

[0133] L은 적어도 5개, 바람직하게는 적어도 6개의 α- 또는 ɣ-glu, 가장 바람직하게는 6 내지 9개의 α- 또는 ɣ-glu를 포함하는 연결 모이어티이며, 여기서 ɣ-glu가 α-glu보다 바람직하고;

[0134] R^H는 Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2이거나 또는 그를 포함한다.

[0135] 본 발명의 제1 내지 제8 측면의 상기 정의 및 바람직한 실시양태가, 이들 정의 및 바람직한 실시양태가 제9 측면 및 본원 하기에서 이어질 본 발명의 추가의 측면과의 조합에 적용가능하다면, 필요한 변경을 가하여 제9 측면 및 본원 하기에서 이어질 본 발명의 추가의 측면에도 적용된다.

[0136] 첨부된 실시예로부터 알 수 있는 바와 같이, 폴리-글루타메이트 링커를 포함하는 여러 킬레이터-미니가스트린-규소계 플루오라이드 수용체 접합체가 합성되었고, $^{nat/177}$Lu-표지하여 시험관내 평가되었으며, 또한 선행 기술의 참조 리간드 $^{nat/177}$Lu-DOTA-PP-F11N 및 $^{nat/177}$Lu-CP04 ($^{nat/177}$Lu-DOTA-$(glu)_6$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH_2)와 비교되었다.

[0137] 놀랍게도, 이러한 기가 적어도 5 또는 6개의 α-/ɣ-glu 모이어티에 의해 분리되었을 때 가장 높은 CCK-2R 친화도가 관찰되며, 여기서 추가의 6개의 α-/ɣ-glu 모이어티는 추가의 개선을 제공하지 않는다는 것이 밝혀졌다. 이러한 가장 높은 CCK-2R 친화도는 CCK-2R 결합 서열 (Ala-Tyr-Gly-Trp1-Nle-Asp-Phe-NH_2)로부터의 dap(R^{SiFA}) 및 킬레이터 모이어티의 분리 때문이라고 생각된다. ɣ-glu가 α-glu보다 바람직하며, 이는 α-glu 대신에 ɣ-glu를 사용함으로써 각각의 펩티드 백본이 뚜렷하게 연장되기 때문이다. 추가로, 상이한 킬레이터를 또한 시험하였고, DOTA 또는 DOTAGA를 사용함으로써 CCK-2R 친화도와 관련하여 최상의 결과가 획득되었다. DOTA 및 DOTAGA는 바람직하게는 그의 카르복실 기 중 하나로 아미드 결합을 통해 접합체의 나머지에 결합된다. 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}를 접합체에 도입하기 위한 추가의 상이한 화합물 및 위치를 시험하였고, dap가 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티를 도입하기 위한 최상의 화합물이고, dap의 최상의 자리는 킬레이터와 링커, 및 존재하는 경우에 GABA 사이라는 것이 밝혀졌다. 통상의 기술자에 의해 이해될 것처럼, dap (디아미노프로판산)는 화학식 (IV)의 화합물에서 R^L과 L (R^{GABA}가 존재하지 않는 경우) 사이 또는 R^L과 R^{GABA} (R^{GABA}가 존재하는 경우) 사이의 연결 단위로서 작용하며, dap에 의해 제공된 3개의 관능기로 인해 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}를 추가적으로 보유할 수 있다.

[0138] ɣ-아미노부티르산 (GABA) 모이어티에 의해 ɣ-glu의 음전하를 감소시키기 위해 1개 이상의 ɣ-아미노부티르산 (GABA)이 임의적으로 존재할 수 있다. 동시에 링커 길이를 유지하면서 보다 적은 양의 음전하를 갖는 것이 가능하며, 그 결과 4종의 화합물이 생성되었다. 신장에서의 양이 우려된다면, 1개 이상의 ɣ-아미노부티르산 (GABA)의 첨가를 통해 신장이 신장에서 발견될 수 있는 접합체의 양을 감소시킴으로써, 종양에서의 특이적인 접합체의 축적을 강화할 수 있다 (또한 GABA가 존재하지 않는 경우에도, 제9 측면의 접합체가 투여 시 종양에 특이적으로 축적된다는 것을 주목함).

[0139] 따라서, 본 발명의 제9 측면은 영상화 및 표적화된 방사선요법에 유용한 특정한 바람직한 콜레시스토키닌 2 수용체 결합 분자에 관한 것이다. 킬레이터-미니가스트린-SiFA 접합체를 사용한 시험을 통해, 제9 측면의 접합체가 유리하게도 가장 높은 CCK-2R 친화도를 갖는 것이라는 것이 밝혀졌다.

[0140] 언급된 바와 같이, 본 발명의 제1 내지 제8 측면의 상기 정의 및 바람직한 실시양태가, 이들 정의 및 바람직한 실시양태가 제9 측면 및 본원 하기에서 이어질 본 발명의 추가의 측면과의 조합에 적용가능하다면, 필요한 변경을 가하여 제9 측면 및 본원 하기에서 이어질 본 발명의 추가의 측면에도 적용된다.

[0141] 또한 본 발명의 제9 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 킬레이트화 기의 방사성 또는 비방사성 양이온이 ^{43}Sc, ^{44}Sc, ^{47}Sc, ^{51}Cr, ^{52m}Mn, ^{55}Co, ^{57}Co, ^{58}Co, ^{52}Fe, ^{56}Ni, ^{57}Ni, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{66}Ga, ^{68}Ga, ^{67}Ga, ^{89}Zr, ^{90}Y, ^{86}Y, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ^{97}Ru, ^{105}Rh, ^{109}Pd, ^{111}Ag, ^{110m}In, ^{111}In, ^{113m}In, ^{114m}In, ^{117m}Sn, ^{121}Sn, ^{127}Te, ^{142}Pr, ^{143}Pr, ^{147}Nd, ^{149}Gd, ^{149}Pm, ^{151}Pm, ^{149}Tb, ^{152}Tb, ^{155}Tb, ^{153}Sm, ^{156}Eu, ^{157}Gd, ^{155}Tb, ^{161}Tb, ^{164}Tb, ^{161}Ho, ^{166}Ho, ^{157}Dy, ^{165}Dy, ^{166}Dy, ^{160}Er, ^{165}Er, ^{169}Er, ^{171}Er, ^{166}Yb, ^{169}Yb, ^{175}Yb, ^{167}Tm, ^{172}Tm, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{186g}Re, ^{188}Re, ^{188}W, ^{191}Pt, ^{195m}Pt, ^{194}Ir, ^{197}Hg,

^{198}Au, ^{199}Au, ^{212}Pb, ^{203}Pb, ^{211}At, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{223}Ra, ^{224}Ra, ^{225}Ac, ^{226}Th 및 ^{227}Th의 양이온, 및 그의 비방사성 동위원소의 양이온으로부터 선택되거나, 또는 ^{18}F 또는 ^{19}F를 포함하는 양이온성 분자, 예컨대 ^{18}F-[AlF]$^{2+}$이고, 바람직하게는 ^{68}Ga, ^{90}Y 또는 ^{177}Lu의 양이온, 및 Ga, Y 또는 Lu의 비방사성 동위원소의 양이온으로부터 선택된다는 것이 성립된다.

[0142] 방사성 또는 비방사성 양이온에 관한 추가의 세부사항 및 바람직한 실시양태가 본 발명의 제2 측면과 관련하여 본원에서 상기에 기재되어 있다. 이들 세부사항 및 바람직한 실시양태가 필요한 변경을 가하여 본 발명의 제9 측면에도 적용된다.

[0143] 추가로, 또한 본 발명의 제9 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}가 본 발명의 제2 측면과 관련하여 본원에서 상기에 정의된 바와 같다는 것이 성립된다.

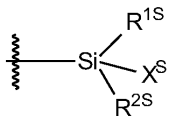
[0144] 특히, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티는 바람직하게는 하기로부터 선택된다:

[0145] (i) 규소 원자 및 플루오린 원자를 포함하며, 여기서 플루오린 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, ^{19}F의 ^{18}F에 의한 동위원소 교환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있거나 또는 ^{18}F로 표지된 모이어티;

[0146] (ii) 규소 원자 및 히드록시 기를 포함하며, 여기서 히드록시 기는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, OH의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티; 및

[0147] (iii) 규소 원자 및 수소 원자를 포함하며, 여기서 수소 원자는 규소 원자에 직접 공유 결합을 통해 연결되는 것인 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티로서, H의 ^{18}F에 의한 친핵성 치환에 의해 ^{18}F로 표지될 수 있는 모이어티.

[0148] 보다 바람직하게는, 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}는 상기에 정의된 바와 같이 화학식 (S-1)의 기를 함유한다:



(S-1)

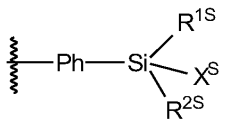
[0149]

[0150] 여기서

[0151] X^S는 F, OH 또는 H, 바람직하게는 F이고;

[0152] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다.

[0153] 보다 바람직하게는, 모이어티 R^{SiFA}는 상기에 정의된 바와 같이 화학식 (S-2)의 기를 함유한다:



(S-2)

[0154]

[0155] 여기서

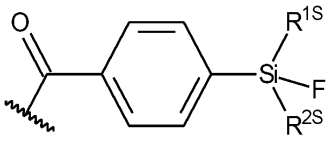
[0156] X^S는 F, OH 또는 H, 바람직하게는 F이고;

[0157] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소

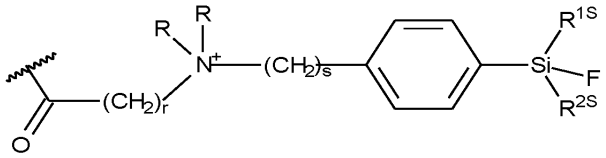
프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이고;

[0158] Ph는 페닐렌 기 (-C_6H_4-)이며, 여기서 수소 원자 중 1개 이상, 예컨대 1, 2 또는 3개는 치환기로서의 유기 관능기로 대체될 수 있다.

[0159] 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}가 상기에 정의된 바와 같이 화학식 (S-3) 및 (S-4) 중 하나에 의해, 또는 화학식 (S-5) 내지 (S-7) 중 하나에 의해 나타내어진 구조를 갖는 것이 또한 추가로 바람직하다.

[0160] 

(S-3)

[0161] 

(S-4)

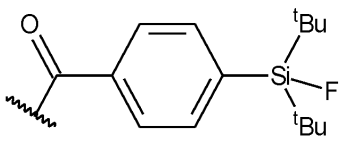
[0162] 화학식 (S-3)의 모이어티에서, R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다.

[0163] 화학식 (S-4)의 모이어티에서, r은 1, 2 또는 3, 바람직하게는 1이고, -$(CH_2)_s$-에서의 s는 1 내지 6의 정수, 바람직하게는 1이고,

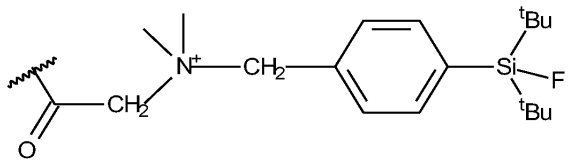
[0164] R 기는 독립적으로 H 또는 C_1 내지 C_6 알킬, 바람직하게는 H 또는 C_1 내지 C_2 알킬, 보다 바람직하게는 둘 다 메틸이고,

[0165] R^{1S} 및 R^{2S}는 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이다.

[0166] 추가로, 화학식 (S-3)의 모이어티는 바람직하게는 화학식 (S-3a)의 모이어티 (본원에서 또한 "SiFA"로 지칭됨)이고, 화학식 (S-4)의 모이어티는 바람직하게는 화학식 (S-4a)의 모이어티 (본원에서 또한 "SiFAlin"으로 지칭됨)이다:

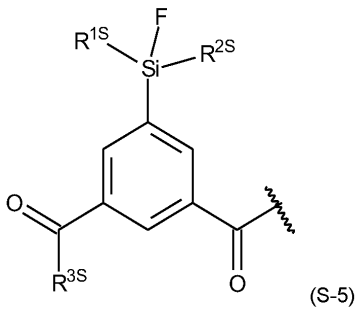
[0167] 

(S-3a)

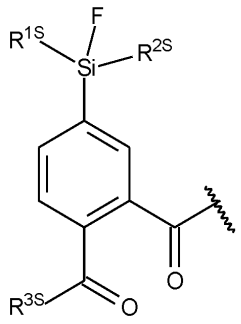
[0168] 

(S-4a)

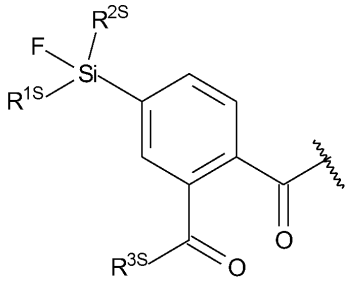
[0169] 여기서 ^{t}Bu는 tert-부틸 기를 지시한다.



(S-5)



(S-6)



(S-7)

[0170]

[0171] 여기서:

[0172] R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 선형 또는 분지형 C_3 내지 C_{10} 알킬 기이고, 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 독립적으로 이소프로필 및 tert-부틸로부터 선택되고, 보다 바람직하게는 R^{1S} 및 R^{2S}는 tert-부틸이고;

[0173] R^{3S}는 하기로부터 선택된다:

[0174] (i) -OH 또는 $-O^{-}$,

[0175] (ii) 당 모이어티 또는 아미노 당 모이어티,

[0176] (iii) 아미노산 모이어티 또는 올리고펩티드 모이어티,

[0177] (iv) PEG 모이어티;

[0178] 및 (ii), (iii) 및 (iv) 중 2종 이상의 조합.

[0179] 물결선은 접합체 화합물의 나머지에 기를 부착시키는 결합을 표시한다.

[0180] 화학식 (S-5), (S-6) 및 (S-7) 중에서도, 화학식 (S-5)가 바람직하다.

[0181] 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 R^{SiFA}, 및 화학식 (S-1), (S-2), (S-3), (S-3a), (S-4), (S-4a), (S-5), (S-6) 및 (S-7)의 기 및 모이어티에 관한 추가의 세부사항 및 바람직한 실시양태가 본 발명의 제2 측면과 관련하여 본원에서 상기에 기재되어 있다. 이들 세부사항 및 바람직한 실시양태가 필요한 변경을 가하여 본 발명의 제9 측면에도 적용된다.

[0182] 본 발명의 제9 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 접합체는 하기와 같이 나타내어진다:

[0183] DOTAGA-dap(SiFA)-(γ-glu)$_6$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2,

[0184] DOTAGA-dap(SiFA)-(α-glu)$_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2,

[0185] DOTA-dap(SiFA)-(γ-glu)$_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2.

[0186] DOTA 또는 DOTAGA 킬레이터는 본원에서 상기에 기재된 바와 같이 킬레이트화된 비방사성 또는 방사성 양이온을

임의적으로 함유한다.

[0187] 상기 바람직한 실시양태는 첨부된 실시예에서 제조되고 시험된 여러 킬레이터-미니가스트린-SiFA 접합체 중에서 가장 우수한 3가지의 대상에 관한 것이다.

[0188] DOTAGA-dap(SiFA)-(γ-glu)$_6$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2 및 DOTAGA-dap(SiFA)-(α-glu)$_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2는 각각 실시예에서 언급된 바와 같은 화합물 DOTAGA-MG-SiFA-19 및 DOTAGA-MG-SiFA-21에 상응한다. **도 21**은 선행 기술의 참조물 DOTA-PP-F11N과 비교하여 개선된 24 h 후의 종양 축적을 제시하며, 이미 1 h 후에 상당한 양이 종양에 축적된다. DOTA-dap(SiFA)-(γ-glu)$_8$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2와 관련하여, DOTAGA-MG-SiFA-23에서 DOTAGA가 DOTA로 치환되면 크게 증가된 CCK-2R 친화도 (DOTA-MG-SiFA-23: 4.71 ± 0.62 nM)가 유도된다는 것이 예상 밖으로 밝혀졌으며, 이는 심지어 선행 기술의 참조 리간드를 능가하는데, **도 22**를 참조한다.

[0189] DOTA-MG-SiFA-23은 종양 마우스에 투여한 지 24 h 후에 종양에서 가장 높은 활성 수준을 나타냈으며, 이러한 활성 수준은 선행 기술의 참조물 DOTA-PP-F11N보다 8배를 초과하여 더 높았다. 또한 DOTAGA-MG-SiFA 화합물 둘 다는, 그의 보다 낮은 CCK2R 친화도에도 불구하고, 선행 기술의 참조물 DOTA-PP-F11N과 비교하여 종양 마우스에 투여 후에 종양에서 3 내지 6배 증가된 활성 수준을 제시하였으며, 이는 2종의 DOTAGA-MG-SiFA의 활성 소실이 선행 기술의 참조물과 비교하여 둔화되었기 때문인 것으로 추정된다.

[0190] 따라서, 실시예의 데이터는 가장 우수한 3가지의 대상이 영상화 및 표적화된 방사선요법에 특히 유용하다는 것을 입증한다.

[0191] 본 발명의 제9 측면의 바람직한 실시양태에 따르면, 접합체는 100 nM 이하, 바람직하게는 75 nM 이하의 반수-최대 억제 농도 (IC_{50})로서 기술된 CCK-2R 결합 친화도를 갖는다.

[0192] DOTAGA-MG-SiFA-19, DOTAGA-MG-SiFA-21 및 DOTA-MG-SiFA-23은 CCK-2R과의 결합에 대해 각각 7.54 ± 0.26 nM, 55.3 ± 7.8 nM 및 4.71 ± 0.62 nM의 반수-최대 억제 농도 (IC_{50})를 나타낸다.

[0193] 따라서, 이들 3종의 접합체의 IC_{50}은 제9 측면의 접합체가 100 nM 이하, 바람직하게는 75 nM 이하의 IC_{50}을 나타낸다는 것을 정확히 뒷받침한다.

[0194] 또한, 본 발명의 제3 내지 제8 측면으로서 본원에서 상기에 기재된 바와 같은 의학적 및 진단학적 적용은 제9 측면의 접합체와의 조합에 적용가능하며 그와 같이 의도된다.

[0195] 따라서, 본 발명의 추가의 측면은 하기에 관한 것이다:

[0196] 암의 시험관내 또는 생체외 진단에서의 제9 측면의 접합체의 용도.

[0197] 샘플에서의 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)의 존재를 시험관내 또는 생체외 검출하기 위한 제9 측면의 접합체의 용도로서, 여기서 샘플은 바람직하게는 암 환자 또는 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체로부터 수득된 것인 용도.

[0198] (a) 제9 측면의 접합체를 샘플과 접촉시키는 단계, 및 (b) 제9 측면의 접합체의 CCK-2R과의 결합을 검출하는 단계를 포함하는, 샘플에서의 콜레시스토키닌 2 수용체 (CCK-2R)의 존재를 검출하기 위한 시험관내 또는 생체외 방법으로서, 여기서 샘플은 바람직하게는 암 환자 또는 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체로부터 수득된 것인 방법.

[0199] 제9 측면의 접합체를 포함하는 제약 조성물 또는 진단 조성물.

[0200] 암을 치료 또는 예방하기 위한 제9 측면의 접합체 또는 제9 측면의 접합체를 포함하는 제약 조성물.

[0201] 대상체에서의 암의 생체내 진단 방법에 사용하기 위한 제9 측면의 접합체 또는 제9 측면의 접합체를 포함하는 진단 조성물.

[0202] 의학적 및 진단학적 적용에 관한 추가의 세부사항 및 바람직한 실시양태가 본 발명의 제3 내지 제8 측면과 관련하여 본원에서 상기에 기재되어 있다. 이들 세부사항 및 바람직한 실시양태가 필요한 변경을 가하여 제9 측면의 접합체를 사용하는 본 발명의 상기의 추가의 측면에도 적용된다.

[0203] 본 명세서, 특히 청구범위에서 특징화된 실시양태와 관련하여, 종속항에서 언급된 각각의 실시양태는 상기 종속

항이 인용하는 각각의 청구항 (독립항 또는 종속항)의 각각의 실시양태와 조합되는 것으로 의도된다. 예를 들어, 독립항 제1항이 3가지의 대안 A, B 및 C를 언급하고, 종속항 제2항이 3가지의 대안 D, E 및 F를 언급하고, 청구항 제3항이 청구항 제1항 및 제2항을 인용하며 3가지의 대안 G, H 및 I를 언급하는 경우에, 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본 명세서는 A, D, G; A, D, H; A, D, I; A, E, G; A, E, H; A, E, I; A, F, G; A, F, H; A, F, I; B, D, G; B, D, H; B, D, I; B, E, G; B, E, H; B, E, I; B, F, G; B, F, H; B, F, I; C, D, G; C, D, H; C, D, I; C, E, G; C, E, H; C, E, I; C, F, G; C, F, H; C, F, I의 조합에 상응하는 실시양태를 명확하게 개시하는 것으로 이해되어야 한다.

[0204] 마찬가지로, 독립항 및/또는 종속항이 대안을 언급하지 않는 경우에도, 종속항이 복수의 선행 청구항을 인용한다면, 그에 따라 포함되는 대상의 임의의 조합이 명시적으로 개시된 것으로 간주되는 것으로 이해된다. 예를 들어, 독립항 제1항, 청구항 제1항을 인용하는 종속항 제2항, 및 청구항 제2항 및 제1항 둘 다를 인용하는 종속항 제3항의 경우에, 청구항 제3항 및 제1항의 대상의 조합이 분명하고 명확하게 개시된 것이며, 청구항 제3항, 제2항 및 제1항의 대상의 조합도 마찬가지로 분명하고 명확하게 개시된 것이라는 것이 성립된다. 청구항 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항을 인용하는 추가의 종속항 제4항이 존재하는 경우에, 청구항 제4항 및 제1항, 청구항 제4항, 제2항 및 제1항, 청구항 제4항, 제3항 및 제1항, 뿐만 아니라 청구항 제4항, 제3항, 제2항 및 제1항의 대상의 조합이 분명하고 명확하게 개시된 것이라는 것이 성립된다.

도면의 간단한 설명

[0205] 도면은 하기를 제시한다.

도 1: CCK-2R-표적화된 리간드 (H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2, CCK-49, [^{nat}Lu]Lu-DOTA-ɣ-MGS5, H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2, CCK-32 및 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-ɣ-F11N)의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨)의 개략적 표현. DOTA-MGS5 유사체는 흑색으로 제시되고, DOTA-PP-F11N 유사체는 회색으로 제시되어 있다.

도 2: 변형된 테트라펩티드성 결합 모티프를 갖는 CCK-2R-표적화된 리간드의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨)의 개략적 표현.

도 3: 글리신 스캔 화합물 (DOTA-CCK-55 내지 -62)의 CCK-2R 친화도 (막대로 반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨) 및 친지성 (점으로 pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 도시됨)을 참조물 (DOTA-MGS5)과 비교하여 나타내는 개략적 표현.

도 4: ^{nat}Lu-, ^{nat}Ga- 및 ^{nat}Cu-표지된 DOTA-CCK-66 및 -66.2의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨)를 DOTA-MGS5와 비교하여 나타내는 개략적 표현.

도 5: DOTA-CCK-66, -66.2 및 DOTA-MGS5의 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 도시됨)의 개략적 표현. 조사된 화합물은 [^{177}Lu]루테튬, [^{67}Ga]갈륨 및 [^{64}Cu]구리와 복합체를 형성하였다.

도 6: [^{nat}Lu]루테튬, [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{nat}Cu]구리와 복합체를 형성한 DOTA-CCK-66, -66.2 및 DOTA-MGS5의 HSA 결합 (%).

도 7: 인간 혈청 중 37℃에서 72 ± 2 h 동안 인큐베이션한 후의 ^{177}Lu-표지된 DOTA-MGS5, -CCK-66 및 -CCK-66.2의 대표적인 RP-HPLC 크로마토그램 (5 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→30% MeCN 및 15 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 30→60% MeCN) (흑색)과 ^{177}Lu-표지 직후의 화합물의 품질 관리 크로마토그램 (회색)의 비교.

도 8: p.i. 30 min에서의 뮤린 혈청 (흑색) 및 소변 (암회색) 중 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 (각각 1 nmol, 35 MBq)의 온전한 화합물의 양의 대표적인 RP-HPLC 크로마토그램 (5 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→30% MeCN 및 15 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 30→60% MeCN). 화합물의 참조 크로마토그램은 담회색으로 도시되어 있다.

도 9: p.i. 1 h에서의 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 (각각 100 pmol)의 생체분포 및 경쟁 연구 (%ID/g). 경쟁 연구의 경우에는, 초과량의 [^{nat}Ga]Ga-DOTA-MGS5 (40 nmol)가 공동-투여되었다. 데이터는 평균 ± SD로 표시된다 (생체분포 연구의 경우에는 n = 4이고, 경쟁 연구의 경우에는 n = 2임). [^{68}Ga]Ga-DOTA-MGS5 (20 pmol)의 문헌에 따른 데이터가 비교를 위해 도시되어 있다 [30]. 2종의 화합물의 종양/혈액, 종양/위 및 종양/신장 비의 비교 분석이 우측에 도시되어 있다.

도 10: A) p.i. 1 h에서의 [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 (100 pmol)이 주입된 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 최대 강도 투사. B) AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스에 [^{nat}Ga]Ga-DOTA-MGS5 (40 nmol)와 공동-투여된 [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 (100 pmol)의 경쟁 연구의 p.i. 1 h에서의 대표적인 μSPECT/CT 영상.

도 11: p.i. 24 h에서의 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (각각 100 pmol)의 생체분포 및 경쟁 연구 (%ID/g). 경쟁 연구의 경우에는, 초과량의 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (40 nmol)가 공동-투여되었다. 데이터는 평균 ± SD로 표시된다 (생체분포 연구의 경우에는 n = 4이고, 경쟁 연구의 경우에는 n = 2임). 2종의 화합물의 종양/혈액, 종양/위 및 종양/신장 비의 비교 분석이 하단에 도시되어 있다.

도 12: A) [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 및 B) [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 (각각 100 pmol)이 주입된 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 최대 강도 투사. C) [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (40 nmol)와 공동-투여된 [^{177}Lu]LuDOTA-CCK-66 (100 pmol)의 경쟁 연구의 p.i. 24 h에서의 대표적인 μSPECT/CT 영상.

도 13: (A) [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66을 사용한 MTC를 갖는 환자 1의 PET/CT 영상이며, 이는 (B) 1곳의 좌측 쇄골후 림프절 전이 및 (C) 대동맥궁에서의 종격동 전이를 나타냈다.

도 14: (A) [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66을 사용한 MTC를 갖는 환자 2의 PET/CT 영상이며, 이는 (B) 우측 쇄골후 림프절 전이, (C) 양측 폐문 림프절 전이, (D) 2곳의 간 전이 및 (E) 우측 대퇴골 뿐만 아니라 우측 좌골에서의 골 전이를 제시하였다.

도 15: (A) [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66을 사용한 MTC를 갖는 환자 3의 PET/CT 영상이며, 이는 (B) 좌측 경부 혈관 신경초 영역에서의 림프절 전이, (C) 좌측 갑상선 부위에서의 국소 재발 및 (D) 상부 우측 종격동에서의 림프절 전이를 나타냈다.

도 16: 다양한 킬레이터 (NOTA, NODAGA, (R)-DOTAGA 및 (S)-DOTAGA)를 함유하는 ^{nat}Lu 및 [^{19}F]AlF와 복합체를 형성한 DOTA-CCK-66 유사체의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨)의 개략적 표현.

도 17: 상이한 링커 절편 (담회색: $(PEG)_4$, 회색: $(PEG)_7$, 암회색: $(PEG)_{11}$, 백색: $(cit)_{0-3}$-$(Hyp)_{3-8}$), 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 (SiFA, SiFA-ipa, SiFAlin, 흑색: $logD_{7.4}$-값) 및 음전하 (dap(SiFA)에 인접해 있는 γ-glu의 존재 및 부재)를 포함하는 [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-67 내지 -76, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-83 내지 -86 및 [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-90 내지 -91의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 도시됨) 및 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 도시됨)의 개략적 표현.

도 18: 상이한 링커 절편 (담회색: $(PEG)_4$, 회색: $(PEG)_7$, 암회색: $(PEG)_{11}$, 백색: $(cit)_{0-3}$-$(Hyp)_{3-8}$), 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 (SiFA, SiFA-ipa, SiFAlin, 흑색: $logD_{7.4}$ 값) 및 음전하 (dap(SiFA)에 인접해 있는 γ-glu의 존재 및 부재)를 포함하는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-67 내지 -76, [^{nat}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-83 내지 -86 및 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-90 내지 -91의 HSA 결합 (%).

도 19: p.i. 24 h에서의 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 (n = 4), [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70 (n = 4), [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 (n = 3), [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91 (n = 3) 및

[^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (n = 4) (각각 100 pmol)의 생체분포 (%ID/g). 데이터는 평균 ± SD로 표시된다.

도 20: p.i. 24 h에서의 A) [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66, B) [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70, C) [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 및 D) [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91 (각각 100 pmol)이 주입된 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 최대 강도 투사.

도 21: AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{18}F]F-[^{nat}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 (p.i. 1 h) 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 (p.i. 2, 4, 24 h) (각각 100 pmol, n = 4)의 생체분포 (%ID/g). 데이터는 평균 ± SD로 표시된다.

도 22: p.i. 24 h에서의 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (40 nmol, n = 2, 흑색) 또는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 (40 nmol, n = 1, 회색)과 공동-투여된 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 (각각 100 pmol)의 생체분포 연구 (%ID/g). 데이터는 평균 ± SD로 표시된다.

도 23: p.i. 30 min에서의 뮤린 혈청 (흑색) 및 소변 (담회색) 중 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 (각각 1 nmol, 35 MBq, n = 3)의 온전한 화합물의 수의 대표적인 RP-HPLC 크로마토그램 (5 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→30% MeCN 및 15 min 동안 0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 30→60% MeCN). 화합물의 품질 관리 크로마토그램은 암회색으로 도시되어 있다.

도 24: p.i. 24 h에서의 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N, [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 및 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-21 (각각 100 pmol)의 생체분포 (%ID/g). 데이터는 평균 ± SD (n = 4)로 표시된다.

도 25: AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 p.i. 1 및 24 h에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 및 p.i. 1 h에서의 [^{nat}Lu]Lu-^{18}F-DOTA-MG-SiFA-23 (n = 1) (각각 100 pmol)의 생체분포 (%ID/g)와 p.i. 24 h에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N의 비교. 데이터는 평균 ± SD (n = 4)로 표시된다.

도 26: AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 p.i. 1, 4 및 24 h에서의 A) [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N, B) [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-21 및 C) [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 (각각 100 pmol)의 대표적인 μSPECT/CT 영상. 종양 (T)은 백색 화살표로 지시되어 있다.

도 27: AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 A) p.i. 1 및 24 h에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-23 및 B) p.i. 1 h에서의 [^{18}F]F-[^{nat}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 (각각 100 pmol)의 대표적인 μSPECT/CT 영상. 종양 (T)은 백색 화살표로 지시되어 있다.

도 28: [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (각각 40 nmol)가 공동-주입된 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 p.i. 24 h에서의 A) [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 및 B) [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 (각각 100 pmol, n = 1)의 대표적인 μSPECT/CT 영상. C) [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (각각 40 nmol)가 공동-주입된 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 선택된 장기에서의 p.i. 24 h에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 (각각 100 pmol, n = 2)의 생체분포 (%ID/g). 데이터는 평균 ± SD로 표시된다.

도 29: 선택된 참조 물질의 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합과 키랄팩(Chiralpak) HSA 칼럼 상에서의 체류 시간 (t_R) 사이의 상관관계를 제시하는 S자형 플롯의 예. 참조 물질의 HSA 결합 값은 이전에 문헌을 통해 공개되었고 (lit. HSA [%]), 각각의 친화도 상수의 로그 값 (log K HSA)이 계산되었다 [31,32].

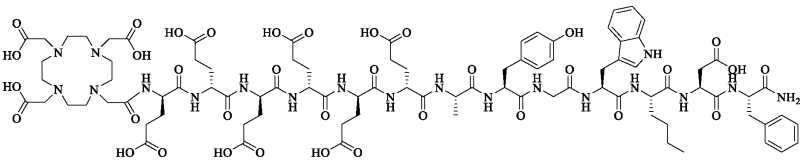
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0206] 실시예에 의해 본 발명이 예시된다.

[0207] **실시예 1 - 미니가스트린의 N-말단 테트라펩티드**

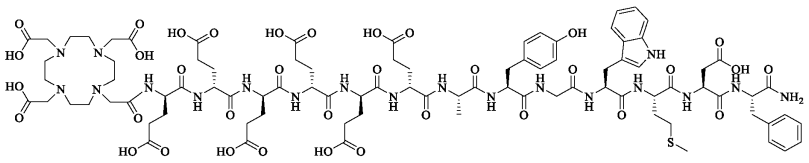
[0208] 1.1. 합성된 CCK-2R 리간드의 개관

[0209] 참조 화합물



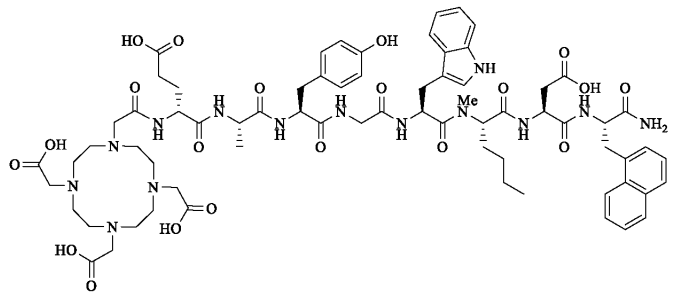
[0210]

[0211] **DOTA-PP-F11N**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.6 min, K' = 3.5; MS (ESI, 양성): $C_{90}H_{123}N_{19}O_{35}$에 대한 m/z 계산치: 2029.8, 실측치: m/z = 1016.4 $[M+2H]^{2+}$.



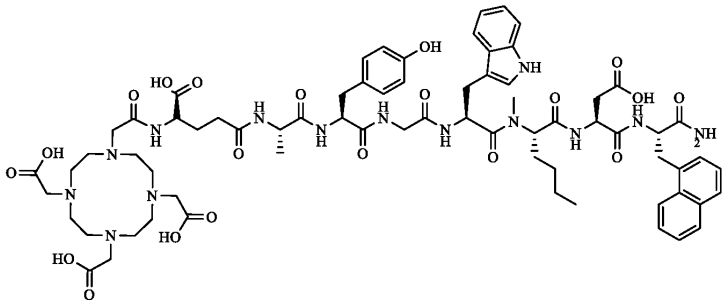
[0212]

[0213] **CP04**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.2 min, K' = 3.3; MS (ESI, 양성): $C_{89}H_{121}N_{19}O_{35}S$에 대한 m/z 계산치: 2047.8, 실측치: m/z = 1024.2 $[M+2H]^{2+}$.



[0214]

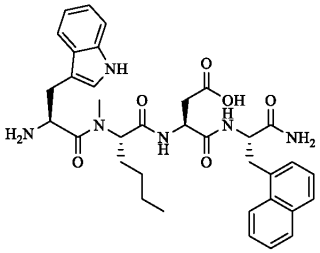
[0215] **DOTA-MGS5**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{70}H_{92}N_{14}O_{20}$에 대한 m/z 계산치: 1448.7, 실측치: m/z = 1449.4 $[M+H]^+$, 725.3 $[M+2H]^{2+}$.



[0216]

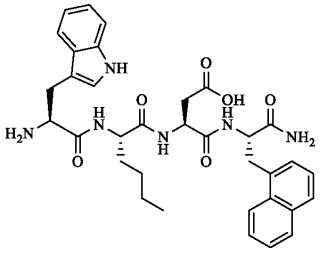
[0217] **DOTA-γ-MGS5**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{70}H_{92}N_{14}O_{20}$에 대한 m/z 계산치: 1448.7, 실측치: m/z = 1449.6 $[M+H]^+$, 725.5 $[M+2H]^{2+}$.

[0218] **변형된 테트라펩티드성 모티프를 함유하는 화합물**



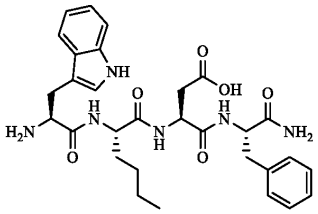
[0219]

[0220] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{35}H_{42}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 642.8, 실측치: m/z = 643.2 $[M+H]^+$.



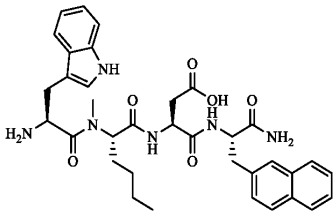
[0221]

[0222] **H-Trp-Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{34}H_{40}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 628.7, 실측치: m/z = 628.3 $[M+H]^+$, 1255.6 $[2M+H]^+$.



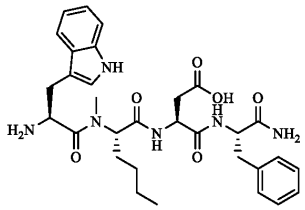
[0223]

[0224] **H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{30}H_{38}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 578.7, 실측치: m/z = 579.2 $[M+H]^+$, 1157.3 $[2M+H]^+$.



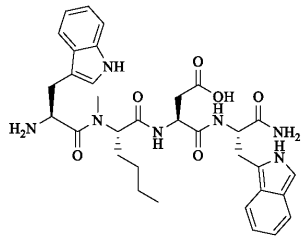
[0225]

[0226] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-2-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{35}H_{42}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 642.8, 실측치: m/z = 643.3 $[M+H]^+$, 1285.9 $[2M+H]^+$.



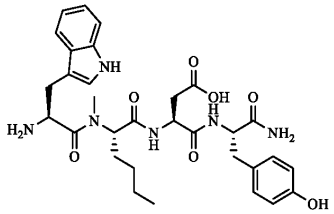
[0227]

[0228] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Phe-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{31}H_{40}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 592.7, 실측치: m/z = 593.3 $[M+H]^+$, 1186.3 $[2M+H]^+$.



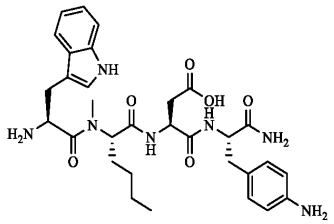
[0229]

[0230] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Trp-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.3 min; MS (ESI, 양성): $C_{33}H_{41}N_7O_6$에 대한 m/z 계산치: 631.7, 실측치: m/z = 632.3 $[M+H]^+$, 1264.8 $[2M+H]^+$.



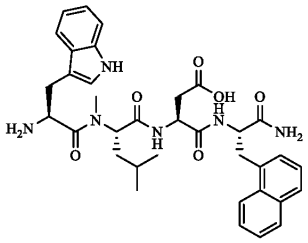
[0231]

[0232] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-Tyr-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 8.79 min; MS (ESI, 양성): $C_{31}H_{40}N_6O_7$에 대한 m/z 계산치: 608.7, 실측치: m/z = 609.3 $[M+H]^+$, 1217.6 $[2M+H]^+$.



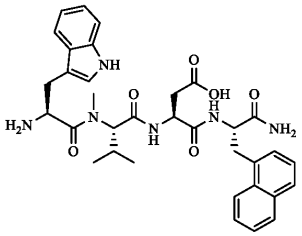
[0233]

[0234] **H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-p-아미노-Phe-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.34 min; MS (ESI, 양성): $C_{31}H_{41}N_7O_6$에 대한 m/z 계산치: 607.3, 실측치: m/z = 608.2 $[M+H]^+$, 1215.6 $[2M+H]^+$.



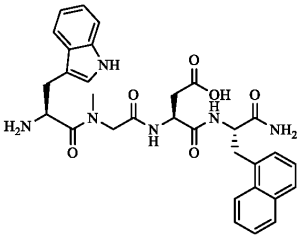
[0235]

[0236] **H-Trp-(N-Me)Leu-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.4 min; MS (ESI, 양성): $C_{35}H_{42}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 642.3, 실측치: m/z = 643.7 $[M+H]^+$, 1285.1 $[2M+H]^+$.



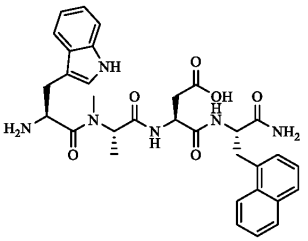
[0237]

[0238] **H-Trp-(N-Me)Val-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.4 min; MS (ESI, 양성): $C_{34}H_{40}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 628.3, 실측치: m/z = 629.3 $[M+H]^+$, 1257.0 $[2M+H]^+$.



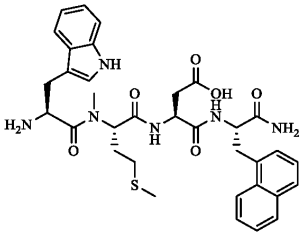
[0239]

[0240] **H-Trp-(N-Me)Gly-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.48 min; MS (ESI, 양성): $C_{31}H_{34}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 586.3, 실측치: m/z = 587.7 $[M+H]^+$.



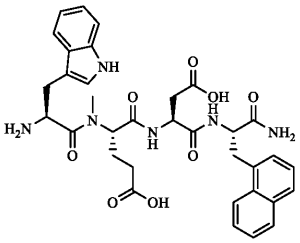
[0241]

[0242] **H-Trp-(N-Me)Ala-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.92 min; MS (ESI, 양성): $C_{32}H_{36}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 600.3, 실측치: m/z = 601.7 $[M+H]^+$, 1202.9 $[2M+H]^+$.



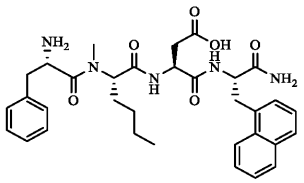
[0243]

[0244] **H-Trp-(N-Me)Met-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{34}H_{40}N_6O_6S$에 대한 m/z 계산치: 660.3, 실측치: m/z = 661.8 $[M+H]^+$.



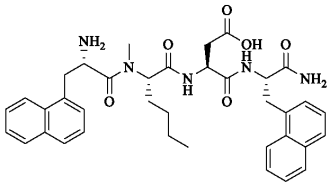
[0245]

[0246] **H-Trp-(N-Me)Glu-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.26 min; MS (ESI, 양성): $C_{34}H_{38}N_6O_8$에 대한 m/z 계산치: 658.3, 실측치: m/z = 659.5 $[M+H]^+$.



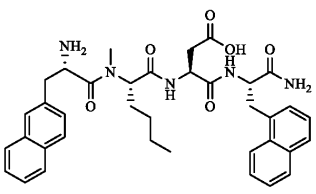
[0247]

[0248] **H-Phe-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{33}H_{41}N_5O_6$에 대한 m/z 계산치: 603.3, 실측치: m/z = 604.6 $[M+H]^+$, 1208.6 $[2M+H]^+$.



[0249]

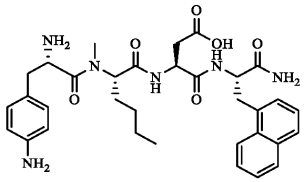
[0250] **H-1-Nal-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{37}H_{43}N_5O_6$에 대한 m/z 계산치: 653.3, 실측치: m/z = 654.0 $[M+H]^+$.



[0251]

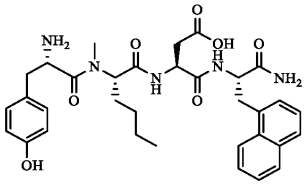
[0252] **H-2-Nal-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm):

t_R = 12.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{37}H_{43}N_5O_6$에 대한 m/z 계산치: 653.3, 실측치: m/z = 654.3 $[M+H]^+$.



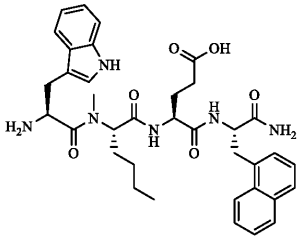
[0253]

[0254] **H-p-아미노-Phe-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 8.65 min; MS (ESI, 양성): $C_{33}H_{42}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 618.3, 실측치: m/z = 619.2 $[M+H]^+$, 1237.5 $[2M+H]^+$.



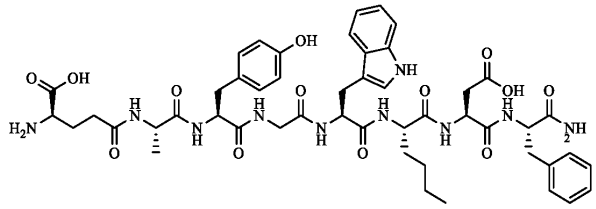
[0255]

[0256] **H-Tyr-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.3 min; MS (ESI, 양성): $C_{33}H_{41}N_5O_7$에 대한 m/z 계산치: 619.3, 실측치: m/z = 620.3 $[M+H]^+$, 1240.2 $[2M+H]^+$.



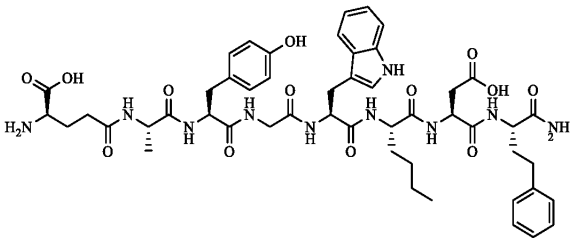
[0257]

[0258] **H-Trp-(N-Me)Nle-Glu-1-Nal-NH_2**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{36}H_{44}N_6O_6$에 대한 m/z 계산치: 656.3, 실측치: m/z = 656.9 $[M+H]^+$, 1314.3 $[2M+H]^+$.



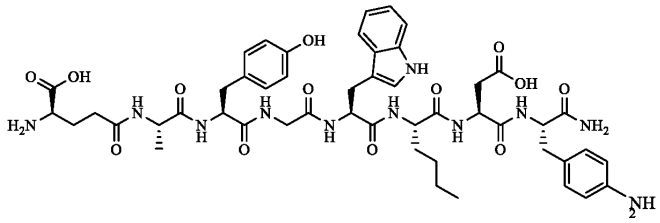
[0259]

[0260] **H-ɣ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2 (CCK-32)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.7 min; MS (ESI, 양성): $C_{49}H_{62}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 998.5, 실측치: m/z = 998.7 $[M+H]^+$.



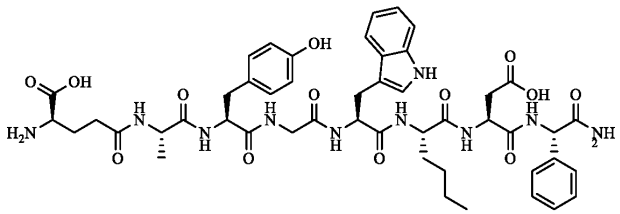
[0261]

[0262] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(호모-Phe)-NH_2 (CCK-33)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{50}H_{64}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1012.5, 실측치: m/z = 1013.6 $[M+H]^+$, 507.4 $[M+2H]^{2+}$.



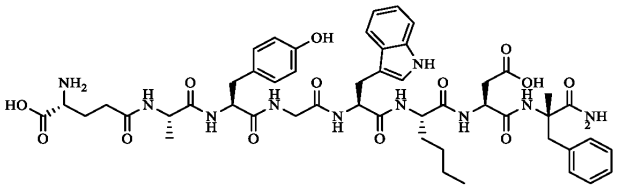
[0263]

[0264] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(p-아미노-Phe)-NH_2 (CCK-34)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{49}H_{63}N_{11}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1014.1, 실측치: m/z = 1014.5 $[M+H]^+$, 507.9 $[M+2H]^{2+}$.



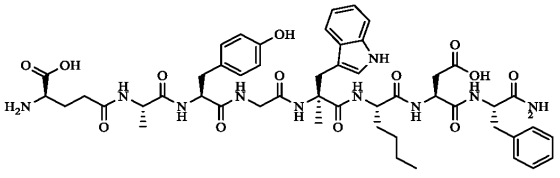
[0265]

[0266] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phg-NH_2 (CCK-35)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{48}H_{60}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 984.4, 실측치: m/z = 985.6 $[M+H]^+$, 1971.4 $[2M+H]^+$.



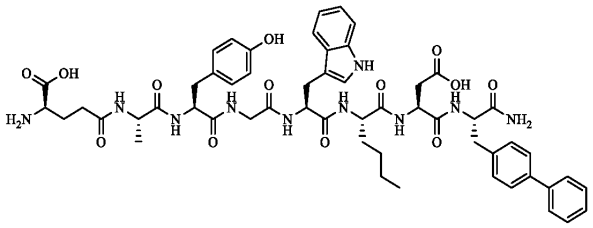
[0267]

[0268] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(α-Me)Phe-NH_2 (CCK-36)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{50}H_{64}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1012.5, 실측치: m/z = 1013.3 $[M+H]^+$.



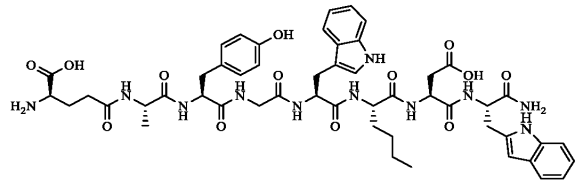
[0269]

[0270] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-(α-Me)Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2 (CCK-37)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{50}H_{64}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1013.2, 실측치: m/z = 1013.2 $[M+H]^+$, 507.3 $[M+2H]^{2+}$.



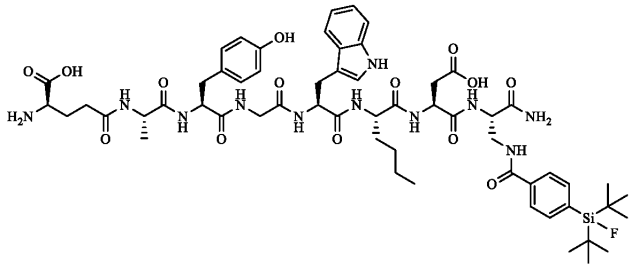
[0271]

[0272] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Bip-NH_2 (CCK-38)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.3 min; MS (ESI, 양성): $C_{55}H_{66}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1074.5, 실측치: m/z = 1075.1 $[M+H]^+$, 565.2 $[M+2H]^{2+}$.



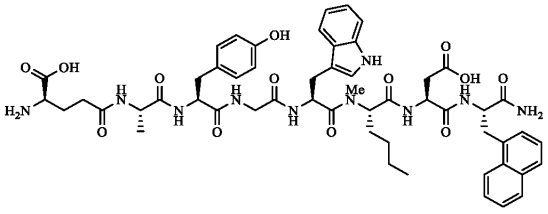
[0273]

[0274] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Trp-NH_2 (CCK-39)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.7 min; MS (ESI, 양성): $C_{51}H_{63}N_{11}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1037.5, 실측치: m/z = 1038.2 $[M+H]^+$, 519.8 $[M+2H]^{2+}$.



[0275]

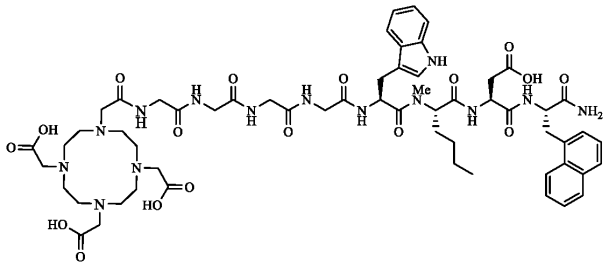
[0276] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Dap(SiFA)-NH_2 (CCK-48)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 14.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{58}H_{80}FN_{11}O_{14}Si$에 대한 m/z 계산치: 1201.6, 실측치: m/z = 1202.8 $[M+H]^+$, 602.2 $[M+2H]^{2+}$.



[0277]

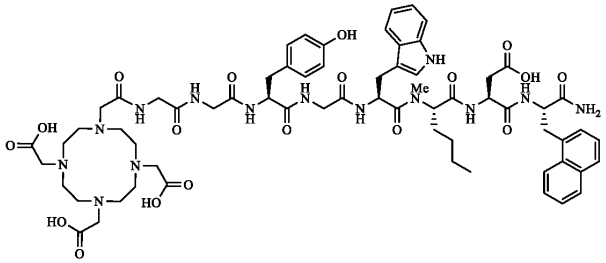
[0278] **H-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (CCK-49)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.4 min; MS (ESI, 양성): $C_{54}H_{66}N_{10}O_{13}$에 대한 m/z 계산치: 1062.5, 실측치: m/z = 1062.8 $[M+H]^+$.

[0279] 글리신 스캔 유도체



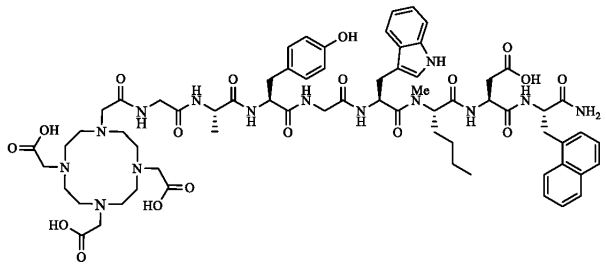
[0280]

[0281] **DOTA-(Gly)$_4$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-55)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{59}H_{80}N_{14}O_{17}$에 대한 m/z 계산치: 1201.6, 실측치: m/z = 1257.0 $[M+H]^+$, 629.0 $[M+2H]^{2+}$.



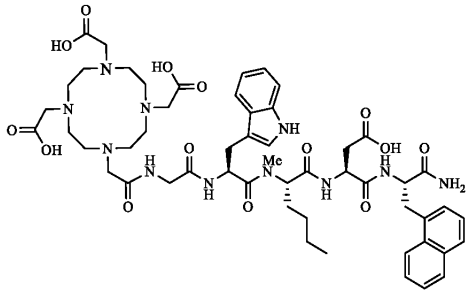
[0282]

[0283] **DOTA-(Gly)$_2$-Tyr-Gly-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-56)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{56}H_{86}N_{14}O_{18}$에 대한 m/z 계산치: 1362.6, 실측치: m/z = 1363.1 $[M+H]^+$, 682.0 $[M+2H]^{2+}$.



[0284]

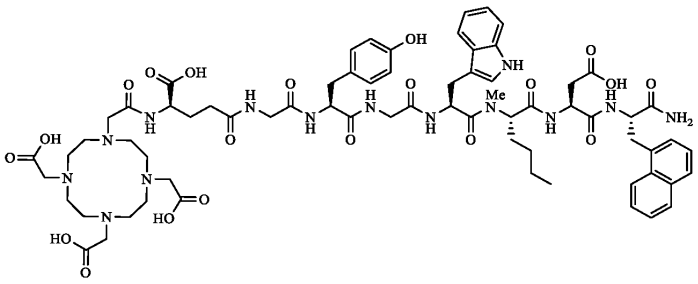
[0285] **DOTA-Gly-Ala-Tyr-Gly-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-57)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{57}H_{88}N_{14}O_{18}$에 대한 m/z 계산치: 1376.6, 실측치: m/z = 1377.1 $[M+H]^+$, 689.1 $[M+2H]^{2+}$.



[0286]

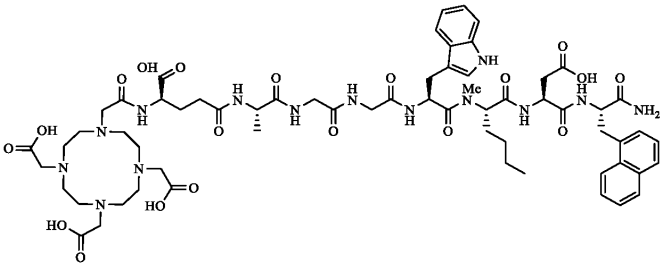
[0287] **DOTA-Gly-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-58)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15

min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{53}H_{71}N_{11}O_{14}$에 대한 m/z 계산치: 1085.5, 실측치: m/z = 1086.6 $[M+H]^+$, 544.0 $[M+2H]^{2+}$.



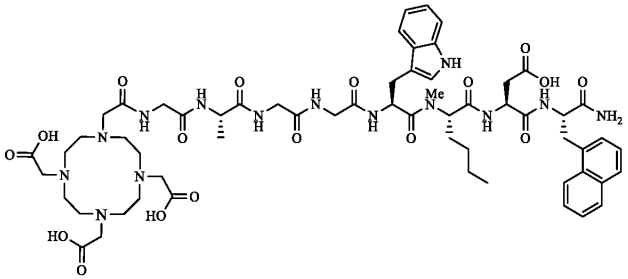
[0288]

[0289] **DOTA-γ-glu-Gly-Tyr-Gly-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-59)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{69}H_{90}N_{14}O_{20}$에 대한 m/z 계산치: 1434.7, 실측치: m/z = 1436.6 $[M+H]^+$, 719.0 $[M+2H]^{2+}$.



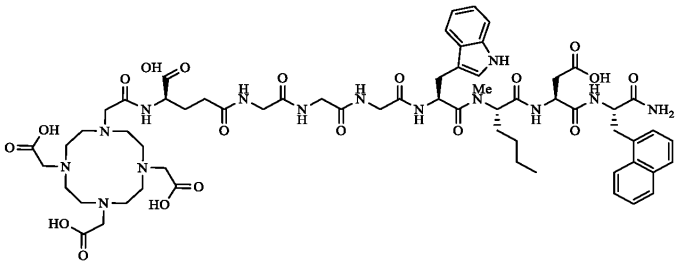
[0290]

[0291] **DOTA-γ-glu-Ala-$(Gly)_2$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-60)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{53}H_{86}N_{14}O_{19}$에 대한 m/z 계산치: 1342.6, 실측치: m/z = 1343.9 $[M+H]^+$, 672.7 $[M+2H]^{2+}$.



[0292]

[0293] **DOTA-Gly-Ala-$(Gly)_2$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-61)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{60}H_{82}N_{14}O_{17}$에 대한 m/z 계산치: 1270.6, 실측치: m/z = 1272.4 $[M+H]^+$, 636.9 $[M+2H]^{2+}$.

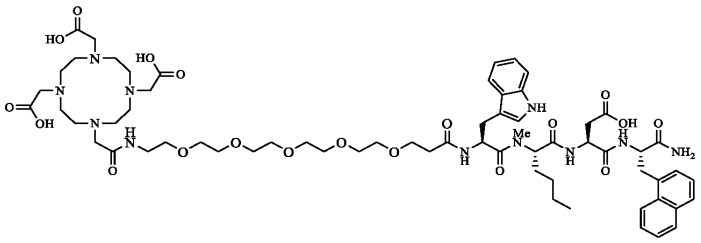


[0294]

[0295] **DOTA-γ-glu-$(Gly)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-62)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70%

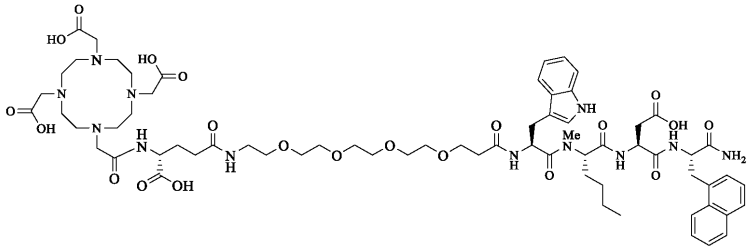
MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{62}H_{84}N_{14}O_{19}$에 대한 m/z 계산치: 1329.4, 실측치: m/z = 1330.5 $[M+H]^+$, 665.8 $[M+2H]^{2+}$.

[0296] **PEG 링커를 함유하는 화합물**



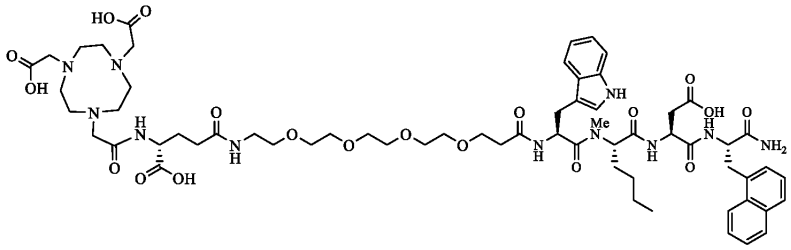
[0297]

[0298] **DOTA-$(PEG)_4$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-50)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{64}H_{93}N_{11}O_{19}$에 대한 m/z 계산치: 1319.7, 실측치: m/z = 1319.7 $[M+H]^+$, 659.9 $[M+2H]^{2+}$.



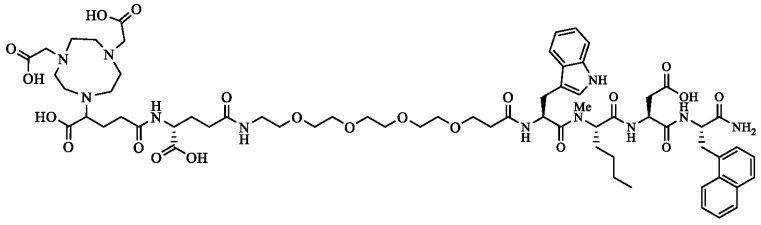
[0299]

[0300] **DOTA-γ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-66)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{67}H_{96}N_{12}O_{21}$에 대한 m/z 계산치: 1405.6, 실측치: m/z = 1405.3 $[M+H]^+$, 702.8 $[M+2H]^{2+}$.



[0301]

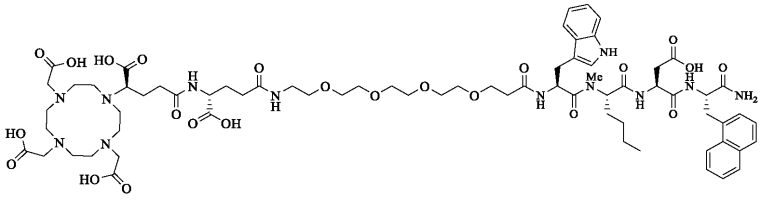
[0302] **NOTA-γ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (NOTA-CCK-66)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{63}H_{89}N_{11}O_{19}$에 대한 m/z 계산치: 1303.6, 실측치: m/z = 1304.0 $[M+H]^+$, 652.9 $[M+2H]^{2+}$.



[0303]

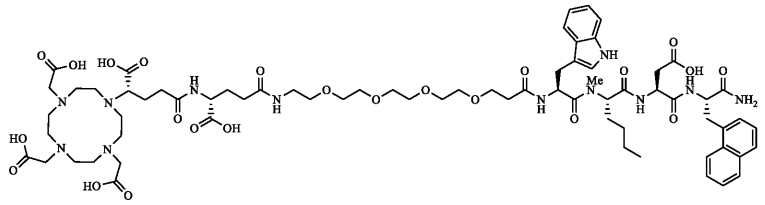
[0304] **NODAGA-γ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (NODAGA-CCK-66)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.4 min; MS (ESI, 양성): $C_{66}H_{93}N_{11}O_{21}$에 대한 m/z 계산치: 1376.5,

실측치: m/z = 1375.9 $[M+H]^+$, 689.2 $[M+2H]^{2+}$.



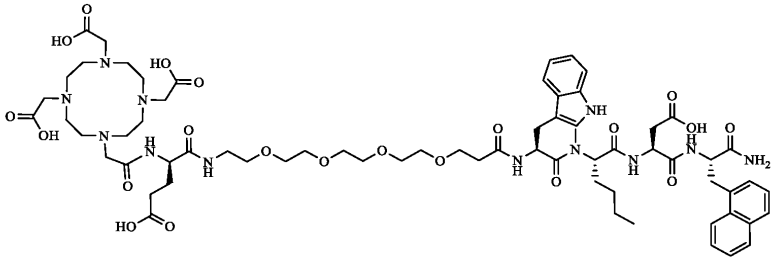
[0305]

[0306] **(R)-DOTAGA-γ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 ((R)-DOTAGA-CCK-66)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{70}H_{100}N_{12}O_{23}$에 대한 m/z 계산치: 1477.6, 실측치: m/z = 1477.4 $[M+H]^+$, 739.7 $[M+2H]^{2+}$.



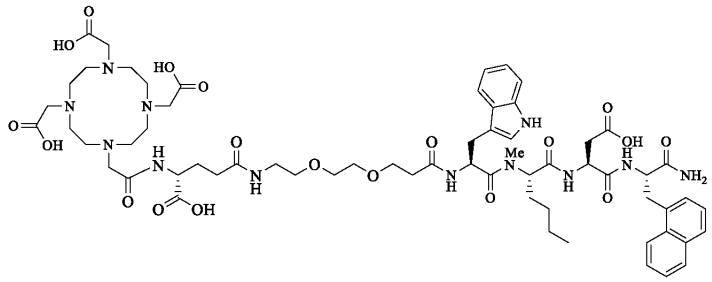
[0307]

[0308] **(S)-DOTAGA-γ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 ((S)-DOTAGA-CCK-66)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{70}H_{100}N_{12}O_{23}$에 대한 m/z 계산치: 1477.6, 실측치: m/z = 1477.4 $[M+H]^+$, 739.6 $[M+2H]^{2+}$.



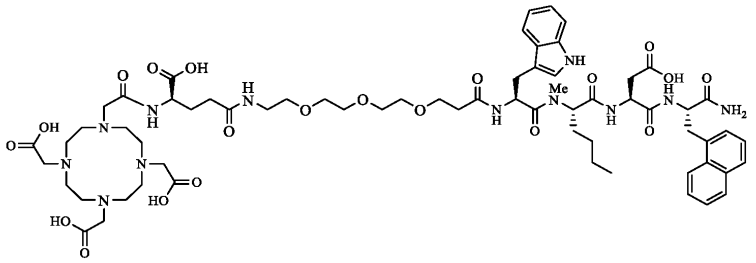
[0309]

[0310] **DOTA-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-66.2)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{67}H_{96}N_{12}O_{21}$에 대한 m/z 계산치: 1405.6, 실측치: m/z = 1405.9 $[M+H]^+$, 703.6 $[M+2H]^{2+}$.



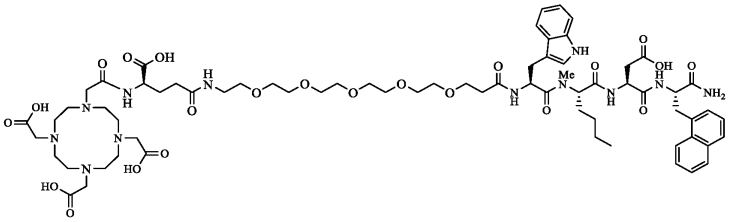
[0311]

[0312] **DOTA-γ-glu-PEG-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-CCK-77)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{62}H_{86}N_{12}O_{19}$에 대한 m/z 계산치: 1303.4, 실측치: m/z = 1302.9 $[M+H]^+$, 651.6 $[M+2H]^{2+}$.



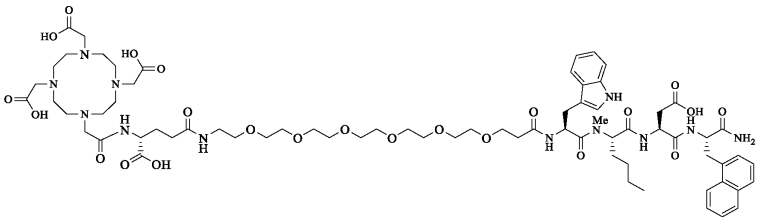
[0313]

[0314] **DOTA-γ-glu-(PEG)$_2$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-63)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{65}H_{92}N_{12}O_{20}$에 대한 m/z 계산치: 1361.5, 실측치: m/z = 1359.5 $[M+H]^+$, 680.6 $[M+2H]^{2+}$.



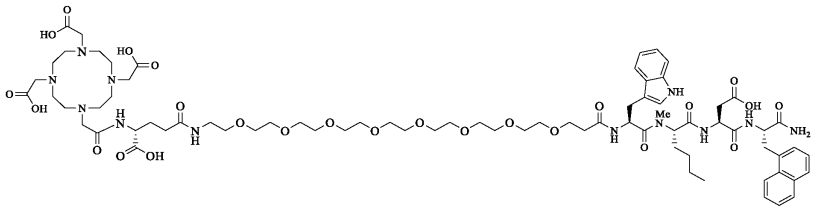
[0315]

[0316] **DOTA-γ-glu-(PEG)$_4$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-78)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{69}H_{100}N_{12}O_{22}$에 대한 m/z 계산치: 1449.6, 실측치: m/z = 1447.4 $[M+H]^+$, 724.3 $[M+2H]^{2+}$.



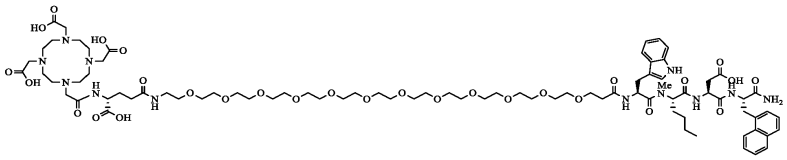
[0317]

[0318] **DOTA-γ-glu-(PEG)$_5$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-79)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.1 min; MS (ESI, 양성): $C_{71}H_{104}N_{12}O_{23}$에 대한 m/z 계산치: 1493.7, 실측치: m/z = 1491.1 $[M+H]^+$, 746.3 $[M+2H]^{2+}$.



[0319]

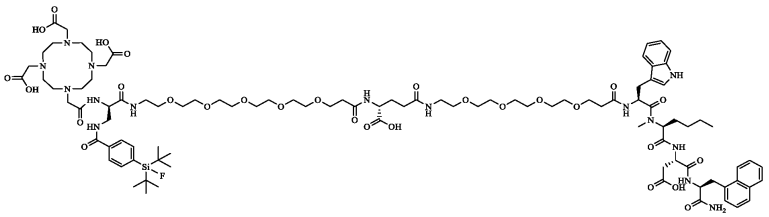
[0320] **DOTA-γ-glu-(PEG)$_7$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-80)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.1 min; MS (ESI, 양성): $C_{75}H_{112}N_{12}O_{25}$에 대한 m/z 계산치: 1581.8, 실측치: m/z = 1582.4 $[M+H]^+$, 792.0 $[M+2H]^{2+}$.



[0321]

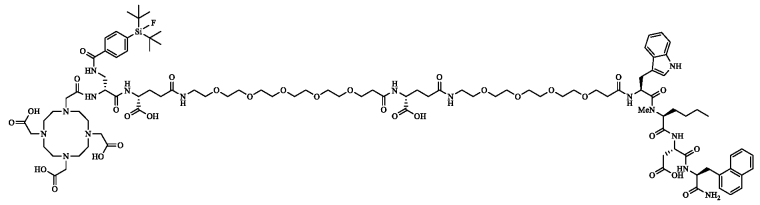
[0322] **DOTA-ɣ-glu-(PEG)$_{11}$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-CCK-81)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.3 min; MS (ESI, 양성): $C_{83}H_{128}N_{12}O_{29}$에 대한 m/z 계산치: 1758.0, 실측치: m/z = 1759.0 $[M+H]^+$, 880.0 $[M+2H]^{2+}$.

[0323] **PEG화된 rhCCK 리간드**



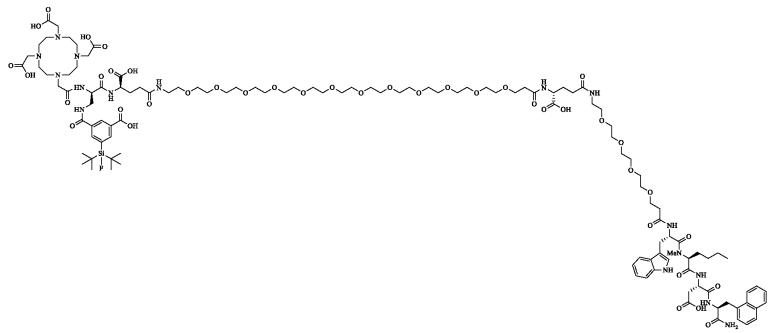
[0324]

[0325] **DOTA-dap(SiFA)-(PEG)$_4$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-67)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 14.1 min; MS (ESI, 양성): $C_{98}H_{148}FN_{15}O_{29}Si$에 대한 m/z 계산치: 2047.4, 실측치: m/z = 1022.9 $[M+2H]^{2+}$.



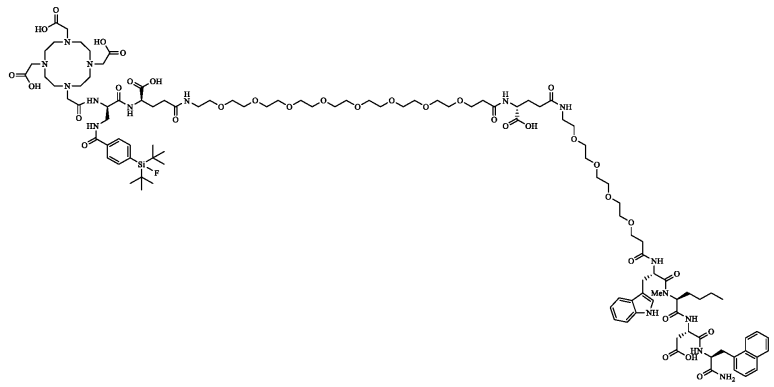
[0326]

[0327] **DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-(PEG)$_4$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-68)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.3 min; MS (ESI, 양성): $C_{103}H_{155}FN_{16}O_{32}Si$에 대한 m/z 계산치: 2175.1, 실측치: m/z = 1087.3 $[M+2H]^{2+}$.



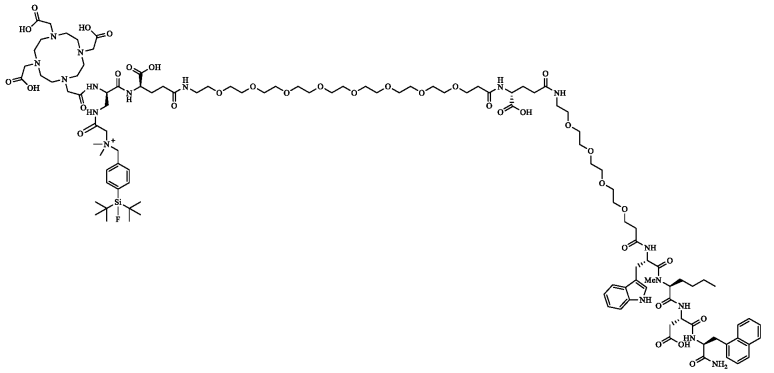
[0328]

[0329] **DOTA-dap(SiFA-ipa)-ɣ-glu-(PEG)$_{11}$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-69)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.7 min; MS (ESI, 양성): $C_{118}H_{183}FN_{16}O_{41}Si$에 대한 m/z 계산치: 2528.9, 실측치: m/z = 1264.9 $[M+2H]^{2+}$.



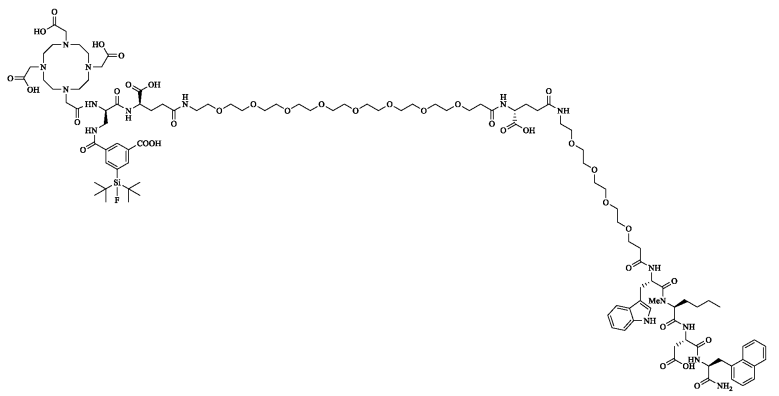
[0330]

[0331] **DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-(PEG)$_7$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-70)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{103}H_{155}FN_{16}O_{32}Si$에 대한 m/z 계산치: 2175.1, 실측치: m/z = 1153.8 $[M+2H]^{2+}$.



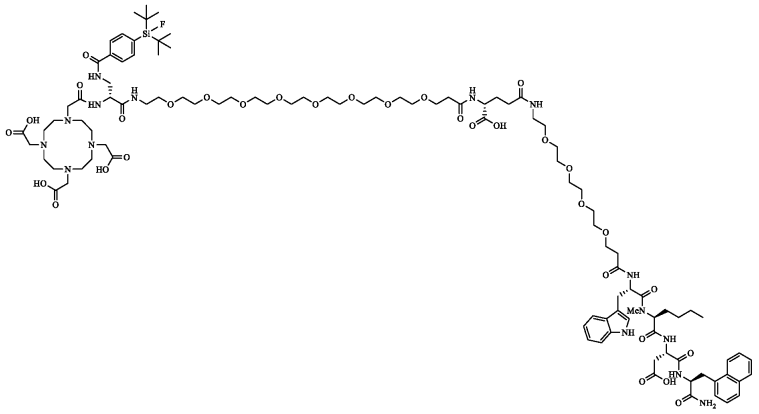
[0332]

[0333] **DOTA-dap(SiFAlin)-γ-glu-(PEG)$_7$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-71)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{113}H_{177}FN_{17}O_{35}Si^+$에 대한 m/z 계산치: 2380.8, 실측치: m/z = 1191.0 $[M+2H]^{2+}$, 794.1 $[M+3H]^{3+}$.



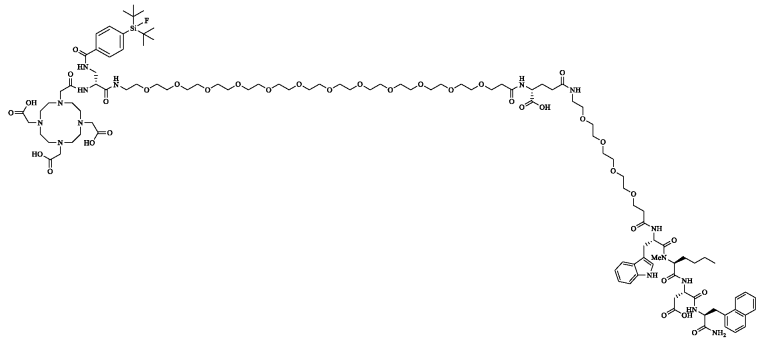
[0334]

[0335] **DOTA-dap(SiFA-ipa)-γ-glu-(PEG)$_7$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-72)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{110}H_{167}FN_{16}O_{37}Si$에 대한 m/z 계산치: 2352.7, 실측치: m/z = 1177.8 $[M+2H]^{2+}$, 785.4 $[M+3H]^{3+}$.



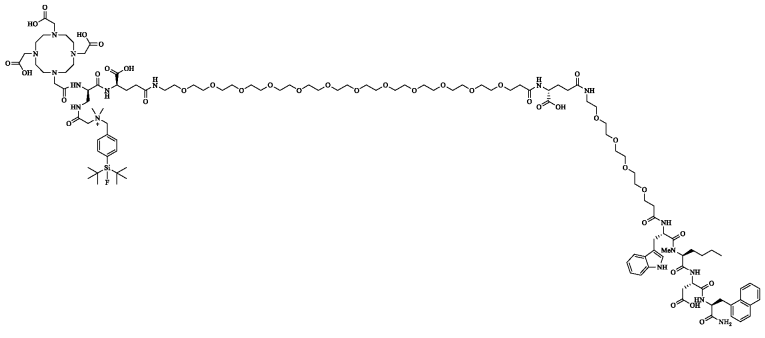
[0336]

[0337] **DOTA-dap(SiFA)-(PEG)$_7$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-73)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 14.1 min; MS (ESI, 양성): $C_{104}H_{160}FN_{15}O_{32}Si$에 대한 m/z 계산치: 2179.6, 실측치: m/z = 1090.6 $[M+2H]^{2+}$, 727.3 $[M+3H]^{3+}$.



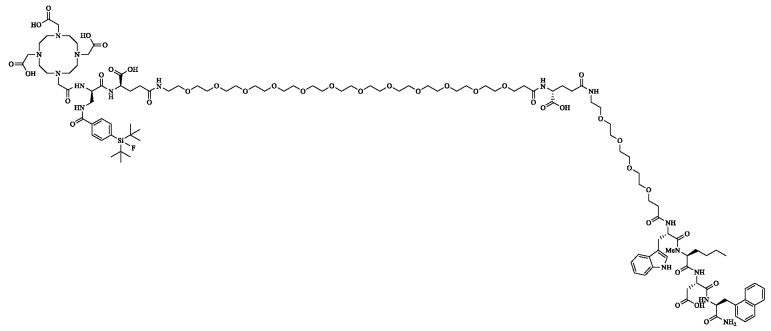
[0338]

[0339] **DOTA-dap(SiFA)-(PEG)$_{11}$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-74)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 14.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{112}H_{176}FN_{15}O_{36}Si$에 대한 m/z 계산치: 2355.8, 실측치: m/z = 1176.8 $[M+2H]^{2+}$, 784.8 $[M+3H]^{3+}$.



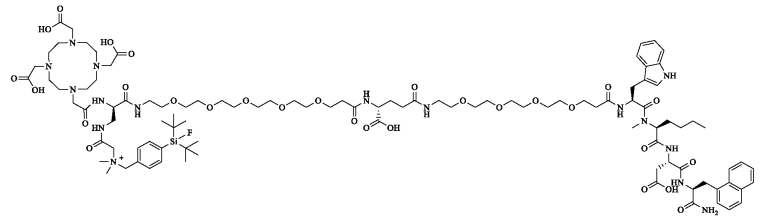
[0340]

[0341] **DOTA-dap(SiFAlin)-ɣ-glu-(PEG)$_{11}$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-75)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{121}H_{193}FN_{17}O_{39}Si^+$에 대한 m/z 계산치: 2557.0, 실측치: m/z = 1279.5 $[M+2H]^{2+}$, 853.2 $[M+3H]^{3+}$.



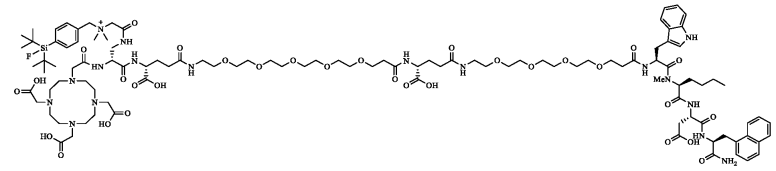
[0342]

[0343] **DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-(PEG)$_{11}$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-76)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{117}H_{183}FN_{16}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2484.9, 실측치: m/z = 1241.4 $[M+2H]^{2+}$, 827.9 $[M+3H]^{3+}$.



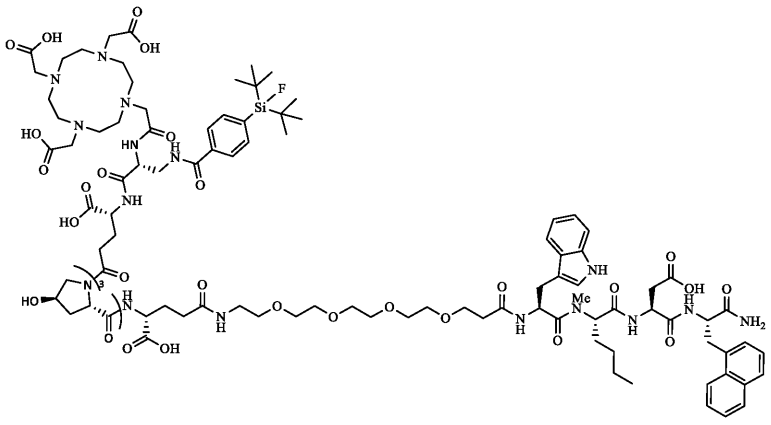
[0344]

[0345] **DOTA-dap(SiFAlin)-(PEG)$_4$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-90)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{102}H_{158}FN_{16}O_{29}Si^+$에 대한 m/z 계산치: 2119.6, 실측치: m/z = 1061.7 $[M+2H]^{2+}$, 708.2 $[M+3H]^{3+}$.



[0346]

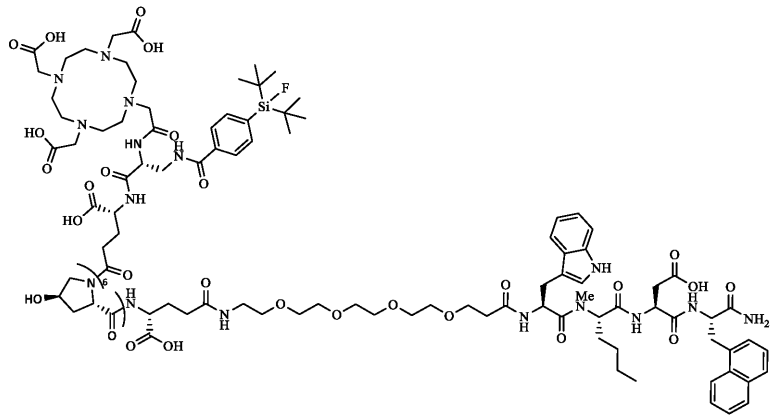
[0347] **DOTA-dap(SiFAlin)-ɣ-glu-(PEG)$_4$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-91)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.1 min; MS (ESI, 양성): $C_{107}H_{165}FN_{17}O_{32}Si^+$에 대한 m/z 계산치: 2248.7, 실측치: m/z = 1125.6 $[M+2H]^{2+}$, 750.8 $[M+3H]^{3+}$.



[0348]

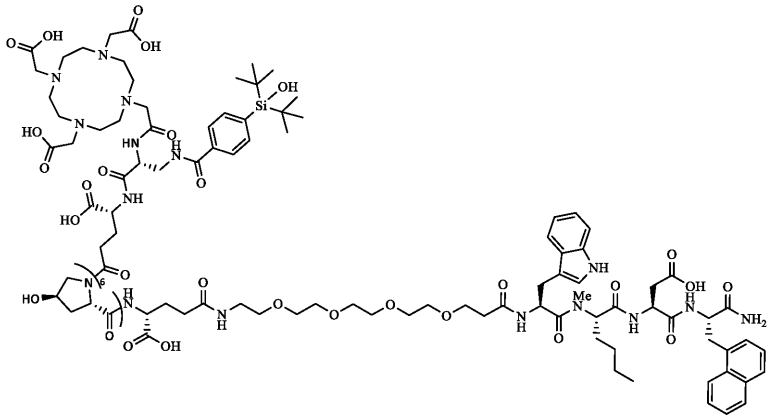
[0349] **DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-(Hyp)$_3$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-83)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 13.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{105}H_{151}FN_{18}O_{32}Si$에

대한 m/z 계산치: 2224.5, 실측치: m/z = 1113.8 $[M+2H]^{2+}$, 743.1 $[M+3H]^{3+}$.



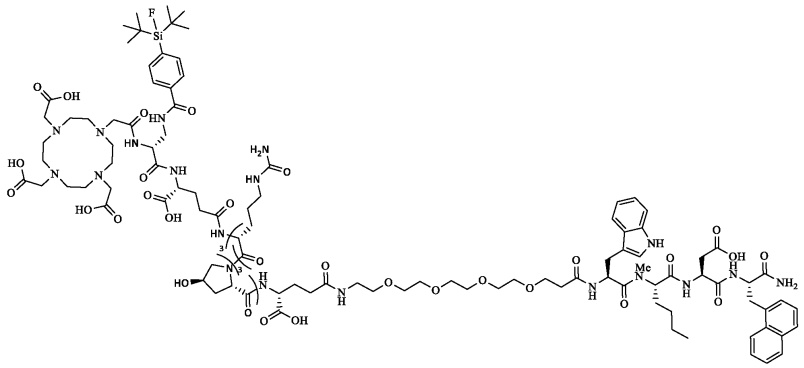
[0350]

[0351] **DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-(Hyp)$_6$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-84)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{120}H_{172}FN_{21}O_{36}Si$에 대한 m/z 계산치: 2563.9, 실측치: m/z = 1284.3 $[M+2H]^{2+}$, 856.5 $[M+3H]^{3+}$.



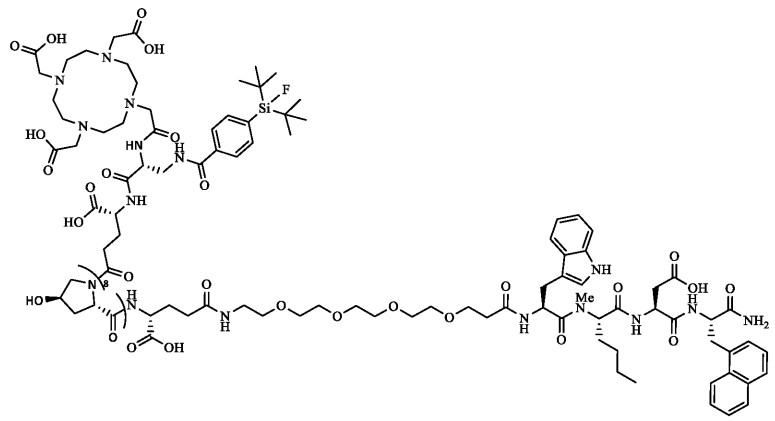
[0352]

[0353] **DOTA-dap(SiOH)-γ-glu-(Hyp)$_6$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-84.2)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.7 min; MS (ESI, 양성): $C_{120}H_{173}N_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2561.9, 실측치: m/z = 1281.6 $[M+2H]^{2+}$, 854.2 $[M+3H]^{3+}$.



[0354]

[0355] **DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-(cit)$_3$-(Hyp)$_3$-γ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-85)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.6 min; MS (ESI, 양성): $C_{123}H_{184}FN_{27}O_{38}Si$에 대한 m/z 계산치: 2696.1, 실측치: m/z = 1349.8 $[M+2H]^{2+}$, 900.6 $[M+3H]^{3+}$.



[0356]

[0357] **DOTA-dap(SiFA)-ɣ-glu-(Hyp)$_8$-ɣ-glu-(PEG)$_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH$_2$ (DOTA-rhCCK-86)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.2 min; MS (ESI, 양성): $C_{130}H_{186}FN_{23}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2790.1, 실측치: m/z = 1396.1 $[M+2H]^{2+}$, 930.9 $[M+3H]^{3+}$.

[0358] **1.2. 변형된 Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal 모티프를 갖는 화합물의 시험관내 결과**

[0359] 대부분의 CCK-2R-표적화된 화합물이 적어도 7개의 아미노산 (뿐만 아니라 링커 및 킬레이터)으로 이루어지지만, 몇몇 간행물에는 4개의 N-말단 아미노산이 높은 CCK-2R 친화도에 결정적인 것으로 서술되어 있다 [28,30,33]. 실제로, 모든 ^{nat}Lu-표지된 참조 화합물이 높은 CCK-2R 친화도 (4.9-12.8 nM)를 나타내지만, N-말단 (4개의) 아미노산 서열 내에서 변형된 대부분의 화합물은 약간 또는 현저히 감소된 CCK-2R 친화도를 나타냈다 (**표 1**).

[0360] **표 1**: ^{nat}Lu-표지된 참조물 DOTA-PP-F11N (DOTA-glu^1-glu^2-glu^3-glu^4-glu^5-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2), DOTA-PP-ɣ-F11N (DOTA-ɣ-glu^1-ɣ-glu^2-ɣ-glu^3-ɣ-glu^4-ɣ-glu^5-ɣ-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2), DOTA-MGS5 (DOTA-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-(N-Me)Nle^{11}-Asp^{12}-1-Nal^{13}-NH_2), DOTA-ɣ-MGS5 (DOTA-ɣ-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-(N-Me)Nle^{11}-Asp^{12}-1-Nal^{13}-NH_2) 및 CP04 (DOTA-glu^1-glu^2-glu^3-glu^4-glu^5-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-Met^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2)와 비교하여 나타낸, 테트라펩티드성 결합 모티프 내에 변형을 함유하는 화합물의 AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨).

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (n = 3)
[^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N	12.8 ± 2.8
[^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-γ-F11N	7.5 ± 0.5
[^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5	5.2 ± 0.8
[^{nat}Lu]Lu-DOTA-γ-MGS5	4.9 ± 0.8
[^{nat}Lu]Lu-CP04	11.2 ± 0.2
CCK-32 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2)	21.4 ± 2.9
CCK-33 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(호모-Phe)-NH_2)	>1,000
CCK-34 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(p-아미노-Phe)-NH_2)	16.9 ± 2.3
CCK-35 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Phg-NH_2)	>10,000
CCK-36 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-(α-Me)Phe-NH_2)	>10,000
CCK-37 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-(α-Me)Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2)	68.8 ± 10.3
CCK-38 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Bip-NH_2)	>1,000
CCK-39 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Trp-NH_2)	45.8 ± 12.3
CCK-48 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Nle-Asp-Dap(SiFA)-NH_2)	>10,000
CCK-49 (*H*-γ-glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2)	5.6 ± 0.4
H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2	466 ± 88
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	6.4 ± 1.0
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-Phe-NH_2	4.5 ± 0.6
H-Trp-Nle-Asp-1-Nal-NH_2	297 ± 16
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-Tyr-NH_2	5.7 ± 0.5
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-Trp-NH_2	18.8 ± 0.5
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-2-Nal-NH_2	102 ± 9
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Asp-p-아미노-Phe-NH_2	3.55 ± 0.75
H-Trp-(*N*-Me)Leu-Asp-1-Nal-NH_2	9.27 ± 1.52
H-Trp-(*N*-Me)Val-Asp-1-Nal-NH_2	>10.000
H-Trp-(*N*-Me)Gly-Asp-1-Nal-NH_2	1873 ± 382
H-Trp-(*N*-Me)Ala-Asp-1-Nal-NH_2	4590 ± 1209
H-Trp-(*N*-Me)Met-Asp-1-Nal-NH_2	6.08 ± 0.60
H-Trp-(*N*-Me)Glu-Asp-1-Nal-NH_2	4689 ± 1189
H-Phe-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	6553 ± 1981
H-1-Nal-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	592 ± 69
H-2-Nal-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	79 ± 16
H-p-아미노-Phe-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	3977 ± 1621
H-Tyr-(*N*-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2	4445 ± 391
H-Trp-(*N*-Me)Nle-Glu-1-Nal-NH_2	241 ± 50

[0361]

[0362] 흥미롭게도, DOTA 킬레이터를 갖지 않으며 그의 6개의 D-글루타메이트를 갖지 않는 DOTA-PP-F11N (CCK-32)은 그의 모 펩티드보다 낮은 CCK-2R 친화도를 보였다. CCK-32에서 C-말단 Phe가 유사한 방향족 아미노산으로 치환된 것 (CCK-33 내지 -39)은 대부분의 화합물에서 CCK-2R 친화도의 완전한 상실이 유도되었다. CCK-32에서 Trp가 (α-Me)Trp로 치환된 것은 3배 더 높은 IC_{50} 값이 유도된 반면에, Phe가 p-아미노-Phe로 치환된 것은 약간 감소된 IC_{50} 값이 유도되었다. 모든 이들 관찰결과는 C-말단에서의 보존된 자리를 시사한다.

[0363] 흥미롭게도, CCK-32와 2개의 위치에서만 상이한 (Nle 대신에 (N-Me)Nle 및 Phe 대신에 1-Nal), DOTA 킬레이터를 갖지 않는 DOTA-MGS5 (CCK-49)는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비슷한 IC_{50} 값을 제시하였으며, CCK-32보다 대략 4배 더 낮은 IC_{50} 값을 제시하였다. 놀랍게도, 4개의 N-말단 아미노산으로만 이루어진 말단절단된 DOTA-PP-F11N 모티프 (H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2)의 평가는 낮은 CCK-2R 친화도를 나타낸 반면에, 말단절단된 DOTA-MGS5 모티프 (H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2)는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비슷하게 높은 CCK-2R 친화도를 나타냈다 (**도 1**).

[0364] 이들 결과는 DOTA-MGS5의 4개의 N-말단 아미노산 (H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2)이면 높은 CCK-2R 친화도를 위해 충분한 반면에, DOTA-PP-F11N 및 그의 유사체의 경우에는 완전한 펩티드 구조만이 낮은 나노몰 범위의 CCK-2R 친화도를 나타낸다는 가설로 이어졌다.

[0365] 테트라펩티드성 구조 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (DOTA-MGS5로부터 유래됨)의 추가의 조사에서, 1-Nal의 Phe에 의한 치환이 훨씬 더 높은 CCK-2R 친화도를 유도하는 반면에, H-Trp-Nle-Asp-Phe-NH_2 (DOTA-PP-F11N으로부터 유래됨)에서의 Phe의 1-Nal에 의한 치환이 뚜렷하게 감소된 CCK-2R 친화도를 유도하는 것으로 나타났다. 따라서, CCK-2-표적화된 테트라펩티드의 높은 CCK-2R 친화도가 Trp-Nle 결합 사이의 아미드 질소에 메틸 기가 존재하는 경우에만 관찰될 수 있다는 것이 시사되었다 (**도 2**). 테트라펩티드 내에 이러한 (N-Me)Nle 모티프가 유지되면, 심지어 C-말단에서의 치환이 허용된다 (H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2에서 1-Nal 대신에 Trp, Tyr 및 p-아미노-Phe). 그러나, 1-Nal의 2-Nal에 의한 치환은 CCK-2R 친화도의 현저한 상실을 초래하기 때문에, 이 위치는 여전히 보존된다.

[0366] 추가로, Nle의 Met 및 Leu에 의한 치환은 낮은 나노몰 범위의 CCK-2R 친화도를 갖는 테트라펩티드를 유도한 반면에, Val, Gly, Ala 및 Glu에 의한 치환은 높은 CCK-2R 친화도와 관련하여 허용되지 않았다. 따라서, 본 발명자들은 높은 CCK-2R 친화도를 유지하기 위해서는 Nle가 유사한 길이를 갖는 지방족 아미노산에 의해서만 교환될 수 있는 것으로 가정하였다. 이 위치에 음전하를 갖거나 또는 보다 작은 지방족 측쇄를 갖는 아미노산은 어느 것도 성공적으로 배치될 수 없다. Trp의 다양한 방향족 아미노산 예컨대 Phe, 1-Nal, 2-Nal, p-아미노-Phe 또는 Tyr에 의한 치환은 CCK-2R 친화도와 관련하여 어떠한 개선도 나타내지 않았으며, 이는 상기 위치에서의 Trp 모이어티가 화합물의 높은 결합 친화도를 위해 필수적이라는 가정으로 이어졌다. 추가로, Ala가 Glu로 치환될 때 CCK-2R 친화도의 현저한 상실이 관찰되었다.

[0367] **1.3. 글리신 스캔 유도체의 시험관내 결과**

[0368] DOTA-MGS5의 4개의 N-말단 아미노산만을 사용하여 충분한 CCK-2R 친화도에 관한 본 발명자들의 가설을 확증하기 위해, 모 펩티드의 나머지 4개의 아미노산의 글리신 스캔을 수행하였다. 그에 따라, 신규한 접합체의 AR4-2J 세포 상에서의 수용체 친화도 (IC_{50}) 뿐만 아니라 친지성 ($logD_{7.4}$)을 결정하였다 (**표 2**).

[0369] **표 2**: 글리신 스캔 유도체의 AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨) 및 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 기술됨). 이러한 시리즈의 모든 화합물은 동일한 C-말단 서열을 공유한다 (H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2). N-말단에서의 구조적 차이가 괄호 안에 주어진다.

[0370]

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}Lu-표지됨	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{177}Lu-표지됨
DOTA-MGS5 (DOTA-glu-Ala-Tyr-Gly-)	5.2 ± 0.8	−2.21 ± 0.08
DOTA-CCK-55 (DOTA-$(Gly)_4$-)	8.5 ± 1.2	−2.09 ± 0.07
DOTA-CCK-56 (DOTA-$(Gly)_2$-Tyr-Gly-)	4.9 ± 0.8	−1.38 ± 0.07
DOTA-CCK-57 (DOTA-Gly-Ala-Tyr-Gly-)	5.6 ± 0.5	−1.26 ± 0.08
DOTA-CCK-58 (DOTA-Gly-)	98.9 ± 8.4	−1.34 ± 0.08
DOTA-CCK-59 (DOTA-γ-glu-Gly-Tyr-Gly-)	4.2 ± 0.5	−2.63 ± 0.05
DOTA-CCK-60 (DOTA-γ-glu-Ala-$(Gly)_2$-)	7.9 ± 0.43	−2.56 ± 0.09
DOTA-CCK-61 (DOTA-Gly-Ala-$(Gly)_2$-)	9.7 ± 1.7	−1.94 ± 0.06
DOTA-CCK-62 (DOTA-γ-glu-$(Gly)_3$-)	8.2 ± 1.3	−2.66 ± 0.06

[0371] 아미노산 γ-glu/glu, Ala 및 Tyr이 모 펩티드 ([^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5)와 비교하여 CCK-2R 친화도의 유의한 상실 없이 Gly 잔기로 치환될 수 있었기 때문에, 이들 연구를 통해 본 발명자들의 가정이 대체로 정확한 것으로 밝혀졌다. 이들 데이터는 N-말단 모티프, 즉, H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal이 높은 CCK-2R 친화도를 위해 충분하며, 추가의 N-말단 아미노산은 링커 모이어티로서 간주될 수 있다는 가설을 뒷받침한다. 그럼에도 불구하고, [^{nat}Lu]Lu-DOTA-CCK-50의 CCK-2R 친화도의 극단적인 상실은 높은 CCK-2R 친화도를 위해서는 DOTA와 같은 입체적으로 복잡한 킬레이터의 뚜렷한 거리가 필수적이라는 것을 입증하였다. 따라서, PEG_x 쇄와 같은 단순한 링커 뿐만 아니라 Trp 모이어티와 킬레이터 사이의 충분한 거리가 필요하다는 것이 시사되었다.

[0372] 추가로, 이들 연구는 링커 절편 내의 γ-glu 모이어티의 존재가 CCK-2R 친화도 뿐만 아니라, 특히 전체적인 친지성에도 유익하다는 것을 제시하였는데, 이는 상기 모이어티를 함유하는 모든 리간드가 -2.66 내지 -2.56의 $logD_{7.4}$ 값을 나타낸 반면에, 상기 모이어티를 포함하지 않는 화합물은 -2.09 내지 -1.26의 $logD_{7.4}$ 값을 제시하

였기 때문이다 (**표 2, 도 3**).

[0373] 상기에 언급된 바와 같이, CCK-2R 효능제에 편재하는 대사적으로 불안정한 Gly-Trp 결합을 다루기 위한 성공적인 전략이 아직까지 기술된 바 없다. 본 챕터에 기재된 결과에 기반하여, PEG-Trp 결합이 Gly-Trp 결합보다 대사적으로 더 안정한 것으로 추정되기 때문에, 전체 펩티드를 또한 안정화시킬 수 있는 단순한 PEG_x 쇄로 H-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2의 N-말단 측에서의 아미노산 (H-glu-Ala-Tyr-Gly-)이 대체될 수 있다는 것이 가정되었다. 따라서, 이러한 PEG-함유 설계가 평가되었으며, 다음 챕터에 기재되어 있다.

[0374] **1.4. PEG 링커를 함유하는 CCK-2R-표적화된 화합물의 시험관내 및 생체내 결과**

[0375] 상기 연구의 결과에 따라, DOTA-MGS5의 4개의 아미노산 γ-glu-Ala-Tyr-Gly가 상이한 길이의 PEG_x 쇄로 치환되었다. Gly-Trp 자리에서의 심각한 대사 불안정성에 관한 보고가 다수 존재하기 때문에, 이들 변형이 이들 DOTA-MGS5 유도체의 대사 안정성을 추가로 향상시킬 수 있을 것이라고 가정되었다. 더욱이, 일부 화합물은 CCK-2R 친화도 및 친지성 둘 다에 유익한 것으로 관찰된 γ-glu 모이어티를 또한 포함한다. 모든 데이터는 DOTA-MGS5와 비교되었다 (**표 3**).

[0376] **표 3**: 참조 화합물 DOTA-MGS5와 비교하여 나타낸, AR4-2J 세포 상에서의 PEG 링커를 함유하는 CCK-2R-표적화된 화합물의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨). 조사된 화합물은 [^{nat}Lu]루테튬, [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{nat}Cu]구리로 표지되었다.

[0377]

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (*n* = 3), ^{nat}Lu-표지됨	IC_{50} [nM] (*n* = 3), ^{nat}Ga-표지됨	IC_{50} [nM] (*n* = 3), ^{nat}Cu-표지됨
DOTA-MGS5	5.2 ± 0.8	3.6 ± 0.4	3.9 ± 1.0
DOTA-CCK-50 (PEG_4)	8.8 ± 1.3	-	-
DOTA-CCK-77 (γ-glu-PEG)	5.0 ± 0.8	-	-
DOTA-CCK-63 (γ-glu-PEG_2)	4.8 ± 1.1	-	-
DOTA-CCK-66 (γ-glu-PEG_3)	5.1 ± 0.5	5.0 ± 0.5	4.2 ± 0.5
DOTA-CCK-66.2 (PEG_3)	4.8 ± 0.9	6.0 ± 1.0	5.8 ± 0.2
DOTA-CCK-78 (γ-glu-PEG_4)	6.7 ± 0.8	-	-
DOTA-CCK-79 (γ-glu-PEG_5)	7.0 ± 0.6	-	-
DOTA-CCK-80 (γ-glu-PEG_7)	7.9 ± 0.2	-	-
DOTA-CCK-81 (γ-glu-PEG_{11})	6.3 ± 0.7	-	-

[0378] 사용된 PEG_x 쇄의 길이 및 킬레이터-금속 킬레이트에 상관없이, 모든 화합물이 낮은 나노몰 범위 (3.5-9.0 nM)의 IC_{50} 값을 나타냈다. 그러나, 연장된 PEG 쇄가 적용된 경우에는 CCK-2R 친화도가 점차 감소하였으며, 이러한 이유로 가장 높은 CCK-2R 친화도가 DOTA-CCK-77, -63, -66 및 -66.2에서 관찰되었다. 추가로, DOTA-CCK-78이 동일한 PEG 쇄 길이에도 불구하고 CCK-50 (IC_{50} = 8.84 ± 1.25)보다 낮은 IC_{50} 값을 나타냈기 때문에, γ-glu 모이어티의 N-말단 삽입이 전체적인 CCK-2R 친화도에 긍정적인 영향을 미쳤다.

[0379] 추가로, 루테튬-177, 갈륨-67 또는 구리-64와 복합체를 형성한 이들 화합물의 $logD_{7.4}$ 값이 평가되었다 (**표 4**).

[0380] **표 4**: DOTA-MGS5와 비교하여 나타낸, PEG 링커를 함유하는 CCK-2R-표적화된 화합물의 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 기술됨). 조사된 화합물은 [^{177}Lu]루테튬, [^{67}Ga]갈륨 또는 [^{64}Cu]구리로 표지되었다.

CCK-2R-표적화된 리간드	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{177}Lu-표지됨	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{67}Ga-표지됨	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{64}Cu-표지됨
DOTA-MGS5	−2.21 ± 0.08	−2.44 ± 0.12	−2.81 ± 0.01
DOTA-CCK-50 (PEG_4)	−2.31 ± 0.05	-	-
DOTA-CCK-77 (γ-glu-PEG)	−3.09 ± 0.06	-	-
DOTA-CCK-63 (γ-glu-PEG_2)	−3.03 ± 0.09	-	-
DOTA-CCK-66 (γ-glu-PEG_3)	−2.60 ± 0.07	−3.01 ± 0.07	−2.64 ± 0.04
DOTA-CCK-66.2 (PEG_3)	−2.69 ± 0.09	−2.55 ± 0.04	−2.84 ± 0.08
DOTA-CCK-78 (γ-glu-PEG_4)	−2.61 ± 0.06	-	-
DOTA-CCK-79 (γ-glu-PEG_5)	−2.59 ± 0.05	-	-
DOTA-CCK-80 (γ-glu-PEG_7)	−2.51 ± 0.09	-	-
DOTA-CCK-81 (γ-glu-PEG_{11})	−2.47 ± 0.10	-	-

[0381]

[0382] 일반적으로, 모든 ^{177}Lu-표지된 화합물 중에서 보다 짧은 PEG 쇄를 함유하는 것들이 보다 낮은 친지성을 나타냈다. 더욱이, γ-glu 모이어티의 첨가가 약간 감소된 log$D_{7.4}$ 값을 초래하였다 (DOTA-CCK-78 vs. -50). log$D_{7.4}$ 값이 <-3인, [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66, [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-63 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-77이 이러한 시리즈 중에서 가장 큰 친수성을 갖는 화합물이었다. 그럼에도 불구하고, 모든 화합물이 -3.1 내지 -2.3의 범위의 log$D_{7.4}$ 값을 나타냈으며, 이는 생체내 적용에 이상적인 것으로 간주된다.

[0383] 가장 높은 CCK-2R 친화도 및 가장 낮은 log$D_{7.4}$ 값을 보이는 화합물 (DOTA-CCK-77, -63, -66 및 -66.2) 중에서, DOTA-CCK-66 및 -66.2를 DOTA-MGS5와 함께 [$^{nat/67}$Ga]갈륨 및 [$^{nat/64}$Cu]구리로 표지된 경우의 CCK-2R 친화도 및 친지성 (**도 4-5**), 뿐만 아니라 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합 및 대사 안정성과 관련하여 추가로 조사하기로 결정하였다.

[0384] 클링어(*Klingler*) 등이 [^{68}Ga]Ga-DOTA-MGS5에 대해 유리한 생체분포 프로파일 및 신속한 소실 동역학을 보고한 것처럼 [30], [^{nat}Lu]루테튬, [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{nat}Cu]구리와 복합체를 형성한 DOTA-CCK-66 및 -66.2, 및 DOTA-MGS5에 대해 HSA 결합을 평가하였다 (**표 5**).

[0385] **표 5**: [^{nat}Lu]루테튬, [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{nat}Cu]구리와 복합체를 형성한 DOTA-CCK-66, -66.2 및 DOTA-MGS5의 HSA 결합 (%)

CCK-2R-표적화된 리간드	HSA 결합 [%], ^{nat}Lu-표지됨	HSA 결합 [%], ^{nat}Ga-표지됨	HSA 결합 [%], ^{nat}Cu-표지됨
DOTA-MGS5	91.9	82.0	87.6
DOTA-CCK-66	69.1	53.8	61.5
DOTA-CCK-66.2	72.7	54.2	61.1

[0386]

[0387] 평가된 3종의 PEG화된 CCK 유도체의 상이한 금속 킬레이트에 대해 어떤 경향이 관찰될 수 있었다 (**도 6**).

[0388] 모든 3종의 ^{nat}Lu-표지된 화합물이 가장 높은 HSA 결합을 나타낸 반면에, ^{nat}Cu와 복합체를 형성한 펩티드는 보다 낮은 HSA와의 상호작용을 제시하였다. 추가로, 각각의 ^{nat}Ga-표지된 리간드에서 가장 낮은 HSA 결합이 관찰되었다. 비교 분석에서, DOTA-MGS5가 HSA에 최대로 결합한 반면에, DOTA-CCK-66 뿐만 아니라 DOTA-CCK-66.2는 보다 낮은 HSA 친화도를 나타냈다. 따라서, DOTA-CCK-66 및 -66.2 둘 다는, 어떤 방사성금속이 적용되는지에 상관없이, DOTA-MGS5보다 더 신속하게 소실될 것이라는 것이 시사된다.

[0389] 추가로, ^{177}Lu-표지된 화합물 DOTA-MGS5, DOTA-CCK-66 및 DOTA-CCK-66.2의 안정성 연구를 인간 혈청 중 37℃에서 72 ± 2 h 동안 인큐베이션함으로써 시험관내에서 수행하였다. 시험관내에서 보다 유리한 화합물인 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66을 또한 생체내에서 뮤린 혈청 및 소변 중 p.i. 30 min에서의 대사 안정성과 관련하여 평가하였으며, 이를 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하였다 (**표 6**).

[0390] **표 6**: 인간 혈청 중 37℃에서 72 ± 2 h 동안 인큐베이션하는 것에 의한 시험관내 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5,

[^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66.2의 대사 안정성의 평가 및 CB17-SCID 마우스에서의 p.i. 30 min에서의 생체내 평가

[0391]

CCK-2R-표적화된 리간드	인간 혈청 중 72 ± 2 h에서의 온전한 분율 (%) (n = 3)	뮤린 혈청 중 p.i. 30 min에서의 온전한 분율 (%) (n = 3)	뮤린 소변 중 p.i. 30 min에서의 온전한 분율 (%) (n = 3)
DOTA-MGS5	98.2 ± 0.7	82.0 ± 0.1	23.7 ± 9.2
DOTA-CCK-66	94.6 ± 1.2	78.5 ± 3.1	77.8 ± 2.3
DOTA-CCK-66.2	89.0 ± 0.1	-	-

[0392] 시험관내에서, 모든 3종의 화합물이 인간 혈청 중 37℃에서 72 ± 2 h 동안 인큐베이션한 후에 높은 대사 안정성을 나타냈다. 그러나, [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5가 PEG화된 화합물보다 약간 더 높은 온전한 분율을 보였다 (**도 7**).

[0393] 생체내에서는, 뮤린 혈청에서 약간 더 많은 양의 모 화합물이 p.i. 30 min에 여전히 온전하게 유지되었다. 그럼에도 불구하고, 뮤린 소변 중 p.i. 30 min에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66의 온전한 분율이 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하여 거의 3배 더 높다는 것을 알 수 있었다. 따라서, [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66은 대부분 온전하게 소실되는 반면에, [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5는 대부분 대사되어 소실되는 것으로 가정되었으며 (**도 8, 표 6**), 이는 대사산물이 비특이적으로, 특히 신장에 축적되는 경향이 있기 때문에 표적외 장기에서의 감소된 활성 축적 및 유지에 유익할 수 있다.

[0394] 본 발명자들의 신규한 PEG화된 CCK-2R-표적화된 화합물의 약동학 프로파일을 조사하기 위해, [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66을 사용하여 p.i. 1 h에서의 생체분포 연구를 수행하였으며, 이를 2019년에 공개된 [30], 동일한 시점에서의 [^{68}Ga]Ga-DOTA-MGS5의 해당 데이터와 비교하였다 (**도 9**).

[0395] 비교 분석은, 각각의 동물에 100 pmol이 주입되는 반면에, 클링어 등은 겨우 20 pmol을 주입하였으므로 [30], 조심스럽게 수행되어야 한다. 그러나, 투여된 펩티드 양이 5배 더 많음에도 불구하고, [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66이 p.i. 1 h에 종양에서 [^{68}Ga]Ga-DOTA-MGS5보다 아주 약간 더 낮은 활성 수준을 나타냈다. 예상된 바와 같이, 전자는 모든 비-종양 장기에서 보다 낮은 활성 수준을 나타냈으며, 이는 아마도 그의 개선된 대사 안정성 및 소실 동역학 때문일 것이다. 보다 적은 양의 펩티드가 투여되었을 때 모든 장기에서 보다 높은 활성 수준이 가정되었지만, 종양 흡수 역시 증가할 가능성이 있다. 따라서, 투여되는 펩티드 양에 상관없이, 상대적인 종양-대-배경 (T/B) 비가 유효하다는 것이 시사된다. T/B 비는 모든 장기에서, 특히 혈액, 위 및 신장과 관련하여, [^{68}Ga]Ga-DOTA-MGS5에 비해 [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66의 경우에 보다 높았다. 따라서, [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66과 화학적으로 동일한, [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66은 임상 중개를 위한 타당한 후보이다. 이는 [^{67}Ga]Ga-DOTA-CCK-66의 μSPECT/CT 영상에 의해 뒷받침된다 (**도 10**).

[0396] CCK-2R-양성 종양 및 위에서의 축적이 특이적이었으며, 이는 초과량의 [^{nat}Ga]Ga-DOTA-MGS5의 공동-투여를 통한 경쟁 연구에 의해 제시되었다.

[0397] 치료진단제로서의 DOTA-CCK-66의 잠재력을 조사하기 위해, p.i. 24 h에서의 ^{177}Lu-표지물을 추가적으로 평가하여, 이를 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하였다 (**도 11**).

[0398] p.i. 24 h에서의 생체분포 연구를 통해, [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66에 대해서 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하여 종양에서의 약간 더 낮은 활성 수준이 밝혀졌다 (8.56 ± 1.08 vs. 11.0 ± 1.15%ID/g). 그러나, 전자의 경우에 종양/혈액 비가 비-종양 장기로부터의 개선된 활성 소실로 인해 향상되었으며 (2009 ± 469 vs. 1480 ± 329), 이는 치료학적 적용에 유익하다. 화합물 둘 다의 종양/위 및 종양/신장 비는 비슷하였다. 경쟁 연구는 위 및 종양 둘 다에서의 유의하게 감소된 활성 수준을 유도하여, [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66의 CCK-2R 특이성을 확증하였다. 이들 관찰결과는 μSPECT/CT 영상에 의해 뒷받침된다 (**도 12**).

[0399] 모든 이러한 이유로, 짧은 칼시토닌 배가 시간과 함께 상승된 혈청 종양 표지자를 제시하는 MTC 환자에 대해 최

초 인간 연구를 수행하였다. 평가된 모든 3명의 MTC 환자에서, [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 PET/CT는 종양 병변 및 CCK-2R^{+} 위에서 p.i. 2 h에 높은 축적이 발생하는 유리한 약동학을 입증하였다 (도 13A, 14A, 및 15A). 생리적 배설의 결과인 방광 및 요관을 제외한 다른 장기에서는 유의한 활성 수준이 확인되지 않았다. [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 PET/CT를 통해 각각의 환자에서 복수의 MTC-유래된 병변이 검출될 수 있었다. 환자 1은 1곳의 좌측 쇄골후 림프절 전이 및 추가로 대동맥궁에서의 종격동 전이가 있었다. 환자 2는 1곳의 우측 쇄골후 림프절 전이, 양측 폐문 림프절 전이, 2곳의 간 전이 및 우측 대퇴골 뿐만 아니라 우측 좌골에서의 골 전이가 있었다. 환자 3은 좌측 경부 혈관 신경초 영역에서의 1곳의 림프절 전이, 좌측 갑상선 부위에서의 국소 재발 및 상부 우측 종격동에서의 림프절 전이가 있었다.

[0400] [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 PET/CT를 통한 이들 조사결과로부터 모든 환자가 상당한 이익을 얻었다. 외과적으로 절제가능하지 않은 경우에, 식별된 전이에 대해 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66을 사용하는 방사성리간드 요법을 적용할 수 있으며, 이는 상기 화합물이 동물에서 시간의 경과에 따라 종양에서 높은 활성 수준을 갖는 유리한 생체분포 프로파일 및 혈액으로부터의 신속한 활성 소실을 보였기 때문이다. 이러한 소규모 코호트에서의 이와 같은 유망한 결과를 확증하기 위해서는 인간을 대상으로 하는 추가의 연구가 수행되어야 한다.

[0401] 결론적으로, 신규한 PEG화된 CCK-2R-표적화된 화합물 [$^{67/68}$Ga]Ga-/[^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66은 임상적으로 적용되는 화합물 [^{68}Ga]Ga-/[^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5와 비교하여 개선된 생체내 데이터를 나타냈다. T/B 비가 비슷하거나 또는 심지어 전자의 경우에 향상되며, 이는 PEG 링커와 조합된 테트라펩티드의 설계에 기인하는 것일 수 있다. 이로써, N-말단 아미노산의 PEG$_x$ 쇄에 의한 치환의 결과로서 Gly-Trp 자리에서의 증가된 대사 안정성이 입증되었다. 이와 같은 유망한 전임상 특성으로 인해, [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66을 사용하는 MTC 환자에서의 최초 인간 적용이 수행되었으며, 이는 동물에서 이미 관찰된 상기 화합물의 유리한 생체분포 프로파일을 확증하였다. 혈액으로부터의 신속한 소실로 인해, 종양-대-배경 대조도가 높았고, 3명의 MTC 환자에서 복수의 종양 징후의 검출을 가능하게 하였다. 상기 화합물이 MTC 관리에 유익한 영향을 미치는지를 명확하게 규명하기 위해서는 인간을 대상으로 하는 추가의 연구가 요구된다. 그러나, 첫 번째 결과가 [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66이 실제로 MTC-유래된 병변의 PET 영상화를 위한 실행가능한 옵션일 수 있다는 것을 시사한다. 더욱이, 그의 ^{177}Lu-표지된 유사체 또한 유효한 치료 옵션일 수 있으며, 이로 인해 상기 화합물은 매우 유망한 치료진단제가 될 수 있다.

[0402] **1.5. PEG 링커 및 상이한 킬레이터를 함유하는 CCK-2R-표적화된 화합물의 시험관내 및 생체내 결과**

[0403] 상기 연구의 결과에 따라, DOTA-CCK-66의 DOTA 킬레이터를 다양한 킬레이터 (NOTA, NODAGA, (S)-DOTAGA 및 (R)-DOTAGA)로 대체하여, 상이한 킬레이터를 본 발명자들의 최적화된 테트라펩티드성 결합 모티프와 조합하는 것의 적합성을 입증하였다 (**표 7**).

[0404] **표 7**: AR4-2J 세포 상에서의 DOTA-CCK-66, NOTA-CCK-66, NODAGA-CCK-66, (R)-DOTAGA-CCK66 및 (S)-DOTAGA-CCK-66의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨). 조사된 화합물은 [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{19}F]AlF로 표지되었다.

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}Ga-표지됨	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}AlF-표지됨
DOTA-CCK-66	5.0 ± 0.5	-
NOTA-CCK-66	9.7 ± 1.0	10.4 ± 0.9
NODAGA-CCK-66	4.9 ± 0.7	-
(*R*)-DOTAGA-CCK-66	16.0 ± 2.1	-
(*S*)-DOTAGA-CCK-66	17.9 ± 2.7	-

[0405]

[0406] 이들 연구를 통해, DOTA-CCK-66의 DOTA 킬레이터가 CCK-2R 친화도의 임의의 상실 없이 NODAGA에 의해 치환될 수 있다는 것이 밝혀졌다 (**도 16**). 그에 반해, DOTA의 NOTA에 의한 치환은 ^{nat}Ga 및 [^{19}F]AlF와 복합체를 형성한 유도체 둘 다에서 CCK-2R 친화도의 상실이 동반되었다. 또한, DOTA 대신에 (R)- 및 (S)-DOTAGA 킬레이터의 도입은 대략 3배 증가된 IC_{50} 값을 유도하였다. 대부분의 DOTA-CCK-66 유사체의 보다 낮은 CCK-2R 친화도에도 불

구하고, 특히 [^{nat}Ga]갈륨 또는 [^{19}F]AlF가 수반된 NOTA 및 NODAGA의 사용이 앞으로의 적용을 위해 고려될 수 있다.

[0407] **1.6. PEG화된 rhCCK 리간드의 제1 세대의 시험관내 및 생체내 결과**

[0408] 다수의 PEG화된 rhCCK 화합물을 합성하고, $^{nat/177}$Lu/^{nat}Ga-표지하여 AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (IC_{50}) 뿐만 아니라 친지성 ($logD_{7.4}$)과 관련하여 평가하였다 (**표 8**).

[0409] **표 8**: SiFA 빌딩 블록을 함유하는 PEG화된 CCK-2R 리간드의 AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨), 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 기술됨) 및 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합. 모든 화합물은 C-말단 서열 H-ɣ-glu-$(PEG)_3$-Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH_2 (=X)를 공유한다. 조사된 화합물은 [^{nat}Lu/^{177}Lu]루테튬 또는 [^{nat}Ga]갈륨과 복합체를 형성하였다. DOTA-MGS5 및 DOTA-CCK-66은 규소계 플루오라이드 수용체-무함유 참조 리간드로서 기술된다.

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}Lu-표지됨	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}Ga-표지됨	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{177}Lu-표지됨	HSA 결합 [%]
DOTA-MGS5	5.2 ± 0.8	3.6 ± 0.4	−2.21 ± 0.08	87.6
DOTA-CCK-66	5.1 ± 0.5	5.0 ± 0.5	−2.60 ± 0.07	61.5
DOTA-rhCCK-67 (DOTA-dap(SiFA)-$(PEG)_4$-X)	13.0 ± 1.1	49.5 ± 3.7	−1.05 ± 0.09	92.9
DOTA-rhCCK-68 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(PEG)_4$-X)	15.4 ± 1.1	36.9 ± 5.4	−1.65 ± 0.09	91.2
DOTA-rhCCK-69 (DOTA-dap(SiFA-ipa)-γ-glu-$(PEG)_{11}$-X)	43.1 ± 1.7	-	−2.11 ± 0.09	84.7
DOTA-rhCCK-70 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(PEG)_7$-X)	12.6 ± 2.0	29.5 ± 0.9	−1.67 ± 0.08	89.3
DOTA-rhCCK-71 (DOTA-dap(SiFAlin)-γ-glu-$(PEG)_7$-X)	13.3 ± 1.3	-	−1.63 ± 0.06	89.1
DOTA-rhCCK-72 (DOTA-dap(SiFA-ipa)-γ-glu-$(PEG)_7$-X)	52.3 ± 6.2	-	−2.32 ± 0.03	89.3
DOTA-rhCCK-73 (DOTA-dap(SiFA)-$(PEG)_7$-X)	15.6 ± 0.7	-	−1.02 ± 0.06	90.4
DOTA-rhCCK-74 (DOTA-dap(SiFA)-$(PEG)_{11}$-X)	12.1 ± 1.0	-	−1.19 ± 0.07	87.2
DOTA-rhCCK-75 (DOTA-dap(SiFAlin)-γ-glu-$(PEG)_{11}$-X)	19.2 ± 1.6	-	−1.15 ± 0.05	90.9
DOTA-rhCCK-76 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(PEG)_{11}$-X)	14.2 ± 0.9	-	−1.82 ± 0.09	86.2
DOTA-rhCCK-90 (DOTA-dap(SiFAlin)-$(PEG)_4$-X)	9.85 ± 1.0	-	−0.76 ± 0.09	94.5
DOTA-rhCCK-91 (DOTA-dap(SiFAlin)-γ-glu-$(PEG)_4$-X)	8.56 ± 0.7	8.24 ± 1.6	−1.66 ± 0.08	90.0
DOTA-rhCCK-83 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(Hyp)_3$-X)	10.0 ± 0.9	-	−1.50 ± 0.05	93.4
DOTA-rhCCK-84 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(Hyp)_6$-X)	7.87 ± 0.3	27.7 ± 3.1	−2.14 ± 0.06	90.0
DOTA-rhCCK-84.2 (DOTA-dap(SiOH)-γ-glu-$(Hyp)_6$-X)	13.0 ± 0.8	-	−2.21 ± 0.08	-
DOTA-rhCCK-85 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(cit)_3$-$(Hyp)_3$-X)	12.9 ± 0.3	-	−1.95 ± 0.09	90.3
DOTA-rhCCK-86 (DOTA-dap(SiFA)-γ-glu-$(Hyp)_8$-X)	10.0 ± 1.4	-	−1.86 ± 0.06	88.1

[0410]

[0411] ^{nat}Lu-표지된 rhCCK 리간드 중 어느 것도 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 또는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-CCK-66과 비슷한 CCK-2R 친화도를 나타내지 않았다 (**도 17**). 예상된 바와 같이, 링커 절편 내에 단 1개의 음전하를 보유하는, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-67, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-73 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-74는 증가된 친지성을 나타냈으며, 이는 친지

성 SiFA 모이어티가 완전히 보상되지 않았기 때문이다.

[0412] 따라서, 또 다른 γ-glu 모이어티를 도입하였으며, 이는 CCK-2R 친화도를 유지하면서 친지성을 현저히 개선시켰다 ([$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-68, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70 및 [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-76). 친지성을 추가로 개선시키기 위해, SiFA를 보다 큰 친수성을 갖는 SiFA-ipa ([$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-69, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-72) 또는 SiFAlin ([$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-71, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-75, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-90, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91) 빌딩 블록으로 치환하였다. SiFA-ipa 모이어티를 함유하는 화합물은 $logD_{7.4}$ 값이 절반의 크기 정도만큼 개선될 수 있지만, CCK-2R 친화도가 뚜렷하게 감소된 것으로 나타났다. SiFA가 SiFAlin 모이어티로 치환되면, $(PEG)_7$ 링커 함유 유도체에 대해 비슷한 CCK-2R 친화도가 관찰되었다. 그럼에도 불구하고, 친지성과 관련된 개선은 관찰되지 않았다. $(PEG)_{11}$ 링커 및 SiFAlin 모이어티를 포함하는 [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-75는 $(PEG)_{11}$ 링커 및 SiFA 모이어티를 함유하는 [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-76 (IC_{50}: 14.2 ± 0.9, $logD_{7.4}$: -1.82 ± 0.09)보다 높은 IC_{50} 값 (19.2 ± 1.6) 및 친지성 (-1.15 ± 0.05)을 나타냈다. $(PEG)_4$-연결된 rhCCK 유도체에서 SiFA ([$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-67, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-68)와 SiFAlin 모이어티 ([$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-90, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91)의 교환은 친지성에는 단지 미미한 영향을 미치지만, 향상된 CCK-2R 친화도를 유도하였다. 놀랍게도, DOTA-rhCCK-91은 이전에 평가된 rhCCK 유도체와 대조적으로, [^{nat}Lu]루테튬 (IC_{50} = 8.56 ± 0.7) 및 [^{nat}Ga]갈륨 (IC_{50} = 8.24 ± 1.6) 표지의 경우에 둘 다 높은 CCK-2R 친화도를 나타냈다.

[0413] 또 다른 접근법에서, rhCCK 유도체의 친지성 및 CCK-2R 친화도가 폴리히드록시프롤린 링커를 통해 다루어졌다. 그에 따라, 링커 구조에 3 내지 8개의 히드록시프롤린 모이어티를 함유하는 화합물 (DOTA-rhCCK-83, -84 및 86)을 시험관내 평가하였다. 추가로, 3개의 히드록시프롤린 및 3개의 D-시트룰린 모이어티를 포함하는 펩티드 (DOTA-rhCCK-85)를 시험관내 조사하였다. 이러한 시리즈 중에서, [$^{nat/177}$Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84가 가장 높은 친수성 ($logD_{7.4}$ = -2.14 ± 0.06) 및 CCK-2R 친화도 (IC_{50} = 7.87 ± 0.3)를 조합하였다.

[0414] 시험된 모든 rhCCK 유도체의 HSA 결합 (84.7 내지 94.5%)이 높은 것은 놀라운 사실이 아닌데 (**도 18**), 이는 사용된 표적 분자에 상관없이, 다른 규소계 플루오라이드 수용체-포함 화합물에 대해 증가된 HSA 결합이 이미 관찰되었기 때문에 예상된 바이다.

[0415] 전체적으로 가장 매력적인 시험관내 데이터를 나타내는, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91을 p.i. 24 h에 생체내 평가하였으며, 이를 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 둘 다와 비교하였다 (**도 19**).

[0416] [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84는 p.i. 24 h에 종양에서 가장 높은 활성 수준을 나타냈다 ([^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 각각과 비교하여 2배를 초과하여 및 대략 2배 더 높음). 신장에서의 활성 수준은 규소계 플루오라이드 수용체-무함유 참조물과 비교하여 약간 향상되었다 (<10%ID/g). 전체적인 생체분포 패턴은, 특히 규소계 플루오라이드 수용체 빌딩 블록에 바로 인접하여 다수의 음전하가 존재하기 때문에 신장에서 크게 증가된 활성 유지를 나타내는 (p.i. 24 h에 >80%ID/g) 이전에 개발된 규소계 플루오라이드 수용체-함유 미니가스트린 유도체와 관련하여 유망하였으며, 이는 μSPECT/CT 영상에 의해 뒷받침된다 (**도 20**). 추가로, 뮤린 신장에서의 활성 축적 및 유지를 인간에서의 상황과 직접 비교할 수 없다는 것이 언급되어야 한다. 따라서, 신장으로부터의 이러한 둔화된 활성 소실이 또한 인간에게서도 나타나는지, 그리고 우려되는 사항인지를 앞으로의 환자 연구에서 조사하여야 한다. p.i. 24 h에 종양에서의 활성 수준이 현저히 증가된 것 뿐만 아니라, DOTA-rhCCK-84는 플루오린-18에 의해 용이하게 표지될 수 있다는 이점이 있어 (DOTA-CCK-66 및 DOTA-MGS5에 비해), 높은 대조도를 갖는 양전자-방출 단층촬영에 유익하다.

[0417] 유리한 종양 흡수 (36.3 ± 3.7%ID/g) 이외에도, 구조적으로 동일한 [^{18}F]F-[^{nat}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84의 생체분포 연구는 p.i. 1 h에 혈액에서의 높은 활성 수준 (11.3 ± 1.3%ID/g)을 나타냈다 (**도 21**). 그러나, p.i. 2 및 4 h에서의 생체분포 연구를 통해 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84의 시간의 경과에 따른 혈액으로부터의 우수한 활성 소실

이 확증되었으며 (각각 3.71 ± 0.46%ID/g 및 1.14 ± 0.18%ID/g), 그에 반해 종양에서의 활성 수준은 높게 유지되었다 (각각 35.0 ± 2.9 및 34.0 ± 3.6%ID/g). 초과량의 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 또는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23을 공동-투여하는 경쟁 연구는 위 및 종양 둘 다에서 유의하게 감소된 활성 수준을 유도하였으며, 이를 통해 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84의 CCK-2R 특이성이 확증되었다 (**도 22**).

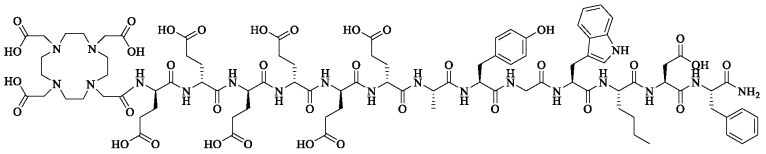
[0418] 추가로, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84의 생체내 안정성은, 특히 참조 화합물 DOTA-MGS5 (**표 6**)와 비교하여, p.i. 30 min에 혈청 (93.5 ± 2.1%) 및 소변 (55.4 ± 9.0%) 둘 다에서 높았다 (**도 23**). 모든 언급된 측면에 대해서, 상기 화합물은 임상 중개를 위한 유망한 후보일 수 있다.

[0419] DOTA-rhCCK-84 뿐만 아니라, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70도 유망한 생체내 데이터를 나타냈다. p.i. 24 h에 종양에서의 활성 수준이 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5보다 약간 더 높았지만, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84보다는 현저히 더 낮았다 (**도 19**). 신장에서의 활성 수준은 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84보다 약간 더 낮았지만, 규소계 플루오라이드 수용체-무함유 참조물에 비해서는 여전히 향상되었다. 혈액, 심장, 폐, 간, 비장 및 골에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70의 상승된 활성 수준은 부분적으로 실험 당일에 ^{177}Lu-표지가 불완전하기 때문이기도 하지만 (동물에 주입된 ~5%의 유리 루테튬-177), 또한 규소계 플루오라이드 수용체-무함유 리간드와 비교하여 증가된 상기 화합물의 친지성 때문일 수도 있다. [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91은 모든 rh-기반 CCK-2R-표적화된 화합물 중에서 가장 낮은 p.i. 24 h에서의 신장에서의 활성 수준을 보였지만, 종양에서의 활성 수준 또한 감소되었다.

[0420] 결론적으로, [^{177}Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70, -84 및 -91의 생체분포 프로파일을 통해 신장에서의 높은 활성 흡수 및 유지가 (특히, [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23과 비교하였을 때) 규소계 플루오라이드 수용체 모이어티 근처에서의 음전하의 감소에 의해 해결될 수 있다는 본 발명자들의 가정이 확증되었다. 또한, PEG화된 rhCCK 리간드의 신규한 설계가 p.i. 24 h에 종양에서 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 또는 [^{177}Lu]Lu-DOTA-CCK-66과 비교하여 뚜렷하게 더 높은 활성 수준을 제시하는 유망한 펩티드 DOTA-rhCCK-84를 초래하였다. 또한, 이러한 rh-기반 화합물은 용이하고 신속한 ^{18}F-표지의 가능성을 제공하고, p.i. 1, 2, 및 4 h에 종양에서 실질적으로 상승된 활성 축적을 나타냈으며, 이러한 이유로 상기 리간드는 인간에 대한 플루오린-18 및 루테튬-177이 수반된 치료진단학적 적용을 위한 유효한 후보일 수 있다.

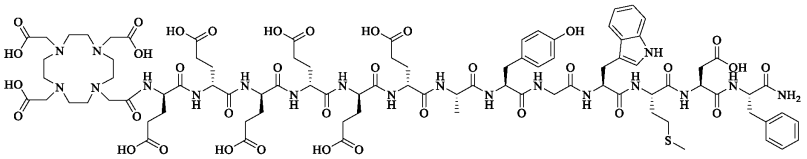
[0421] **실시예 2 - SiFA-포함 CCK2R-표적화된 화합물**

[0422] **2.1. 합성된 CCK-2R-표적화된 리간드의 개관**



[0423]

[0424] DOTA-PP-F11N (**3**): RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.6 min, K' = 3.5; MS (ESI, 양성): $C_{90}H_{123}N_{19}O_{35}$에 대한 m/z 계산치: 2029.8, 실측치: m/z = 1016.4 $[M+2H]^{2+}$.



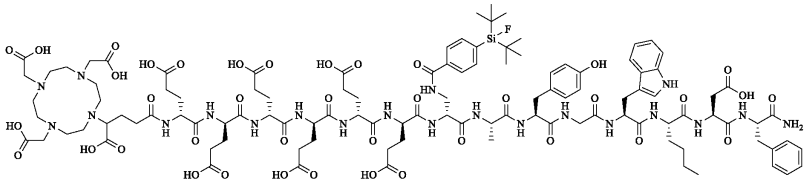
[0425]

[0426] CP04 (**4**): RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.2 min, K' = 3.3; MS (ESI, 양성): $C_{89}H_{121}N_{19}O_{35}S$에 대한 m/z 계산치: 2047.8, 실측치: m/z = 1024.2 $[M+2H]^{2+}$.

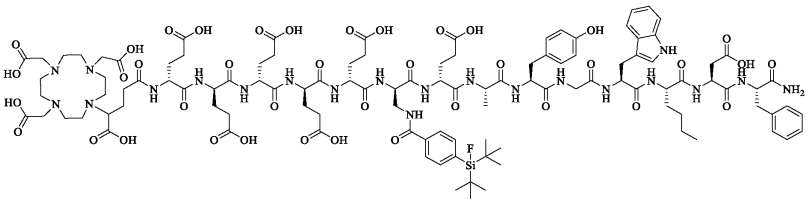
[0427] 하기에서, 서열 H-glu[1]-glu[2]-glu[3]-glu[4]-glu[5]-glu[6]-Ala[7]-Tyr[8]-Gly[9]-Trp[10]-Nle[11]-Asp[12]-Phe[13]-NH_2는 F11N으로 정의된다.

[0428] **폴리-글루타메이트 링커를 포함하는 MG-SiFA 화합물**

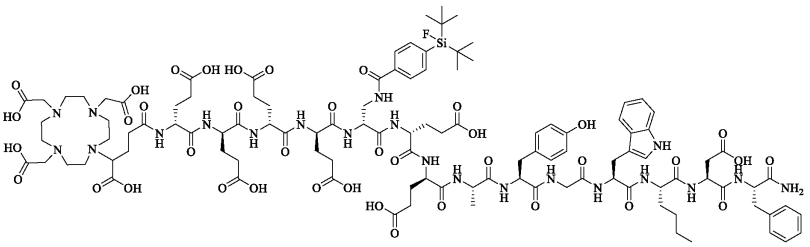
[0429] 하기에서, 서열 H-glu[1]-glu[2]-glu[3]-glu[4]-glu[5]-glu[6]-Ala[7]-Tyr[8]-Gly[9]-Trp[10]-Nle[11]-Asp[12]-Phe[13]-NH_2는 F11N으로 정의된다.

[0430] 

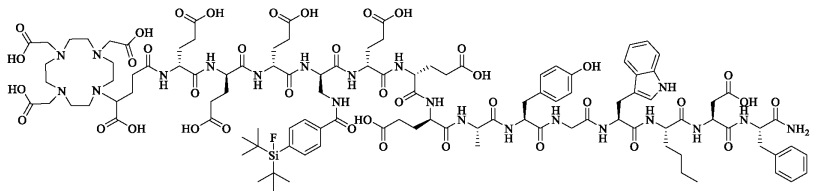
[0431] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)[6]]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-5)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.2 min, K' = 5.0; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.8 $[M+2H]^{2+}$.

[0432] 

[0433] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)[5]]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-6)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.6 min, K' = 4.7; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.4 $[M+2H]^{2+}$.

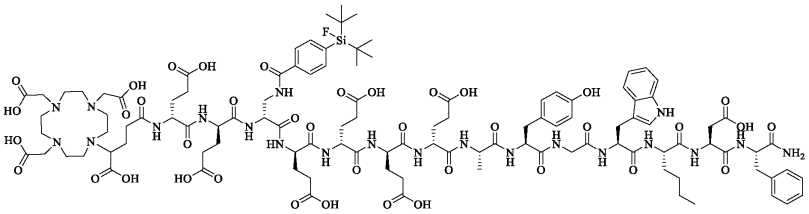
[0434] 

[0435] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)[4]]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-7)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.3 min, K' = 5.5; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.4 $[M+2H]^{2+}$.

[0436] 

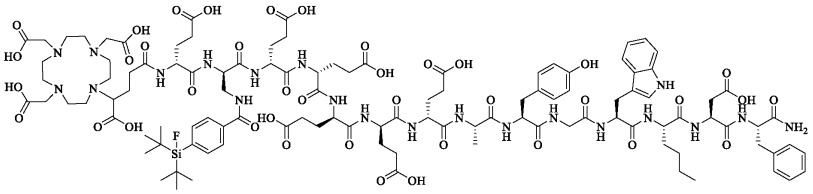
[0437] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)[3]]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-8)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min,

λ = 220 nm): t_R = 9.5 min, K' = 4.6; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.7 $[M+2H]^{2+}$.



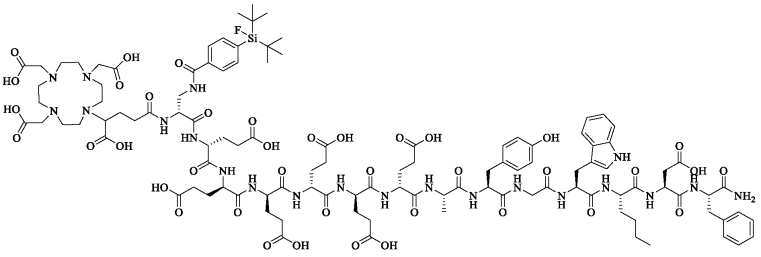
[0438]

[0439] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)^2]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-9)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.1 min, K' = 4.4; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.3 $[M+2H]^{2+}$.



[0440]

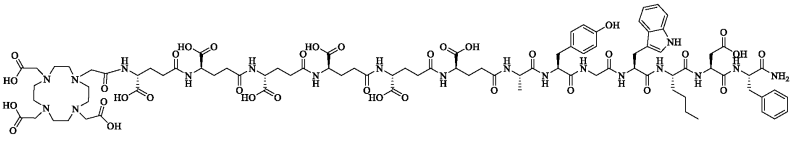
[0441] **DOTAGA-glu-[dap(SiFA)^1]F11N (DOTAGA-MG-SiFA-10)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min, K' = 4.5; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.4 $[M+2H]^{2+}$.



[0442]

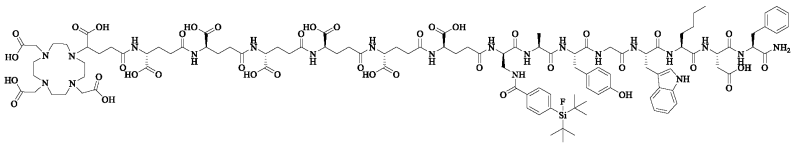
[0443] **DOTAGA-dap(SiFA)-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-11)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.6 min, K' = 5.6; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.0 $[M+2H]^{2+}$.

[0444] 하기에서, 서열 H-ɣ-glu^1-ɣ-glu^2-ɣ-glu^3-ɣ-glu^4-ɣ-glu^5-ɣ-glu^6-Ala^7-Tyr^8-Gly^9-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2는 ɣ-F11N으로 정의된다.



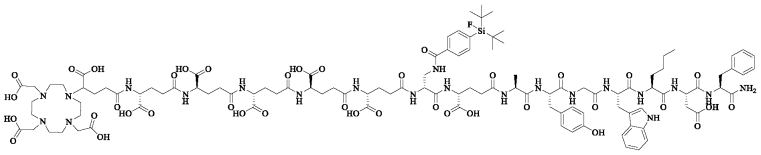
[0445]

[0446] **DOTA-PP-ɣ-F11N**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 7.1 min, K' = 3.2; MS (ESI, 양성): $C_{90}H_{123}N_{19}O_{35}$에 대한 m/z 계산치: 2029.8, 실측치: m/z = 1015.7 $[M+2H]^{2+}$.



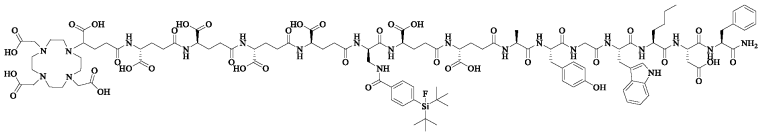
[0447]

[0448] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{6}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-13)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.1 min, K' = 6.1; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.2 $[M+2H]^{2+}$.



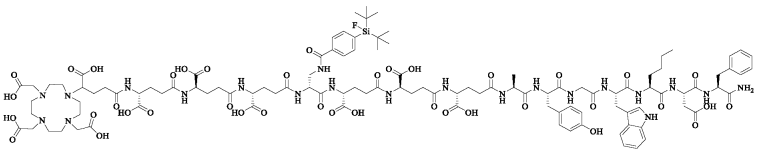
[0449]

[0450] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{5}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-14)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.6 min, K' = 5.7; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.3 $[M+2H]^{2+}$.



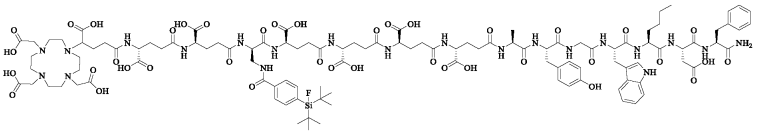
[0451]

[0452] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{4}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-15)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.3 min, K' = 5.5; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.4 $[M+2H]^{2+}$.



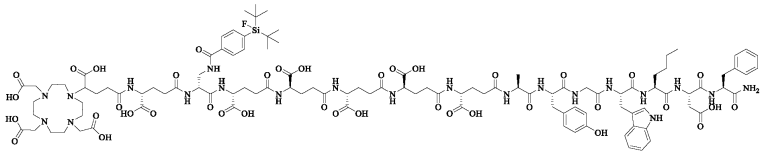
[0453]

[0454] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{3}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-16)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.1 min, K' = 5.4; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.7 $[M+2H]^{2+}$.



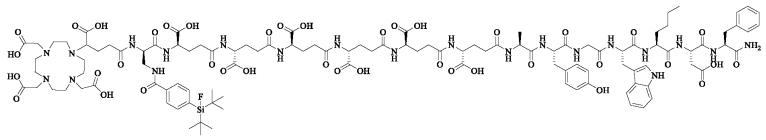
[0455]

[0456] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{2}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-17)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.5 min, K' = 5.6; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1226.6 $[M+2H]^{2+}$.



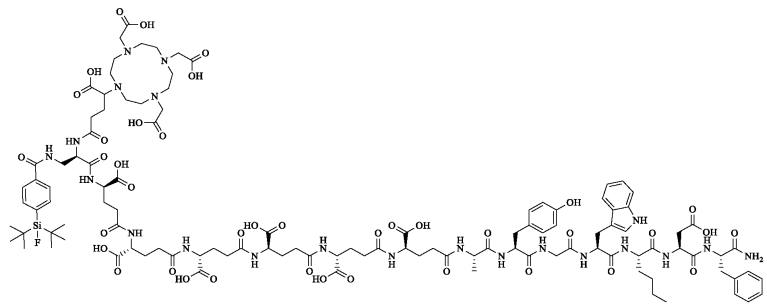
[0457]

[0458] **DOTAGA-γ-glu-[dap(SiFA)^{1}]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-18)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.6 min, K' = 5.7; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.2 $[M+2H]^{2+}$, 817.8 $[M+3H]^{3+}$.



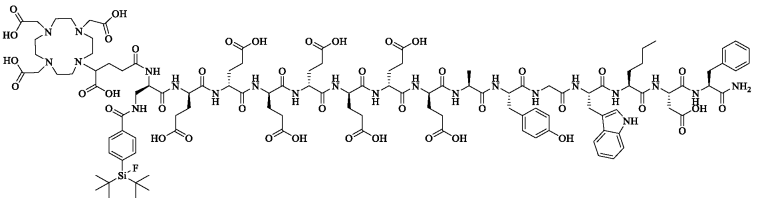
[0459]

[0460] **DOTAGA-dap(SiFA)-γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-19)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.5 min, K' = 5.6; MS (ESI, 양성): $C_{111}H_{154}FN_{21}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2452.0, 실측치: m/z = 1227.3 $[M+2H]^{2+}$, 818.7 $[M+3H]^{3+}$.



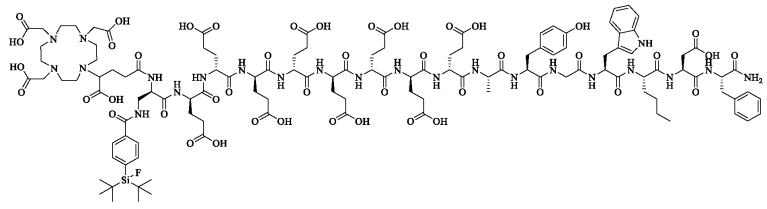
[0461]

[0462] **DOTA-MG-SiFA-19**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 10.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{108}H_{150}FN_{21}O_{57}Si$에 대한 m/z 계산치: 2380.0, 실측치: m/z = 1190.9 $[M+2H]^{2+}$, 794.4 $[M+3H]^{3+}$.



[0463]

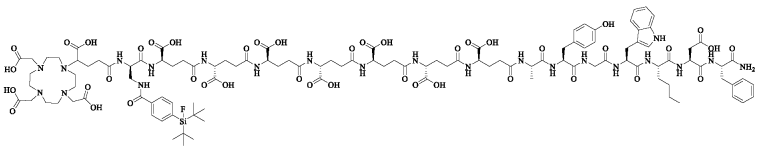
[0464] **DOTAGA-dap(SiFA)-glu-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-20)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.6 min, K' = 4.7; MS (ESI, 양성): $C_{116}H_{161}FN_{22}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2581.1, 실측치: m/z = 1292.0 $[M+2H]^{2+}$.



[0465]

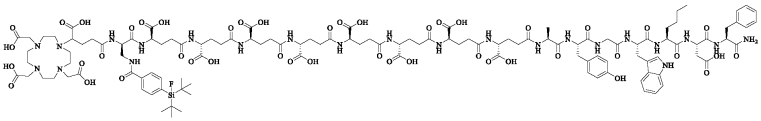
[0466] **DOTAGA-dap(SiFA)-$(glu)_2$-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-21)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90%

MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.4 min, K' = 4.6; MS (ESI, 양성): $C_{122}H_{169}FN_{22}O_{45}Si$에 대한 m/z 계산치: 2710.1, 실측치: m/z = 1355.9 $[M+2H]^{2+}$.



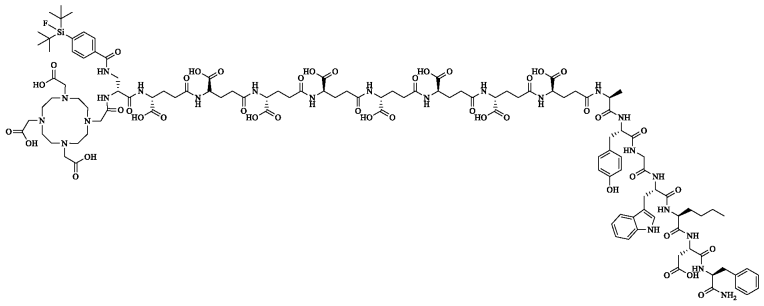
[0467]

[0468] **DOTAGA-dap(SiFA)-γ-glu-γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-22)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.4 min, K' = 4.6; MS (ESI, 양성): $C_{116}H_{161}FN_{22}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2581.1, 실측치: m/z = 1291.8 $[M+2H]^{2+}$, 861.6 $[M+3H]^{3+}$.



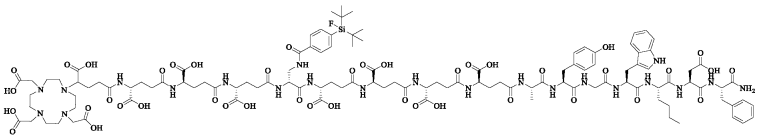
[0469]

[0470] **DOTAGA-dap(SiFA)-(γ-glu)$_2$-γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-23)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.3 min, K' = 4.5; MS (ESI, 양성): $C_{121}H_{168}FN_{23}O_{45}Si$에 대한 m/z 계산치: 2710.1, 실측치: m/z = 1356.1 $[M+2H]^{2+}$, 904.2 $[M+3H]^{3+}$.



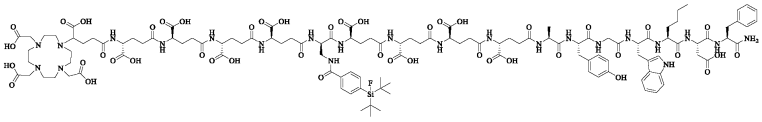
[0471]

[0472] **DOTA-MG-SiFA-23**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{118}H_{164}FN_{23}O_{43}Si$에 대한 m/z 계산치: 2638.1, 실측치: m/z = 1320.3 $[M+2H]^{2+}$, 880.5 $[M+3H]^{3+}$.



[0473]

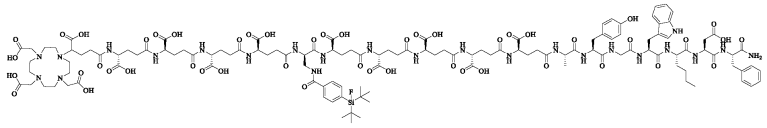
[0474] **DOTAGA-(γ-glu)$_2$-[dap(SiFA)^2]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-24)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.4 min, K' = 4.6; MS (ESI, 양성): $C_{116}H_{161}FN_{22}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2581.1, 실측치: m/z = 1292.5 $[M+2H]^{2+}$, 862.0 $[M+3H]^{3+}$.



[0475]

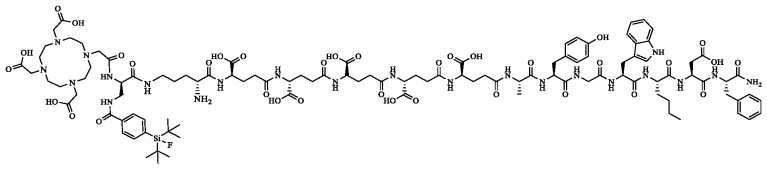
[0476] **DOTAGA-(γ-glu)$_3$-[dap(SiFA)^2]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-25)**: 분석용 RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.3 min, K' = 4.5; MS (ESI, 양성): $C_{122}H_{169}FN_{22}O_{45}Si$에 대한 m/z 계산

치: 2710.1, 실측치: m/z = 1357.1 $[M+2H]^{2+}$, 905.1 $[M+3H]^{3+}$.



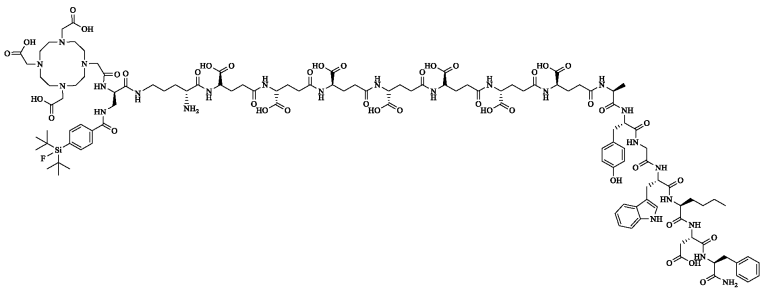
[0477]

[0478] **DOTAGA-(γ-glu)$_4$-[dap(SiFA)^1]γ-F11N (DOTAGA-MG-SiFA-26)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.2 min, K' = 4.5; MS (ESI, 양성): $C_{126}H_{175}FN_{24}O_{48}Si$에 대한 m/z 계산치: 2839.2, 실측치: m/z = 1422.4 $[M+2H]^{2+}$, 948.3 $[M+3H]^{3+}$.



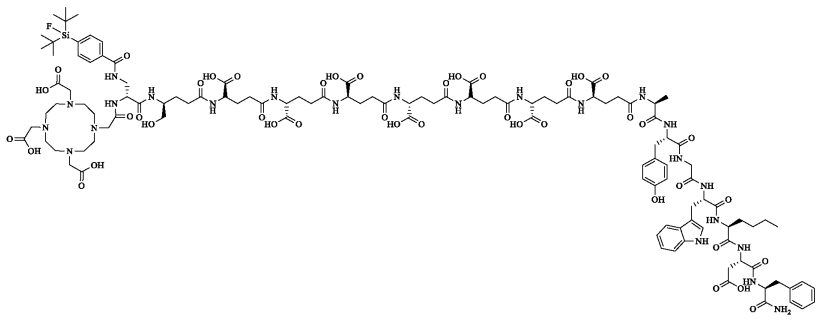
[0479]

[0480] **DOTA-dap(SiFA)-γ-orn-(γ-glu)$_5$-F11N (DOTA-MG-SiFA-27)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→90% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 9.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{108}H_{153}FN_{23}O_{35}Si$에 대한 m/z 계산치: 2366.1, 실측치: m/z = 1183.8 $[M+2H]^{2+}$, 789.6 $[M+3H]^{3+}$.



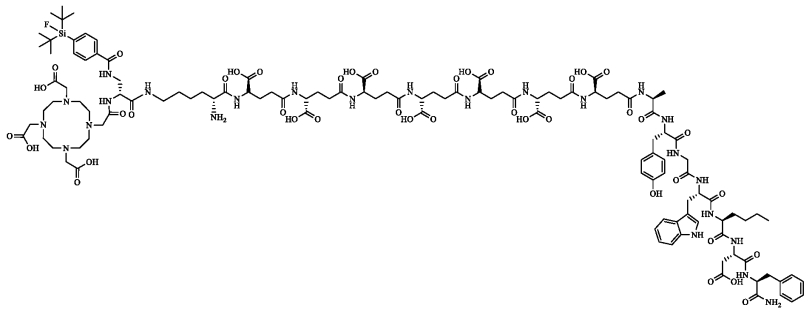
[0481]

[0482] **DOTA-dap(SiFA)-γ-orn-(γ-glu)$_7$-F11N (DOTA-MG-SiFA-28)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{118}H_{167}FN_{24}O_{41}Si$에 대한 m/z 계산치: 2623.2, 실측치: m/z = 1312.6 $[M+2H]^{2+}$.



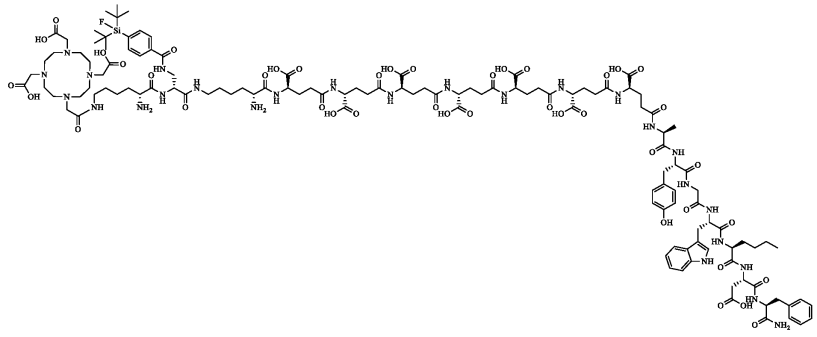
[0483]

[0484] **DOTA-dap(SiFA)-글루타몰-(γ-glu)$_7$-F11N (DOTA-MG-SiFA-29)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{118}H_{166}FN_{23}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2625.8, 실측치: m/z = 1313.6 $[M+2H]^{2+}$, 876.1 $[M+3H]^{3+}$.



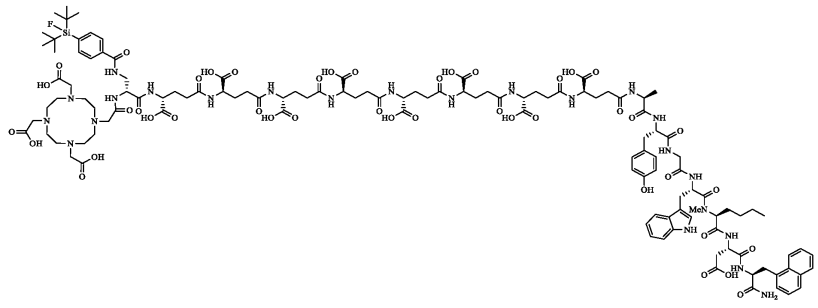
[0485]

[0486] **DOTA-dap(SiFA)-ɣ-lys-(ɣ-glu)$_7$-F11N (DOTA-MG-SiFA-30)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.4 min; MS (ESI, 양성): $C_{119}H_{169}FN_{24}O_{41}Si$에 대한 m/z 계산치: 2637.2, 실측치: m/z = 1319.5 $[M+2H]^{2+}$, 880.1 $[M+3H]^{3+}$.



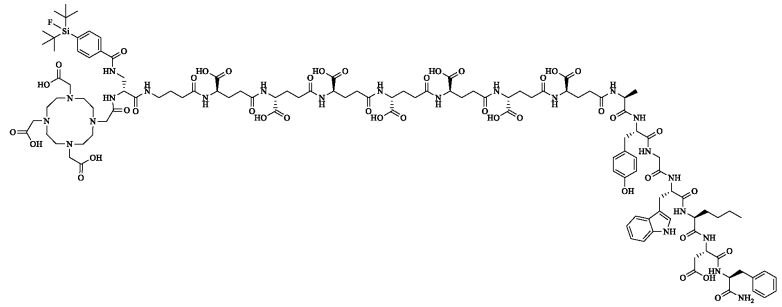
[0487]

[0488] **DOTA-ɣ-lys-dap(SiFA)-ɣ-lys-(ɣ-glu)$_7$-F11N (DOTA-MG-SiFA-31)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.0 min; MS (ESI, 양성): $C_{125}H_{181}FN_{26}O_{42}Si$에 대한 m/z 계산치: 2767.1, 실측치: m/z = 1383.7 $[M+2H]^{2+}$, 922.9 $[M+3H]^{3+}$.



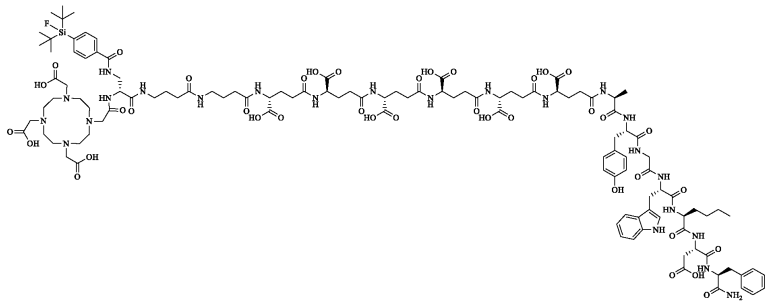
[0489]

[0490] **DOTA-dap(SiFA)-(ɣ-glu)$_8$-MGS5 (DOTA-MG-SiFA-40)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 12.5 min; MS (ESI, 양성): $C_{123}H_{168}FN_{23}O_{43}Si$에 대한 m/z 계산치: 2702.1, 실측치: m/z = 1352.8 $[M+2H]^{2+}$.



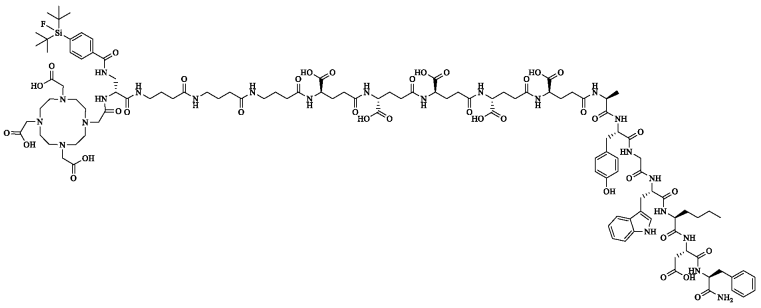
[0491]

[0492] **DOTA-dap(SiFA)-GABA-(γ-glu)$_7$-F11N (DOTA-MG-SiFA-44)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{117}H_{164}FN_{23}O_{41}Si$에 대한 m/z 계산치: 2594.1, 실측치: m/z = 1298.9 $[M+2H]^{2+}$, 866.3 $[M+3H]^{3+}$.



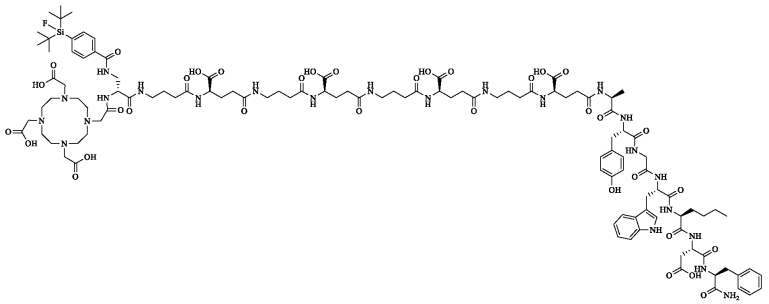
[0493]

[0494] **DOTA-dap(SiFA)-(GABA)$_2$-(γ-glu)$_6$-F11N (DOTA-MG-SiFA-45)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{116}H_{164}FN_{23}O_{39}Si$에 대한 m/z 계산치: 2550.1, 실측치: m/z = 1277.0 $[M+2H]^{2+}$, 851.6 $[M+3H]^{3+}$.



[0495]

[0496] **DOTA-dap(SiFA)-(GABA)$_3$-(γ-glu)$_5$-F11N (DOTA-MG-SiFA-46)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.9 min; MS (ESI, 양성): $C_{115}H_{164}FN_{23}O_{37}Si$에 대한 m/z 계산치: 2507.8, 실측치: m/z = 1254.5 $[M+2H]^{2+}$, 836.7 $[M+3H]^{3+}$.



[0497]

[0498] **DOTA-dap(SiFA)-(GABA-γ-glu)$_4$-F11N (DOTA-MG-SiFA-47)**: RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 10→70% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 11.8 min; MS (ESI, 양성): $C_{114}H_{164}FN_{23}O_{35}Si$에 대한 m/z 계산치: 2462.2, 실측치: m/z = 1232.5 $[M+2H]^{2+}$, 822.0 $[M+3H]^{3+}$.

[0499] **2.2. 폴리-글루타메이트 링커를 포함하는 MG-SiFA 화합물의 시험관내 및 생체내 결과**

[0500] 다수의 MG-SiFA 화합물을 합성하고, $^{nat/177}$Lu-표지하여 시험관내 평가하였다. AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (IC_{50}) 뿐만 아니라 친지성 ($logD_{7.4}$)이 결정되었다. 또한, 참조 리간드 $^{nat/177}$Lu-DOTA-PP-F11N 및 $^{nat/177}$Lu-CP04 ($^{nat/177}$Lu-DOTA-(glu)$_6$-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH_2)를 합성하여, 마찬가지로 평가하였다 (**표 2**).

[0501] **표 9**: 폴리-D-α/ɣ-글루타메이트 쇄 내에서의 dap(SiFA) 빌딩 블록의 위치를 다르게 한 CCK-2R-표적화된 리간드의 AR4-2J 세포 상에서의 CCK-2R 친화도 (반수-최대 억제 농도, 즉, IC_{50}으로서 기술됨) 및 친지성 (pH = 7.4에서의 n-옥탄올/PBS 분배 계수, 즉, $logD_{7.4}$로서 기술됨). 화합물은 $^{nat}Lu/^{177}Lu$와 복합체를 형성하였고, 이를 2종의 참조 리간드와 비교하였다. 서열 H-glu^{1}-glu^{2}-glu^{3}-glu^{4}-glu^{5}-glu^{6}-Ala^{7}-Tyr^{8}-Gly^{9}-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2는 F11N으로 정의된다. 서열 H-ɣ-glu^{1}-ɣ-glu^{2}-ɣ-glu^{3}-ɣ-glu^{4}-ɣ-glu^{5}-ɣ-glu^{6}-Ala^{7}-Tyr^{8}-Gly^{9}-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2는 ɣ-F11N으로 정의된다. MGS5: H-Ala^{7}-Tyr^{8}-Gly^{9}-Trp^{10}-(N-Me)Nle^{11}-Asp^{12}-1-Nal^{13}-NH_2, GABA: ɣ-아미노부티르산.

CCK-2R-표적화된 리간드	IC_{50} [nM] (n = 3), ^{nat}Lu-표지됨	log$D_{7.4}$ ($n \geq 5$), ^{177}Lu-표지됨
DOTA-PP-F11N (DOTA-(glu)$_6$-F11N)	12.8 ± 2.8	−4.75 ± 0.07
CP04	11.2 ± 0.2	−3.80 ± 0.10
DOTAGA-MG-SiFA-5 (-(glu)$_6$-dap(SiFA)-)	629 ± 48	−1.71 ± 0.10
DOTAGA-MG-SiFA-6 (-(glu)$_5$-dap(SiFA)-glu-)	155 ± 18	−1.95 ± 0.09
DOTAGA-MG-SiFA-7 (-(glu)$_4$-dap(SiFA)-(glu)$_2$-)	156 ± 4	−2.03 ± 0.10
DOTAGA-MG-SiFA-8 (-(glu)$_3$-dap(SiFA)-(glu)$_3$-)	185 ± 14	−2.19 ± 0.08
DOTAGA-MG-SiFA-9 (-(glu)$_2$-dap(SiFA)-(glu)$_4$-)	90.0 ± 2.3	−2.67 ± 0.05
DOTAGA-MG-SiFA-10 (-glu-dap(SiFA)-(glu)$_5$-)	56.8 ± 6.4	−2.22 ± 0.08
DOTAGA-MG-SiFA-11 (-dap(SiFA)-(glu)$_6$-)	75.7 ± 10.7	−2.63 ± 0.08
DOTA-PP-γ-F11N (DOTA-(γ-glu)$_6$-F11N)	7.5 ± 0.5	−4.38 ± 0.05
DOTAGA-MG-SiFA-13 (-(γ-glu)$_6$-dap(SiFA))	863 ± 147	−2.15 ± 0.08
DOTAGA-MG-SiFA-14 (-(γ-glu)$_5$-dap(SiFA)-γ-glu-)	111 ± 13	−2.23 ± 0.07
DOTAGA-MG-SiFA-15 (-(γ-glu)$_4$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_2$-)	89.7 ± 14.5	−2.34 ± 0.05
DOTAGA-MG-SiFA-16 (-(γ-glu)$_3$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_3$-)	68.5 ± 11.4	−2.57 ± 0.06
DOTAGA-MG-SiFA-17 (-(γ-glu)$_2$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_4$-)	51.3 ± 9.3	−2.26 ± 0.05
DOTAGA-MG-SiFA-18 (-γ-glu-dap(SiFA)-(γ-glu)$_5$-)	33.0 ± 11.1	−2.50 ± 0.02
DOTAGA-MG-SiFA-19 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_6$-)	20.4 ± 2.7	−2.54 ± 0.05
DOTA-MG-SiFA-19 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_6$-)	7.54 ± 0.26	−2.70 ± 0.09
DOTAGA-MG-SiFA-20 (-dap(SiFA)-(glu)$_7$-)	58.0 ± 11.0	−2.19 ± 0.08
DOTAGA-MG-SiFA-21 (-dap(SiFA)-(glu)$_8$-)	55.3 ± 7.8	−2.84 ± 0.04
DOTAGA-MG-SiFA-22 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_7$-)	29.5 ± 1.9	−2.16 ± 0.09
DOTAGA-MG-SiFA-23 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_8$-)	20.4 ± 2.0	−2.10 ± 0.06
DOTA-MG-SiFA-23 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_8$-)	4.71 ± 0.62	−2.69 ± 0.06
DOTAGA-MG-SiFA-24 (-(γ-glu)$_3$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_4$-)	66.6 ± 4.4	−2.72 ± 0.05
DOTAGA-MG-SiFA-25 (-(γ-glu)$_4$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_4$-)	62.9 ± 8.1	−2.74 ± 0.04
DOTAGA-MG-SiFA-26 (-(γ-glu)$_4$-dap(SiFA)-(γ-glu)$_5$-)	37.1 ± 3.8	−2.89 ± 0.04
DOTA-MG-SiFA-27 (-dap(SiFA)-γ-orn-(γ-glu)$_5$-)	9.43 ± 2.33	−1.90 ± 0.10
DOTA-MG-SiFA-28 (-dap(SiFA)-γ-orn-(γ-glu)$_7$-)	23.6 ± 1.79	−1.81 ± 0.10
DOTA-MG-SiFA-29 (-dap(SiFA)-글루타몰-(γ-glu)$_7$-)	6.55 ± 1.23	−1.88 ± 0.07
DOTA-MG-SiFA-30 (-dap(SiFA)-γ-lys-(γ-glu)$_7$-)	14.5 ± 2.39	−1.74 ± 0.03
DOTA-MG-SiFA-31 (-γ-lys-dap(SiFA)-γ-lys-(γ-glu)$_7$-)	53.40 ± 8.86	−1.88 ± 0.10
DOTA-MG-SiFA-40 (-dap(SiFA)-(γ-glu)$_8$-MGS5)	8.27 ± 0.35	−1.83 ± 0.04
DOTA-MG-SiFA-44 (-dap(SiFA)-GABA-(γ-glu)$_7$-)	3.47 ± 0.27	−2.01 ± 0.07
DOTA-MG-SiFA-45 (-dap(SiFA)-(GABA)$_2$-(γ-glu)$_6$-)	3.15 ± 0.12	−1.98 ± 0.02
DOTA-MG-SiFA-46 (-dap(SiFA)-(GABA)$_3$-(γ-glu)$_5$-)	5.52 ± 0.25	−2.09 ± 0.07
DOTA-MG-SiFA-47 (-dap(SiFA)-(GABA-γ-glu)$_4$-)	6.77 ± 1.01	−1.93 ± 0.08

[0502]

[0503] 일반적으로, 폴리-ɣ-glu 링커를 포함하는 미니가스트린 유사체 ([^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA13-19)는 그의 링커 내에 정확한 양의 α-glu 잔기를 함유하는 그의 대응물 ([^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA5-11)과 비교하여 개선된 CCK-2R 친화도를 제시하였다. 이는 또한 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-ɣ-F11N에 대해서도 관찰되었으며, 이는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N보다 1.7배 더 낮은 IC_{50} 값을 나타냈다. 그 이유로는, 각각의 펩티드 백본이 α-glu 대신에 ɣ-glu를 사용한 경우에 뚜렷하게 연장되므로, 결합 서열 (Ala^{7}-Tyr^{8}-Gly^{9}-Trp^{10}-Nle^{11}-Asp^{12}-Phe^{13}-NH_2)에 대한 dap(SiFA) 뿐만 아니라 킬레이터 모이어티의 분리가 증대되기 때문인 것으로 시사된다. dap(SiFA) 모이어티를 함유하는

화합물의 경우에, 상기 기가 적어도 5 또는 6개의 α-/ɣ-glu 모이어티에 의해 분리된 경우에 가장 높은 CCK-2R 친화도가 관찰되었다. 당연하게도, DOTAGA 킬레이터를 추가적으로 포함하는 SiFA-함유 MG 유도체 중에서, [^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19가 가장 높은 CCK-2R 친화도를 나타냈다. 흥미로운 사실은, ɣ-glu 모이어티의 추가의 첨가 ([^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-22/-23)가 개선된 CCK-2R 친화도를 초래하지 않았다는 것이다. 그러나, [^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-23에서 DOTAGA가 DOTA에 의해 치환되면 CCK-2R 친화도가 크게 증가되었고 ([^{nat}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23: 4.71 ± 0.62 nM), 이는 심지어 참조 리간드도 능가하였다. 수용체가 해당 자리에서 킬레이트의 전체적으로 중성인 전하를 선호하는 것으로 가정된다. [^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19의 DOTAGA의 DOTA에 의한 치환의 경우에도 유사한 관찰결과가 얻어졌고, 이는 3배 더 낮은 IC_{50} 값을 유도하였다.

[0504] 모든 ^{177}Lu-표지된 MG-SiFA 리간드가 또한 SiFA-무함유 참조 리간드와 비교하여 상승된 친지성을 나타내는 것은 놀라운 사실이 아니다. 그러나, 상기에 언급된 바와 같이, 이러한 높은 친수성의 특징은 투여된 활성이 방광으로 신속하게 소실되도록 하기 때문에 향상된 종양 축적을 방해한다는 것이 시사된다. 이러한 이유로, ^{177}Lu-표지된 MG-SiFA 접합체의 감소된 친수성이 연장된 생체내 순환 시간을 초래하며, 그 결과 종양 흡수를 향상시키는 것으로 가정된다. 본 발명자들의 ^{177}Lu-표지된 MG-SiFA 화합물의 대부분이 -3 내지 -2의 범위의 $logD_{7.4}$ 값을 나타냈다. 클링어 등이 약물작용발생단-변형된 CCK-2R-표적화된 리간드를 보고하였으며, 이는 본 발명자들의 MG-SiFA 접합체와 유사한 범위의 logD 값을 나타냈다. 주목해야 할 사실은, 종양 축적이 그의 리간드 [^{68}Ga]Ga-/[^{111}In]In-/[^{177}Lu]Lu-DOTA-MGS5 및 [^{99m}Tc]Tc-HYNIC-MGS11의 경우에 지나치게 높았다는 것이다 [30,34]. 따라서, 상기 친지성 범위가 CCK-2R-어드레싱 유도체에 대해 완벽하게 적합할 수 있는 것으로 추정된다.

[0505] 보다 나은 비교를 위해, 폴리-α-글루타메이트 및 폴리-ɣ-글루타메이트 링커를 각각 포함하는 가장 유망한 DOTAGA-함유 접합체가 추가의 생체내 연구용으로 선택되었다. 그에 따라, p.i. 24 h에서의 생체분포 연구를 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-21 및 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 둘 다를 사용하여 수행하였으며, 이를 참조물 [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N과 비교하였다 (**도 24**).

[0506] 추가로, 참조 화합물보다 높은 CCK-2R 친화도를 나타내는 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23을 p.i. 1 및 24 h에 생체내 평가하였다 (**도 25**).

[0507] 상기에 논의된 바와 같이, [^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-21 및 [^{nat}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19는 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N보다 대략 5배 및 대략 2배 증가된 IC_{50} 값을 나타낸 반면에, [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23은 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N보다 거의 3배 더 낮은 IC_{50} 값을 나타냈다. 모든 3종의 MG-SiFA 유도체는 또한 참조 리간드보다 뚜렷하게 더 높은 친지성을 나타냈다. 그럼에도 불구하고, [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23이 p.i. 24 h에 종양에서 가장 높은 활성 수준을 나타냈으며 (> 25%ID/g), 이는 [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N보다 8배를 초과하여 더 높았다. 흥미롭게도, DOTAGA-MG-SiFA 화합물 둘 다는, 그의 보다 낮은 CCK2R 친화도에도 불구하고, p.i. 24 h에 종양에서 3- 내지 6배 증가된 활성 수준을 제시하였으며, 이는 둔화된 활성 소실의 이익에 관한 본 발명자들의 가설을 뒷받침한다 [35]. [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N과 구조적으로 밀접한 관련이 있는, 제2 참조 리간드 [^{177}Lu]Lu-CP04는 A431-CCK-2R(+) 종양-보유 마우스의 종양 조직에서 p.i. 24 h에 0.63 ± 0.08%ID/g을 나타내는 것으로 보고되어 있으며, 이는 본 발명자들의 데이터를 추가로 보강한다 [36]. 시간의 경과에 따라 개선된 종양 흡수 및 둔화된 소실이 또한 DOTAGA-접합된 MG-SIFA 화합물에 대한 p.i. 1, 4 및 24 h에서의 (**도 26**), 그리고 또한 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23에 대한 p.i. 1 및 24 h에서의 (**도 27**) μSPECT/CT 영상화에 의해 강조되었다. CCK-2R-양성 종양 및 위에서의 [^{177}Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19 및 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23 둘 다의 축적은 특이적이었으며, 이는 초과량의 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5의 공동-투여를 통한 경쟁 연구에 의해 제시되었다 (**도 28**).

[0508] 또한, 모든 MG-SiFA 리간드의 경우에 p.i. 1 h에서의 종양 축적이 참조물과 비교하여 뚜렷하게 더 높다는 것이 분명하였으며, 이는 플루오린-18로 표지되었을 때 영상화를 위한 이들 화합물의 잠재적인 용도에 있어서 중요하다. 킬레이터 및 SiFA 모이어티의 존재로 인해, ^{nat}Lu/^{18}F-표지 및 ^{177}Lu/^{19}F-표지된 MG-SiFA 리간드 각각의 매우

유사하거나 또는 심지어 동일한 생체분포 프로파일이 예상된다. 모든 MG-SiFA 리간드의 경우에 위에서의 활성 수준 또한 참조물과 비교하여 더 높았고, 위가 CCK-2R-양성 장기이기 때문에 이는 예상된 바이다. 흥미롭게도, 간에서의 활성 수준이, 그의 증가된 친지성에도 불구하고, [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N과 비슷하게 낮았다. 따라서, SiFA 모이어티의 미니가스트린 유사체로의 도입이 매우 적합한 것으로 시사된다. 그러나, 모든 3종의 MG-SiFA 화합물이 p.i. 24 h에 신장에서 크게 상승된 활성 수준을 겪는다는 것이 언급되어야 하는데 (> 80%ID/g), 이는 참조 화합물의 경우에는 확인되지 않았다. 이러한 관찰결과에 대한 설명이 아직 없지만, 이와 같이 증가된 신장 흡수 및 유지를 야기하는, 링커 내의 SiFA 모이어티와 음전하의 미지의 상승작용적 효과가 존재하는 것으로 보인다는 가정이 성립된다. 그러나, ^{18}F-표지되었을 때, 상기 동위원소의 물리적 반감기가 짧기 때문에, 심각하게 우려되지는 않을 것이다.

[0509] 그럼에도 불구하고, dap(SiFA) 빌딩 블록에 매우 근접해 있는 음전하의 감소 또는 분리에 의해 이러한 문제를 해결하려는 시도가 있었다. N-말단 γ-glu 모이어티가 γ-orn (DOTA-MG-SiFA-27/-28), 글루타몰 (DOTA-MG-SiFA-29) 또는 γ-lys (DOTA-MG-SiFA-30/-31)로 치환되었다. 흥미롭게도, CCK-2R 친화도 및 친지성 둘 다가 이들 치환에 의해 현저히 저해되었다. 각각의 이들 화합물 ([^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-27-31)은 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23보다 거의 하나의 크기 정도만큼 더 높은 $logD_{7.4}$ 값을 나타냈다 (**표 9**). 또한, IC_{50} 값은 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-27 및 -29의 경우에는 약간 향상되었지만, [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-28, -30 및 특히 -31의 경우에는 현저히 증가되었다. 따라서, 작은 변형이 상당한 영향을 미치는 것으로 보이므로, N-말단 영역에서의 전하 분포는 매우 민감한 것으로 가정된다.

[0510] 이들 결과에 기반하여, 1개 이상의 γ-glu를, 백본 길이를 유지하지만 보다 적은 양의 음전하를 갖는 γ-아미노부티르산 (GABA) 모이어티로 치환함으로써 음전하를 감소시키기로 결정하였으며, 이로써 4종의 화합물 DOTA-MG-SiFA-44-47이 초래되었다. 각각의 이들 ^{177}Lu-표지된 화합물은 유사한 $logD_{7.4}$ 값을 나타냈으며, 이는 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23보다 절반 초과의 크기 정도만큼 더 높았다 (**표 9**). 그러나, CCK-2R 친화도는 [^{177}Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23과 비슷하거나 또는 심지어 더 높았으며, 이는 음전하가 높은 CCK-2R 친화도를 위해 중요한 것으로 추정되었기 때문에 놀라운 사실이었다. 그럼에도 불구하고, 상승된 친지성 때문에 GABA-포함 MG-SiFA 화합물은 생체내 평가되지 않았다.

[0511] 결론적으로, 미니가스트린 유도체의 링커 절편에 규소계 플루오라이드 수용체 빌딩 블록을 첨가하는 것의 기능성이 입증되었다. 생성된 MG-SiFA 화합물은 PET를 통한 MTC의 영상화를 위한 용이하고 신속한 ^{18}F-표지를 가능하게 한다. 더욱이, 친지성 SiFA 모이어티의 첨가는 또한 둔화된 활성 소실로 인해 전체적인 약동학을 크게 개선시켰으며, 이는 p.i. 1 h 뿐만 아니라 24 h에서도 종양에서 뚜렷하게 증가된 활성 수준을 초래하였다. p.i. 24 h에서의 평가가 이루어졌지만, 이들 MG-SiFA 리간드의 사용은, 이들 화합물이 상승된 신장 유지를 겪기 때문에, 루테튬-177을 사용하는 표적화된 방사선요법에 권장되지 않는다는 것이 언급되어야 한다. 그러나, 이러한 상승된 신장 흡수는 ^{18}F-표지되었을 때 크게 우려되지 않는데, 이는 PSMA 억제제가 일반적으로 p.i. 1 h에 보다 높은 흡수 값을 나타내기 때문이다. DOTA-MG-SiFA-23의 진단학적 가치가 ^{177}Lu- 및 ^{18}F-표지물 둘 다에 대해 p.i. 1 h에서의 생체분포 및 영상화 연구에 의해 확증되었으며 (**도 22** 및 **24**), 이러한 이유로 상기 화합물이 MTC 영상화를 위한 앞으로의 임상 용도에 있어서 대단한 유망성을 갖는다.

[0512] **실시예 3 - 재료 및 방법**

[0513] **3.1. 일반사항**

[0514] Fmoc- (9-플루오레닐메톡시카르보닐-) 및 모든 다른 보호된 아미노산 유사체는 바켐 인크. (Bachem Inc.; 스위스 부벤도르프 소재), 시그마-알드리치 게엠베하 (Sigma-Aldrich GmbH; 독일 뮌헨 소재) 또는 아이리스 바이오테크 게엠베하 (Iris Biotech GmbH; 독일 마르크트레드비츠 소재)로부터 구입되었다. H-링크 아미드 켐매트릭스(ChemMatrix)® 수지 (35-100 메시 입자 크기, 0.4-0.6 mmol/g 로딩)는 시그마-알드리치 게엠베하 (독일 뮌헨 소재)로부터 구입되었다. 케마테크 (CheMatech; 프랑스 디종)에 의해 킬레이터 DOTA(^{t}Bu)$_3$ 뿐만 아니라 DOTAGA(^{t}Bu)$_4$가 제공되었다. 펩티드 시린지는 VWR 인터내셔널 게엠베하 (VWR International GmbH; 독일 브루흐잘 소재)로부터 입수되었다.

[0515] 모든 필요한 용매 및 그 외 다른 유기 시약은 알파 에이사 (Alfa Aesar; 독일 카를스루에 소재), 시그마-알드리치 게엠베하 (독일 뮌헨 소재) 또는 VWR 인터내셔널 게엠베하 (독일 브루흐잘 소재)로부터 구입되었다. 펩티드의 고체-상 합성은 실로게엑스(Scilogex) MX-RL-E 아날로그 로티세리 튜브 로테이터(Analog Rotisserie Tube Rotator) (미국 코네티컷주 록키 힐 소재의 실로게엑스)를 사용하여 수동 조작에 의해 수행되었다. H_2O는 반스테드 마이크로퓨어 시스템(Barnstead MicroPure system) (미국 매사추세츠주 월섬 소재의 써모 피셔 사이언티픽 인크.(Thermo Fisher Scientific Inc.))에 의한 정제 후에 사용되었다.

[0516] 분석용 및 정제용 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (RP-HPLC)는 SPD-20A UV/Vis 검출기 (220 nm, 254 nm)가 각각 장착된 시마즈(Shimadzu) 구배 시스템 (독일 뉴파른 소재의 시마즈 도이칠란트 게엠베하(Shimadzu Deutschland GmbH))을 사용하여 수행되었다. H_2O (0.1% TFA) 중 MeCN (0.1% TFA)의 상이한 구배가 모든 RP-HPLC 조작을 위한 용리액으로서 사용되었다.

[0517] 분석용 측정을 위해서는, 1 mL/min의 유량으로 멀토크롬(MultoKrom) 100-5 C18 (5 μm, 125 x 4.6 mm) 칼럼 (독일 랑게르베헤 소재의 CS 크로마토그래피 게엠베하(CS Chromatographie GmbH))이 사용되었다. 특정한 구배 및 상응하는 체류 시간 t_R 뿐만 아니라 용량 인자 K'이 모두 본문에 언급되어 있다.

[0518] 정제용 RP-HPLC 정제는 멀토크롬 100-5 C18 (5 μm, 250 x 10 mm) 칼럼 (독일 랑게르베헤 소재의 CS 크로마토그래피 게엠베하)을 사용하여 10 mL/min의 일정한 유량으로 수행되었다.

[0519] 분석용 및 정제용 방사성 RP-HPLC는 멀토크롬 100-5 C18 (5 μm, 125 x 4.6 mm) 칼럼 (독일 랑게르베헤 소재의 CS 크로마토그래피 게엠베하)을 사용하여 수행되었다. 물질의 특징화를 위한 전기분무 이온화-질량 스펙트럼이익스프레션(expression)^L CMS 질량 분광계 (영국 할로 소재의 애드비온 리미티드(Advion Ltd.)) 상에서 수집되었다.

[0520] 방사성표지를 위해, [^{177}Lu]$LuCl_3$ (몰 활성 (A_M) > 3,000 GBq/mg, 740 MBq/mL, 0.04 M HCl, 독일 가르힝 소재의 ITG 게엠베하)이 사용되었다. 방사성은 EG&G 오르텍 (EG&G Ortec; 미국 테네시주 오크 리지 소재)으로부터의 에이스메이트(AceMate) 925-신트 NaI(Tl) 웰-타입 섬광 계수기에 UV-광도계의 유출구를 연결함으로써 검출되었다. 방사성 프로브는 위자드(WIZARD)^2® 2480 자동 γ-계수기 (미국 매사추세츠주 월섬 소재의 퍼킨 엘머)에 의해 측정되고, IC_{50} 값의 결정은 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 6 (미국 캘리포니아주 샌디에이고 소재의 그래프패드 소프트웨어 인크.(GraphPad Software Inc.))을 사용하여 수행되었다. 방사성 TLC를 위해, 라우라(Laura)™ 소프트웨어 (영국 쉐필드 브룸힐 소재의 랩로직 시스템즈 리미티드(LabLogic Systems Ltd.))가 설치된 스캔-램(Scan-RAM)™ 스캐너가 사용되었다.

[0521] NMR 스펙트럼은 300 K에서 브루커 (Bruker; 미국 빌레리카 소재) AVHD-300 또는 AVHD-400 분광계 상에서 기록되었다. 동결건조는 RZ-2 진공 펌프 (독일 올힝 소재의 바큐브란트 게엠베하 운트 코 카게(Vacuubrand GmbH & Co KG))와 조합된 알파 1-2 LD플러스 동결건조기 (독일 오스테로데 암 하르츠 소재의 마르틴 크리스트 게프리에트로크넝산라겐 게엠베하(Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH))를 사용하여 달성되었다.

[0522] 시험관내 및 생체내 연구를 위해, RPMI 1640 배지 (5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x) 및 10% FCS가 보충됨)가 영양 배지로서 사용되었다. 배양물의 계대 배양을 위해, 0.1% EDTA (v/v)가 함유된 포스페이트 완충 염수 (PBS 둘베코(Dulbecco), Ca^{2+}/Mg^{2+} 무함유) 용액을 사용하여 세포를 분리하였다. 모든 언급된 용액 뿐만 아니라 태아 소 혈청 (FBS 슈페리어(Superior))은 바이오크롬 게엠베하 (Biochrom GmbH; 독일 베를린 소재)로부터 입수되었다. 정제된 생성물의 용해는 트레이스퓨어(Tracepur)® H_2O (독일 다름슈타트 소재의 머크 카게아아(Merck KGaA))를 사용하여 적용되었다. 소 혈청 알부민 (BSA)은 바이오웨스트 (Biowest; 프랑스 누아일레 소재)로부터 구입되었다.

[0523] 세포는 셀스타(CELLSTAR)® 세포 배양 플라스크에서 배양되어, 트리판 블루 (0.81% NaCl 및 0.06% 칼륨 포스페이트 중 0.4%) 용액 (독일 뮌헨 소재의 시그마-알드리치 게엠베하)을 사용하여 노이바우어(Neubauer) 혈구계 (독일 로다-쾨니히쇼펜 소재의 폴 마리엔펠트(Paul Marienfeld))로 계수한 후에 24-웰 플레이트 (오스트리아 크렘스뮌스터 소재의 그라이너 바이오-원 게엠베하(Greiner Bio-One GmbH))에 시딩되었다. 세포는 MSC 어드밴타게(Advantage) 층류 캐비닛 내부에서 취급되며, 가습된 5% CO_2 분위기 하에 37℃에서 헤라셀(Heracell) 150i 인큐베이터 (미국 매사추세츠주 월섬 소재의 써모 피셔 사이언티픽 인크.)에 유지되었다. CCK-2R을 발현하는 래

트 췌장 종양 세포 AR4-2J는 ECACC (European Collection of Cell Cultures; 영국 살리스베리 소재)로부터 입수되었다.

[0524] **3.2. 합성 프로토콜**

[0525] **3.2.1 Fmoc-전략을 따르는 고체-상 펩티드 합성**

[0526] **DIPEA를 사용하는 수지 상에서의 펩티드 형성**

[0527] 각각의 측쇄 보호된 Fmoc-AA-OH (1.5 eq.)를 NMP에 용해시키고, TBTU (1.5 eq.), HOAt (1.5 eq.) 및 DIPEA (4.5 eq.)를 첨가하여 예비-활성화시켰다. 10 min 동안의 활성화 후에, 용액을 수지-결합된 유리 아민 펩티드에 첨가하고, 실온 (rt)에서 1.5 h 동안 진탕시켰다. 후속적으로, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 20 mL)로 세척하고, Fmoc 탈보호 후에, 다음 아미노산을 유사하게 커플링시켰다.

[0528] **2,4,6-콜리딘을 사용하는 수지 상에서의 펩티드 형성**

[0529] dap(Dde) 모이어티를 함유하는 펩티드의 유리 N-말단에 대한 아미노산의 커플링 반응 또는 dap(Dde) 아미노산의 커플링을 위해, 2,4,6-콜리딘이 염기로서 사용되었다. 따라서, 각각의 측쇄 보호된 Fmoc-AA-OH (1.5 eq.)를 NMP에 용해시키고, TBTU (1.5 eq.), HOAt (1.5 eq.) 및 2,4,6-콜리딘 (6.0 eq.)을 첨가하여 예비-활성화시켰다. 10 min 동안의 활성화 후에, 용액을 수지-결합된 유리 아민 펩티드에 첨가하고, rt에서 1.5 h 동안 진탕시켰다. 후속적으로, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 20 mL)로 세척하고, Fmoc 탈보호 후에, 다음 아미노산을 유사하게 커플링시켰다.

[0530] **수지 상에서의 Fmoc 탈보호**

[0531] 수지-결합된 Fmoc-펩티드를 NMP 중 20% 피페리딘 (v/v)으로 5 min 동안, 그리고 후속적으로 15 min 동안 처리하였다. 그 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 20 mL)로 세척하였다.

[0532] **Fmoc-$_D$-Cit-OH의 수지 상에서의 Fmoc 탈보호**

[0533] 수지-결합된 Fmoc-펩티드를 NMP 중 20% 피페리딘 (v/v)으로 15 min 동안 처리하고, 용매를 여과하였다. 이 절차를 2회 반복하였다. 그 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 20 mL)로 세척하였다.

[0534] **수지 상에서의 Dde 탈보호**

[0535] Dde 탈보호는 NMP (7 mL) 및 DCM (3 mL) 중 이미다졸 (75 eq.), 히드록실아민 히드로클로라이드 (100 eq.)의 용액을 수지에 첨가하고, rt에서 2 h 동안 진탕시킴으로써 수행되었다. 탈보호가 완료된 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 20 mL)로 세척하였다.

[0536] **킬레이터 또는 SiFA 모이어티의 접합**

[0537] 보호된 킬레이터 DOTA(^{t}Bu)$_3$ 또는 DOTAGA(^{t}Bu)$_4$ 또는 SiFA 모이어티 (1.5 eq.)를 NMP에 용해시키고, TBTU (1.5 eq.), HOAt (1.5 eq.) 및 2,4,6-콜리딘 (6.0 eq.)을 첨가하여 예비-활성화시켰다. 10 min 동안의 활성화 후에, 용액을 수지-결합된 N-말단 탈보호된 펩티드 (1.0 eq.)에 첨가하고, rt에서 3 h 동안 진탕시켰다. 후속적으로, 수지를 NMP (수지의 g당 3 x 20 mL) 및 DCM (수지의 g당 3 x 20 mL)으로 세척하였다.

[0538] **SiFA-Br의 접합**

[0539] SiFAlin 모이어티를 생성하기 위해, 수지를 DCM 중에서 팽윤시켰다. DCM (2 mL) 중 DIPEA (6.0 eq.) 및 SiFA-Br (3.0 eq.)의 용액을 수지에 첨가하고, 밤새 진탕시켰다. 수지를 DCM (5 x 5 mL)으로 세척하고, 데시케이터에서 건조시켰다.

[0540] **SiFA-ipa의 접합**

[0541] rt에서 10 min 동안의 예비-활성화 후에, 수지-결합된 펩티드를 NMP (수지의 g당 4 mL) 중 SiFA-ipa (3.0 eq.) 및 HOAt (3.0 eq.)의 용액, 뿐만 아니라 NMP (수지의 g당 4 mL) 중 TBTU (3 eq.) 및 2,4,6-콜리딘 (11.0 eq.)의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 rt에서 3 h 동안 진탕시키고, 그 후에 여과하였다. 이어서, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 10 mL)로 세척하였다.

[0542] **산 불안정성 보호기의 탈보호가 수반되는 수지로부터의 펩티드 절단**

[0543] 완전히 보호된 수지-결합된 펩티드를 DCM으로 세척하고, 그 후에 TFA/TIPS/H_2O (v/v/v; 95/2.5/2.5)의 혼합물에 용해시키고, 60 min 동안 진탕시켰다. 용액을 여과하고, 수지를 동일한 방식으로 추가로 60 min 동안 처리하였다. 두 여과물을 합치고, rt에서 추가로 6 h 동안 교반하였다. 질소 스트림 하에 TFA를 제거한 후에, 조질 생성물이 수득되었다.

[0544] **p-노실 보호**

[0545] 수지 결합된 펩티드를 NMP (수지의 g당 10 mL) 중 p-노실클로라이드 (5.0 eq.) 및 2,4,6-콜리딘 (10.0 eq.)의 용액에 용해시키고, RT에서 30 min 동안 진탕시켰다. 탈보호 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 10 mL)로 세척하였다.

[0546] **p-노실 탈보호**

[0547] NMP (수지의 g당 10 mL) 중 β-메르캅토에탄올 (10 eq.) 및 DBU (5.0 eq.)의 용액을 p-노실 보호된, 수지-결합된 펩티드에 첨가하고, RT에서 2 x 15 min 동안 진탕시켰다. 그 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 10 mL)로 세척하였다.

[0548] **N-메틸화**

[0549] 수지를 PPh_3 (무수 THF 중 0.3 M, 5.0 eq.) 및 MeOH (10 eq.)의 용액에 용해시키고, 수지를 RT에서 1 min 동안 진탕시켰다. 그 후에, DIAD (5.0 eq.)를 첨가하고, 반응 혼합물을 RT에서 30 min에 걸쳐 진탕시켰다. 상기 절차의 반복 후에, 수지를 NMP (수지의 g당 6 x 10 mL)로 세척하였다.

[0550] **3.2.2. 규소계 플루오라이드 수용체 빌딩 블록의 합성 및 특징화**

[0551] 각각의 규소계 플루오라이드 수용체 빌딩 블록 (**iv**, **v** 및 **vii**)의 합성은 본 발명자들에 의해 약간 변형된, 이전에 공개된 절차에 따라 수행되었다. 모든 물- 및 산소-민감성 반응은 진공 기체 매니폴드를 사용하여 아르곤 분위기 하에 건조된 반응 용기에서 실행되었다.

[0552] **((4-브로모벤질)옥시)(tert-부틸)디메틸실란 (i)**

[0553] 무수 DMF (70 mL) 중 4-브로모벤질알콜 (4.68 g, 25.0 mmol, 1.0 eq.)의 교반된 용액에, 이미다졸 (2.04 g, 30.0 mmol, 1.2 eq.) 및 TBDMSCl (4.52 g, 30.0 mmol, 1.2 eq.)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 빙냉 H_2O (250 mL)에 붓고, Et_2O (5 x 50 mL)로 추출하였다. 합친 유기 분획을 포화 수성 $NaHCO_3$ (2 x 100 mL) 및 염수 (100 mL)로 세척하고, 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 조질 생성물을 제공하였고, 이를 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카, 5% EtOAc/페트롤)에 의해 정제하여 **i**을 무색 오일로서 제공하였다 (7.18 g, 95%).

[0554] RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 50→100% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 15 min, K' = 7.43.

[0555] **디-tert-부틸[4-((tert-부틸디메틸실릴옥시)메틸)페닐]플루오로실란 (ii)**

[0556] 자기 교반 하에 -78℃에서, 펜탄 중 tBuLi의 용액 (7.29 mL, 1.7 mol/L, 12.4 mmol, 2.4 eq.)을 건조 THF (15 mL) 중 ((4-브로모벤질)옥시)(tert-부틸)디메틸실란 (**i**) (1.56 g, 5.18 mmol, 1.0 eq.)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -78℃에서 30 min 동안 교반한 후에, 수득된 현탁액을 건조 THF (10 mL) 중 디-tert-부틸디플루오로실란 (1.12 g, 6.23 mmol, 1.2 eq.)의 냉각된 (-78℃) 용액에 30 min의 기간에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 12 h의 기간에 걸쳐 rt로 가온되도록 한 다음에, 포화 수성 NaCl 용액 (100 mL)으로 가수분해시켰다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 디에틸 에테르 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 합친 유기 층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 **ii**를 황색빛 오일로서 제공하였다 (1.88 g, 95%). 이는 후속 반응에 추가의 정제 없이 사용되었다.

[0557] RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 50→100% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 19 min, K' = 9.67.

[0558] **4-(디-tert-부틸플루오로실라닐)벤질 알콜 (iii)**

[0559] 촉매량의 진한 수성 HCl (0.5 mL)을 메탄올 (50 mL) 중 **ii** (1.88 g, 4.92 mmol, 1.0 eq.)의 현탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 rt에서 18 h 동안 교반한 다음에, 용매 및 휘발분을 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 디에틸 에테르 (40 mL)에 재용해시키고, 용액을 포화 수성 $NaHCO_3$ 용액으로 세척하였다. 수성 층을 디에틸 에테르

(3 x 50 mL)로 추출하였다. 합친 유기 층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 **iii**을 응고된 황색빛 오일로서 제공하였다 (1.29 g, 98%). 생성물은 추가의 정제 없이 사용되었다.

[0560] RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 50→100% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 8.2 min, K' = 3.61.

[0561] **4-(디-tert-부틸플루오로실릴)벤조산 ((4-SiFA)Bz-OH, iv)**

[0562] rt에서, 5.8 g의 $KMnO_4$ (36.7 mmol, 1.5 eq.)를 H_2O에 용해시키고, pH 4.0-4.5에서 **iii** (6.61 g, 24.6 mmol, 1.0 eq.), tert-부탄올 (65 mL), 디클로로메탄 (9 mL), 및 1.25 M $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 완충액 (36 mL)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 25 min 동안 교반한 후에, 이를 얼음 상에서 10 min 동안 냉각시키며, 이때 초과량의 $KMnO_4$ (7.8 g, 49.2 mmol, 2.0 eq.)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 얼음 상에서 2 h 동안 교반하고, 후속적으로 30 min 동안 rt로 가온되도록 하였다. 이어서, 반응물을 포화 수성 Na_2SO_3 용액 (50 mL)의 첨가에 의해 켄칭하였다. 2 M 수성 HCl의 첨가 시, 모든 MnO_2가 용해되었다. 생성된 용액을 디에틸 에테르 (3 x 100 mL)로 추출하였다. 합친 유기 층을 포화 수성 $NaHCO_3$ 용액으로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 백색 고체를 제공하였고, 이를 Et_2O/n-헥산 (1:3, 12 h 동안)으로의 재결정화에 의해 정제하여 **iv**를 제공하였다 (2.57 g, 37%).

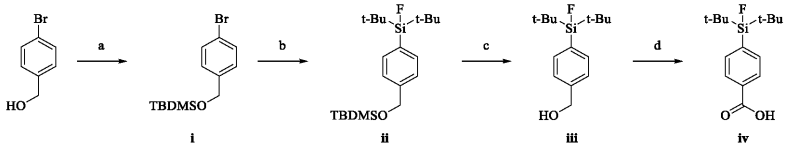
[0563] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): d [ppm] = 8.10 (d, 2H $^3J(^1H,^1H)$ = 8.1 Hz; H_m), 7.74 (d, 2H, $^3J(^1H,^1H)$ = 8.1 Hz; H_o), 1.07 (s, 18H; CCH_3).

[0564] $^{13}C\{^1H\}$ NMR (101 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = 167.2 (s; COOH), 138.3 (d, $^2J(^{13}C,^{19}F)$ = 14 Hz; C_p), 133.8 (d, $^3J(^{13}C,^{19}F)$ = 4 Hz; C_m), 132.1 (s; C_i), 128.3 (s; C_o), 26.9 (s; CCH_3), 19.7 (d, $^2J(^{13}C,^{19}F)$ = 12 Hz; CCH_3).

[0565] $^{19}F\{^{29}Si\}$ NMR (376 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = -187.2.

[0566] $^{29}Si\{^1H\}$INEPT NMR (79 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = 14.1 (d, $^1J(^{19}F,^{29}Si)$ = 299 Hz).

[0567] RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 50→100% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 8.5 min, K' = 3.78. ESI-MS (양성): 단일동위원소 질량 계산치 ($C_{15}H_{23}FO_2Si$): 282.15; 실측치: m/z = 283.2 $[M+H]^+$, 265.2 $[M-H_2O+H]^+$.



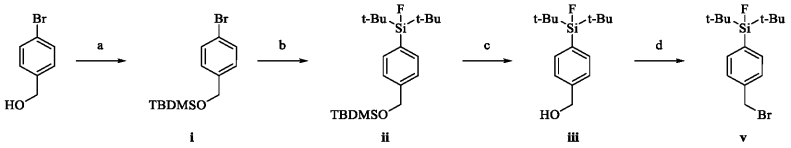
[0568]

[0569] **반응식 1: (4-SiFA)Bz-OH (iv)의 합성**: a) TBDMSCl, 이미다졸, rt, 16 h (DMF); b) tBuLi, 디-tert-부틸디플루오로실란, -78℃ 내지 rt, 밤새 (THF); c) HCl, rt, 18 h (MeOH); d) $KMnO_4$, 0℃ 내지 rt, 2.5 h (DCM/tBuOH/$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 완충액).

[0570] **4-(디-tert-부틸플루오로실라닐)벤질 브로마이드 (4-SiFA)Bz-Br (v)**

[0571] 4-(디-tert-부틸플루오로실라닐)벤질 브로마이드는 (4-SiFA)Bz-OH (**iv**)와 유사하게 합성되었다. 다만, 최종 단계에서 4-(디-tert-부틸플루오로실라닐)벤질 알콜 (iii) (2.41 g, 8.96 mmol, 1.0 eq.)을 무수 DCM (40 mL)에 용해시키고, CBr_4 (2.59 g, 9.86 mmol, 1.1 eq.)를 아르곤 향류 하에 첨가하였다. 그 후에, 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, PPh_3 (3.27 g, 9.86 mmol, 1.1 eq., 30 mL의 무수 DCM에 용해됨)을 30 min의 기간에 걸쳐 적가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반하고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 조질 생성물을 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카, 100% 펜탄)에 의해 정제하였다.

[0572] RP-HPLC (0.1% TFA가 함유된 H_2O 중 50→100% MeCN, 15 min, λ = 220 nm): t_R = 17.3 min.



[0573]

[0574] **반응식 2: (4-SiFA)Bz-Br (iv)의 합성**: a) TBDMSCl, 이미다졸, rt, 16 h (DMF); b) tBuLi, 디-tert-부틸디플루오로실란, -78℃ 내지 rt, 밤새 (THF); c) HCl, rt, 18 h (MeOH); d) CBr_4, PPh_3, 0℃ 내지 rt, 2.5 h (DCM).

[0575] **디-tert-부틸(3,5-디메틸페닐)플루오로실란 (vi)**

[0576] 73.1 mL의 건조 THF 중 4.54 g의 1-브로모-3,5-디메틸벤젠 (25.1 mmol, 1.0 eq.)의 용액을 -78℃로 냉각시키고, 34.7 mL의 tBuLi (55.5 mmol, 펜탄 중 1.6 M, 2.2 eq.)를 적가하고, -78℃에서 30 min 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 -78℃에서 49.1 mL의 THF 중 5.0 g의 디-tert-부틸디플루오로실란 (27.7 mmol, 1.1 eq.)의 용액에 첨가하고, 압력 제어 하에 rt로 가온되도록 하면서 밤새 교반하였다. 100 mL의 염수를 첨가하여 반응을 중단시켰다. 수성 층을 Et_2O (3 x 100 mL)로 추출하고, 합친 유기 상을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에 제거하여 6.6 g의 디-tert-부틸(3,5-디메틸페닐)플루오로실란 (**vi**, 24.8 mmol, 99%)을 무색 고체로서 수득하였다.

[0577] ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): d [ppm] = 7.19 (s, 2H; H_o), 7.04 (s, 1H; H_p), 2.33 (s, 6 H; CH_3), 1.06 (s, 18 H; CCH_3). RP-HPLC (15 min 내에 50 → 100% B, 10 min 동안 100% B): t_R = 16.4 min, K' = 8.21.

[0578] **5-(디-tert-부틸플루오로실릴)이소프탈산 ((5-SiFA)Ip-OH, vii)**

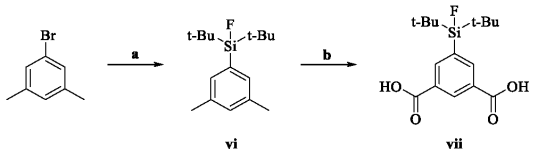
[0579] 16.8 mL의 tBuOH/DCM (v/v = 3.5/1) 중 1.1 g의 디-tert-부틸(3,5-디메틸페닐)플루오로실란 (**i**) (4.0 mmol, 1.0 eq.)의 용액에 16.0 mL의 $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 용액 (40.0 mmol, H_2O 중 2.5 M, 10.0 eq.)을 첨가하였다. 용액에 7.6 g의 $KMnO_4$ (48.0 mmol, 12.0 eq.)를 rt에서 첨가하고, 반응물을 단계적으로 75℃로 조심스럽게 가열하고, 24 h 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 $NaSO_3$ 용액 (50 mL)의 첨가에 의해 켄칭하였다. 진한 수성 HCl (10 mL)을 첨가하여 MnO_2를 완전히 용해시켰다. 용액을 Et_2O (3 x 100 mL)로 추출하고, 합친 유기 상을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에 제거하여 **ii** (1.3 g, 4.0 mmol, 100%)를 무색 고체로서 수득하였다.

[0580] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-D_6): *d* ppm = 8.53 (t, 1 H, $^4J(^1H,^1H)$ = 1.7 Hz; H_{Ar-2}), 8.32 (d, 2 H, $^4J(^1H,^1H)$ = 1.6 Hz; $H_{Ar-4,-6}$), 1.03 (s, 18 H; CH_3).

[0581] $^{13}C\{^1H\}$ NMR (101 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = 166.5 (s; COOH), 137.9 (d, $^3J(^{13}C,^{19}F)$ = 4 Hz; $C_{Ar-4,-6}$), 134.0 (d, $^2J(^{13}C,^{19}F)$ = 14 Hz; C_{Ar-5}), 131.4 (s; C_{Ar-2}), 130.8 (s; $C_{Ar-1,-3}$), 26.8 (s; CCH_3), 19.7 (d, $^2J(^{13}C,^{19}F)$ = 12 Hz; CCH_3).

[0582] $^{19}F\{^{29}Si\}$ NMR (376 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = -187.1.

[0583] $^{29}Si\{^1H\}$INEPT NMR (79 MHz, DMSO-D_6): d [ppm] = 13.8 (d, $^1J(^{19}F,^{29}Si)$ = 299 Hz). RP-HPLC (15 min 내에 50 → 100% B): t_R = 5.7 min, K' = 2.20. ESI-MS (양성): 단일동위원소 질량 계산치 ($C_{16}H_{23}FO_4Si$): 326.13; 실측치: m/z = 327.2 $[M+H]^+$, 309.2 $[M-H_2O+H]^+$.



[0584]

[0585] **반응식 3: (5-SiFA)Ip-OH (vii)의 합성**: a) tBu_2SiF_2, tBuLi, -78℃ 내지 rt, 밤새 (THF); b) $KMnO_4$, 75℃, 24 h (DCM/tBuOH/$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 완충액).

[0586] **3.3. 표지 실험**

[0587] *^{nat}Lu-표지*: 정제된 킬레이터-함유 리간드 (트레이스퓨어® H_2O 중 10^{-3} M, 1.0 eq.) 및 [^{nat}Lu]$LuCl_3$ (트레이스퓨어® H_2O 중 20 mM, 2.5 eq.)을 10^{-4} M의 최종 농도로 트레이스퓨어® H_2O로 희석하고, 95℃로 30 min 동안 가열하였다. rt로 냉각시킨 후에, 조질 생성물이 수득되었다.

[0588] *^{nat}Ga-표지*: ^{nat}Ga-복합체 형성은 $Ga(NO_3)_3$ (20 μL, 10 mM, 2.0 eq.), 펩티드 전구체 (80 μL, 1 mM) 및 트레이스퓨어® H_2O (710 μL)의 용액을 70℃에서 30 min 동안 교반하여 달성되었다.

[0589] *^{nat}Cu-표지*: $Cu(OAc)_2$ (24 μL, 10 mM, 3.0 eq.), 펩티드 전구체 (80 μL, 1 mM) 및 트레이스퓨어® H_2O (694 μL)의 용액을 사용하여 80℃에서 30 min 동안 CCK-2R 리간드와 [^{nat}Cu]구리의 복합체를 형성하였다.

[0590] *[^{19}F]AlF-표지*: $AlCl_3$ (3.70 mg, 2.80 μmol, 4 eq.) 및 NaF (1.20 mg, 2.80 μmol, 4 eq.)를 NaOAc-완충액 (pH = 4.2, 80/20의 HoAc/NaOAc, v/v, 0.5 M) 중 rt에서 10 min 동안 예비활성화시켰다. 그 후에, 용액을 표지 전구체 (700 μL, 700 nmol, DMSO 중 10^{-3} M, 1 eq.)에 첨가하고, DMSO를 반응 용액에 첨가하였다 (1/1, v/v, DMSO/NaOAc 완충액). 반응 혼합물을 110℃로 30 min 동안 가열하고, [^{19}F]AlF-NOTA-표지된 펩티드를 RP-HPLC를 통해 정제하였다.

[0591] *^{177}Lu-표지*: ^{177}Lu-표지는 그룹 내에서 개발된 절차를 사용하여 수행되었다. 그에 따르면, 정제된 킬레이터-함유 리간드 (트레이스퓨어® H_2O 중 10^{-3} M, 1 μL), NaOAc 완충액 (1 M, pH = 5.50, 10 μL) 및 대략 10-30 MBq의 [^{177}Lu]$LuCl_3$ (HCl 중 0.04 M, 독일 가르힝 소재의 이소토프 테크놀로지스 뮌헨 에스이(Isotope Technologies Munich SE))의 용액을 HCl (0.04 M)로 90 μL의 총 부피가 되도록 희석하고, 95℃로 10 min 동안 가열하였다. 표지 직후에, 아스코르브산나트륨 (0.1 M, 10 μL)을 첨가하여 방사선분해를 방지하였다. ^{177}Lu의 혼입은 방사성 TLC (ITLC-SG 크로마토그래피 페이퍼, 이동상: 0.1 M 시트르산삼나트륨)에 의해 결정되었다. 표지된 화합물의 방사화학적 순도를 방사성 RP-HPLC에 의해 결정하였다.

[0592] *^{67}Ga-표지*: 표지 전구체 (1 μL, 1 nmol, DMSO 중 1 mM) 및 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산-완충액 (7 μL, 2.5 M, HEPES)의 용액에 [^{67}Ga]$GaCl_3$ (10-30 MBq, 독일 베를린 소재의 쿠리움 저머니 게엠베하(Curium Germany GmbH))을 첨가하고, 반응 혼합물을 90℃로 15 min 동안 가열하였다. 방사화학적 순도를 방사성 RP-HPLC 및 방사성 TLC를 사용하여 결정하였다.

[0593] *^{64}Cu-표지*: 표지 전구체 (1 μL, 1 nmol, DMSO 중 1 mM), NaOAc 완충액 (10 μL, 1 M, pH = 5.5) 및 [^{64}Cu]$CuCl_2$ (5-20 MBq, 925 MBq/mL, 오스트리아 푸르커스도르프 소재의 DSD 파마(DSD Pharma))의 용액을 80℃로 10 min 동안 가열하였다. 반응 용액을 냉각시킨 후에, 아스코르브산나트륨 (10 μL, 1 M)을 첨가하였다. 후속적으로, 방사화학적 순도를 방사성 RP-HPLC 및 방사성 TLC를 사용하여 결정하였다.

[0594] *^{18}F-표지*: 실험 당일에, H_2O (2.5 mL) 중 100 내지 3000 MBq의 [^{18}F]플루오라이드를 H_2O (10 mL)로 예비컨디셔닝된 SEP-Pak® 라이트 (46 mg) 액셀(Accell)™ 플러스 QMA 카트리지 상에 로딩하였다. 그 후에, [^{18}F]플루오라

이드를 무수 DMSO (8 mL)로 건조시키고, 포름산암모늄 (100-300 μL, 0.3 μm)으로 역용리시켰다. 그 후에, 용리액 (30 내지 100 μL) 및 펩티드 전구체 (5 내지 15 nmol)의 용액을 5 min 동안 가열하고 (40 내지 60℃), 반응 혼합물을 PBS (10 mL, pH = 3)에 희석하고, ^{18}F-표지된 펩티드를 오아시스(Oasis)® HLB (30 mg) 라이트 카트리지 상에 로딩하였다. 카트리지를 PBS (10 mL, pH = 7.4)로 세척한 후에, 펩티드를 300 μL의 H_2O/EtOH (1:7)로 역용리시켰다. 방사화학적 순도를 방사성 RP-HPLC 및 방사성 TLC를 사용하여 결정하였다.

[0595] **3.4. 시험관내 실험**

[0596] **n-옥탄올-PBS 분배 계수 ($logD_{7.4}$)**

[0597] 대략 1 MBq의 표지된 트레이서를 에펜도르프 튜브 (1.5 mL)에 들어 있는 포스페이트 완충 염수 (PBS, pH = 7.4) 및 n-옥탄올의 1/1 혼합물 (v/v) 1 mL에 용해시켰다. 현탁액을 rt에서 3 min 동안 격렬히 혼합한 후에, 바이알을 9,000 rpm에서 5 min 동안 원심분리하고 (바이오퓨지(Biofuge) 15, 독일 오스테로드 소재의 헤레우스 세퍼테크(Heraeus Sepatech)), 두 층의 200 μL의 분취물을 γ-계수기에서 측정하였다. 실험은 적어도 5회 반복되었다.

[0598] **IC_{50}의 결정**

[0599] AR4-2J 세포를 실험하기 24 ± 2 h 전에 수확하고, 24-웰 플레이트에 시딩하였다 (웰당 1 mL 중 2.0 x 10^5개 세포). 영양 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x), 10% FCS)를 제거한 후에, 세포를 500 μL의 PBS로 1회 세척하였다. 그 후에, 200 μL의 영양 배지 (5% BSA, v/v)를 첨가하였다. 그 다음에, 대조군으로서 영양 배지 (5% BSA, v/v)를 함유하거나 또는 증가하는 농도로 (10^{-10} - 10^{-4} M) 각각의 화합물을 함유하는 용액을 웰당 25 μL씩 첨가하고, 후속적으로 25 μL의 [^{177}Lu]Lu-DOTA-PP-F11N (0.3 pmol/웰)을 첨가하였다.

[0600] 모든 실험은 각각의 농도에 대해 삼중으로 수행되었다. 37℃에서 3 h의 인큐베이션 후에, 배지를 제거하고 300 μL의 PBS로 연속적으로 헹구어 실험을 종결하였다. 두 단계의 배지를 하나의 분획으로 합쳤고, 이는 유리된 방사성표지된 참조물의 양을 나타낸다. 그 후에, 세포를 300 μL의 1 M NaOH로 적어도 15 min 동안 용해시키고, 후속 세척 단계의 300 μL의 NaOH와 합쳤다. 결합 및 유리된 방사성표지된 참조물의 정량화를 γ-카운터에서 달성하였다. 각각의 접합체의 IC_{50} 결정은 2회 반복되었다.

[0601] **내재화 동역학의 결정**

[0602] 다양한 펩티드의 내재화 동역학의 결정을 위해, AR4-2J 세포 (3.0x10^5개)를 폴리-리신으로 코팅된 24-웰 플레이트에, 1 mL의 영양 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x), 10% FCS)를 첨가하여 시딩하였다. 그 후에, 세포를 가습된 분위기 (5% CO_2) 하에 37℃에서 24 ± 2 h 동안 인큐베이션하였다.

[0603] 실험 당일에, 배지를 제거하고, 각각의 웰을 인큐베이션 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x)) (300 μL)로 세척하였다. 그 후에, 200 μL의 영양 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x), 10% FCS)를 각각의 웰에 첨가하고, 이어서 25 μL의 영양 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x)) (n = 3) 또는 차단을 위해 25 μL의 DOTA-PP-F11N (10 μmol) (n = 3)을 첨가하였다. 그 후에, 25 μL의 각각의 ^{177}Lu-표지된 펩티드 (0.3 pmol/웰)를 각각의 웰에 첨가하였다 (n = 6). 그 후에, 검정물을 가습된 분위기 (5% CO_2) 하에 37℃에서 다양한 시점 (1, 2, 4 및 6 h) 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 세포를 얼음 상에 두고, 상청액을 수집하였다. 이어서, 세포를 빙냉 인큐베이션 배지 (RPMI 1640, 5 mM L-Gln, 5 mL 비-필수 아미노산 (100x)) (300 μl)로 세척하고, 두 분획을 합쳤다. 세포 막으로부터 펩티드를 이동시키기 위해, 300 μL의 빙냉 글리신 완충액 (1 M, pH = 2.2)을 첨가하고, 세포를 얼음 상에서 15 min 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 상청액을 수집하고, 세포를 빙냉 글리신 완충액 (300 μL, 1 M, pH = 2.2)으로 세척하였다. 두 분획을 합쳤다. 세포를 NaOH (300 μL, 1 M)로 15 min 동안 용해시킨 후에, 각각의 웰을 NaOH (300 μL, 1 M)로 세척하고, 두 분획을 합쳤다. 상청액, 산 세척액 및 용해된 분획의 방사성을 γ-계수기를 사용하여 정량화하였다.

[0604] **인간 혈청에서의 안정성 연구**

[0605] ^{177}Lu-표지된 CCK-2R 리간드 (1 nmol, 대략 5 MBq)를 인간 혈청 (200 μL) 중 37℃에서 72 ± 2 h 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 빙냉 EtOH (125 μL) 및 MeCN (375 μL)을 첨가하고, 현탁액을 5,000 rpm에서 2 min 동안 원심분리하였다. 이어서, 상청액을 초원심분리 바이알로 옮기고, 5,000 rpm에서 추가로 2 min 동안 원심분리하였다. 용액으로부터 침전물을 분리한 후에, 리간드의 안정성을 RP-HPLC 크로마토그래피를 통해 결정하였다.

[0606] **HSA 결합의 결정**

[0607] CCK-2R-표적화된 화합물의 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합은 발코(Valko) 등의 문헌 [31]에 보고된 바와 같이, 키랄팩 HSA 칼럼 (50 x 3 mm, 5 μm, H13H-2433, 일본 도쿄 소재의 다이셀(Daicel))을 사용하여 rt에서 0.5 mL/min의 일정한 유량으로 결정되었다. 그에 따라, 이동상 A로서 NH_4OAc의 수용액 (pH = 6.9, 50 mM) 및 이동상 B로서 이소프로판올의 수용액을 새로 제조하였다. 실험 전에 칼럼을 보정하기 위해, 13 내지 99%의 범위의 HSA 결합을 갖는 9종의 참조 물질의 체류 시간을 100% A (0 내지 3 min)에 이어서, 80% A (3 내지 40 min)의 구배를 사용하여 결정하였다 [32]. 추가로, 시험되는 모든 물질을 A 및 B의 혼합물 (1/1, v/v)에 0.5 mg/mL의 최종 농도에 도달하도록 용해시켰다. 시험되는 모든 rhCCK 리간드의 HSA 결합을 보정 프로브에 대한 것과 동일한 구배를 사용하여 결정하였다. 오리진프로(OriginPro) 2016G 소프트웨어 (미국 노샘프턴 소재)를 사용하여 보정 실험 및 CCK-2R 리간드 (**도 29**)의 비-선형 회귀를 확립하였다.

[0608] **생체내 실험**

[0609] 모든 동물 실험은 독일의 일반 동물 복지 규정 (2006년 5월 18일자로 공고되고, 2020년 6월 19일의 제280조 조항에 의해 개정된 독일 동물 보호법, 오버바이에른 주의 총무청 승인 번호 ROB-55.2-1-2532.Vet_02-18-109) 및 동물의 관리 및 사용에 관한 기관 지침에 따라 수행되었다. 성별 둘 다의 CB17-SCID 마우스 (독일 슐츠펠트 소재의 찰스 리버 래보러토리즈 인터내셔널 인크.(Charles River Laboratories International Inc.))를 접종을 수행하기 전 적어도 1주 동안 내부 동물 시설에 순응하도록 두었다. 종양 이종이식편을 확립하기 위해, AR4-2J 세포 (200 μL당 5.0 x 10^6개 세포)를 글루타맥스-I (1/1)가 함유된 둘베코 변형 이글 배지 / 영양 혼합물 F-12 및 컬트렉스(Cultrex)® 기저막 매트릭스 타입 3 (미국 메릴랜드주 게이더스버그 소재의 트레비젠(Trevigen))의 1/1 혼합물 (v/v)에 현탁시키고, 6-10주령 CB17-SCID 마우스 (독일 슐츠펠트 소재의 찰스 리버)의 우측 어깨에피하 접종하였다. 종양이 150-300 mm^3의 부피까지 커졌을 때 (접종으로부터 1-2주 후), 마우스를 실험에 사용하였다. 실험으로부터 동물을 배제시키는 기준은 20% 초과의 체중 감소, 1,500 mm^3 초과의 종양 크기, 종양의 궤양화, 호흡 곤란 또는 행동 변화였다. 실험으로부터의 어떠한 동물에도 이들 기준이 적용되지 않았다. 실험의 배정 시에 무작위화 또는 맹검이 적용되지 않았다. 건강 상태는 FELASA에 따른 SPF였다.

[0610] **생체분포**

[0611] 대략 1-5 MBq (100 pmol)의 방사성표지된 미니가스트린 유사체를 AR4-2J 종양-보유 암컷 CB17-SCID 마우스의 꼬리 정맥에 주입하고, 주입 후 1 내지 24 h에 희생시켰다 (n = 4-5). 선택된 장기를 제거하고, 칭량하고, γ-계수기에서 측정하였다.

[0612] **경쟁 연구**

[0613] 경쟁 연구를 위해, 방사성표지된 화합물 (대략 1-5 MBq, 100 pmol)을 [^{nat}Lu]Lu-DOTA-MGS5 (40 nmol)와 함께 AR4-2J 종양-보유 CB17-SCID 마우스의 꼬리 정맥에 공동-주입하고, 주입 후 1 내지 24 h에 희생시켰다 (n = 2). 선택된 장기를 제거하고, 칭량하고, γ-계수기에서 측정하였다.

[0614] **μSPECT/CT 영상화**

[0615] 영상화 연구는 엠아이랩스 벡터(MILabs VECTor)^4 소동물 SPECT/PET/OI/CT (네덜란드 위트레흐트 소재의 엠아이랩스)에서 수행되었다. MILabs-Rec 소프트웨어 (버전 10.02) 및 픽셀-기반 SROSEM(Similarity-Regulated Ordered Subsets Expectation Maximization) 알고리즘을 사용하여 데이터가 재구성되었으며, 에너지창-기반 산란 보정 (각각, 광전피크의 20% 미만 및 20% 초과)이 적용되었다. PMOD4.0 소프트웨어 (스위스 취리히 소재의 PMOD 테크놀로지스 엘엘씨(PMOD TECHNOLOGIES LLC))를 사용하여 정의된 설정 (복셀 크기 CT: 80 μm, 복셀 크기 SPECT: 0.8 mm, 1.6 mm (FWHM) 가우시안 블러링 후처리 필터, 보정 계수 (kBq/mL) 및 붕괴 보정이 적용되고 감쇠 보정은 없음)에서 추가의 데이터 분석을 달성하였다.

[0616] SPECT 연구를 위해, 마우스를 이소플루란으로 마취시키고, 2-4 MBq (100 pmol)의 방사성표지된 트레이서를 꼬리 정맥에 주입하였다. 정적 영상을 HE-GP-RM 시준기 및 단계적 다면층 이동을 사용하여 45-60 min의 수집 시간으로 p.i. 1, 4 및 24 h에 기록하였다.

[0617] **안정성 연구**

[0618] 안정성 연구는 마취된 (2% 이소플루란) CB17-SCID 마우스의 꼬리 정맥 (n = 3)에 ^{177}Lu-표지된 펩티드 (대략 35 MBq, 1 nmol)를 주입함으로써 수행되었다. p.i. 30 min에, 마우스를 안락사시키고, 소변 뿐만 아니라 혈액 샘플을 채취하였다. 소변 샘플은 추가의 처리 없이 분석하였다. 혈액 샘플은 5,000 rpm에서 2 min 동안 원심분리하였다. 그 후에, 혈청을 수집하고, 빙냉 MeCN (1:1, v/v) 뿐만 아니라 EtOH (1:2, v/v)를 첨가하였다. 샘플을 5,000 rpm에서 2 min 동안 한 번 더 원심분리하고, 상청액을 RP-HPLC (5 min 내에 10→30%, 15 min 내에 30→60%, MeCN/H_2O + 0.1% TFA)를 통해 분석하였다.

[0619] **환자 연구**

[0620] 모든 환자는 [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 PET/CT를 받기 전에 서면 사전 동의서를 제공하였다. 영상화 결과의 후향적 분석은 뮌헨 대학교(University of Munich)의 담당 윤리 위원회의 승인을 받았다. 헬싱키 선언(Declaration of Helsinki) 및 그의 후속 개정안 및 임상 지침의 법적 고려사항에 따라 익명 분석이 수행되었다.

[0621] 환자는 150-200 MBq의 [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66의 주입으로부터 120 min 후에 바이오그래프(Biograph) mCT 40 (독일 에를랑겐 소재의 지멘스 헬시니어스(Siemens Healthineers))을 사용하여 [^{68}Ga]Ga-DOTA-CCK-66 전신 PET/CT를 받았다. 보조 CT (120 kVp, 40 mA)로서 전신 CT 영상화를 수행하였다. PET 데이터 세트를 표준 프로토콜을 사용하여 재구성하고, 무작위, 산란, 붕괴 및 감쇠에 대해 보정하였다 (전신 보조 CT를 사용함).

참고문헌

1. Wells, S.A., Jr.; Asa, S.L.; Dralle, H.; Elisei, R.; Evans, D.B.; Gagel, R.F.; Lee, N.; Machens, A.; Moley, J.F.; Pacini, F.; et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid* **2015**, *25*, 567-610, doi:10.1089/thy.2014.0335.
2. Society, A.C. Cancer Facts & Figures 2020. **2020**, *2020*.
3. Kebebew, E.; Kikuchi, S.; Duh, Q.-Y.; Clark, O.H. Long-term Results of Reoperation and Localizing Studies in Patients With Persistent or Recurrent Medullary Thyroid Cancer. *Arch Surg.* **2000**, *135*, 895-901.
4. Kebebew, E.; Greenspan, F.S.; Clark, O.H.; Woeber, K.A.; Grunwell, J. Extent of disease and practice patterns for medullary thyroid cancer. *J Am Coll Surg* **2005**, *200*, 890-896, doi:10.1016/j.jamcollsurg.2004.12.011.
5. Engelbach, M.; Görges, R.; Forst, T.; Pfützner, A.; Dawood, R.; Heerdt, S.; Kunt, T.; Bockisch, A.; Beyer, J. Improved diagnostic methods in the follow-up of medullary thyroid carcinoma by highly specific calcitonin measurements. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**, *85*, 1890-1894.
6. Roman, S.; Lin, R.; Sosa, J.A. Prognosis of medullary thyroid carcinoma: demographic, clinical, and pathologic predictors of survival in 1252 cases. *Cancer* **2006**, *107*, 2134-2142, doi:10.1002/cncr.22244.
7. Schlumberger, M.; Carlomagno, F.; Baudin, E.; Bidart, J.M.; Santoro, M. New therapeutic approaches to treat medullary thyroid carcinoma. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* **2008**, *4*, 22-32, doi:10.1038/ncpendmet0717.
8. Raue, F. German medullary thyroid carcinoma/multiple endocrine neoplasia registry. German MTC/MEN Study Group. Medullary Thyroid Carcinoma/Multiple Endocrine Neoplasia Type 2. *Langenbecks Arch Surg* **1998**, *383*, 334-336.
9. Hennessy, J.F.; Wells, S.A.J.; Ontjes, D.A.; Cooper, C.W. A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* **1974**, *39*, 487-495.
10. Wells, S.A.J.; Chi, D.D.; Toshima, K.; Dehner, L.P.; Coffin, C.M.; Dowton, S.B.; Ivanovich, J.L.; DeBenedetti, M.K.; Dilley, W.G.; Moley, J.F. Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Ann Surg* **1994**, *220*, 237-247.
11. Wells, S.A.J.; Baylin, S.B.; Linehan, W.M.; Farrell, R.E.; Cox, E.B.; Cooper, C.W. Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* **1978**, *188*, 139-141.
12. Béhé, M.; Behr, T.M. Cholecystokinin-B (CCK-B)/gastrin receptor targeting peptides for staging and therapy of medullary thyroid cancer and other CCK-B receptor expressing malignancies. *Biopolymers* **2002**, *66*, 399-418.
13. Israel, O.; Pellet, O.; Biassoni, L.; De Palma, D.; Estrada-Lobato, E.; Gnanasegaran, G.; Kuwert, T.; la Fougere, C.; Mariani, G.; Massalha, S.; et al. Two decades of SPECT/CT - the coming of age of a technology: An updated review of literature evidence. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2019**, *46*, 1990-2012, doi:10.1007/s00259-019-04404-6.
14. Fani, M.; Maecke, H.R.; Okarvi, S.M. Radiolabeled peptides: valuable tools for the detection and treatment of cancer. *Theranostics* **2012**, *2*, 481-501, doi:10.7150/thno.4024.
15. Giovanella, L.; Treglia, G.; Iakovou, I.; Mihailovic, J.; Verburg, F.A.; Luster, M. EANM practice guideline for PET/CT imaging in medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2020**, *47*, 61-77, doi:10.1007/s00259-019-04458-6.
16. Treglia, G.; Castaldi, P.; Villani, M.F.; Perotti, G.; de Waure, C.; Filice, A.; Ambrosini, V.; Cremonini, N.; Santimaria, M.; Versari, A.; et al. Comparison of 18F-DOPA, 18F-FDG and 68Ga-somatostatin analogue PET/CT in patients with recurrent medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2012**, *39*, 569-580, doi:10.1007/s00259-011-2031-6.
17. Brammen, L.; Niederle, M.B.; Riss, P.; Scheuba, C.; Selberherr, A.; Karanikas, G.; Bodner, G.; Koperek, O.; Niederle, B. Medullary Thyroid Carcinoma: Do Ultrasonography and F-DOPA-PET-CT Influence the Initial Surgical Strategy? *Ann Surg Oncol* **2018**, *25*, 3919-3927, doi:10.1245/s10434-018-6829-3.
18. Treglia, G.; Cocciolillo, F.; Di Nardo, F.; Poscia, A.; de Waure, C.; Giordano, A.; Rufini, V. Detection rate of recurrent medullary thyroid carcinoma using fluorine-18 dihydroxyphenylalanine positron emission tomography: a meta-analysis. *Acad Radiol* **2012**, *19*, 1290-1299, doi:10.1016/j.acra.2012.05.008.

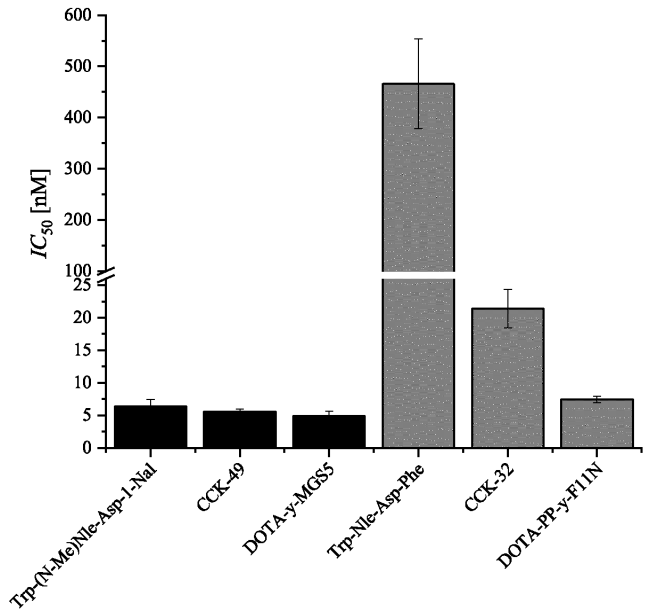
[0622]

19. Stamatakos, M.; Paraskeva, P.; Stefanaki, C.; Katsaronis, P.; Lazaris, A.; Safioleas, K.; Kontzoglou, K. Medullary thyroid carcinoma: The third most common thyroid cancer reviewed. *Oncol Lett* **2011**, *2*, 49-53, doi:10.3892/ol.2010.223.
20. Hadoux, J.; Schlumberger, M. Chemotherapy and tyrosine-kinase inhibitors for medullary thyroid cancer. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* **2017**, *31*, 335-347, doi:10.1016/j.beem.2017.04.009.
21. Hazard, J.B. The C cells (parafollicular cells) of the thyroid gland and medullary thyroid carcinoma. A review. *Am J Pathol* **1977**, *88*, 213-250.
22. Ljungberg, O. Medullary carcinoma of the human thyroid gland. Autoradiographic localization of radioiodine. *Acta Pathol Microbiol Scand* **1966**, *68*, 476-480.
23. Fussey, J.M.; Vaidya, B.; Kim, D.; Clark, J.; Ellard, S.; Smith, J.A. The role of molecular genetics in the clinical management of sporadic medullary thyroid carcinoma: A systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)* **2019**, doi:10.1111/cen.14060.
24. Resteghini, C.; Cavalieri, S.; Galbiati, D.; Granata, R.; Alfieri, S.; Bergamini, C.; Bossi, P.; Licitra, L.; Locati, L.D. Management of tyrosine kinase inhibitors (TKI) side effects in differentiated and medullary thyroid cancer patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **2017**, *31*, 349-361, doi:10.1016/j.beem.2017.04.012.
25. Behr, T.M.; Gratz, S.; Markus, P.M.; Dunn, R.M.; Hüfner, M.; Becker, H.; Becker, W. Enhanced bilateral somatostatin receptor expression in mediastinal lymph nodes ("chimney sign") in occult metastatic medullary thyroid cancer: a typical site of tumour manifestation? *Eur J Nucl Med* **1997**, *24*, 184-191.
26. Reubi, J.C.; Schaer, J.C.; Waser, B. Cholecystokinin(CCK)-A and CCK-B/gastrin receptors in human tumors. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1377-1386.
27. Gotthardt, M.; Behe, M.P.; Beuter, D.; Battmann, A.; Bauhofer, A.; Schurrat, T.; Schipper, M.; Pollum, H.; Oyen, W.J.; Behr, T.M. Improved tumour detection by gastrin receptor scintigraphy in patients with metastasised medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2006**, *33*, 1273-1279, doi:10.1007/s00259-006-0157-8.
28. Roosenburg, S.; Laverman, P.; van Delft, F.L.; Boerman, O.C. Radiolabeled CCK/gastrin peptides for imaging and therapy of CCK2 receptor-expressing tumors. *Amino Acids* **2011**, *41*, 1049-1058, doi:10.1007/s00726-010-0501-y.
29. Fani, M.; Peitl, P.K.; Velikyan, I. Current Status of Radiopharmaceuticals for the Theranostics of Neuroendocrine Neoplasms. *Pharmaceuticals (Basel)* **2017**, *10*, doi:10.3390/ph10010030.
30. Klingler, M.; Summer, D.; Rangger, C.; Haubner, R.; Foster, J.; Sosabowski, J.; Decristoforo, C.; Virgolini, I.; von Guggenberg, E. DOTA-MGS5, a New Cholecystokinin-2 Receptor-Targeting Peptide Analog with an Optimized Targeting Profile for Theranostic Use. *J Nucl Med* **2019**, *60*, 1010-1016, doi:10.2967/jnumed.118.221283.
31. Valko, K.; Nunhuck, S.; Bevan, C.; Abraham, M.H.; Reynolds, D.P. Fast gradient HPLC method to determine compounds binding to human serum albumin. Relationships with octanol/water and immobilized artificial membrane lipophilicity. *J Pharm Sci* **2003**, *92*, 2236-2248, doi:10.1002/jps.10494.
32. Yamazaki, K.; Kanaoka, M. Computational prediction of the plasma protein-binding percent of diverse pharmaceutical compounds. *J Pharm Sci* **2004**, *93*, 1480-1494, doi:10.1002/jps.20059.
33. Behr, T.M.; Jenner, N.; Radetzky, S.; Béhe, M.; Gratz, S.; Yücekent, S.; Raue, F.; Becker, W. Targeting of cholecystokinin-B/gastrin receptors in vivo: preclinical and initial clinical evaluation of the diagnostic and therapeutic potential of radiolabelled gastrin. *Eur J Nucl Med* **1998**, *25*, 424-430, doi:10.1007/s002590050241.
34. Klingler, M.; Rangger, C.; Summer, D.; Kaeopookum, P.; Decristoforo, C.; von Guggenberg, E. Cholecystokinin-2 Receptor Targeting with Novel C-terminally Stabilized HYNIC-Minigastrin Analogs Radiolabeled with Technetium-99m. *Pharmaceuticals (Basel)* **2019**, *12*, doi:10.3390/ph12010013.
35. Rottenburger, C.; Nicolas, G.P.; McDougall, L.; Kaul, F.; Cachovan, M.; Vija, A.H.; Schibli, R.; Geistlich, S.; Schumann, A.; Rau, T.; et al. Cholecystokinin 2 Receptor Agonist (177)Lu-PP-F11N for Radionuclide Therapy of Medullary Thyroid Carcinoma: Results of the Lumed Phase 0a Study. *J Nucl Med* **2020**, *61*, 520-526, doi:10.2967/jnumed.119.233031.
36. Kolenc-Peitl, P.; Tamma, M.; Kroselj, M.; Braun, F.; Waser, B.; Reubi, J.C.; Sollner Dolenc, M.; Maecke, H.R.; Mansi, R. Stereochemistry of amino acid spacers determines the pharmacokinetics of (111)In-DOTA-minigastrin analogues for targeting the CCK2/gastrin receptor. *Bioconjug Chem* **2015**, *26*, 1113-1119, doi:10.1021/acs.bioconjchem.5b00187.

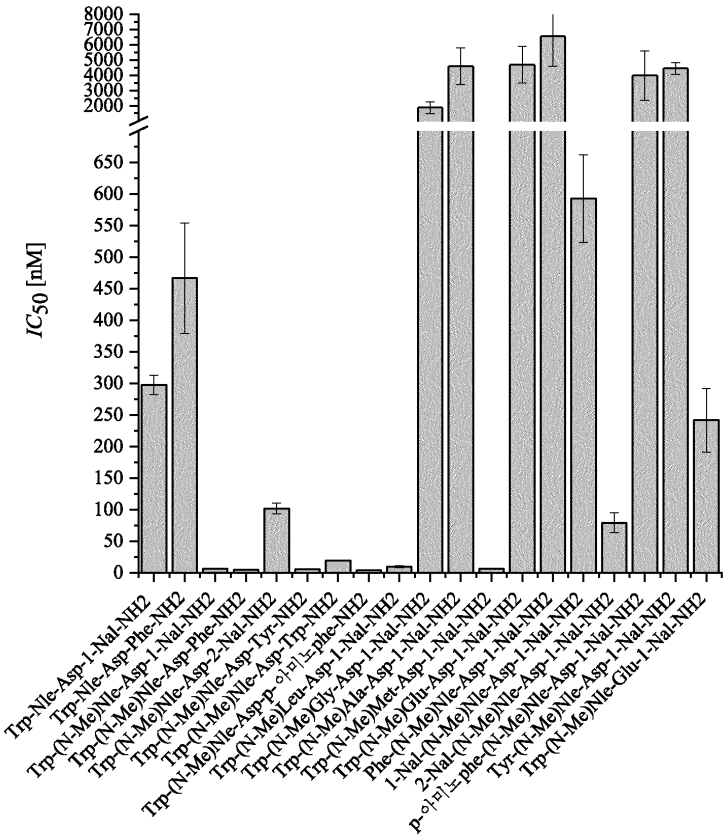
[0623]

도면

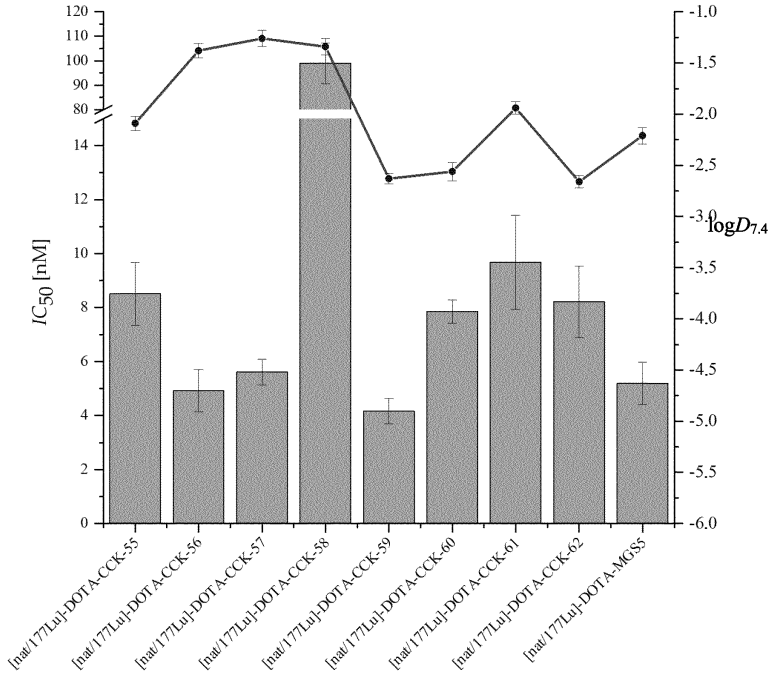
도면1


IC50 [nM]
600
500
400
300
200
100
25
20
15
10
5
0
Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal
CCK-49
DOTA-y-MGS5
Trp-Nle-Asp-Phe
CCK-32
DOTA-PP-y-F11N

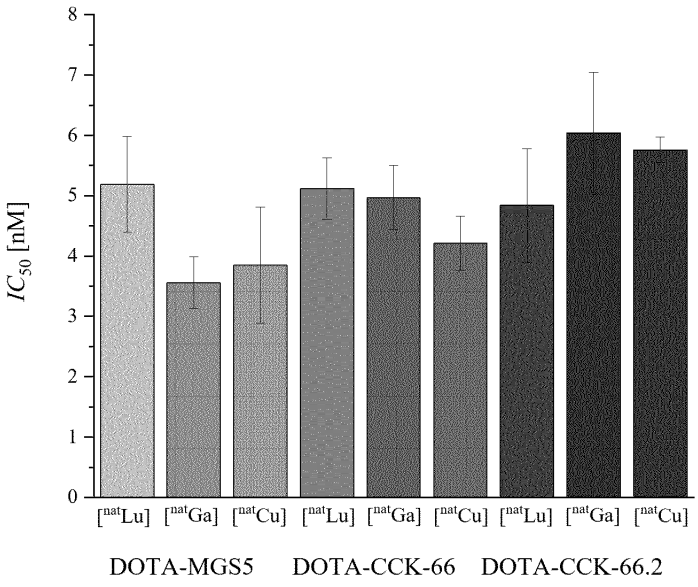
도면2


IC50 [nM]
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
650
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Trp-Nle-Asp-1-Nal-NH2
Trp-Nle-Asp-Phe-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-Phe-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-2-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-Tyr-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-Trp-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Asp-p-아미노-phe-NH2
Trp-(N-Me)Leu-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Gly-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Ala-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Met-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Glu-Asp-1-Nal-NH2
Phe-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
1-Nal-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
2-Nal-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
p-아미노-phe-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
Tyr-(N-Me)Nle-Asp-1-Nal-NH2
Trp-(N-Me)Nle-Glu-1-Nal-NH2

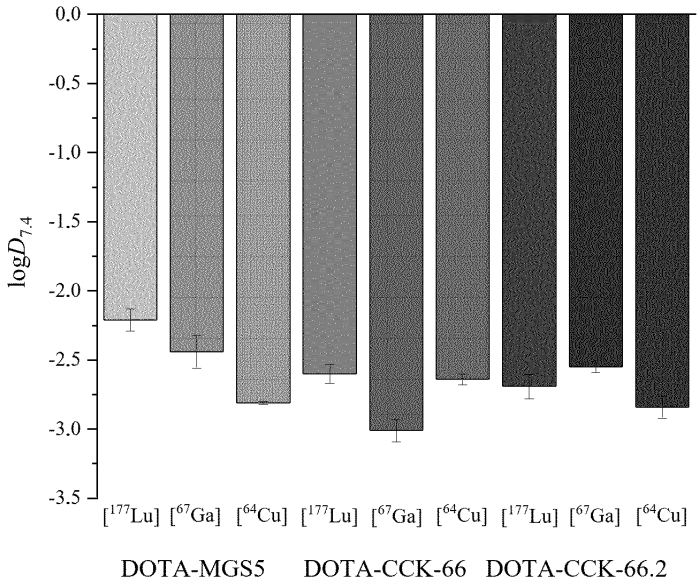
도면3


IC50 [nM]
logD7.4
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-55
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-56
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-57
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-58
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-59
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-60
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-61
[nat/177Lu]-DOTA-CCK-62
[nat/177Lu]-DOTA-MGS5

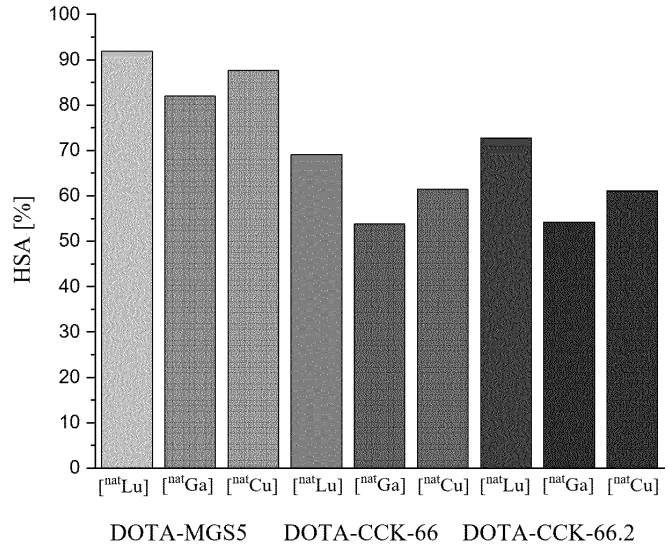
도면4


IC50 [nM]
[natLu] [natGa] [natCu] [natLu] [natGa] [natCu] [natLu] [natGa] [natCu]
DOTA-MGS5
DOTA-CCK-66
DOTA-CCK-66.2

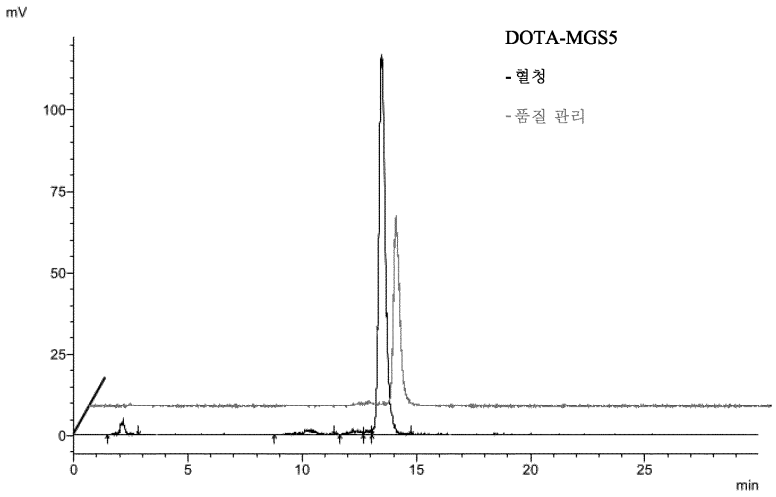
도면5


0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-3.5
logD7.4
[177Lu] [67Ga] [64Cu] [177Lu] [67Ga] [64Cu] [177Lu] [67Ga] [64Cu]
DOTA-MGS5
DOTA-CCK-66
DOTA-CCK-66.2

도면6

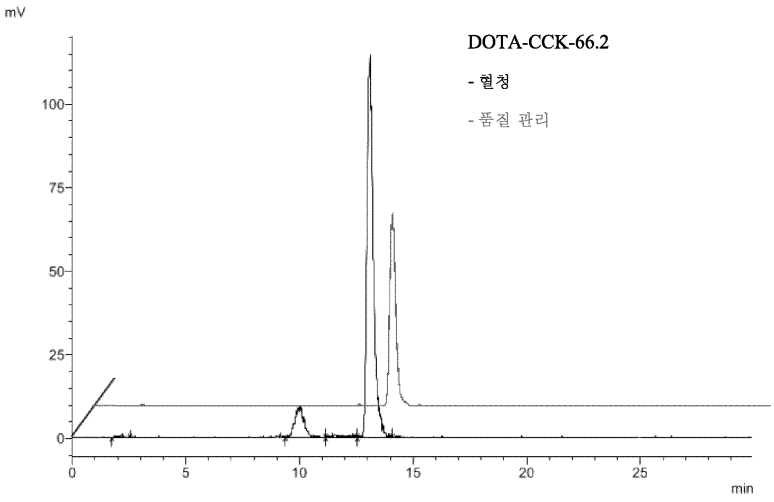

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
HSA [%]
[natLu] [natGa] [natCu] [natLu] [natGa] [natCu] [natLu] [natGa] [natCu]
DOTA-MGS5
DOTA-CCK-66
DOTA-CCK-66.2

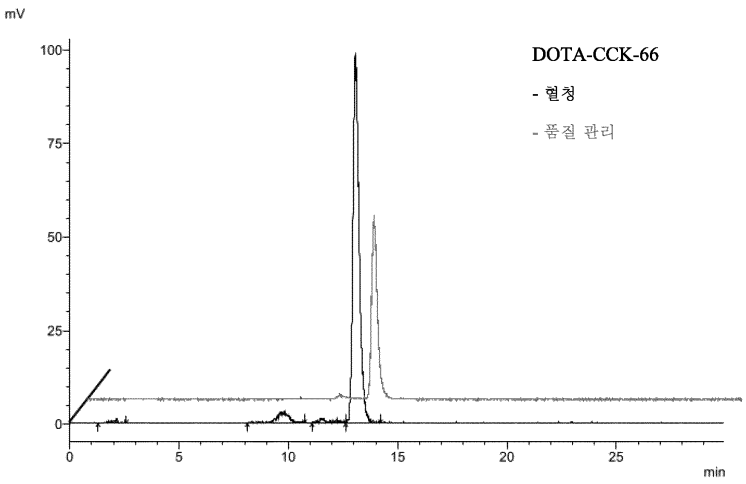
도면7i



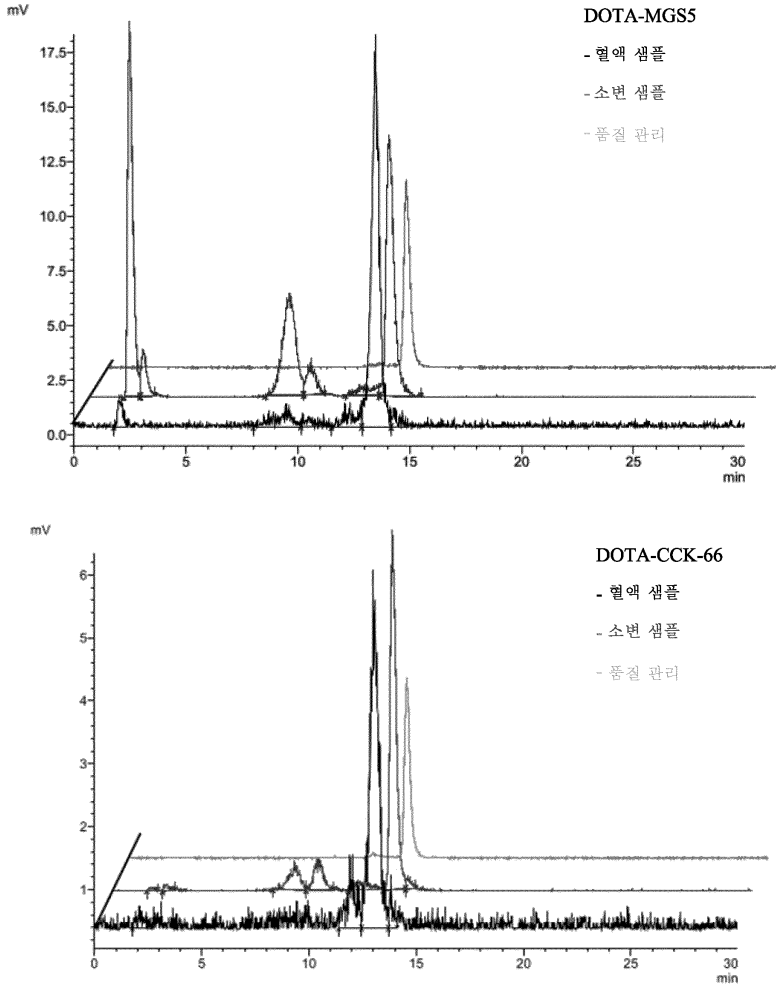
도면7ii

계속

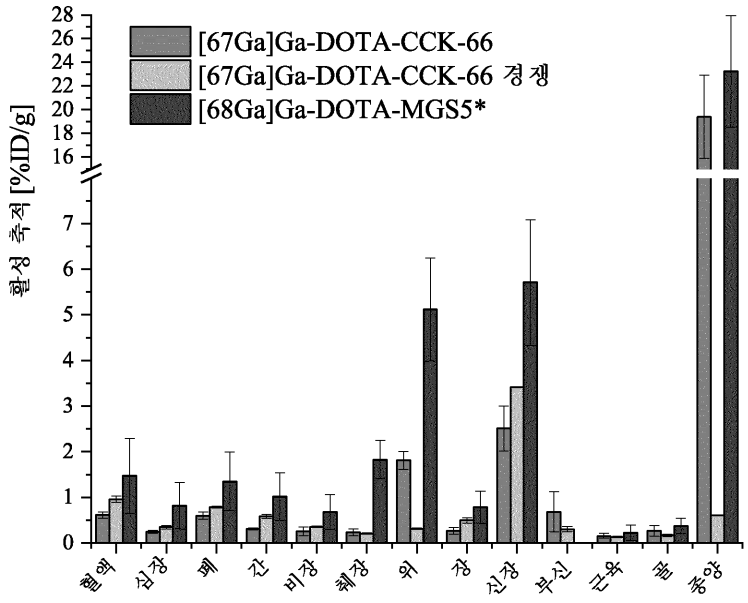


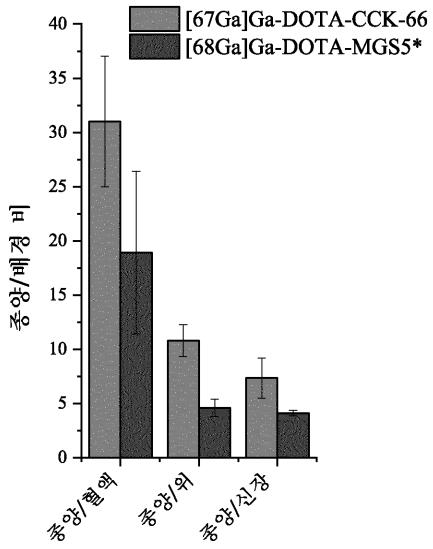


도면8

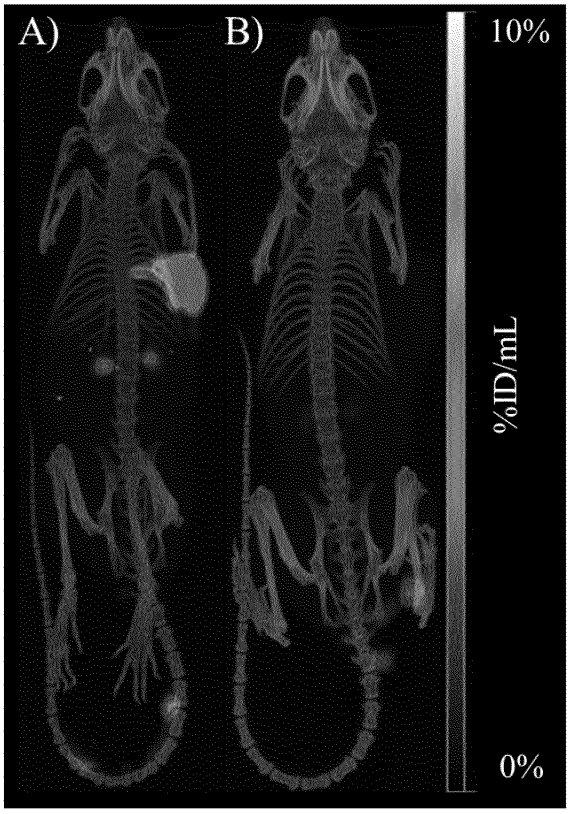

mV
17.5
15.0
12.5
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
0
5
10
15
20
25
30
min
DOTA-MGS5
- 혈액 샘플
- 소변 샘플
- 품질 관리
mV
6
5
4
3
2
1
0
5
10
15
20
25
30
min
DOTA-CCK-66
- 혈액 샘플
- 소변 샘플
- 품질 관리

도면9

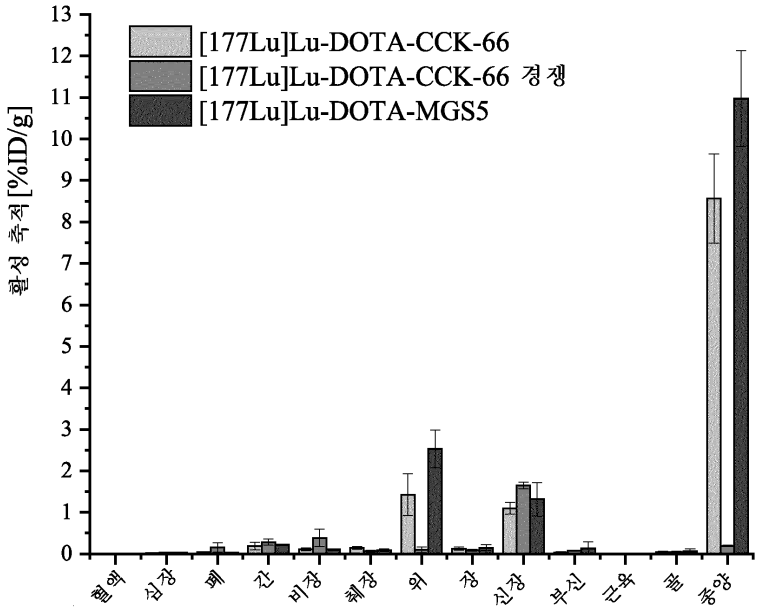

[67Ga]Ga-DOTA-CCK-66
[67Ga]Ga-DOTA-CCK-66 경쟁
[68Ga]Ga-DOTA-MGS5*
활성 축적 [%ID/g]
28
26
24
22
20
18
16
7
6
5
4
3
2
1
0
혈액
심장
폐
간
비장
췌장
위
장
신장
부신
근육
뼈
종양

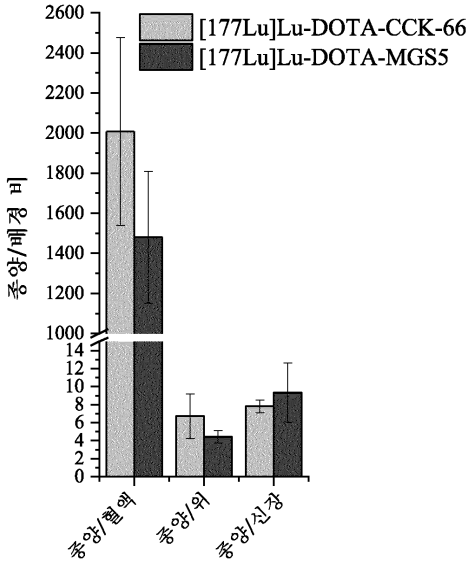

[67Ga]Ga-DOTA-CCK-66
[68Ga]Ga-DOTA-MGS5*
종양/배경 비]
40
35
30
25
20
15
10
5
0
종양/혈액
종양/위
종양/신장

도면10

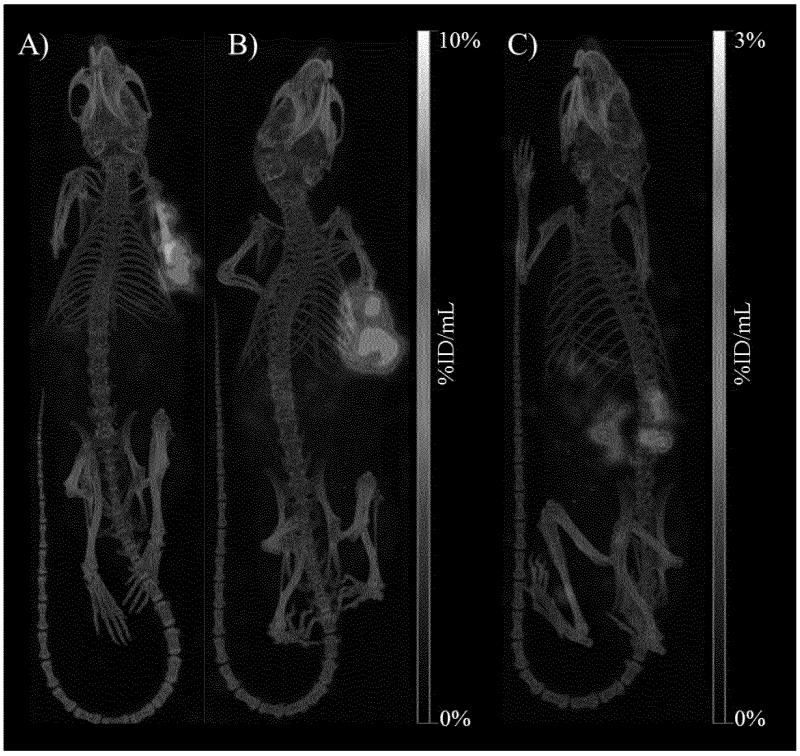


도면11

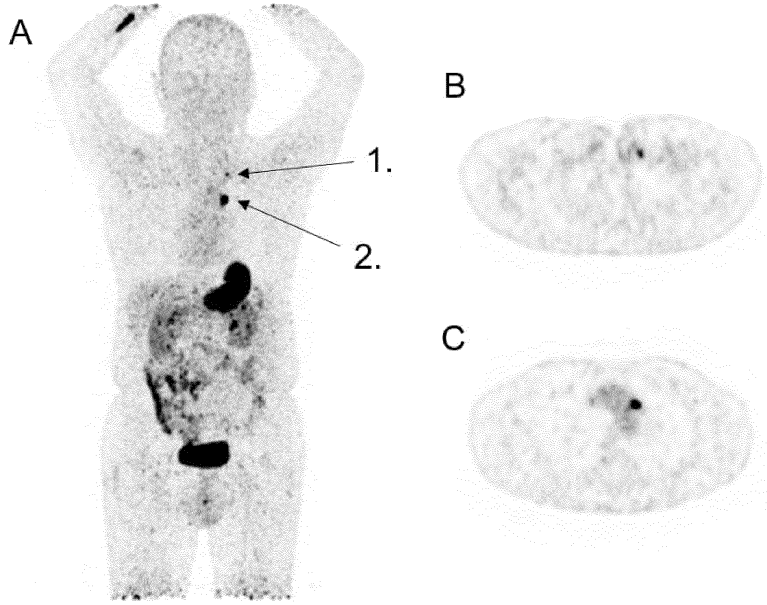

[177Lu]Lu-DOTA-CCK-66
[177Lu]Lu-DOTA-CCK-66 경쟁
[177Lu]Lu-DOTA-MGS5
활성 축적 [%ID/g]
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
혈액
심장
폐
간
비장
췌장
위
장
신장
부신
근육
뼈
종양


[177Lu]Lu-DOTA-CCK-66
[177Lu]Lu-DOTA-MGS5
종양/폐경 비
1000
1200
1400
1600
1800
2000
2200
2400
2600
0
2
4
6
8
10
12
14
종양/혈액
종양/위
종양/신장

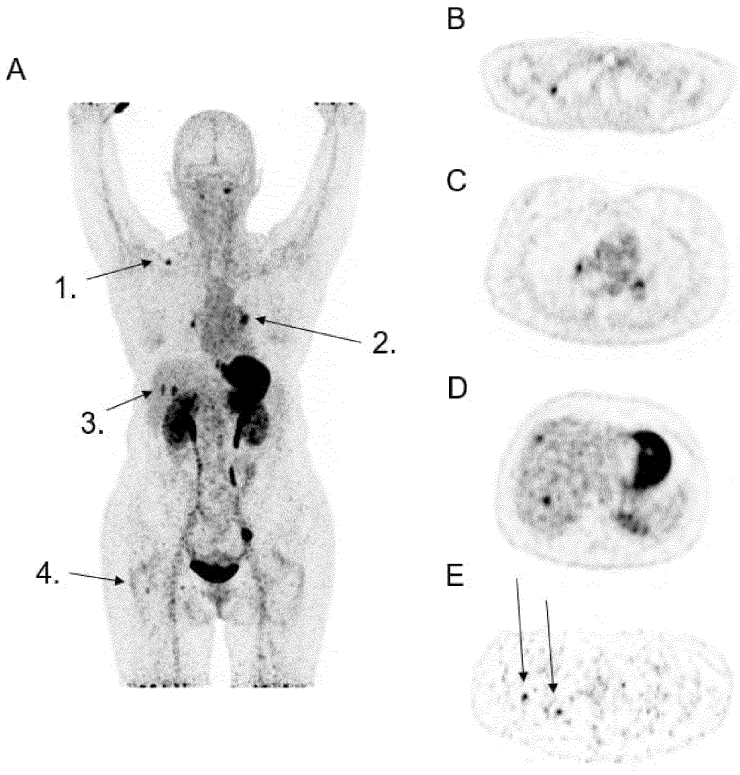
도면12



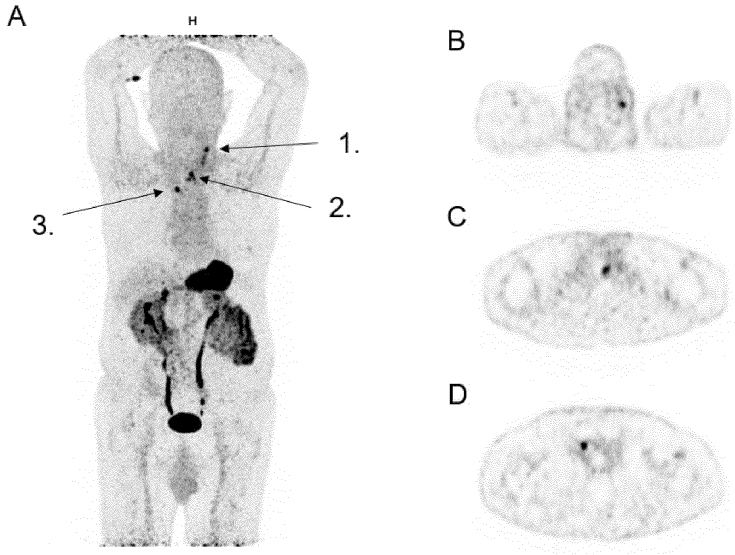
도면13



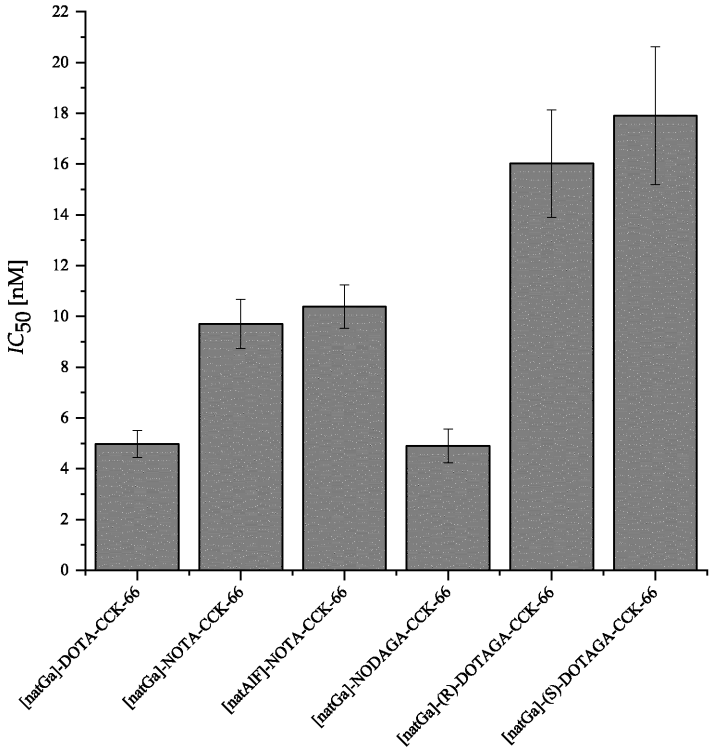
도면14



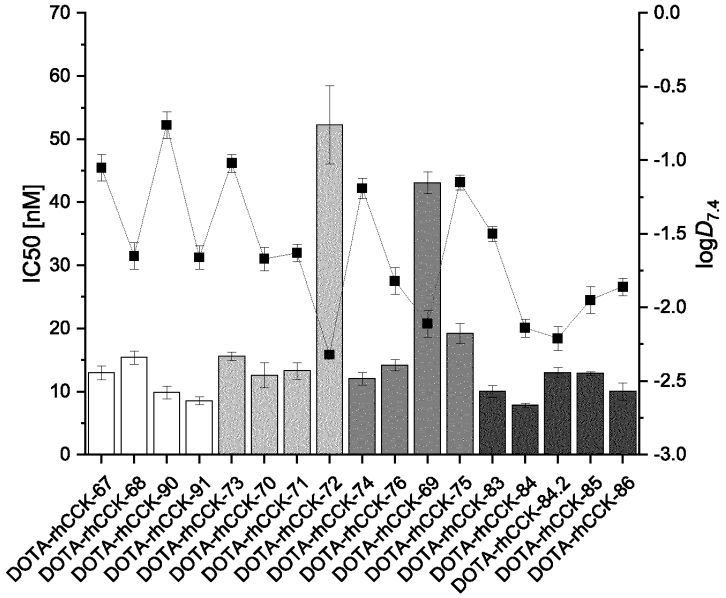
도면15



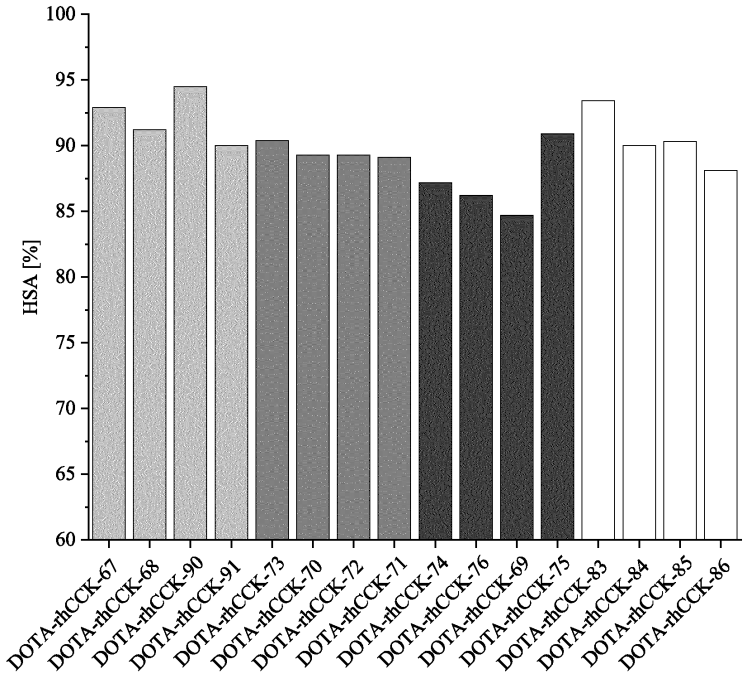
도면16


IC_{50} [nM]
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
[natGa]-DOTA-CCK-66
[natGa]-NOTA-CCK-66
[natAlF]-NOTA-CCK-66
[natGa]-NODAGA-CCK-66
[natGa]-(R)-DOTAGA-CCK-66
[natGa]-(S)-DOTAGA-CCK-66

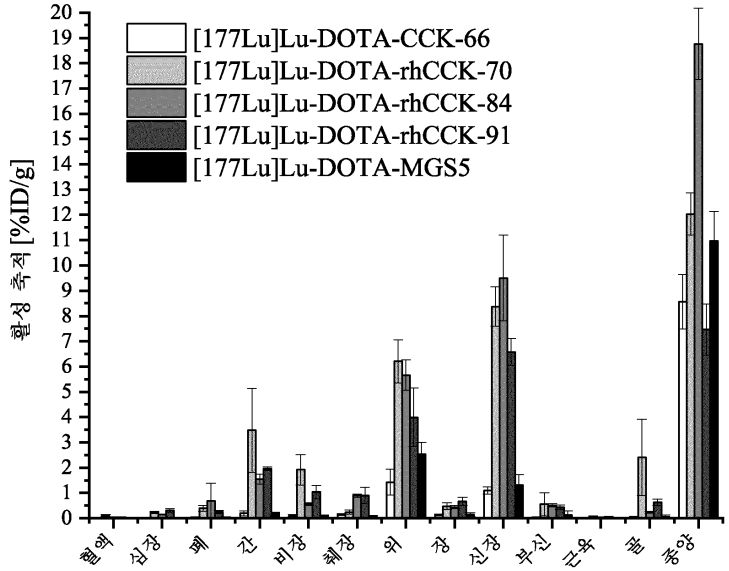
도면17


IC50 [nM]
$logD_{7.4}$
0
10
20
30
40
50
60
70
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
DOTA-rhCCK-67
DOTA-rhCCK-68
DOTA-rhCCK-90
DOTA-rhCCK-91
DOTA-rhCCK-73
DOTA-rhCCK-70
DOTA-rhCCK-71
DOTA-rhCCK-72
DOTA-rhCCK-74
DOTA-rhCCK-76
DOTA-rhCCK-69
DOTA-rhCCK-75
DOTA-rhCCK-83
DOTA-rhCCK-84
DOTA-rhCCK-84.2
DOTA-rhCCK-85
DOTA-rhCCK-86

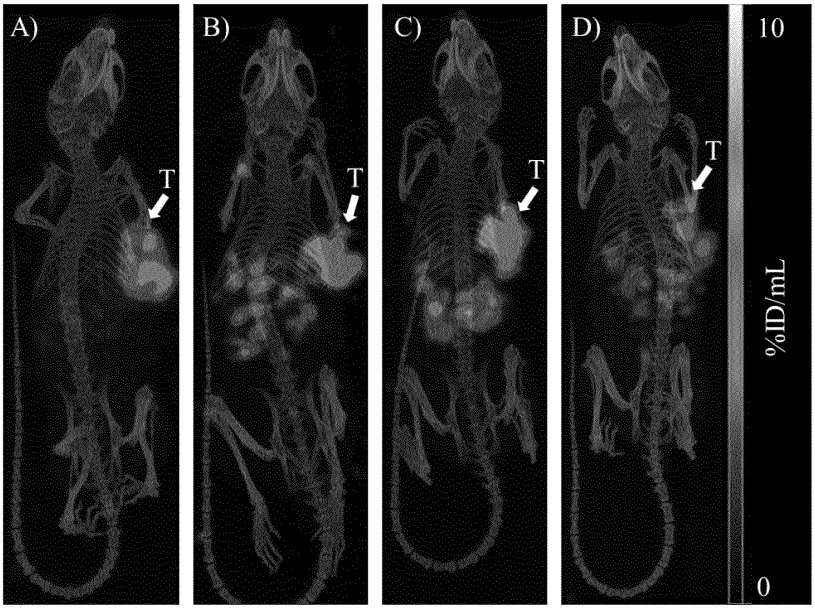
도면18


HSA [%]
100
95
90
85
80
75
70
65
60
DOTA-rhCCK-67
DOTA-rhCCK-68
DOTA-rhCCK-90
DOTA-rhCCK-91
DOTA-rhCCK-73
DOTA-rhCCK-70
DOTA-rhCCK-72
DOTA-rhCCK-71
DOTA-rhCCK-74
DOTA-rhCCK-76
DOTA-rhCCK-69
DOTA-rhCCK-75
DOTA-rhCCK-83
DOTA-rhCCK-84
DOTA-rhCCK-85
DOTA-rhCCK-86

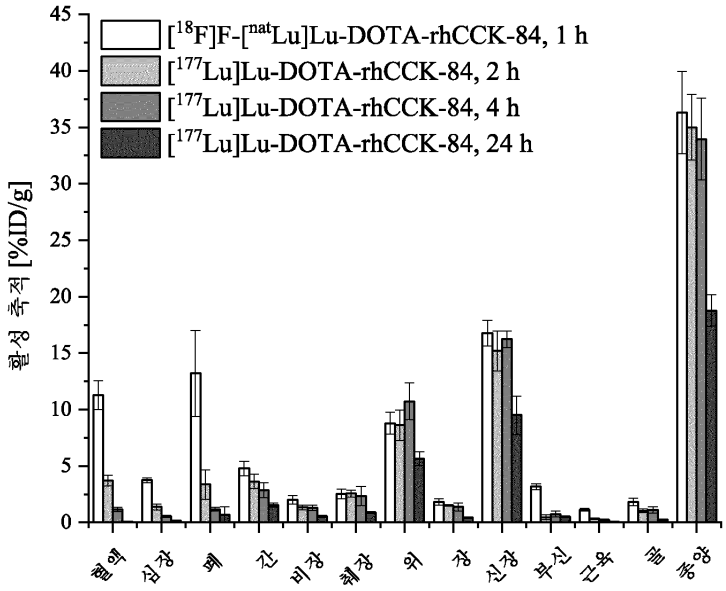
도면19


[177Lu]Lu-DOTA-CCK-66
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-70
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-91
[177Lu]Lu-DOTA-MGS5
활성 축적 [%ID/g]
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
혈액
심장
폐
간
비장
췌장
위
장
신장
부신
근육
골
종양

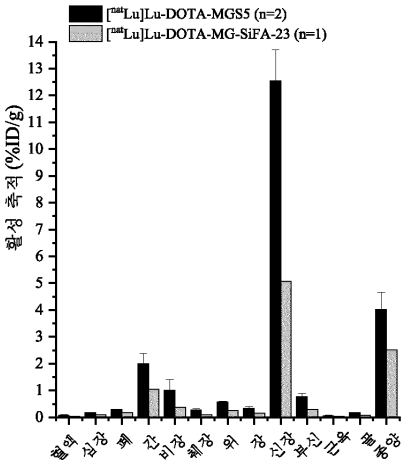
도면20


A)
B)
C)
D)
T
10
%ID/mL
0

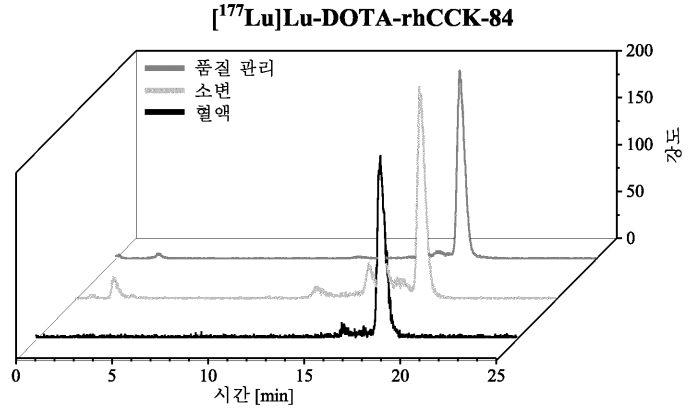
도면21


[18F]F-[natLu]Lu-DOTA-rhCCK-84, 1 h
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84, 2 h
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84, 4 h
[177Lu]Lu-DOTA-rhCCK-84, 24 h
활성 축적 [%ID/g]
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
혈액
심장
폐
신
비장
췌장
위
장
간장
부신
근육
뇌
종양

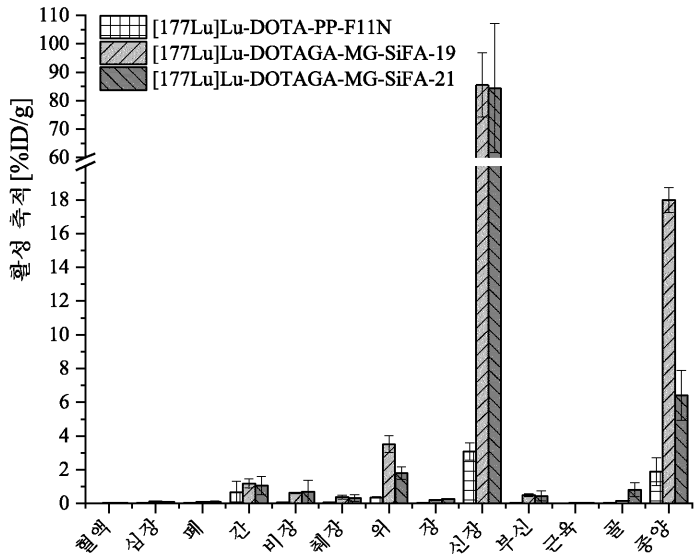
도면22



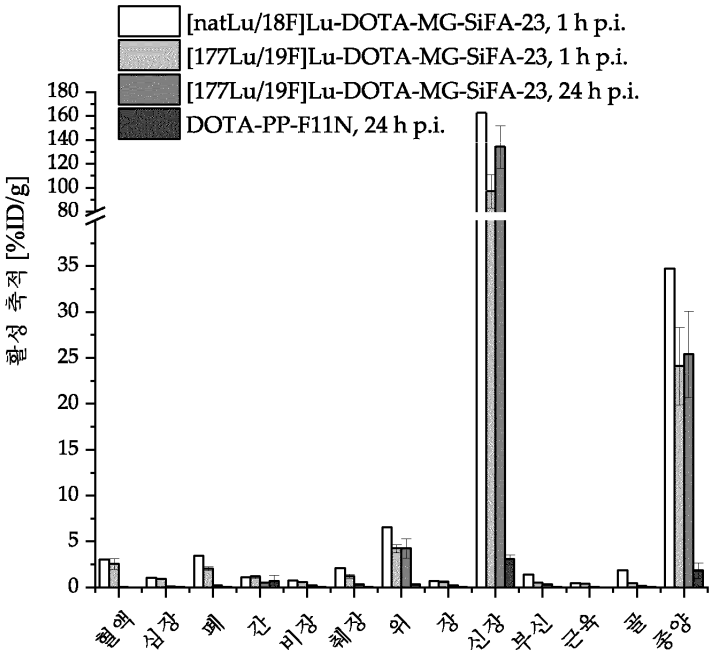
도면23



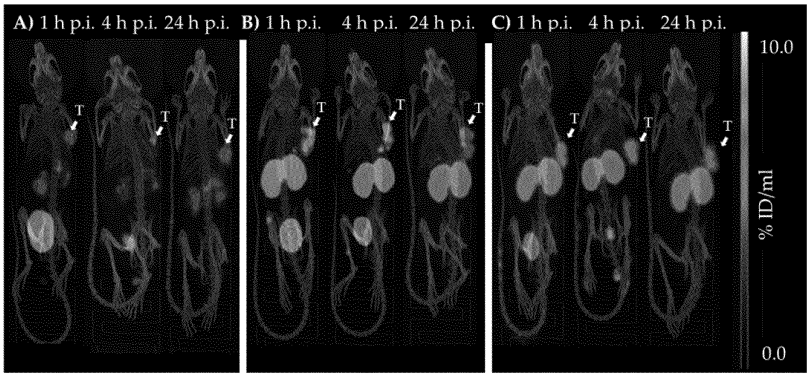
도면24



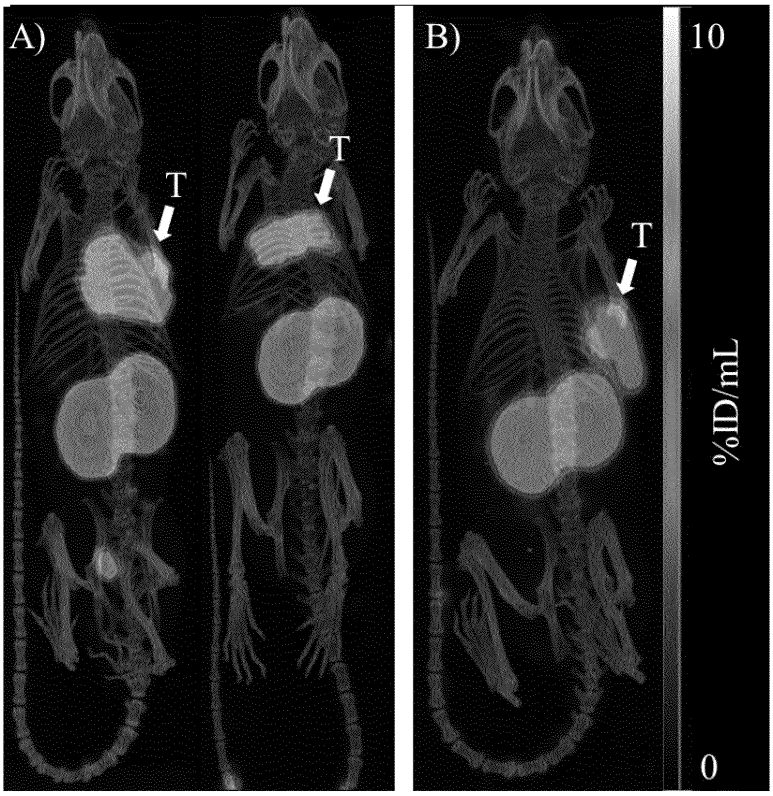
도면25


[natLu/18F]Lu-DOTA-MG-SiFA-23, 1 h p.i.
[177Lu/19F]Lu-DOTA-MG-SiFA-23, 1 h p.i.
[177Lu/19F]Lu-DOTA-MG-SiFA-23, 24 h p.i.
DOTA-PP-F11N, 24 h p.i.
흡성 축적 [%ID/g]
180
160
140
120
100
80
35
30
25
20
15
10
5
0
혈액
심장
폐
간
비장
췌장
위
장
신장
뼈
근육
종양

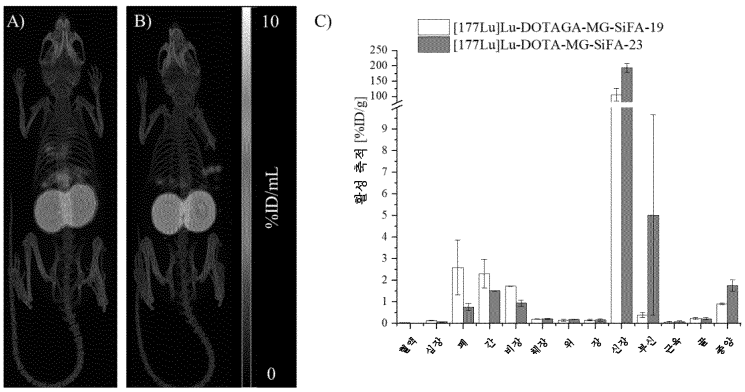
도면26


A) 1 h p.i. 4 h p.i. 24 h p.i.
B) 1 h p.i. 4 h p.i. 24 h p.i.
C) 1 h p.i. 4 h p.i. 24 h p.i.
T
10.0
% ID/ml
0.0

도면27


A)
T
T
B)
T
10
%ID/mL
0

도면28


A)
B)
10
%ID/mL
0
C)
[177Lu]Lu-DOTAGA-MG-SiFA-19
[177Lu]Lu-DOTA-MG-SiFA-23
활성 축적 [%ID/g]
250
200
150
100
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
혈액
심장
폐
간
비장
췌장
위
장
신장
뼈
근육
뇌
종양

도면29

참조물	t_R [min]	log(t_R)	lit. HSA [%]	log K HSA
벤질 알콜	2.32	0.36	13.2	-0.82
아닐린	2.49	0.40	14.1	-0.79
페놀	2.93	0.47	20.7	-0.59
벤조산	3.32	0.52	34.3	-0.29
카르바마제핀	3.87	0.59	75.0	0.46
4-니트로페놀	4.62	0.66	77.7	0.52
에스트라디올	6.93	0.84	94.8	1.19
프로베네시드	6.60	0.82	95.0	1.20
글리벤클라미드	23.2	1.37	99.0	1.69

