

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
 【部門区分】第 3 部門第 2 区分
 【発行日】令和 3 年 1 月 7 日 (2021.1.7)

【公表番号】特表 2020-522506 (P2020-522506A)
 【公表日】令和 2 年 7 月 30 日 (2020.7.30)
 【年通号数】公開・登録公報 2020-030
 【出願番号】特願 2019-566594 (P2019-566594)
 【国際特許分類】

C 0 7 D 257/02 (2006.01)
 C 0 7 D 403/12 (2006.01)
 A 6 1 K 51/04 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 K 47/22 (2006.01)

【F I】

C 0 7 D 257/02 C S P
 C 0 7 D 403/12
 A 6 1 K 51/04 2 0 0
 A 6 1 K 51/04 1 0 0
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 47/22

【誤訳訂正書】

【提出日】令和 2 年 11 月 16 日 (2020.11.16)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】前立腺がんの内部放射線治療法のための前立腺特異的膜抗原をターゲットとした高親和性薬剤

【背景技術】

【0 0 0 1】

[関連出願の相互参照]

本出願は、2017 年 5 月 30 日に出願された米国仮出願第 62/512,515 号の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

[連邦政府の資金支援を受けた研究又は開発]

本発明は、米国国立衛生研究所 (NIH) によって供与された K25CA148901-01A1 及び U54CA1346751 に基づく政府の支援によってなされた。米国政府は本発明に一定の権利を有する。

【0 0 0 3】

前立腺がんは、米国の人々における主要ながんであり、男性におけるがん死亡の第 2 の原因である。局所進行性疾患の治療については依然として議論があり、ますます多くの異なる選択肢が利用可能となってきた。前立腺がんのための新しい、高親和性、放射線治療法の薬剤が、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) をターゲットとして用いて開発された。PSMA はアンドロゲン非依存性疾患のマーカーであり、これは固形 (非前立腺) 腫瘍の新生血管系でも発現している。

【発明の概要】

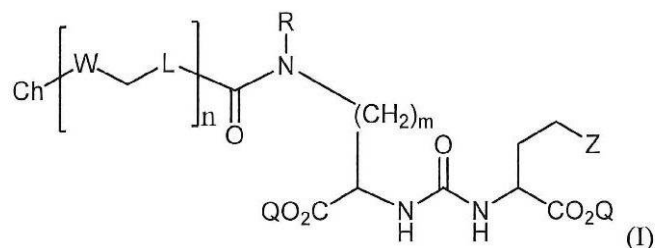
【課題を解決するための手段】

【0004】

[要約]

ある態様では、本発明の対象は、式(1)の化合物：

【化1】

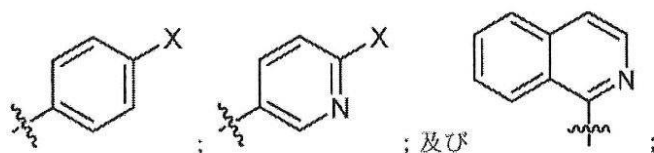


ここで、Z はテトラゾール又は CO_2Q であり；Q は H 又は保護基であり；m は 1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり；R は独立して、H 又は $-\text{CH}_2-\text{R}^1$ であり； R^1 は置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンからなる群から選択され；L は C_1-C_6 アルキレン及び C_3-C_6 シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群から選択されるリンカーであり；W は $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 及び $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く； R^2 は H 又は C_1-C_4 アルキルであり；n は 1, 2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；Ch は金属又は放射性金属を含むことができるキレート剤であり；並びにその薬学的に許容される塩、を提供する。

【0005】

式(1)の化合物の具体的態様において、 R^1 は、以下：

【化2】

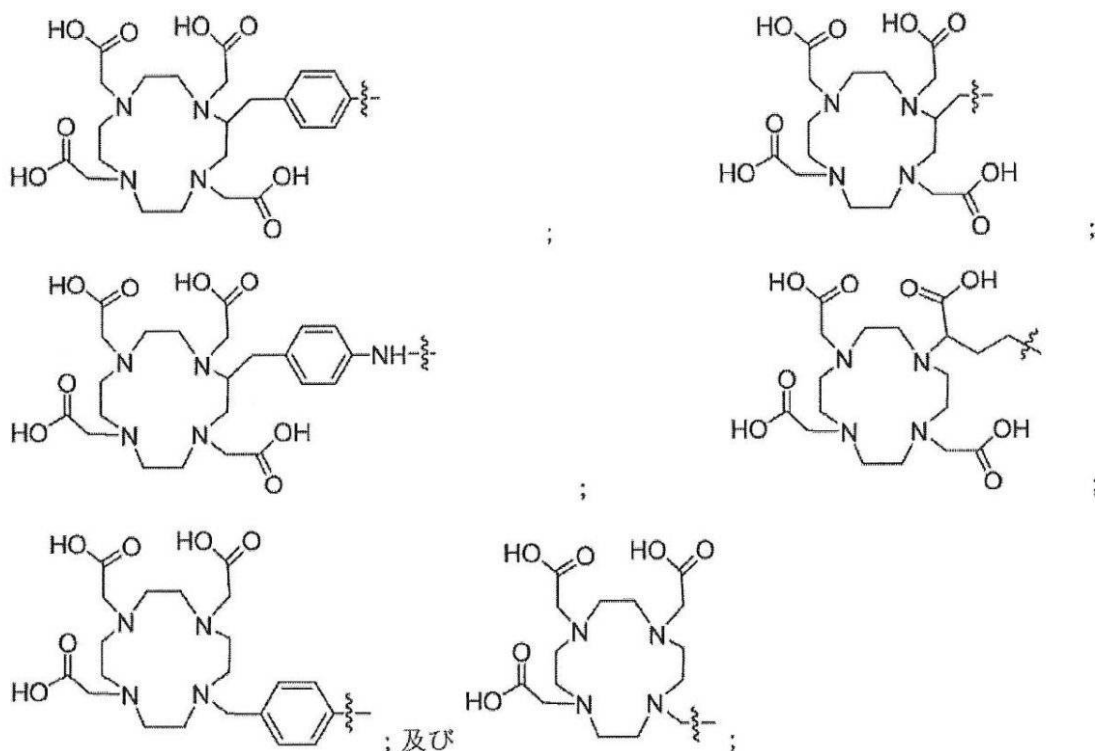


ここで、X は独立して Br 又は I である、からなる群から選択される。

【0006】

式(1)の化合物の更に具体的態様において、前記キレート剤は、以下：

【化 3】

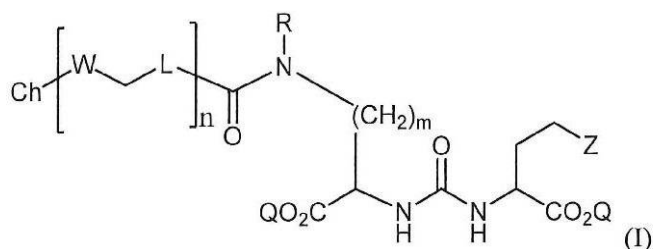


からなる群から選択される。

【0007】

他の態様では、本発明の対象は、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を、有効量の式 (I) の化合物に接触させることを含む方法であって、前記式 (I) の化合物が、以下

【化 4】



ここで、Z はテトラゾール又は CO_2Q であり；Q は H 又は保護基であり；m は 1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり；R は、独立して、H 又は $-\text{CH}_2-\text{R}^1$ であり； R^1 は置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンであり；L は C_1-C_6 アルキレン及び C_3-C_6 シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群から選択されるリンカーであり；W は $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 及び $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く； R^2 は H 又は C_1-C_4 アルキルであり；n は 1, 2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；Ch は放射線治療法に適した放射性金属を含むキレート剤であり；並びにその薬学的に許容される塩、

を含む、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を治療する方法を提供する。

【0008】

他の態様では、本発明の対象は、1 つ以上の前立腺特異的膜抗原 (PSMA) 腫瘍又は細胞をイメージングする方法を提供し、前記方法は、1 つ以上の腫瘍又は細胞を、有効量の式

(1) の化合物に接触させること、及びイメージングすることを含む。

【0009】

更に他の態様において、本発明の対象は、式(1)の化合物を含むキットを提供する。

【0010】

本明細書で前述した本発明の対象のある態様は、全体的に又は部分的に本発明の対象によって記載され、他の態様は、以下に最もよく説明されるように、添付の実施例及び図面と関連付けて記載されながら明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0011】

本発明の対象を一般的な用語で説明したので、添付図面を参照するが、必ずしも一定の縮尺で描かれていない。ここで：

【図1】図1は、代表的な放射線治療法薬剤の化学構造を示す；

【図2】図2は、 ^{177}Lu -8並びに既知の薬剤SR6、PSMA-617及びPSMA-I&Tのクローン形成における有効性に関する比較研究を示す；

【図3】図3は、 ^{177}Lu -8、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -SR6、 ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA-I&Tの、腎臓に対するPSMA+腫瘍への分布割合を示す；

【図4】図4は、3 mCiの単回投与を用いた治療研究中における ^{177}Lu -8のSPECT-CTイメージングを示す；

【図5】図5は、治療研究中におけるマウスの相対的な体重を示す；

【図6】図6Aと図6Bは、治療研究中におけるマウスの相対的な腫瘍体積(図6A)及び治療後60日までのカプランマイヤー生存曲線(図6B)を示す；

【図7】図7は、(左)37における ^{213}Bi -1のin vitro細胞取り込みを示す。PSMA(+)PC3 PIP細胞(青)、及びPSMA(-)PC3 flu細胞(黒)、並びに1 mMのZJ43で遮断した場合(赤)における特異的な細胞取り込み。(真ん中及び右)37で2時間後の、 ^{213}Bi -1及び ^{225}Ac -1に対する特異的な細胞の死滅；

【図8】図8は、 ^{213}Bi -1(% ID/g)の組織生体内分布を示す；

【図9】図9は、PSMA+ PIP側腹部腫瘍モデル(雄NSGマウス)における ^{225}Ac -1の有効性を示す(上)。(真ん中)治療の試験中での体重の変化。(下)微小転移性PC3-ML-Luc-PSMAモデルを用いた治療試験のカプランマイヤー生存曲線、51日(未処理)対 ^{177}Lu -PSMA-617(37 MBq)は52日、 ^{225}Ac -1(37 kBq)は56日、 ^{225}Ac -1(74 kBq)は79日の生存の中央値；

【図10】図10は、 ^{203}Pb -2及び ^{203}Pb -3(14.8 MBq)のSPECT-CTイメージング(上)及び組織生体内分布データ(下)を示す。T+: PSMA(+)PC3 PIP、T(-) PC3 flu；

【図11】図11A、11B、11C、11D、及び11Eは、カメラ・イメージングによって記録した、PSMA+ PC3 PIP腫瘍(T)及び腎臓(K)における0.37 MBq ^{225}Ac -1(A)及び1.85 MBqの ^{213}Bi -1(+2 nmol 9)(B)の分布を示す。2 nmolの9を一緒に注射すると、活性は腎皮質から特異的に除去されたが、PSMA+腫瘍からは除去されなかった。(C) ^{225}Ac -9処置したPSMA+腫瘍のIHCは、未処置PSMA+腫瘍と比較して24時間後にPSMA-発現の低下を示し、(D, E) (A)と同じマウス由来の腎臓の2時間後のPSMA+染色(IHC)；

【図12】図12は、1の量を増やしていったときの ^{177}Lu -1の生体内分布を示し、2時間で、部分的な腎臓の遮断リガンドであることを示す；

【図13】図13A及び図13Bは、(図13A)注射後2時間での、タイプI(腫瘍及び腎臓での高い取り込みを伴う)及びタイプII(腫瘍での高い取り込み、及び腎臓での低い取り込みを伴う)造影剤、及び(図13B) ^{68}Ga -2でスキャンした広範な転移病変を有する最初の患者を示す。サブセンチメートルの肺門周囲及び胸椎のリンパ節が含まれる(軸方向パネル、矢印)(左)(参考文献34)；選択した ^{68}Ga / ^{177}Lu 標識されたPSMA結合薬剤(右)；

【図14】図14は、選択した化合物についての細胞取り込み及び内部移行の比較データを示す(直接比較研究)；

【図15】図15は、選択した化合物についての組織生体内分布の比較データを示す(直接比較研究)；

【図16】図16は、選択した化合物についての組織生体内分布の比較データを示す(図

15にも示したような、直接比較研究)；

【図17】図17は、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -7、 ^{177}Lu -8、 ^{177}Lu -9、 ^{177}Lu -10、及び ^{177}Lu -14の生体内分布データを示す；

【図18】図18A及び図18Bは、 ^{177}Lu -1(37 MBq)を用いたSPECT/CTイメージングを示す(図18A)；図18B。 ^{177}Lu -1を無し又は有りて投与したPC3 PIP腫瘍のPSMA発現に関する免疫組織化学；

【図19】図19は、 ^{177}Lu -14の静脈内投与後のSPECT/CTイメージングを示す；

【図20】図20は、注射後2時間における ^{177}Lu -1及び ^{177}Lu -9の部分的自己遮断を示す；

【図21】図21A及び図21Bは、PSMAベースの ^{177}Lu 標識した低分子量剤 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5及び ^{177}Lu -PSMA-617の放射性核種治療法を示す。 ~ 111 MBqの個々の薬剤の尾静脈注射及びコントロール生理食塩水注射(^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5については $n = 10$ 、 ^{177}Lu -PSMA-617については $n = 9$)による単回投与後の腫瘍増殖抑制(図21A)及び生存率(図21B)。個々のマウスの相対的な腫瘍体積及び体重を、処置の4週間後及び8週間後に示す；

【図22】図22は、 ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -1の相対体積、体重及び生存率(%)を示す；

【図23】図23は、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5、 ^{177}Lu -PSMA-617を用いた放射線治療法の8週間後のヘモグロビン及び血球数を示す。データは、 $n = 3$ /群の平均 \pm SEMである；

【図24】図24は、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5、 ^{177}Lu -PSMA-617を用いた放射線治療法の8週間後のヘモグロビン及び血球数を示す。データは、 $n = 3$ /群の平均 \pm SEMである；

【図25】図25A、図25B、図25C、図25D、及び図25Eは、ヘマトキシリン及びエオシン(H&E)染色を示す。(図25A、図25B、図25C)眼窩外涙腺、図25A。コントロール未処置；図25B。隣接する耳下腺(矢じり)；図25C。涙腺に影響を及ぼす慢性及び活動性炎症を伴う腺房消失を示す、図25Bのより高い倍率(^{177}Lu -PSMA-617)(図25D、及び図25E)。精巣図25D。コントロール未処置、アクティブな精子形成、ある細管(矢頭)はセルトリ細胞のみを含む。これは、精巣網付近で予想される；図25E。精子形成はなく、びまん性精細管はAよりも小さく(同じ倍率)、セルトリ細胞のみが整列し、いくつかの細管には少数の生殖細胞がある。この検体中では、間質細胞は、細管の間で顕著である。特許又は出願書類は、カラーで作成された少なくとも1つの図面を含む。カラー図面を伴う本特許又は特許出願公開のコピーは、請求及び所要の手数料の納付に応じて当局によって提供される。

【発明を実施するための形態】

【0012】

[詳細な説明]

本発明の対象を、添付の図面を参照して、より完全に以下で説明する。その中では、本明細書に開示された発明のいくつかの実施形態を示すが、全てを示すわけではない。同様の番号は、全体を通して同様の要素を指す。本発明の対象は、多くの異なる形態で具体化しても良く、本明細書に記載の実施形態に限定されると解釈されるべきではない；むしろ、これらの実施形態は、本開示が適用されうる法的要件を満たすように提供される。実際に、前述の説明及び添付する図面に提示された教示の利益を有し、本発明の対象に関する当業者には、本明細書に記載された本明細書に開示された発明の多くの改変及び他の実施形態が思い浮かぶであろう。従って、本明細書で開示した発明は、開示した特定の実施形態に限定されるものではなく、改変及び他の実施形態も、添付の特許請求の範囲内に含まれることを意図している、と理解されたい。

【0013】

1. 前立腺がんの内部放射線治療法のための前立腺特異的膜抗原をターゲットとした高親和性薬剤

A. 式(1)の化合物

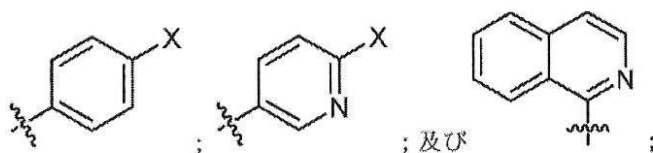
従って、ある態様では、本発明の対象は、式(1)の化合物：

$$\text{Ch} \left[\text{W} - \text{L} \right]_n \text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{Q})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{Q})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Z} \quad (\text{I})$$

【 0 0 1 6 】

【 0 0 1 7 】

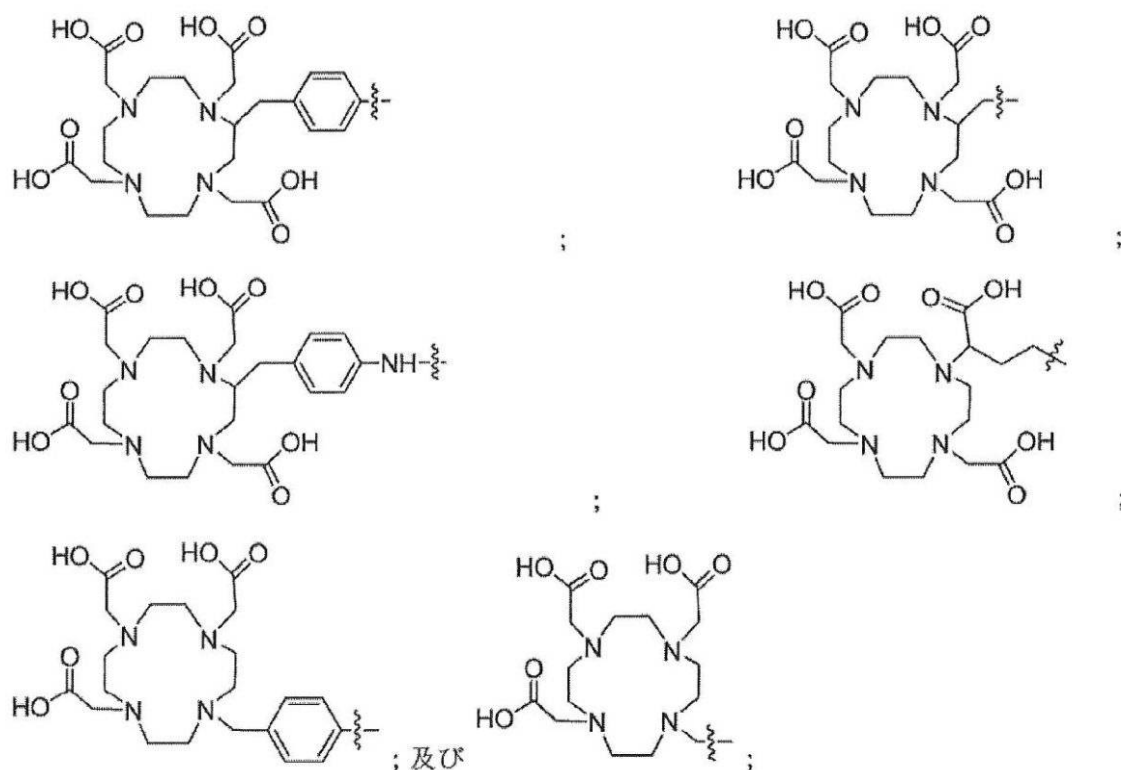
【化 6】



【 0 0 1 8 】

前記式(1)の化合物の更に具体的態様において、前記キレート剤は、以下：

【化 7】



からなる群から選択される。

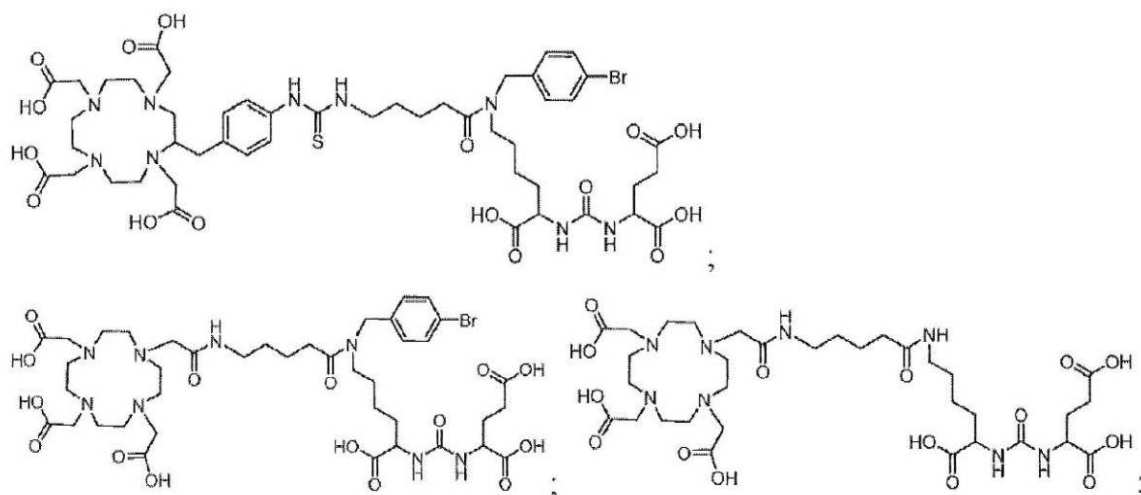
【 0 0 1 9 】

前記式(1)の化合物の更に具体的な実施形態において、前記キレート剤は、以下：Y, Lu, Tc, Zr, In, Sm, Re, Cu, Pb, Ac, Bi, Al, Ga, Re, Ho 及び Sc からなる群から選択される金属を含む。式(1)の化合物の更なる具体的な実施形態では、前記金属は放射性金属であり、以下： ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{177}Lu , ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{225}Ac , ^{213}Bi , ^{212}Bi , ^{212}Pb , ^{67}Ga , ^{203}Pb , ^{47}Sc 及び ^{166}Ho からなる群から選択される。

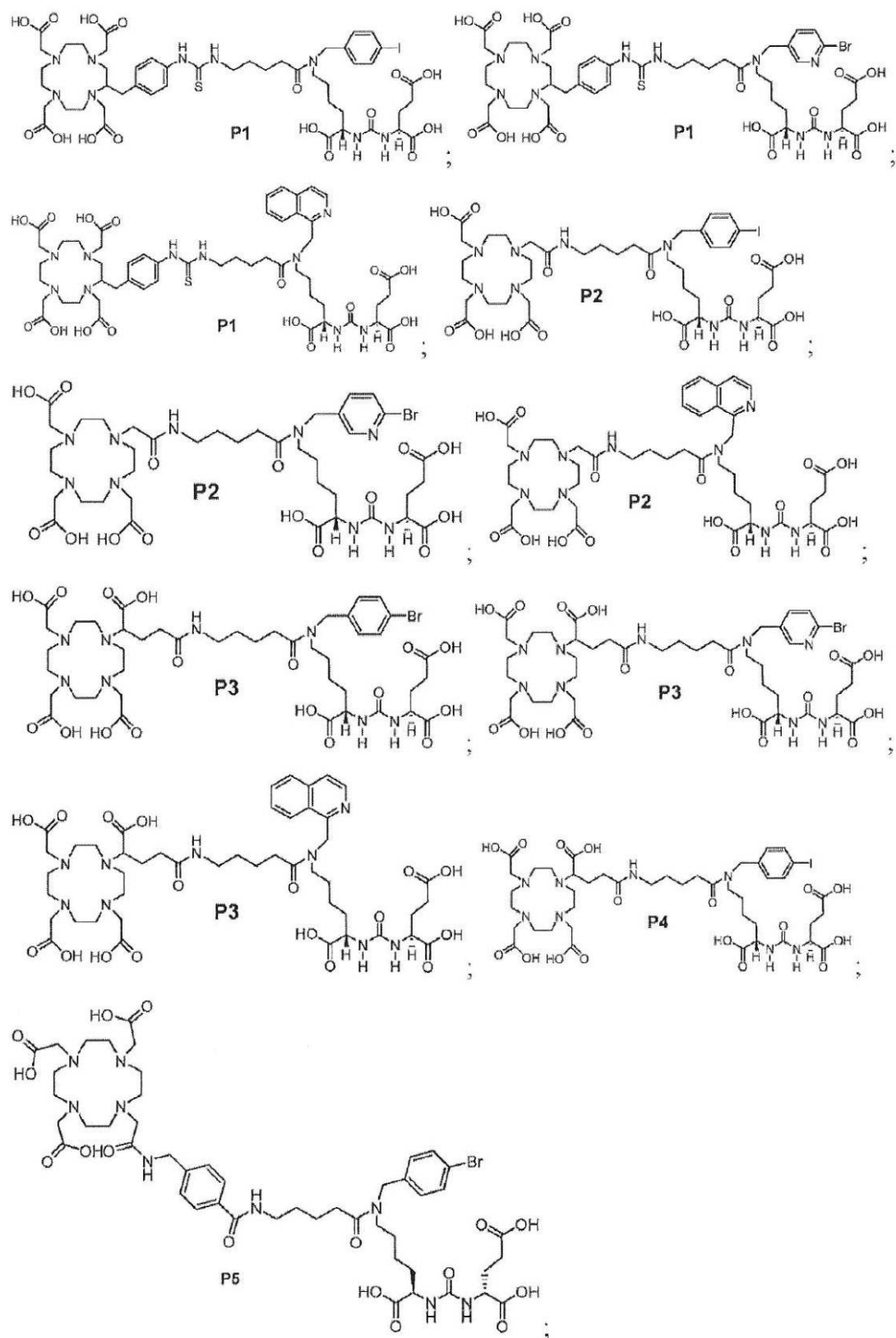
【 0 0 2 0 】

ある具体的な実施形態では、前記式(1)の化合物は、以下：

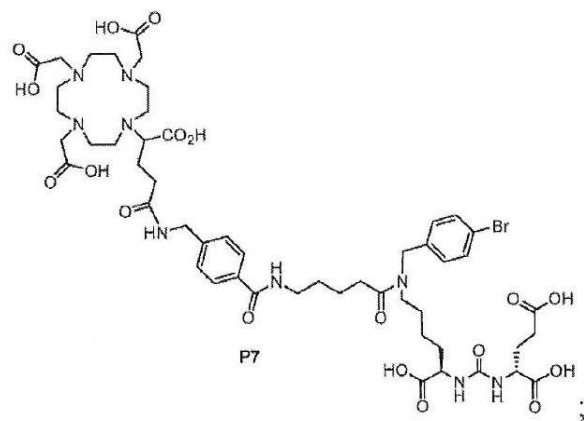
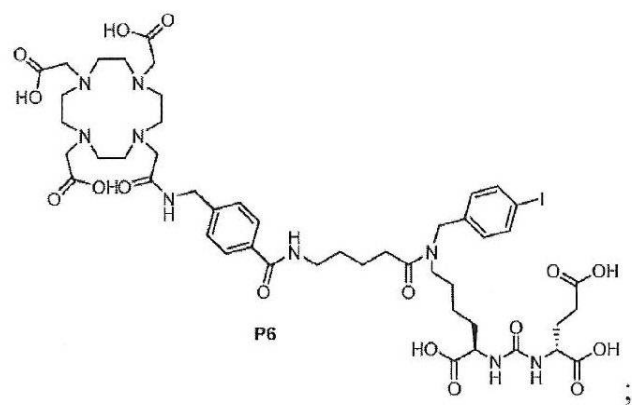
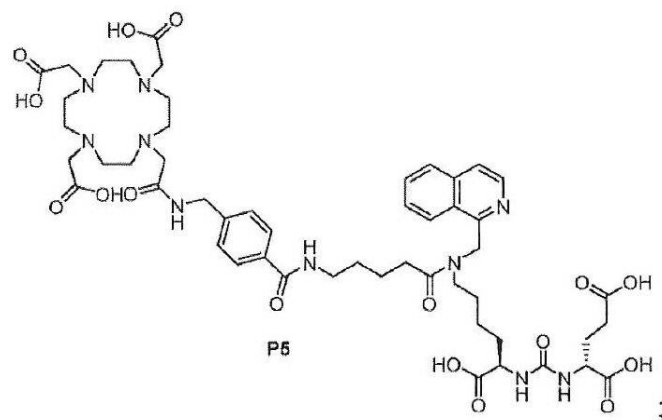
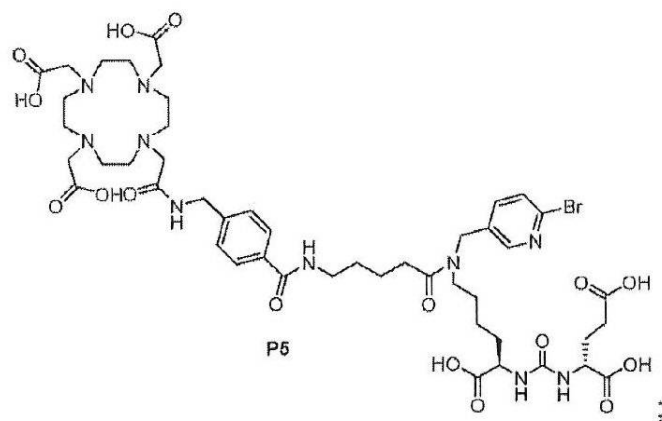
【化 8】



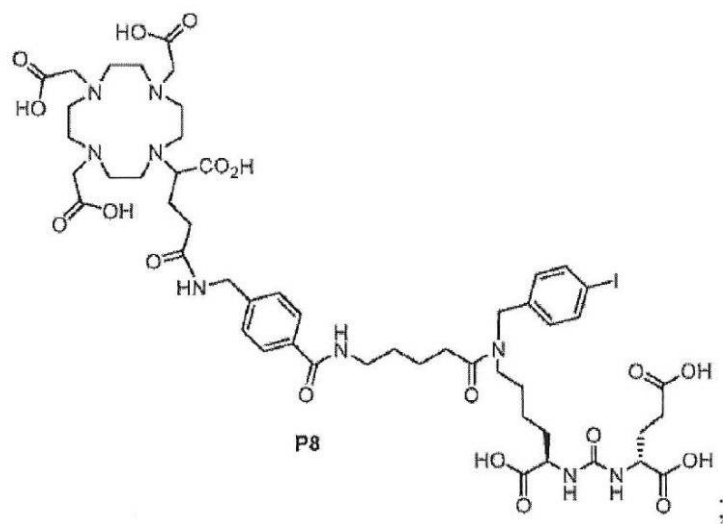
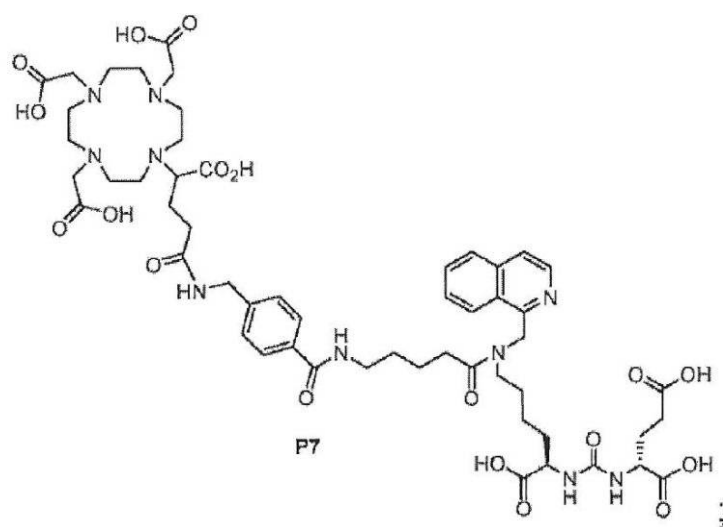
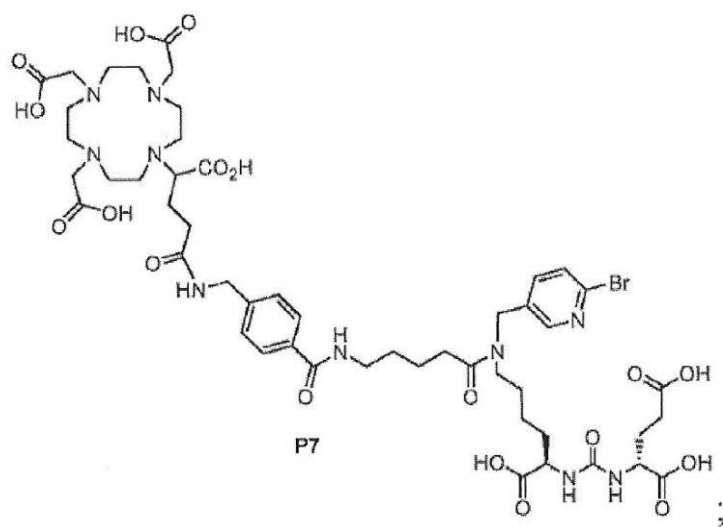
【化 9】



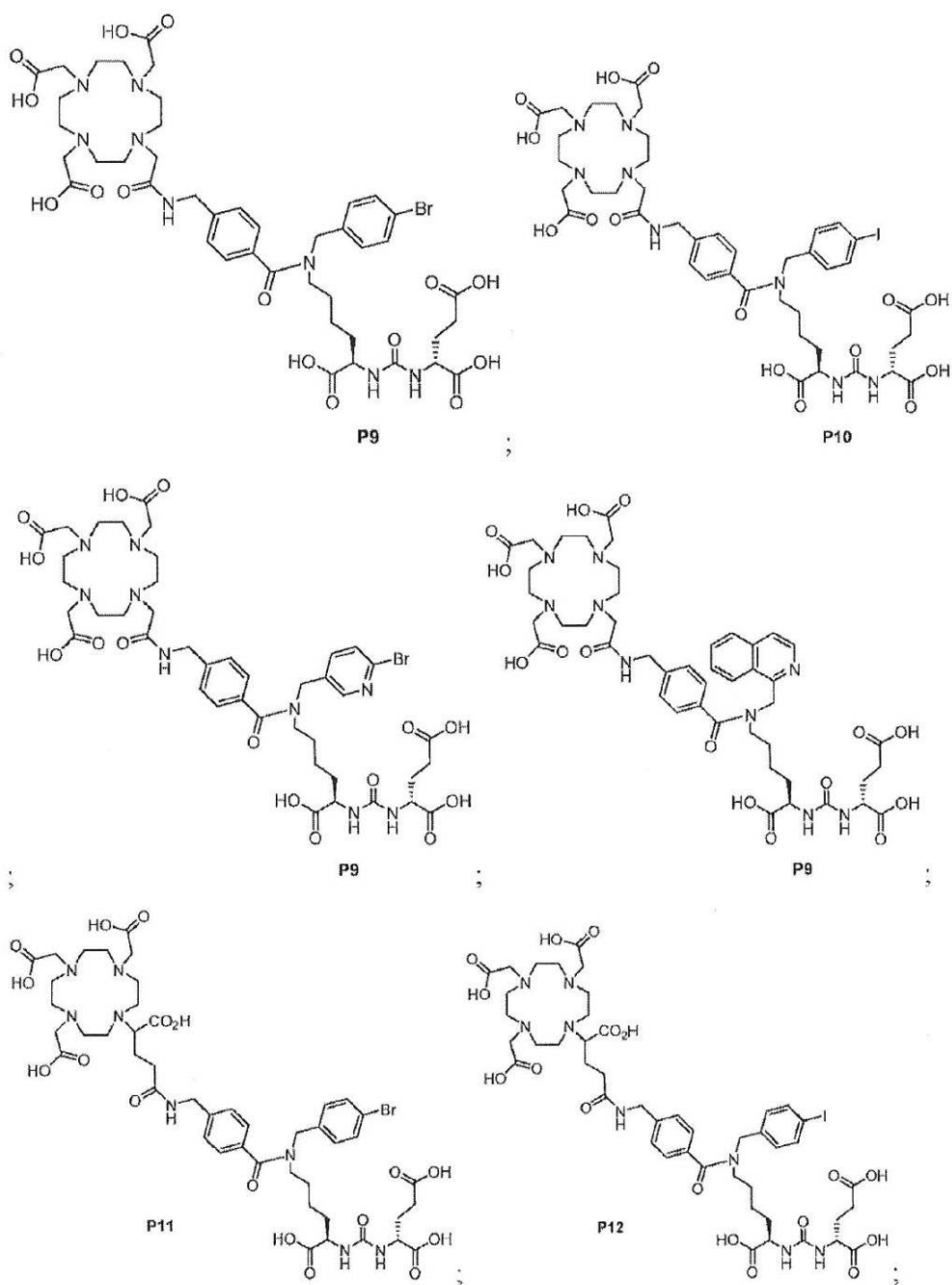
【化 10】



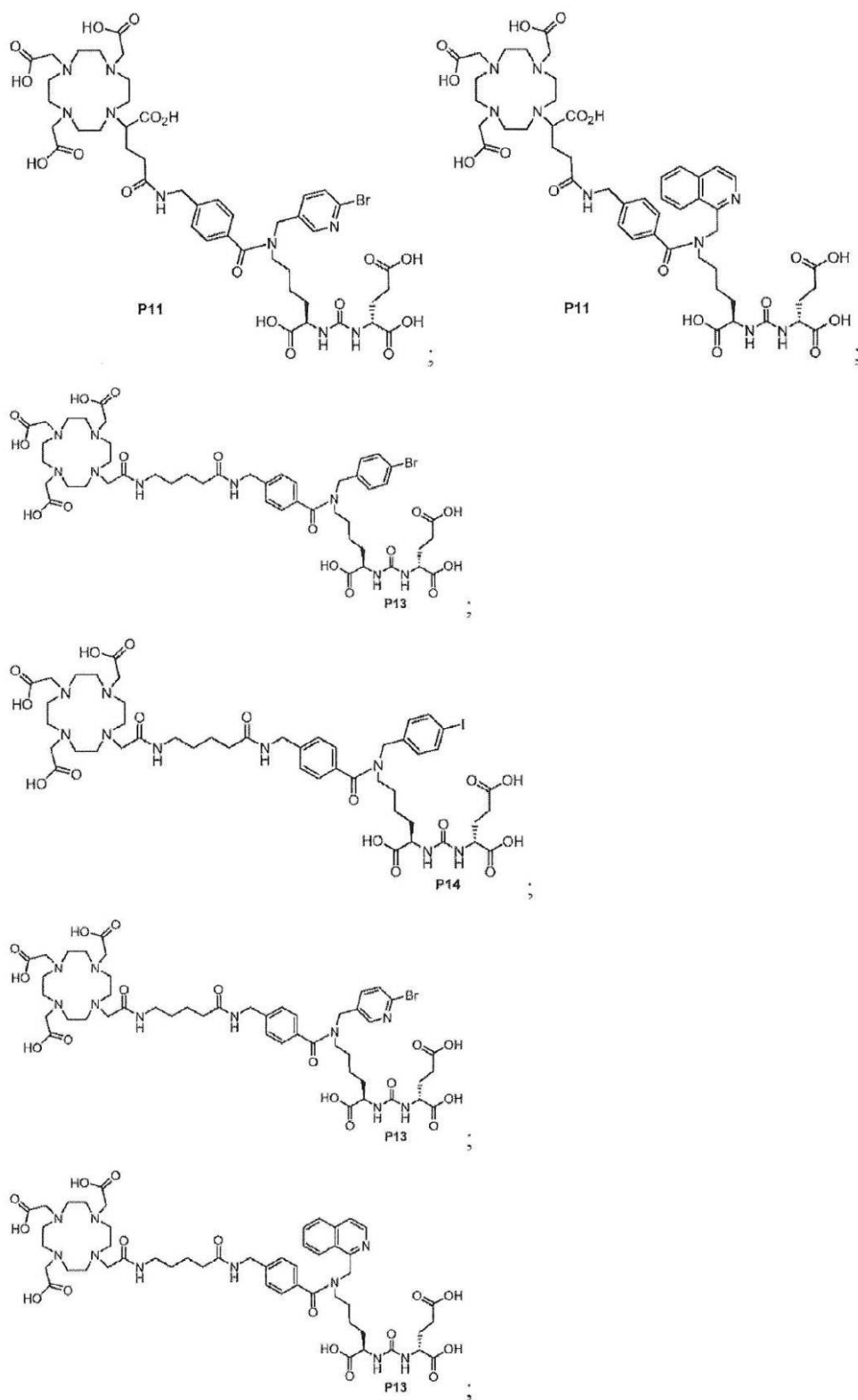
【化 1 1】



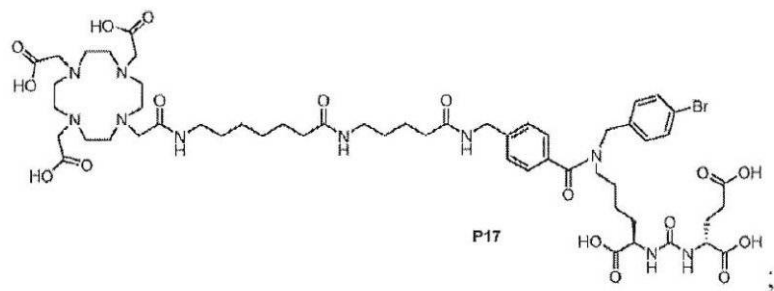
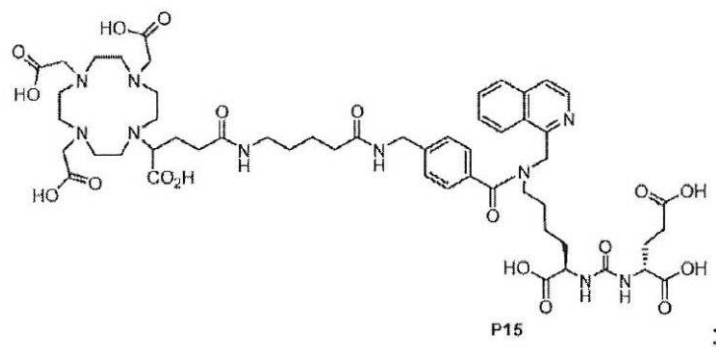
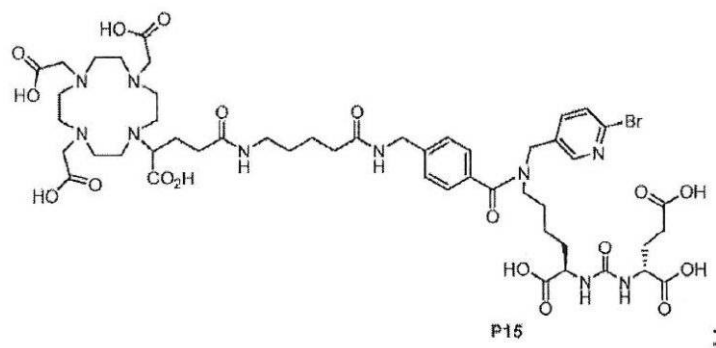
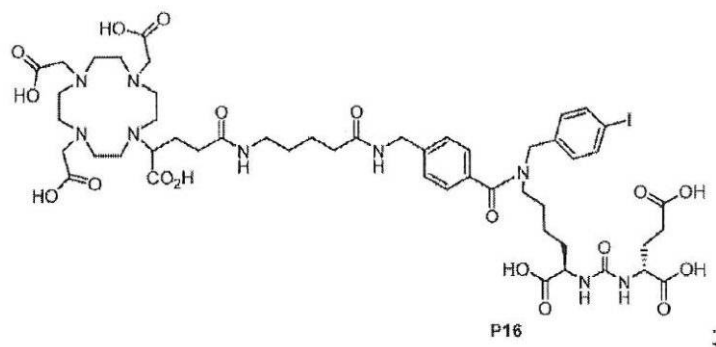
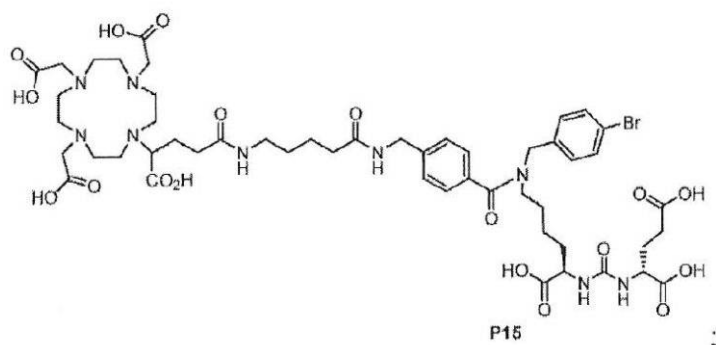
【化 1 2】



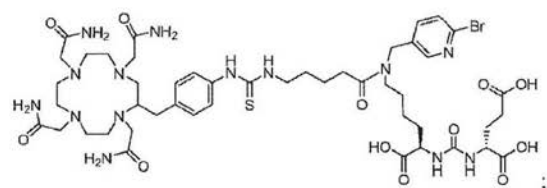
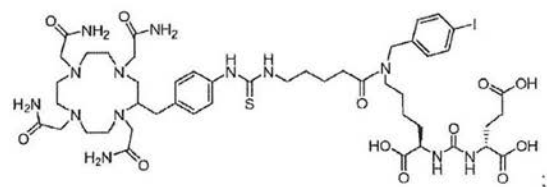
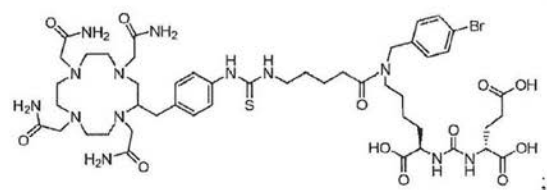
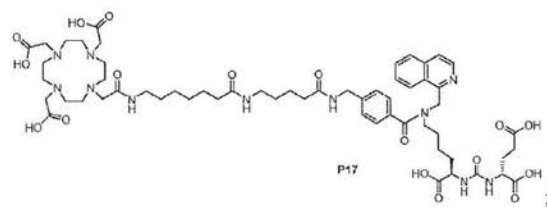
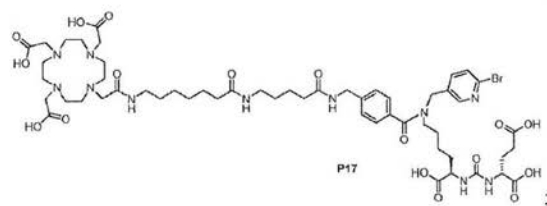
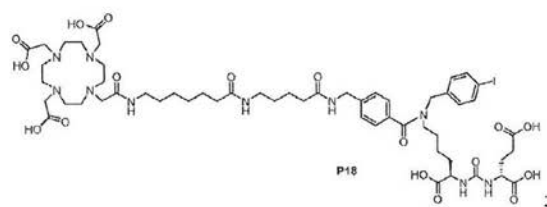
【化 1 3】



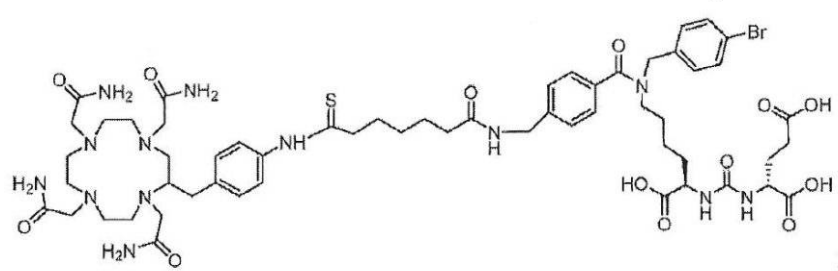
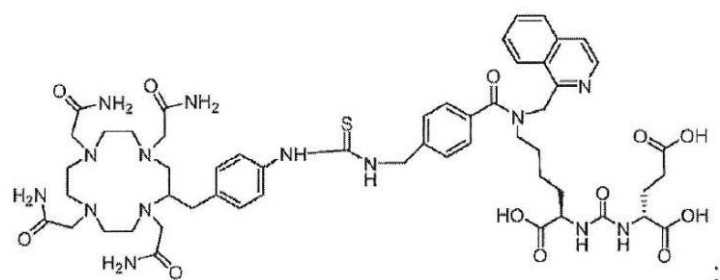
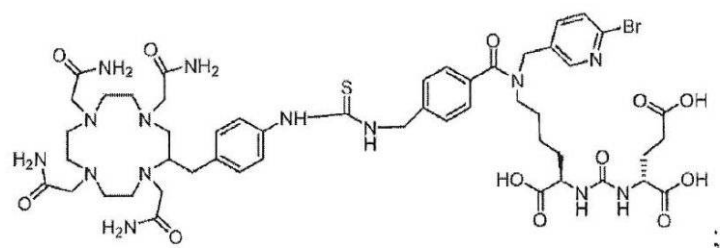
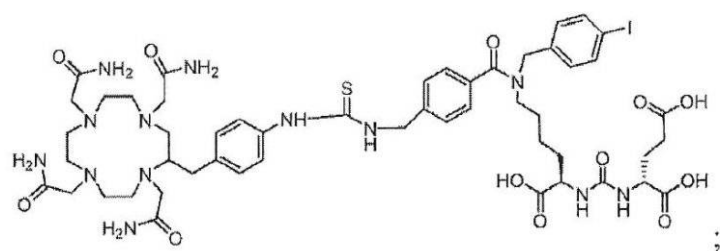
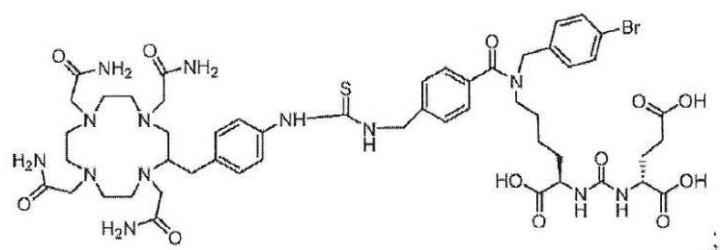
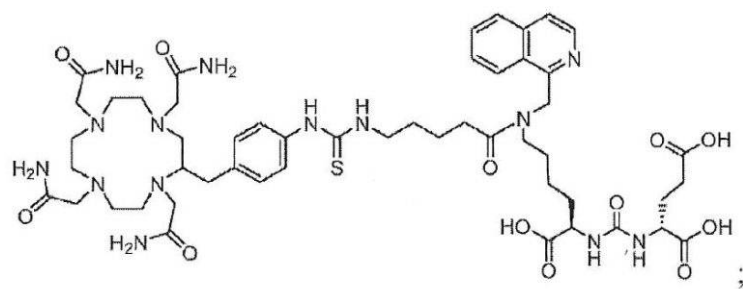
【化 1 4】



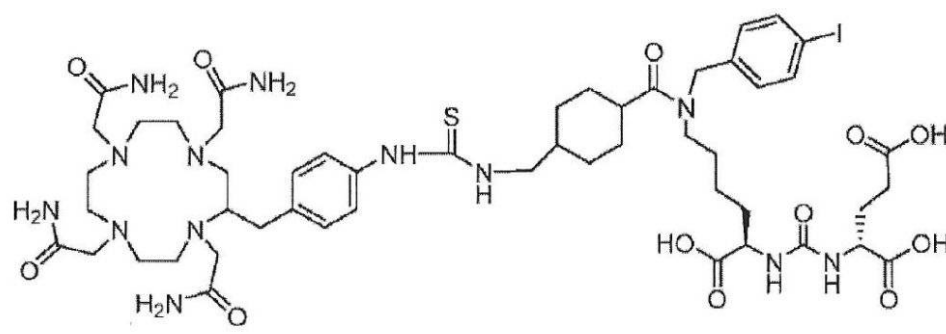
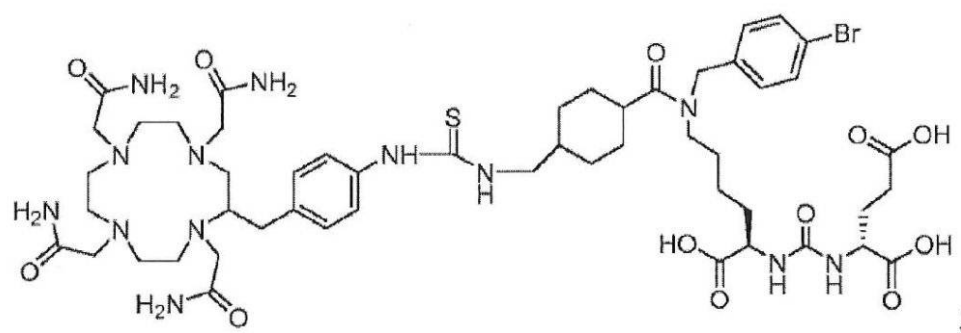
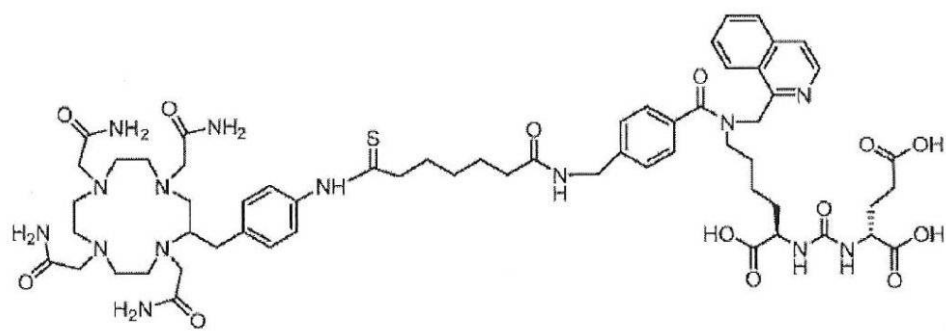
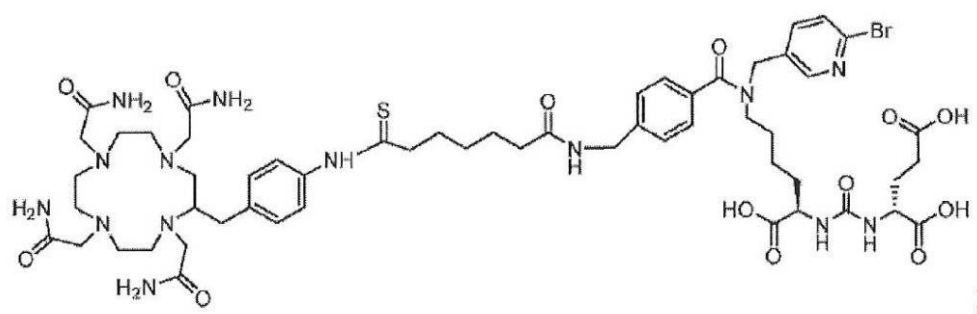
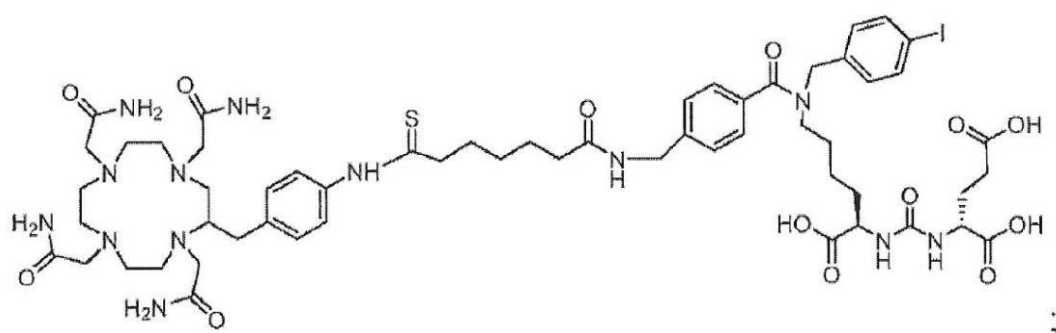
【化 1 5】



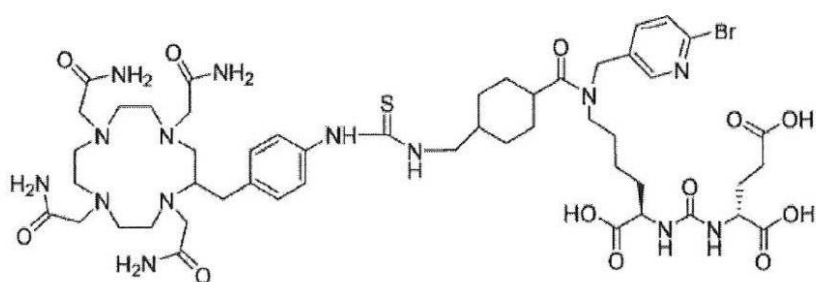
【化 1 6】



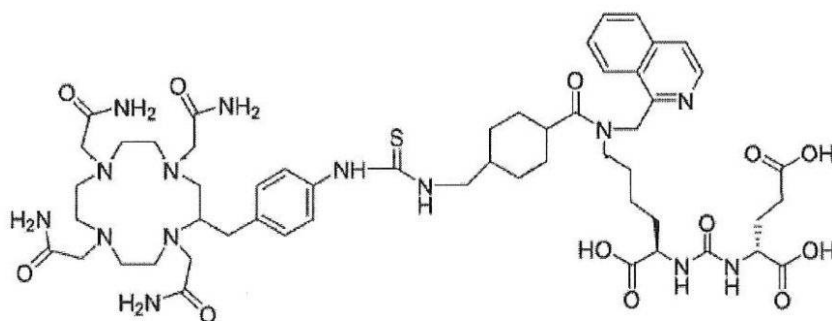
【化 17】



【化 18】



；及び



；

からなる群から選択される。

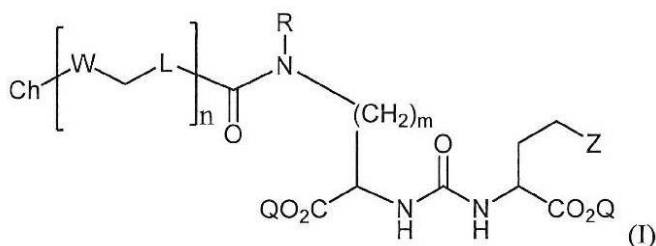
【0021】

B. 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を治療するための式 (I) の化合物の使用

【0022】

ある実施形態では、本発明の対象は、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を、有効量の式 (I) の化合物に接触させることを含む方法であって、前記式 (I) の化合物が、以下：

【化 19】



ここで、Z はテトラゾール又は CO_2Q であり；Q は H 又は保護基であり；m は 1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり；R は独立して、H 又は $-\text{CH}_2-\text{R}^1$ であり； R^1 は、置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンからなる群から選択され；L は C_1-C_6 アルキレン及び C_3-C_6 シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群から選択されるリンカーであり；W は $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 及び $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く； R^2 は H 又は C_1-C_4 アルキルであり；n は 1, 2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；Ch は放射線治療法に適した放射性金属を含むキレート剤であり；並びにその薬学的に許容される塩、

を含む、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を治療するための方法を提供する。

【0023】

「接触させること (contacting)」は、本発明の対象の治療剤を含む少なくとも 1 つ

の化合物を、少なくとも 1 つの PSMA を発現する腫瘍又は細胞と物理的に接触するようにする、任意の行為を意味する。接触させることは、少なくとも 1 つの化合物を少なくとも 1 つの細胞又は腫瘍と接触させるのに十分な量で、前記化合物に前記細胞又は腫瘍を曝露することを含むことがある。前記方法は、培養ディッシュ又はチューブのようなコントロールされた環境に、前記化合物及び細胞又は腫瘍を置き、好ましくは混合することによって、*in vitro* 又は *ex vivo* で実施することがある。前記方法を *in vivo* で実施することがあり、この場合、接触させることは、前記化合物を対象に任意の適切な経路で投与するなど、対象の少なくとも 1 つの細胞又は腫瘍を少なくとも 1 つの本発明の対象の化合物に曝露することを意味する。

【0024】

本明細書中で使用される場合、用語「治療（処置）する（treating）」は、そのような用語が適用される疾患（disease）、障害（disorder）若しくは病気（condition）、又はそのような疾患、障害若しくは病気の 1 つ以上の症状（symptoms）若しくは兆候（manifestations）の進行を逆転、緩和、阻害し、これらの可能性を予防、若しくは減ずることを含むことがある。予防とは、疾患、障害、病気又はそのような症状若しくは兆候が引き起こされること、又はその重症度が悪化すること、が起きないようにすることを意味する。従って、本発明の化合物を予防的に投与して、疾患、障害若しくは病気の発生若しくは再発を予防又は軽減することができる。

【0025】

一般に、活性薬剤の「有効量（effective amount）」は、所望の生物学的応答を誘発するのに必要な量を指す。当業者には理解されるように、薬剤又はデバイスの有効量は、所望の生物学的エンドポイント、送達される薬剤、前記医薬組成物の構成、ターゲット組織などの要因に応じて変化することがある。

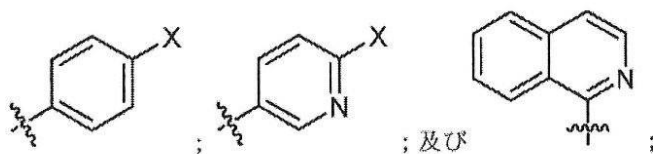
【0026】

用語「組合せ / 併用（combination）」は、その最も広い意味で使用され、少なくとも 2 種類の薬剤、より具体的には式 (1) の化合物及び少なくとも 1 種類の他の活性薬剤が対象に投与されることを意味する。より具体的には、用語「組合せて / 併用して（in combination）」は、例えば単一の疾患状態の治療のために、2 種類（又はそれ以上）の活性薬剤を相伴って投与することを意味する。本明細書中で使用される場合、前記活性薬剤は、単一剤に組合せて投与されても良く、別々の剤として同時に投与されても良く、又は同じ日又は別々の日に交互に又は順次に投与される別個の剤として投与されても良い。本明細書に開示されている発明のある実施形態では、前記活性薬剤を単一剤に組合せて投与する。別の実施形態においては、前記活性薬剤を別々の剤で投与する（例えば、一方の量を変化させ、他方の量を変化させないことが望ましい）。前記単一剤は、疾患状態を治療するための活性薬剤を追加して含むことがある。

【0027】

具体的な実施形態において、 R^1 は、以下：

【化 20】

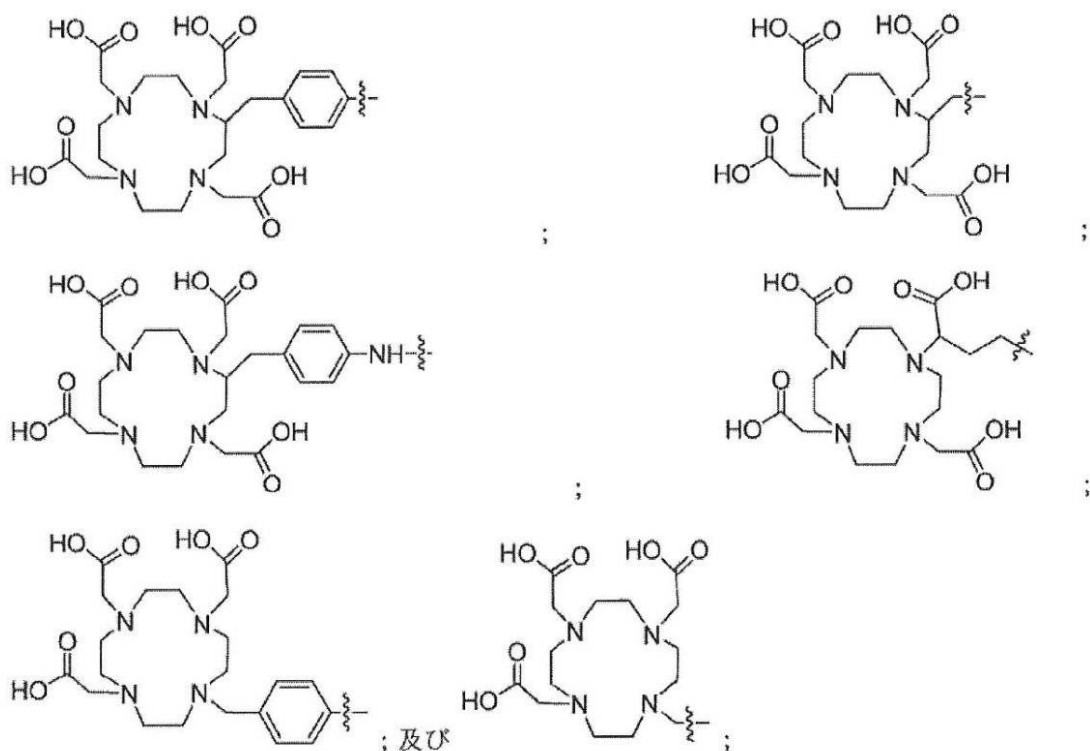


ここで、X は独立して Br 又は I である、
からなる群から選択される。

【0028】

更に具体的な実施形態において、前記キレート剤は、以下：

【化 2 1】



からなる群から選択される。

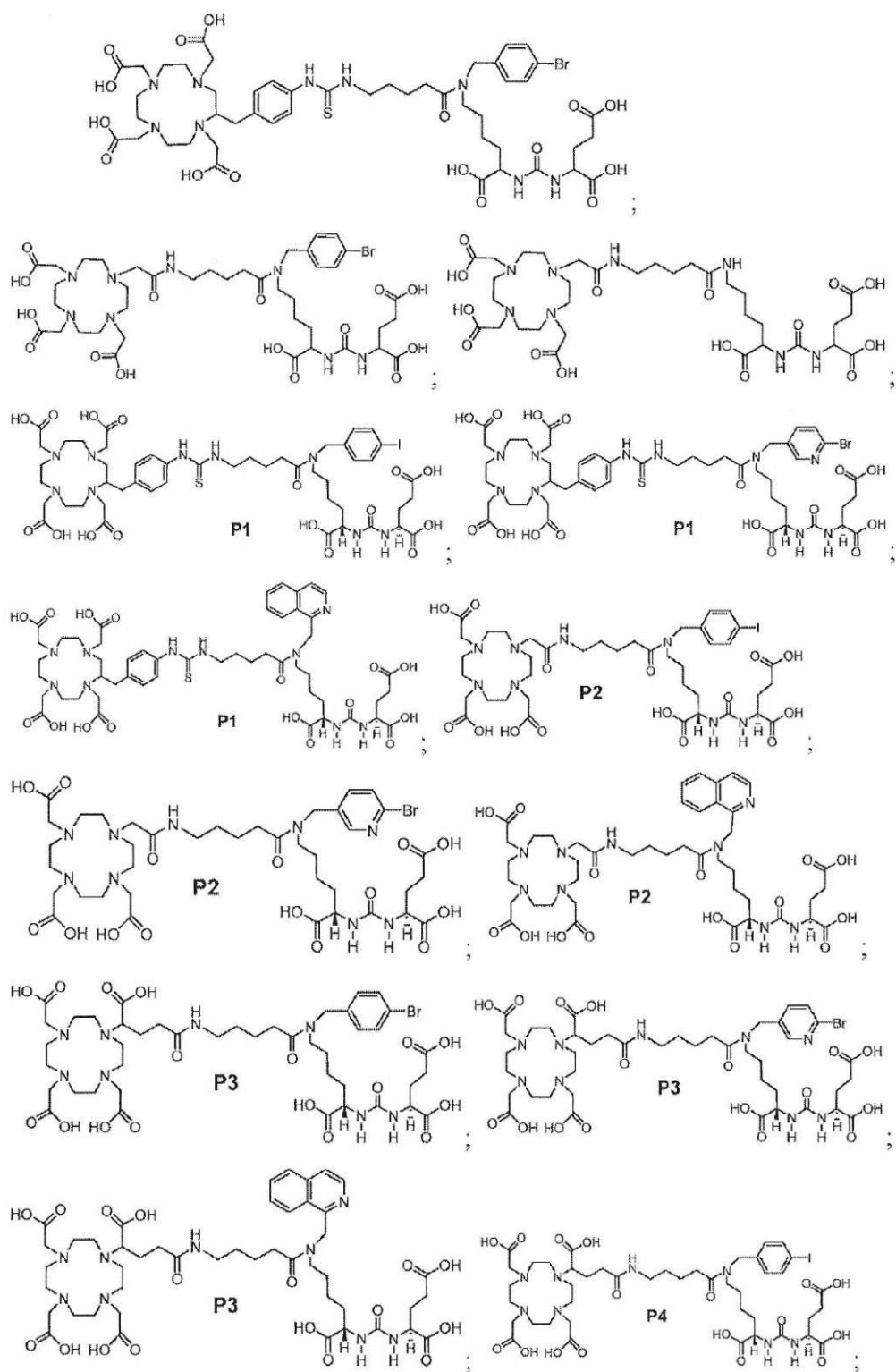
【0029】

更に具体的な実施形態において、放射線治療に適した前記放射性金属は、以下： ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{211}At , ^{111}In , ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{225}Ac , ^{213}Bi , ^{212}Bi , ^{212}Pb 及び ^{67}Ga からなる群から選択される。

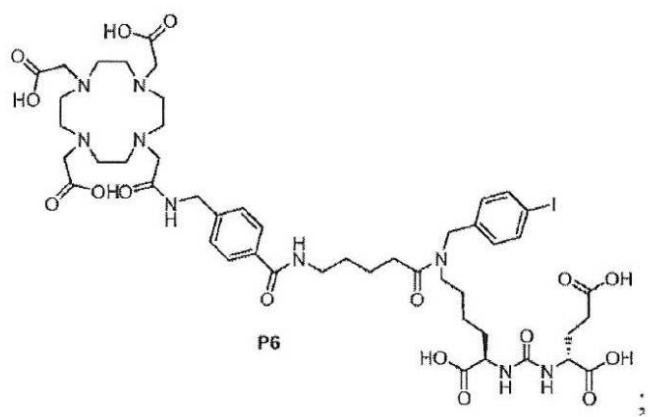
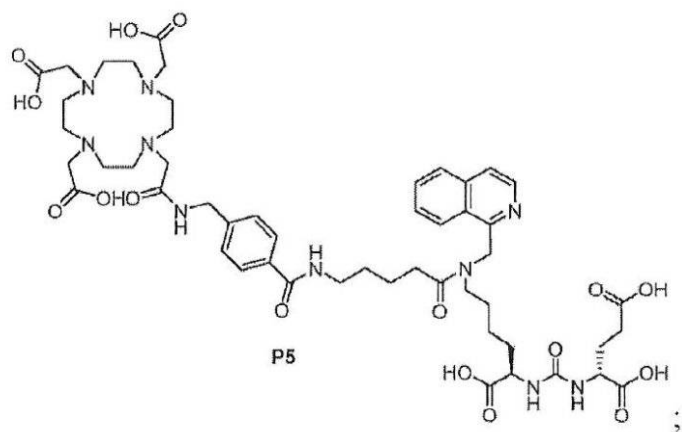
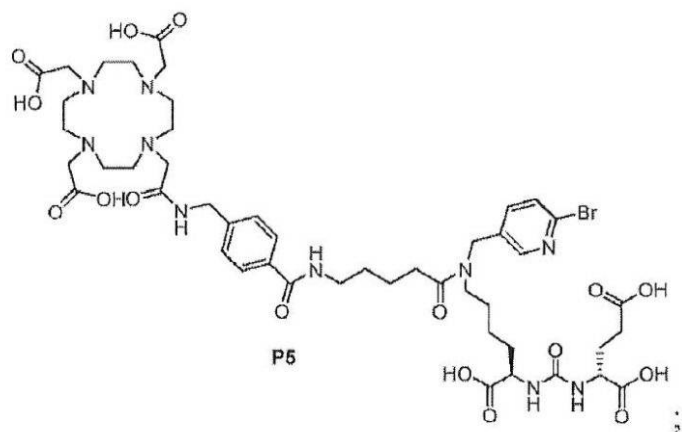
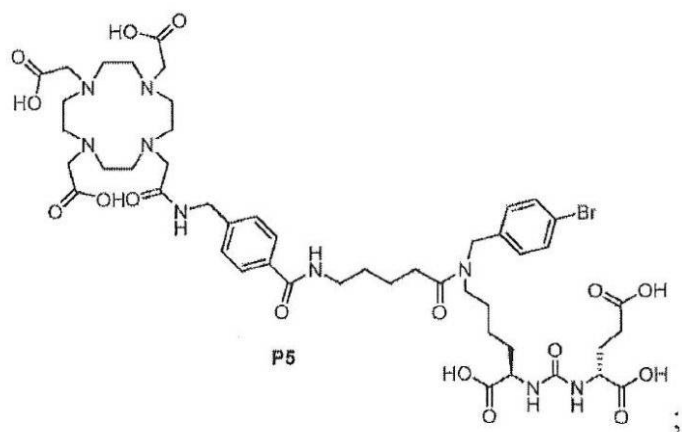
【0030】

更に具体的な実施形態では、前記式(1)の化合物は、以下：

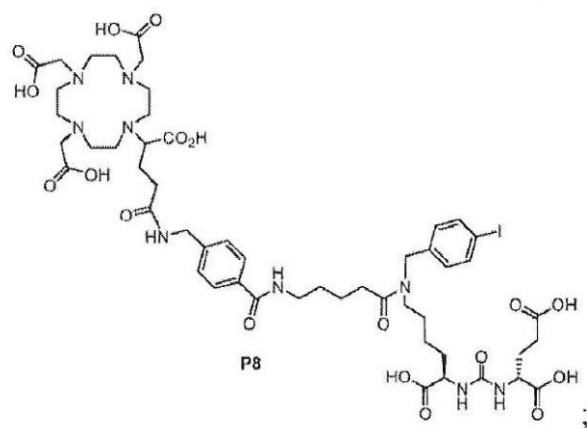
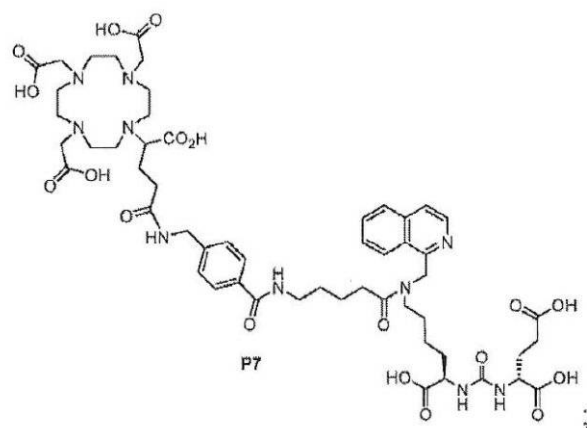
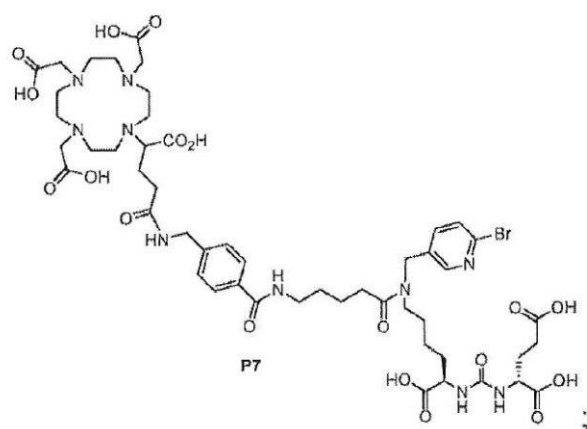
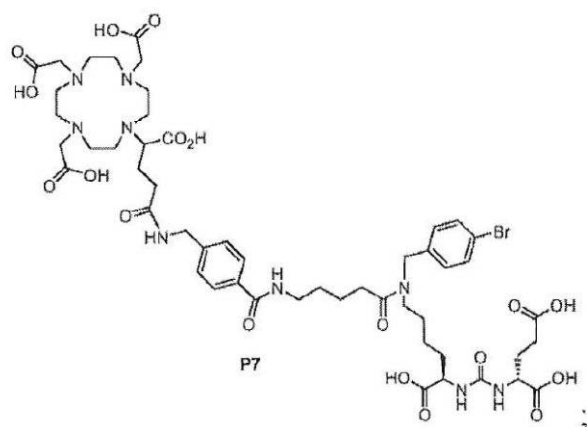
【化 2 2】



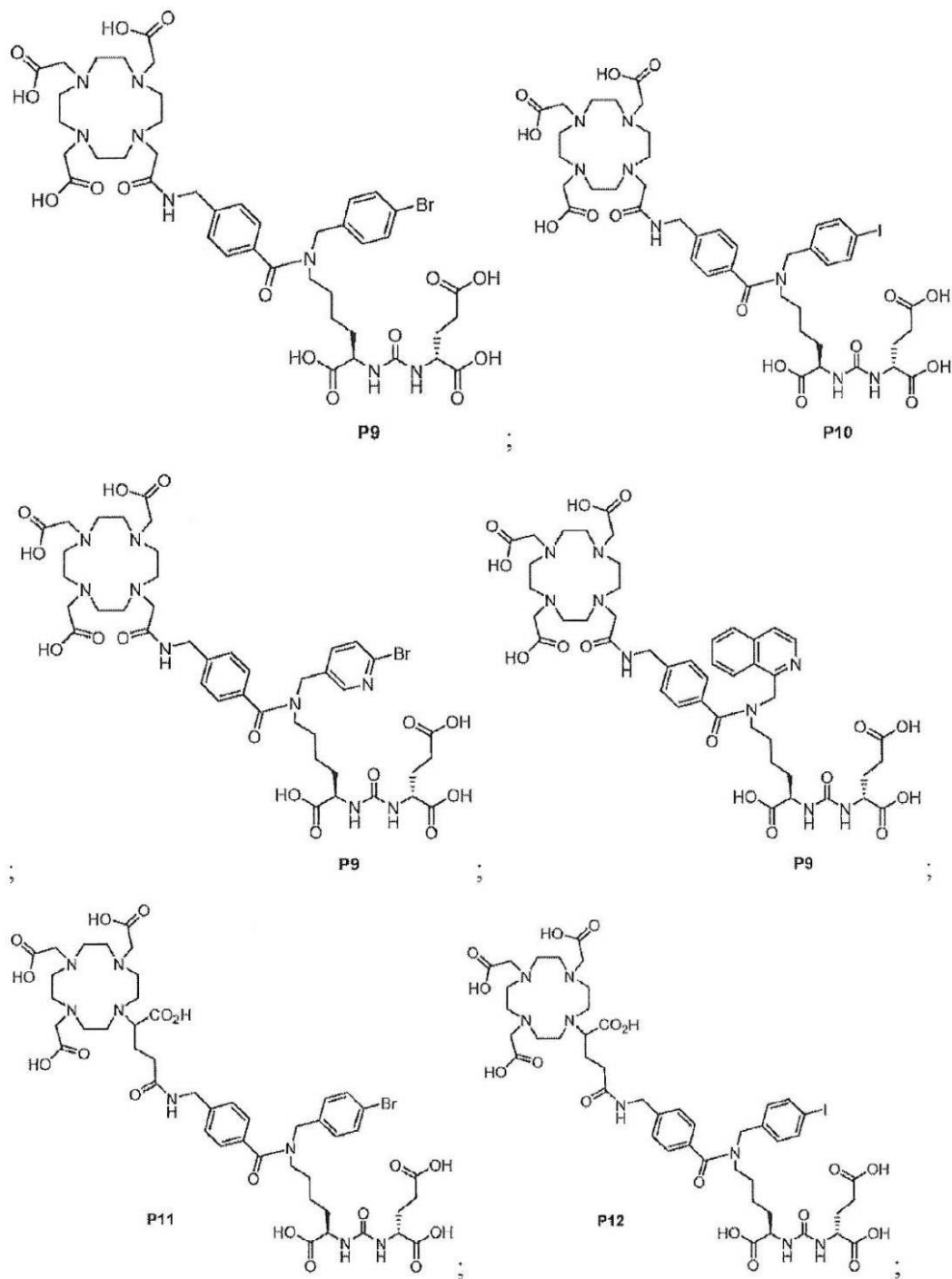
【化 2 3】



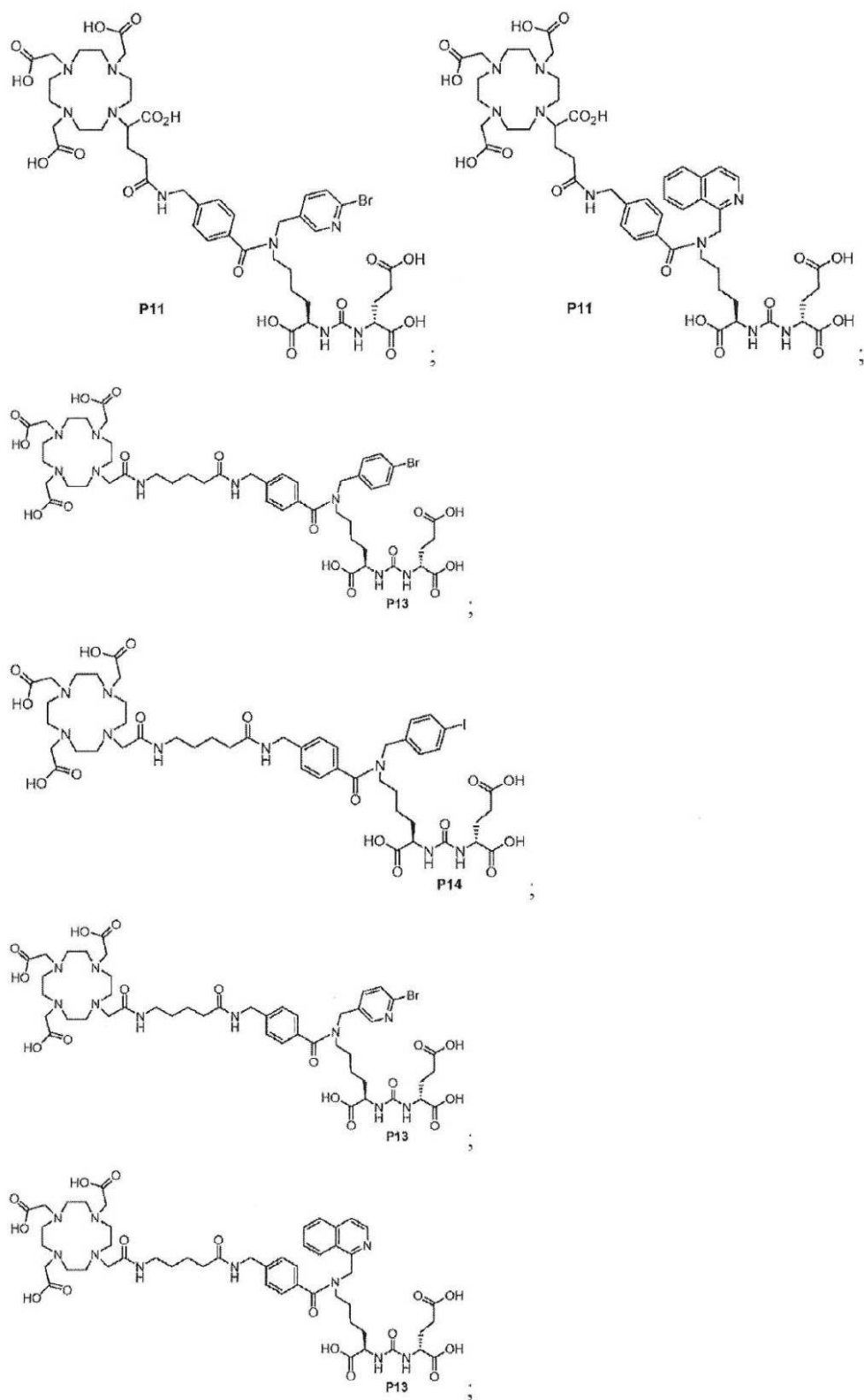
【化 2 4】



【化 2 5】

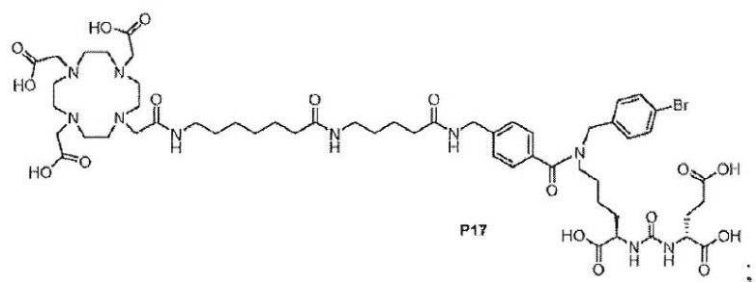
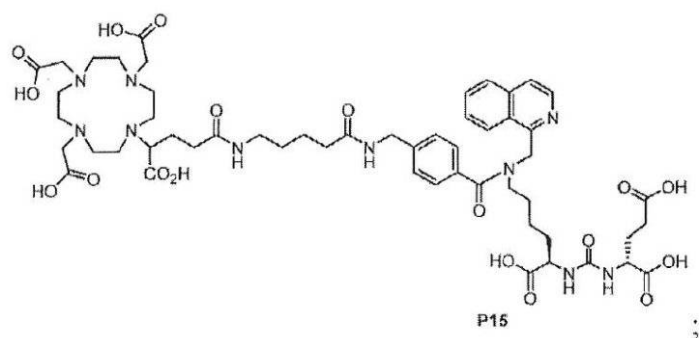
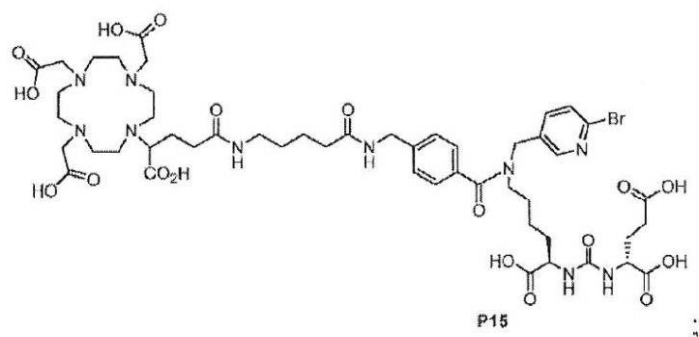
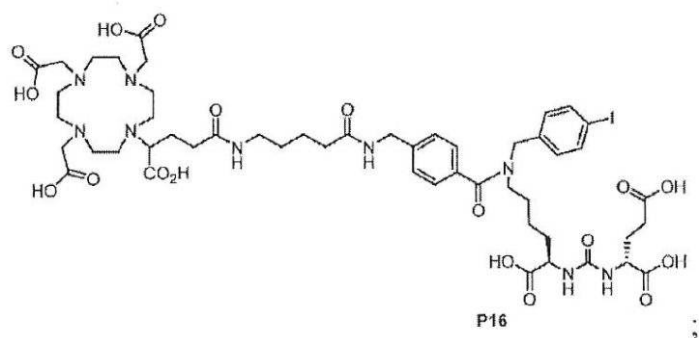
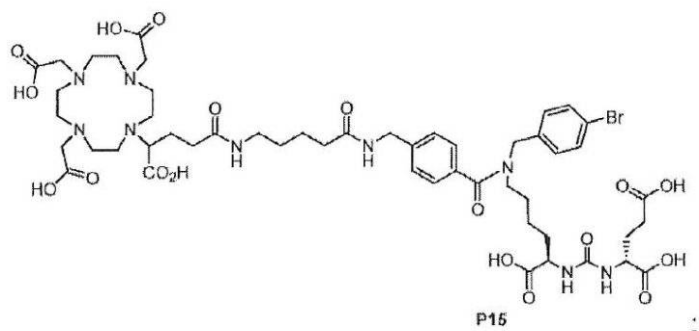


【化 2 6】

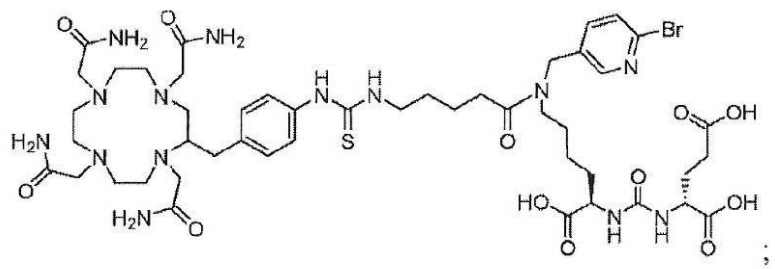
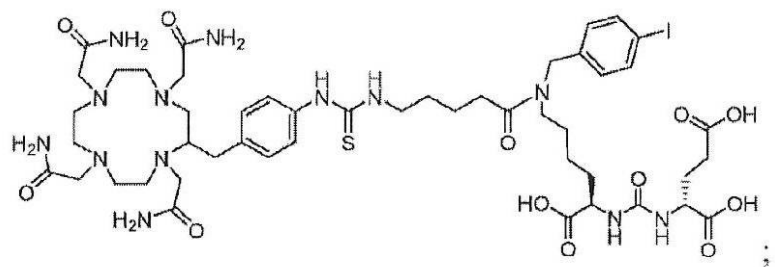
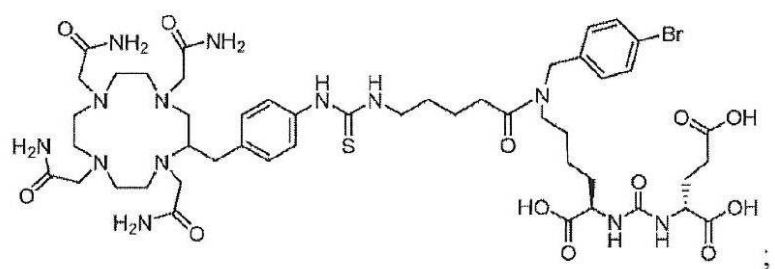
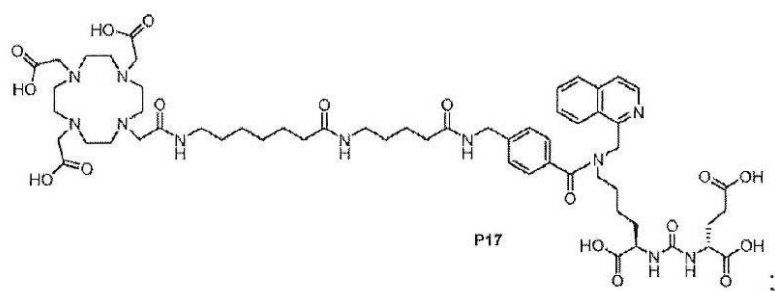
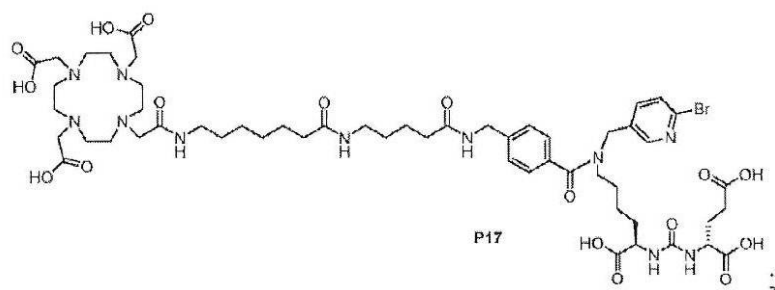
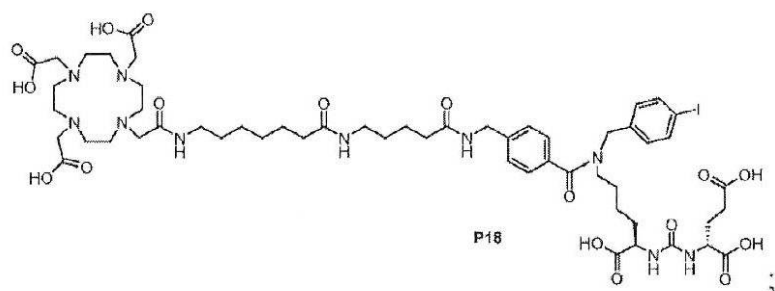


【化 2 7】

1



【化 2 8】

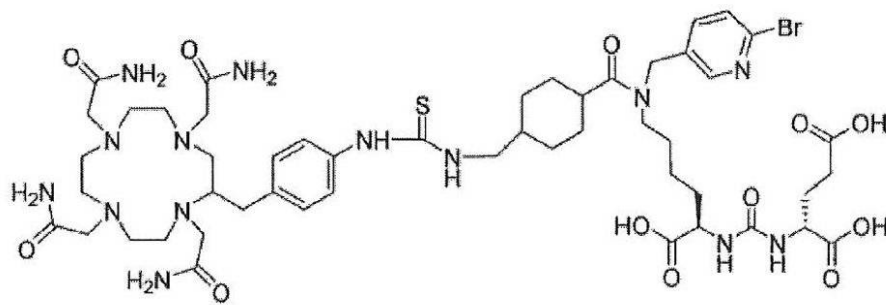


NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCCCC(=O)N(Cc3ccc4ncnc4c3)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCCCC(=O)N(Cc3ccc4ncnc4c3)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2
NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4ccc(Br)cc4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4ccc(Br)cc4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2
NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4ccc(I)cc4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4ccc(I)cc4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2
NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4cnc(Br)c4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4cnc(Br)c4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2
NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4c5cccnc5c4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCc3ccc(cc3)C(=O)N(Cc4c5cccnc5c4)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2
NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCCCC(=O)N(Cc3ccc(Br)cc3)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2>>NC(=O)C1CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)CN(C(=O)N)C1Cc2ccc(NC(=S)NCCCCC(=O)N(Cc3ccc(Br)cc3)CC[C@H](C(=O)O)C(=O)N[C@@H](C(=O)O)C(=O)O)cc2

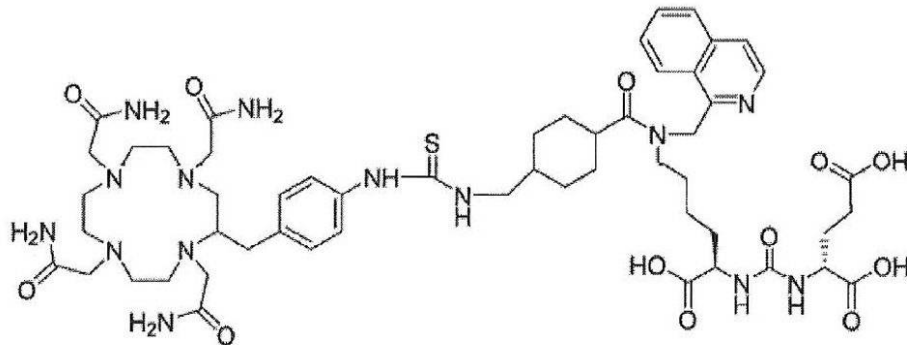
The image displays five chemical structures, labeled 1 through 5, which are macrocyclic compounds. Each structure features a central macrocyclic core with four nitrogen atoms and four amide groups. The side chains are as follows:

- Structure 1:** A 4-iodophenyl group attached to a 4-aminophenyl group, which is linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group, which is further linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group.
- Structure 2:** A 4-bromophenyl group attached to a 4-aminophenyl group, which is linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group, which is further linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group.
- Structure 3:** A 4-aminophenyl group attached to a 4-aminophenyl group, which is linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group, which is further linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group.
- Structure 4:** A 4-bromophenyl group attached to a 4-aminophenyl group, which is linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group, which is further linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group.
- Structure 5:** A 4-iodophenyl group attached to a 4-aminophenyl group, which is linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group, which is further linked via a 1,6-hexanedithiol chain to a 4-aminophenyl group.

【化 3 1】



；及び



；

からなる群から選択される。

【0031】

他の実施形態では、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞は、以下：前立腺腫瘍又は細胞、転移した前立腺腫瘍又は細胞、肺腫瘍又は細胞、腎腫瘍又は細胞、膠芽細胞腫、脾臓腫瘍又は細胞、膀胱腫瘍又は細胞、肉腫、メラノーマ、乳房腫瘍又は細胞、結腸腫瘍又は細胞、生殖細胞、褐色細胞腫、食道腫瘍又は細胞、胃腫瘍又は細胞、及びそれらの組合せ、からなる群から選択される。ある他の実施形態において、前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞は、前立腺腫瘍又は細胞である。

【0032】

他の実施形態では、前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞は、*in vitro*、*in vivo* 又は *ex vivo* にある。更に他の実施形態では、前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞は対象に存在する。

【0033】

本明細書に記載の方法は、用語「対象 (subject)」に含まれることが意図される全ての脊椎動物種に対して有効であると理解されるべきであるが、多くの実施形態において、本発明の方法によって治療を受ける対象は、望ましくはヒト対象である。従って、「対象 (subject)」は、既存の病気若しくは疾患を治療する、又は病気若しくは疾患の発症を予防するために予防的治療をするなどの医療目的のためのヒト対象、又は医療、獣医学目的、若しくは開発目的のための動物 (非ヒト) 対象、を含むことがある。適した動物対象としては、限定されないが、霊長類 (例えば、ヒト、サル、類人猿など)；ウシ亜科の動物 (bovines) (例えば、畜牛、雄ウシなど)；ヒツジ (ovines) (例えば、ヒツジ (sheep) など)；ヤギ (caprines) (例えば、ヤギ (goats) など)；ブタ (porcines) (例えば、ブタ (pigs)、イノシシ (hogs) など)；ウマ科 (equines) (例えば、ウマ (horses)、ロバ (donkeys)、シマウマ (zebras) など)；ネコ科 (felines) (野生及びペットのネコ (cats) を含む)；イヌ科 (canines) (イヌ (dogs) を含む)；ウサギ目 (lagomorphs) (ウサギ (rabbits)、野ウサギ (hares) などを含む)；げっ歯類 (rodents) (ネズミ (mice)、ラット (rats) などを含む)；などを含む哺乳動物が含まれる。動物は、トランスジェニック動物であっても良い。ある実施形態では、前記対象は、限定さ

れるものではないが、胎児、新生児、幼児、若年及び成年対象などを含むヒトである。更に、「対象 (subject)」は、病気又は疾患に罹患しているか、又は罹患している疑いがある患者を含むことがある。従って、用語「被験者 (subject)」及び「患者 (patient)」は、本明細書では交換可能に使用される。

【0034】

更にある他の実施形態では、前記方法は前記腫瘍の増殖の阻害をもたらす。

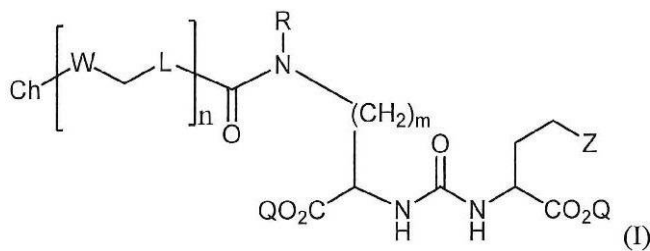
【0035】

C. 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞をイメージングするための式 (I) の化合物の使用法

【0036】

他の実施形態では、本発明の対象は、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を、有効量の式 (I) の化合物に接触させ、イメージングすることを含む方法であって、前記式 (I) の化合物が、以下：

【化32】



ここで、Z はテトラゾール又は CO_2Q であり；Q は H 又は保護基であり；m は 1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり；R は、独立して、H 又は $-\text{CH}_2-\text{R}^1$ であり； R^1 は置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンからなる群から選択され；L は、 C_1 - C_6 アルキレン及び C_3 - C_6 シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群から選択されるリンカーであり；W は $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 及び $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く； R^2 は H 又は C_1 - C_4 アルキルであり；n は 1, 2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；Ch はイメージングに適した放射性金属を含むキレート剤であり；並びにその薬学的に許容される塩、を含む、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞をイメージングする為の方法を提供する。

【0037】

D. キット

【0038】

更に他の実施形態では、本発明の対象は、式 (I) の化合物を含むキットを提供する。

【0039】

ある実施形態において、前記キットは、薬学的に許容される担体及び本発明の化合物を含むパッケージ化した医薬組成物を提供する。ある実施形態では、前記パッケージ化した医薬組成物は、放射性標識した前駆体と組合せた本発明の化合物を生成するのに必要な反応前駆体を含む。本発明により提供される他のパッケージされた医薬組成物は、以下の内の少なくとも 1 つを含む説明書を更に含む：供給された前駆体から本発明に係る化合物を調製するための説明書、PSMA を発現する細胞又は組織をイメージングするための前記組成物の使用説明書、ストレス関連障害に罹患している患者におけるグルタミン酸作動性神経伝達をイメージングするための前記化合物の使用説明書、又は前立腺がんをイメージングするための前記組成物の使用説明書。

【0040】

E. 医薬品組成物及び投与

【0041】

別の態様では、本発明は、式(1)の化合物を単独で、又は薬学的に許容される賦形剤と混合した1種以上の更なる治療薬剤と組合せて含む医薬組成物を提供する。当業者のある者は、前記医薬組成物が上記の化合物の薬学的に許容される塩を含むことを認識するであろう。薬学的に許容される塩は、広く当業者に周知であり、本明細書に記載の化合物に見られる特定の置換基部分に応じて、比較的無毒性の酸又は塩基で調製される活性化合物の塩を含む。本発明の化合物が比較的酸性の官能基を含む場合、塩基付加塩は、このような化合物の中性形態を、そのまま若しくは適切な不活性溶媒中で、十分な量の所望の塩基に接触させることによって、又はイオン交換をすること(イオン性の錯体中の塩基性対イオン(塩基)を別のものに置換する)によって、得ることができる。薬学的に許容される塩基付加塩の例には、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、又はマグネシウム塩、又は同様の塩が含まれる。

【0042】

本発明の化合物が比較的塩基性の官能基を含む場合、酸付加塩は、このような化合物の中性形態を、そのまま若しくは適切な不活性溶媒中で、十分な量の所望の酸と接触させる、又はイオン交換をすること(イオン性の錯体中の酸性対イオン(酸)を別のものに置換する)によって、得ることができる。薬学的に許容される酸付加塩の例としては、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸一水素(monohydrogencarbonic)酸、リン酸、リン酸一水素(monohydrogenphosphoric)酸、リン酸二水素(dihydrogenphosphoric)酸、硫酸、硫酸一水素(monohydrogensulfuric)酸、ヨウ化水素酸、又は亜リン酸など無機酸に由来する塩、並びに酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸などの比較的無毒性の有機酸に由来する塩、が含まれる。また、アルギン酸塩などのアミノ酸の塩、及びグルクロン酸又はガラクトン酸などの有機酸の塩も含まれる(例えば、Bergeら、"Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19)。本発明のある具体的な化合物は、前記化合物が塩基付加塩又は酸付加塩のいずれかに変換されることを可能にする塩基性官能基及び酸性官能基の両方を含む。

【0043】

従って、本発明の対象と一緒に使用するのに適した薬学的に許容される塩には、非限定的な例として、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、酒石酸水素塩、臭化物塩、エドト酸カルシウム、カルンシレート(carnsylate)、炭酸塩、クエン酸塩、エドト酸塩、エジシル酸塩、エストレート、エシレート、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニレート(glycollylarsanilate)、ヘキシルレゾルシン酸塩、ヒドラバミン、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、ヨウ化物塩、イセチオン酸塩、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、ムチン酸塩、ナブシル酸塩、硝酸塩、パモ酸塩(エンボン酸塩)、パントテン酸塩、リン酸塩/ニリン酸塩、ポリガラクトン酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、又はデオクル酸塩が含まれる。他の薬学的に許容される塩は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), Lippincott, Williams & Wilkins (2000)に記載されている。

【0044】

治療的及び/又は診断的応用において、本発明の化合物を、全身投与、局所(topical)又は限局した(localized)投与を含む、様々な投与様式用に製剤化することができる。技術及び製剤は、一般に、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), Lippincott, Williams & Wilkins (2000)に記載されている。

【0045】

治療を受ける具体的な病気に依存して、このような薬剤を、液体又は固体剤形に製剤化し、全身又は局所投与することができる。前記薬剤を、例えば、当業者に知られているように、徐放又は持続徐放形態でデリバリすることができる。製剤及び投与のための技術は

、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), Lippincott, Williams & Wilkins (2000) に記載されている。適切な経路には、経口、口腔、吸入スプレー、舌下、直腸、経皮、経膈、経粘膜、経鼻若しくは腸内投与；筋肉内、皮下、髄内注射、並びに髄腔内、直接脳室内、静脈内、関節内、胸骨内、滑液嚢内 (intra-synovial)、肝臓内、病巣内、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内、若しくは眼内注射などを含む非経口デリバリ又は他のデリバリ様式が含まれることがある。

【0046】

注射のために、本発明の薬剤を、ハンクス溶液、リンゲル溶液又は生理食塩水バッファーのような生理学的に適合性のあるバッファー中などの水溶液中で製剤化及び希釈化することができる。このような経粘膜投与のためには、浸透すべき障壁に適した浸透剤が製剤化に使用される。そのような浸透剤は、当該分野において一般的に知られている。

【0047】

本発明を実施するために、本明細書に開示された化合物を全身投与に適した剤に製剤化するための薬学的に許容される不活性担体の使用は、本発明の範囲内である。担体及び製造行為を適切に選択して、本発明の組成物、特に溶液として製剤化した組成物を、静脈内注射など非経口的に投与することができる。前記化合物を、当技術分野で周知の薬学的に許容される担体を用いて、経口投与に適した剤に容易に製剤化することができる。そのような担体によって、本発明の化合物を、治療を受ける対象（例えば、患者）が経口摂取するためのタブレット、ピル、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして製剤化することが可能になる。

【0048】

鼻又は吸入デリバリのために、本発明の薬剤をまた、当業者に公知の方法によって製剤化することもでき、そして例えば、限定されるものではないが、生理食塩水のような可溶化剤、希釈化剤又は分散化剤の例；ベンジルアルコールのような防腐剤；吸収促進剤；及びフルオロカーボン；を含むことがある。

【0049】

本発明における使用に適した医薬組成物には、有効成分がその意図された目的を達成するのに有効な量で含まれる組成物が含まれる。前記有効量を決定することは、特に本明細書で提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。一般に、本発明に係る化合物は、広い用量範囲にわたって有効である。例えば、成人の治療において、1日あたり 0.01 から 1000 mg、0.5 から 100 mg、1 から 50 mg、及び 1日あたり 5 から 40 mgの用量が、使用され得る用量の例である。非限定的な用量は、1日あたり 10 から 30 mgである。正確な用量は、投与経路、前記化合物が投与される形態、治療を受ける対象、治療を受ける対象の体重、前記化合物のバイオアベイラビリティ (bioavailability)、前記化合物の吸収、分布、代謝及び排泄 (ADME)、毒性並びに主治医の好み及び経験に依存する。

【0050】

前記活性成分に加えて、これらの医薬組成物は、薬学的に使用することができる製剤に前記活性化合物を加工することを容易にする賦形剤及び助剤を含む、適切な薬学的に許容される担体を含むことがある。経口投与用に製剤化された製剤は、タブレット、糖衣錠、カプセル又は溶液の形態をとることがある。

【0051】

必要に応じて、タブレット又は糖衣錠のコアを得るために、適切な助剤を加えた後、前記活性化合物を固体賦形剤と混合し、得られる混合物を任意選択的に粉碎し、その顆粒混合物を加工することにより、経口使用のための医薬製剤を得ることができる。適切な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトール、又はソルビトールなどを含む糖などの充填剤；例えば、とうもろこしデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ポテト・デンプン、ゼラチン、トラガカント・ゴム、メチル・セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース・ナトリウム (CMC)、及び/又はポリビニルピロリドン (PVP: ポビドン) のようなセルロース調製物である。必要に応じて、架

橋ポリビニルピロリドン、寒天、又はアルギン酸若しくはその塩（例えばアルギン酸ナトリウム）などの崩壊剤を添加しても良い。

【0052】

糖衣錠コアには適切なコーティングが施される。この目的のために、アラビア・ゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボボール・ゲル、ポリエチレン・グリコール（PEG）、及び／又は二酸化チタン、ラッカー溶液、並びに適切な有機溶媒若しくは溶媒混合物を任意選択的に含む濃縮糖溶液を使用することができる。色素材料（dye-stuffs）又は色素（pigments）を、活性化化合物の用量の異なる組合せがわかるように又は特性評価するために、タブレット又は糖衣錠コーティングに添加しても良い。

【0053】

経口的に使用することができる医薬製剤には、ゼラチン製のプッシュ フィット・カプセル、ゼラチン製のソフト密封カプセル、及びグリセロール又はソルビトールなどの可塑剤が含まれる。プッシュ フィット・カプセルは、前記活性成分を、ラクトースなどの充填剤、デンプンなどの結合剤、及び／又はタルク若しくはステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤、並びに任意選択的に安定剤との混合剤として含むことがある。ソフト・カプセルでは、前記活性化化合物を、脂肪油、流動パラフィン、又は液体ポリエチレン・グリコール（PEG）のような適切な液体に溶解又は懸濁させることができる。更には、安定剤を添加しても良い。

【0054】

II. 一般的な定義

【0055】

本明細書では具体的な用語を使用しているが、それらは一般的かつ説明的な意味でのみ使用し、限定するために使用するものではない。他に定義しない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本発明の対象が属する技術分野の当業者のある者によって共通に理解されるのと同じ意味を有する。

【0056】

式（I）の化合物に関連する以下の用語は、当業者のある者によって十分に理解されると考えられるが、本発明の対象についての説明を容易にするために、以下の定義を記載する。これらの定義は、本発明を検討する際に当業者のある者にとっては明白であろう定義を補足し説明することを意図するものであって、排除するものではない。

【0057】

本明細書中で使用される場合、置換されている（substituted）、及び置換（substituent）という用語は、用語「任意選択的に（optionally）」が先に記載されているかどうかに関わらず、当業者に理解されるように、全ての原子の原子価が維持されるという条件の下で、分子上のある官能基を別の官能基に変えることができることを意味する。任意の所与の構造における 1 つより多い位置が、特定の基から選択される 1 つより多くの置換基で置換され得る場合、前記置換基は、全ての位置で同じであっても異なっても良い。前記置換基は、更に置換されていても良い（例えば、アリール基の置換基は、1 つ以上の位置で更に置換された、別のアリール基のような別の置換基に代わっていても良い）。

【0058】

置換基又は連結基が、左から右に書かれたそれらの従来の化学式によって特定される場合、それらは、前記構造を右から左に書くことによって生じるであろう化学的に同一の置換基を等しく包含する（例えば、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ は $-\text{OCH}_2-$ と等価である； $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ は $-\text{OC}(=\text{O})-$ と等価である； $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ は $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ と等価であるなど）。

【0059】

用語「独立して選択される（independently selected）」が使用される場合、言及される置換（例えば、基 R_1 、 R_2 などの R 基、又は「m」及び「n」などの変数）は同一又は異なることがある。例えば、 R_1 及び R_2 の両方が置換アルキルであることがあり、又は R_1 が水素で、 R_2 が置換アルキルというようなこともある。

【0060】

用語「a」、「an」又は「a(n)」は、本明細書中の置換基の群に関して使用される場合、少なくとも1つを意味する。例えば、化合物が「an」のアルキル又はアリールで置換されている場合、前記化合物は、任意選択的に、少なくとも1つのアルキル及び/又は少なくとも1つのアリールで置換されている。更に、部分がR置換基で置換されている場合、その基を「R-置換(R-substituted)」と称することがある。部分がR-置換されている場合、前記部分は少なくとも1つのR置換基で置換され、各R置換基は任意選択的に異なる。

【0061】

名前の付いた「R」又は基は、一般に、本明細書中で特に明記しない限り、その名称を有する基に対応するものとして当該技術分野において認識される構造を有する。説明の目的のために、上記のある代表的な「R」基を以下に定義する。

【0062】

本発明の化合物の記載は、当業者に知られている化学結合の原理によって限定される。従って、1つの基が1つ以上の置換基で置換されていても良い場合、そのような置換基は化学結合の原理に従うように選択され、本質的に不安定ではない、及び/又は水性、中性及びいくつかの既知の生理学的条件のような周囲環境の条件下では不安定である可能性があるものとして、当業者のある者であれば認識している。例えば、ヘテロシクロアルキル又はヘテロアリールは、当業者に知られている化学結合の原理に従って、環ヘテロ原子を介して分子の残りに結合し、それによって本質的に不安定な化合物を回避する。

【0063】

他に明示的に定義しない限り、本明細書で使用される「置換基(substituent group)」は、本明細書で定義される以下の部分の1つ以上から選択される官能基を含む：

【0064】

用語炭化水素(hydrocarbon)は、本明細書で使用される場合、水素及び炭素を含む任意の化学基を指す。前記炭化水素は置換されていても置換されていなくても良い。当業者であれば知っているように、全ての原子価は、いかなる置換を行う際にも満たされなければならない。前記炭化水素は、不飽和、飽和、分枝、非分枝、環式、多環式又は複素環式であっても良い。例示的な炭化水素は、本明細書において以下に更に定義され、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、アリル、ビニル、n-ブチル、tert-ブチル、エチニル、シクロヘキシルなどを含む。

【0065】

用語「アルキル(alkyl)」は、単独で又は別の置換基の一部として、特に明記しない限り、直鎖(すなわち、「非分枝」)、分枝鎖、非環式若しくは環式の炭化水素基、又はそれらの組合せを意味し、それらは完全に飽和した、一不飽和又は多不飽和のことがあり、二価及び多価の基を含むことがあり、指定した数の炭素原子数を有する(即ち、 C_1 - C_{10} は1から10個の炭素を意味し、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9及び10個の炭素を含む)。具体的な実施形態では、用語「アルキル(alkyl)」は、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19及び20個の炭素を含むという C_{1-20} 包括的な、線状(すなわち、「直鎖(straight-chain)」)、分枝、若しくは環式、飽和又は1から20個の炭素原子を含有する炭化水素部分から、1個の水素原子を除去することにより誘導される少なくとも部分的に、場合によっては完全に不飽和の(即ち、アルケニル及びアルキニル)炭化水素ラジカル、を意味する。

【0066】

限定されるものではないが、代表的な飽和炭化水素基には、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、sec-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、n-ヘキシル、sec-ヘキシル、n-ヘプチル、n-オクチル、n-デシル、n-ウンデシル、ドデシル、シクロヘキシル、(シクロヘキシル)メチル、シクロプロピルメチル、及びそれらの同族体及び異性体が含まれる。

【0067】

「分枝(Branched)」は、メチル、エチル又はプロピルなどの低級アルキル基が線状ア

ルキル鎖に結合しているアルキル基を指す。「低級アルキル (Lower alkyl)」は、1 から約 8 個の炭素原子、例えば、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 又は 8 個の炭素原子を有するアルキル基 (すなわち、 C_{1-8} アルキル) を指す。「高級アルキル (Higher alkyl)」は、約 10 から約 20 個の炭素原子、例えば、10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 又は 20 個の炭素原子を有するアルキル基を指す。ある実施形態において、「アルキル (alkyl)」は、特に、 C_{1-8} 直鎖アルキルを指す。他の実施形態では、「アルキル (alkyl)」は、特に、 C_{1-8} 分岐鎖アルキルを指す。

【0068】

アルキル基は、任意選択的に 1 つ以上のアルキル基置換基で置換されていても良く (「置換アルキル (substituted alkyl)」)、置換基は同じであっても異なっても良い。用語「アルキル基置換基 (alkyl group substituent)」は、制限されるものではないが、アルキル、置換アルキル、ハロ、アリアルアミノ、アシル、ヒドロキシル、アリアルオキシル、アルコキシル、アルキルチオ、アリアルチオ、アラルキルオキシル (aralkyloxy)、アラルキルチオ、カルボキシル、アルコキシカルボニル、オキシ及びシクロアルキルを含む。任意選択的に、アルキル鎖に沿って 1 個以上の酸素、硫黄又は置換若しくは非置換の窒素原子が挿入されても良く、ここで、その窒素の置換基は水素、低級アルキル (本明細書では「アルキルアミノアルキル (alkylaminoalkyl)」とも呼ばれる) 又はアリアルである。

【0069】

従って、本明細書で使用される場合、用語「置換アルキル (substituted alkyl)」は、アルキル基の 1 つ以上の原子又は官能基が別の原子又は官能基 (例えば、アルキル、置換アルキル、ハロゲン、アリアル、置換アリアル、アルコキシル、ヒドロキシル、ニトロ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、硫酸、及びメルカプトなどを含む) で置換された、本明細書で定義されるアルキル基を含む。

【0070】

用語「ヘテロアルキル (heteroalkyl)」は、単独で又は別の用語と組合せて、特に明記しない限り、安定な直鎖若しくは分枝鎖若しくは環状炭化水素基又はこれらの組合せであって、少なくとも 1 個の炭素原子及び O, N, P, Si 及び S からなる群から選択される少なくとも 1 個のヘテロ原子からなり、ここで、前記窒素原子、リン原子及び硫黄原子は任意選択的に酸化されていても良く、前記窒素ヘテロ原子は任意選択的に四級化されていても良い。前記ヘテロ原子 O, N, P, S 及び Si は、ヘテロアルキル基の任意の内部位置に、又はアルキル基が分子の残りに結合している位置に配置されることがある。限定されるものではないが、例としては、 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-S-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$, $-CH=CH-O-CH_3$, $-Si(CH_3)_3$, $-CH_2-CH=N-OCH_3$, $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$, $O-CH_3$, $-O-CH_2-CH_3$ 及び $-CN$ が含まれる。例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ 及び $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ のように、2 個又は 3 個までのヘテロ原子が連続していても良い。

【0071】

上述のように、本明細書で使用される場合、ヘテロアルキル基は、 $-C(O)NR'$, $-NR'R$, $-OR'$, $-SR$, $-S(O)R$ 及び / 又は $-S(O_2)R'$ のようなヘテロ原子を介して前記分子の残りに結合した基を含む。「ヘテロアルキル (heteroalkyl)」が記載され、続いて $-NR'R$ などのような特定のヘテロアルキル基が列記される場合、用語ヘテロアルキル (heteroalkyl) 及び $-NR'R$ は重複又は相互排他的ではないことが理解される。むしろ、明瞭にするために、その具体的なヘテロアルキル基が列記される。従って、用語「ヘテロアルキル (heteroalkyl)」は、 $-NR'R$ などのような特定のヘテロアルキル基を排除するものとして本明細書中で解釈されるべきではない。

【0072】

「環式 (Cyclic)」及び「シクロアルキル (cycloalkyl)」は、約 3 から約 10 個の炭素原子 (例えば 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 又は 10 個の炭素原子) の非芳香族単環式又は多環式環系を意味する。前記シクロアルキル基は、任意選択的に部分的に不飽和であっても

良い。前記シクロアルキル基はまた、任意選択的に、本明細書で定義されるアルキル基置換基、オキソ及び／又はアルキレンで置換されていても良い。環式アルキル鎖に沿って 1 個以上の酸素、硫黄又は置換された若しくは非置換の窒素原子が挿入されても良く、ここで、その窒素の置換基は水素、非置換アルキル、置換アルキル、アリール又は置換アリールであり、このようにして複素環基が提供される。代表的な単環式シクロアルキル環には、シクロペンチル、シクロヘキシル及びシクロヘプチルが含まれる。多環式シクロアルキル環には、アダマンチル、オクタヒドロナフチル、デカリン、カンファー、カンファン及びノルアダマンチル、並びに、例えばジヒドロ 及びテトラヒドロナフタレンなど縮合環系、が含まれる。

【0073】

本明細書で使用する用語「シクロアルキルアルキル (cycloalkylalkyl)」は、上記定義したシクロアルキル基を指し、やはり上記定義したアルキル基を介して親分子部分に結合している。シクロアルキルアルキル基の例としては、シクロプロピルメチル及びシクロペンチルエチルが含まれる。

【0074】

用語「シクロヘテロアルキル (cycloheteroalkyl)」又は「ヘテロシクロアルキル (heterocycloalkyl)」は、非芳香族環系、不飽和又は部分不飽和環系を言う。例えば、3 から 10 員の置換又は非置換シクロアルキル環系で、1 つ以上のヘテロ原子を含み、ヘテロ原子は同じでも異なっても良く、ヘテロ原子は窒素 (N)、酸素 (O)、硫黄 (S)、リン (P) 及びケイ素 (Si) からなる群から選択され、任意選択的に 1 つ以上の二重結合を含むことある。

【0075】

シクロヘテロアルキル環は、任意選択的に、他のシクロヘテロアルキル環及び／又は非芳香族炭化水素環に縮合していても良いし、結合していても良い。複素環は、酸素、硫黄及び窒素から独立して選択される 1 から 3 個のヘテロ原子を有する複素環を含み、酸素、硫黄及び窒素の中で、前記窒素及び硫黄ヘテロ原子は任意選択的に酸化されても良く、前記窒素ヘテロ原子は任意選択的に四級化されても良い。ある実施形態では、用語複素環 (heterocyclic) は、非芳香族 5, 6 若しくは 7 員環、又は少なくとも 1 つの環原子が O, S 及び N から選択されるヘテロ原子 (ここで、前記窒素及び硫黄ヘテロ原子は任意選択的に酸化されていても良い) である多環式基を指し、限定されるものではないが、二環式基又は三環式基を含み、酸素、硫黄及び窒素から独立して選択される 1 つから 3 つのヘテロ原子を有する縮合 6 員環を含み、ここで、(i) 各 5 員環は 0 から 2 個の二重結合を有し、各 6 員環は 0 から 2 個の二重結合を有し、並びに各 7 員環は 0 から 3 個の二重結合を有し、(ii) 前記窒素及び硫黄ヘテロ原子は、任意選択的に酸化されていても良く、(iii) 前記窒素ヘテロ原子は、任意選択的に四級化されていても良く、及び (iv) 上記複素環のいずれかがアリール環又はヘテロアリール環に縮合していても良い。限定されるものではないが、代表的なシクロヘテロアルキル環系には、ピロリジニル、ピロリニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペリジニル、ピペラジニル、インドリニル、キヌクリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、チアジアジナニル (thiadiazinanyl)、テトラヒドロフラニルなどが含まれる。

【0076】

用語「シクロアルキル (cycloalkyl)」及び「ヘテロシクロアルキル (heterocycloalkyl)」は、単独で又は他の用語との組合せで、特に明記しない限り、それぞれ「アルキル (alkyl)」及び「ヘテロアルキル (heteroalkyl)」の環式バージョンを表す。更に、ヘテロシクロアルキルの場合、ヘテロ原子が、前記複素環が前記分子の残りに結合している位置を占めることがある。限定されるものではないが、シクロアルキルの例としては、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが含まれる。限定されるものではないが、ヘテロシクロアルキルの例としては、1-(1,2,5,6- テトラヒドロピリジニル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラ

ン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどが含まれる。用語「シクロアルキレン (cycloalkylene)」及び「ヘテロシクロアルキレン (heterocycloalkylene)」は、それぞれシクロアルキル及びヘテロシクロアルキルの二価誘導体を指す。

【0077】

不飽和アルキル基は、1 つ以上の二重結合又は三重結合を有するアルキル基である。限定されるものではないが、不飽和アルキル基の例には、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-(ブタジエニル)、2,4-ペンタジエニル、3-(1,4-ペンタジエニル)、エチニル、1-及び3-プロピニル、3-ブチニル、及び高級同族体及び異性体が含まれる。炭化水素基に限定されるアルキル基は、「ホモアルキル (homoalkyl)」と呼ばれる。

【0078】

より具体的には、本明細書で使用される用語「アルケニル (alkenyl)」は、単一の水素分子の除去による少なくとも 1 つの炭素-炭素二重結合を有する直鎖又は分枝炭化水素部分を包括する、 C_{1-20} に由来する、一価の基を指す。アルケニル基としては、例えば、エテニル (すなわち、ビニル)、プロペニル、ブテニル、1-メチル-2-ブテン-1-イル、ペンテニル、ヘキセニル、オクテニル、アレニル及びブタジエニルが含まれる。

【0079】

本明細書で使用される用語「シクロアルケニル (cycloalkenyl)」は、少なくとも 1 つの炭素-炭素二重結合を含む環状炭化水素を指す。シクロアルケニル基の例には、シクロプロペニル、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロペンタジエン、シクロヘキセニル、1,3-シクロヘキサジエン、シクロヘブテニル、シクロヘプタトリエニル及びシクロオクテニルが含まれる。

【0080】

本明細書で使用される用語「アルキニル (alkynyl)」は、少なくとも 1 つの炭素-炭素三重結合を含む、意図した数の炭素原子の直鎖又は分枝鎖の C_{1-20} 炭化水素から誘導される一価の基を指す。「アルキニル (alkynyl)」の例としては、エチニル、2-プロピニル (プロパルギル)、1-プロピニル、ペンチニル、ヘキシニル、及びヘプチニル基などが含まれる。

【0081】

用語「アルキレン (alkylene)」は、単独で又は別の置換基の一部は、1 から約 20 個の炭素原子 (例えば、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 又は 20 個の炭素原子) を有するアルキル基から誘導される直鎖又は分枝鎖の二価の脂肪族炭化水素基を指す。前記アルキレン基は、直鎖、分枝鎖又は環式であることがある。前記アルキレン基はまた、任意選択的に不飽和及び/又は 1 個以上の「アルキル基置換基 (alkyl group substituents)」で置換されていても良い。1 つ以上の酸素、硫黄又は置換若しくは非置換の窒素原子 (本明細書中では「アルキルアミノアルキル (alkylaminoalkyl)」とも呼ばれる) をアルキレン基に沿って任意選択的に挿入することができ、ここで、その窒素の置換基は先に記載したようにアルキルである。例示的なアルキレン基には、メチレン (-CH₂-) ; エチレン (-CH₂-CH₂-) ; プロピレン (- (CH₂)₃-) ; シクロヘキシレン (-C₆H₁₀-) ; -CH=CH-CH=CH- ; -CH=CH-CH₂- ; -CH₂CH₂CH₂CH₂- , -CH₂CH=CHCH₂- , -CH₂CsCCH₂- , -CH₂CH₂CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂- , -(CH₂)_q-N(R)-(CH₂)_r- が含まれ、ここで、q 及び r の各々は、独立して、0 から約 20 の整数 (例えば、0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 又は 20) であり、R は水素又は低級アルキル ; メチレンジオキシル (-O-CH₂-O-) ; 及びエチレンジオキシル (-O-(CH₂)₂-O-) である。アルキレン基は、約 2 から約 3 個の炭素原子を有することがあり、更に 6 から 20 個の炭素原子を有することがある。典型的には、アルキル (又はアルキレン) 基は 1 から 24 個の炭素原子を有し、10 個以下の炭素原子を有する基は本発明のいくつかの実施形態である。「低級アルキル (lower alkyl)」又は「低級アルキレン (lower alkylene)」は、一般に 8 個以下の炭素原子を有する、より短い鎖のアルキル又はアルキレン基

である。

【 0 0 8 2 】

用語「ヘテロアルキレン (heteroalkylene)」は、単独で又は別の置換基の一部として、ヘテロアルキルから誘導される二価基を意味する (例えば、限定されるものではないが、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 及び $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ が例示される)。ヘテロアルキレン基の場合、ヘテロ原子はまた、鎖末端のどちらか又は両方を占有することがある (例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど)。更に、アルキレン及びヘテロアルキレン連結基の場合、前記連結基の配向は、前記連結基の式が書かれている方向によって示唆されていない。例えば、式 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'-$ は、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'-$ 及び $-\text{R}'\text{OC}(\text{O})-$ の両方を表す。

【 0 0 8 3 】

用語「アリール (aryl)」は、特に明記しない限り、一緒に縮合しているか又は共有結合している単環又は多環 (例えば 1 から 3 環) のことがある芳香族炭化水素置換基を意味する。用語「ヘテロアリール (heteroaryl)」は、N、O 及び S から選択される 1 から 4 個のヘテロ原子を含有する (複数の環の場合はそれぞれ別個の環にある) アリール基 (又は環) を指し、ここで、前記窒素及び硫黄原子は任意選択的に酸化されていて、前記窒素原子は任意選択的に四級化されている。ヘテロアリール基は、炭素又はヘテロ原子を介して前記分子の残りに結合することがある。アリール及びヘテロアリール基の非限定的な例には、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ピフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、2-フェニル-4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソオキサゾリル、4-イソオキサゾリル、5-イソオキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-フリル、3-フリル、2-チエニル、3-チエニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジル、4-ピリミジル、5-ベンゾチアゾリル、プリニル、2-ベンズイミダゾリル、5-インドリル、1-イソキノリル、5-イソキノリル、2-キノキサリニル、5-キノキサリニル、3-キノリル及び 6-キノリルが含まれる。上記アリール及びヘテロアリール環系のそれぞれの置換基は、以下に記載される許容される置換基の群から選択される。用語「アリーレン (arylene)」及び「ヘテロアリーレン (heteroarylene)」は、それぞれアリール及びヘテロアリールの二価の形態をいう。

【 0 0 8 4 】

簡潔にするために、用語「アリール (aryl)」は、他の用語 (例えば、アリールオキシ、アリールチオキシ、アリールアルキル) と組合せて使用される場合、上記で定義したアリール環及びヘテロアリール環の両方を含む。従って、用語「アリールアルキル (arylalkyl)」及び「ヘテロアリールアルキル (heteroarylalkyl)」は、アリール又はヘテロアリール基が、アルキル基に結合している基 (例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチル、フリルメチルなど) を含むことを意味し、炭素原子 (例えば、メチレン基) が例えば酸素原子で置換された (例えば、フェノキシメチル、2-ピリジルオキシメチル、3-(1-ナフチルオキシ)プロピルなど) アルキル基を含む。しかしながら、本明細書で使用される用語「ハロアリール (haloaryl)」は、1 つ以上のハロゲンで置換されたアリールのみを包含することを意味する。

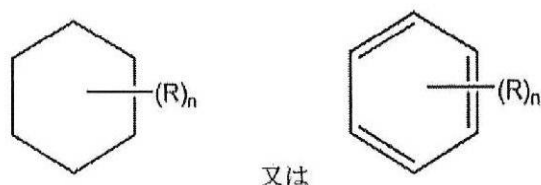
【 0 0 8 5 】

ヘテロアルキル、ヘテロシクロアルキル又はヘテロアリールが特定の数の員 (例えば「3 から 7 員 (3 to 7 membered)」) を含む場合、用語「員 (member)」は炭素又はヘテロ原子を指す。

【 0 0 8 6 】

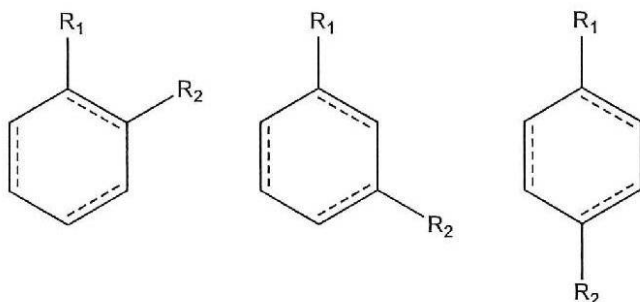
更に、式：

【化 3 3】



で一般的に表される構造は、本明細書で使用されるように、環構造を意味し、例えば、限定されるものではないが、3-炭素、4-炭素、5-炭素、6-炭素、7-炭素などの脂肪族及び / 又は芳香族環式化合物であり、飽和環構造、部分的に飽和した環構造及び不飽和環構造を含み、置換基 R 基を含み、ここで、前記 R 基は存在しても存在しなくても良く、存在している場合は、1 つ以上の R 基は、前記環構造の 1 つ以上の利用可能な炭素原子上でそれぞれ置換されていても良い。R 基の有無及び R 基の数は、変数「n」の値によって決定され、n は一般に 0 から置換可能な環上の炭素原子の数を範囲とする値を有する整数である。各 R 基は、複数存在する場合、別の R 基よりも寧ろ、前記環構造の利用可能な炭素において置換される。例えば、n が 0 から 2 である上記の構造は、限定されるものではないが、以下を含む化合物群を含むであろう：

【化 3 4】



など。

【0087】

環式環構造中の結合を表す破線は、前記結合が前記環内に存在することも存在しないこともあることを示す。すなわち、環式環構造中の結合を表す破線は、前記環構造が飽和環構造、部分飽和環構造及び不飽和環構造からなる群から選択されることを示す。

【0088】

記号

【化 3 5】



は、前記分子の残部への部分の結合点を示す。

【0089】

芳香族環又は複素環式芳香族環の指定原子が「存在しない (absent)」と定義される場合、前記指定原子は直接結合によって置き換えられる。

【0090】

上記の各用語（例えば、「アルキル (alkyl)」、「ヘテロアルキル (heteroalkyl)」、「シクロアルキル (cycloalkyl)」及び「ヘテロシクロアルキル (heterocycloalkyl)」、「アリール (aryl)」、「ヘテロアリール (heteroaryl)」、「ホスホネート (phosphonate)」及び「スルホネート (sulfonate)」並びにそれらの二価誘導体) は、示した基の置換型及び非置換型の両方を含むことを意味する。各タイプの基についての任意選択的な置換基を以下に示す。

【0091】

アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル一価及び二価誘導体基（アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル及びヘテロシクロアルケニルとしばしば呼ばれる基を含む）の置換基は、限定されるものではないが、以下から選択される 1 つ以上の様々な基であることがある：ゼロから $(2m' + 1)$ の範囲にある数の $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-ハロゲン$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)OR'$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及び $-NO_2$ （ここで、 m' はこのような基における炭素原子の総数である）。 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' はそれぞれ独立して水素、置換若しくは非置換ヘテロアルキル、置換若しくは非置換シクロアルキル、置換若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換アリール（例えば、1 から 3 個のハロゲンで置換されたアリール）、置換若しくは非置換アルキル、アルコキシ若しくはチオアルコキシ基、又はアリールアルキル基を意味することがある。本明細書で使用する「アルコキシ (alkoxy)」基は、二価の酸素を介して分子の残部に結合したアルキルである。本発明の化合物が 2 つ以上の R 基を含む場合、例えば、 R 基の各々は、各 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' 基が、これらの基の 2 つ以上が存在する場合に、独立して選択されるように、独立して選択される。 R' 及び R'' が同じ窒素原子に結合している場合、それらは窒素原子と合わさって 4-, 5-, 6-, 又は 7-員環を形成することがある。例えば、 $-NR'R''$ は、限定されるものではないが、1-ピロリジニル及び 4-モルホリニルを含むことを意味する。置換基の上記考察から、当業者のある者は、用語「アルキル (alkyl)」は、ハロアルキル（例えば、 $-CF_3$ 及び $-CH_2CF_3$ ）並びにアシル（例えば、 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ など）のような水素基以外の基に結合した炭素原子を含む基を含むことを意味すると理解するであろう。

【0092】

上記のアルキル基について記載した置換基と同様に、アリール基及びヘテロアリール基（並びにそれらの二価誘導体）の例示的な置換基は様々であり、例えば、以下から選択される：ゼロから芳香族環系における空いている価数の総数までの範囲にある数の、ハロゲン、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)OR'$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及び $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、フルオロ(C_1-C_4)アルコキシ、及びフルオロ(C_1-C_4)アルキル；ここで、 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' は、独立して、水素、置換又は非置換アルキル、置換又は非置換ヘテロアルキル、置換又は非置換シクロアルキル、置換又は非置換ヘテロシクロアルキル、置換又は非置換アリール及び置換又は非置換ヘテロアリールから選択されることがある。本発明の化合物が 2 つ以上の R 基を含む場合、例えば、 R 基の各々は、各 R' 、 R'' 、 R''' 及び R'''' 基が、これらの基の 2 つ以上が存在する場合、独立して選択されるように、独立して選択される。

【0093】

アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の 2 つの置換基は、式 $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$ の環を任意選択的に形成することがあり、式中、 T 及び U は独立して $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 又は単結合であり、 q は 0 から 3 の整数である。あるいは、アリール環又はヘテロアリール環の隣接原子上の 2 つの置換基は、式 $-A-(CH_2)_r-B-$ の置換基で置換されていても良く、式中、 A 及び B は独立して $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 又は単結合であり、 r は 1 から 4 の整数である。

【0094】

このようにして形成された新しい環の単結合の 1 つは、任意選択的に二重結合で置換されていても良い。あるいは、アリール環又はヘテロアリール環の隣接原子上の 2 つの置換基は、式 $-(CRR')_s-X'-(C''R')_d-$ の置換基で置換されていても良く、ここで、 s 及び d は独立して 0 から 3 の整数であり、 X' は、 $-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 又は $-S(O)_2NR'-$ である。前記置換基 R 、 R' 、 R'' 及び R''' は、水素、置換又

は非置換アルキル、置換又は非置換シクロアルキル、置換又は非置換ヘテロシクロアルキル、置換又は非置換アリール、及び置換又は非置換ヘテロアリールから独立して選択することができる。

【0095】

本明細書で使用される場合、用語「アシル (acyl)」は有機酸基を意味し、ここで、カルボキシル基の $-OH$ が別の置換基で置換されていて、一般式 $RC(=O)-$ (式中、本明細書で定義されるように、 R はアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、炭素環式、複素環式、又は芳香族複素環式基である) である。そのようなものとして、用語「アシル (acyl)」には、具体的には、2-(フラン-2-イル)アセチル- 及び 2-フェニルアセチル基などのアリールアシル基が含まれる。アシル基の具体例には、アセチル及びベンゾイルが含まれる。アシル基にはまた、アミド、 $-RC(=O)NR'$ 、エステル、 $-RC(=O)OR'$ 、ケトン、 $-RC(=O)R'$ 及びアルデヒド、 $-RC(=O)H$ が含まれることが意図される。

【0096】

用語「アルコキシル (alkoxy)」又は「アルコキシ (alkoxy)」は、本明細書では互換的に使用され、酸素原子を介して親分子部分に結合した飽和 (すなわち、アルキル- $O-$) 又は不飽和 (すなわち、アルケニル- $O-$ 及びアルキニル- $O-$) 基を意味する。ここで、用語「アルキル (alkyl)」、「アルケニル (alkenyl)」及び「アルキニル (alkynyl)」は先に記載した通りであり、例えば C_{1-20} 包括的な、直鎖、分岐又は環式の、飽和又は不飽和オキソ炭化水素鎖が含まれることがあり、例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシル、イソプロポキシル、 n -ブトキシル、 sec -ブトキシル、 $tert$ -ブトキシル、及び n -ペントキシル、ネオペントキシル、 n -ヘキソキシルなどが含まれる。

【0097】

本明細書で使用される用語「アルコキシアルキル (alkoxyalkyl)」は、アルキル- O -アルキル・エーテルを意味し、例えばメトキシエチル又はエトキシメチル基である。

【0098】

「アリールオキシル (Aryloxy)」はアリール- $O-$ 基を意味し、ここで、前記アリール基は先に記載した通りであり、置換アリールを含む。本明細書で使用される用語「アリールオキシル (Aryloxy)」は、フェニルオキシル若しくはヘキシルオキシル、及びアルキル、置換アルキル、ハロ若しくはアルコキシル置換フェニルオキシル又はヘキシルオキシルを意味することがある。

【0099】

「アラルキル (Aalkyl)」は、アリール アルキル基を意味し、ここで、アリール及びアルキルは先に記載した通りであり、置換アリール及び置換アルキルを含む。例示的なアラルキル基には、ベンジル、フェニルエチル及びナフチルメチルが含まれる。

【0100】

「アラルキルオキシル (Aalkyloxy)」は、アラルキル- $O-$ 基を意味し、ここで、前記アラルキル基は先に記載したとおりである。例示的なアラルキルオキシル基はベンジルオキシル、すなわち $C_6H_5-CH_2-O-$ である。アラルキルオキシル基は、任意選択的に置換されることがある。

【0101】

「アルコキシカルボニル (Alkoxy carbonyl)」は、アルキル- $O-C(=O)-$ 基を意味する。例示的なアルコキシカルボニル基としては、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、ブチルオキシカルボニル、及び $tert$ -ブチルオキシカルボニルが含まれる。

【0102】

「アリールオキシカルボニル (Aryloxy carbonyl)」は、アリール- $O-C(=O)-$ 基を意味する。例示的なアリールオキシカルボニル基には、フェノキシ 及びナフトキシ カルボニルが含まれる。

【0103】

「アラルコキシカルボニル (Aalkoxy carbonyl)」は、アラルキル- $O-C(=O)-$ 基を意味する。例示的なアラルコキシカルボニル基は、ベンジルオキシカルボニルである。

【 0 1 0 4 】

「カルバモイル (Carbamoyl)」は、式 $-C(=O)NH_2$ のアミド基を意味する。「アルキルカルバモイル (Alkylcarbamoyl)」は、 $R'RN-C(=O)-$ 基を意味し、式中、 R 及び R' の一方が水素であり、 R 及び R' の他方が前記のようなアルキル及び / 又は置換アルキルである。「ジアルキルカルバモイル (Dialkylcarbamoyl)」は、 $R'RN-C(=O)-$ 基を意味し、式中、 R 及び R' の各々は、独立して、先に記載したようなアルキル及び / 又は置換アルキルである。

【 0 1 0 5 】

本明細書で使用される用語カルボニルジオキシル (carbonyldioxy) は、式 $-O-C(=O)-OR$ の炭酸塩基を指す。

【 0 1 0 6 】

「アシルオキシル (Acyloxy)」とは、アシル- $O-$ 基を意味し、ここで、アシルは先に記載したとおりである。

【 0 1 0 7 】

用語「アミノ (amino)」は、 $-NH_2$ 基を意味し、1 つ以上の水素ラジカルを有機ラジカルによって置換したアンモニアに由来する当技術分野で知られている窒素含有基をも意味する。例えば、用語「アシルアミノ (acylamino)」及び「アルキルアミノ (alkylamino)」は、それぞれアシル及びアルキル置換基を有する特定の N -置換有機ラジカルを意味する。

【 0 1 0 8 】

本明細書で使用する「アミノアルキル (aminoalkyl)」は、アルキレン・リンカーに共有結合したアミノ基を意味する。より具体的には、本明細書で使用される用語アルキルアミノ (alkylamino)、ジアルキルアミノ (dialkylamino) 及びトリアルキルアミノ (trialkylamino) は、窒素原子を介して親分子部分に結合した、それぞれ 1, 2 又は 3 個の、先に定義したようなアルキル基を意味する。用語アルキルアミノ (alkylamino) は、構造式 $-NHR'$ を有する基を意味し、式中、 R' は、前に定義したようなアルキル基である；用語ジアルキルアミノ (dialkylamino) は、構造式 $-NR'R''$ を有する基を意味し、式中、 R' 及び R'' は、それぞれ独立して、アルキル基からなる群から選択される。用語トリアルキルアミノ (trialkylamino) は、構造式 $-NR'R''R'''$ を有する基を意味し、式中、 R' 、 R'' 及び R''' は、それぞれ独立してアルキル基からなる群から選択される。更に、 R' 、 R'' 及び / 又は R''' はまとめて、任意選択的に $-(CH_2)_k-$ であることがあり、ここで、 k は 2 から 6 の整数である。限定されるものではないが、例には、メチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ、ジエチルアミノカルボニル、メチルエチルアミノ、イソプロピルアミノ、ピペリジノ、トリメチルアミノ及びプロピルアミノが含まれる。

【 0 1 0 9 】

アミノ基は $-NR'R''$ であり、ここで、 R' 及び R'' は典型的には、水素、置換若しくは非置換アルキル、置換若しくは非置換ヘテロアルキル、置換若しくは非置換シクロアルキル、置換若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換アリール、又は置換若しくは非置換ヘテロアリールから選択される。

【 0 1 1 0 】

用語アルキルチオエーテル (alkylthioether) 及びチオアルコキシル (thioalkoxy) は、硫黄原子を介して親分子部分に結合した飽和 (すなわち、アルキル- $S-$) 又は不飽和 (すなわち、アルケニル- $S-$ 及びアルキニル- $S-$) 基を意味する。限定されるものではないが、チオアルコキシル部分の例としては、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、 n -ブチルチオなどが含まれる。

【 0 1 1 1 】

「アシルアミノ (Acylamino)」とは、アシル- $NH-$ 基を意味し、ここで、アシルは上記のとおりである。「アロイルアミノ (Aroylamino)」は、アロイル- $NH-$ 基を意味し、ここで、アロイルは上記のとおりである。

【 0 1 1 2 】

用語「カルボニル (carbonyl)」は -C(=O)- 基を意味し、一般式 R-C(=O)H で表されるアルデヒド基を含むことがある。

【 0 1 1 3 】

用語「カルボキシル (carboxyl)」は、 -COOH 基を意味する。そのような基は、本明細書では「カルボン酸 (carboxylic acid)」部分とも呼ばれる。

【 0 1 1 4 】

本明細書で使用する用語「ハロ (halo)」、「ハロゲン化物 (halide)」又は「ハロゲン (halogen)」は、フルオロ、クロロ、ブロモ及びヨード基を意味する。更に、「ハロアルキル (haloalkyl)」などの用語は、モノハロアルキル及びポリハロアルキルを含むことを意味する。例えば、用語「ハロ ($\text{C}_1\text{-C}_4$) アルキル (halo($\text{C}_1\text{-C}_4$)alkyl)」は、限定されるものではないが、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピルなどを含むことを意味する。

【 0 1 1 5 】

用語「ヒドロキシル (hydroxyl)」は、 -OH 基を意味する。

【 0 1 1 6 】

用語「ヒドロキシアルキル (hydroxyalkyl)」は、 -OH 基で置換されたアルキル基を意味する。

【 0 1 1 7 】

用語「メルカプト (mercapto)」は、 -SH 基を意味する。

【 0 1 1 8 】

本明細書で使用する用語「オキソ (oxo)」は、炭素原子又は他の元素に二重結合している酸素原子を意味する。

【 0 1 1 9 】

用語「ニトロ (nitro)」は、 -NO_2 基を意味する。

【 0 1 2 0 】

用語「チオ (thio)」は、本明細書中で前に記載された化合物を意味し、ここで、炭素又は酸素原子が硫黄原子によって置換されている。

【 0 1 2 1 】

用語「硫酸 (sulfate)」は、 -SO_4 基を意味する。

【 0 1 2 2 】

本明細書で使用する用語チオヒドロキシル (thiohydroxyl) 又はチオール (thiol) は、式 -SH の基を意味する。

【 0 1 2 3 】

より具体的には、用語「スルフィド (sulfide)」は、式 -SR の基を有する化合物を意味する。

【 0 1 2 4 】

用語「スルホン (sulfone)」は、スルホニル基 $\text{-S(O}_2\text{)R}$ を有する化合物を意味する。

【 0 1 2 5 】

用語「スルホキシド (sulfoxide)」は、スルフィニル基 -S(O)R を有する化合物を意味する。

【 0 1 2 6 】

用語ウレイド (ureido) は、式 -NH-CO-NH_2 の尿素基を意味する。

【 0 1 2 7 】

式 (1) の化合物に関して、用語「保護基 (protecting group)」は、前記分子中の再生官能基 (regenerated functional group) 又は他の官能基を攻撃しない、容易に入手可能な試薬によって選択的に除去することができる化学的置換基を指す。適切な保護基は、当技術分野で公知であり、開発が続けられている。適切な保護基は、例えば、Wutz et al (「Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 第 4 版」Wiley-Interscience, 2007) に記載されている。Wutz らによって記載されているように (533-643 頁)、カ

ルボキシシル基の保護のための保護基は、ある実施形態において使用される。ある実施形態では、前記保護基は酸処理により除去可能である。保護基の代表的な例には、限定されるものではないが、ベンジル、p-メトキシベンジル (PMB)、tert-ブチル (t-Bu)、メトキシメチル (MOM)、メトキシエトキシメチル (MEM)、メチルチオメチル (MTM)、テトラヒドロピラニル (THP)、テトラヒドロフラニル (THF)、ベンジロキシメチル (BOM)、トリメチルシリル (TMS)、トリエチルシリル (TES)、t-ブチルジメチルシリル (TBDM S) 及びトリフェニルメチル (トリチル、Tr) が含まれる。当業者は、保護基を必要とする適切な状況を認識し、特定の状況で使用するために適切な保護基を選択することができるであろう。

【0128】

明細書及び特許請求の範囲全体を通して、所与の化学式又は名称は、全ての互変異性体、同族体及び光学異性体及び立体異性体、並びにそのような異性体及び混合物が存在するラセミ混合物を包含する。

【0129】

本発明のある化合物は、不斉炭素原子 (光学的又はキラル中心) 又は二重結合を有することがあり; 鏡像異性体 (enantiomers)、ラセミ体 (racemates)、ジアステレオマー (diastereomers)、互変異性体 (tautomers)、幾何異性体 (geometric isomers)、絶対立体化学的に、(R)- 若しくは (S)- として、又はアミノ酸の D- 若しくは L- として定義されることがある立体異性体 (stereoisomeric forms)、並びに個々の異性体は本発明の範囲内に包含される。本発明の化合物は、あまりにも不安定で合成及び/又は単離することができないものと当技術分野で知られている化合物を含まない。本発明は、ラセミ体、スカレミック体 (scalemic)、及び光学的に純粋な形態にある化合物を含むことを意味する。光学活性な (R)- 及び (S)- 又は D- 及び L- 異性体は、キラルなシントロン又はキラル試薬を用いて調製することができ、又は従来技術を用いて分割することができる。本明細書に記載の化合物がオレフィン結合又は他の幾何学的非対称中心を含む場合、他に特定しない限り、前記化合物は E 及び Z 幾何異性体の両方を含むことが意図される。

【0130】

特に明記しない限り、本明細書に示される構造はまた、前記構造の全ての立体化学的形態 (即ち、各不斉中心についての R 及び S 立体配置) を含むことを意味する。従って、本化合物の単一の立体化学異性体並びに鏡像異性体 (enantiomeric) 及びジアステレオマーの混合物は、本発明の範囲内である。

【0131】

本発明のある化合物が互変異性体の形態で存在し得ることは、当業者のある者には明らかであり、前記化合物のそのような全ての互変異性体形態は、本発明の範囲内である。本明細書で使用される用語「互変異性体 (tautomer)」は、平衡状態で存在し、1 つの異性体形態から別の異性体形態に容易に変換される 2 つ以上の構造異性体のうちの 1 つを意味する。

【0132】

特に明記しない限り、本明細書に示される構造は、1 つ以上の同位体濃縮原子が存在している点においてのみ異なる化合物も含むことを意味する。例えば、重水素若しくはトリチウムによる水素の置換、又は ^{13}C - 若しくは ^{14}C - 富化炭素による炭素の置換を伴う本発明の構造を有する化合物は、本発明の範囲内である。

【0133】

本発明の化合物はまた、そのような化合物を構成する原子の 1 つ以上に、自然にはない割合の原子同位体を含むことがある。例えば、前記化合物は、例えばトリチウム (^3H)、ヨウ素-125 (^{125}I) 又は炭素-14 (^{14}C) のような放射性同位元素で放射性標識されても良い。放射性であろうとなかろうと、本発明の化合物の全ての同位体のバリエーションは、本発明の範囲内に包含される。

【0134】

本発明の化合物は、塩として存在しても良い。本発明は、そのような塩を含む。適用可

能な塩形態の例には、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、硝酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩（例えば、(+)-酒石酸塩、(-)-酒石酸塩又はラセミ混合物を含むそれらの混合物）、コハク酸塩、安息香酸塩及びグルタミン酸のようなアミノ酸の塩が含まれる。これらの塩は、当業者に公知の方法によって調製することができる。また、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ若しくはマグネシウム塩などの塩基付加塩又は類似の塩も含まれる。本発明の化合物が比較的塩基性の官能基を含む場合、酸付加塩は、このような化合物の中性形態を、そのまま若しくは適切な不活性溶媒中で、十分な量の所望の酸と接触させる、又はイオン交換によって、得ることができる。許容される酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸一水素（monohydrogencarbonic）、リン酸、リン酸一水素（monohydrogenphosphoric）、リン酸二水素（dihydrogenphosphoric）、硫酸、硫酸一水素（monohydrogensulfuric）、ヨウ化水素酸又は亜リン酸などの無機酸に由来する塩、並びに酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸などの有機酸に由来する塩が含まれる。また、アルギン酸塩などのアミノ酸の塩、及びグルクロン酸又はガラクトン酸などの有機酸の塩も含まれる。本発明のある具体的な化合物は、化合物が塩基付加塩又は酸付加塩のいずれかに変換されることを可能にする塩基性官能基及び酸性官能基の両方を含む。

【0135】

前記化合物の中性形態は、前記塩を塩基又は酸と接触させ、親化合物を従来の方法で単離することによって再生することができる。前記化合物の親形態は、極性溶媒への溶解性などの、ある物理的性質において、様々な塩形態とは異なる。

【0136】

本発明のある化合物は、非溶媒和形態、並びに水和形態を含む溶媒和形態で存在することがある。一般に、前記溶媒和形態は、非溶媒和形態と均等であり、本発明の範囲内に包含される。本発明のある化合物は、多結晶又は非晶質形態で存在することがある。一般に、全ての物理的形態は、本発明によって企図される使用と均等であり、本発明の範囲内にあることが意図される。

【0137】

塩形態に加えて、本発明は、プロドラッグ形態である化合物を提供する。本明細書に記載の化合物のプロドラッグは、生理的条件下で容易に化学変化を受けて本発明の化合物を提供する化合物である。更に、プロドラッグを、生体外環境において化学的又は生化学的方法によって本発明の化合物に変換することができる。例えば、プロドラッグを、適切な酵素又は化学試薬と一緒に経皮パッチ・リザーバーに入れる場合に、本発明の化合物にゆっくりと変換するようにしても良い。

【0138】

長年にわたる特許法の慣例に従い、用語「a」、「an」及び「the」は、特許請求の範囲を含む本出願で使用される場合、「1つ以上（one or more）」を意味する。従って、例えば、「対象（a subject）」との記載は、文脈が明らかに反対（例えば、複数の対象（a plurality of subjects））ではない場合、複数の対象（a plurality of subjects）なども含む。

【0139】

本明細書及び特許請求の範囲を通して、文脈が排他的であることを求める場合を除いて、用語「含む（comprise）」、「含む（comprises）」及び「含む（comprising）」は、非排他的な意味で使用される。同様に、用語「含む（include）」及びその文法上の変形は非限定的であることが意図され、リスト内に項目を列挙することは、リストされた項目と置換され得る又はこれに追加され得る他の同様の項目を除外するものではない。

【0140】

本明細書及び添付の特許請求の範囲の目的において、他に示さない限り、本明細書及び特許請求の範囲で使用される量、大きさ、寸法、割合、形状、剤形、パラメーター、パー

センテージ、量、特徴及び他の数値を表現する全ての数字は、用語「約 (about)」がその値、量又は範囲と共に明示的に現れていなくても、全ての場合において、「約 (about)」という用語によって修飾されると理解されるべきである。従って、反対のことが示されていない限り、以下の明細書及び添付の特許請求の範囲に記載された数値パラメータは、正確ではなく及び正確である必要はないが、本発明の対象によって得られることが求められる所望の特性に応じて、許容誤差、換算係数、四捨五入、測定誤差など、及び当業者に知られている他の因子を考慮しながら、所望のように近似するものであり及び/又はより大きい若しくはより小さいものである。例えば、ある値を指す場合、用語「約 (about)」は、特定の量から、ある実施形態では $\pm 100\%$ 、ある実施形態では $\pm 50\%$ 、ある実施形態では $\pm 20\%$ 、ある実施形態では $\pm 10\%$ 、ある実施形態では $\pm 5\%$ 、ある実施形態では $\pm 1\%$ 、ある実施形態では $\pm 0.5\%$ 、ある実施形態では $\pm 0.1\%$ のバリエーションを包含することを意味し、そのようなバリエーションは本発明の方法を実施し、本発明の化合物を使用するのに適切である。

【0141】

更に、用語「約 (about)」は、1 つ以上の数字又は数値範囲と関連して使用される場合、ある範囲内の全ての数値を含むような全ての数値を意味するものと理解されるべきであり、記載された数値の上及び下の境界を拡張することによってその範囲は変更される。エンドポイントによって数値範囲を記載することは、その範囲内に包含される全ての数、例えば、整数全体、その分数を含み (例えば、1 から 5 と記載することは、1, 2, 3, 4 及び 5 を含み、並びに、それらの分数 (例えば 1.5, 2.25, 3.75, 4.1 など) を含む、及びその範囲内の任意の範囲を含む。

【実施例】

【0142】

以下に示す実施例は、本発明の対象の代表的な実施態様を実施するのに、当業者のある者に指針を提供するために含まれている。本発明及び当業者の一般的なレベルに照らして、当業者であれば、以下の実施例は例示的なものに過ぎず、本発明の対象の範囲から逸脱することなく多くの変更、改変、修正を行い得るものとして理解できるであろう。以下の合成の説明及び具体的な実施例は、説明のためにのみ意図されており、他の方法による本発明の化合物の製造方法を制限するものとして解釈されるべきではない。

【0143】

実施例 1

概要

PSMA を発現する腫瘍をイメージングし、及び放射線治療法を行うことができるようにするために、キレート化した放射性金属に種々の連結基を介して結合させた PSMA 結合尿素を使用することが、既にいくつかの特許出願及び刊行物で報告されている (Tykvart ら (2015) *Journal of medicinal chemistry* 58, 4357-63; Banerjee ら (2015) *Journal of nuclear medicine* 56, 628-34; Benesova ら (2015) *Journal of nuclear medicine* 56, 914-20; Weineisen ら (2014) *EJNMMI Res* 4, 1-15; WO 2009002529 A2; WO 20090703 02 A1)。新しいクラスの高親和性結合剤が、p-Br-ベンジル基を有する アミン位置の尿素リンカーを修飾することによって調製されきている。本発明の化合物の構造を図 1 に示す。

【0144】

いかなる特定の理論に拘束されることを望まないが、Lys-Glu-尿素部分のリジンのイブシロン・アミノ基を p-Br-ベンジル基で修飾した場合、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) をターゲットとする放射性金属をキレート化した Glu-リジン尿素ベースのセラノスティクス (theranostic) 薬剤は、PSMA を発現する腫瘍では PSMA に対して高い結合親和性と高い取り込みを示し、前立腺がんの標準的なマウス・モデルでは腎臓への低い取り込みを示すものと信じられている。ある実施形態によれば、 ^{177}Lu -1 は、PSMA+ PC3 腫瘍を有するマウスについて、約 50 % の寛解という有意な放射線治療効果を示した。

【0145】

実施例 2

材料と方法

8 の 化学合成。化合物 1 の合成をスキーム 1 に記載する。プロモベンズアルデヒド (121.0 mg、0.654 mmol) を、氷冷浴した 5 ml のメタノール中の Boc 保護した尿素 4 (300.0 mg、0.615 mmol) の攪拌溶液に、ゆっくりと添加し、室温まで温めた。1 時間後、シアノ水素化ホウ素ナトリウム (158.0 mg、2.5 mmol) を加え、反応物を一晩攪拌したままにした。粗反応混合物を蒸発させ、ジクロロメタンに再溶解し、順相シリカ・クロマトグラフィー (95:5、塩化メチレン：メタノール) で精製し、真空中で乾燥して良好な収率で 5 を得た。収率：80 %。ESI-MS：656.56 [M+H]⁺、実測値：656.5。TSTU (32.6 mg、108 μmol)、Boc-5-アミノ吉草酸 (23.5 mg、108 μmol) 及び DIPEA (37.7 μL、216 μmol) を 300 μL の DMF に溶解し、室温で攪拌した。1 時間後、化合物 5 (71.0 mg、108 μmol) を加え、DMF (各 50 μL) で 3 回リンスした。前記反応混合物を 4 時間攪拌し、4 で一晩保存した。粗反応混合物を C₁₈ カラムのセミ分取 HPLC により精製した (40 % 水 (0.1 TFA) / 60 % ACN (0.1 TFA) / 5 分、60-90 %、20 分以上)。R_t 21 分。精製画分を合わせ、蒸発させ、高真空下で 10 分間乾燥させた。ESI-MS：572.44 [M+H]⁺、実測値：572.4。化合物 6 をジクロロメタン (1.5 mL) に溶解し、氷浴で冷却した。平衡化後、TFA (1.5 mL) を添加し、混合物を 3 時間攪拌して、工程中に室温まで温めた。混合物を窒素気流下で乾燥させ、水に溶解し、凍結乾燥して化合物 7 を 31.8 mg 得た。収量：54 μmol、54 %。40 に平衡化した DMSO (130 μL) 中の 6 (12.2 mg の TFA 塩) 及び DIPEA (15.2 μL、87.0 μmol) の攪拌溶液に、p-SCN-bn-DOTA (12.2 mg、17.7 μmol) を加えた。反応混合物を 40 で 4 時間攪拌し、4 で一晩保存した。反応混合物を逆相 HPLC によって精製した (20 % ACN を 5 分間保持した後、20-40 % を 19 分かけた)。R_t 約 12 分。精製画分を合わせ、回転蒸発させて体積を減少させ、次いで凍結乾燥した。ESI-MS：1138.37 [M+H]⁺、実測値：1138.5。前記化合物 1 を、勾配法を用いた HPLC により更に精製した。前記 HPLC 法は、移動相 88 % 水 (0.1 % TFA 含有) 及び 22 % CH₃CN (0.1 % TFA) を 1 から 5 分間、次に 88 % 水 (0.1 % TFA を含む) 及び 12 % CH₃CN (0.1 % TFA) を 0 から 5 分間、及び 88 % 水から 44 % 水及び 12 % アセトニトリルから 56 % アセトニトリルを流速 8 mL/分で 5 から 25 分間、を含む勾配法である。

【0146】

2 の 化学合成。この化合物を同じ中間体 7 を用いて合成し、市販の DOTA-NHS エステルに結合させた。ESI-MS：974.86 [M+H]⁺、実測値：974.5。

【0147】

3 の 化学合成。この化合物を中間体 4 を用いて合成し、市販の Boc-5-アミノ吉草酸及び DOTA-NHS エステルとカップリングさせた。ESI-MS：970.05 [M+H]⁺、実測値：970.1。

【0148】

¹⁷⁷Lu-1 の放射性標識。0.1 N HCl 中の 1.0 μl の ¹⁷⁷LuCl₃ (1 mCi) を、70 μl の NH₄OAc バッファー (0.2 M、pH 4) に添加し、及び 0.2 M NH₄OAc 中で 2 mM の 5 μl になるようにした。前記混合物の pH は約 4.0 であった。前記混合物を 80 で 1 時間保ち、HPLC で精製した。前記 HPLC 法は、移動相 77 % 水 (0.1 % TFA を含む) 及び 23 % CH₃CN (0.1 % TFA) を 1 から 5 分、続いて 5 から 25 分、77 % から 57 % の水及び 23 % から 43 % のアセトニトリル；25.01 から 30 分、5 % から 5 % の水及び 95 % から 95 % のアセトニトリル、30.01 から 37 分、77 % から 77 % の水及び 23 % から 23 % のアセトニトリルを含む勾配法である。流速：1.0 ml/分；λ：200 nm、及び C₈ カラム (25×4.6 mm)、Varian microsorb-MV 100-5。放射性標識した ¹⁷⁷Lu-1 は 17.1 から 20 分で溶出したが、非標識のキレート剤は 21 から 22 分で溶出した。

【0149】

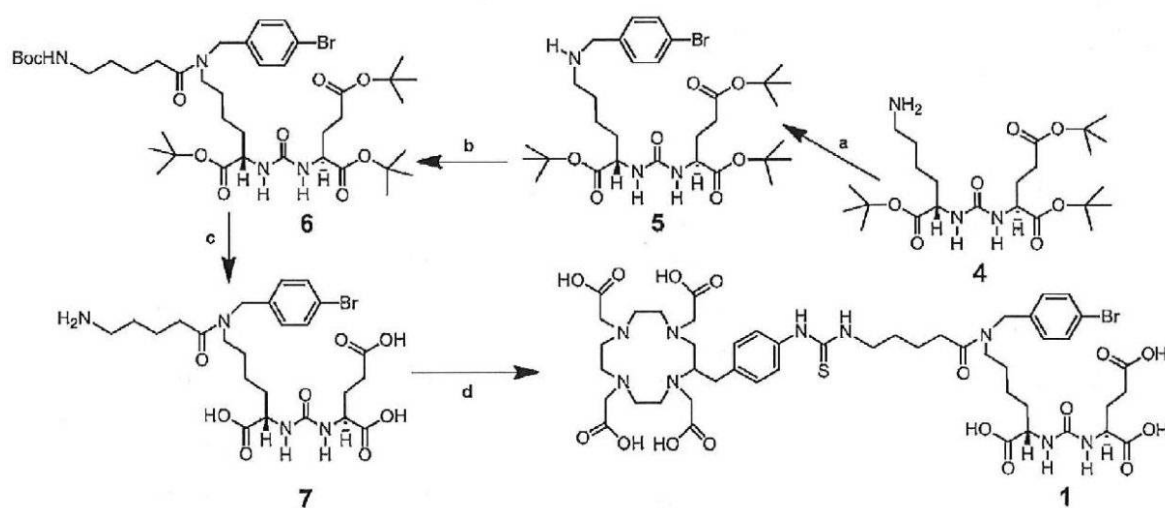
前記 HPLC 法を、¹⁷⁷Lu-1 及び ¹⁷⁷Lu-7 を調製するために使用した：前記 HPLC 法は、移動相 88 % 水 (0.1 % TFA 含有) 及び 22 % CH₃CN (0.1 % TFA) を 1 から 5 分

、続いて 5 から 27 分、88 % から 75 % の水及び 12 % から 25 % のアセトニトリル；27.01 から 32 分、5 % から 5 % の水及び 95 % から 95 % のアセトニトリル、32.01 から 37 分、88 % から 18 % の水及び 12 % から 22 % のアセトニトリルを含む勾配法である。流速：1.0 ml/分；：200 nm、C₈ カラム（25×4.6 mm）、Varian microsorb-MV 100-5。放射性標識 ¹⁷⁷Lu-2 は 13.1 から 15.0 分で溶出され、非標識キレート剤は 16 から 17 分で溶出された。放射性標識 ¹⁷⁷Lu-3 は 13.1 から 15.0 分で溶出され、非標識キレート剤は 10 から 12 分、18 から 20 分で溶出され、非標識薬剤は 14 から 16 分で溶出した。

【0150】

スキーム1．化合物1の合成

【化36】



a. 4-ブロモベンズアルデヒド、NaBH₃CN、MeOH、1 % 酢酸；

b. BocNH(CH₂)₄CO₂H, HATU, DIEA, DMF；c. TFA/CH₂Cl₂；

d. DOTA-Bn-SCN, DMSO, DIEA

【0151】

実施例3

結果と考察

化学合成及び放射化学合成及び特性評価。文献手順（Tykvart ら（2015）Journal of medicinal Chemistry 58, 4357-63）に従って、Glu-Lys 尿素（2）の p-ブロモベンジル基で修飾されたものを、メタノール中、シアノ水素化ホウ素ナトリウムの存在下、p-ブロモベンズアルデヒドで 2 を還元的なアルキル化をすることにより良好な収率で調製し、4 を得た。小さな脂肪族リンカーである Boc-5-アミノ吉草酸を、4 の同じ -Lys アミンにカップリングさせ、続いて BOC 基を除去し、市販の DOTA-Bn-SCN と 6 とを結合させ、中程度の収率で 1 を得た。前記化合物 2 は、DOTA-NHS エステルを前記キレート剤として使用し、同じ中間体 6 とカップリングさせることによって合成した。化合物 3 は、p-ブロモベンジル基を全く用いずにコントロール剤として合成した。3 剤全てを、80 の酢酸アンモニウム・バッファー中、pH 4 で良好な収率及び純度で ¹⁷⁷Lu で放射性標識した。前記新規化合物の結合親和性を表 1 に示す。p-ブロモ-ベンジル基で修飾した 1 及び 2 の両方が、3 と比較して高い結合親和性を示した。

【0152】

【表 1】

表 1. 代表的な薬剤の結合親和性					
化合物	1	2	3	ZJ43 (2 について)	ZJ43 (1, 3 について)
IC50 (nM)	0.57 nM	0.64 nM	2.16 nM	1.91 nM	2.7 nM
Ki (nM)	1.15 nM	1.28 nM	0.43 nM	0.38 nM	0.66 nM
ClogD	-4.6	-3.5	-4.1	nd	nd
LogPoct/水	-3.0	-3.53	-3.2	nd	nd
極性表面積	359	327	368	nd	nd

【0153】

細胞結合特性。前記 ^{177}Lu 剤を、標準的な同起源の細胞株 PSMA+ PC3 PIP 及び PSMA-ネガティブ PC3 flu 細胞を用いて細胞及び動物で更に評価した。 ^{177}Lu -1 及び ^{177}Lu -2 の両方とも、 ^{177}Lu -3 と比較して PSMA+ PC3 細胞においてより高い取り込みを示した。更に、内部移行について研究をすると、 ^{177}Lu -1 が ^{177}Lu -3 に比べて 2 倍近く高い内部移行活性を有することが明らかになった。3 種の薬剤は全て、PSMA-ネガティブ PC3 flu 細胞で、有意に低い取り込みを示した。前記 ^{177}Lu -1 を、クローン形成アッセイで、治療有効性について更に評価し、先のリード化合物 SR6 (Banerjee ら (2015) Journal of nuclear medicine 56, 628-34) 並びに ^{177}Lu -PSMA-617 (Benesova ら (2015) Journal of nuclear medicine 56, 914-20) 及び ^{177}Lu PSMA-I & T (Weineisen ら (2014) EJNMMI Res 4, 1-15) を含む臨床試験中の薬剤と比較した。 ^{177}Lu -1 は、PSMA+ PC3 PIP 細胞において、10 μCi 用量を用いて約 100 % の殺細胞効果を生じさせることができたが、PSMA- PC3 flu 細胞に対しては有意な毒性は見られなかった。

【0154】

【表 2】

表 2. 4 時間インキュベーションしたときの、薬剤の細胞結合特性 (値は 1×10^6 個の細胞当たりインキュベートした用量のパーセントとして表わしている) (n=3)			
化合物	^{177}Lu -1	^{177}Lu -2	^{177}Lu -3
細胞取込み PSMA+ PC3 PIP	42.60	40.6	24.50
細胞取込み PSMA- PC3 flu	0.09	0.12	0.05
内部移行 (細胞溶解物)	15.88	n.d.	8.75
細胞表面	27.68	n.d.	12.50

【0155】

生体内分布。 ^{177}Lu -1 及び ^{177}Lu -2 について in vivo 組織生体内分布の研究を行った。結果を表 3 及び 4 にリストする。PSMA+ PC3 PIP 腫瘍への取り込みにおいて、 ^{177}Lu -1 は、 ^{177}Lu -2 よりも高い取り込み及び滞留を示した。有意に ^{177}Lu -2 剤は、 ^{177}Lu -1 よりも 5 倍低い腎臓取り込みを示し、図 3 に示すように、本発明の化合物の腫瘍 / 腎臓を、先のリード ^{177}Lu -SR6, ^{177}Lu -PSMA-617 及び ^{177}Lu -PSMA-I & T のものと比較した。 ^{177}Lu -2 の PSMA+ PC3 PIP 腫瘍対腎臓の比率は、 ^{177}Lu -1 より高かった。より高い腫瘍による取り込み及び滞留を示したので、 ^{177}Lu -1 について、少数の動物群を用いたパイロット研究において、セラノスティクス (theranostic) な有効性 (イメージング及び治療効果) を、更に評価した。

【0156】

【表 3】

表 3. ^{177}Lu -1 の in vivo 組織生体内分布、投与した用量グラム当たりのパーセントとして表わした値 ±標準偏差 (N = 4)				
組織	2 時間	24 時間	48 時間	72 時間
血液	0.68 ± 0.25	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.01	0.00 ± 0.04
心臓	0.28 ± 0.08	0.02 ± 0.05	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
肺	1.12 ± 0.33	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02
肝臓	0.39 ± 0.13	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.00
胃	0.87 ± 0.63	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.04	0.04 ± 0.00
脾臓	0.28 ± 0.09	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
脾臓	3.76 ± 0.70	0.15 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.02
脂肪組織	0.35 ± 0.10	0.08 ± 0.15	0.01 ± 0.01	0.06 ± 0.07
腎臓	87.10 ± 25.99	1.65 ± 0.30	1.02 ± 0.58	0.62 ± 0.04
筋肉	0.68 ± 0.98	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.02
小 腸 (Sm. Int.)	0.51 ± 0.32	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
唾液腺 (Sal. Gl)	1.09 ± 0.08	0.09 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.02
膀胱	3.39 ± 2.78	0.31 ± 0.13	0.12 ± 0.07	0.06 ± 0.03
PC-3 PIP	55.04 ± 7.23	40.61 ± 7.00	27.00 ± 7.03	24.90 ± 2.27
PC-3 Flu	0.39 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01

【 0 1 5 7 】

【表 4】

表 4. ^{177}Lu -2 の in vivo 組織生体内分布、投与した用量グラム当たりのパーセントとして表わした値 ±標準偏差 (N = 4)			
組織	2 時間	24 時間	48 時間
血液	0.81 ± 0.80	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
心臓	0.31 ± 0.19	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01
肺	0.39 ± 0.13	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
肝臓	0.19 ± 0.05	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00
胃	7.95 ± 4.17	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.01
脾臓	0.19 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.00
脾臓	1.10 ± 0.62	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.01
脂肪組織	0.70 ± 0.54	0.11 ± 0.10	0.03 ± 0.04
腎臓	14.04 ± 8.19	0.73 ± 0.70	0.24 ± 0.07
筋肉	0.20 ± 0.05	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
小腸 (Sm. Int.)	2.02 ± 2.86	0.06 ± 0.09	0.02 ± 0.00
唾液腺 (Sal. Gl)	0.89 ± 0.51	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.01
膀胱	3.48 ± 1.66	0.17 ± 0.06	0.08 ± 0.02
骨	0.46 ± 0.10	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.02
PC-3 PIP	43.18 ± 5.32	24.76 ± 5.13	20.13 ± 3.35
PC-3 Flu	0.29 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.01

【 0 1 5 8 】

小動物の SPECT イメージング及び治療効果。図 4 は、注射後 1 から 8 日にわたる治療についての研究期間における ^{177}Lu -1 の SPECT イメージングを示す。PSMA+ PC3 PIP 腫瘍 (サイズ 3-5 mm) を有するマウス (n = 10) に 3 mCi の単回用量を尾静脈注射により投与した。コントロールとして生理食塩水をもう一つ別の群のマウス (n = 10) に投与した。週2回、体重腫瘍サイズを測定してマウスをモニターした。コントロール群のマウスは、腫瘍の大きさが > 12 mm と超えたため、4 から 8 週間後に安楽死させた。治療群では、50 %のマウスで腫瘍が完全に根絶された。これらのマウスは、まず最初に体重が減少し、2 週間後に、元の体重に回復した。結果を図 5 に示す。図 6 A と図 6 B は、 ^{177}Lu -1 の治療有効性 (腫瘍体積の減少) を、生理食塩水を用いたコントロール群と比較して示した。5 匹のマウスに疾患の完全寛解が認められ、5 ヶ月超生存した。

【0159】

まとめると、Lys-Glu-尿素部分のリジンのイプシロン・アミノ基上を p-Br-ベンジル基で修飾した場合、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) をターゲットとする放射性金属をキレート化した Glu-リジン尿素ベースのセラノスティック薬剤 (theranostic agents) は、前立腺がんの標準的なマウス・モデル中、PSMA を発現する腫瘍では PSMA への結合親和性と高い取り込みを示し、腎臓への低い取り込みを示した。1 つの代表的な化合物 ^{177}Lu -1 は、PSMA+ PC3 腫瘍を有するマウスで約 50 % の寛解という有意な放射線治療効果を示した。

【0160】

実施例 4

前立腺がんに対する PSMA ベースの高 LET 薬剤

概要。いくつかの実施形態では、本発明の対象は、PSMA をターゲットとする放射性金属ベースの薬剤の薬物動態学的な最適化に関する。この分野における先行研究は国際 PCT 特許出願公開番号 WO2009/002529 A2 及び WO2010/108125A2 に記載されており、これらの各々は、その全体が参照により組み込まれる。より詳細には、いくつかの実施形態では、本発明の対象は、限定されるものではないが、 ^{213}Bi ($t_{1/2}$ 46 min、 E_{mean} 8.4 MeV)、 ^{212}Pb ($t_{1/2}$ 10.6 h、 E_{mean} 7.8 MeV)、及び ^{225}Ac ($t_{1/2}$ 10 d、 E_{mean} 6 MeV、4) を含む、放出の放射性金属で標識した PSMA をターゲットした低分子量 (LMW) セラノスティックス薬剤を提供し、この有望な治療法が広範に普及することを現在妨げているオフターゲット効果を低減することを目指す。

【0161】

本発明の合理的に設計した 放出剤及びその使用方法を、薬物動態 (PK)、放射性金属の物理的な半減期、を慎重に考慮しながら詳細に検討することを通じて、及びレセプターを遮断して正常な組織による取り込みを減少させることによって、開発した。カメラ・イメージングによるガイダンスを利用して、治療研究に入る前に、サブ臓器での局在 (ホットスポット) 及びそれらが遮断することを、迅速に同定した。

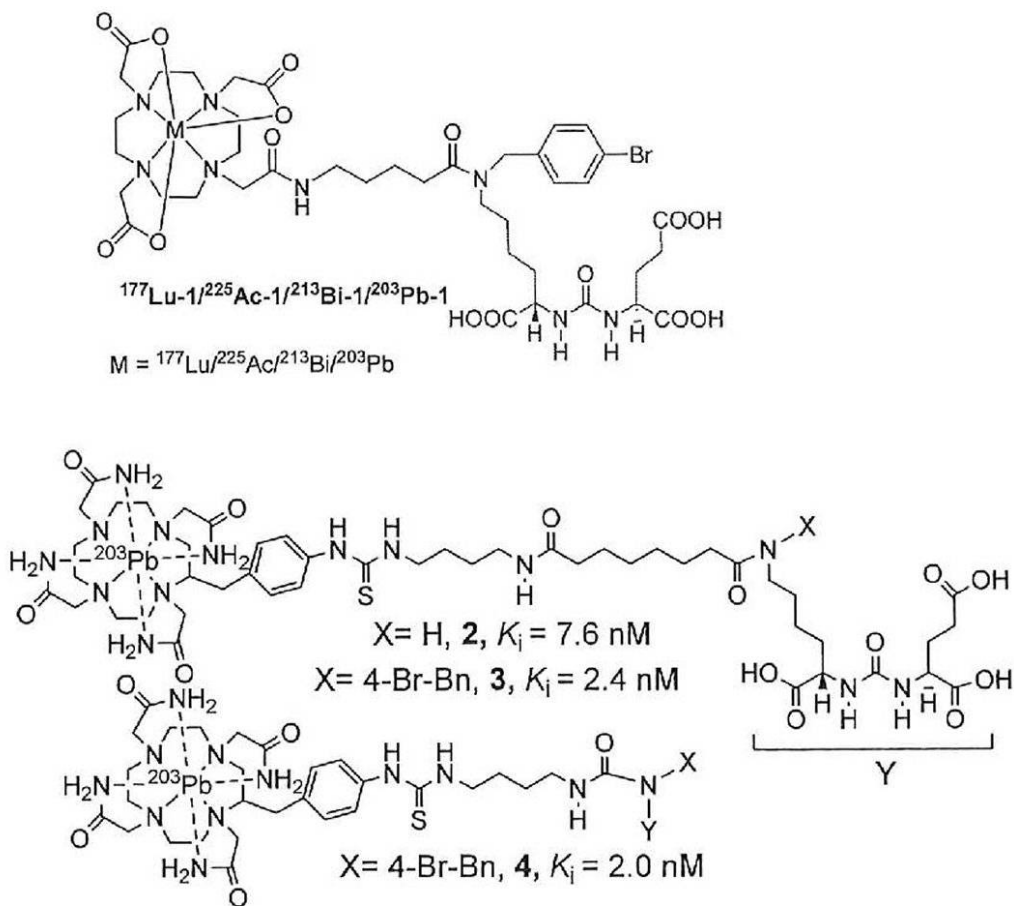
【0162】

従って、いくつかの実施形態では、本発明の対象には、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) をターゲットとする Lys-Glu-尿素部分のリジンの アミノ基上で、p-Br-ベンジル基で修飾された放射性金属キレート化 Glu-リジン尿素ベースのセラノスティック剤が含まれる。これらの化合物は、PSMA に対してより高い結合親和性を示し、前立腺がんの標準的なマウス・モデル中、腎臓への取り込みが有意に低く、及び PSMA 発現腫瘍において高い腫瘍取り込みを示した。これらの最適化された薬剤は、高毒性放射性金属である ^{213}Bi 、 ^{212}Pb 、及び ^{225}Ac で放射性標識されている。

【0163】

例

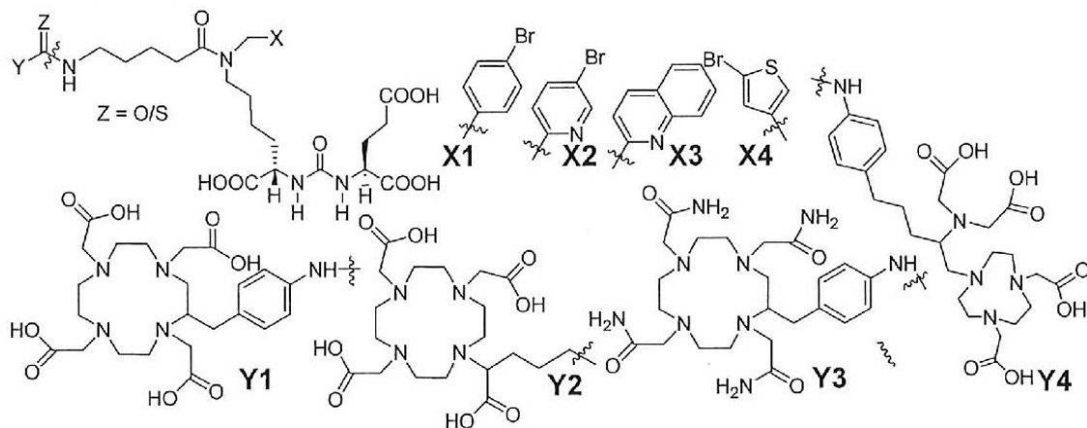
【化 3 7】



【 0 1 6 4】

前記リガンドを上記のように合成した。以下の化合物も、本発明の方法によって合成することができる：

【化 3 8】



【 0 1 6 5】

$^{213}\text{Bi}-1/^{225}\text{Ac}-1/^{203}\text{Pb}-1$ の放射性標識。全ての放射性標識化合物を、 $^{213}\text{Bi}-1$ に対して記載した一般的な方法に従って調製した。 ^{213}Bi を、オーク・リッジ国立研究所が製造し

た $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ -生成装置から溶出した。新たに溶出した ^{213}Bi (18.2 MBq) を10 μg の1液に加え、3M NH_4OAc 液を用いて4から5に調整した。この溶液を、マイクロ波オーブン中、5分間、95 及び40 wの出力で、5分間加熱した。次に、10 μL の1 mMのNa-DTPA溶液を、錯体を含まない ^{213}Bi に加えた。 ^{213}Bi -1の比活性は全ての実験で $> 7.4 \text{ MBq}/\mu\text{g}$ であった。 ^{213}Bi -1を、Phenomenex $\text{C}_{18}\text{Luna } 10 \times 250 \text{ mm}^2$ カラム、及びVarian Prostar System(Palo Alto, CA)を使用して精製したが、これらはVarian ProStar 325 UV-Vis可変波長検出部及びBioscan(Poway, CA)フローカウント・インライン放射能検出部を備えていて、どれもGalaxieソフトウェアによって制御した。流速は、溶出溶媒として水(0.1% TFA)(A)及び CH_3CN (0.1% TFA)(B)を用いて1 mL/分とした。均一な純度を確保するために、80%のA及び20%のBのアイソクラティック溶液を使用して、放射性標識化合物から余分なりガンドを分離した。比放射能は、分取HPLCによる精製過程で、生成物のリテンション・タイムで溶出する放射能と、UV吸収に関する曲線下面積に対応する質量との比率として計算した。試験化合物の純度は、254 nmでの吸光度を用いた分析HPLCによって測定したところ、 $> 95\%$ であった。放射性標識した化合物の収量を、移動相として0.9%塩化ナトリウムを用いたシリカ・ゲル・インスタントTLC (ITLC) を用いても評価した。前記放射性標識したサンプルを、約4のpHで10 mMのジエチレントリアミンペンタ酢酸(DTPA)で希釈した。3マイクロリットルの希釈したサンプルをITLCシリカ・ゲル・ストリップ上にスポットし、クロマトグラフィー・チャンバー内で展開した。溶媒フロントへの移動が完了した後、ITLCサンプル・ストリップを乾燥させ、半分に切断し、Wallac ウィザード カウンター (パーキンエルマー、ボストン、MA) でカウントし、放射性標識物の収率を測定した。放射化学的純度は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析によって評価した。

【0166】

図7、8、9、10、11及び12に、*in vitro*及び*in vivo*の特性評価を示す。 ^{225}Ac -1の体内分布は表5のとおりであった。

【表5】

	^{225}Ac -1							
	2時間	8時間	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	8日
血液	0.3±0.3	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.2	0.0±0.1	0.1±0.2	0.1±0.1	0.0±0.1
心臓	1.7±2.3	0.4±0.1	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
肺	1.1±0.6	0.4±0.1	0.2±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
肝臓	2.7±1.7	3.9±1.1	3.1±0.8	1.9±0.9	1.6±0.4	2.7±1.0	1.9±0.5	2.1±0.4
胃	0.9±0.7	0.4±0.2	0.4±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.0	0.0±0.1
膵臓	0.6±0.6	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0
脾臓	1.4±1.2	0.6±0.2	0.5±0.5	0.4±0.1	0.2±0.3	0.5±0.2	0.2±0.1	0.3±0.5
脂肪組織	0.3±0.3	0.2±0.3	0.3±0.1	0.2±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.1
腎臓	27.5±14.5	3.1±0.8	1.8±0.5	0.7±0.4	0.5±0.3	0.6±0.4	0.3±0.1	0.2±0.2
筋肉	0.3±0.2	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.0±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.1
小腸(Sm. Int.)	0.6±0.4	0.3±0.1	0.5±0.5	0.1±0.1	0.2±0.2	0.0±0.2	0.1±0.1	0.3±0.5
唾液腺(Sal. Gl.)	0.3±0.1	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.1	0.0±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
膀胱	2.4±2.7	0.2±0.1	0.5±0.5	0.5±0.4	0.0±0.2	1.0±1.3	0.0±0.1	0.1±0.2
骨	0.8±0.5	2.1±1.0	0.5±0.3	0.5±0.4	0.2±0.2	0.5±0.4	0.5±0.3	0.3±0.3
PC-3 PIP	45.8±17.9	44.5±12.9	49.0±17.9	22.0±7.5	18.3±4.1	19.2±6.4	12.6±3.2	10.0±2.2
PC-3 Flu	0.6±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	0.3±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1
涙腺	1.1±1.1	0.5±0.5	0.3±0.2	0.2±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.0±0.1	0.1±0.1

【0167】

正常臓器に対するレセプター遮断の開発。

1の遮断作用を ^{177}Lu -1を用いて正常組織で定量した。PSMA(+)腫瘍における高い取り込みを維持しながら、腎臓への取り込みが劇的に減少することが観察された(図12)。これらの遮断試験では唾液腺への取り込みの低下が観察されたが、結果は統計的に有意ではなかった。これは、 ^{177}Lu -1の取り込みが非常に低い(2時間で $< 0.5\%$)ことに関連して実験誤差が高かったためと思われる。

【0168】

遮断の戦略。

全ての遮断試験は、半減期が長く、減衰した娘核種である ^{213}Bi 及び ^{221}Fr に起因する毒性に鑑み、最良の性能を有する ^{225}Ac -標識剤(例えば、 ^{225}Ac -1)を用いて実施する。これらの娘核種は、いったん形成されると、崩壊の結果としての高い原子リコイル-エネルギーのために、キレート構築物と会合しにくい。いかなる特定の理論に拘束されることを望まないが、 ^{225}Ac -PSMA-617に起因する急性の唾液腺毒性は、PSMAベースの薬剤が内部移行した後、線条体導管又は腺房中で、娘核種が放出されることによるものである可能性が最も高い、と考えられた。生体内分布データ及びカメラ・イメージングの両方を使用し、そのデータを解釈した。腎臓及び唾液腺の放射線毒性を回避するために、種々の薬理的薬剤を評価した。コム注射(com-injection)に加えて、30分の前注射の遮断のうちの15分により、前記薬剤の短い血中半減期に起因して、何か有意な変化が生じるかどうかを検討した。有効な遮断製剤を2種又は3種組合せて、組合せた製剤によって何らかの向上が見られるかどうかを確認する。

【0169】

以下の実験は、本発明の対象の範囲内で実施することができる：

【0170】

レセプター遮断(自己遮断)試験、例えば、 ^{225}Ac -1の遊離リガンド 1(図12のように)；

【0171】

相乗的なレセプター遮断及び金属イオン捕捉を提供するための、PSMAを発現する正常組織中で ^{213}Bi をスキヤベンジするジチオール・キレート剤を使った競合的遮断；

【0172】

2,3-ジメルカプト-1-プロパンスルホン酸(DMPS)オフターゲット効果をDMPSとして用いることにより、遊離 ^{213}Bi を除去するためのジチオール・キレート剤の使用(これは、ジチオール・キレート剤が、種々の動物、並びにヒトの試験において、 ^{213}Bi 又は他の重金属の排泄を増強することが示されているためである)；

【0173】

フランシウム(Fr)は、ナトリウム及びカリウムのようなアルカリ金属であり、従って、腺房細胞液及び電解質分泌のための重要なトランスポーターである、 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -共トランスポーター(NKCC1)のトランスポーターによって、唾液腺管が吸収することがある。

【0174】

従って、報告されているように、FDAで承認されている利尿薬のフロセミド及びブメタニドを使用して、 Na^+ 及び K^+ と同様に再吸収されることを防ぐことで、 ^{221}Fr が除去されることを促進することができる；及び、

【0175】

報告されているように、次硝酸ビスマス懸濁液(100mg/kg)により、競合的に金属遮断をする。腎尿細管細胞において、 ^{213}Bi 若しくはコールドの Bi^{+3} の取り込み、又はその結合部位(メタロチオネイン様タンパク質)のどちらかを競合的に金属遮断することの有効性を評価することができる。

【0176】

実施例 5

PSMAベースの放射線医薬治療法のための、 ^{177}Lu 標識した低分子量化合物

【0177】

5.1 概要

前立腺特異的膜抗原(PSMA)は、転移性の去勢抵抗性前立腺がんを治療する放射性核種治療法にとっての重要なターゲットである。本発明の対象の1つの目的は、転移性の去勢抵抗性前立腺がんに関するターゲットを絞った放射性核種治療法のために、粒子の低線形エネルギー・トランスファー照射を使用する、最適化された薬剤を開発することである。この目的のために、新規なPSMAベースの ^{177}Lu 標識放射性リガンドを合成し、in vitro結合親和性及びin vivo腫瘍ターゲティングを評価した。新しいリガンドの放射性標識を、

高い(>98%)放射化学的な収率及び比活性で合成した。細胞取り込み及び内部移行のデータは、全ての薬剤について、PSMA(+)PC3 PIP細胞において特異的に取り込まれることを示すものであった。選択した薬剤について、クローン形成の細胞生存アッセイを行った。48時間のインキュベーション後においてのみ、PSMA(-)PC3 fluc細胞と比較して、PSMA(+)PC3 PIP細胞の生存が有意に減少することが観察された。選択した化合物を、原発性前立腺がんモデルにおける生体内薬物動態及び治療効果について、臨床薬剤である ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA-I&Tと直接比較する研究を行い更に評価した。生体内分布のデータによれば、72時間までに、新規薬剤に対して、PSMA発現PC3 PIP腫瘍中で、同等の腫瘍取り込みがあることがわかった。これらの薬剤はまた、未処置マウス(n = 10)と比較して、111 MBq(3 mCi)を静脈内投与した8週間後で、効率的な腫瘍退縮を示した。代表的な化合物、 ^{177}Lu -L1は、有意に高い生存率の向上を示した。担がんマウスにおける選択した薬剤での処置8週間後、及び無腫瘍マウスにおける処置1年後、の腎剖検を行ったところ(^{177}Lu -L1、111 MBq)、放射線腎症は認められなかった。

【0178】

5.2 背景

グルタミン酸カルボキシペプチダーゼII[GCP-II]又はN-アセチル-L-アスパルチル-L-グルタミン酸ペプチダーゼI[NAALADase I]としても知られる前立腺特異的膜抗原(PSMA)は、タイプIIの細胞表面金属酵素(metalloenzyme)であり、前立腺がんの有用な臨床バイオマーカーであることが証明されてきている^{1, 2}。約80%を超える前立腺腫瘍、並びに他の固形腫瘍は、腫瘍関連血管新生に模して新たに形成された血管内で、強いPSMAの発現を示す。より低いレベルが、生理学的に正常な組織(例えば、腎臓、唾液腺、及び小腸)において見られる。前立腺腫瘍において、PSMAの発現に差があることから、臨床医及び放射線化学者は、PET、SPECT、ナノ粒子、光学薬剤などを使用する幅広いの診断用及び治療用放射性核種を送達するためのターゲットとして、PSMAを使用することを探求してきた。PSMAベースの低分子量PETイメージング剤である、 ^{68}Ga -PSMA-11³及び ^{18}F -DCFPyL⁴は、前立腺がんの男性の早期診断に革命をもたらし、今後数年のうちにFDAで新薬申請手続きを受ける可能性が高い。近年導入されたPSMAベースの放射性核種治療法の薬剤である ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA-I&T⁵⁻¹¹(表6)並びにハロゲン ^{131}I -MIP1095^{2, 12, 13}の治療可能性は有望であるが、放射性核種治療法に必要とされる安全で効果的な投与に関しては、より詳細に検討することが必要である。例えば、グレード1-3の血液学的な毒性が、口腔乾燥症及び粘膜炎¹³を引き起こす唾液腺における強い集積と共に、 ^{131}I -MIP1095で報告された。²² ^5Ac ベースのLMW剤もまた、臨床試験段階にあり、唾液腺¹⁴に関連した同様の合併症が見られている。PSMAベースの放射性核種治療法の長期的な腎毒性(これらのLMW放射性治療法の薬剤の主要な安全性懸念である)に対処するには、よく設計された臨床試験で収集された前向きなデータが、依然として欠けている。

【0179】

安全かつ有効な臨床適用のための高い腫瘍/バックグラウンド比を有する薬剤の薬物動態(図13)を、前立腺がんの画像化及び治療の両方について検討した。これらの薬剤の全体的な生物学的なプロファイルを、レセプター特異的結合によってのみならず、非特異的相互作用によっても測定し、分子量、荷電、親水性、及び代謝安定性に関連していることがあった。これまでのところ、大まかに2種類のクラスの高親和性薬剤($K_i < 20 \text{ nM}$)が我々の研究から出現した:(i)タイプI薬剤。これらの薬剤は、PSMA特異的な腫瘍取り込みが高く及び体内への滞留も長いが、腎皮質及び脾臓を含む多くのPSMA発現正常組織において高い取り込みを示す¹⁵。例としては $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -オキソ¹⁶、 ^{64}Cu -1,4,7-トリアザシクロノナン-1,4,7-2-トリ酢酸(NOTA)¹⁷(図13A)、 ^{68}Ga -PSMA-11¹⁸、及び薬剤 ^{68}Ga -/ ^{177}Lu -PSMA-I&T、第2世代)(図13B)が挙げられ、これらはいくつかの臨床試験において、患者に投与されてきている^{6, 7, 19, 20}。これらの薬剤は、元のリンカー/尿素構築物上のキレート剤又はリンカーを単に変更することによって生成されるものであり²¹、PSMAへの親和性の改良につながった。近年、アルブミン結合p-(ヨードフェニル)酪酸部分²²⁻²⁵を用いて、腫瘍に高く滞留する、いくつかの高親和性放射性リガンドが開発されたが、マウス腎皮

質及び他の正常臓器においても、長くて高い放射用量となった。(ii) タイプII薬剤。これらの薬剤は、高い腫瘍の取り込み及び滞留、並びに腎臓及び唾液腺を含む大部分の正常組織からの速いクリアランスを呈し、その結果、高い腫瘍対バックグラウンド比を生じさせる^{16、17}。タイプII薬剤には、本発明者らにより開発された薬剤(図13A)²⁶及びPSMA-A-617⁵が含まれる(図13B)。薬剤IIは、最近、ファースト・イン・マン研究²⁷が行われた。PSMA発現腎からの腎クリアランスは、PSMA+腫瘍よりも速い、という類似のパターンが観察されており、これは異種移植片の比較的組織が乱れた血管系と比較して、正常に組織化された腎血管系をより速く流れる、ということとおそらく関連している^{26、28、29}。

【0180】

本発明の対象は、部分的には、転移性の前立腺がんの治療のためのターゲットを絞ったセラノスティック放射性医薬治療法を開発するための、PSMAをターゲットとする新しい一連の低分子化合物の前臨床評価を含む。2-[3-[1-カルボキシ-5-(4-¹²⁵I-ヨード-ベンゾイルアミノ)-ベンチル]-ウレイド]-ペンタンジオ酸(¹²⁵I-DCIBzL)が、ヒトPC異種移植片において、少なくとも48時間、持続的に腫瘍に取り込まれるので、Lys-尿素-Gluの4-ハロベンジル誘導体を他の尿素ベースの候補について調べた。その薬剤は、その高い線形エネルギー・トランスファーとオージェ電子の短距離放射(<10 mm)によって、腫瘍を有意に退縮させた³⁰。DCIBzLは、当技術分野で知られている最も強力なPSMA結合剤の1つ($K_i=0.01$ nM)である。更に、粒子を放出する²¹¹At標識型DCIBzLは、側腹部の腫瘍モデル及び微小転移モデルの両方において、有意な治療効果を示した³¹。そこで、本発明の金属ベースの放射線治療法薬剤を、その薬剤の結合親和性及び薬物動態を改善するために、リンカー及びキレート剤に何らかの合理的な修飾を施したDCIBzLの構造に由来するハロ-ベンジル-尿素-Gluを含有するように設計した。いくつかの代表的な化合物を合成して、その薬剤の腫瘍ターゲティング及び薬物動態特性を評価した。このアプローチによって、PSMAベースのターゲットを絞った放射性核種治療法のための、¹⁷⁷Lu、²¹²Pb又は²²⁵Acのオフターゲット効果が低減された最適化された薬剤にすることができる。

【0181】

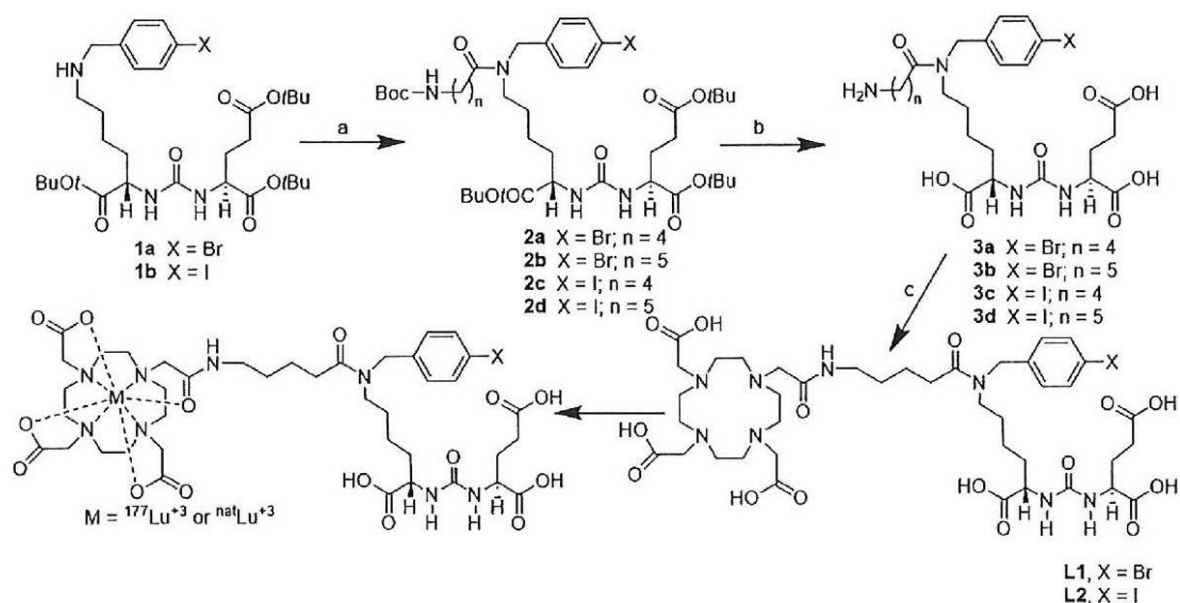
5.3 試験結果

5.3.1 合成スキーム。図13に示すように、一連の代表的な化合物を、高親和性薬剤であるDCIBzLに基づいて、構造活性相関(structure and activity relationships (SAR))研究のために合成した。全てのリガンドは、コントロール剤として設計したリガンドL8及びL14を除いて、(Br/I)-ベンジルLys-尿素-Gluターゲティング部分を含有するように設計した。リガンドL1-L4、L7-L9及びL13は、短くて柔軟なリンカーを有するように設計したが、L12は、剛性の芳香族リンカーを含有する。対照的に、リガンドL5、L6及びL14は、以前のリード薬剤と同様に、より長いリンカーを有するように設計した²⁶。キレート剤の効果を、リガンドL7及びL8において(L1におけるようなキレート剤DOTA-モノアミドをDOTA-Bn-SCNに置き換えることによって)、及びDOTAGAキレート剤を用いるL9において、検討した。リガンドL10及びL11は、それぞれL1及びL9と比較した、剛性のリンカー及びキレート剤に対する影響をチェックするために、DOTA-モノアミド及びDOTAGAキレート剤を有して、PSMA-617におけるような剛性のシクロヘキシル・リンカーを有するように設計した。リガンドL13は、Br-ベンジルLys-尿素-Gluを、臨床用PET造影剤である¹⁸F-DCFPYLに由来するBr-ピリジルLys-尿素-Gluに置き換えることにより、異なったターゲティング部分を有するように設計した³²。リガンドL14は、幾つかの研究グループによって近年研究されたように^{22-25、33}、以前に報告されたPSMA結合ターゲティング・プラットフォーム上にアルブミン結合部分である4-(p-ヨードフェニル)酪酸を有するように設計し、生体内分布の特性に及ぼす4-(p-ヨードフェニル)の影響を調べた。

【0182】

化合物は全て、Glu-Lys尿素誘導体を調製するための十分に確立された方法及び関連するリンカー及びキレート剤の結合化学に基づいて、液相化学で合成した。リガンドL1及びL2を、スキーム2に記載のように合成した。

【化 3 9】



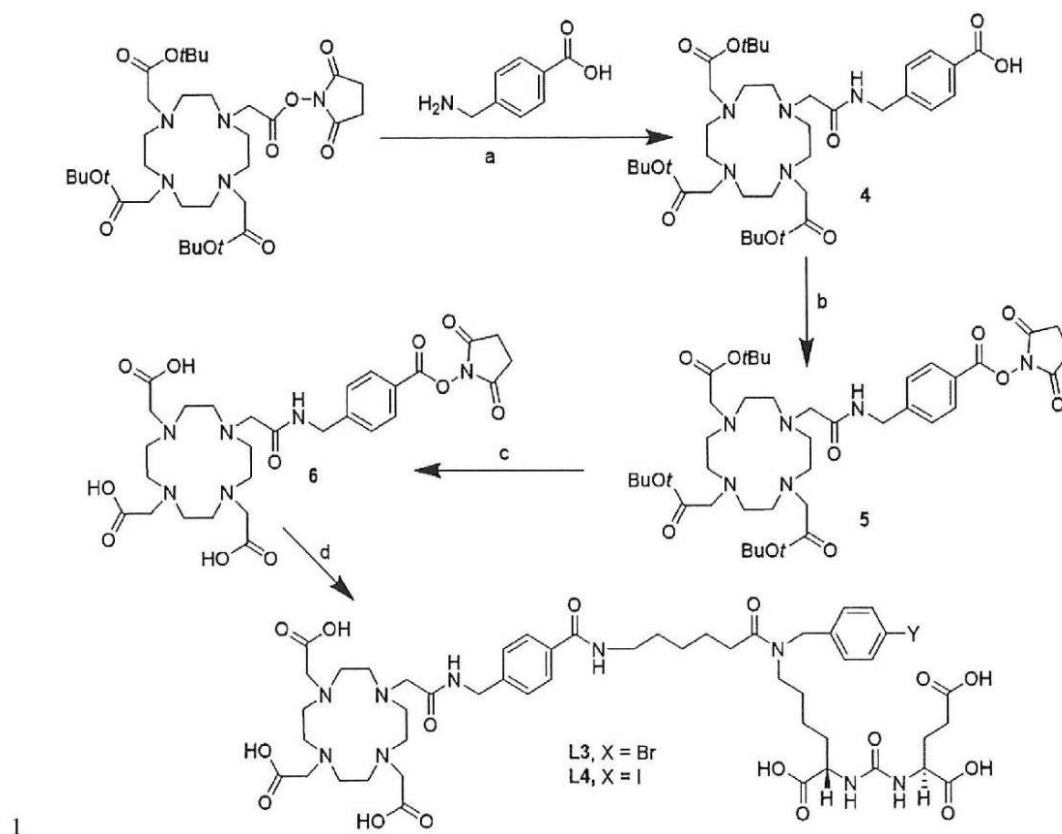
【 0 1 8 3 】

スキーム2。^a試薬と条件：(a)NaBH₃CN、MeOH；(b)Boc-5-アミノ吉草酸TSTU、DIPEA、DMF又はBoc-6-アミノヘキサノ酸N-ヒドロキシスクシンイミド・エステル、Et₃N、DMF、一晚、室温；(c)50%TFA/CH₂Cl₂；c)3a又は3c、DOTA-モノアミド-NHS、DIPEA、DMSO、室温、3時間；(d)¹⁷⁷Lu⁺³/Lu⁺³、pH ~4-50.2 NH₄OAc、5分、95 のマイクロ波。

【 0 1 8 4 】

尿素-リジン中間体ジ-tert-ブチル(((S)-1-(tert-ブトキシ)-6-((4-ヨード/プロモベンジル)アミノ)-1-オキソヘキサン-2-イル)カルバモイル)-L-グルタミン酸、1a又は1b (5-X-Bn)-Lys-尿素-Glu (X = Br/I)を、文献方法³⁴をいくつかの改変をして合成した。これらの2つの中間体化合物を使用して、L3、L4、L5、L6、L8、L9、L10、L11及びL12も合成した。簡単に述べると、Boc-5-アミノ吉草酸を1a及び1bに結合させて2a及び2cを得た後、tert-But及びN-Boc基を同時に取り除いて、それぞれ3a及び3cを90%を超える収率で生成した。次いで、化合物3a及び3cをDOTA-モノアミドのN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)-エステルと反応させて、ターゲット・リガンドL1及びL2を高収率で得た。リガンドL3及びL4は、スキーム3に示すように合成した。

【化 4 0】



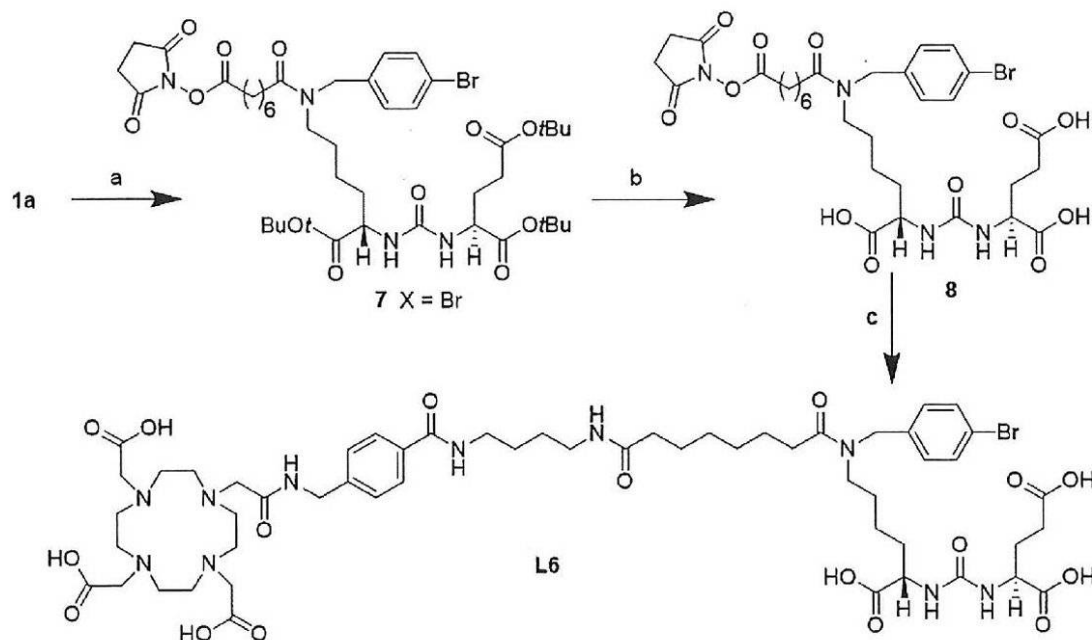
【 0 1 8 5】

スキーム3。^a試薬と条件：(a)DIPEA、DMF、室温、16時間；(b)TSTU、TEA、DMSO、4時間；(c)50%TFA/CH₂Cl₂；(d)3b又は3d、DIPEA、DMSO。

【 0 1 8 6】

剛性リンカーであるp-アミノメチル安息香酸とDOTA-モノアミドNHSエステルを用いて、結合反応を行い、化合物4を得て収率を定量した。次に、化合物4をトリメチルアミンの存在下でTSTUで処理することによって化合物5を得て、次いでTFA/CH₂Cl₂を用いてtert-ブチル基を除くことにより反応性中間体6を高収率で生成した。リガンドL3及びL4は、6と3b及び3dとの間の簡単な結合反応をさせた後に、良好な収率で得た。リガンドL5及びL6を、スキーム4に示す合成経路に従って合成した。

【化 4 1】



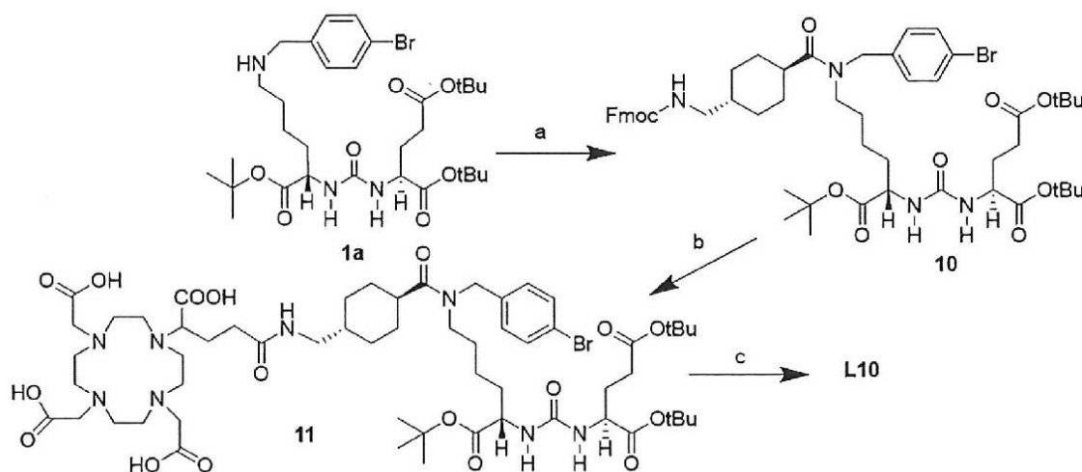
【 0 1 8 7 】

スキーム4。^a試薬と条件：(a)DSS、TEA、DMF；(b)50% TFA/CH₂Cl₂；(c)4、DIPEA、DMSO、3時間。

【 0 1 8 8 】

最初に、化合物7を、先に報告した³⁵ように、1aとジスクシンイミジル・スベレート(DSS)と反応させることによって合成した。次いで、化合物7を50% TFA/CH₂Cl₂で処理してt-ブチル基を除去して化合物8を合成し、次いでこれをBoc-5-アミノ吉草酸とカップリングさせた後、Boc基を除去し、化合物6とカップリングさせてL5を得た。更に、スキーム2に記載された合成ルートに従い、DOTA-モノアミドをDOTA-Bn-SCN(L7及びL8)及びDOTAGA(L9)に置き換えることにより、L1の3種類の類似体を合成した。DOTA-Bn-SCNの結合反応を40°Cで4時間行った。対照的に、キレート剤DOTAGAについては、反応混合物を最初に室温で1時間超音波処理して、高収率で結合反応物を得た。2つのリガンドL10及びL11(シクロヘキシル・リンカーを使用するL1の類似体)もまた、スキーム5に示すように合成した。

【化 4 2】



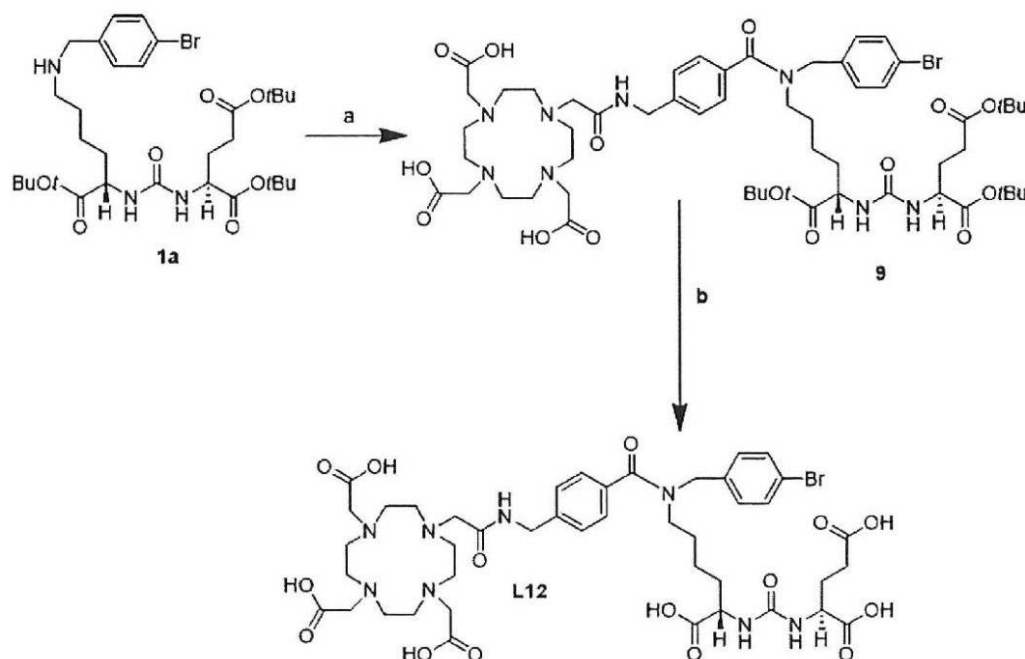
【0189】

スキーム5。^a試薬と条件：(a)(i)トランス-4-(Fmoc-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸)、TSTU、DIPEA、DMF、室温で1時間；(ii)20%ピペリジン/DMF；(c)DOTA-GA無水物、DIPEA、DMSO、3時間(c)50% TFA/CH₂Cl₂。

【0190】

まず、トランス-4-(Fmoc-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸)のNHS-エステルを *in situ* で合成し、これを1aと反応させて10を得た。Fmoc及びtert-ブチル基を続けて取り除いて、対応するキレート剤(DOTAGA及びDOTA-モノアミド)とカップリングさせた後、L10及びL11を優れた収率で得た。リガンドL12をスキーム6に示すように合成した。簡単に述べると、化合物1aを中間体6と反応させた後、Lys-尿素-Gluからtert-ブチル基を取り除いて、>80%の収率でL12を得た。

【化43】



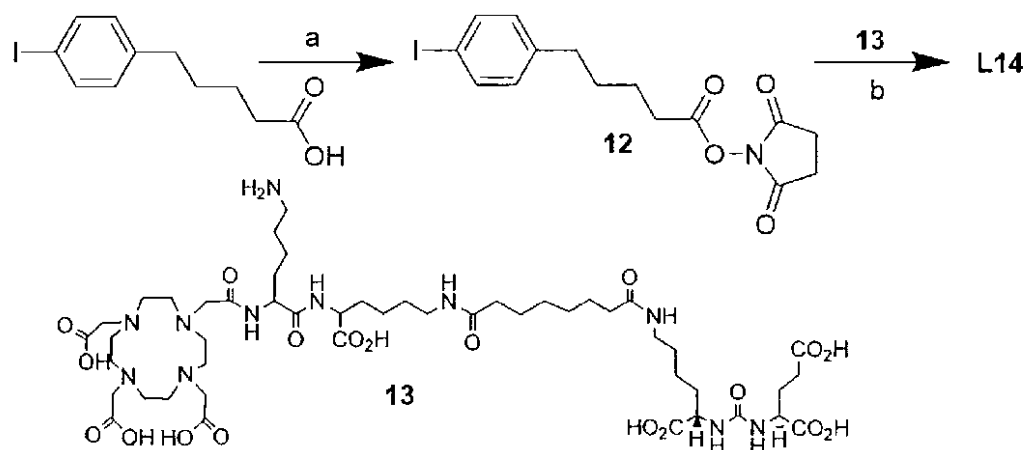
【0191】

スキーム6。(a)6、DIPEA、DMSO；(b)50%TFA/CH₂Cl₂。

【0192】

リガンドL13を、スキーム7に従って、但し、腫瘍ターゲッティング及び薬剤の薬物動態に対するファーマコフォアの効果を検討するために、p-プロモベンジルをp-プロモピリジル基で置き換えることによって、合成した。リガンドL14を、スキーム7に従って合成した。まず、p-(ヨードフェニル)酪酸のNHS-エステル(化合物12)を合成して収率を定量し、これを以前に報告した二官能性化合物14³⁵と反応させて、極めて良好にL14を得た。新しく合成したリガンドは全てHPLCで精製し、凍結乾燥して無色の吸湿性固形化合物を得て、質量分析及びNMR等を含む標準的な分光分析ツールで特性解析をした。全てのリガンドは、-20℃で少なくとも6ヶ月間安定であることが分かった。

【化 4 4】



スキーム7。^a試薬と条件：(a)TSTU、DIEA、DMF；(b)13、DIPEA、DMSO、2 時間。

【 0 1 9 3】

全ての新しいリガンドは、70℃で1時間インキュベートして、高い収率で、¹⁷⁷Luで放射性標識した。その後、HPLC精製をして放射性標識化合物から未反応リガンドを除去し、最も高い場合、放射化学的純度>99%及び比活性(> 37 MBq/nmol)を確保した。更に、L1及び関連リガンド(L7、L8、L9、L11、L12及びL13を含む)に対して、迅速で簡便なマイクロ波を使った放射性標識法が開発され、40℃、pH~4で、5分以内に優れた収率(>90%)で、¹⁷⁷Lu標識剤(¹⁷⁷Lu-L)を新しく合成した。マイクロ波を使う方法によって、p-ヨードベンジル尿素誘導体を用いたリガンド(例えば、L4及びL6)、長いリンカー(例えば、L3及びL5)及び剛性リンカー(例えば、L12)を用いたリガンド、に関して多数の放射性標識した生成物を合成した。全ての¹⁷⁷Lu標識化合物は、室温で4時間、4℃で24時間まで安定であり、有意な放射線分解は認められなかった。しかし、高い安定性を確保するために、最終的な製剤では、放射性標識した化合物にL-アスコルビン酸を添加し、本明細書で記載するin vivo実験に使用した。細胞取り込み及び内部移行の実験については、L-アスコルビン酸を添加せずに、直ちに実施した。

【 0 1 9 4】

5.3.2 In Vitro結合及び細胞取り込み。新しいリガンドは全て、0.03~8 nMの範囲のK_i値で、PSMAへの高い結合親和性を示した(表6)。L1の安定なルテチウム類似体(Lu-L1)を合成し、これは、L1よりも結合親和性において3倍の向上が見られた(表6)。L1~L14等を含む2時間インキュベーションでの細胞取り込みの比較研究を行うと、PSMA- PC3 flu細胞と比較して、PSMA+ PC3 PIP細胞は、約100倍高い取り込みであることが明らかになった。選択した化合物に対する細胞取り込み及び内部移行のデータを図14及び表7に示す。化合物に対する総取り込み及び内部移行は、1時間から24時間にかけて徐々に増加した。¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T及び¹⁷⁷Lu-PSMA-617の両方は、PSMA(+)PC3 PIP細胞内で有意に高い総取り込み(それぞれインキュベートした用量の約60%及び約40%)を示したが、一方で、¹⁷⁷Lu-L1、¹⁷⁷Lu-L3及び¹⁷⁷Lu-L5は、30%の範囲内での取り込みを示した。しかしながら、前記化合物に対して、内部移行のパーセントは、1時間で約18~24%、24時間で25~30%の、同じ範囲内であった。全ての化合物について、PSMA(+)PC3 PIP細胞における取り込みは、既知のPSMAインヒビター(ZJ43)で過剰に処理することによって、遮断することができた(表7)。¹⁷⁷Lu-7及び¹⁷⁷Lu-8の細胞内部移行についても、培養24時間後まで検討した。プロモ-ベンジル基で修飾した¹⁷⁷Lu-8は、全ての時間点で、それを含まないリガンド¹⁷⁷Lu-7と比較して、ほぼ>1.5倍高い内部移行を示した。重要なこととして、DOTAGAキレート剤を有する¹⁷⁷Lu-9は、同一キレート剤を含む¹⁷⁷Lu-PSMA-I&Tに匹敵する細胞取り込み及び内部移行(約70%)を示した(表7)。これとは対照的に、剛性シクロヘキシル・リンカーで

修飾した場合、DOTAGAキレート剤を有する ^{177}Lu -10は、 ^{177}Lu -8及び ^{177}Lu -9と比較して、より低い取り込み及び内部移行を示した。同様に、DOTA-モノアミドで修飾した ^{177}Lu -L11は、シクロヘキシル・リンカーも含有するが、 ^{177}Lu -L1と比較して、>1.5倍より低い取り込み及び ^{177}Lu -10と比較してより低い取り込みを示した。更に、剛性芳香族リンカーを有する ^{177}Lu -L12は、そのシリーズに由来するほとんどの薬剤と比較して、低い取り込みを示した。p-プロモピリジルで修飾した ^{177}Lu -13は、 ^{177}Lu -1と同等の細胞取り込みと内部移行の特性を示した。アルブミン結合4-(p-ヨードフェニル)-酪酸で修飾した ^{177}Lu -14は、2時間でPSMA(+) PC3 PIP細胞において、比較的より高い取り込みを示した。

【 0 1 9 5 】

【表 6】

表 6. 新規化合物及び選択された臨床薬剤の物理的特性及び PSMA 結合活性					
化合物	分子量	Ki [nM]	特異的な細胞表面への結合 [%IA/ 10^6 細胞]	特異的な内部移行 [%IA/ 10^6 細胞]	P オクタノール / 水係数
L1	973.87		36.49 ± 0.50	23.68 ± 0.16	-3.09
L2	1020.87	0.20 - 0.33 nM	29.23 ± 0.80	24.96 ± 0.90	
L3	1121.05	0.09 - 34 nM	36.65 ± 0.50	22.03 ± 0.60	-3.50
L4	1168.05	0.14 - 0.39 nM			
L5	1234.21	0.46 - 0.63 nM	36.65 ± 0.50	22.03 ± 0.60	
L6	1281.21	0.35 - 0.93 nM			
L7	969.41	0.29 - 0.81 nM			
L8	1138.5	0.08 - 0.16 nM ZJ43(0.28 - 1.08 nM)		20.06	
L9	1045.9360	0.02 - 0.05 nM		7.80	-3.53
L10	1086.0010	0.43 - 1.2 nM			
L11	1013.94				
L12	1007.8900	0.22 - 4.03 nM 0.25 - 0.56 nM (ZJ43)			
L13	973.34	0.23 - 8.10 nM ZJ43(0.28 - 1.07 nM)			
L14	1390.34		53.0 ± 1.3		-2.95
SR-VI-71			22.28		-3.02
PSMA-617			44.6 ± 1.0	21.1 ± 0.9	-3.2
PSMA I&T			64.5 ± 2.3	21.1 ± 0.7	-2.59

【 0 1 9 6 】

【表 7】

表 7. PSMA(+)PC3 PIP 及び PSMA(-)PC3 flu 電池における選択された化合物の電池取り込み及び内部移行データ。遮断試験では、既知の PSMA 阻害剤である ZJ43 を 10 μ M の最終濃度で使用した (1 \times 10⁶細胞あたりの%インキュベート照射量で表した)。

		¹⁷⁷ Lu-PSMA I&T	¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	¹⁷⁷ Lu-L1	¹⁷⁷ Lu-L3	¹⁷⁷ Lu-L5
1 h	PC3 PIP	60.0 \pm 0.2	42.2 \pm 0.80	32.1 \pm 0.1	27.0 \pm 1.3	26.6 \pm 0.6
	PC3 PIP 細胞 Int	21.1 \pm 0.7	18.8 \pm 1.2	18.8 \pm 0.8	21.4 \pm 1.4	24.1 \pm 0.5
	PC3 flu	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.01	0.2 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1
	遮断 PC3 PIP	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
2 h	PC3 PIP	60.0 \pm 0.2	44.6 \pm 1.	36.7 \pm 0.5	36.5 \pm 0.3	29.23 \pm 0.8
		25.1 \pm 1.5	21.1 \pm 0.9	22.0 \pm 0.6	23.7 \pm 0.2	25.0 \pm 0.9
	PC3 flu	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
4 h	PC3 PIP	72.2 \pm 0.4	47.6 \pm 1.13	39.1 \pm 0.5	32.6 \pm 8.5	34.4 \pm 1.2
	PC3 PIP 細胞 int	25.7 \pm 0.7	26.1 \pm 1.0	26.6 \pm 1.2	24.9 \pm 3.4	26.1 \pm 1.0
	PC3 flu	0.3 \pm 0.0	0.1 \pm 0.06	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
24 h	PC3 PIP	80.0 \pm 1.3	54.2 \pm 0.21	46.2 \pm 0.2	45.2 \pm 1.2	49.8 \pm 1.4
	PC3 PIP 細胞 int	28.3 \pm 1.2	26.4 \pm 0.8	24.6 \pm 0.2	30.0 \pm 0.7	27.9 \pm 0.8
	PC3 flu	0.4 \pm 0.1	0.1 \pm 0.01	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0

【 0 1 9 7 】

【表 8】

表 8：パイロット放射線療法試験の概要

	当初体重の平均 値 (グラム)	最終体重の平均 値 (グラム)	初期腫瘍 体積の平均 値 (mm ³)	治療 8 週間後 の腫瘍増殖率 の平均値 (V $\sqrt{V_0}$)	治療 8 週間 後における 生存の中央 値
コントロール群	23.7 \pm 2.7	21.4 \pm 2.3	84.2 \pm 38.4	41 \pm 22	33 days
¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	23.5 \pm 1.9	24.6 \pm 3.6	84.2 \pm 20.6	腫瘍消失 5 死亡 4 を超える腫 瘍 1 例	未到達
¹⁷⁷ Lu-PSMAI & T	22.7 \pm 2.73	24.0 \pm 2.9 2 週間の治療 後、8 週間以内 に体重減少が 15%を超えて回 復した	84.4 \pm 24.7	マウス死亡 1 腫瘍消失 7 腫瘍なし>5	未到達
¹⁷⁷ Lu-L1	24.1 \pm 1.4	26.1 \pm 1.4	83.2 \pm 22.8	腫瘍消失 7 死亡 1	未到達
¹⁷⁷ Lu-L3	24.7 \pm 1.7	25.8 \pm 2.6	85.2 \pm 24.1	マウス死 3 2つのがん>4	未到達
¹⁷⁷ Lu-L5	24.5 \pm 2.2	27.5 \pm 1.9	85.7 \pm 20.5	マウス死 3 5 を超える腫 瘍 1 例	未到達

【 0 1 9 8 】

5.3.3 生体内分布試験。PSMA+ PC3 PIPとPSMA-PC3 flu腫瘍の両方を、上側腹部に有する雄NOD-SCIDマウスを用いて生体内分布試験を行うことにより、新しく開発した¹⁷⁷Lu化合物の腫瘍への取り込みとin vivo薬物動態を評価した。放射性トレーサー用量~1.67 \pm 0.2 MBq (~45 \pm 5 μ Ci)を、本明細書で提示した全ての研究に関して静脈内投与した。注射24後の初期の生体内分布研究に基づいて、72~96時間までのより長い時間点での詳細な生体内分布研究用の、いくつかのリガンドを選択した。化合物¹⁷⁷Lu-7 (Br-ベンジル修

飾した尿素基を含まない)並びに剛性リンカーを有する ^{177}Lu -11及び ^{177}Lu -12を除いて、全ての化合物は、注射24時間後に、18% ID/gを超えて、PSMA(+)腫瘍に高く取り込まれた。雄NOD-SCIDマウスにおける ^{177}Lu -PSMA-617、 ^{177}Lu -PSMA-I&T、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3及び ^{177}Lu -5の組織内分布は、図15及び図16のとおりである。マウスの体重及び腫瘍の重量を表9に示した。

【0199】

【表9】

表9. 生体内分布試験に使用した各時間での平均マウス体重及び平均腫瘍重量。データは、平均±s.d(n=4)で表した。

時間		^{177}Lu -PSMA-I & T	^{177}Lu -PSMA- 617	^{177}Lu -1	^{177}Lu -3	^{177}Lu -5
3h	体重	24.12 ± 1.04	20.83 ± 1.77	19.8 ± 1.39	21.60 ± 0.32	20.80 ± 1.61
	PC3 PIP	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.01
24h	体重	19.73 ± 0.89	22.08 ± 0.95	19.70 ± 0.77	22.56 ± 0.42	20.45 ± 1.01
	PC3 PIP	0.07 ± 0.01	0.040 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.05	0.05 ± 0.01
48h	体重	21.83 ± 1.01	22.6 ± 0.36	20.73 ± 1.24	21.95 ± 0.77	19.63 ± 0.25
	PC3 PIP	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.11 ± 0.06	0.08 ± 0.02
72h	体重	22.98 ± 0.57	20.50 ± 0.91	20.35 ± 0.86	22.2 ± 0.84	19.03 ± 0.63
	PC3 PIP	0.13 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.13 ± 0.05	0.07 ± 0.02

【0200】

注射3時間後に、 ^{177}Lu -3、 52.6 ± 4.9 %ID/g、及び ^{177}Lu -5 (56.3 ± 18.3)に関しては有意に高い腫瘍取り込みが観察されたが、一方で、 ^{177}Lu -1における腫瘍取り込みは ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA-I&Tと同等であった。しかし、24時間後には、 ^{177}Lu -3及び ^{177}Lu -5は、いずれもPSMA+ PC3 PIP腫瘍への取り込みに起因して、活性は速くクリアランスされ、 ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA-I&Tと同等な腫瘍への取り込みを引き起こした。対照的に、 ^{177}Lu -1は、 ^{177}Lu -PSMA-617と比較して有意に低い腫瘍への取り込みを示した。注射72時間後では、本発明者らは、化合物についての腫瘍取り込みに、有意な差異を観察しなかった。全ての化合物に関して、注射後3時間に始まるPC3 flu腫瘍における取り込みが低い(<0.3 % ID/g)、ということは、前記リガンドの結合親和性が高いということと合致して、前記化合物の特異性が高いことを示している。

【0201】

前記薬剤は、注射72時間後まで、ほぼ同様に腫瘍に取り込まれたが、前記薬剤の正常組織への取り込みについては、有意な変化が観察された。PSMAを発現する正常臓器(例えば、腎臓及び唾液腺及び脾臓)は、 ^{177}Lu -PSMA-I&Tに対して、有意に高かった。腎臓の取り込みは、 ^{177}Lu -PSMA-I&Tでは、注射3時間後で 93.39 ± 13.35 % ID/gであったが、そのシリーズに由来する残りの薬剤は、以下のように、<10% ID/gの取り込みを示した; ^{177}Lu -PSMA-617(9.81 ± 6.54 % ID/g)、 ^{177}Lu -1(5.17 ± 2.38 % ID/g)、 ^{177}Lu -3(7.49 ± 3.21 % ID/g)。 ^{177}Lu -PSMA-I&Tは、24時間で 30.39 ± 12.49 % ID/gの速い腎クリアランスを示したが、前記薬剤は、72時間まで、24時間毎に約3倍、腎臓への取り込みが低下した。対照的に、 ^{177}Lu -3及び残りの化合物は、腎クリアランスの速度がはるかに速く(～10倍のクリアランス)、結果として、24時間後に腎臓取り込みが<0.5 ID/gとなった。 ^{177}Lu -PSMA-I&Tを除き、血液並びに、肝臓、肺、胃、膵臓、脾臓、脂肪、副腎、筋肉、小腸、大腸、骨及び唾液腺を含む正常組織への取り込みは、投与の3時間後で、<0.5 % ID/gであった。 ^{177}Lu -PSMA-I&Tは、3時間後に、脾臓及び唾液腺に高く取り込まれたにもかかわらず、24時間内(これらの組織へ、他の一連の薬剤が示したのと同等の取り込みを示す(<1% ID/g))に速くクリアランスされた。

【0202】

選択した、 ^{177}Lu -1のp-ヨードベンジル類似体並びにハロベンジル修飾された尿素-ター

ゲティング部分を持たないリガンド、 ^{177}Lu -L7及び ^{177}Lu -L14、並びにプロモベンジル修飾された薬剤、 ^{177}Lu -L8、 ^{177}Lu -L9及び ^{177}Lu -L10、の組織生体内分布データを図17に示す。薬剤 ^{177}Lu -2は、 ^{177}Lu -L1と比較して、注射3時間後で、有意に、より高い腫瘍取り込みを示したが、72時間まで、腫瘍取り込み及び滞留が見られた。 ^{177}Lu -L7と ^{177}Lu -L8は、DOTA-Bn-SCNキレート剤で修飾したものであるが、 ^{177}Lu -L7と比較して、 ^{177}Lu -L8は、全ての時間点で、有意により高く、腫瘍に取り込まれ及び滞留した。このことは、更に、腫瘍での滞留に対するプロモベンジル基の重要性を強く示す(2時間で 55.4 ± 7.2 vs 25.4 ± 7.2 % ID/g ; 24時間で 40.6 ± 7.0 vs 7.0 ± 1.5 % ID/g ; 48時間で 27.0 ± 7.0 vs 7.0 ± 3.3 % ID/g及び 24.9 ± 2.3 vs 2.3 ± 0.0 % ID/g)。また、両剤は ^{177}Lu -PSMA-I&Tと比較して、はるかに速い腎クリアランスを示した。

【0203】

DOTAGAキレート剤を有する ^{177}Lu -L9は、注射72時間後まで、 ^{177}Lu -PSMA-I&Tと比較して、有意により高い腫瘍取り込みと滞留を示したが、はるかに速い腎クリアランス(24時間内に、約30倍の腎クリアランス(2時間で 149.7 ± 32.0 vs. 24時間で 5.9 ± 2.7 % ID/g))を示した。剛性シクロヘキシル・リンカーは、L1と比較して、細胞取り込みを高くすることはなく(^{177}Lu -L10及び ^{177}Lu -L11)、それぞれ ^{177}Lu -L9及び ^{177}Lu -L1と比較して、同様な又はより低い取り込みを示した。種々のターゲティング・リガンド(2-ピリジル)リガンドを有する薬剤 ^{177}Lu -L13は、 ^{177}Lu -L1と同様の腫瘍取り込みを維持しながら、はるかに速く正常組織からクリアランスされた。

【0204】

^{177}Lu -14の生体内分布は、アルブミン結合剤で報告されている生体内分布と一致しており、注射後24時間で腫瘍取り込みが最も高くなり、48時間まで高値を示した。前記薬剤は、最初に、 ^{177}Lu -PSMA-I&Tと比較して、より低い初期腎取り込み(49.49 ± 19.55 % ID/g)を示したが、活性が10倍低下した(24時間で 93.39 ± 13.35 % ID/g対48時間で 9.55 ± 3.85 % ID/g)ことと比較して、僅か約3倍(48時間で 17.47 ± 4.18 % ID/g)の活性のクリアランスが観察されるだけであった。前記薬剤はまた、前記シリーズの中で、最も高い血液取り込み(注射後2時間で 16.13 ± 2.33 % ID/g、続いて2時間で 5.05 ± 0.05 % ID/g及び48時間で 2.48 ± 0.44 % ID/g)を示した。脾臓及び唾液腺の両方が、このシリーズからの最も高い非特異的な取り込みを示した。

【0205】

5.3.4 SPECT/CTイメージング。

^{177}Lu -1及び ^{177}Lu -14を使用したSPECT/CTイメージングを行い、in vivoの薬物動態を確認した。生体内分布データから予想されたように、 ^{177}Lu -1を投与後2~192時間にSPECT/CTイメージングを行うと、予想通り、高い取り込みが、PSMA+ PC3 PIP腫瘍(右側)では確認されたが、PSMA- PC3 flu腫瘍(左側)では確認されなかった。また、前記生体内分布データと一致して、前記リガンドは、腎臓及び全ての正常組織において、非常に低い取り込みを示した。PSMA(+)PC3 PIP腫瘍内でのPSMA発現の状態もまた、イメージング実験の中で検討した。図18Bに示されるように、コントロール腫瘍(放射活性物の注射無し)と比較して、 ^{177}Lu -1(37MBq)で処置した腫瘍の1日後から12日後に、PC3 PIP腫瘍内で、PSMA(+)染色が有意に低下して観察された。これは、部分的には、PSMA発現をダウンレギュレーションさせる処置効果、及び処置した腫瘍では、かなりの数のPSMA結合部位に ^{177}Lu -1が結合したこと、に起因する可能性がある。低くはあるが、8日後及び12日後に見られる比較的高い染色は、腫瘍からの ^{177}Lu -1のクリアランスと一致する。

【0206】

111 MBq(3 mCi)の ^{177}Lu -PSMA 617、 ^{177}Lu -2、 ^{177}Lu -4及び ^{177}Lu -6を投与したマウス群(n= 3)の、8週間後での血液学的及び血液化学的なパラメータの比較を表10に示す。

【0207】

【表 10】

表 10

	$^{177}\text{Lu-1}$	$^{177}\text{Lu-3}$	$^{177}\text{Lu-5}$	$^{177}\text{Lu-PSMA-617}$	コントロール
赤血球(M/ μL)	9.1 ± 0.4	8.6 ± 0.2	9.2 ± 0.7	8.2 ± 0.7	9.3 ± 0.0
ヘモグロビン(g/dL)	14.3 ± 0.8	13.6 ± 0.4	14.3 ± 1.0	12.8 ± 1.0	14.0 ± 0.1
ヘマトクリット%	48.7 ± 2.7	45.6 ± 0.9	49.7 ± 2.4	42.9 ± 4.5	47.1 ± 1.1
平均赤血球値(MCV) fl	53.4 ± 0.6	53.1 ± 0.7	54.1 ± 1.4	52.2 ± 1.6	50.6 ± 1.0
血小板数(K/ μL)	1297 ± 231.4	1440.7 ± 92.0	1415.3 ± 88.5	916.0 ± 141.6	1503 ± 190.9
白血球(K/ μL)	2.4 ± 0.5	3.3 ± 1.7	2.9 ± 1.8	5.05 ± 4.1	4.8 ± 0.8
好中球(K/ μL)	1.2 ± 0.3	2.6 ± 1.9	2.0 ± 1.8	3.5 ± 3.8	2.6 ± 0.1
リンパ球(K/ μL)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.7 ± 0.5
総タンパク質(g/dL)	5.8 ± 0.2	5.5 ± 0.3	5.9 ± 0.6	5.5 ± 0.5	5.7 ± 0.1
アルブミン(g/dL)	3.1 ± 0.0	3.1 ± 0.2	3 ± 0.4	2.9 ± 0.2	3.1 ± 0.3
血中尿素窒素 (mg/dL)	24 ± 2.4	27.7 ± 1.2	22.7 ± 3.2	23.3 ± 2.5	25.5 ± 0.7

【0208】

5.3.5 細胞及び動物モデルにおける放射性核種治療法。 $^{177}\text{Lu-1}$ 及び $^{177}\text{Lu-8}$ で48時間インキュベーションした後のPSMA(+) PC3 PIP細胞のクローン形成効率を図26に示す。細胞生存分率は、前記細胞を2時間及び24時間インキュベートした場合、前記薬剤について >0.8 であった。48時間インキュベーションした後では、コロニー生存は有意に失われることが観察された。 $^{177}\text{Lu-1}$ と $^{177}\text{Lu-8}$ の D_0 (37%生存)は、同じ $0.3\sim 0.6 \mu\text{Ci/mL}$ の範囲であった。

【0209】

PSMA+ PC3 PIP腫瘍を有するNOD/SCIDマウス($n=10$ 例/群)を用い、 $111 \text{ MBq}(3 \text{ mCi})$ の薬剤($^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ 、 $^{177}\text{Lu-1}$ 、 $^{177}\text{Lu-3}$ 及び $^{177}\text{Lu-5}$)並びにコントロール群(生理食塩水投与)を、単回静脈内投与するパイロット治療試験を実施した(表8)。全てのコントロール群マウスの体積は、14日以内にそれらの初期腫瘍体積の5倍を超えた。治療群について、注射後4週間以内に安楽死させたマウスは、主に突然の体重減少によるものであり、腫瘍増殖には関連していなかった。全ての治療群で、8週までに、有意な腫瘍退縮が見られた。治療群間の差は、対数順位検定により、未治療群と比較して統計的に有意であった($P=0.002$)。表8に示すように、 $^{177}\text{Lu-3}$ 及び $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ で処置した群のマウス1匹のみが、並びに、高用量での $^{177}\text{Lu-4}$ のマウス2匹が、 >4 の腫瘍体積に達した。8週間後、血液分析及び腎臓の解剖検討を詳細に行うために、各処置群からマウスを3匹選んで使用した。選択した代謝及び全血球数データを、表3、図24及び図25に提供する。放射線治療法の研究を行った動物は全て、正常なクレアチニン($0.3\sim 0.4 \text{ mg/dL}$)及び血中尿素窒素レベルであった。図11に示すように、 $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ で治療した群の、僅か1匹のマウスのみが好中球数を上昇させた(後で $3.5 \pm 3.8 \text{ K/ml}$ まで; コントロール、 2.6 K/ml)。加えて、 $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ で治療した3匹のマウス全てに対して、コントロール群及び他の治療群と比較して、血小板が有意に低下した。

【0210】

広範なパネルの正常組織について、H&E染色の病理学的検査行くと、コントロール群と比較して、治療群では、中程度の変化があるだけであった。有意な変化及び関連する変化は、全ての治療群について、精巣及び涙腺において、主に同定された(図25)。 $^{177}\text{Lu-5}$ で治療したマウス1匹及び $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ で治療したマウス3匹全てで、最も有意な変化が精巣で見られた。腎臓における変化はごく僅かであり、全ての治療群について尿細管変化のみが僅かに見られた。耳下腺(通常眼窩外涙腺に隣接している)は、明らかに温存されており、 $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ を投与した群では軽度の変化が認められた。加えて、眼窩下涙腺は、 $^{177}\text{Lu-PSMA-617}$ で治療したマウス内では特にはっきりと、眼窩外涙腺に類似した変化

を示した。 ^{177}Lu -5で治療したあるマウスは、胸腺リンパ腫を有していて、形態はNOD/SCIDマウスで予想される死因である胸腺Tリンパ芽球性リンパ腫と一致し、通常約6か月で始まる。Tリンパ芽球性リンパ腫は、照射及びいくつかの発がん物質によって促進され、NOD/SCIDマウス系統における内因性レトロウイルス/レトロエレメントの相互作用と関連する。 ^{177}Lu -PSMA-617で治療した群のあるマウスは、肺(<1 mm)、並びに腫瘍細胞血管内、体腔、漿膜表面(がん腫症)で、腫瘍及び転移が見られ、血液塗抹標本でははっきりとしていた。前記細胞は、最大で25 μm の大きさで、非常に大きな核(マウスの場合)は通常2~3個の核小体を有し、有糸分裂の速度が高い。精巣及び涙腺の変性変化は、この動物が他の処置マウスと同様の処置を受けたことを示す。

【0211】

試験した動物は全て、正常なクレアチニン値(0.3~0.4 mg/dL)及び血中尿素窒素濃度であった。

【0212】

^{177}Lu -4及び ^{177}Lu -6については治療モニタリングを終了したが、 ^{177}Lu -1及び ^{177}Lu -PSMA-617については事前に設定したエンドポイント(腫瘍体積1800 mm^3 及び体重減少>15%)に達するまで治療試験を継続した。図18は、 ^{177}Lu -1及び ^{177}Lu -PSMA-617の生存データを示す。 ^{177}Lu -PSMA-617の生存期間の中央値は133日であったのに対し、 ^{177}Lu -1では234日であった。対照的に、この治療群は、いかなる変化も示さなかった。各動物についての個々の腫瘍体積の測定値を図24に示す。 ^{177}Lu -1が良好な治療効果を示したことを考慮し、用量を増やした18.5 MBq(0.5 mCi)、37 MBq(1 mCi)及び111 mMBq(3 mCi)(n=5/群)で、最大90日まで、増殖遅延試験を行った。図23に示すように、 ^{177}Lu -1は、全ての治療群に関して、無治療群と比較して有意な腫瘍増殖の遅延を示した。0.5 mCi用量で治療した5匹のマウスのうち4匹は、治療後8週目に、相対体積 > 5に達したが、37 MBq用量で治療した群のマウスは1匹のみが同様の効果を示した。37 MBq及び111 MBqで治療した両方の3匹のマウスは、120日までに完全な腫瘍退縮を示し、最初の治療実験で観察されたのと同様の治療効果が示された。

【0213】

PC3 PIP側腹部腫瘍モデルを用いて、治療24時間後から192時間後まで、111 MBqの用量を用いて、 ^{177}Lu -8(n= 10)のセラノスティック(SPECT/CTイメージング及び治療)試験も実施した。SPECT/CTイメージングにより、 ^{177}Lu -1と非常に類似したプロファイル(低い正常組織及び腎臓取り込み)が明らかにはなったが、生体内分布データから予想されたように、 ^{177}Lu -1と比較して、相対的により高いバックグラウンドの取り込みであった。3匹のマウス(SPECT/CTイメージングに使用)が予想外に死亡したが、8週間後に相対体積 >5の腫瘍増殖を示したマウスは2匹のみであった。残りの処置マウスは10ヶ月間、無腫瘍で生存し、毒性について評価した。

【0214】

5.3.6 考察

転移性前立腺がん患者の治療のために、新しい一連のPSMAベースの低分子量 ^{177}Lu 標識セラノスティクス薬剤のSARを検討した。 ^{177}Lu は、放出特性、製造可能性、及び放射線安全性の問題が ^{131}I 及び ^{90}Y よりも良好であるため、PSMAをターゲットとした及び他のがん治療用途に、好んで選ばれる放出同位体である。本検討を行う主な理由は、分子と構造の起源、すなわち、タイプIとタイプIIでPKが大きく異なることを説明するPSMA結合部位中のPSMA-ターゲティング部分Lys-Glu-尿素の相互作用、を理解する必要があることである。これを理解すると、 ^{177}Lu -PSMA-617及び ^{177}Lu -PSMA I&Tと比較して、放射線関連の副作用が少ないタイプIIの薬剤の探索へと進むことができる。本発明のセラノスティック薬剤は、十分に研究された、長いリンカーをベースとしたターゲティング・プラットフォームに基づいて構築される^{17, 21, 26, 36-42}。厳密な合成の観点から、PSMAに結合する化合物のための放射線セラノスティック薬剤及びケミカル・スペース(chemical space)の範囲を拡張することが意図された。低分子量のPSMAベースの放射性核種治療を開発することに向けた、同様に精力的に合成する取り組みは、当技術分野では他には知られていない。

【0215】

本発明の化合物を、最適化した液相化学を用いて合成した。従って、本発明の方法は、工業規模の調製に容易に適合させることができ、固相ペプチド合成方式と比較して、より安価であると予想される。これらの放射性標識治療剤は、放射性ピークから遊離リガンドを分離することにより、できるだけ特異的な放射能を持つものとして合成した。また、マイクロ波を使用した放射性標識法によって、40℃の低温で迅速且つ高く、放射性標識体が生成された。細胞取り込み及び内部移行、続いて組織生体内分布の研究を系統的に行うことにより、いくつかの重要な知見が明らかになった。

【0216】

第一に、PSMAターゲティングGlu-Lys-尿素にp-ハロベンジル部分を結合させることによって、腫瘍取り込みが高く、及び非特異的な正常組織への結合が低くなった。第二に、SAR研究により、4つの酢酸ドナーアームを有する大環状キレート剤DOTA-Bn-SCN(^{177}Lu -8)及びDOTAGA(^{177}Lu -9)の薬剤は、3つのアセチル化アームを有するDOTA-モノアミド・キレート剤(例えば、 ^{177}Lu -1)と比較して、より高く腫瘍に取り込まれ、及び滞留した。また、これらの薬剤は、 ^{177}Lu -1と比較して、より高い血漿結合を示し、また、 ^{177}Lu -PSMA I&Tと比較して、より高い初期腎臓取り込み及びはるかに速い腎臓クリアランスを示した。第三に、剛性リンカーと比較して、p-プロモベンジル部分を有する薬剤は、直鎖状リンカーとの、より高い腫瘍取り込み及び滞留を示した(例えば、 ^{177}Lu -1対 ^{177}Lu -11、及び ^{177}Lu -9対 ^{177}Lu -10)。この観察は、細胞取り込み研究にも反映されたが、 ^{177}Lu -10/ ^{177}Lu -11を有するシクロヘキシル・リンカーでは細胞内移行がより高かった。

【0217】

第四に、近年他の研究者らが報告したように、アルブミン結合部分を結合させることで、血清半減期を増加させることによって^{43, 44}、 ^{177}Lu -14がより長く腫瘍に滞留するようになった。しかしながら、他で報告されているように、これらの薬剤は、臨床薬剤 ^{177}Lu -PSMA-617又は ^{177}Lu -PSMA-I&Tと比較して、腎臓で有意に高く滞留することと関連している。これらの薬剤が、タイプIの薬剤に関連する明確な特徴を示したことを考慮すると、これらの薬剤は、 ^{131}I -MIP1095^{2, 12, 13}で認められたように、 ^{177}Lu -PSMA-617と比較して、唾液腺及び涙腺への取り込みがはるかに高いことが予想される。この剖検研究によって、涙腺で正常臓器の重篤な異常が見られたことから、これらの ^{177}Lu -PSMA剤の代用臓器として涙腺を使用できることが明らかになった。ほとんどの前臨床試験では涙腺への取り込みは報告されていないが、アルブミン結合剤CTT1403については涙腺への高い取り込みが示された²²。

【0218】

第五に、自己遮断試験によれば、腎取り込みが低い ^{177}Lu -1は、腫瘍取り込みに有意な変化はなく、10倍の腎臓遮断を生じ、一方、初期腎取り込みが高い ^{177}Lu -9では有意な腫瘍取り込み遮断が生じ、同様の効果が生じたことが明らかになった。このことは、D-リジン/ポリグルタミン酸のようなアミノ酸ベースの腎保護剤が、 ^{177}Lu -PSMA I&Tの腎取り込みを低下させることにおいて、向上させることができなかったことが示されてきているので、重要な発見である⁴⁵。この試験結果は、腎近位尿細管細胞における取り込みが、部分的には、PSMA発現に起因することが確認された⁴⁶。腎毒性は、 ^{177}Lu -PSMA放射性核種治療法の主要な問題ではないが、この遮断戦略は、 ^{225}Ac -PSMA-617を使ったPSMAベースの粒子治療法の唾液腺に関連した放射線毒性⁴⁷、及び粒子ベースのRPTでしばしば得られる長期腎毒性^{31, 48}のために、役立つことがある。

【0219】

5.4 材料と方法

商業的な供給元から購入した溶媒及び化学薬品は分析等級又はそれ以上であり、更に精製することなく使用した。ジイソプロピルエチルアミン(DIEA)、トリエチルアミン(TEA)、硝酸ルテチウム(III)、N,N,N',N'-テトラメチル-O-(N-スクシンイミジル)ウロニウム・テトラフルオロボレート(TSTU)、p-アミノメチル安息香酸、Boc-5-アミノ吉草酸、Boc-6-アミノヘキサン酸-N-ヒドロキシ・スクシンイミド及びジスクシンイミジル・スベレート

は、Sigma-Aldrichから購入した。DOTA-トリス(*t*-ブチル・エステル)-モノ酸(B270)及びDOTA-NHS-エステル(B280)は、Macrocyclics, Inc.(ダラス, TX)から購入した。キャリア-フリー $[^{177}\text{Lu}]\text{Cl}_3$ (NEZ307000MC)をPerkinElmer Health Sciences Inc(Shelton, CT, USA)から購入した。分析用薄層クロマトグラフィー(TLC)を、アルドリッチ・アルミニウム裏打ち0.2 mmシリカ・ゲルZ19、329-1プレートを用いて実施し、紫外光(254 nm)、 I_2 及び1%ニンヒドリンのエタノール溶液によって可視化した。フラッシュ・クロマトグラフィーを、Bodman(Aston PA)、MP SiliTech 32-63 D 60Aから購入したシリカ・ゲルを用いて行った。全ての実験は再現性を確実にするために、デュープリケート又はトリプリケートで行った。非放射性標識化合物のHPLC精製は、Phenomenex C_{18} Luna 10×250 mm² カラムを用いて、アジレント 1260 infinity LCシステム(サンタ・クララ, CA)で行い、水(0.1% TFA)(A)及び CH_3CN (0.1% TFA)(B)で溶出した。移動層88/22の水/ CH_3CN を1~5分間、続いて0~5分間の水88/12の水/ CH_3CN 及び5~25分間の88/22の水/ CH_3CN から44/56の水/アセトニトリルまで流速 8 mL/分、を含む勾配HPLC法を使用した。Bruker Ultrashield登録商標500 MHzスペクトロメーターで ^1H NMRスペクトルを記録した。化学シフト()は、NMR溶媒の不完全重水素化に起因するプロトン共鳴を参照して、ppmダウンフィールドで報告される。Bruker Daltonics Esquire 3000 Plus分光計で、低分解能のESIマス・スペクトルを得た。高分解能の質量スペクトルを、ノートルダム大学質量分析&プロテオミクス施設、ノートルダム、INで、ESIを使用して、Bruker micrOTOF-II上での直接注入によるか、又はBruker micrOTOF-Q IIと組合せた C_{18} カラムを用いた超高压Dionex RSLCによるLC溶出のいずれかにより、得た。化合物、Di-*tert*-ブチル(((S)-6-((4-プロモベンジル)アミノ)-1-(*tert*-ブトキシ)-1-オキソヘキサン-2-イル)カルバモイル)-L-グルタミン酸、5a、及びDi-*tert*-ブチル(((S)-1-(*tert*-ブトキシ)-6-((4-ヨードベンジル)アミノ)-1-オキソヘキサン-2-イル)カルバモイル)-L-グルタミン酸、5b、を、以下の報告の方法を少し変更して用いて調製した⁴⁹。70~80% MeOH/ H_2O で溶出する C_{18} カラム・クロマトグラフィーを用いて粗生成物を精製して、0.90g(62%)の油状物質を得た。

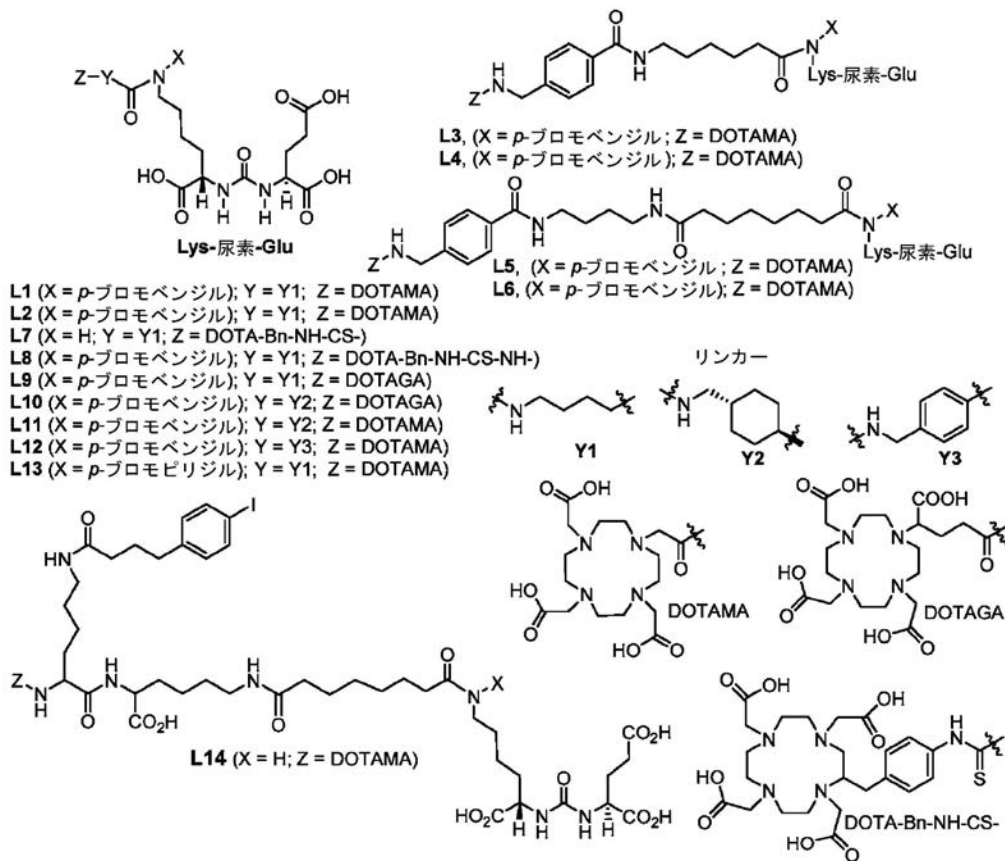
【 0 2 2 0 】

5 . 4 . 1 代表的な化合物の分析データ

式(1)の代表的な化合物をチャート 1 に提供する。

チャート1:

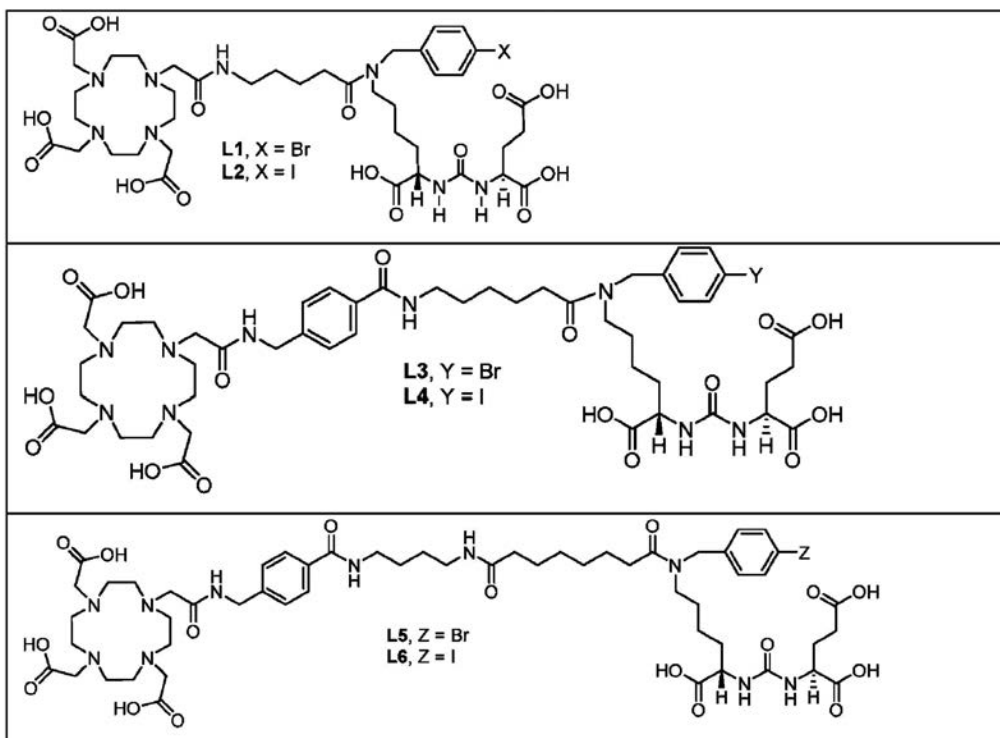
【化 4 5】



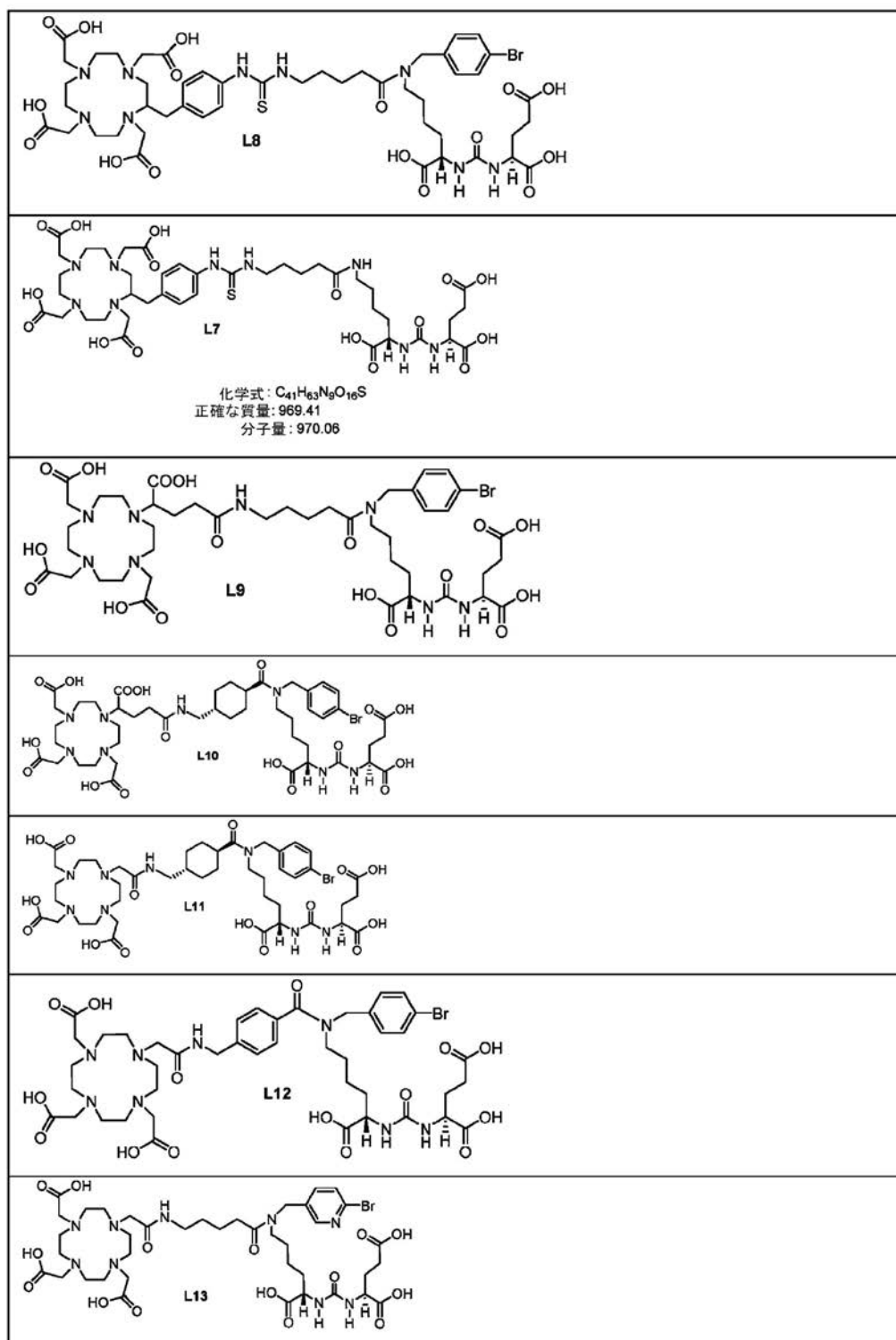
【 0 2 2 1】

以下の化合物は、式(1)の化合物の代表例である：

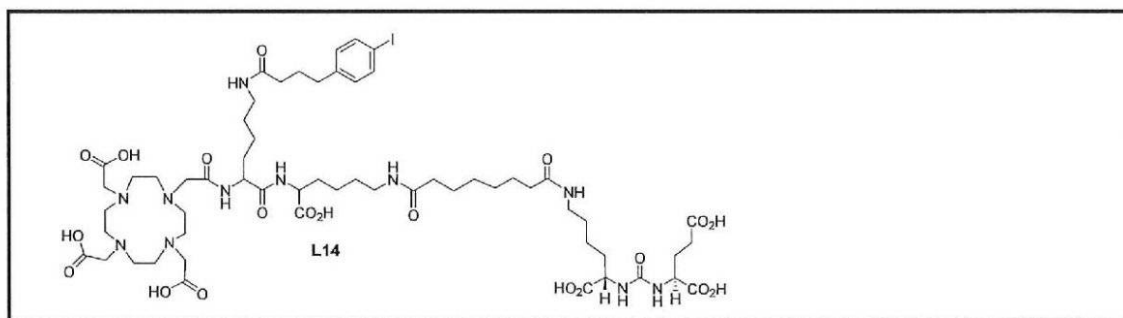
【化 4 6 - 1】



【化 4 6 - 2】



【化 4 6 - 3】



【 0 2 2 2】

リガンドL1及びL2を、スキーム2に示すように、通常の合成経路に従って合成した。以下、L2について詳細に説明する。

【 0 2 2 3】

(14S,18S)-9-(4-ブロモベンジル)-2,8,16-トリオキソ-1-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-3,9,15,17-テトラアザイコサン-14,18,20-トリカルボン酸(L1)。Boc-5-アミノ吉草酸(0.087g、0.40 mmol)、TSTU(0.121 g、0.40 mmol)及びDIPEA(0.103 g、0.80 mmol)の混合物を、DMF(1mL)中、室温で1時間撹拌した。DMF (1mL)で希釈した後、化合物1a(0.264g、0.40 mmol)を滴下した。この反応混合物を4時間撹拌し、濃縮し、100%(0.1% TFA中)で溶出するC₁₈カラム・クロマトグラフィーで精製し、0.151 g (44%)の油状物質を化合物2aとして得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆)

ppm 7.95 (s, 1H), 7.40 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.04 (d, J = 5 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 10 Hz, 1H), 5.48-5.44 (m, 1H), 4.87-4.83 (m, 1H), 4.48-4.36 (m, 2H), 4.26-4.21 (m, 2H), 3.66-3.63 (m, 1H), 3.12-2.95 (m, 4H), 2.90 (s, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.73 (s, 2H), 2.33-2.27 (s, 1H), 2.26-2.23 (m, 3H), 2.00-1.98 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.66-1.60 (m, 2H), 1.37 (s, 36H), 1.26-1.07 (m, 2H); ESMS m/z: 857.3 (M + H)⁺。50% TFA/CH₂Cl₂(2 ml)の冷溶液を2a(0.145 g、0.17 mmol)に加え、室温で2時間撹拌した。この反応混合物を濃縮し、40%アセトニトリル/水で溶出するC₁₈カラム・クロマトグラフィーで精製し、凍結乾燥して白色固形産物0.067 g(67%)を化合物3として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 7.55 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.19-7.15 (m, 2H), 4.62-4.53 (m, 2H), 4.33-4.27 (m, 2H), 3.40 (s, 1H), 2.98-2.92 (m, 2H), 2.83 (s, 1H), 2.56 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.16 (bs, 1H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.74 (s, 2H), 1.67-1.60 (m, 5H), 1.41-1.40 (m, 2H); ESMS m/z: 589.1 (M + H)⁺。DOTA-NHS-エステル (0.090 g、0.12 mmol)、3a(0.069 g、0.08 mmol)及びDIPEA(0.102 g、0.79 mmol)の反応混合物を室温で3時間撹拌した。この反応混合物を濃縮し、HPLCで精製して所望のリガンドL1を得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 12.50 (bs, 5H), 8.38 (bs, 1H), 7.57 (d, J = 5 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 5 Hz, 1H), 7.18-7.12 (m, 2H), 6.55 (bs, 1H), 6.37-6.29 (m, 2H), 4.53 (s, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.11-4.04 (m, 3H), 3.80 (bs, 4H), 3.25-2.77 (m, 10 H), 2.39-2.37 (m, 2H), 2.27-2.20 (m, 4H), 1.94-1.92 (m, 1H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.65-1.39 (m, 9H), 1.28-1.22 (m, 4H); HRESI-MS: Calcd. for C₄₀H₆₂BrN₈O₁₅, 973.3513 [M+H]⁺, 実測値: 973.3542。

【 0 2 2 4】

(14S,18S)-9-(4-ヨードベンジル)-2,8,16-トリオキソ-1-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-3,9,15,17-テトラアザイコサン-14,18,20-トリカルボン酸(L2)。化合物L3は、出発反応物として1b及び中間体として2c及び3cを使用することによって、スキーム3と同じ工程に従って調製した。化合物7cは、出発物質として5bを用いて、7aについて記載したのと同じ手法を用いて調製した。粗生成物を10% アセトン/CH₂Cl₂で溶出するカラム・クロマトグラフィーを用いて精製し、無色の油状

物質を得た。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 7.45 (m, 1H), 7.35 (t, J = 5 Hz, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.15 (d, J = 5 Hz, 1H), 5.70 (m, 1H), 4.58-4.47 (m, 1H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.40-3.30 (m, 1H), 3.16-3.08 (m, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.41-2.26 (m, 4H), 2.09-2.04 (1H), 1.85-1.80 (m, 1H), 1.75-1.62 (m, 4H), 1.58-1.52 (m, 3H), 1.44 (m, 27H), 1.35 (m, 6H)。

【 0 2 2 5 】

化合物3cを、出発物質として2cを用いて、3aについて記載したのと同じ手法を用いて調製した。粗生成物をHPLCを用いて精製した。L2のスペクトル・データ： ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 8.39 (bs, 1H), 7.38 (t, J = 10 Hz, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.21-7.18 (m, 2H), 6.36-6.29 (m, 2H), 4.56-4.50 (m, 2H), 4.11-4.01 (m, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.59 (s, 4H), 3.19-3.17 (m, 9H), 3.06 (s, 9H), 2.39 (t, J = 5 Hz, 1H), 2.30-2.23 (m, 3H), 1.91 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.63-1.39 (m, 8H), 1.24 (m, 2H); HRESI-MS: Calcd. for $\text{C}_{40}\text{H}_{61}\text{IN}_8\text{O}_{15}$, 1020.3301 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【 0 2 2 6 】

(14S,18S)-9-(4-プロモベンジル)-1,8,16-トリオキソ-1-(4-((2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)アセトアミド)メチル)フェニル)-2,9,15,17-テトラアザイコサン-14,18,20-トリカルボン酸(L3): 7bを、7aと同様の方法で、Boc-5-アミノ吉草酸をBoc-6-アミノヘキサ酸-N-ヒドロキシスクシンイミドに置換することで調製した。0.115g(46%)の油状物質を生成した。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 7.41 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 5 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 10 Hz, 1H), 5.47 (d, J = 10 Hz, 1H), 5.10-5.03 (m, 1H), 4.63-4.56 (m, 1H), 4.44 (s, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.27-4.22 (m, 2H), 3.29-3.21 (m, 1H), 3.07-3.01 (m, 5H), 2.30-2.19 (m, 4H), 2.03-1.98 (m, 1H), 1.80-1.75 (m, 1H), 1.66-1.58 (m, 7H), 1.49-1.45 (m, 4H), 1.38 (m, 27H), 1.27-1.04 (m, 5H); ESMS m/z : 871.3 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 。化合物3bを、出発物質として2bを用いて、3aについて記載したのと同じ手法を用いて調製した。その粗生成物を更なる精製をすることなく次のステップにそのまま用いた。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 7.73 (bs, 3H), 7.76 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.18-7.14 (m, 2H), 6.34 (m, 2H), 4.53 (s, 1H), 4.46 (m, 2H), 3.22-3.17 (m, 2H), 2.82-2.73 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.37 (s, 1H), 2.25 (m, 2H), 1.93 (s, 1H), 1.74-1.71 (m, 1H), 1.64 (s, 1H), 1.55-1.40 (m, 6H), 1.35-1.33 (m, 1H), 1.25 (s, 4H); ESMS m/z : 603.2 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 。4(0.065 g、0.08 mmol)、3b(0.047 g、0.08 mmol)及びDIPEA(0.101 g、0.80 mmol)の反応混合物を、DMSO(1 ml)中、室温で3時間撹拌した。前記反応混合物を濃縮し、HPLCで精製した。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 12.65 (brs, 5H), 8.42-8.39 (m, 1H), 7.84-7.81 (m, 2H), 7.56 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 7.17-7.12 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.53 (m, 3H), 4.46 -4.40 (m, 5H), 4.10-3.98 (m, 9H), 3.63 (bs, 5H), 3.26-3.14 (m, 13H), 2.38 (m, 2H), 2.31-2.20 (m, 3H), 1.93-1.92 (m, 1H), 1.72-1.71 (m, 1H), 1.63-1.41 (m, 8H), 1.34 (m, 1H), 1.25 (brs, 3H); HRESI-MS: Calcd. for $\text{C}_{49}\text{H}_{71}\text{BrN}_9\text{O}_{16}$, 1120.4197 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 実測値: 1120.4200。

【 0 2 2 7 】

(14S,18S)-9-(4-ヨードベンジル)-1,8,16-トリオキソ-1-(4-((2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)アセトアミド)メチル)フェニル)-2,9,15,17-テトラアザイコサン-14,18,20-トリカルボン酸(L4)。中間体化合物2dを、Boc-5-アミノ吉草酸をBoc-6-アミノヘキサ酸-N-ヒドロキシスクシンイミドに置き換え、反応物として1aを1bに置き換えることによって、2aについて記載したのと同じ方法に従って調製した。2dのスペクトル・データ。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 7.66 (brs, 1H), 7.61 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.15 (brs, 1H), 6.90 (d, J = 5 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 10 Hz, 1H), 5.30 (m, 1H), 5.09-5.03 (m, 1H), 4.63-4.58 (m, 1H), 4.43 (s, 1H), 4.39-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 3H), 3.07-3.00 (m, 3H), 2.30-2.22 (m, 5H), 2.00-1.98 (m, 1H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.70-1.64 (m, 3H)

), 1.62-1.61 (m, 2H), 1.38 (s, 36H), 1.32-1.09 (m 3H); ESMS m/z: 917.3 (M + H)⁺。
 3dのスペクトル・データ。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 7.87 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.04-6.99 (m, 1H), 4.59-4.51 (m, 1H), 4.32-4.25 (m, 3H), 3.69-3.66 (m, 1H), 3.38-3.35 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.96-2.89 (m, 1H), 2.51-2.45 (m, 1H), 2.43-2.39 (m, 3H), 2.17-2.14 (m, 1H), 1.91-1.72 (m, 2H), 1.71-1.62 (m, 6H), 1.45-1.28 (m, 8H); ESMS m/z: 649.2 (M + H)⁺。
 L4のスペクトル・データ。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 9.16 (bs, 4H), 8.41 (m, 4H), 7.82 (t, J = 10.0 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.01 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 6.37-6.30 (m, 2H), 4.44-4.39 (m, 8H), 4.11-3.97 (m, 9H), 3.66-3.61 (m, 5H), 3.16-3.08 (m, 13H), 2.30 (m, 1H), 2.29-2.20 (m, 2H), 1.94-1.92 (m, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.66-1.64 (m, 2H), 1.55-1.47 (m, 8H); HRESI-MS: Calcd. for C₄₉H₇₁IN₉O₁₆, 1168.4058 [M+H]⁺, 実測値: 1168.4045。

【 0 2 2 8 】

(21S,25S)-16-(4-プロモベンジル)-1,8,15,23-テトラオキソ-1-(4-((2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)アセトアミド)メチル)フェニル)-2,7,16,22,24-ペンタアザヘプタコサン-21,25,27-トリカルボン酸(L5)。リガンドL5を、スキーム4に示すように、多段階有機合成法に従って調製した。1a(0.190 g、0.29 mmol)、Et₃N(0.029 g、0.29 mmol)及びDMF(1 mL)の溶液を、DMF(1 mL)中のジスクシンイミジル・スベレート(0.223 g、0.61 mmol)の攪拌溶液に滴下した。その反応混合物を一晩攪拌し、濃縮し、30% アセトニトリル/CH₂Cl₂で溶出するフラッシュ・カラム・クロマトグラフィーによって精製して、0.120 g(46%)の油状物質を得た。ESMS m/z: 911.3(M + H)⁺。
 化合物8を、10について記載したのと同じ方法を用いて調製した。粗生成物を、40~60% アセトニトリル/CH₂Cl₂で溶出するカラム・クロマトグラフィーにより精製し、0.090 g(40%)の油状物質を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃-d₆) ppm 7.70 (brs, 1H), 7.62 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.41 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 5.09-5.02 (m, 1H), 4.45-4.35 (m, 2H), 4.25-4.19 (m, 3H), 3.41-3.34 (m, 1H), 3.12-3.05 (m, 2H), 2.57-2.50 (m, 2H), 2.31-2.18 (m, 5H), 1.97 (m, 1H), 1.86-1.77 (m, 3H), 1.71-1.63 (m, 5H), 1.57-1.46 (m, 5H), 1.37 (m, 27 H); ESMS m/z: 957.2 (M + H)⁺。
 化合物12を、3aについて記載したのと同じ方法を用いて調製した。粗生成物を、40~50% アセトニトリル/水で溶出するC-18カラム・クロマトグラフィーによって精製して、0.057 g(58%)の生成物を得た。ESMS m/z: 743.2(M + H)⁺。
 化合物L6を、出発物質として化合物1a及び12を用いて、L1について記載したのと同じ手法を用いて調製した。その反応混合物を濃縮し、HPLCで精製した。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 8.97 (brs, 1H), 8.43 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.78-7.73 (m, 1H), 7.56 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.17-7.14 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.52-4.39 (m, 8H), 4.09-4.00 (m, 6H), 3.65-3.60 (m, 5H), 3.26-3.08 (m, 11H), 3.07-3.04 (m, 3H), 2.36-2.33 (m, 1H), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.06-2.01 (m, 2H), 1.93-1.92 (m, 1H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 11H), 1.26-1.19 (m, 6H); HRESI-MS: Calcd. for C₅₅H₈₂BrN₁₀O₁₇, 1233.5037 [M+H]⁺, 実測値: 1233.5029。

【 0 2 2 9 】

(21S,25S)-16-(4-ヨードベンジル)-1,8,15,23-テトラオキソ-1-(4-((2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)アセトアミド)メチル)フェニル)-2,7,16,22,24-ペンタアザヘプタコサン-21,25,27-トリカルボン酸(L6)。化合物L7を、L5について記載したのと同じ方法を用いて調製した。粗生成物をHPLCによって精製した。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 8.97 (brs, 1H), 8.43 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.78-7.72 (m, 2H), 7.67 (d, J = 5, 1H), 7.55 (bs, 1H), 7.39 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 7.03-6.99 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.52-4.39 (m

, 4H), 4.11-4.00 (m, 6H), 3.64 (m, 4H), 3.26-3.04 (m, 14H), 2.35-2.33 (m, 1H), 2.27-2.22 (m, 3H), 2.20-2.01 (m, 2H), 1.93-1.92 (m, 1H), 1.73-1.62 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 11H), 1.26-1.19 (m, 6H); HRESI-MS: Calcd. for $C_{55}H_{82}IN_{10}O_{17}$, 1281.4899 [M+H]⁺, 実測値: 1281.4889.

【 0 2 3 0 】

(13S,17S)-8-(4-プロモベンジル)-7,15-ジオキソ-1-((4-((1,4,7,10-テトラキス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-2-イル)メチル)フェニル)アミノ)-1-チオキソ-2,8,14,16-テトラアザノナデカン-13,17,19-トリカルボン酸(L8)。p-SCN-Bn-DOTA(12.2 mg、17.7 μ mol)を、40 に平衡化したDMSO(130 μ L)中の5a(12.2 mg)及びDIPEA(15.2 μ L、87.0 μ mol)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を40 で4時間攪拌し、4で一晩保存した。反応混合物を逆相HPLCによって精製した(保持20% ACNを5分間、次いで20~40%を19分間)。R_t約12分。精製した画分を合わせ、ロータリーエヴァポレーションによって体積を減少させ、次いで凍結乾燥した。ESI-MS: 1138.37[M+H]⁺、実測値: 1138.5。化合物1を更に、勾配法を用いたHPLCにより精製した。前記HPLC法は、移動層88%水(0.1% TFAを含む)及び22% CH₃CN (0.1% TFA)を1~5分間、続いて0~5分間、水88%(0.1% TFAを含む)及び12% CH₃CN (0.1% TFA)、並びに5~25分間、88%水から44%水及び12% アセトニトリルから56% アセトニトリル、流速 8mL/分、を含む勾配法である。

【 0 2 3 1 】

(13S,17S)-7,15-ジオキソ-1-((4-((1,4,7,10-テトラキス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-2-イル)メチル)フェニル)アミノ)-1-チオキソ-2,8,14,16-テトラアザノナデカン-13,17,19-トリカルボン酸。(L7) p-SCN-Bn-DOTA(8.0 mg、11.6 μ mol)を、40 に平衡化したDMSO(150 μ L)中の5a及びDIPEA(10.1 μ L、58 μ mol)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を40 で4時間攪拌し、続いて室温に冷却し、水で希釈し、最後に逆相HPLCによって精製した(保持12% ACNを5分間、次いで12~32%を20分間)。R_t約12分。精製した画分を合わせ、蒸発させて体積を減少させ、次いで凍結乾燥した。M/Z calcd, 970.41. M/Z 実測値, 970.4. ESI-MS: 970.05[M+H]⁺、実測値: 970.1。

【 0 2 3 2 】

(3S,7S)-12-(4-プロモベンジル)-5,13,19-トリオキソ-22-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-4,6,12,18-テトラアザドコサン-1,3,7,22-テトラカルボン酸(L9)。DOTA-GA無水物(0.087 g、0.19 mmol)、8a(0.075 g、0.13 mmol)及びDIPEA(0.066 g、0.51 mmol)の懸濁液を1時間室温で超音波処理をし、更に2時間室温で攪拌した。その反応混合物を濃縮し、HPLCで精製した。ESMS m/z: 1047.2 (M + H)⁺. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 12.66 (bs, 4H), 7.86-7.82 (m, 1H), 7.56 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.34-6.29 (m, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.12-4.04 (m, 5H), 3.50 (m, 4H), 3.29 (m, 3H), 3.19 (m, 3H), 3.07-2.90 (m, 8H), 2.38 (m, 3H), 2.25 (m, 3H), 1.94-1.90 (m, 3H), 1.71 (m, 2H), 1.53-1.43 (m, 6H), 1.42 (m, 1H), 1.41-1.23 (m, 3H); ESMS m/z: 1047.2 (M + H)⁺. HRESI-MS: Calcd. for $C_{43}H_{65}BrN_8O_{17}$, 1047.3714 [M+H]⁺、実測値: 1045.3705。

【 0 2 3 3 】

((1S)-5-((1R,4r)-N-(4-プロモベンジル)-4-((4-カルボキシ-4-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)ブタンアミド)メチル)シクロヘキサン-1-カルボキサミド)-1-カルボキシペンチル)カルバモイル)-L-グルタミン酸(L11)(VK03-51)。trans-4-(Fmoc-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸)(0.069 g、0.18 mmol)、TSTU(0.055 g、0.18 mmol)及びDIPEA(0.064 g、0.50 mmol)の混合物を、DMF(1 mL)中、室温で1時間攪拌した。DMF (1 mL)で希釈した後、化合物5a(0.110 g、0.17 mmol)を滴下した。その反応混合物を4時間攪拌し、濃縮及び2% MeOH/CH₂Cl₂で溶出するシリカ・ゲル・クロマトグラフィーにより精製し、0.90 g(52.94%)の油状生成物を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) ppm 8.02 (s, 1H), 7.78 (d, J = 5.0 Hz, 3H), 7.60 (d, J = 10.0 Hz, 3H), 7.41 (t, J = 10.0 Hz, 4H), 7.33 (d, J = 10.0 Hz, 3H), 7.08 (m, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.46 (m, 3H), 4.22 (m, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.81 (s, 1H)

, 2.59 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 2.32 (m, 1H), 2.20 (s, 2H), 2.08 (m, 1H), 1.85 (m, 4H), 1.60-1.44 (m, 27H), 1.26 (s, 1H), 1.05-0.88 (m, 3H)。次いで、前記油状生成物を20%ピペリジン/DMFに溶解し、 N_2 下、室温で3時間撹拌した。その反応混合物を濃縮し、溶出液として10% MeOH/ CH_2Cl_2 を用いてクロマトグラフィーにかけて、0.030 gの生成物(収率=42.8%)を得た。ESMS m/z : 795.2($M + H$)⁺。前記生成物(0.030 g、0.04 mmol)を、DOTA-GA無水物(0.028 g、1 mlで0.05 mmol)及びDIPEA(0.024 g、0.18 mmol)の懸濁液に添加し、室温で1時間、超音波処理をし、続いて2時間室温で撹拌した。その反応混合物を濃縮し、70~80% ACN/ H_2O を溶出液として使用する、Sep-Pakカラムで精製した。ESMS m/z : 1253.4($M + H$)⁺。

【0234】

((S)-5-(N-(4-プロモベンジル)-4-((2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)アセトアミド)メチル)ベンズアミド)-1-カルボキシペンチル)カルバモイル)-L-グルタミン酸(L12)。

L1を、スキーム2に記載したように、多段階有機合成に従って合成した。DOTA-tBu-エステルの溶液に、1(7 mlのDMF中0.4 g、0.5 mmol)をp-アミノメチル安息香酸(0.076 g、0.5 mmol)と加え、その溶液を室温で一晩撹拌した。得られた溶液を高真空下で蒸発させた。固形残留分を20/80 アセトニトリル/水に溶解し、 C_{18} SepPakカラムで精製した。その生成物を60/40及び50/50及び40/60のアセトニトリル/水の画分で溶出した。その画分を一緒に合わせ、蒸発させ、続いて凍結乾燥させて、無色の固体を得た。収率: 0.36 g(80%)。ESMS m/z : 706.5($M + H$)⁺。化合物2の溶液(0.2 g、DMF中0.29 mmol)に、TSTU(0.1 g、0.34 mmol)及びDMAP(0.17 g、0.1 mmol)を加え、室温で一晩撹拌した。その溶液を高真空下で蒸発させた。固形残留分を20/80 アセトニトリル/水に溶解し、 C_{18} SepPakカラムで精製した。その生成物である化合物3を、50/50及び40/60アセトニトリル/水画分で溶出し、凍結乾燥して無色固形物を得た。収率: 0.23 g、90%。ESMS m/z : 802.96 ($M + H$)⁺。化合物3(0.2 g、0.23 mmol)を氷冷TFA/ CH_2Cl_2 (1:1)に溶解し、18時間一晩撹拌した。その反応混合物を濃縮し、50~60% アセトニトリル/水で溶出する C_{18} カラム・クロマトグラフィーにより精製し、凍結乾燥の後、良好な収率(0.16 g、約60%)で4を得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 9.03 (bs, 1H), 8.09 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 5.0$ Hz, 3H), 7.43 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.49 (m, 3H), 4.04-3.99 (m, 6H), 3.66 (m, 5H), 2.91 (s, 6H), 2.09 (s, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.23 (s, 1H); ESMS m/z : 635.3 ($M + H$)⁺。化合物6を、DMSO(1 mL)中に4(0.200 g、0.36 mmol)及び5a⁴⁹(0.050 g、0.16 mmol)を添加することによって合成し、続いてDIPEA(0.406 g、3.65 mmol)を添加し、その反応混合物を室温で一晩撹拌した。その粗生成物を濃縮し、更に精製することなく使用した。50% TFA/ CH_2Cl_2 (2 ml)の冷溶液を6(0.050 g、0.04 mmol)に加え、室温で2時間撹拌した。その反応混合物を濃縮し、HPLCにより精製し、良好な収率で最終産物L1を得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 12.80 (brs, 3H), 8.94 (s, 1H), 7.56 (m, 3H), 7.38-7.34 (m, 4H), 7.15 (m, 1H), 6.35 (d, $J = 10$ Hz, 2H), 4.64 (m, 4H), 4.43-4.39 (m, 5H), 4.13-3.99 (m, 7H), 3.63 (bs, 4H), 3.14 (m, 9H), 2.37-2.18 (m, 2H), 1.95-1.89 (m, 1H), 1.74-1.68 (m, 1H), 1.55-1.49 (m, 3H), 1.39-1.30 (m, 2H), 1.05 (m, 1H); HRESI-MS: Calcd. for $C_{43}H_{60}BrN_8O_{15}$, 1007.3356 [$M+H$]⁺, 実測値: 1007.3367。

【0235】

(14S,18S)-9-((6-プロモピリジン-3-イル)メチル)-2,8,16-トリオキソ-1-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-3,9,15,17-テトラアザイコサン-14,18,20-トリカルボン酸(L13)(VK02-112)。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 7.21 (m, 1H), 7.13 (m, 2H), 6.12 (bs, 1H), 5.90 (bs, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.19-4.15 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 2.34-2.23 (m, 3H), 2.07-2.02 (m, 1H), 1.82-1.76 (m, 1H), 1.70-1.64 (m, 3H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.43-1.37 (m, 27H), 1.27 (d, $J = 5$ Hz, 2H); ESMS m/z : 657.2 ($M + H$)⁺。生成物を、C-18 Sep-Pakカラムの70~90% ACN/ H_2O を用いて精製した。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) ppm 8.25 (s, 1H),

7.49 (m, 1H), 7.43 (m, 1H), 5.95 (m, 1H), 5.36 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.51 (m, 2H), 4.36-4.33 (m, 3H), 3.24-3.09 (m, 5H), 2.40-2.29 (m, 6H), 2.10-2.05 (m, 2H), 1.85-1.76 (m, 3H), 1.72-1.66 (m, 3H), 1.60-1.36 (m, 36H); ESMS m/z : 856.3 ($M + H$)⁺. 生成物を、溶出液として3% MeOH/CH₂Cl₂を用いてシリカ・ゲルで精製した。収率17.4%の生成物を、C-18 Sep-Pakカラムで、50~60%のACN/H₂Oを用いて精製した。収率82.6%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 8.27 (s, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.26-7.13 (m, 1H), 6.41-6.36 (m, 1H), 4.48 (dd, $J = 2.0, 1.5$ Hz, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.23 (m, 1H), 2.79 (bs, 2H), 2.42 (s, 1H), 2.33-2.21 (m, 3H), 1.94 (m, 1H), 1.75-1.65 (m, 2H), 1.57-1.42 (m, 6H), 1.28-1.23 (m, 3H), 1.10 (dd, $J = 5, 2.5, 1.5$ Hz, 1H); ESMS m/z : 588.2 ($M + H$)⁺.

【0236】

(3S,7S,26S,29R)-38-(4-ヨードフェニル)-5,13,20,28,35-ペンタオキソ-29-(2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)アセトアミド)-4,6,12,21,27,34-ヘキサアザオクタトリアコンタン-1,3,7,26-テトラカルボン酸(L14)(SR-IX-14 A)。

【0237】

5.4.2 放射線標識及び血清中での安定性。それぞれの放射性標識反応について、200 mM NaOAc (pH4~5) 中、mCiの¹⁷⁷Lu当たり約1 nmolの放射性リガンドを、5分間、95及び40wの出力のマイクロ波で加熱した。その反応溶液を300 µLの水で希釈した。錯体形成を、20~40 µLの溶液のアリコート(aliquot)をHPLC上にインジェクトすることによってモニターした。放射性標識された生成物[¹⁷⁷Lu]Xは、約98%の放射化学的収率で得られ、放射化学的純度は>99%であった。放射性標識した化合物は全て、Phenomenex C₁₈Luna 10×250 mm² カラム、及びAgilent Prostar System(Palo Alto, CA)を使用して精製したが、これらはVarian ProStar 325 UV-Vis可変波長検出器及びBioscan (Poway, CA)フロー・カウンタ・インライン放射能検出器を備えていて、どれもGalaxieソフトウェアによって制御した。流速は、溶出溶媒として水(0.1% TFA)(A)及びCH₃CN (0.1% TFA)(B)を用いて1 mL/分とした。均一な純度を確保するために、アイソクラティック溶液を使用して、放射性標識した化合物から余分なりガンドを分離した。比放射能を、分取HPLCによる精製過程で、生成物のリテンション・タイムで溶出する放射能と、UV吸収に関する曲線下面積に対応する質量との比率として計算した。試験化合物の純度は、254 nmでの吸光度を用いた分析HPLCによって測定したところ、> 95%であった。

【0238】

放射性標識した化合物のHPLC法およびHPLCクロマトグラムを得た(データは示されていない)。前記化合物の比活性は> 37 MBq/nmol ($n > 12$)であった。酸性溶出液を50 µLの1 M Na₂CO₃溶液で中和し、溶出液の容量を真空下で乾燥させて減少させた。その固形残留物を生理食塩水と2 µlのアスコルビン酸(200 mg/mL)で希釈し、生体内分布、イメージングおよび治療研究等を含む全ての生物学的研究に対して、所望の放射能濃度にした。放射性標識物の収率はまた、移動相に10 mMジエチレントリアミンペンタ酢酸(DTPA)を用いたシリカ・ゲル・インスタントTLC(ITLC)を用いて評価した。3マイクロリットルの希釈したサンプルを、ITLCシリカ・ゲル・ストリップ上にスポットし、クロマトグラフィー・チャンバー内で展開した。溶媒フロントへの移動が完了した後、ITLCサンプル・ストリップを乾燥させ、半分に切断し、WallacのWizard カウンター(パーキンエルマー、ボストン、MA)でカウントして放射性標識物の収率を測定した。放射化学的純度は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析によって評価した。

【0239】

5.4.3 細胞株。進行したアンドロゲン非依存性骨転移に由来するアンドロゲン非依存性PC3ヒト前立腺がん細胞株の垂株を使用した。これらの垂株は、高いレベルのPSMA[PSMAポジティブ(+)PC3 PIP]を発現するように改変されているか、又はターゲット[PSMA-ネガティブ(-)PC3 fluc]を欠いている。それらは、Dr.Warren Heston(Cleveland Clinic)の厚意により提供を受けた。細胞を、10%ウシ胎児血清(FBS)(Sigma-Aldrich、St.Louis、

MO)及び1% ペニシリン-ストレプトマイシン(Corning Cellgro、Manassas、VA)を含有する RPMI 1640培地(Corning Cellgro、Manassas、VA)中で増殖させた。PSMA+ PC3 PIP細胞を、20 $\mu\text{g/mL}$ のピューロマイシンの存在下で増殖させて、PSMA発現を維持させた。細胞培養は全て、加湿インキュベーター中、37.0 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 炭酸ガス(CO_2)を含む大気中で、維持した。

【0240】

5.4.4 細胞取り込み及び内部移行の測定。細胞取り込み研究を、以前に報告されたと同様に行った⁵⁰。細胞(100万個)を、6ウェル・プレート中の増殖培地中で、37 kBq/mL (1 $\mu\text{Ci/mL}$)の各放射性標識剤と共にインキュベートした。特異的な細胞取り込みを測定するために、細胞を最終濃度10 μM のZJ43で予め遮断した。細胞取り込みを、1 mLの氷冷したPBSで洗浄することによって終了させた。37 $^{\circ}\text{C}$ で20分間及び60分間インキュベートした後、細胞を結合バッファーで洗浄し、非酵素バッファーを用いてトリプシン処理し、細胞と関連した活性をスペクトロメータ(1282 Compugamma CS; Pharmacia/LKB Nuclear, Inc.)で測定した。内部移行アッセイについては、非酵素バッファーを用いて細胞をはがし、チューブ当たり100万個の細胞のアリコート(aliquot)を、1ミリリットル当たり37 kBq (1 μCi)のそれぞれの放射性標識剤と共に、37 $^{\circ}\text{C}$ で1、2、4及び24時間インキュベートした。レセプター・エンドサイトーシスは4 $^{\circ}\text{C}$ で最小であると見なされたので、37 $^{\circ}\text{C}$ でインキュベートした細胞のみを用いて内部移行アッセイを行った。1、2、4及び24時間で、培地を除去し、細胞を結合バッファーで1回洗浄し、続いて4 $^{\circ}\text{C}$ で5分間、マイルドな酸性バッファー(50 mMグリシン、150 mM NaCl [pH 3.0])で洗浄した。次いで、その酸性バッファーを回収し、細胞を結合バッファーで2回洗浄した。プールした洗浄液(細胞表面に結合した¹⁷⁷Lu標識剤が含まれる)及び細胞ペレット(内部移行した¹⁷⁷Lu標識剤が含まれる)を、標準品と共に自動カウンターで計数した。放射能値の全てを、100万個の細胞当たりのインキュベートした用量のパーセンテージ(%ID)に変換した。実験はトリプリケートで行い、3回繰り返した。データを、PRIZMソフトウェアを使用する線形回帰分析に従ってフィットさせた。

【0241】

5.4.5 生体内分布。PSMA(+)PC3 PIP及びPSMA(-)PC3 flu腫瘍の異種移植片を有するマウスに、150 μL の生理食塩水($n = 4$)中の1.11~1.85 MBq(30~50 μCi)の¹⁷⁷Lu-Xを尾静脈を介して注射した。注射の10分後、30分後、60分後及び120分後に、マウスを頸椎脱臼により屠殺し、そしてその血液を心臓穿刺により直ちに採取した。心臓、肺、肝臓、胃、脾臓、脾臓、脂肪組織、腎臓、筋肉、小腸及び大腸、膀胱、PSMA(+)PC3 PIP及びPSMA(-)PC3 flu腫瘍を採取した。各臓器を秤量し、組織の放射能を自動ガンマカウンター(1282 Compugamma CS, Pharmacia/ LKB Nuclear, Inc, Mt.Waverly, Vic. Australia)で測定した。組織1g当たりの注射した用量のパーセンテージ(% ID/g)を、最初の用量の標準希釈のサンプルと比較することによって計算した。減衰に関して、全ての測定値を補正した。

【0242】

5.4.6 in vivoでの血液血漿タンパク質結合試験及び代謝。マウス($n=2$ /群)に¹⁷⁷Lu-1及び¹⁷⁷Lu-9の放射性トレーサー(150 μL 生理食塩水中3.7 mBq)を、尾静脈への静脈注射により投与した。投与2時間後にマウスを殺した。血液をヘパリン処理したチューブに集め、血漿を単離するために遠心分離した(5分、1700 g)。血漿サンプル(50 μL)を限外濾過デバイス[Centrifree ultrafiltration device (Millipore Sigma, USA)]に移し、遠心分離してタンパク質を分離した。濾液及びタンパク質画分のサンプルをガンマ・カウンターで測定した。更に、ITLCを行って、水溶性血液画分中の放射性トレーサー安定性を評価した。

【0243】

5.4.7 小動物のSPECT/CTイメージング。選択した放射性トレーサー(¹⁷⁷Lu-1及び¹⁷⁷Lu-14)を、生体内分布試験に用いたのと同じPSMA(+)PC3 PIP及びPSMA(-)PC3 flu腫瘍の両方の異種移植片を有するモデル($n=2$)を用いて、イメージングをした。放射線治療のためのSPECT-CTイメージングは、PSMA(+) PC3 PIP腫瘍のみを有するマウスを用いて行っ

た。放射性医薬品を注射する前及び最中に、0.6 L/分で流れる1%イソフルランガス（酸素中）を用いてマウスを麻酔した。

【0244】

マウスに、150 μ Lの生理食塩水(pH 7)中に製剤化した約37 MBq(1 mCi)又は111 MBq(3 mCi、治療研究のために)の ^{177}Lu -Xを、尾静脈から注射した。放射性医薬品を2時間取り込ませた後、麻酔剤の流量を0.8 L/分に増加させながら、麻酔したマウスをスキャナ・ガントリー上に置き、医療用テープで固定した。マウスを数層のChux使い捨てパッドで覆い、スキャン中に解剖用ランプで照明することによって、マウスの体温を維持した。開口径1.0 mmの単一ピンホール中央エネルギー(Single-pinhole median-energy (PHME))コリメータと、64プロジェクション角度で段階的に回転させてフルに360°回転させる、45 sのインクリメント(increment)、でSPECTイメージングを行った。回転の半径を6.5 cmに設定し、これにより、頭部から膀胱にかけてマウスの体をカバーする7.5 cmの視野を確保した。シンチグラフィの前に、解剖学的な位置合わせ及び減衰補正の両方のためにCT 14スキャンを行った。全部で512 プロジェクションを、360°の回転をフルにカバーする2分間の連続回転モードで取得した。ベンダー(GammaMedica)から入手した市販のソフトウェアを用いて、データを再構築し、及び融合した。AMIDEソフトウェアを用いてデータを解析した。

【0245】

5.4.8 腫瘍の放射性医薬品治療法。 ^{177}Lu -L1、 ^{177}Lu -L3、 ^{177}Lu -L5及び ^{177}Lu -PSMA-617を単回静脈内投与したときの治療効果を、生理食塩水の場合と比較して、検討するために、PC3 PIP側腹部腫瘍増殖遅延モデルを用いて、抗腫瘍効果試験を実施した。これは、直接比較研究(head-to-head comparison study)であり、腫瘍を有するマウス及び放射能に関して、同じパッチを使用した。異種移植片の接種から14~18日後に(全てのマウスが約60~85mm³の腫瘍体積を有するときに)、本試験を開始した(表8)。全ての生存マウスを8週間モニターし、腫瘍の成長が遅延することをモニターした。マウスの体重及び腫瘍体積を、本実験を通して3日毎にモニターした。ACUC機関によって定義されたエンドポイントの基準は、体重減少 $\geq 15\%$ 、腫瘍体積 $>1800 \text{ mm}^3$ 、腫瘍が活動性の潰瘍化すること、又は疼痛又は不穏を示す異常行動であった。8週間後、各群から3匹のマウスを詳細な剖検及び血液分析に供した。 ^{177}Lu -1及び ^{177}Lu -PSMA-617を投与したマウス群は、エンドポイントまでモニタリングを継続した。これらの定義は、Kaplan-Meier分析にも用いられた。最初の腫瘍体積の5倍に達する確率を、Kaplan-Meier曲線を用いて明らかにし、対数順位検定を用いて比較を行った。 $V = \text{幅}^2 \times \text{長} / 2$ 、の公式を、腫瘍体積の算出に用いた。8週間後の ^{177}Lu 投与群及び111 MBqを投与した健常なCD-1(n = 3)マウスにおける毒性を、ジョンズホプキンス病理学コア施設での病理学的検査(血清代謝パネル、血球数、並びに腎臓、唾液腺及び涙腺の詳細な組織病理学等を含む全剖検、が項目である)により評価した。

【0246】

5.4.9 データ解析。データは、平均 \pm 標準偏差(SD)として表す。Prismソフトウェア(GraphPAD, San Diego, California)を用いて統計的有意性を判定した。統計的有意性は、対応のあるt検定を用いて計算した。P値 <0.05 を有意とみなした。

【0247】

5.5 参考文献

1. Kiess, A. P.; Banerjee, S. R.; Mease, R. C.; Rowe, S. P.; Rao, A.; Foss, C. A.; Chen, Y.; Yang, X.; Cho, S. Y.; Nimmagadda, S.; Pomper, M. G. Prostate-specific membrane antigen as a target for cancer imaging and therapy. *Quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging* 2015, 59, 241-68.
2. Haberkorn, U.; Eder, M.; Kopka, K.; Babich, J. W.; Eisenhut, M. New Strategies in Prostate Cancer: Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) Ligands for Diagnosis and Therapy. *Clinical cancer research* 2016, 22, 9-15.
3. Sterzing, F.; Kratochwil, C.; Fiedler, H.; Katayama, S.; Habl, G.; Kopka, K.; Afshar-Oromieh, A.; Debus, J.; Haberkorn, U.; Giesel, F. L. (68)Ga-PSMA-11 PE

- T/CT: a new technique with high potential for the radiotherapeutic management of prostate cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2016, 43, 34-41.
4. Rowe, S. P.; Macura, K. J.; Ciarallo, A.; Mena, E.; Blackford, A.; Nadal, R.; Antonarakis, E. S.; Eisenberger, M. A.; Carducci, M. A.; Ross, A. E.; Kantoff, P. W.; Holt, D. P.; Dannals, R. F.; Mease, R. C.; Pomper, M. G.; Cho, S. Y. Comparison of Prostate-Specific Membrane Antigen-Based 18F-DCFBC PET/CT to Conventional Imaging Modalities for Detection of Hormone-Naive and Castration-Resistant Metastatic Prostate Cancer. *Journal of nuclear medicine* 2016, 57, 46-53.
 5. Benesova, M.; Schafer, M.; Bauder-Wust, U.; Afshar-Oromieh, A.; Kratochwil, C.; Mier, W.; Haberkorn, U.; Kopka, K.; Eder, M. Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. *Journal of Nuclear Medicine* 2015, 56, 914-20.
 6. Herrmann, K.; Bluemel, C.; Weineisen, M.; Schottelius, M.; Wester, H. J.; Czernin, J.; Eberlein, U.; Beykan, S.; Lapa, C.; Riedmiller, H.; Krebs, M.; Kropf, S.; Schirbel, A.; Buck, A. K.; Lassmann, M. Biodistribution and radiation dosimetry for a probe targeting prostate-specific membrane antigen for imaging and therapy. *Journal of nuclear medicine* 2015, 56, 855-61.
 7. Weineisen, M.; Schottelius, M.; Simecek, J.; Baum, R. P.; Yildiz, A.; Beykan, S.; Kulkarni, H. R.; Lassmann, M.; Klette, I.; Eiber, M.; Schwaiger, M.; Wester, H. J. 68Ga- and 177Lu-labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA targeted theranostic concept and first proof of concept human studies. *Journal of nuclear medicine* 2015, 56, 1169-76.
 8. Kratochwil, C.; Giesel, F. L.; Eder, M.; Afshar-Oromieh, A.; Benesova, M.; Mier, W.; Kopka, K.; Haberkorn, U. [(1)(7)(7)Lu]Lutetium-labelled PSMA ligand-induced remission in a patient with metastatic prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015, 42, 987-8.
 9. Afshar-Oromieh, A.; Hetzheim, H.; Kratochwil, C.; Benesova, M.; Eder, M.; Neels, O. C.; Eisenhut, M.; Kubler, W.; Holland-Letz, T.; Giesel, F. L.; Mier, W.; Kopka, K.; Haberkorn, U. The Theranostic PSMA Ligand PSMA-617 in the Diagnosis of Prostate Cancer by PET/CT: Biodistribution in Humans, Radiation Dosimetry, and First Evaluation of Tumor Lesions. *Journal of Nuclear Medicine* 2015, 56, 1697-1705.
 10. Soydal, C.; Ozkan, E.; Akyurek, S.; Kucuk, N. O. Marked Response to 177Lu Prostate-Specific Membrane Antigen Treatment in Patient With Metastatic Prostate Cancer. *Clinical nuclear medicine* 2016, 41, 159-60.
 11. Baum R.P., K., H.R., Schuchardt C., Singh A., Weineisen M., Wiessalla S., Schottelius M., Mueller D., Klette I., Wester H.-J. Lutetium-177 PSMA Radioligand Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Safety and Efficacy. *Journal of nuclear medicine* 2016, In Press.
 12. Hillier, S.; Rubino, K.; Maresca, K.; Marquis, J.; Tesson, M.; Zimmerman, C.; Eckelman, W.; Mairs, R.; Joyal, J.; Babich, J. [131I]MIP-1466, a small molecule prostate-specific membrane antigen (PSMA) inhibitor for targeted radiotherapy of prostate cancer (PCa). *Journal of nuclear medicine meeting abstract* 2012, 53, 170.
 13. Zechmann, C. M.; Afshar-Oromieh, A.; Armor, T.; Stubbs, J. B.; Mier, W.; Hadaschik, B.; Joyal, J.; Kopka, K.; Debus, J.; Babich, J. W.; Haberkorn, U. Radiation dosimetry and first therapy results with a (124)I/ (131)I-labeled small molecule (MIP-1095) targeting PSMA for prostate cancer therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014, 41, 1280-92.

14. Haberkorn, U.; Afshar-Oromieh, A.; Giesel, F.; Kopka, K.; Eder, M.; Babich, J.; Kratochwil, C. P8.01PSMA ligands for diagnosis and therapy of prostate cancer. *Annals of Oncology* 2015, 26, ii33.
15. Trover, J. K.; Beckett, M. L.; Wright, G. L. Detection and characterization of the prostate-specific membrane antigen (PSMA) in tissue extracts and body fluids. *International Journal of Cancer* 1995, 62, 552-558.
16. Ray Banerjee, S.; Pullambhatla, M.; Foss, C. A.; Falk, A.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Effect of chelators on the pharmacokinetics of (99m)Tc-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen (PSMA). *Journal of medicinal chemistry* 2013, 56, 6108-21.
17. Banerjee, S. R.; Pullambhatla, M.; Foss, C. A.; Nimmagadda, S.; Ferdani, R.; Anderson, C. J.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. (6)(4)Cu-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for PET imaging of prostate cancer. *Journal of medicinal chemistry* 2014, 57, 2657-69.
18. Eder, M.; Schaefer, M.; Bauder-Wuest, U.; Hull, W.-E.; Waengler, C.; Mier, W.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M. 68Ga-Complex Lipophilicity and the Targeting Property of a Urea-Based PSMA Inhibitor for PET Imaging. *Bioconjugate Chemistry* 2012, 23, 688-697.
19. Afshar-Oromieh, A.; Haberkorn, U.; Schlemmer, H. P.; Fenchel, M.; Eder, M.; Eisenhut, M.; Hadaschik, B. A.; Kopp-Schneider, A.; Rothke, M. Comparison of PET/CT and PET/MRI hybrid systems using a 68Ga-labelled PSMA ligand for the diagnosis of recurrent prostate cancer: initial experience. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014, 41, 887-97.
20. Afshar-Oromieh, A.; Avtzi, E.; Giesel, F.; Holland-Letz, T.; Linhart, H.; Eder, M.; Eisenhut, M.; Boxler, S.; Hadaschik, B.; Kratochwil, C.; Weichert, W.; Kopka, K.; Debus, J.; Haberkorn, U. The diagnostic value of PET/CT imaging with the 68Ga-labelled PSMA ligand HBED-CC in the diagnosis of recurrent prostate cancer. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2015, 42, 197-209.
21. Banerjee, S. R.; Foss, C. A.; Castanares, M.; Mease, R. C.; Byun, Y.; Fox, J. J.; Hilton, J.; Lupold, S. E.; Kozikowski, A. P.; Pomper, M. G. Synthesis and evaluation of technetium-99m- and rhenium-labeled inhibitors of the prostate-specific membrane antigen (PSMA). *Journal of medicinal chemistry* 2008, 51, 4504-17.
22. Choy, C. J.; Ling, X.; Geruntho, J. J.; Beyer, S. K.; Latoche, J. D.; Langton-Webster, B.; Anderson, C. J.; Berkman, C. E. (177)Lu-Labeled Phosphoramidate-Based PSMA Inhibitors: The Effect of an Albumin Binder on Biodistribution and Therapeutic Efficacy in Prostate Tumor-Bearing Mice. *Theranostics* 2017, 7, 1928-1939.
23. Benesova, M.; Umbricht, C. A.; Schibli, R.; Muller, C. Albumin-Binding PSMA Ligands: Optimization of the Tissue Distribution Profile. *Mol Pharm* 2018, 15, 934-946.
24. Umbricht, C. A.; Benesova, M.; Schibli, R.; Muller, C. Preclinical Development of Novel PSMA-Targeting Radioligands: Modulation of Albumin-Binding Properties To Improve Prostate Cancer Therapy. *Mol Pharm* 2018.
25. Kelly, J.; Amor-Coarasa, A.; Ponnala, S.; Nikolopoulou, A.; Williams, C., Jr.; Schlyer, D.; Zhao, Y.; Kim, D.; Babich, J. W. Trifunctional PSMA-targeting constructs for prostate cancer with unprecedented localization to LNCaP tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2018.
26. Banerjee, S. R.; Foss, C. A.; Pullambhatla, M.; Wang, Y.; Srinivasan, S.;

Hobbs, R. F.; Baidoo, K. E.; Brechbiel, M. W.; Nimmagadda, S.; Mease, R. C.; Sgouros, G.; Pomper, M. G. Preclinical evaluation of ^{86}Y -labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for dosimetry estimates. *Journal of nuclear medicine* 2015, 56, 628-34.

27. Kulkarni, H. R.; Singh, A.; Schuchardt, C.; Niepsch, K.; Sayeg, M.; Leshch, Y.; Wester, H. J.; Baum, R. P. PSMA-Based Radioligand Therapy for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: The Bad Berka Experience Since 2013. *Journal of nuclear medicine* 2016, 57, 97s-104s.

28. Hillier, S. M.; Kern, A. M.; Maresca, K. P.; Marquis, J. C.; Eckelman, W. C.; Joyal, J. L.; Babich, J. W. ^{123}I -MIP-1072, a small-molecule inhibitor of prostate-specific membrane antigen, is effective at monitoring tumor response to taxane therapy. *Journal of nuclear medicine* 2011, 52, 1087-93.

29. Chen, Y.; Pullambhatla, M.; Foss, C. A.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Senthambizhchelvan, S.; Sgouros, G.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. 2-(3-(1-Carboxy-5-[(6-[^{18}F]fluoro-pyridine-3-carbonyl)-amino]-pentyl)-ureido)-pentanedioic acid, [^{18}F]DCFPyL, a PSMA-based PET imaging agent for prostate cancer. *Clinical cancer research* 2011, 17, 7645-53.

30. Chen, Y.; Foss, C. A.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Pullambhatla, M.; Fox, J. J.; Castanares, M.; Lupold, S. E.; Babich, J. W.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Radiohalogenated Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Based Ureas as Imaging Agents for Prostate Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry* 2008, 51, 7933-7943.

31. Kiess, A. P.; Minn, I.; Vaidyanathan, G.; Hobbs, R. F.; Josefsson, A.; Shen, C.; Brummet, M.; Chen, Y.; Choi, J.; Koumarianou, E.; Baidoo, K.; Brechbiel, M. W.; Mease, R. C.; Sgouros, G.; Zalutsky, M. R.; Pomper, M. G. (2S)-2-(3-(1-Carboxy-5-(4- ^{211}At -Astatobenzamido)Pentyl)Ureido)-Pentanedioic Acid for PSMA-Targeted alpha-Particle Radiopharmaceutical Therapy. *Journal of nuclear medicine* 2016, 57, 1569-1575.

32. Szabo, Z.; Mena, E.; Rowe, S.; Plyku, D.; Nidal, R.; Eisenberger, M.; Antonarakis, E.; Fan, H.; Dannals, R.; Chen, Y.; Mease, R.; Vranesic, M.; Bhatnagar, A.; Sgouros, G.; Cho, S.; Pomper, M. Initial Evaluation of [^{18}F]DCFPyL for Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Targeted PET Imaging of Prostate Cancer. *Molecular Imaging and Biology* 2015, 1-10.

33. Muller, C.; Struthers, H.; Winiger, C.; Zhernosekov, K.; Schibli, R. DOTA conjugate with an albumin-binding entity enables the first folic acid-targeted ^{177}Lu -radionuclide tumor therapy in mice. *J Nucl Med* 2013, 54, 124-31.

34. Tykvart, J.; Schimer, J.; Barinkova, J.; Pachi, P.; Postova-Slavetinska, L.; Majer, P.; Konvalinka, J.; Sacha, P. Rational design of urea-based glutamate carboxypeptidase II (GCPII) inhibitors as versatile tools for specific drug targeting and delivery. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2014, 22, 4099-108.

35. Banerjee, S. R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Foss, C. A.; Green, G.; Fox, J. J.; Lupold, S. E.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Sequential SPECT and optical imaging of experimental models of prostate cancer with a dual modality inhibitor of the prostate-specific membrane antigen. *Angewandte Chemie International Edition* 2011, 50, 9167-70.

36. Banerjee, S. R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Green, G.; Fox, J. J.; Horti, A.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. ^{68}Ga -labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA) for imaging prostate cancer. *Journal of medicinal chemistry* 2010, 53, 5333-41.

37. Banerjee, S. R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Foss, C. A.;

Green, G.; Fox, J. J.; Lupold, S. E.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Sequential SPE CT and Optical Imaging of Experimental Models of Prostate Cancer with a Dual Modality Inhibitor of the Prostate-Specific Membrane Antigen. *Angewandte Chemie* 2011, 50, 9167-70.

38. Banerjee, S. R.; Pullambhatla, M.; Shallal, H.; Lisok, A.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. A modular strategy to prepare multivalent inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA). *Oncotarget* 2011, 2, 1244-53.

39. Chen, Y.; Dhara, S.; Banerjee, S. R.; Byun, Y.; Pullambhatla, M.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. A low molecular weight PSMA-based fluorescent imaging agent for cancer. *Biochemical and biophysical research communications* 2009, 390, 624-9.

40. Chen, Y.; Pullambhatla, M.; Banerjee, S. R.; Byun, Y.; Stathis, M.; Rojas, C.; Slusher, B. S.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Synthesis and biological evaluation of low molecular weight fluorescent imaging agents for the prostate-specific membrane antigen. *Bioconjug Chem* 2012, 23, 2377-85.

41. Ray Banerjee, S.; Pullambhatla, M.; Foss, C. A.; Falk, A.; Byun, Y.; Nimmgadda, S.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Effect of chelators on the pharmacokinetics of (99m)Tc-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen (PSMA). *J Med Chem* 2013, 56, 6108-21.

42. Shallal, H. M.; Minn, I.; Banerjee, S. R.; Lisok, A.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Heterobivalent agents targeting PSMA and integrin- α v β 3. *Bioconjug Chem* 2014, 25, 393-405.

43. Dennis, M. S.; Jin, H.; Dugger, D.; Yang, R.; McFarland, L.; Ogasawara, A.; Williams, S.; Cole, M. J.; Ross, S.; Schwall, R. Imaging tumors with an albumin-binding Fab, a novel tumor-targeting agent. *Cancer research* 2007, 67, 254-61.

44. Dennis, M. S.; Zhang, M.; Meng, Y. G.; Kadkhodayan, M.; Kirchhofer, D.; Combs, D.; Damico, L. A. Albumin binding as a general strategy for improving the pharmacokinetics of proteins. *The Journal of biological chemistry* 2002, 277, 35035-43.

45. Chatalic, K. L.; Heskamp, S.; Konijnenberg, M.; Molkenboer-Kuenen, J. D.; Franssen, G. M.; Claahsen-van Groningen, M. C.; Schottelius, M.; Wester, H. J.; van Weerden, W. M.; Boerman, O. C.; de Jong, M. Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer: PSMA I&T, a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent. *Theranostics* 2016, 6, 849-61.

46. Chang, S. S. Overview of Prostate-Specific Membrane Antigen. *Reviews in Urology* 2004, 6, S13-S18.

47. Kratochwil, C.; Bruchertseifer, F.; Rathke, H.; Bronzel, M.; Apostolidis, C.; Weichert, W.; Haberkorn, U.; Giesel, F. L.; Morgenstern, A. Targeted Alpha Therapy of mCRPC with 225Actinium-PSMA-617: Dosimetry estimate and empirical dose finding. *Journal of Nuclear Medicine* 2017.

48. Song, H.; Hobbs, R. F.; Vajravelu, R.; Huso, D. L.; Esaias, C.; Apostolidis, C.; Morgenstern, A.; Sgouros, G. Radioimmunotherapy of breast cancer metastases with alpha-particle emitter 225Ac: comparing efficacy with 213Bi and 90Y. *Cancer Res* 2009, 69, 8941-8.

49. Tykvart, J.; Schimer, J.; Barinkova, J.; Pachi, P.; Postova-Slavetinska, L.; Majer, P.; Konvalinka, J.; Sacha, P. Rational design of urea-based glutamate carboxypeptidase II (GCP II) inhibitors as versatile tools for specific drug targeting and delivery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2014, 22, 4099-4108.

50. Ray Banerjee, S.; Chen, Z.; Pullambhatla, M.; Lisok, A.; Chen, J.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Preclinical Comparative Study of (68)Ga-Labeled DOTA, NOTA,

and HBED-CC Chelated Radiotracers for Targeting PSMA. Bioconjugate chemistry 2016, 27, 1447-55.

【 0 2 4 8 】

参考文献

本明細書において言及された全ての刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献は、本発明の対象に係る当業者のレベルを示すものである。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献（例えば、ウェブサイト、データベースなど）は、個々の刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献が、具体的かつ個々に、参照により取り込まれることが示されているかのような程度において、その全体が本明細書に参照により取り込まれる。多数の特許出願、特許及び他の参考文献が本明細書で参照されているが、そのような参照が、これらの文献のどれもが、当該技術分野において共通する一般知識の一部をなすことを認めるものではないことと理解される。本明細書と何れの組込まれた参考文献との間に矛盾がある場合、本明細書（そのいかなる修正を含み、それは、組込まれた参考文献に基づくかもしれない）が優先するものとする。本明細書では、特に明記しない限り、標準的な技術的に受け入れられた用語の意味が用いられる。本明細書では、様々な用語の標準的な略語を使用する。

【 0 2 4 9 】

International PCT Patent Application No. PCT/US2008/007947 to Pomper, M.G., Ray, S., Mease, R.C., Foss, C. for Labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA), biological evaluation, and use as imaging agents, published 2008/12/31 (WO 2009/002529 A2) ;

International PCT Patent Application No. PCT/US2008/013158 to Chandran S.S., Ray S., Denmeade S.R., Pomper M.G., Mease R.C. for Prostate specific membrane antigen targeted nanoparticles for therapy of prostate cancer, published 2009/06/04 (WO 2009070302 A1) ;

International PCT Patent Application Publication No. PCT/US2010/028020 to Pomper M.G., Mease R.C. ; Ray S., Chen Y. for PSMA-targeting compounds and uses thereof, published 2010/09/23 (WO 2010108125 A2) ;

Banerjee, S. R., Foss, C. A., Pullambhatla, M., Wang, Y., Srinivasan, S., Hobbs, R. F., Baidoo, K. E., Brechbiel, M. W., Nimmagadda, S., Mease, R. C., Sgouros, G., and Pomper, M. G. (2015) Preclinical evaluation of ⁸⁶Y-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for dosimetry estimates. Journal of nuclear medicine 56, 628-34 ;

Banerjee, S. R., Pullambhatla, M., Byun, Y., Nimmagadda, S., Green, G., Fox, J. J., Horti, A., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2010) ⁶⁸Ga-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA) for imaging prostate cancer. J Med Chem 53, 5333-5341 ;

Banerjee, S. R., Pullambhatla, M., Byun, Y., Nimmagadda, S., Foss, C. A., Green, G., Fox, J. J., Lupold, S. E., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2011) Sequential SPECT and optical imaging of experimental models of prostate cancer with a dual modality inhibitor of the prostate-specific membrane antigen. Angewandte Chemie International Edition 50, 9167-9170 ;

Banerjee, S. R., Pullambhatla, M., Shallal, H., Lisok, A., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2011) A modular strategy to prepare multivalent inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA). Oncotarget 2, 1244-1253 ;

Ray Banerjee, S., Pullambhatla, M., Foss, C. A., Falk, A., Byun, Y., Nimmagadda, S., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2013) Effect of chelators on the pharmacokinetics of (^{99m}Tc)-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen (PSMA). J Med Chem 56, 6108-6121 ;

Banerjee, S. R., Pullambhatla, M., Foss, C. A., Nimmagadda, S., Ferdani, R., A

Anderson, C. J., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2014) (6)(4)Cu-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for PET imaging of prostate cancer. J Med Chem 57, 2657-2669;

Ray Banerjee, S., Chen, Z., Pullambhatla, M., Lisok, A., Chen, J., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2016) Preclinical Comparative Study of (68)Ga-Labeled DOTA, NOTA, and HBED-CC Chelated Radiotracers for Targeting PSMA. Bioconjug Chem 27, 1447-1455;

Benesova, M., Schafer, M., Bauder-Wust, U., Afshar-Oromieh, A., Kratochwil, C., Mier, W., Haberkorn, U., Kopka, K., and Eder, M. (2015) Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. Journal of nuclear medicine 56, 914-20 ;

Tykvart, J., Schimer, J., Jancarik, A., Barinkova, J., Navratil, V., Starkova, J., Sramkova, K., Konvalinka, J., Majer, P., and Sacha, P. (2015) Design of Highly Potent Urea-Based, Exosite-Binding Inhibitors Selective for Glutamate Carboxypeptidase II. Journal of medicinal chemistry 58, 4357-63 ;

Weineisen, M., Simecek, J., Schottelius, M., Schwaiger, M., and Wester, H.-J. (2014) Synthesis and preclinical evaluation of DOTAGA-conjugated PSMA ligands for functional imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. EJNMMI Res 4, 1-15 .

【 0 2 5 0 】

前述の対象は、理解を明確にするための説明及び実施例によってある程度詳細に記載されているが、当業者には、添付の特許請求の範囲内で、変更及び改変が実施され得ることが理解されるであろう。

【 誤 訳 訂 正 2 】

【 訂 正 対 象 書 類 名 】 特 許 請 求 の 範 囲

【 訂 正 対 象 項 目 名 】 全 文

【 訂 正 方 法 】 変 更

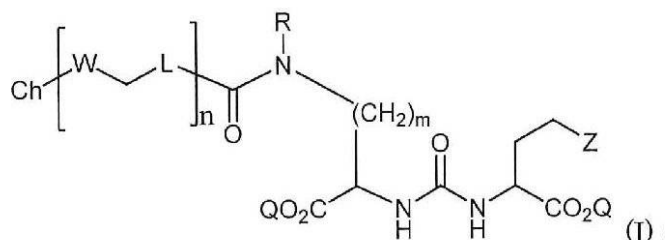
【 訂 正 の 内 容 】

【 特 許 請 求 の 範 囲 】

【 請 求 項 1 】

式 (I) の 化 合 物 :

【 化 1 】



ここで、

Z はテトラゾール又は CO₂Q であり ;

Q は H 又は保護基であり ;

mは、1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり ;

Rは、独立して、H 又は -CH₂-R¹ であり ;

R¹ は、置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンからなる群から選択され ;

Lは、C₁-C₆アルキレン及び C₃-C₆ シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群か

ら選択されるリンカーであり；

Wは $-NR^2-(C=O)-$ 、 $-NR^2-(C=S)-$ 、 $-(C=O)-NR^2-$ 、及び $-(C=S)-NR^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く；

R^2 は H 又は C_1-C_4 アルキルであり；

nは、1、2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；

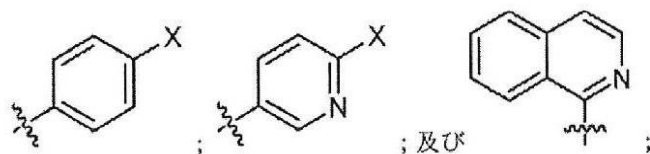
Ch は、金属又は放射性金属を含むことができるキレート剤である；

並びにその薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

R^1 が、以下：

【化 2】

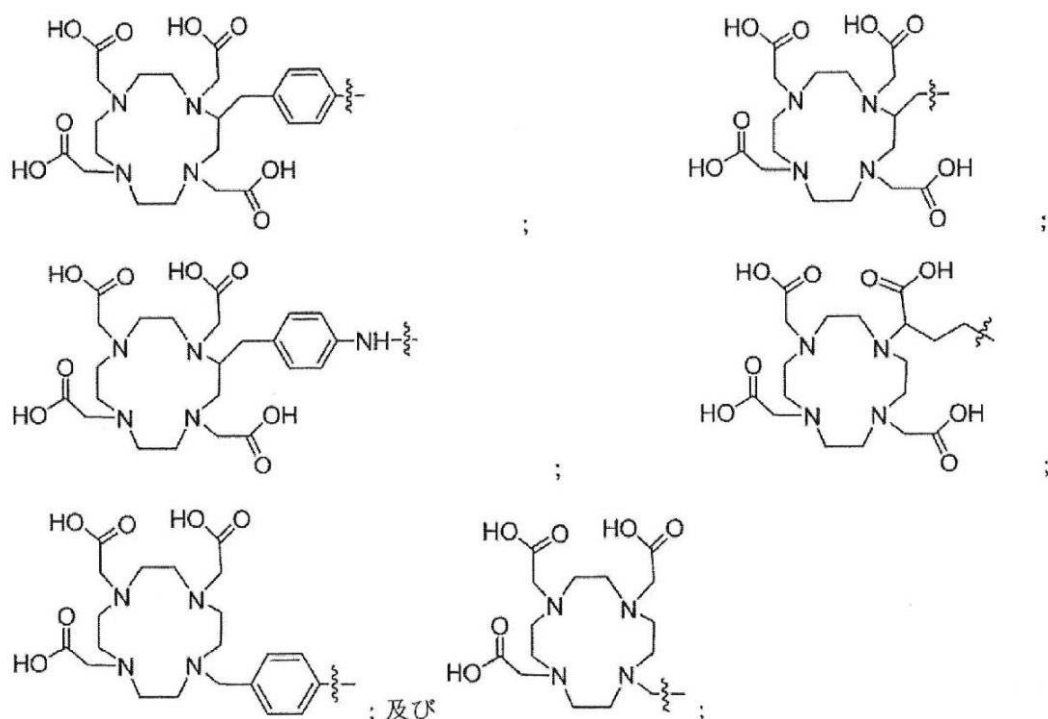


ここで、X は独立して Br 又は I である、
からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

前記キレート剤が、以下：

【化 3】



からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記金属キレート剤が、以下：Y, Lu, Tc, Zr, In, Sm, Re, Cu, Pb, Ac, Bi, Al, Ga, Re, Ho 及び Sc からなる群から選択される金属を含む、請求項 1 に記載の化合物。

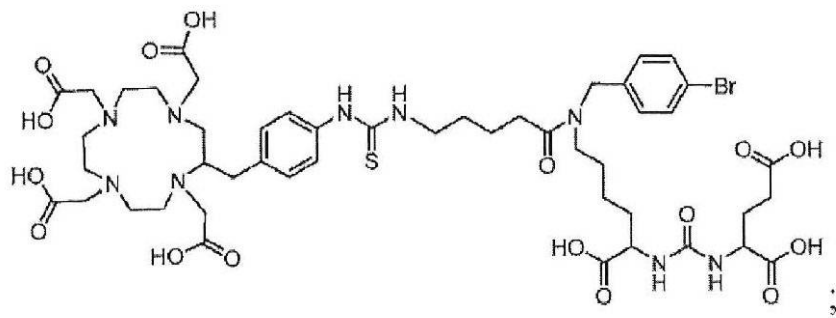
【請求項 5】

前記金属が放射性金属であり、以下： ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{177}Lu , ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{225}Ac , ^{213}Bi , ^{212}Bi , ^{212}Pb , ^{67}Ga , ^{203}Pb , ^{47}Sc 及び ^{166}Ho からなる群から選択される、請求項 4 に記載の化合物。

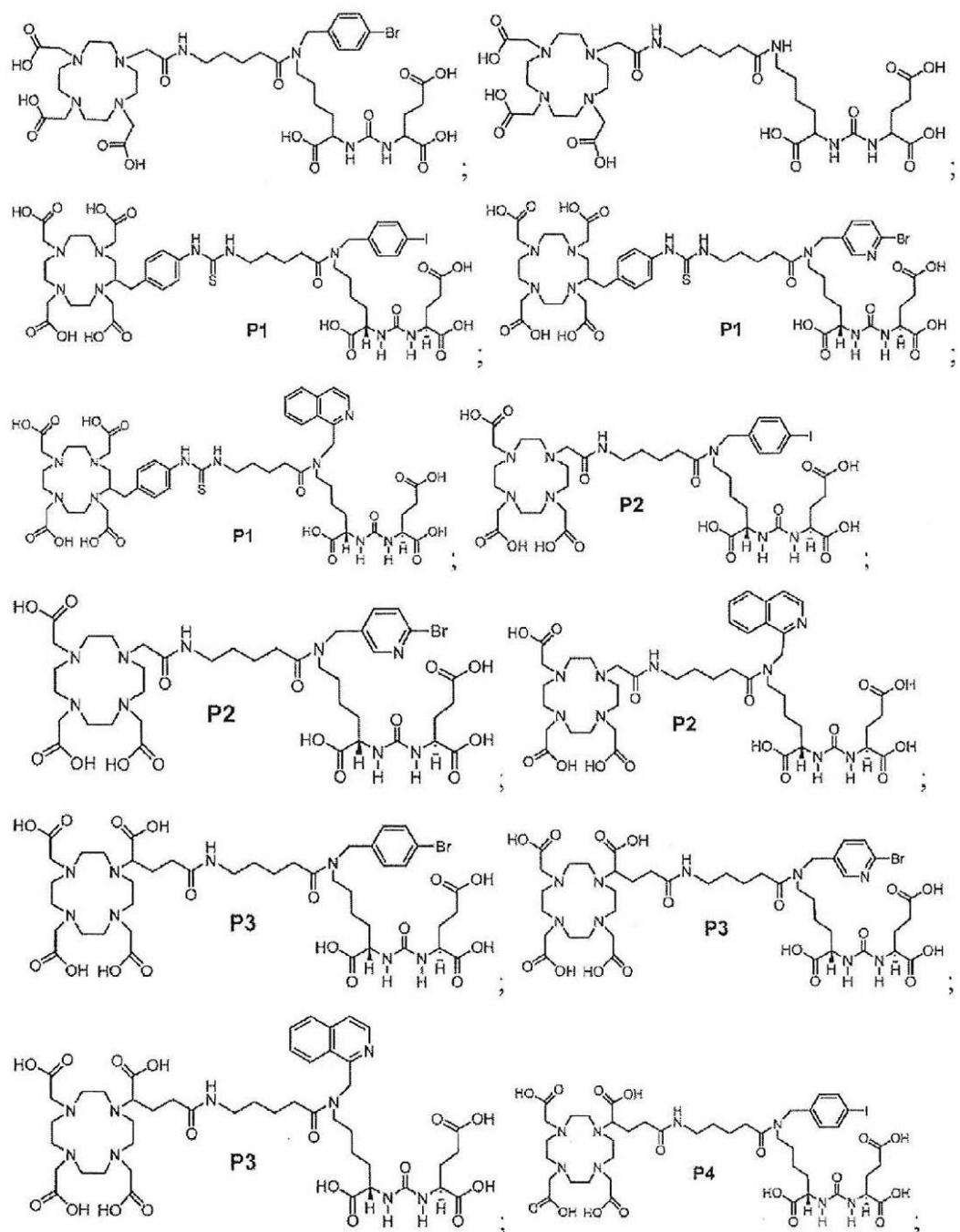
【請求項 6】

式(1)の化合物が、以下：

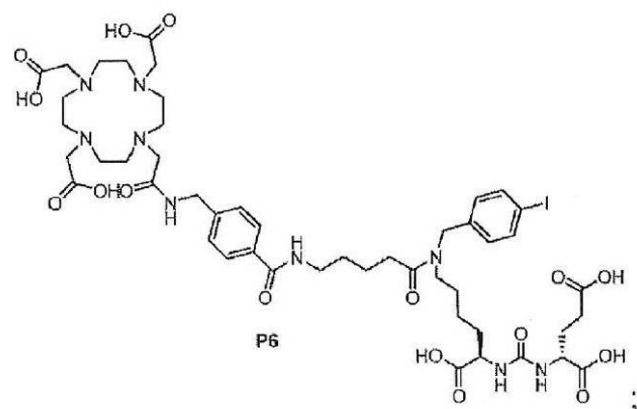
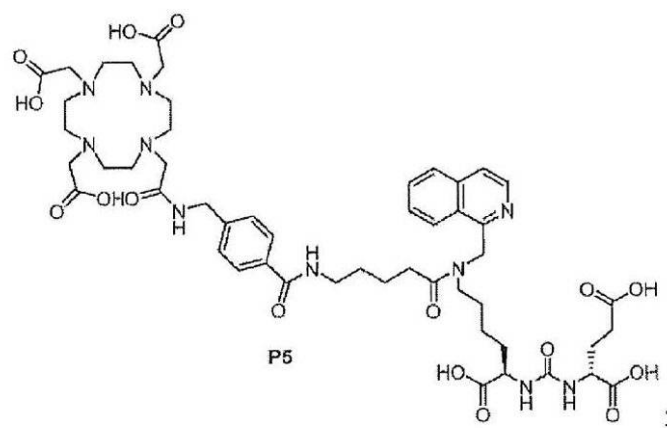
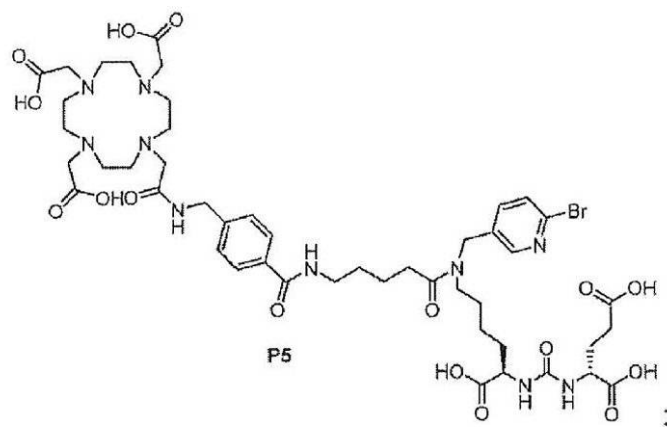
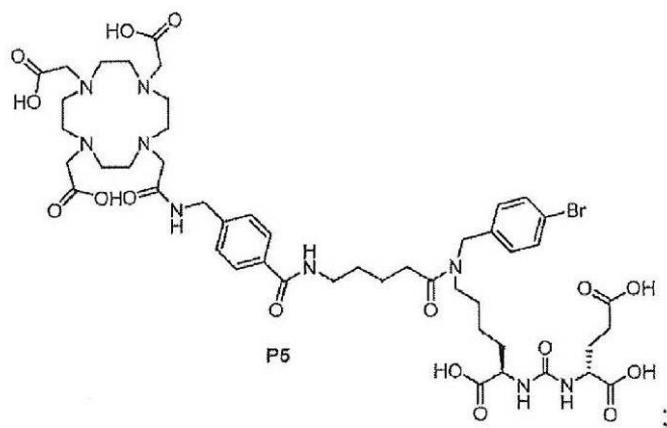
【化 4】



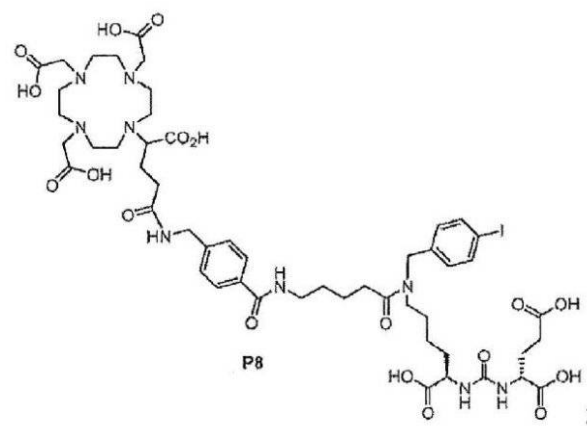
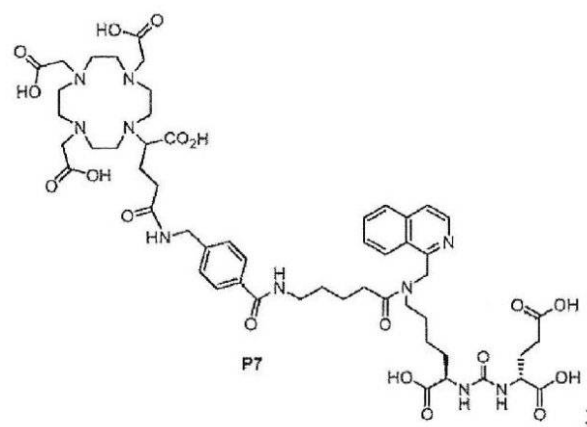
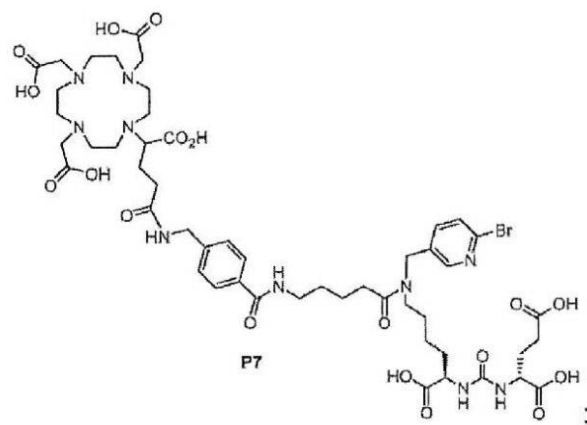
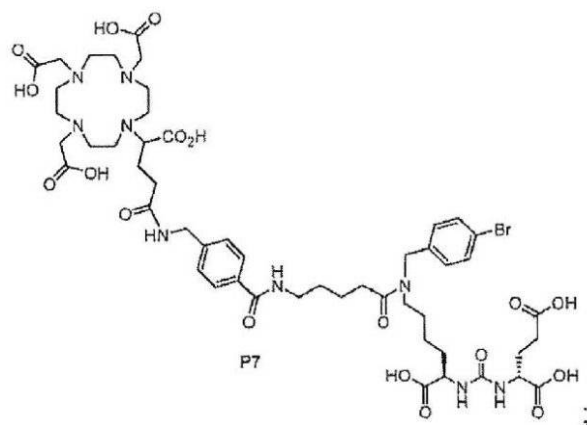
【化 5】



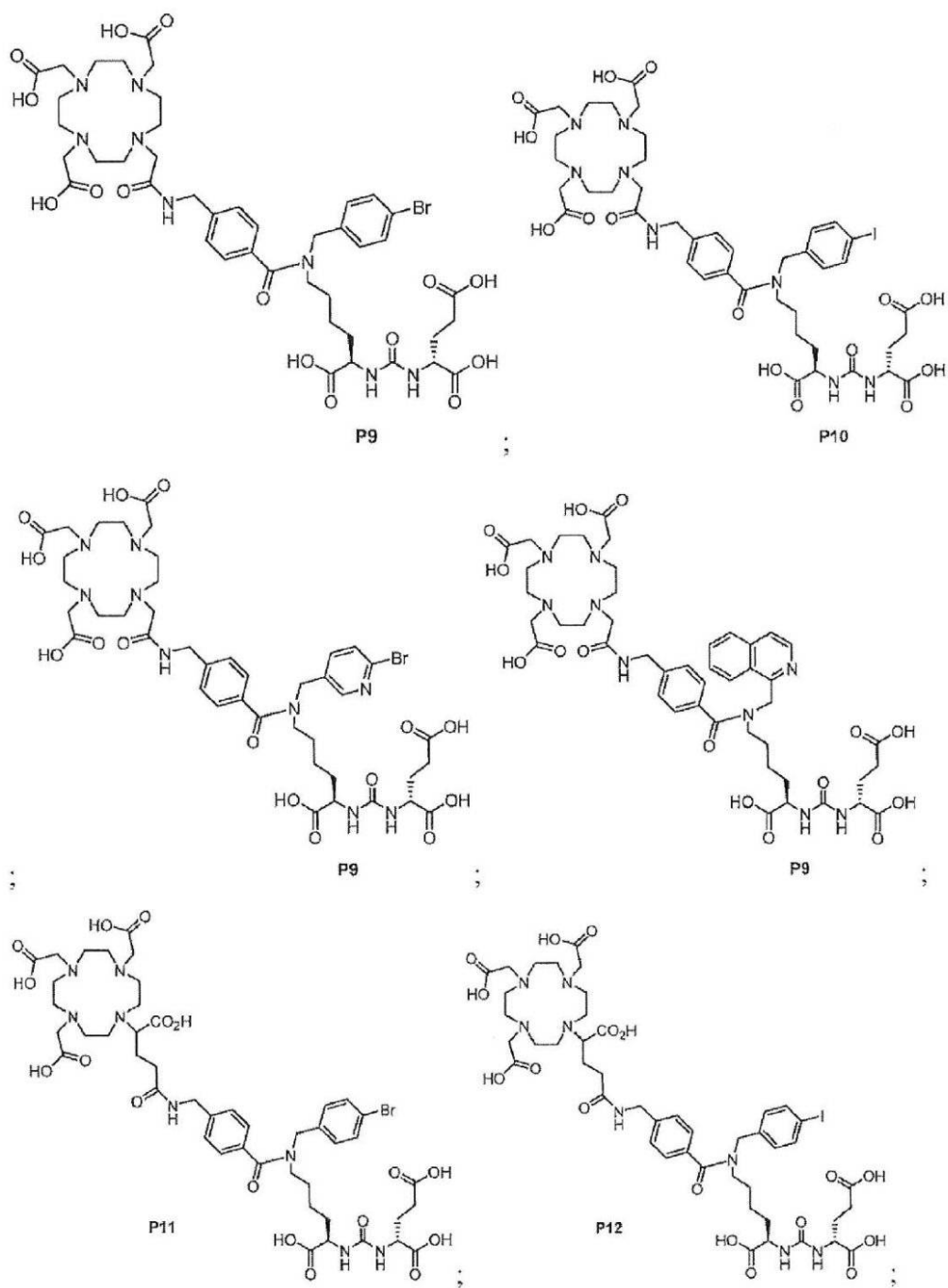
【化 6】



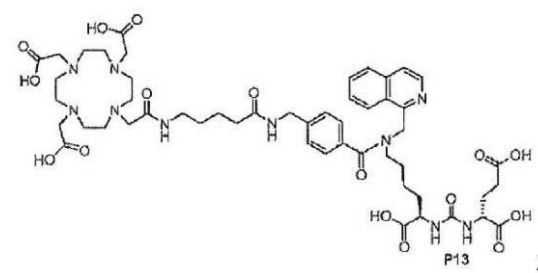
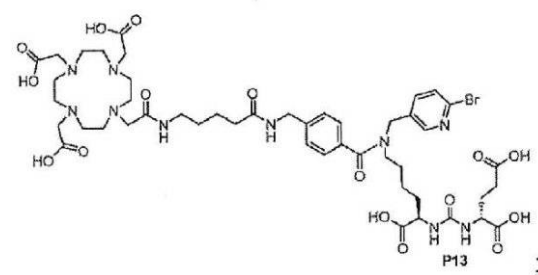
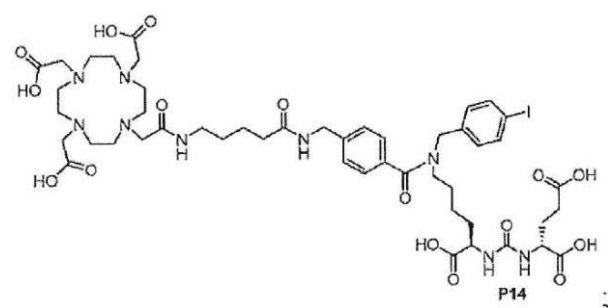
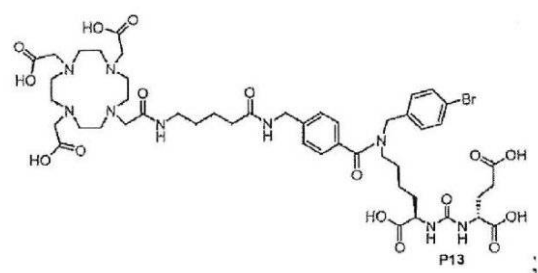
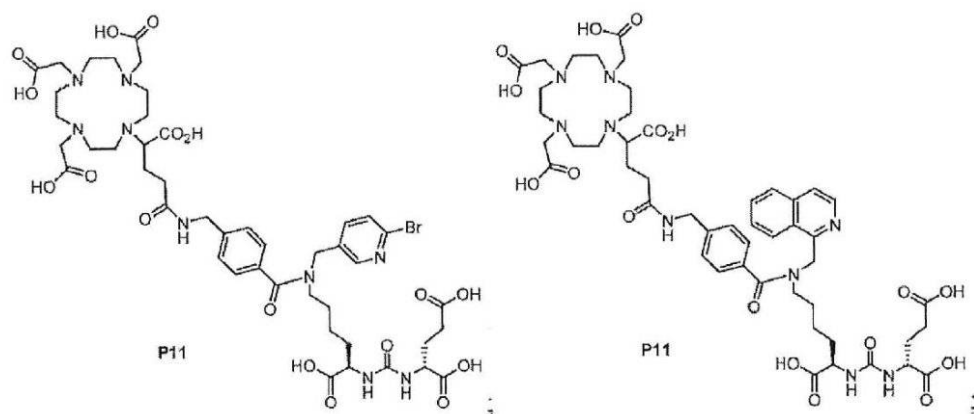
【化 7】



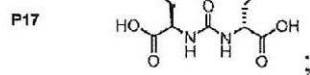
【化 8】



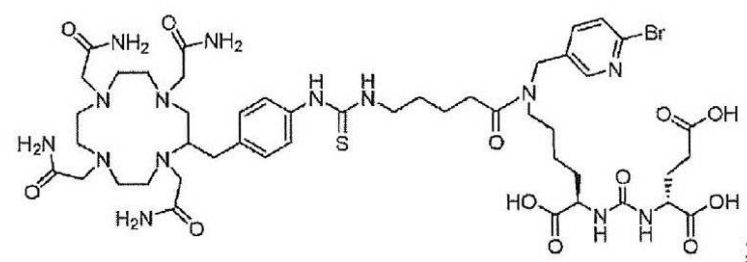
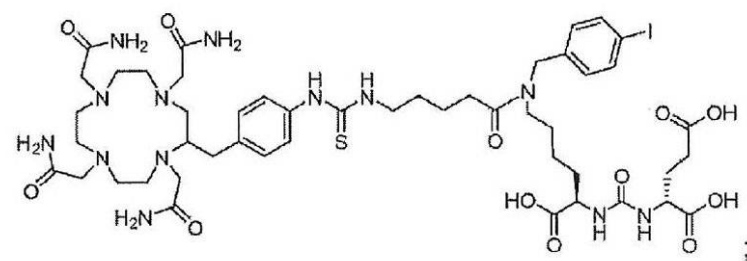
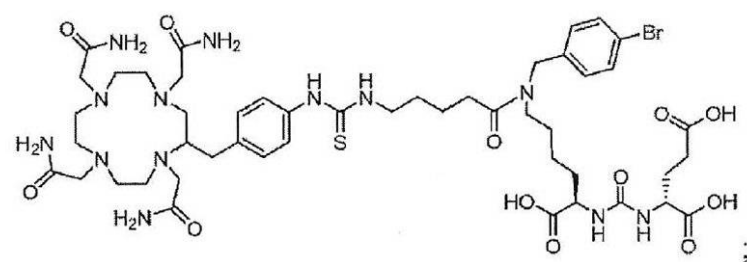
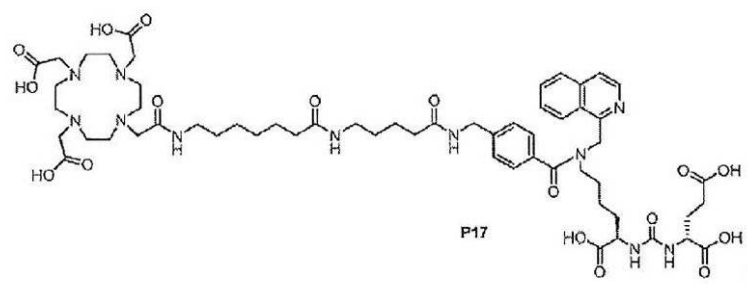
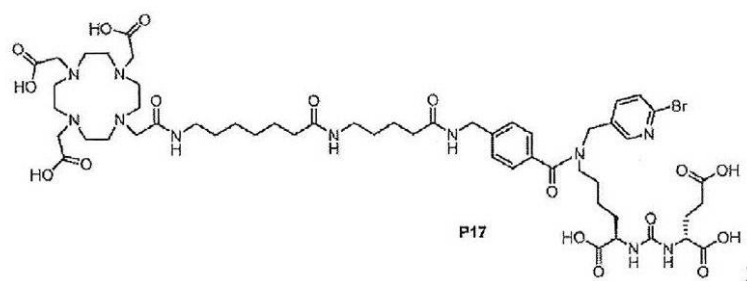
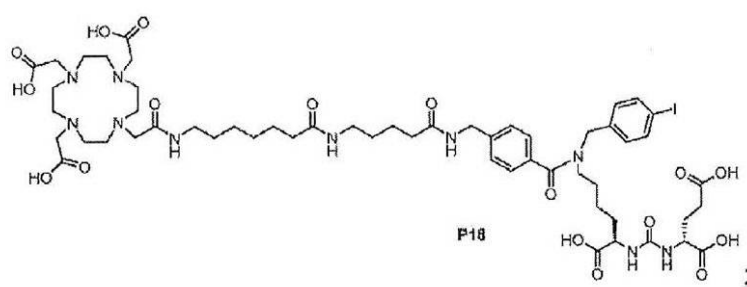
【化 9】



【化 1 0】



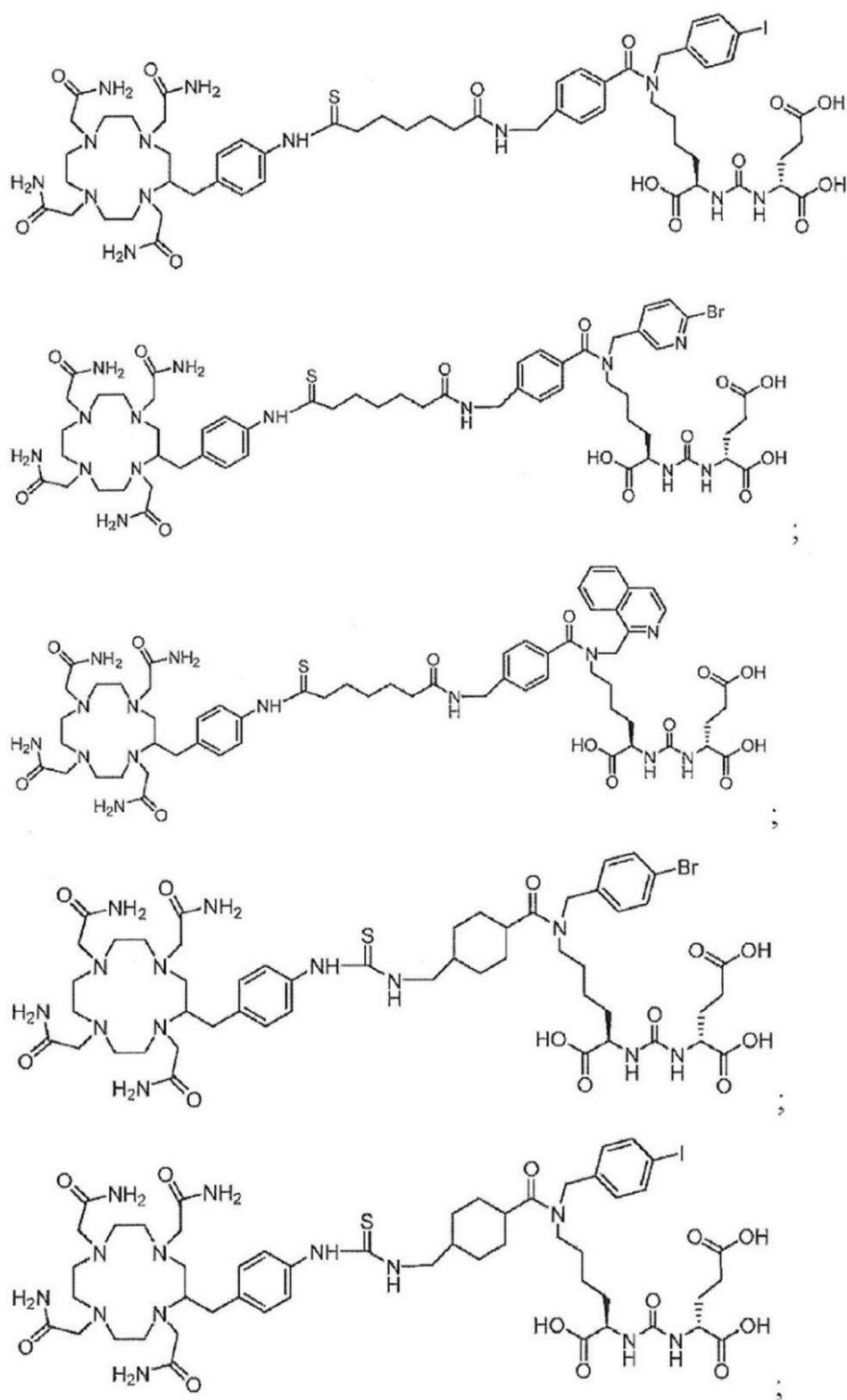
【化 1 1】



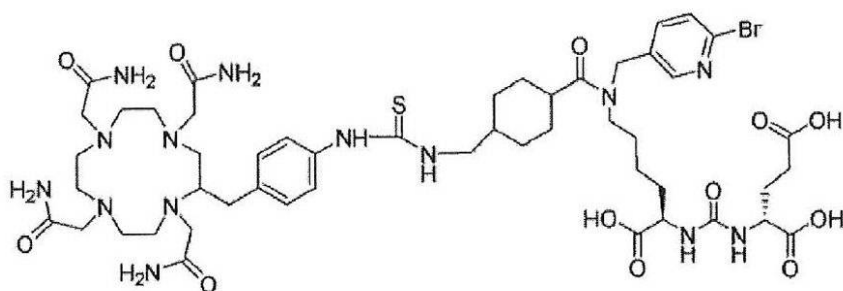
Chemical structures of five compounds (1-5) showing various modifications to the core molecule. Each structure includes a macrocyclic core with amide and amine groups, a p-phenylene ring, a thiourea linkage, and a side chain with a carboxylic acid and a chiral center. The modifications include:

- 1) A quinoline ring.
- 2) A 4-bromophenyl ring.
- 3) A 4-iodophenyl ring.
- 4) A 3-bromopyridine ring.
- 5) A 4-bromophenyl ring with a different side chain arrangement.

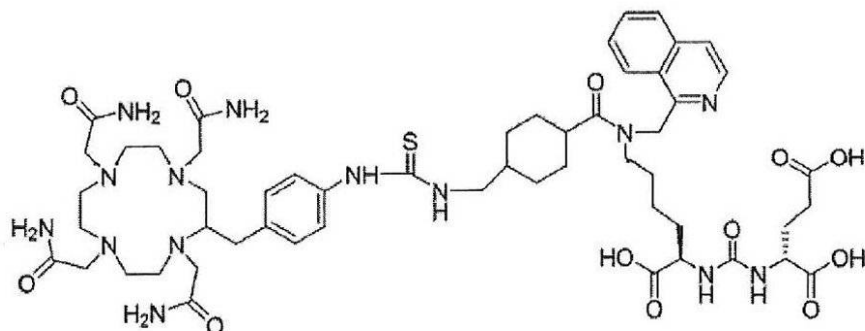
【化 1 3】



【化 1 4】



； 及び



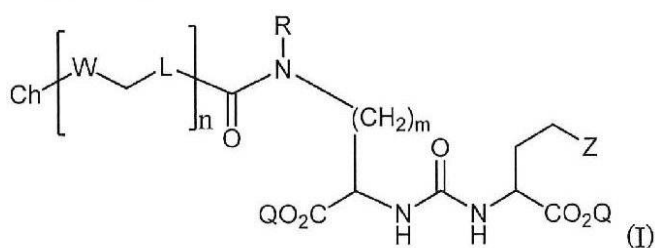
；

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を、有効量の式 (I) の化合物に接触させることを含む方法であって、前記式 (I) の化合物が、以下：

【化 1 5】



ここで、

Z はテトラゾール又は CO_2Q であり；

Q は H 又は保護基であり；

m は、1, 2, 3, 4 及び 5 からなる群から選択される整数であり；

R は、独立して、H 又は $-\text{CH}_2-\text{R}^1$ であり；

R^1 は、置換アリール、置換ピリジン、及び非置換イソキノリンからなる群から選択され；

L は、 C_1 - C_6 アルキレン及び C_3 - C_6 シクロアルキレン並びにアリーレンからなる群から選択されるリンカーであり；

W は $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、及び $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ からなる群から選択され；ここで、L 及び W の各出現は同じであっても異なっても良く；

R^2 は H 又は C_1 - C_4 アルキルであり；

n は、1, 2 及び 3 からなる群から選択される整数であり；

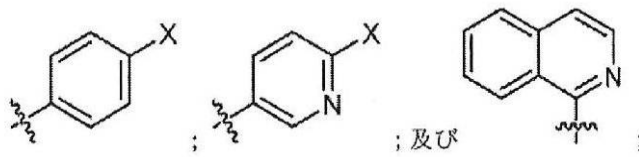
Ch は、放射線治療法に適した放射性金属を含むキレート剤である；

並びにその薬学的に許容される塩、
を含む、1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞を治療するための方法。

【請求項 8】

R¹ が、以下：

【化 1 6】

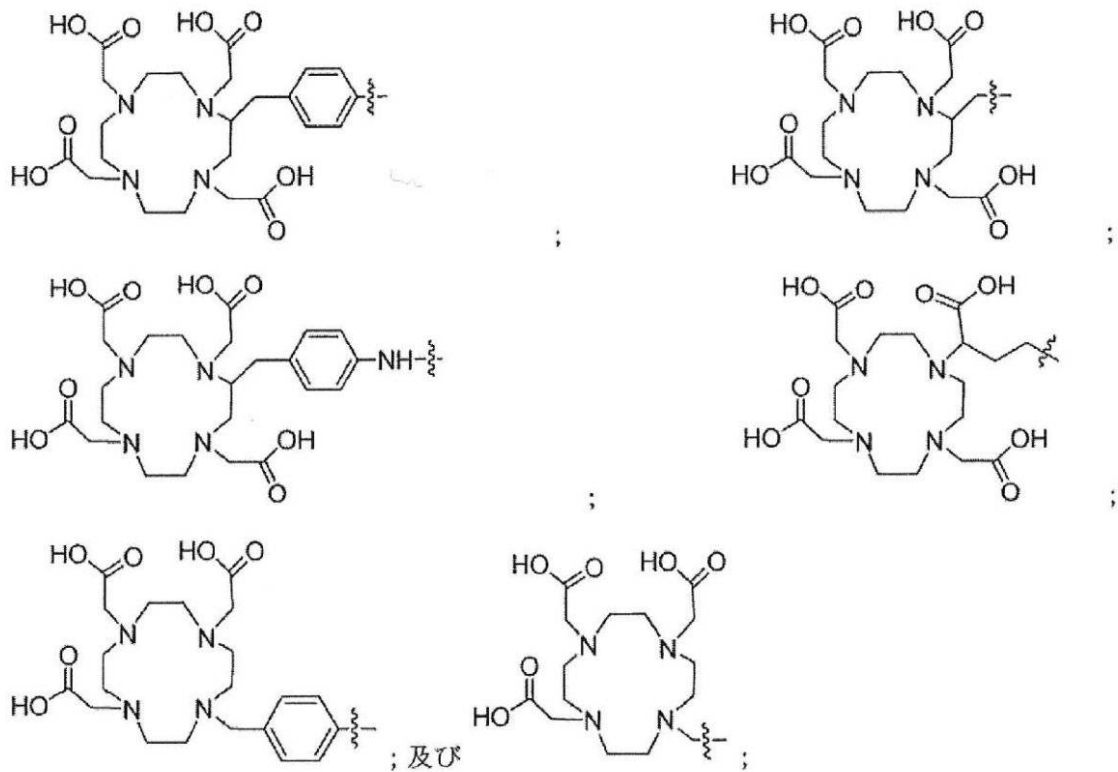


ここで、X は独立して Br 又は I である、
からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記キレート剤が、以下：

【化 1 7】



からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

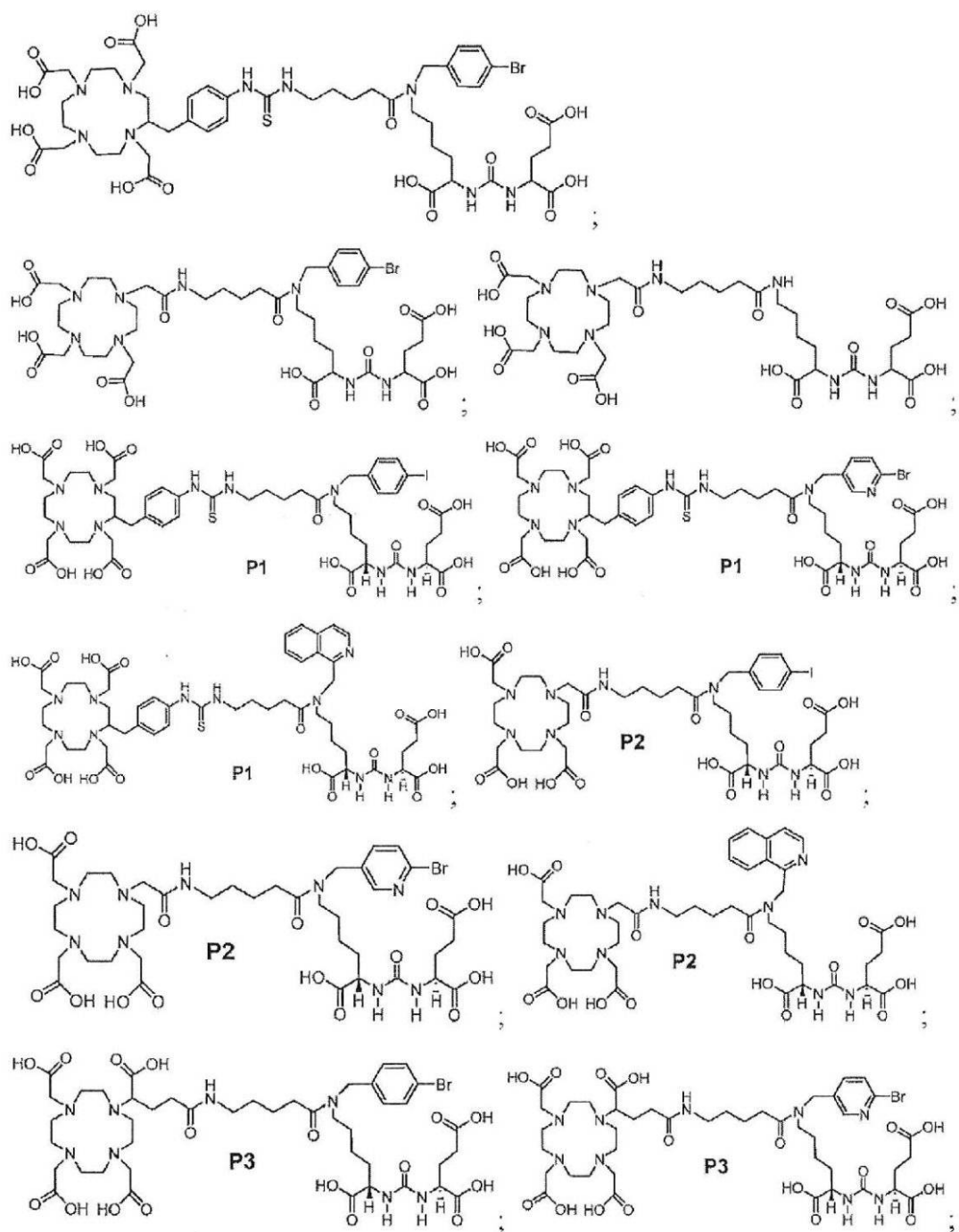
【請求項 10】

前記放射性金属が、以下：⁹⁰Y, ¹⁷⁷Lu, ²¹¹At, ¹¹¹In, ¹⁵³Sm, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ⁶⁷Cu, ²¹²Pb, ²²⁵Ac, ²¹³Bi, ²¹²Bi, ²¹²Pb 及び ⁶⁷Ga からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

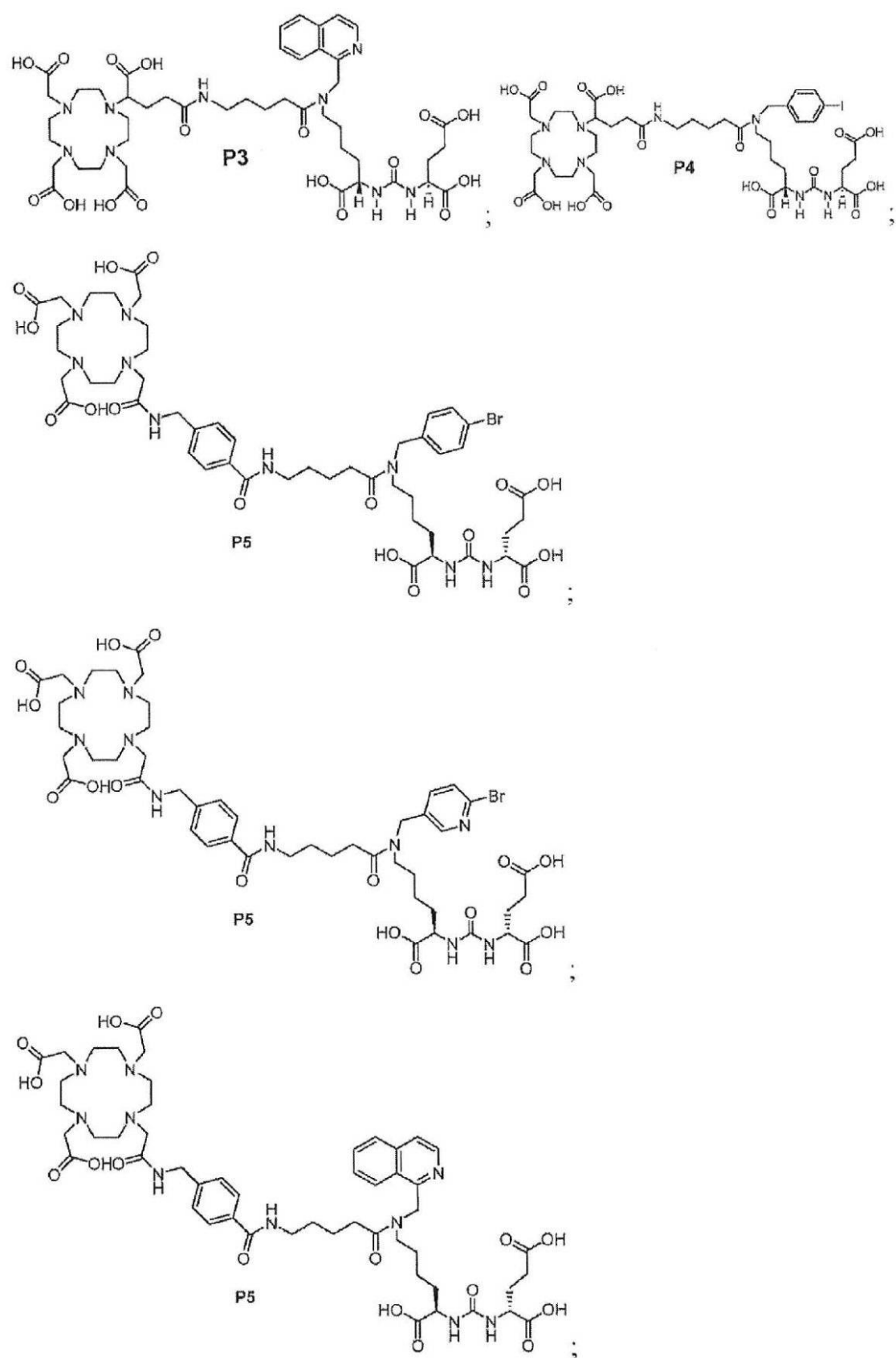
【請求項 11】

前記化合物が、以下：

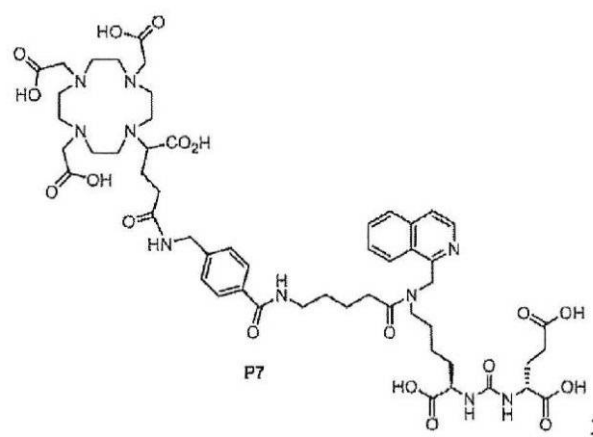
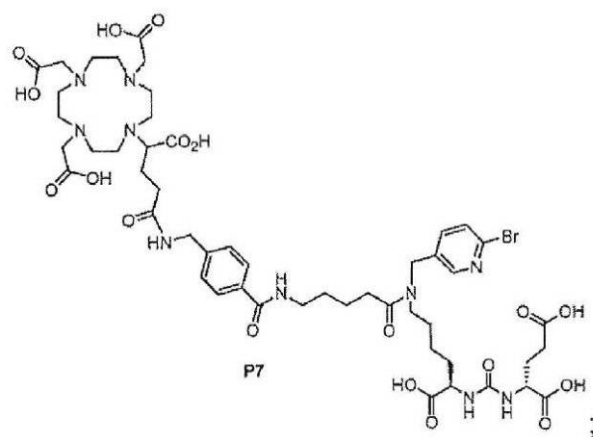
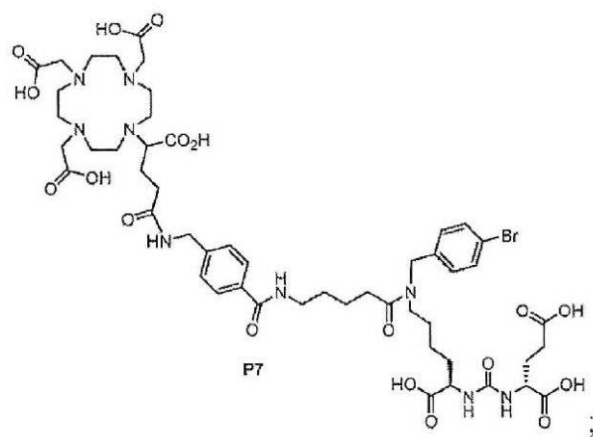
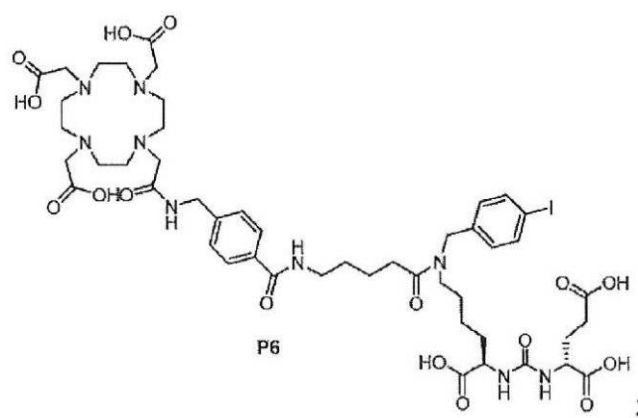
【化 1 8】



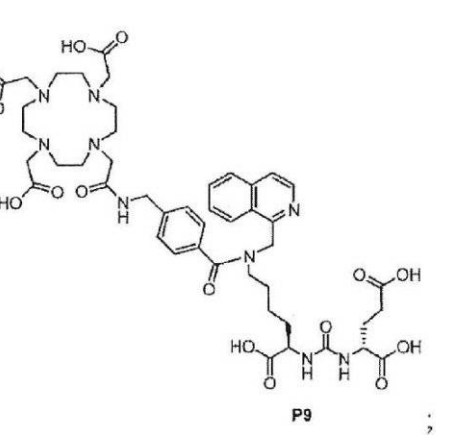
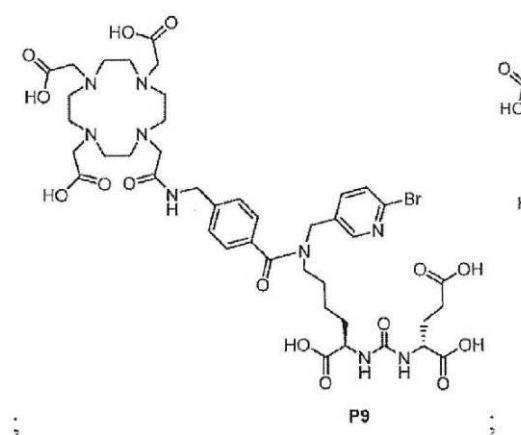
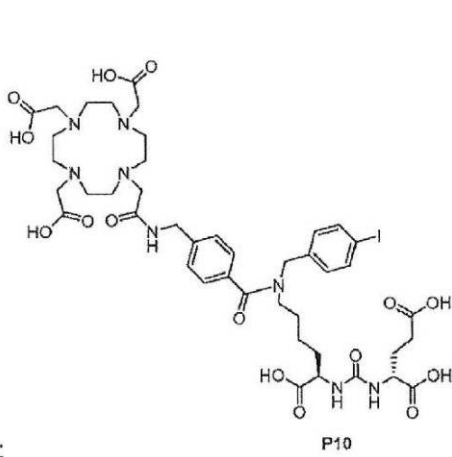
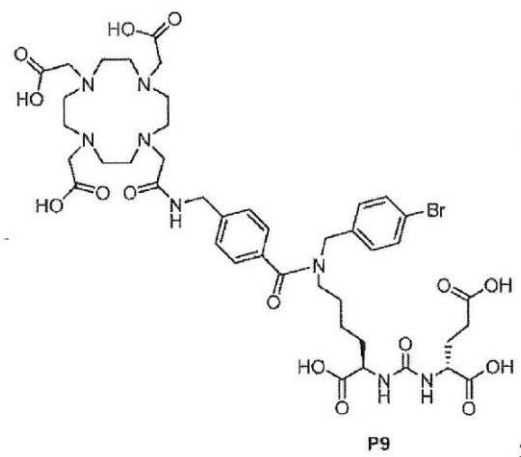
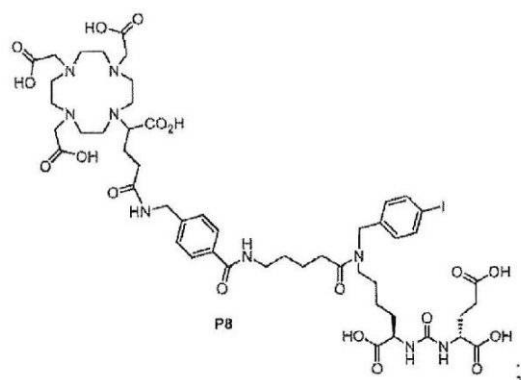
【化 1 9】



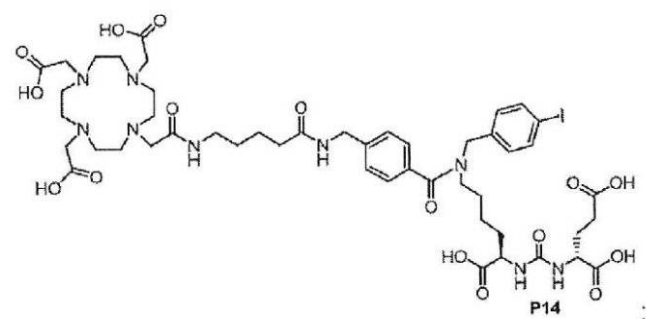
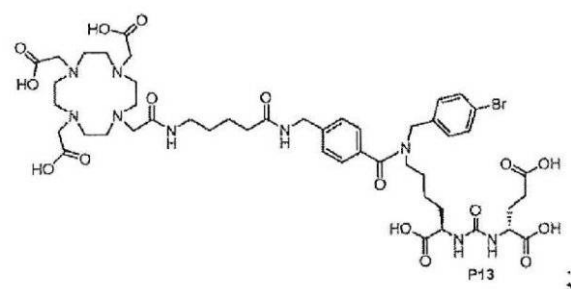
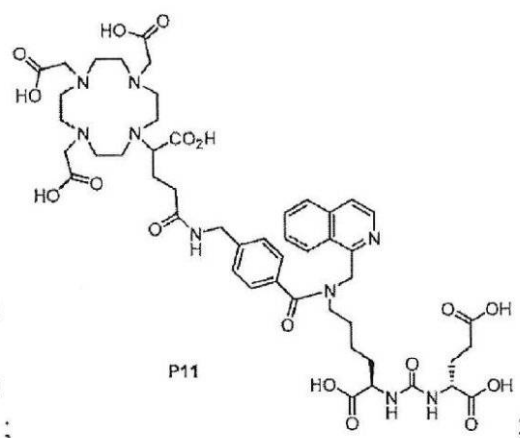
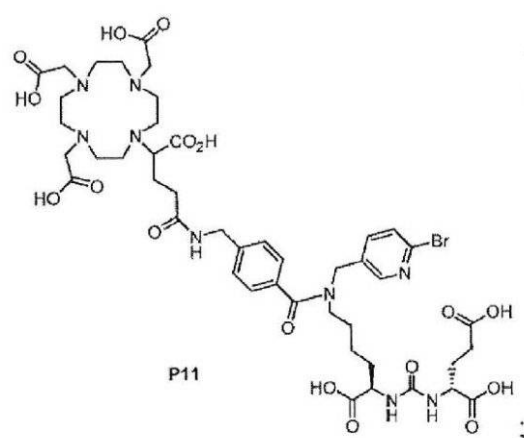
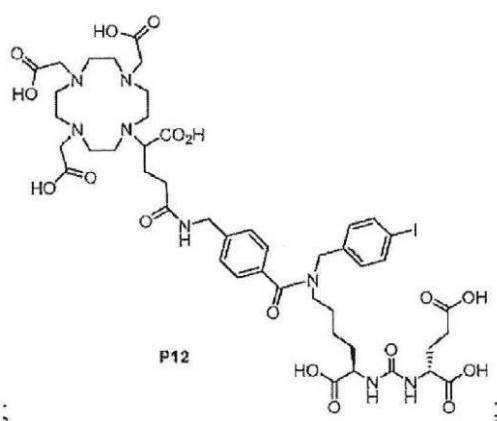
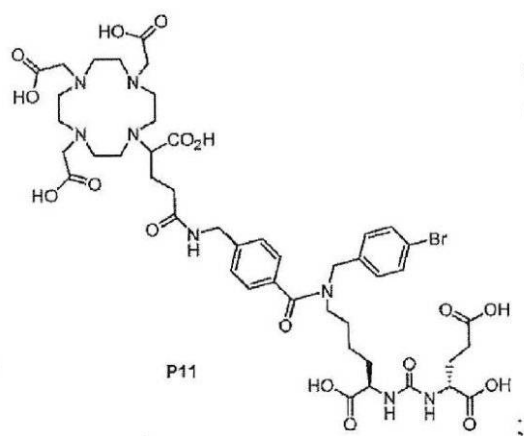
【化 2 0】



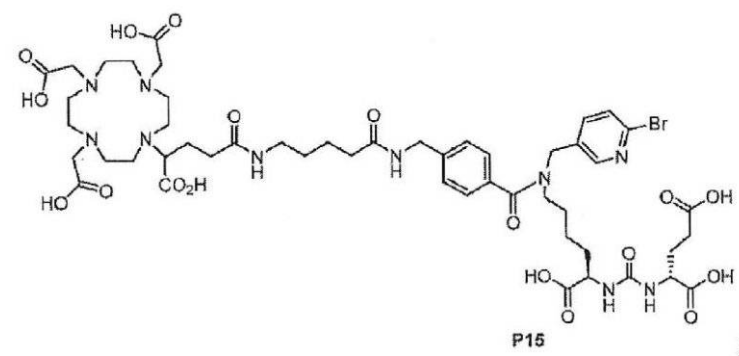
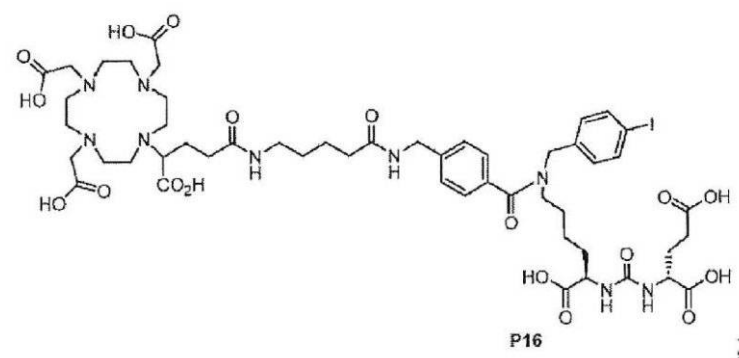
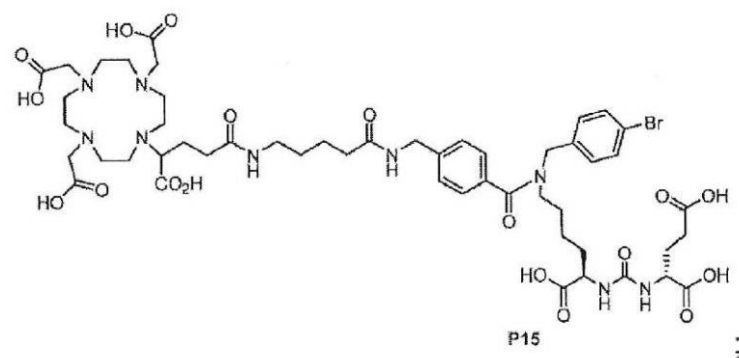
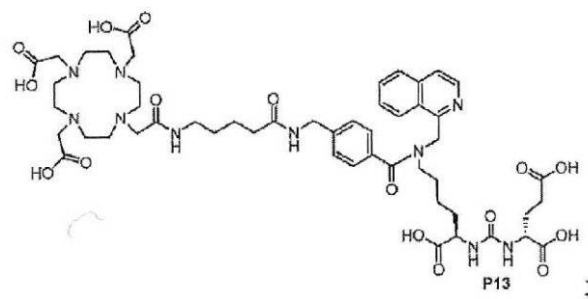
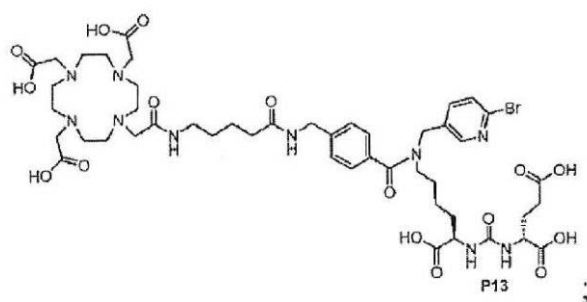
【化 2 1】



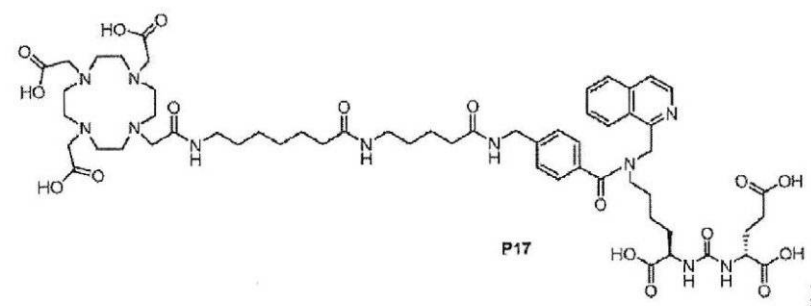
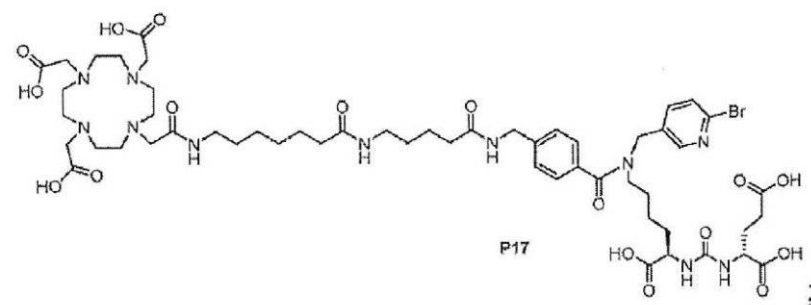
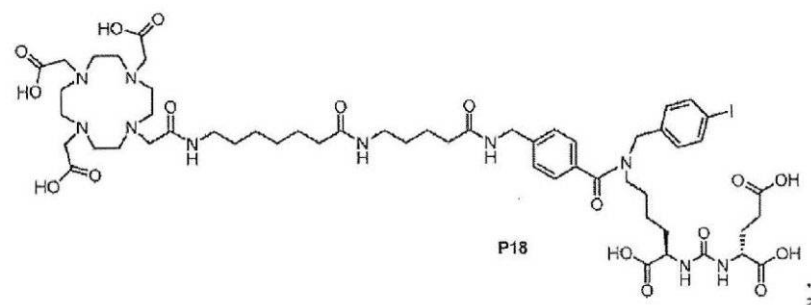
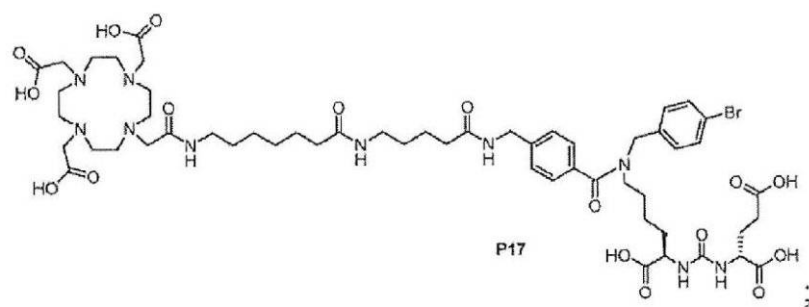
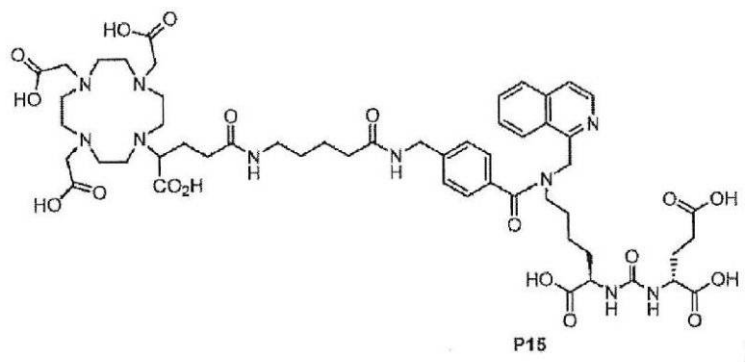
【化 2 2】



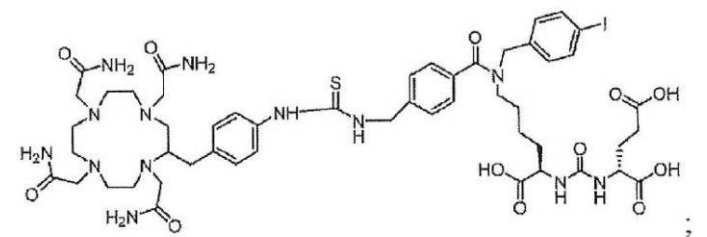
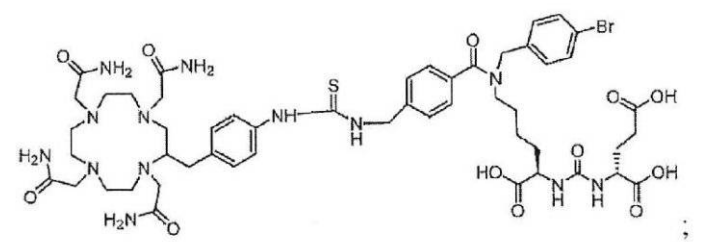
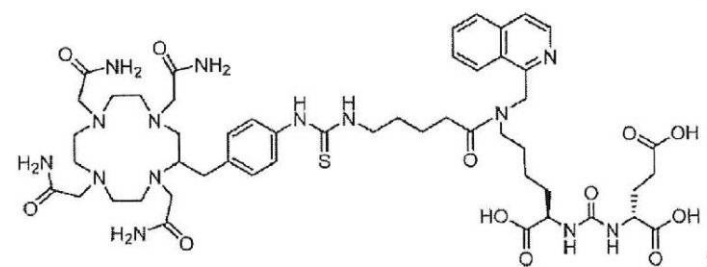
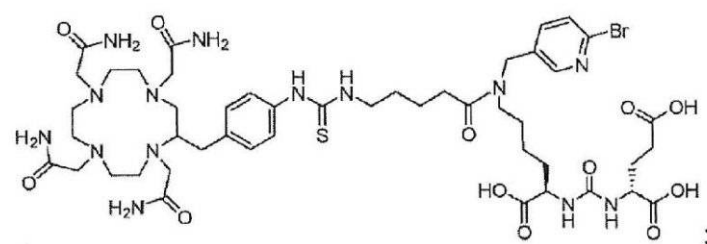
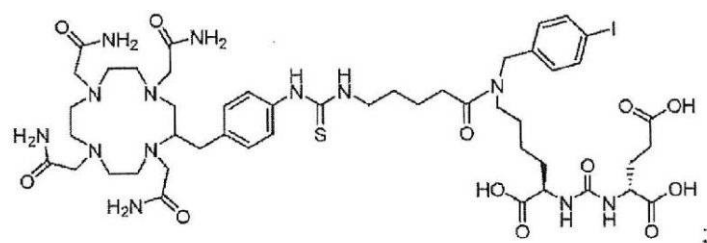
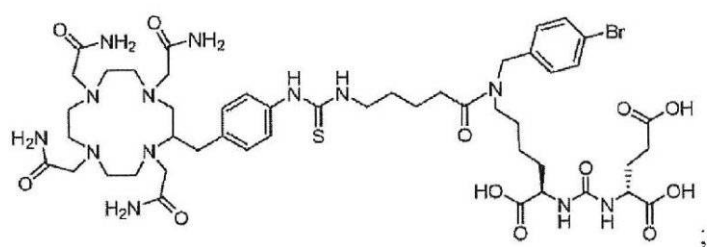
【化 2 3】



【化 2 4】



【化 2 5】



Chemical structures of compounds 1a through 1f, which are derivatives of a macrocyclic compound. The structures are shown as a vertical list, separated by semicolons. Each structure features a central macrocyclic core with various side chains, including amide, thioether, and carboxylic acid groups, and a bromine atom at the 2-position of the pyridine ring.

1a

1b

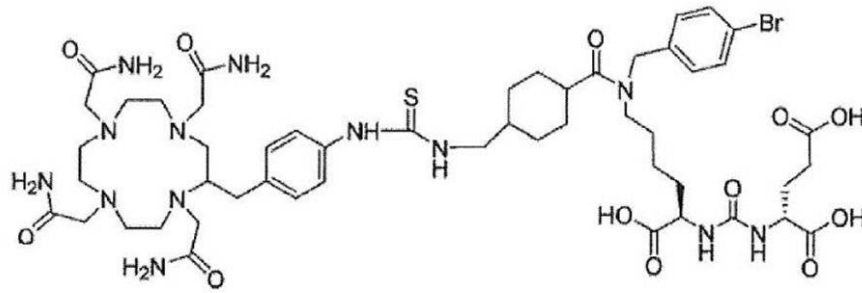
1c

1d

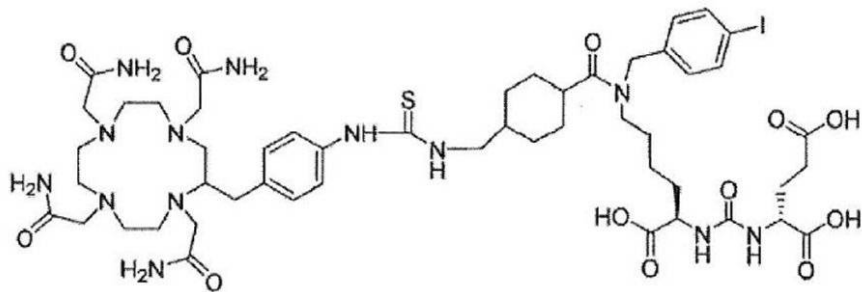
1e

1f

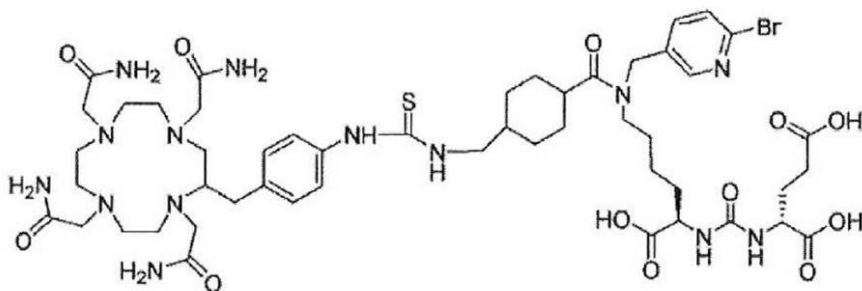
【化 2 7】



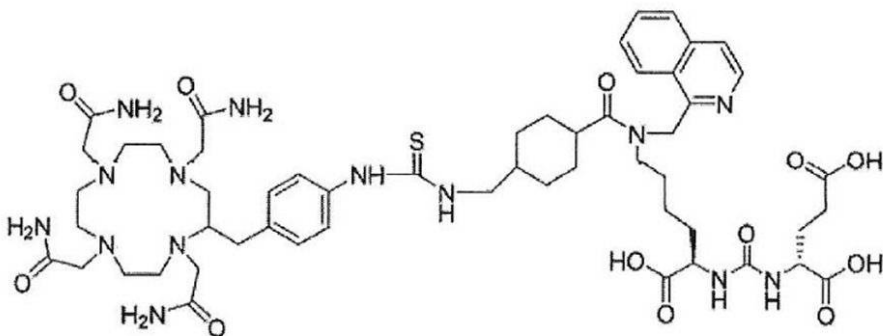
;



;



; 及び



からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞が、以下：前立腺腫瘍又は細胞、転移した前立腺腫瘍又は細胞、肺腫瘍又は細胞、腎腫瘍又は細胞、膠芽細胞腫、膵臓腫瘍又は細胞、膀胱腫瘍又は細胞、肉腫、メラノーマ、乳房腫瘍又は細胞、結腸腫瘍又は細胞、生殖細胞、褐色細胞腫、食道腫瘍又は細胞、胃腫瘍又は細胞、及びそれらの組合せ、からなる群から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞が前立腺腫瘍又は細胞である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞が *in vitro*、*in vivo* 又は *ex vivo* にある、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 15】

前記 1 つ以上の PSMA を発現する腫瘍又は細胞が対象に存在する、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 16】

前記対象がヒトである、請求項 15 に記載の方法。

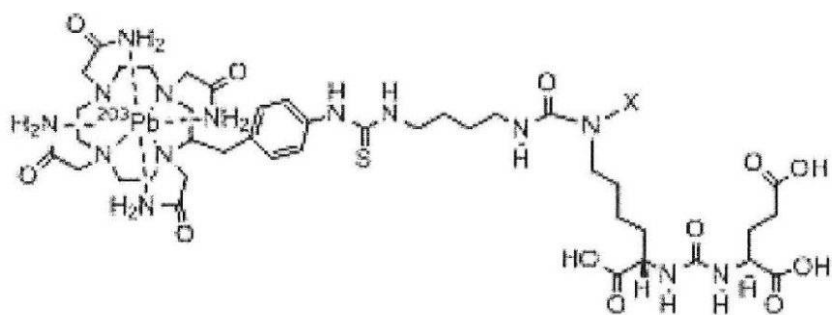
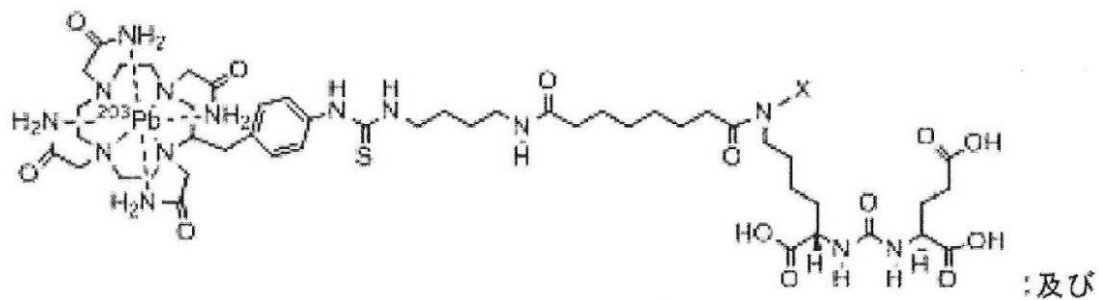
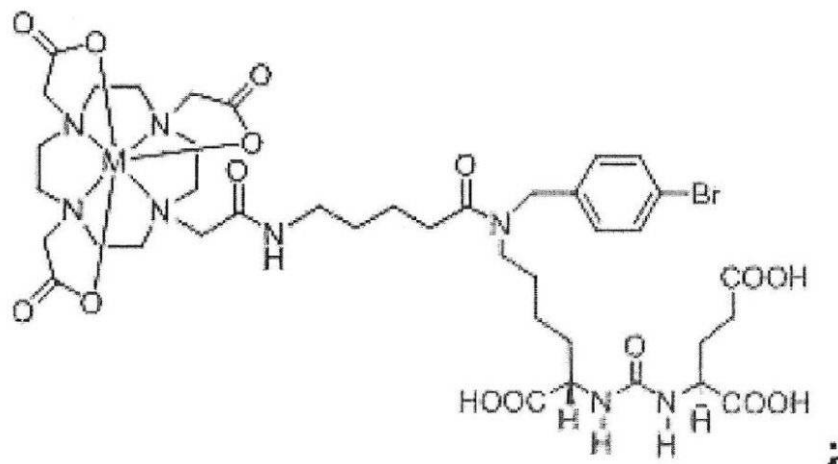
【請求項 17】

前記方法が前記腫瘍の増殖の阻害をもたらす、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 18】

式(1)の化合物が以下：

【化 28】



ここで、

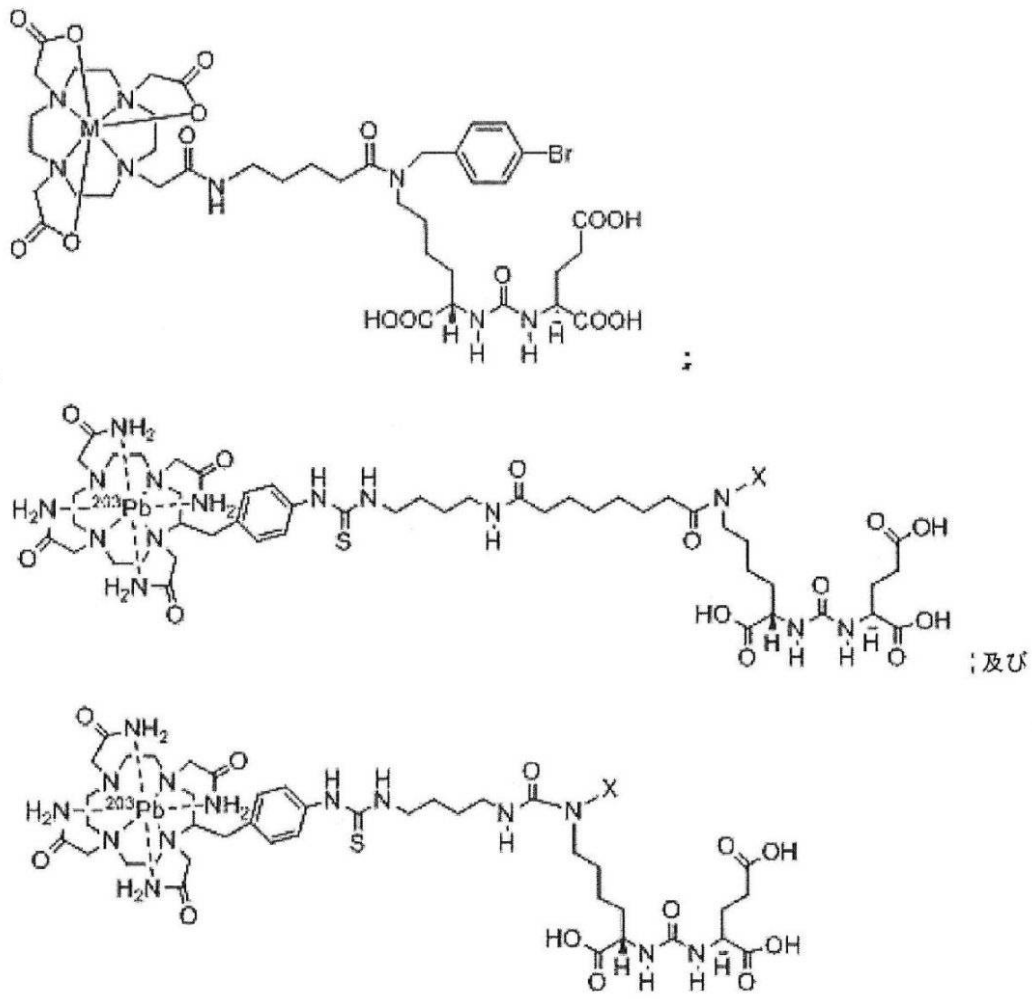
XはH又は4-ベンジルブロミン (benzylbromine) である；並びに

Mは ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、及び ^{203}Pb からなる群から選択される、からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 19】

式(1)の化合物が以下：

【化 2 9】



ここで、

XはH又は4-ベンジルブロミン (benzylbromine) である；並びに

Mは ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、及び ^{203}Pb からなる群から選択される、
からなる群から選択される、請求項7に記載の方法。

【誤訳訂正3】

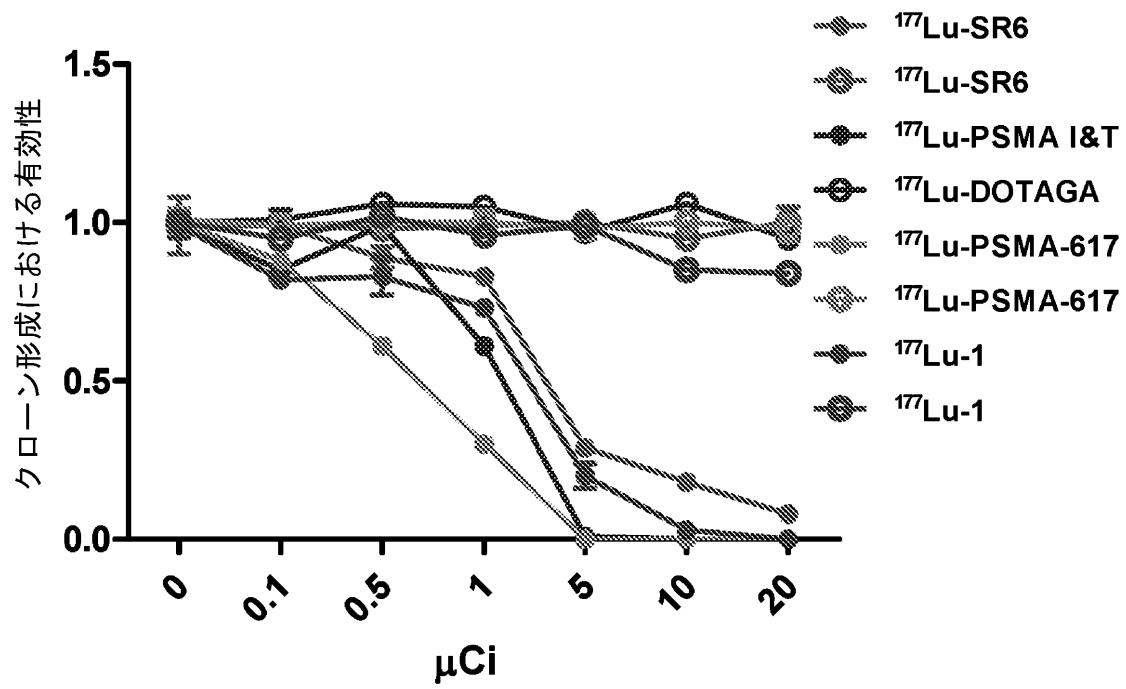
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 図 2 】



【 誤訳訂正 4 】

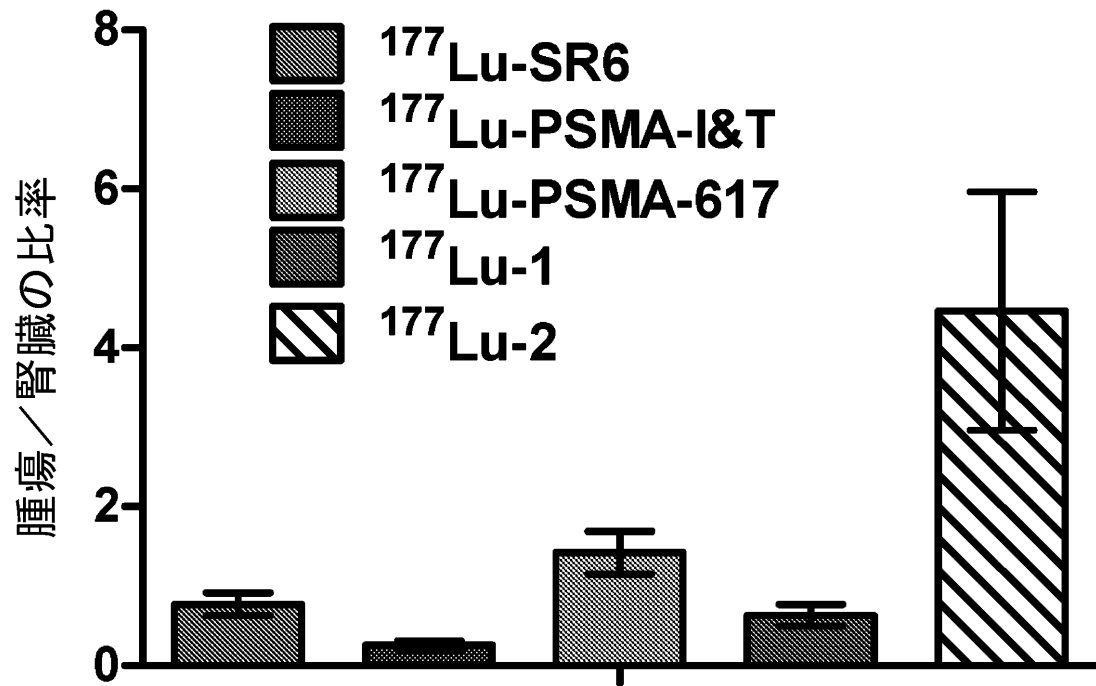
【 訂正対象書類名 】 図面

【 訂正対象項目名 】 図 3

【 訂正方法 】 変更

【 訂正の内容 】

【 図 3 】



【 誤訳訂正 5 】

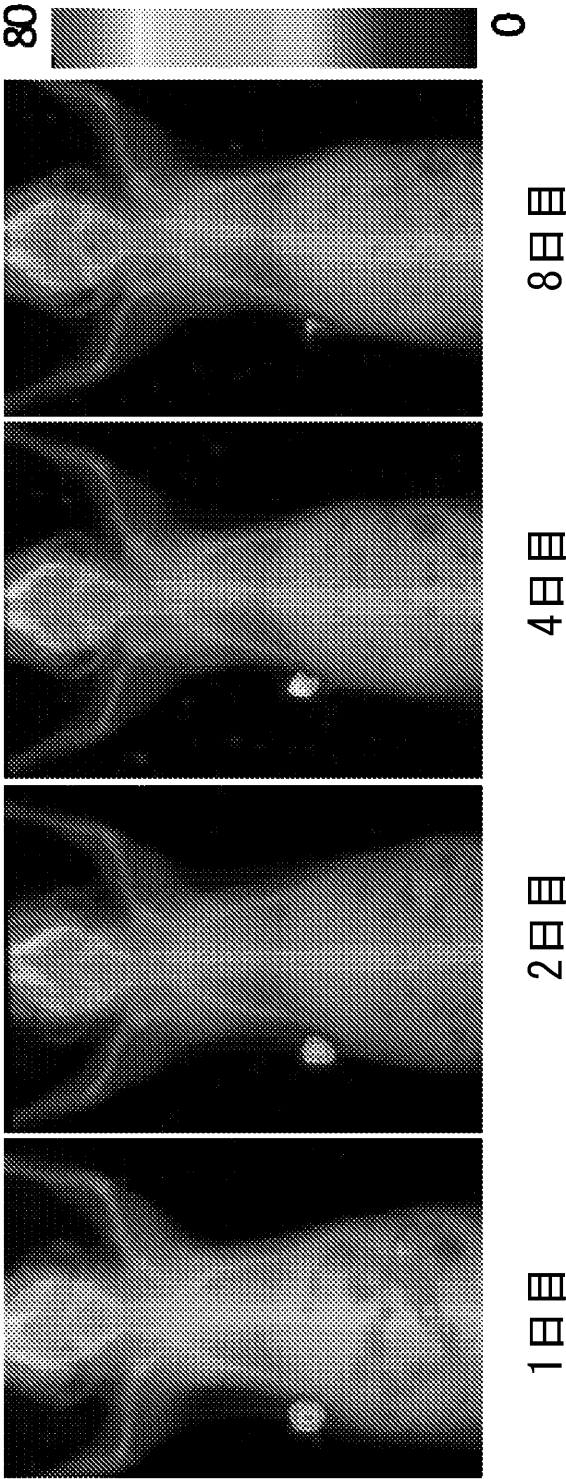
【 訂正対象書類名 】 図面

【 訂正対象項目名 】 図 4

【 訂正方法 】 変更

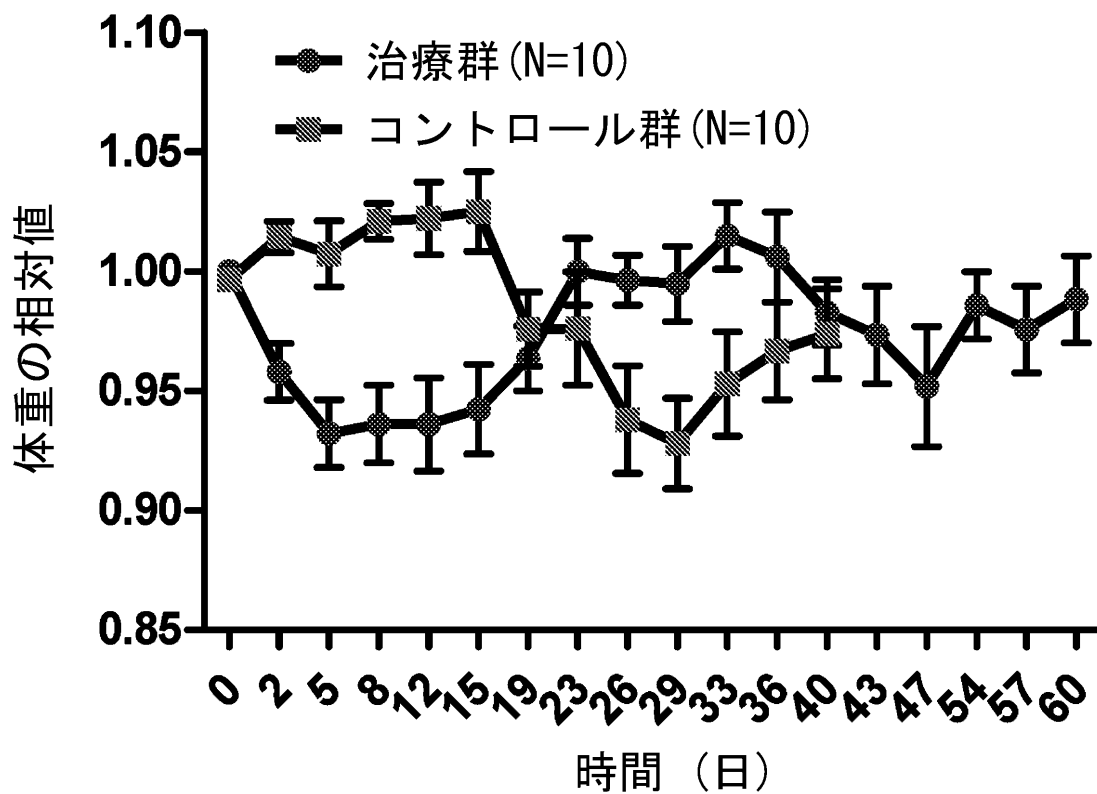
【 訂正の内容 】

【 図 4 】



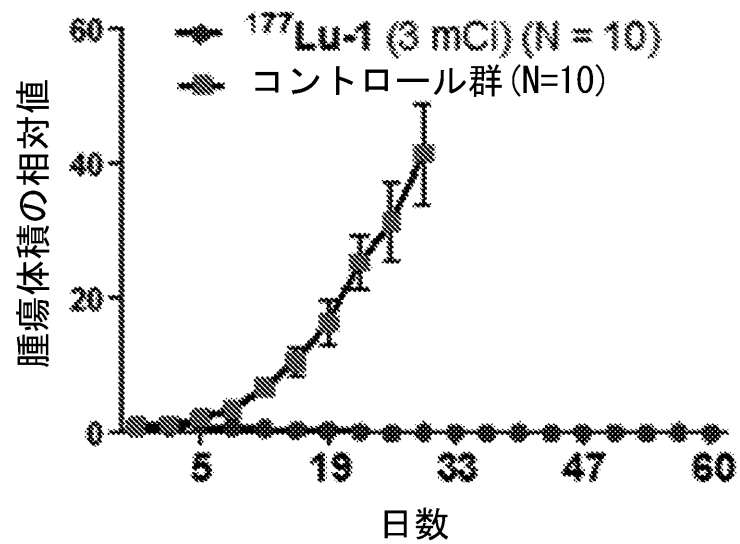
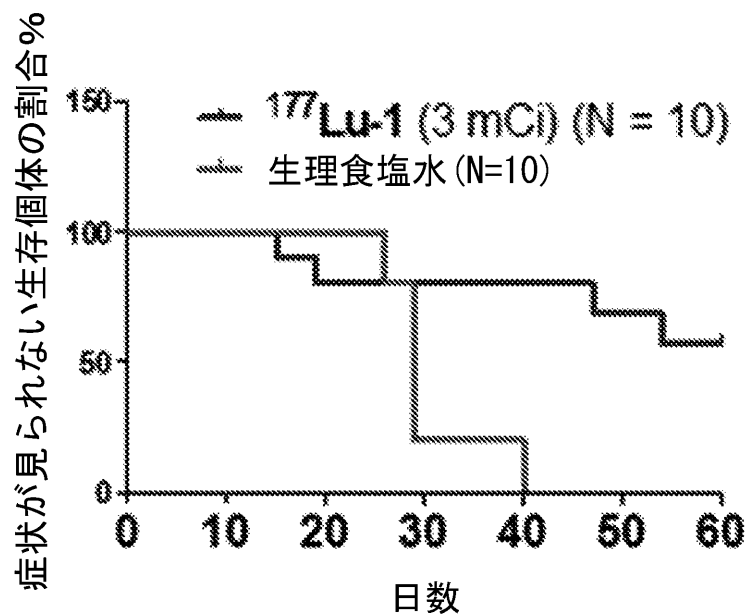
【 誤 訳 訂 正 6 】

【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 5
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【図 5】

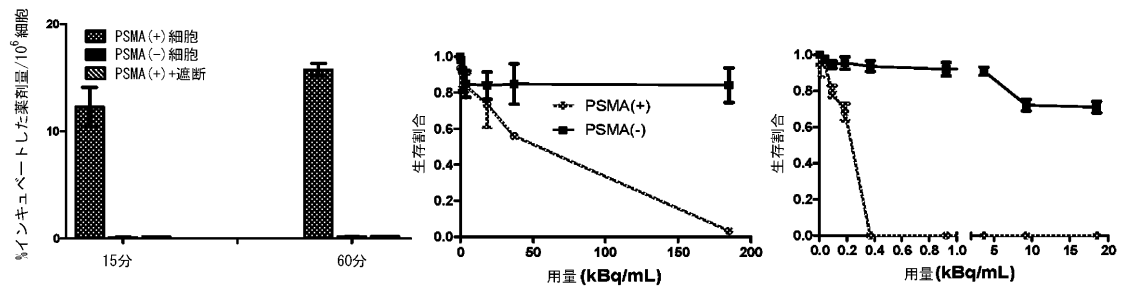


【誤訳訂正 7】
 【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 6
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】

【 図 6 】

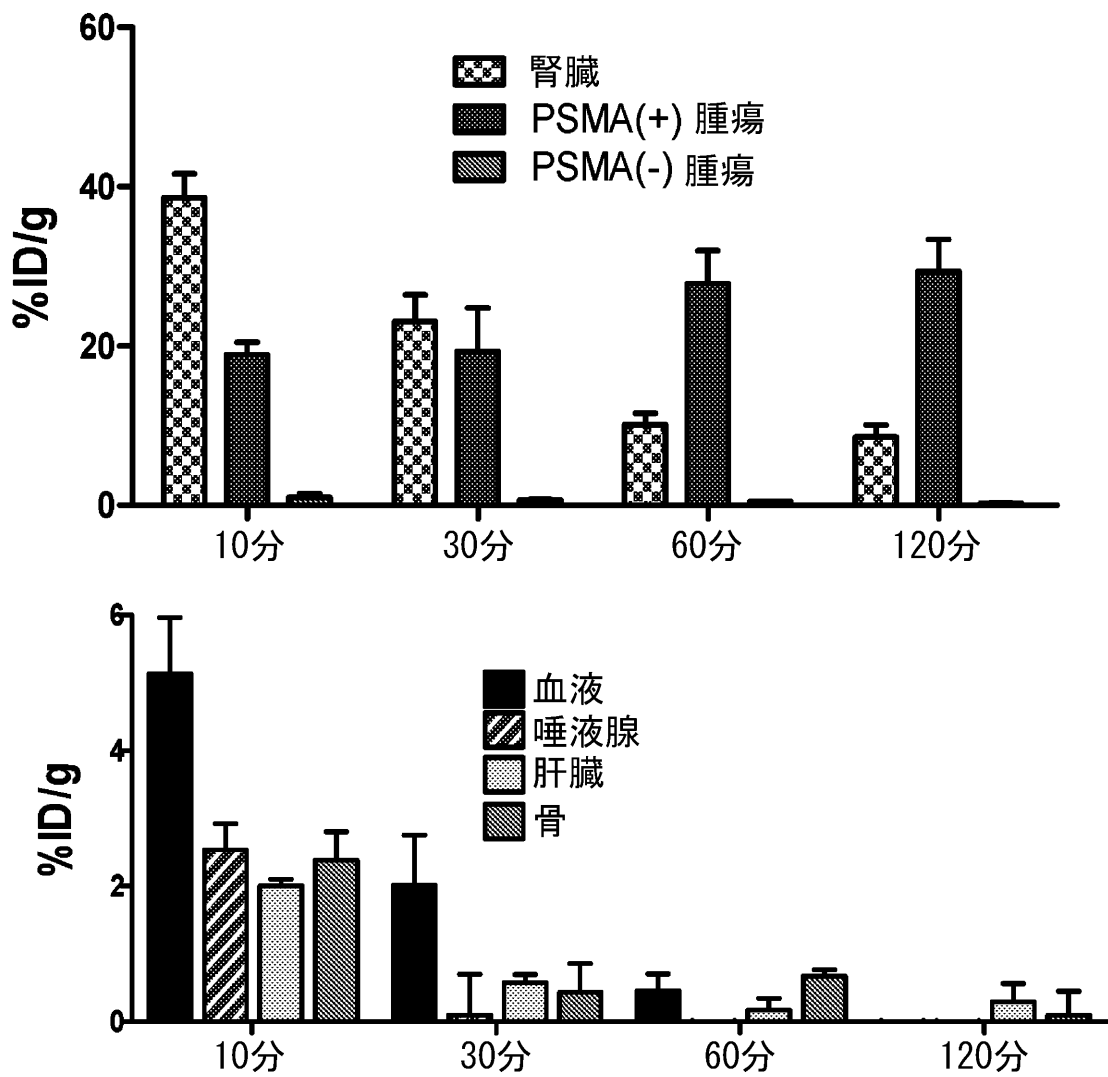
*A**B*

【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 7
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【図 7】



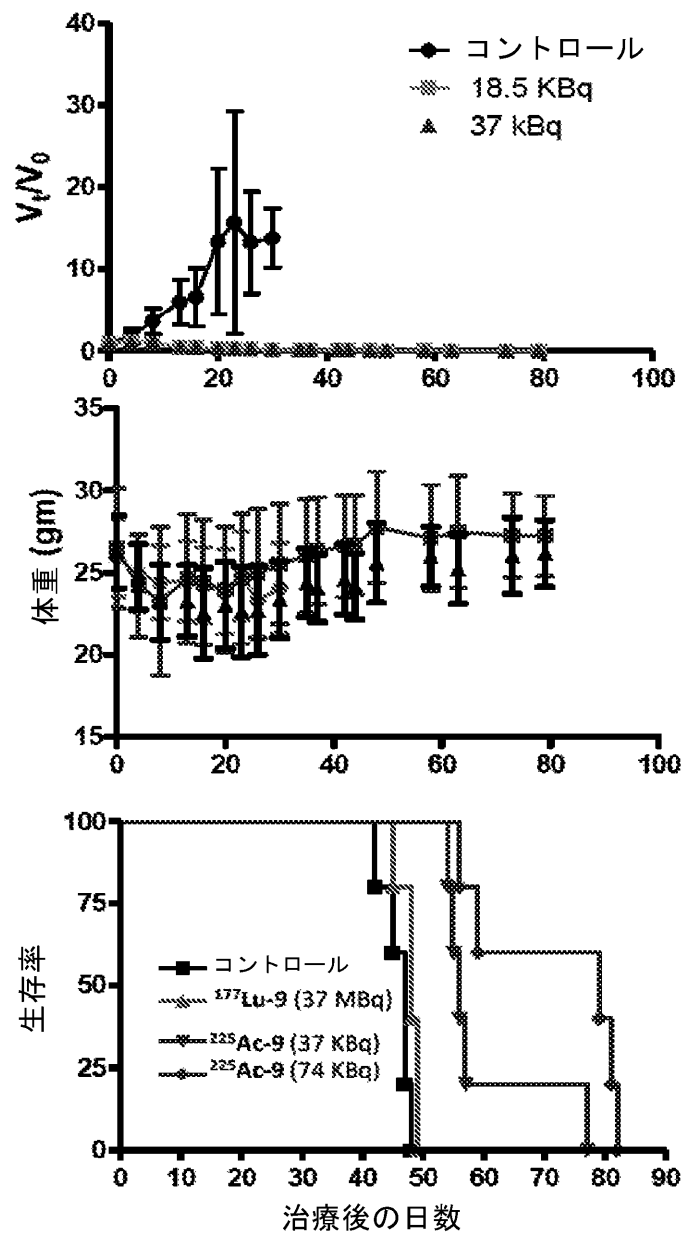
【誤訳訂正 9】
 【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 8
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】

【 図 8 】

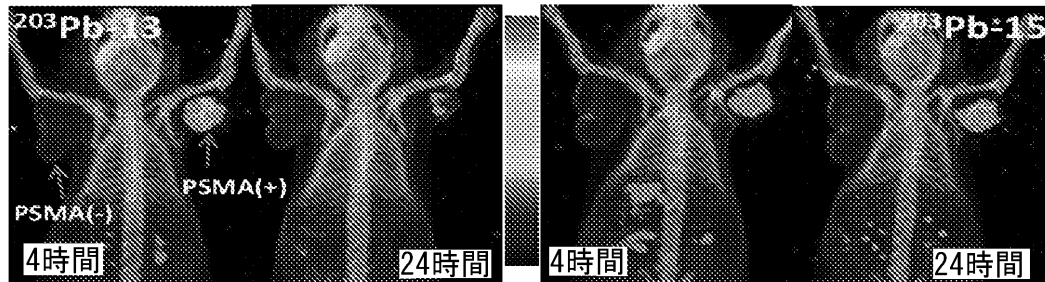


【訂正対象書類名】図面
【訂正対象項目名】図 9
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【 図 9 】



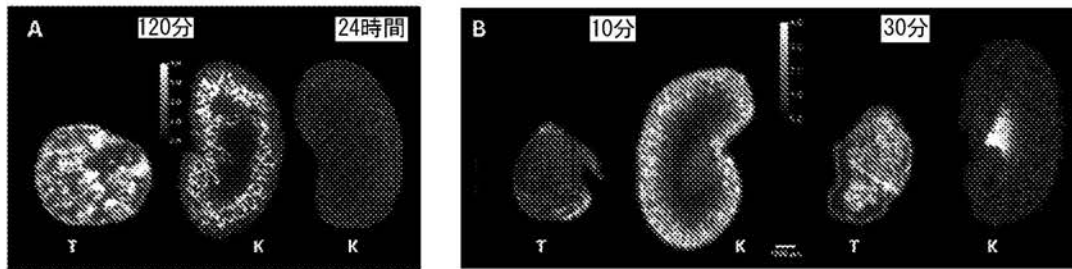
【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 1 0
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【図 1 0】



²⁰³Pb-13			²⁰³Pb-15	
組織	4時間	24時間	4時間	24時間
血液	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0
肝臓	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.2
腎臓	3.8 ± 1.0	3.1 ± 0.8	6.4 ± 1.8	4.6 ± 0.5
唾液腺	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1
T(+)	11.6 ± 4.2	8.5 ± 2.1	24.9 ± 7.4	24.2 ± 9.3
T(-)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.0
T+/腎臓	3.1 ± 0.4	2.8 ± 0.4	3.9 ± 0.5	5.2 ± 1.5

【誤訳訂正 1 2】
 【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 1 1
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】

【 図 1 1 】



A

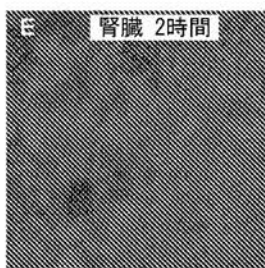
B



C



B

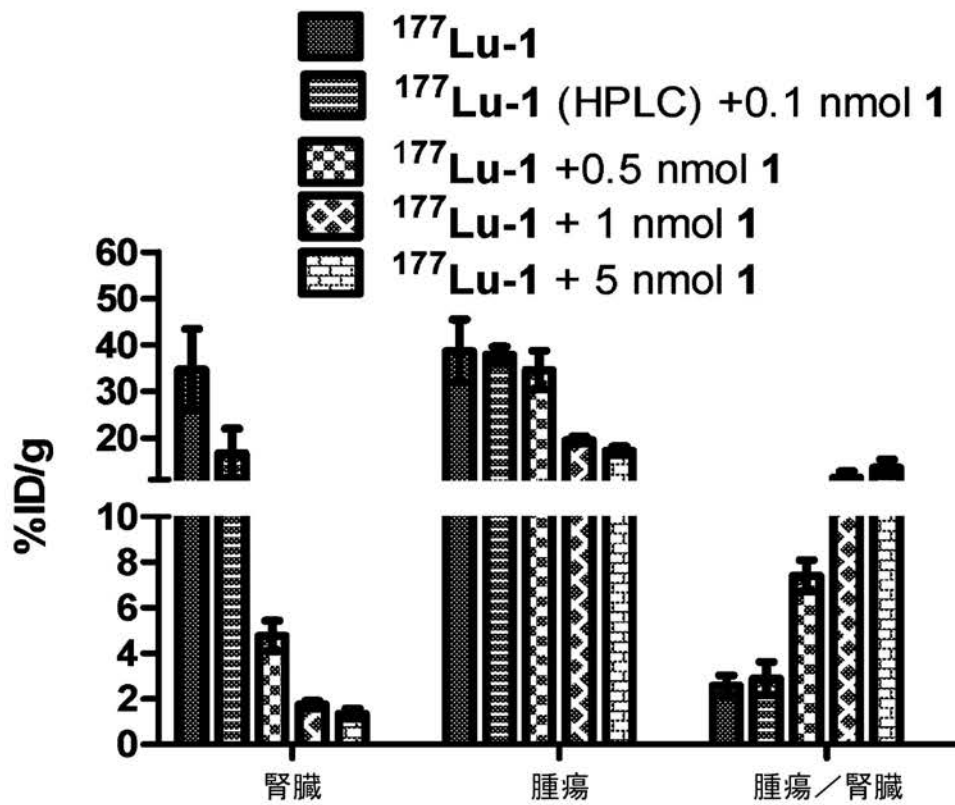


E

【 誤 訳 訂 正 1 3 】

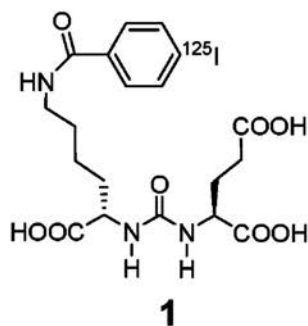
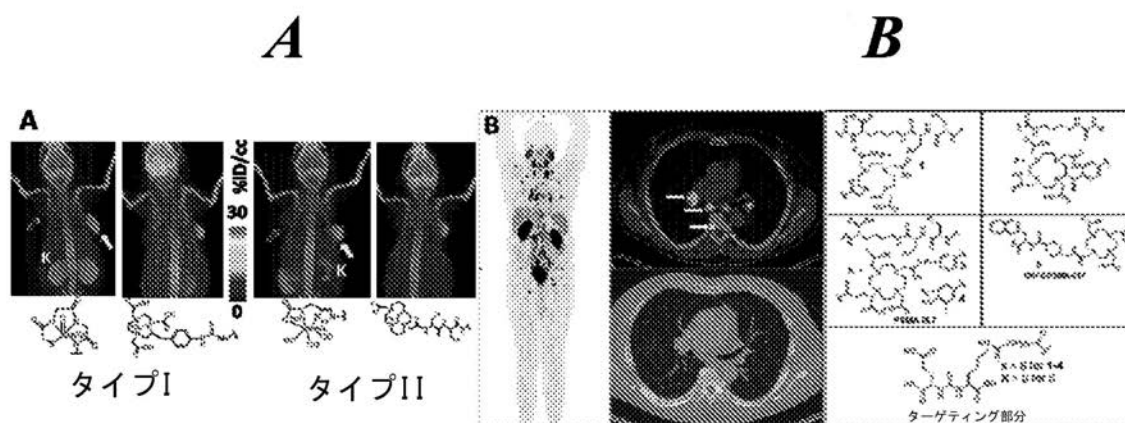
【訂正対象書類名】図面
【訂正対象項目名】図 1 2
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【 図 1 2 】



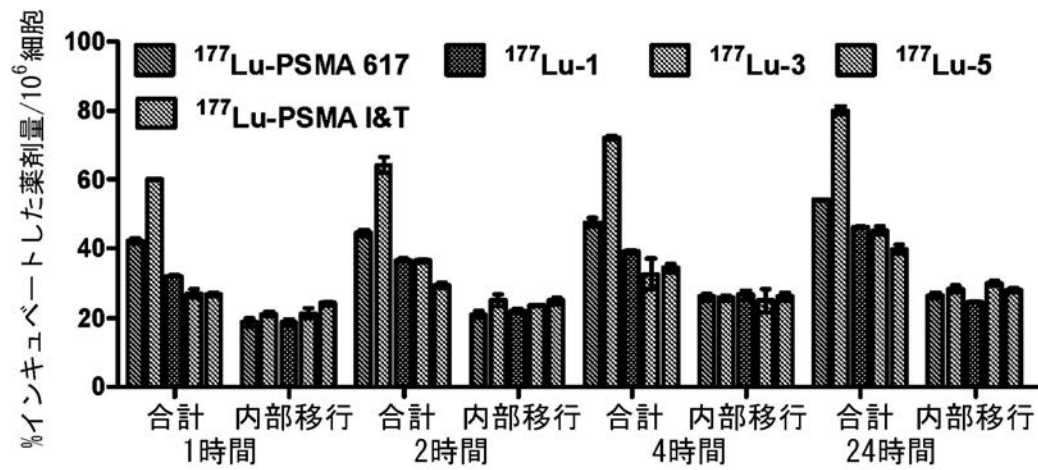
【 誤 訳 訂 正 1 4 】

【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 1 3
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【図 1 3】



【誤訳訂正 1 5】
 【訂正対象書類名】図面
 【訂正対象項目名】図 1 4
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】

【 図 1 4 】



【 誤 訳 訂 正 1 6 】

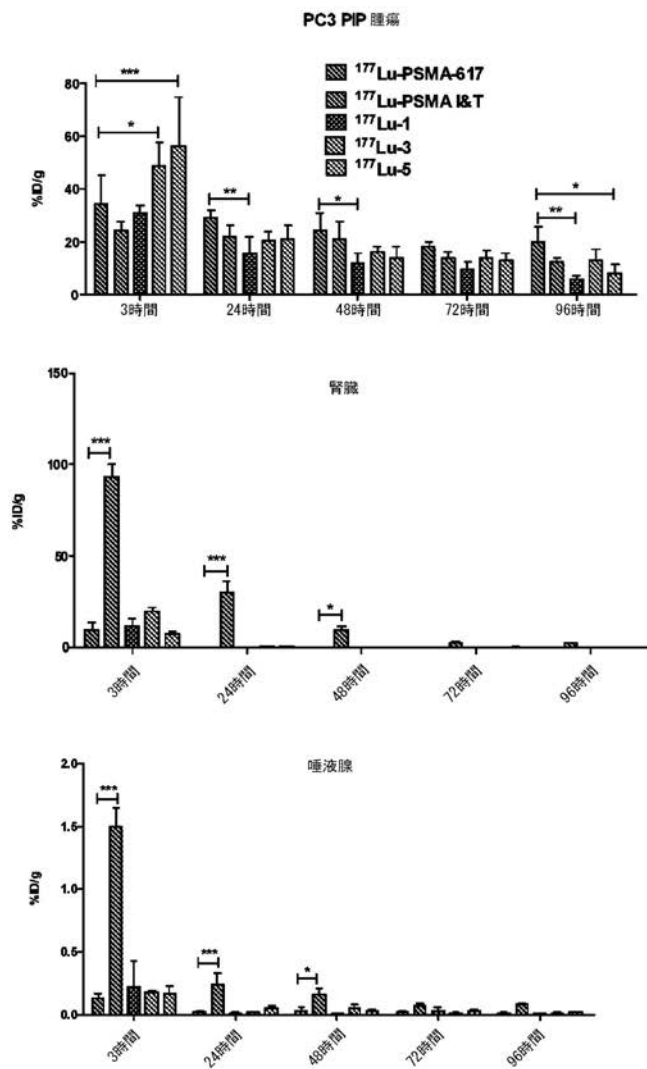
【 訂 正 対 象 書 類 名 】 図 面

【 訂 正 対 象 項 目 名 】 図 1 5

【 訂 正 方 法 】 変 更

【 訂 正 の 内 容 】

【 図 1 5 】



【 誤訳訂正 1 7 】

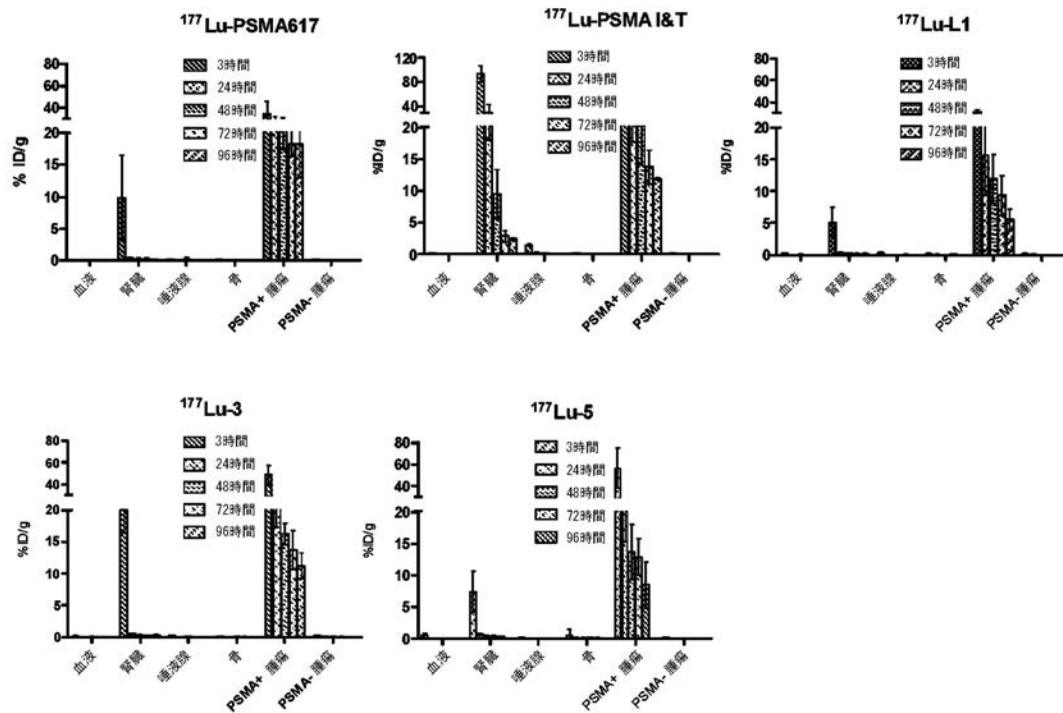
【 訂正対象書類名 】 図面

【 訂正対象項目名 】 図 1 6

【 訂正方法 】 変更

【 訂正の内容 】

【図 16】



【誤訳訂正 18】

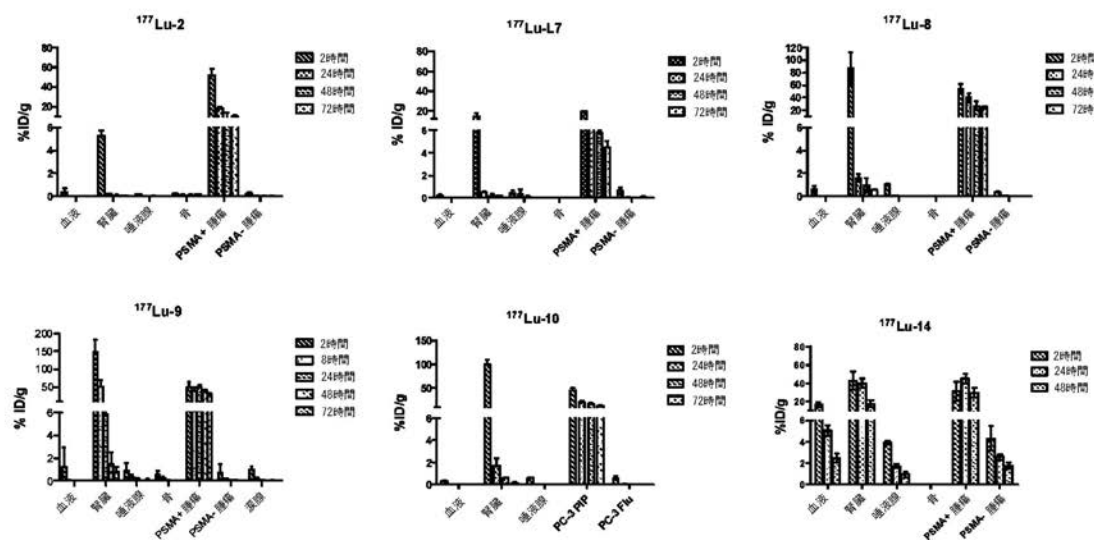
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 17

【訂正方法】変更

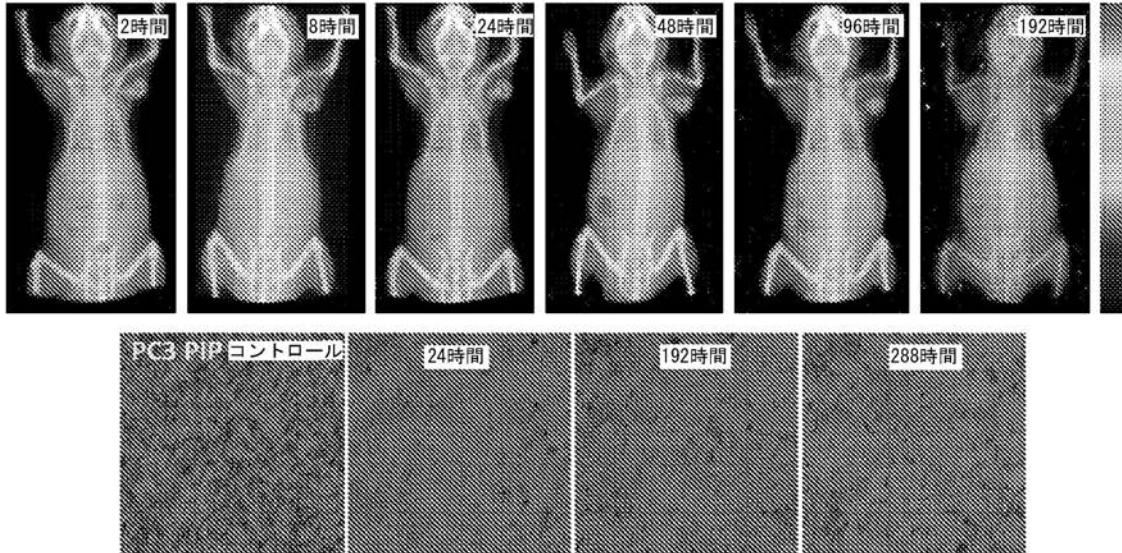
【訂正の内容】

【図 17】



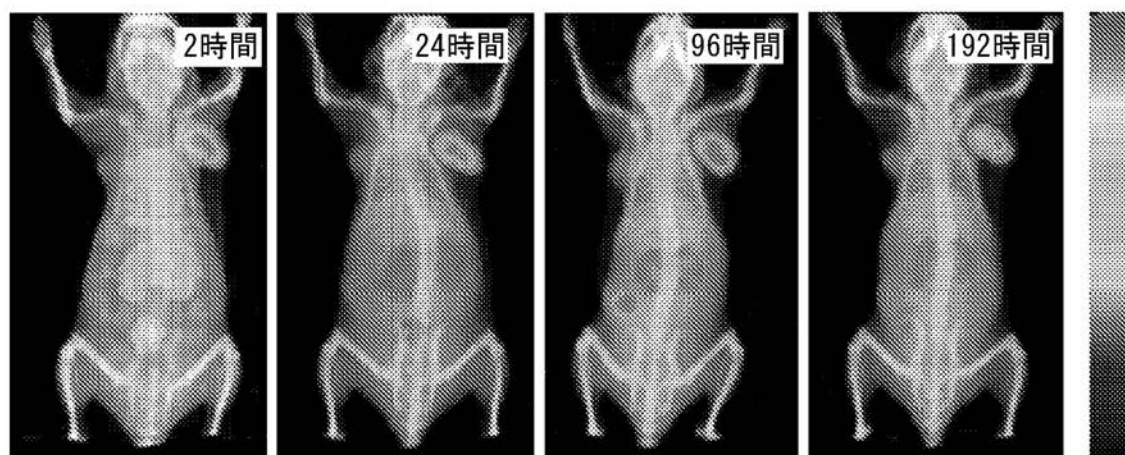
【誤訳訂正 19】

【訂正対象書類名】図面
【訂正対象項目名】図 1 8
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【図 1 8】

A**B**

【誤訳訂正 2 0】
【訂正対象書類名】図面
【訂正対象項目名】図 1 9
【訂正方法】変更
【訂正の内容】

【 図 1 9 】



【 誤 訳 訂 正 2 1 】

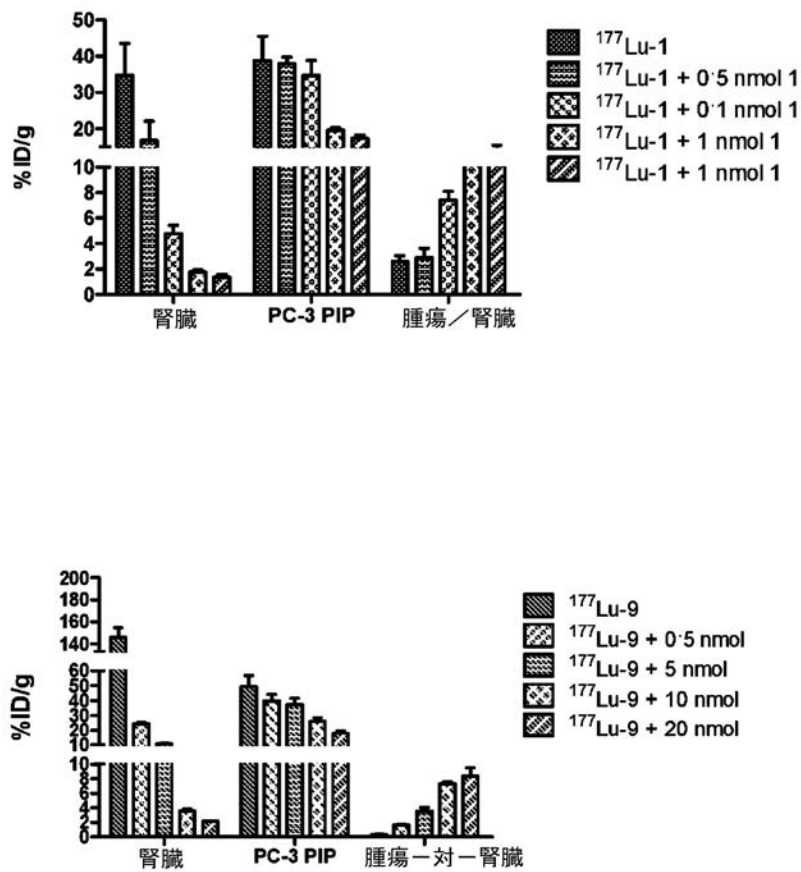
【 訂 正 対 象 書 類 名 】 図 面

【 訂 正 対 象 項 目 名 】 図 2 0

【 訂 正 方 法 】 変 更

【 訂 正 の 内 容 】

【 図 2 0 】



【 誤訳訂正 2 2 】

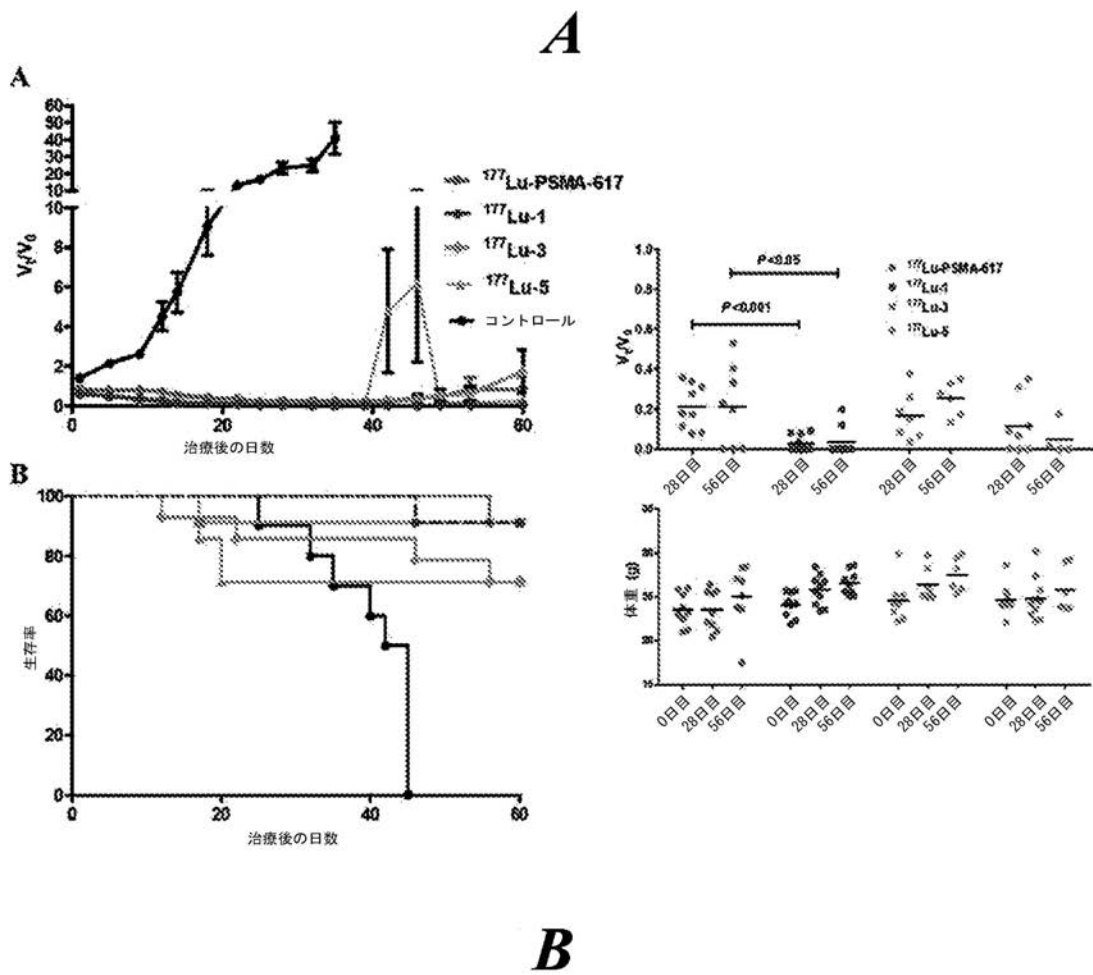
【 訂正対象書類名 】 図面

【 訂正対象項目名 】 図 2 1

【 訂正方法 】 変更

【 訂正の内容 】

【図 2 1】



【誤訳訂正 2 3】

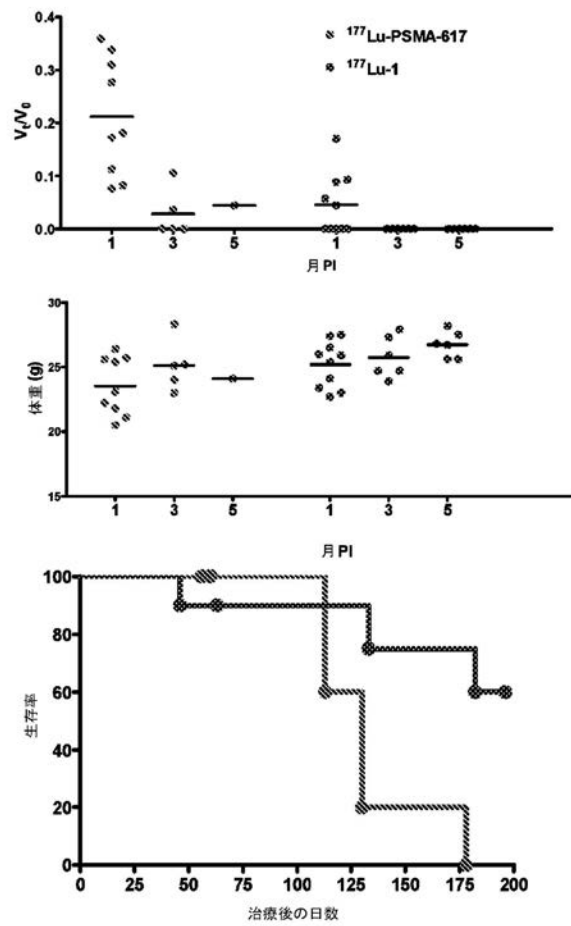
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 2 2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 2 2】



【誤訳訂正 2 4】

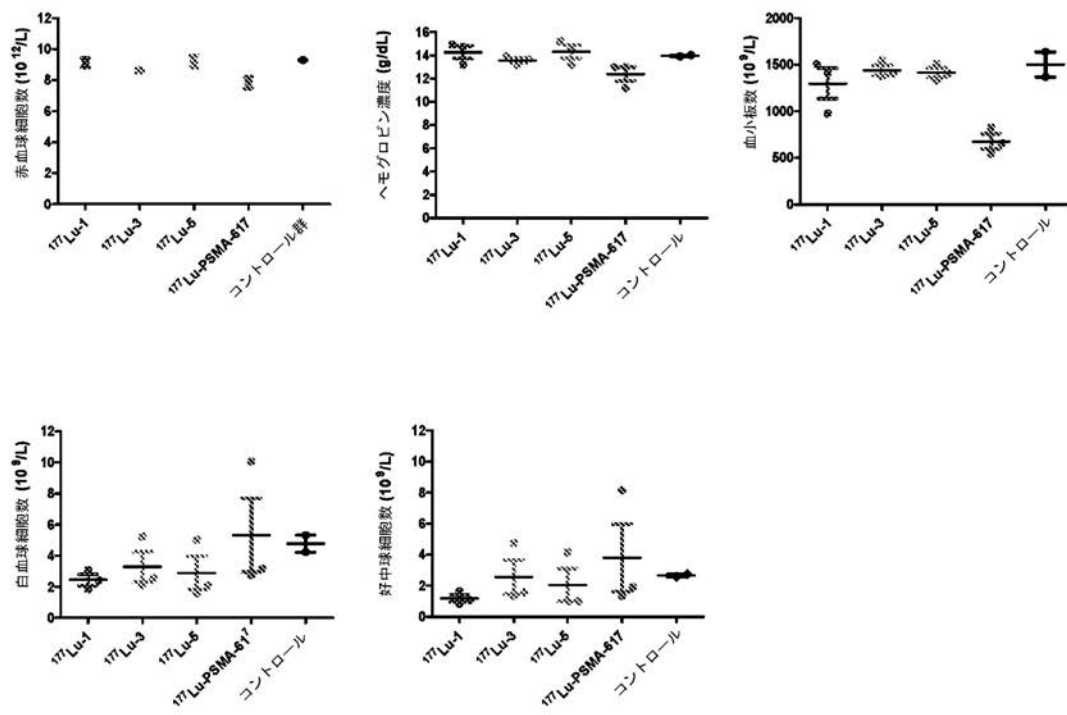
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 2 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 図 2 3 】



【 誤 訳 訂 正 2 5 】

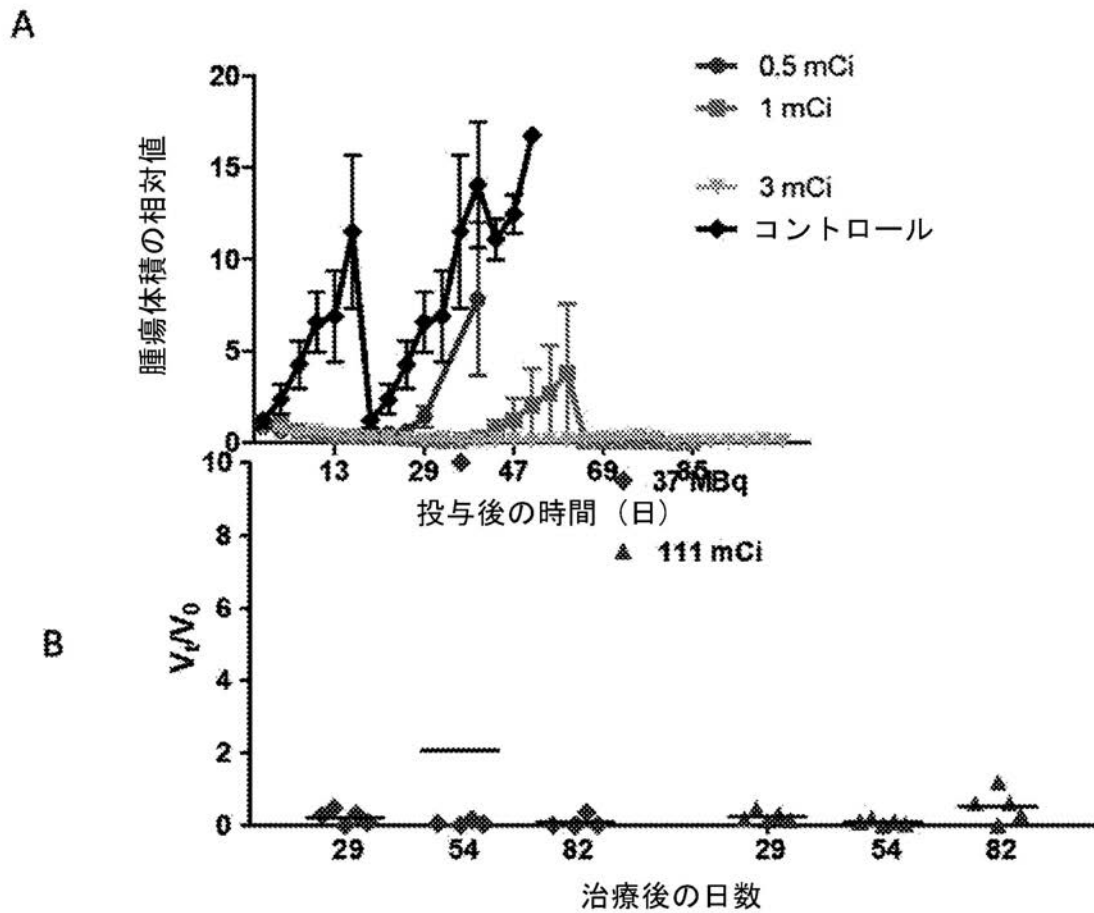
【 訂 正 対 象 書 類 名 】 図 面

【 訂 正 対 象 項 目 名 】 図 2 4

【 訂 正 方 法 】 変 更

【 訂 正 の 内 容 】

【 図 2 4 】



【 誤訳訂正 2 6 】

【 訂正対象書類名 】 図面

【 訂正対象項目名 】 図 2 5

【 訂正方法 】 変更

【 訂正の内容 】

【 図 2 5 】

