

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5318874号  
(P5318874)

(45) 発行日 平成25年10月16日 (2013. 10. 16)

(24) 登録日 平成25年7月19日 (2013. 7. 19)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 7/06 (2006. 01)

C O 7 K 7/06 Z N A

C O 7 K 5/09 (2006. 01)

C O 7 K 5/09

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

A 6 1 K 49/02 A

C O 7 B 59/00 (2006. 01)

C O 7 B 59/00

請求項の数 6 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2010-524233 (P2010-524233)  
 (86) (22) 出願日 平成20年9月9日 (2008. 9. 9)  
 (65) 公表番号 特表2010-539091 (P2010-539091A)  
 (43) 公表日 平成22年12月16日 (2010. 12. 16)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2008/075684  
 (87) 国際公開番号 W02009/035959  
 (87) 国際公開日 平成21年3月19日 (2009. 3. 19)  
 審査請求日 平成23年9月9日 (2011. 9. 9)  
 (31) 優先権主張番号 60/971, 007  
 (32) 優先日 平成19年9月10日 (2007. 9. 10)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

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

最終頁に続く

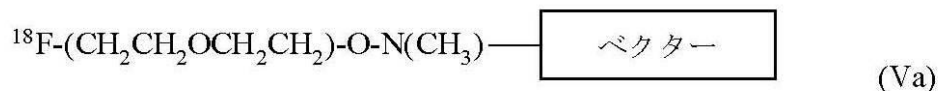
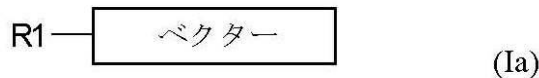
(54) 【発明の名称】 放射性フッ素化方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

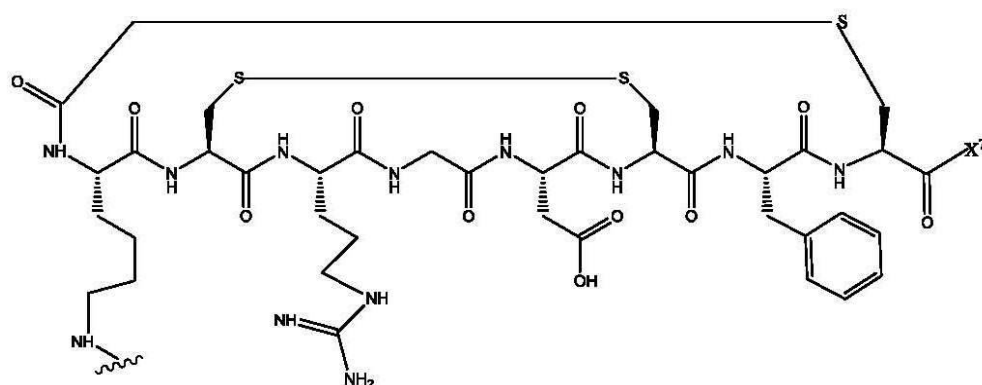
以下の式 ( I a ) の ベクター前駆体 を以下の式 ( I I b ) の化合物と反応させて以下の式 ( V a ) の コンジュゲート を得ることを含んでなる放射性フッ素化方法。

【化 1】



式中、ペクターは以下の式 (A) のものである。

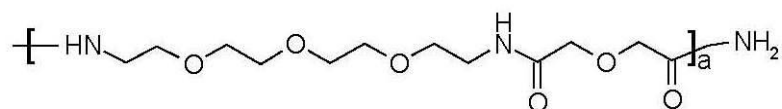
【化 2】



(A)

(式中、 $X^7$ は  $-NH_2$  又は次式の基であり、

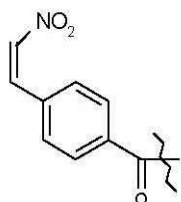
【化 3】



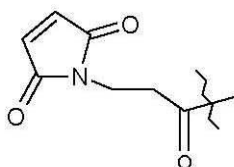
(式中、 $a$  は 1 ~ 10 の整数である。)

$R_1$  は以下の式 (Id) 又は式 (Ie) のものである。

【化 4】



(Id)



(Ie)

【請求項 2】

前記式 (IIb) の化合物が  $tBuO(C=O)N(CH_3)-OCH_2CH_2OCH_2CH_2^{18}F$  から合成される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

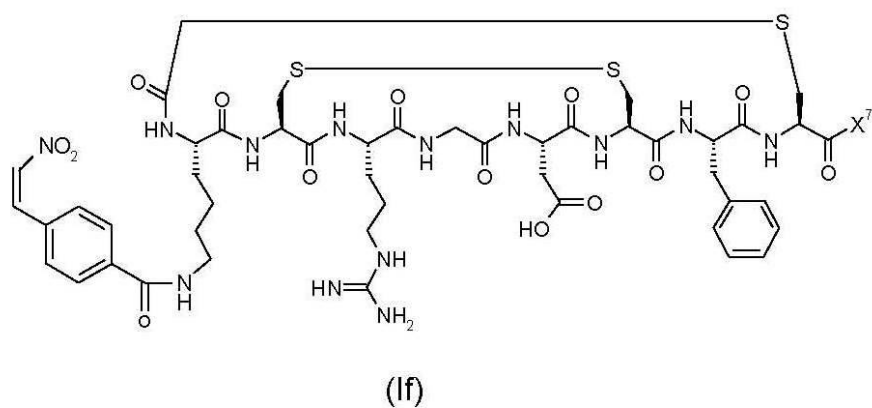
以下の式 (If) 又は式 (Ig) の前駆体。

10

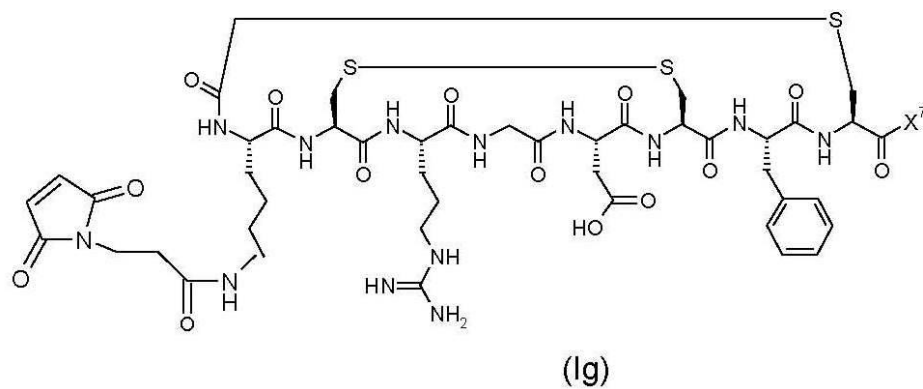
20

30

## 【化 5】



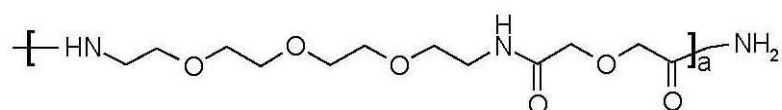
10



20

式中、 $X^7$ は $-NH_2$ 又は次式の基である。

## 【化 6】



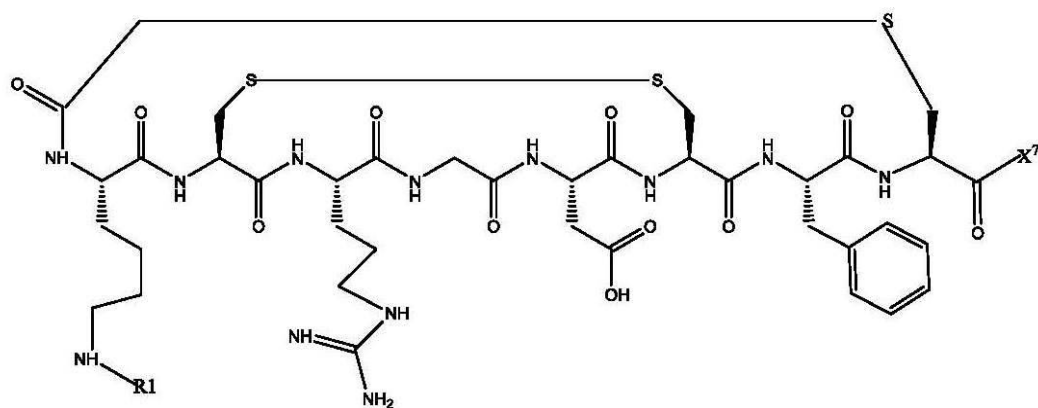
30

( 式中、 $a$  は 1 ~ 10 の整数である。 )。

## 【請求項 4】

次式の化合物。

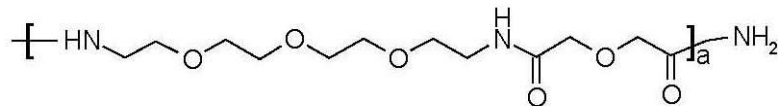
## 【化 7】



40

式中、 $X^7$ は $-NH_2$ 又は次式の基であり、

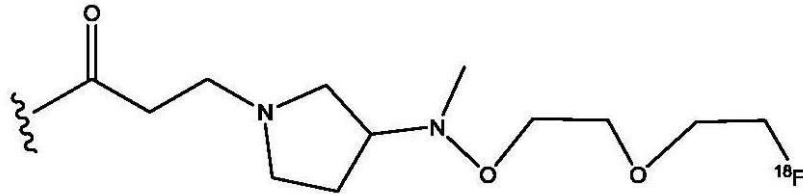
## 【化 8】



(式中、a は 1 である。)

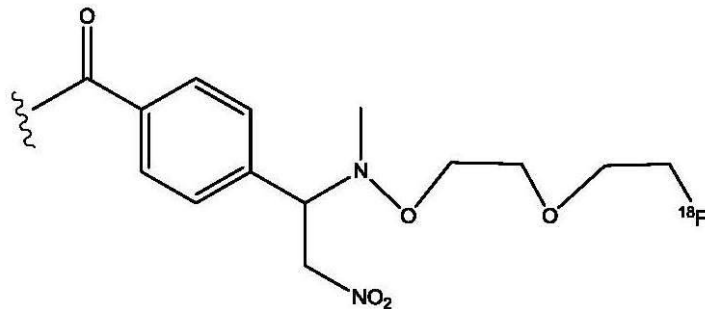
R 1 は以下のいずれかの式のものである。

## 【化 9】



10

又は



20

## 【請求項 5】

PETを用いてヒト又は動物の身体の画像を生成する方法であって、請求項1記載の式(Va)の化合物が予め投与されている前記身体において、前記化合物が分布した前記身体の一部の画像を生成する段階を含んでなる方法。

## 【請求項 6】

癌に関連した病態に対処するための薬物によるヒト又は動物の身体の治療効果をモニターする方法であって、前記薬物による治療前、治療中及び治療後に、請求項5記載の画像を生成する方法を実施することを含む方法。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、陽電子放出核種で標識した生物学的活性ベクターを含む診断薬及び放射性診断薬に関する。本発明はさらに、特異的な生物学的標的に対して親和性を有する分子として定義されるベクター、好ましくはペプチドであるベクターの $^{18}\text{F}$ フッ素化のための方法及び試薬に関する。こうして得られる $^{18}\text{F}$ 標識コンジュゲートは、放射性医薬品として、具体的には陽電子放射断層撮影(PET)で使用するための放射性医薬品として有用である。

40

## 【背景技術】

## 【0002】

放射性標識された生物活性ベクターを診断イメージングのために応用することは、核医学において重要性を増しつつある。特定の細胞タイプと選択的に相互作用する生物学的活性分子は、標的組織に放射能を送達するために有用である。例えば、放射性標識ペプチドは、診断イメージング及び放射線療法のため、腫瘍、梗塞巣部及び感染組織に放射性核種を送達するための大きな潜在的可能性を有している。約110分の半減期を有する $^{18}\text{F}$ は

50

、多くのレセプターイメージング調査のために最適な陽電子放出核種である。したがって、 $^{18}\text{F}$  標識された生物活性ペプチドは、多種多様の疾患を定量的に検出して特性決定するために PET で利用できるの大きな臨床的可能性を有している。

#### 【 0 0 0 3 】

$^{18}\text{F}$  標識ペプチドに関する難点の 1 つは、既存の  $^{18}\text{F}$  標識剤が調製するのに多くの時間を要することである。 $^{18}\text{F}$  によるペプチド及びタンパク質の効率的な標識は、適当な補欠分子族を用いることでのみ達成される。文献中には、N - スクシンイミジル - 4 - [ $^{18}\text{F}$ ]フルオロベンゾエート、m - マレイミド - N - ( p - [ $^{18}\text{F}$ ]フルオロベンジル)ベンズアミド、N - ( p - [ $^{18}\text{F}$ ]フルオロフェニル)マレイミド及び 4 - [ $^{18}\text{F}$ ]フルオロフェナシルプロミドを含む数種のかかる補欠分子族が提唱されている。 $^{18}\text{F}$  によるペプチド及びタンパク質の標識のために現在使用されている方法のほとんどすべてが、フッ素標識シントンの活性エステルを利用している。ペプチド及びタンパク質は活性エステルと反応し得る多数の官能基を含むことがあるので、これらの現行方法は部位特異的でない。例えば、3つのリシン残基を含むペプチドは、標識シントンに対する反応性が全く同じ3つのアミン官能基を有する。したがって、特にペプチド中に  $^{18}\text{F}$  を温和な条件下で迅速かつ化学選択的に導入して、高い放射化学収量及び純度で  $^{18}\text{F}$  標識生成物を得ることを可能にする  $^{18}\text{F}$  標識補欠分子族及び方法に対するニーズが依然として存在している。さらに、かかる方法であって、臨床現場での放射性医薬品の調製を容易にするための自動化に適した方法に対するニーズも存在している。我々は以前に PET 標識方法におけるアミノオキシ化学の使用を記載した(国際公開第 0 3 / 0 0 6 4 9 1 号)が、この発明の化合物はアルデヒド及びケトンと容易に反応しないものの、ある種のハロゲン含有化合物に対して選択性を有する。N - アルキルアミノオキシ部分の化学的安定性はさらに高いので、副反応が最小限に抑えられかつ中間体が一層安定である結果として中間体の取扱い及び貯蔵を首尾よく行うことが可能となり、したがって以前に開示したアミノオキシ基に比べて利点が得られる。

#### 【 先行技術文献 】

#### 【 特許文献 】

#### 【 0 0 0 4 】

国際公開第 2 0 0 8 / 0 8 3 1 9 1 号パンフレット

#### 【 発明の概要 】

#### 【 0 0 0 5 】

本発明は、以下の式 ( I ) の化合物を以下の式 ( I I ) の化合物と反応させるか、或いは以下の式 ( I I I ) の化合物を以下の式 ( I V ) の化合物と反応させることを含んでなる放射性フッ素化方法を提供する。

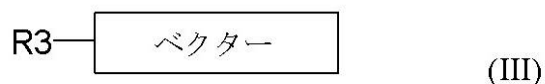
#### 【 0 0 0 6 】

#### 【 化 1 】



#### 【 0 0 0 7 】

## 【化 2】



式中、

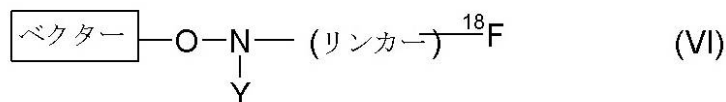
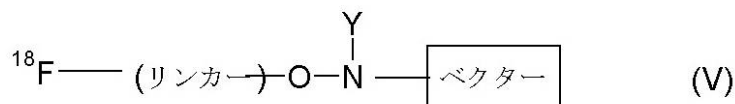
R 1 はハロアセチル、ハロアリル又は基又はフェナシルハライドのような反応性ハロゲン含有基であるか、すべての基がアルキル化反応への関与に適したエポキシド環であるか、マレイミド基或いはアクリル酸又は置換アクリル酸誘導体のようなマイケル ( M i c h a e l ) 受容体であるか、ビニルスチレン ( 好ましくはニトロビニルスチレン ) であるか、ビニルスルホンアミドであるか、或いはビニルスルホンである。

R 2 は N - アルキルアミノオキシ基であり、これは水性緩衝液及びわずかに酸性の p H のような温和な条件下で R 1 と部位特異的に反応して以下の式 ( V ) の化合物を生じる。

式 ( I I I ) の R 3 は R 2 に等しく、式 ( I V ) の R 4 は R 1 に等しい。式 ( I I I ) の化合物と式 ( I V ) の化合物との連結は以下の式 ( V I ) の生成物を生じる。

【 0 0 0 8 】

## 【化 3】



式中、いずれの場合にも、Y はアルキルであり、好ましくは Y = - C H <sub>3</sub> である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 9 】

【図 1】化合物 3 の <sup>18</sup>F - コンジュゲートの H P L C クロマトグラム。

【図 2】化合物 6 の <sup>18</sup>F - コンジュゲートの H P L C クロマトグラム。

【図 3】化合物 7 の <sup>18</sup>F - コンジュゲートの H P L C クロマトグラム。

【図 4】化合物 8 の <sup>18</sup>F - コンジュゲートの H P L C クロマトグラム。

【図 5】化合物 1 1 の <sup>18</sup>F - コンジュゲートの H P L C クロマトグラム。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 0 】

式 ( V ) の化合物が最も好ましく、式 ( I I ) の化合物の <sup>18</sup>F - リンカー成分は好ましくは以下の式 ( V I I ) ~ ( X I ) に示される種類の化合物からなる。

【 0 0 1 1 】

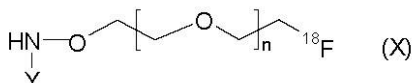
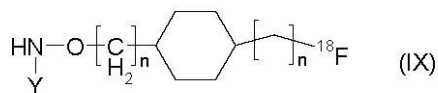
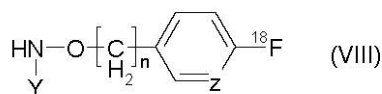
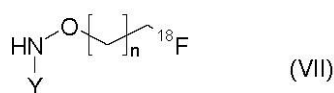
10

20

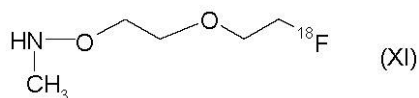
30

40

## 【化 4】



好ましくは



式中、

n は 0 ~ 20 の整数であり、

Z は O、N 又は S である。

## 【0012】

式 (II) の化合物中のリンカー基は、得られる式 (V) のコンジュゲートにおいて好ましい排泄特性のような最適のインビガ薬物動態が得られるように選択することもできる。親油性の異なるリンカー基を使用することで、診断上のニーズに応じてペプチドのインビガ薬物動態を大きく変化させることができる。例えば、式 (V) のコンジュゲートを腎排泄によって体外に排除することが望ましい場合には、式 (X) ~ (XI) から導かれるリンカー成分を含む親水性リンカーが使用される。同様に、肝胆道排泄による排除が望ましい場合には、式 (VII) ~ (IX) から導かれるリンカー成分を含む疎水性リンカーが選択できる。

## 【0013】

本発明は、ペプチド又はペクター前駆体の合成に際して標識の正確な導入部位が予め選択される一層化学選択的な放射性標識アプローチを提供する。分子中の所定部位で起こる連結反応は、ただ 1 種の標識生成物を与える。したがって、このような方法は化学選択的であり、その用途は多種多様の薬物様分子、ペプチド及び生体分子 (例えば、小タンパク質) の標識に役立つ包括的なものであると考えられる。

## 【0014】

さらに別の態様では、本発明は、以下の式 (Ia) の化合物を以下の式 (IIa) の化合物と反応させるか、或いは以下の式 (IIIa) の化合物を以下の式 (IVa) の化合物と反応させてそれぞれ以下の式 (Va) 又は (VIa) のコンジュゲートを得ることを含んでなる放射性フッ素化方法を提供する。

## 【0015】

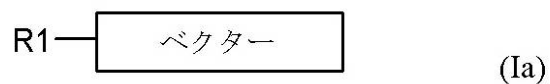
10

20

30

40

## 【化 5】



## 【 0 0 1 6 】

## 【化 6】

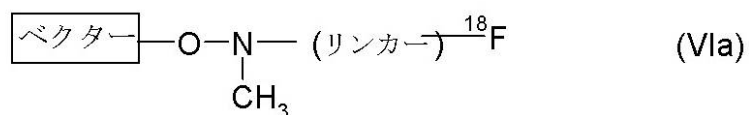
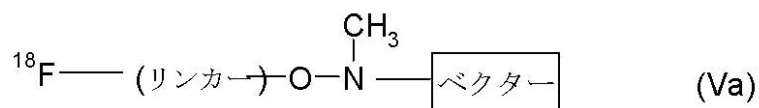
10



## 【 0 0 1 7 】

## 【化 7】

20



30

式中、R 1 及び R 4 はそれぞれ式 ( I ) 及び式 ( I V ) の化合物に関して上記に定義した通りであり、リンカー基は上記の化合物に関して定義した通りである。

## 【 0 0 1 8 】

反応は、適当な溶媒 (例えば、p H 3 ~ 1 1 の範囲内の水性緩衝液) 中において 5 ~ 7 0 の極端でない温度、最も好ましくは周囲温度で実施できる。

## 【 0 0 1 9 】

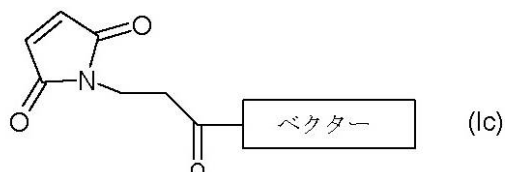
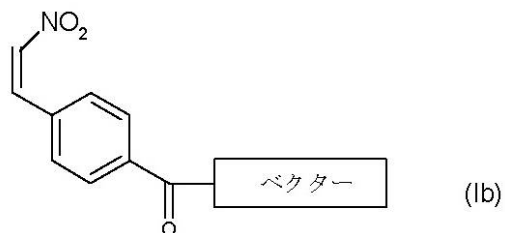
本発明のさらに別の態様では、R 1 はマレイミド化合物及びビニルスチレン化合物の部類から導かれ、最も好ましくは以下の式 ( I b ) 及び式 ( I c ) 中に表される。

## 【 0 0 2 0 】

40



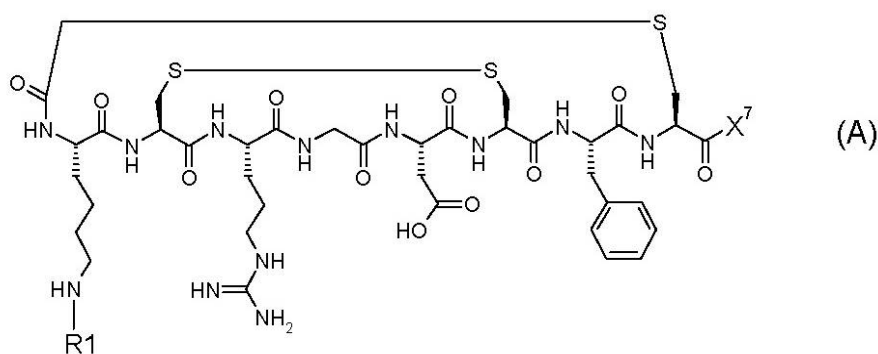
## 【化 8】



式 ( I ) 及び式 ( I I I ) 中並びに本発明の他の態様では、特記しない限り、ベクターは疾患過程に付随する関連レセプターに対して親和性を有する生物学的薬剤として定義できる。生物学的薬剤は小分子薬物様の薬物団、タンパク質又は抗体として定義できるが、好ましくは分子量 30 kDa 未満のタンパク質であり、最も好ましくはアミノ酸 100 未満のペプチドである。本発明の方法を用いる標識用の好ましいペプチドベクターの例には、オクトレオチドのようなソマトスタチン類似体、ボンベシン、血管作用性小腸ペプチド、走化性ペプチド類似体、 $\alpha$ -メラノサイト刺激ホルモン、ニューロテンシン、Arg - Gly - Asp ペプチド、ヒトプロインスリン結合ペプチド、エンドセリン、アンギオテンシン及びホルミル - ノルロイシル - ロイシル - フェニルアラニル - ノルロイシル - チロシル - リシンがある。標識用の好ましいペプチドは、国際公開第 01 / 77415 号及び同第 03 / 006491 号に記載されているもののような Arg - Gly - Asp ペプチド及びその類似体である。好ましいペプチドベクターは、以下の式 ( A ) のフラグメントを含んでいる。

【 0021】

## 【化 9】



式中、 $X^7$  は - NH<sub>2</sub> 又は次式のエチレングリコール含有構造であり、

【 0022】

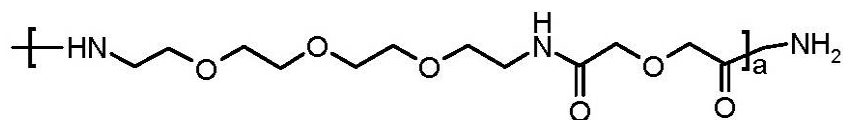
10

20

30

40

## 【化 10】



(式中、「a」は1～10の整数であり、最も好ましくはaは1である。)

R1は式(I)に関して前記に記載した通りである。

## 【0023】

当業者には容易に理解される通り、本発明の方法は、タンパク質、ホルモン、オリゴクレオチド及び抗体フラグメントのような他の生体分子並びに薬物様小分子の放射性フッ素化によって各種のPETトレーサーを得るためにも使用できる。

## 【0024】

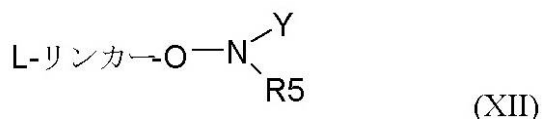
式(I)及び式(III)の化合物は、例えば、Atherton, E. and Sheppard, R. C.; "Solid Phase Synthesis"; IRL Press: Oxford, 1989中に記載されている固相ペプチド合成法のような標準的ペプチド合成法によって製造できる。式(I)又は(III)の化合物中への基R1又はR3の導入は、ペプチドのN末端又はC末端の反応、或いはペプチド配列中に含まれる何らかの他の官能基であって、その修飾がペクターの結合特性に影響を及ぼさない官能基との反応によって達成できる。好ましい例では、Carrasco et al (Biopolymers, Peptide Science, 2006, Vol 84(4), page 414)によって記載されたアミノ酸を用いて、N-アルキルアミノオキシ基(Y-NH<sub>2</sub>-O-)をペプチド配列中に直接導入できる。官能基R1及びR3は、好ましくはペプチドのアミン官能基と活性化酸との反応による安定なアミド結合の形成によって導入され、ペプチド合成の実施中又は実施後に導入される。前駆体が酸である場合、R1及びR3は、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HBTU)又はN-[(ジメチルアミノ)-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジン-1-イルメチレン]-N-メチルメタンアンモニウムヘキサフルオロホスフェートN-オキシド(HATU)のようなインサイチュ活性化剤を用いて導入できる。

## 【0025】

式(II)の化合物は、以下の式(XII)の対応する前駆体から製造できる。

## 【0026】

## 【化 11】



式中、Lは脱離基、好ましくはp-トルエンスルホネート、トリフルオロメタンスルホネート又はメタンスルホネート或いはハライドであり、Y及びリンカーは前記に定義した通りであり、R5は窒素原子を保護するための適当な保護基(例えば、t-ブチルオキシカルボニル基)である。かくして、サイクロトロンで生成された水性[<sup>18</sup>F]-フッ化物を好適には塩基(例えば、テトラブチルアンモニウム又はK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/クリプトフィックス(Kryptofix)222)からの蒸発によって予備活性化したものと、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド又はジメチルスルホキシドのような適当な溶媒中において、通例は高温(例えば、60～150℃、好適には60～120℃)又はマイクロ波加熱下で反応させ、次いで酸分解処理のような標準的方法を用いてN-保護基を除去する

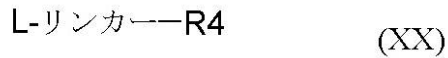
ことができる。

【 0 0 2 7 】

式 ( I V ) の化合物は、以下の式 ( X X ) の対応する前駆体又はその保護誘導体から製造できる。

【 0 0 2 8 】

【 化 1 2 】



10

式中、Lは脱離基、好ましくはp-トルエンスルホネート、トリフルオロメタンスルホネート又はメタンスルホネート或いはハライドであり、リンカー及びR<sub>4</sub>は前記に定義した通りである。Lは、サイクロトロンで生成された水性 [<sup>18</sup>F]-フッ化物を好適には塩基（例えば、テトラブチルアンモニウム又はK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/クリプトフィックス222）からの蒸発によって予備活性化したものと、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド又はジメチルスルホキシドのような適当な溶媒中において、通例は高温（例えば、60～120）で反応し得る。

【 0 0 2 9 】

本発明はまた、一般式 ( V ) 又は ( V I ) の化合物の有効量（例えば、インビボPETイメージングで使用するのに有効な量）を1種以上の薬学的に許容される補助剤、賦形剤又は希釈剤と共に含んでなる放射性医薬品組成物を提供する。

20

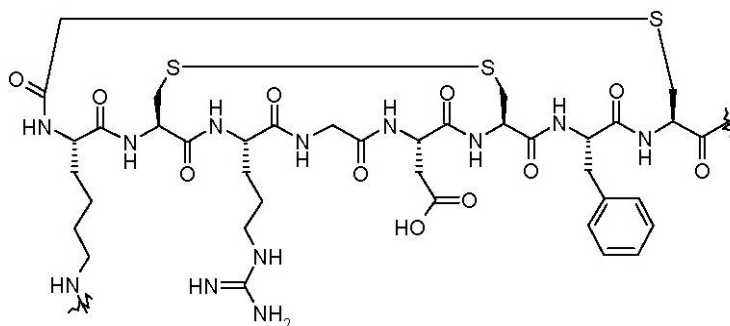
【 0 0 3 0 】

本発明の好ましい実施形態は、医学で使用するための、特に（好適にはPETによる）腫瘍イメージングで使用するための一般式 ( V ) 又は ( V I ) の化合物であって、ペクターが国際公開第01/77415号及び同第03/006491号に記載されているもののようなArg-Gly-Aspペプチド又はその類似体である化合物に関する。かかるペクターは、好ましくは次式のフラグメントを含み、

【 0 0 3 1 】

【 化 1 3 】

30

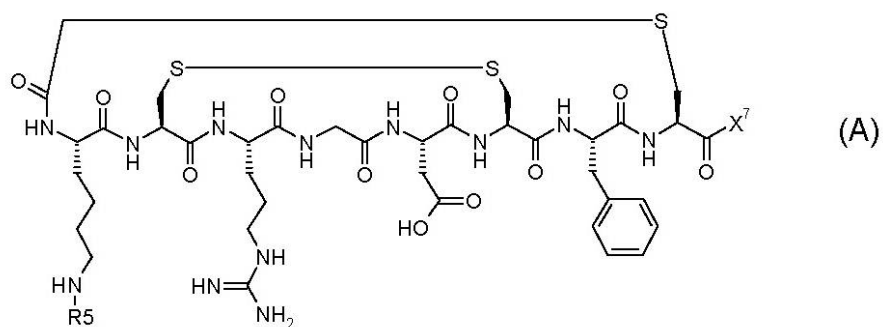


40

さらに好ましくは以下の式 ( A ) のペプチドである。

【 0 0 3 2 】

## 【化 1 4】

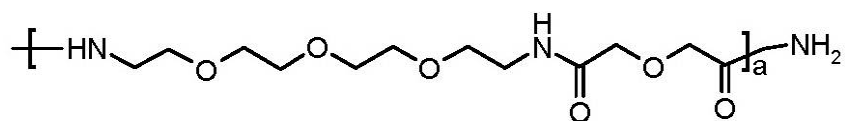


10

式中、 $X^7$ は  $-NH_2$  又は次式の基であり、

## 【 0 0 3 3】

## 【化 1 5】



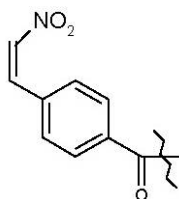
20

( 式中、「 $a$ 」は 1 ~ 10 の整数であり、最も好ましくは  $a$  は 1 である。 )

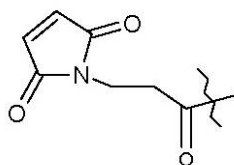
$R_5$  はペプチドの反応後にリシン残基の  $\alpha$ -アミノとアミド結合を形成し、 $R_1$  によって定義されるが、最も好ましくは下記の構造 ( I d ) 及び ( I e ) によって例示される。

## 【 0 0 3 4】

## 【化 1 6】



(Id)



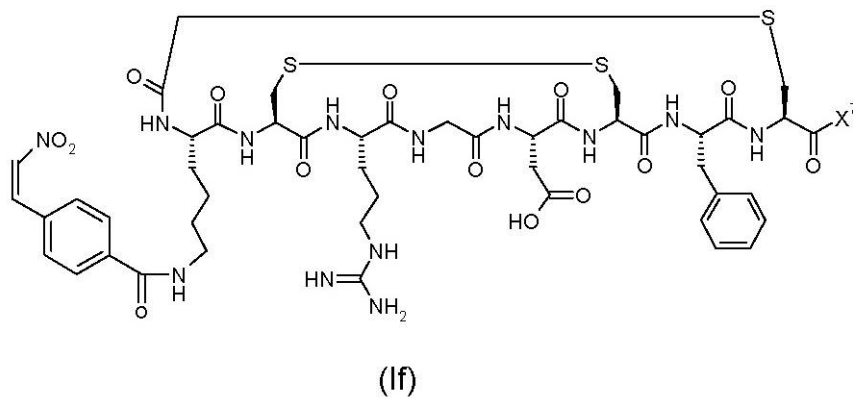
(Ie)

30

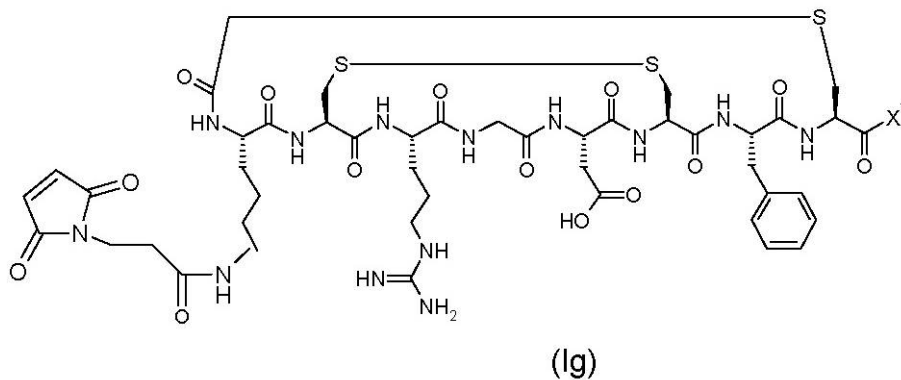
かくして、以下の式 ( I f ) 及び ( I g ) に示される構造を有する式 ( I ) が得られる。

## 【 0 0 3 5】

## 【化 17】



10



20

本発明の放射性標識コンジュゲートは、PETイメージングのため、所望の信号を得るのに十分な量で患者に投与すればよい。通常、体重70kg当たり0.01～100mCi、好ましくは0.1～50mCiの典型的な放射性核種投与量で十分であろう。

## 【0036】

したがって、本発明に係る放射性標識コンジュゲートは、完全に当業者の技術常識に属するやり方で、生理学的に許容されるキャリアー又は賦形剤を用いて投与のために製剤化できる。例えば、薬学的に許容される賦形剤を任意に添加した化合物を水性媒質中に懸濁又は溶解し、次いで得られた溶液又は懸濁液を滅菌すればよい。

30

## 【0037】

さらに別の態様から見れば、本発明は、放射性医薬品をヒト又は動物の身体に投与する段階及び前記身体の一部の画像を生成する段階を含むインビボイメージング方法（好適にはPET）、好ましくは腫瘍イメージング方法で使用するための放射性医薬品の製造における本発明の放射性標識コンジュゲートの使用を提供する。

## 【0038】

さらに別の態様から見れば、本発明は、ヒト又は動物の身体の画像を生成する方法であって、本発明に係る放射性標識コンジュゲートを含む放射性医薬品を前記身体（例えば、脈管系中）に投与する段階、及びPETを用いて前記放射性医薬品が分布した前記身体の一部の画像を生成する段階を含んでなる方法を提供する。

40

## 【0039】

さらに別の態様から見れば、本発明は、癌に関連した病態（好ましくは血管新生）に対処するための薬物（例えば、細胞毒性薬剤）によるヒト又は動物の身体の治療効果をモニターする方法であって、本発明に係る放射性標識コンジュゲートを前記身体に投与する段階及び細胞レセプター（好ましくは内皮細胞レセプター、特にv3レセプター）による前記コンジュゲートの取込みを検出する段階を含んでなり、前記投与及び検出は任意ではあるが好ましくは（例えば前記薬物による治療前、治療中及び治療後に）繰り返して実施される方法を提供する。

50

## 【 0 0 4 0 】

本発明のさらに別の態様では、式 ( I I ) 又は ( I V ) の補欠分子族及び式 ( I ) 又は ( I I I ) の化合物を含む放射能フッ素化トレーサーを製造するためのキットが提供される。

## 【 0 0 4 1 】

本発明のさらに別の態様に従えば、式 ( X X ) の補欠分子族及び式 ( I ) の化合物を含む放射能フッ素化トレーサーを製造するためのキットが提供される。本発明の別の態様に従えば、式 ( ) 又は ( ) の補欠分子族及び式 ( I I I ) の化合物を含む放射能フッ素化トレーサーを製造するためのキットが提供される。

## 【 0 0 4 2 】

キットの使用に際しては、それぞれ上述した方法を用いて、式 ( ) の化合物は対応する式 ( I I ) の化合物に転化され、式 ( ) 又は ( ) の化合物は対応する式 ( I V ) の化合物に転化される。好ましくは、反応混合物を S o l i d P h a s e E x t r a c t i o n ( S P E ) カートリッジに通すことにより、式 ( I I ) 又は ( I V ) の化合物を廃反応体から分離できる。S P E カートリッジは、黒鉛パッド、C 1 8 固定相又はイオン交換樹脂を含み得る。次いで、式 ( I I ) 又は ( I V ) の化合物を、好適には水性緩衝液 ( p H 3 ~ 1 1 ) に溶解し得る式 ( I ) 又は ( I I I ) の化合物にそれぞれ添加する。極端でない温度で 1 ~ 7 0 分間反応させた後、標識ペプチドを例えば S P E により精製して回収することができる。

## 【 実施例 】

## 【 0 0 4 3 】

以下の実施例によって本発明を例示するが、実施例中では下記の略語を用いる。

H P L C : 高速液体クロマトグラフィー

N M R : 核磁気共鳴

h r ( s ) : 時間

m i n ( s ) : 分

T H F : テトラヒドロフラン

D C M : ジクロロメタン

D M F : N , N - ジメチルホルムアミド

T B A F : フッ化テトラブチルアンモニウム

M e O H : メタノール

D M S O : ジメチルスルホキシド

B o c : t - ブトキシカルボニル

R T : 室温

i - P r <sub>2</sub> - N e t : N , N - ジイソプロピルエチルアミン

t - B D P S i C l : t e r t - ブチルジフェニルシリルクロリド

N a H : 水素化ナトリウム

E t O A c : 酢酸エチル

M B q : メガベクレル

次の移動相 / 勾配系を使用した。溶媒 A : 水 ( 0 . 1 % T F A ) 、溶媒 B : アセトニトリル ( 0 . 1 % T F A ) 。

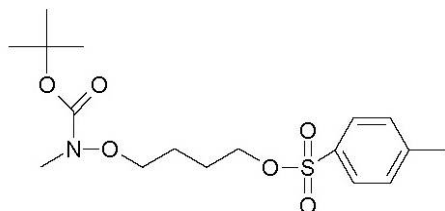
## 【 0 0 4 4 】

## 例 1

トルエン - 4 - スルホン酸 4 - ( N - メチル - N - B o c - アミノオキシ ) ブチルエステルの製造

## 【 0 0 4 5 】

## 【化 18】



化合物 1

10

(a) N - Boc - N - メチルヒドロキシルアミン

N - メチルヒドロキシルアミン (4.2 g, 0.05 mol) を 50 % 水性テトラヒドロフラン (THF) (20 ml) に溶解し、攪拌しながら氷上で冷却した。氷冷溶液に炭酸カリウム (3.6 g, 0.0275 mol) を添加し、次いで 15 ml の THF に溶解したジ - tert - ブチルジカーボネート (12 g, 0.055 mol) を添加した。混合物を 0 で 2 時間攪拌し、室温で 2 時間攪拌した。THF を減圧下で除去し、残留物を DCM に溶解した。溶液を水で 2 回洗浄し、乾燥し (MgSO<sub>4</sub>)、濃縮することで、ピンク色の低粘度油状物 6.47 g (88 %) を得た。生成物をエレクトロスプレー質量分析法 (ESI - MS) によって同定した (MH<sup>+</sup>計算値 147.09、実測値 147.6)。生成物はそれ以上精製せずに使用した。

20

## 【0046】

(b) (4 - ブロモブトキシ) - tert - ブチルジフェニルシラン

i - Pr<sub>2</sub> - Net (10 ml) を含む DCM (10 ml) に 4 - ブロモ - 1 - ブタノール (2.75 g, 18 mmol) を溶解した溶液に、アルゴン雰囲気下で t - BDPSiCl (5 ml, 18 mmol) を添加した。溶液を室温で 2 時間攪拌し、真空中で濃縮し、クロマトグラフィー処理 (ヘキサン / 酢酸エチル 10 : 1) することで、低粘度で無色の油状物 4.39 g (62 %) を得た。構造を NMR で確認した。

## 【0047】

(c) O - [4 - (tert - ブチルジフェニルシラニルオキシ) ブチル] - N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン

30

N - Boc - N - メチルヒドロキシルアミン (a) (0.74 g, 5 mmol) を 10 ml の DMF に溶解し、NaH (200 mg、鉱油中 60 % 分散液、4.75 mmol) で処理し、アルゴン雰囲気下で 1 時間攪拌した。混合物を 0 に冷却し、(4 - ブロモブトキシ) - tert - ブチルジフェニルシラン (b) の DMF (10 mL) 溶液で処理し、0 でさらに 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残留物を EtOAc (150 mL) に溶解し、分液漏斗内に注入した。有機層を 0.1 M NaOH (5 × 50 mL)、H<sub>2</sub>O (50 mL)、0.1 M KHSO<sub>4</sub> 及びブライン (50 mL) で洗浄し、次いで MgSO<sub>4</sub> で乾燥した。溶媒の除去後、残留物をシリカゲル上でクロマトグラフィー処理 (ヘキサン : EtOAc 10 : 1) して 0.588 g (24 %) の生成物を得た。生成物をエレクトロスプレー質量分析法 (ESI - MS) によって同定した (MH<sup>+</sup>計算値 457.26、実測値 457.8)。

40

## 【0048】

(d) 4 - (N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン) ブタン - 1 - オール

20 mL の乾燥 THF に溶解した O - [4 - (tert - ブチルジフェニルシラニルオキシ) ブチル] - N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン (c) (588 mg, 1.22 mmol) に TBAF (1.6 mL, 1.586 mmol) を添加した。反応物をアルゴン下で一晩攪拌した。溶液に NH<sub>4</sub>Cl (飽和) (10 mL × 3) を添加し、THF を蒸発させた。溶液を DCM で抽出し、有機相を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、蒸発させた。残留物をシリカゲル上でクロマトグラフィー処理 (ヘキサン / EtOAc 1 : 1) して 0.170 g (63 %) の生成物を得た。生成物を HPLC (カラム : Phenomenex) によって同定した。

50

ex Luna 3  $\mu$  C18 (2), 4.6  $\times$  50 mm、検出: 214 nm、勾配: 10 分で 50 ~ 100 % B (ただし、A = H<sub>2</sub>O / 0.1 % TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1 % TFA)、流量: 2 mL / 分、Rt = 2.70 分) によって分析した。NMR 分析によって追加の確認を行った。

【0049】

(e) トルエン - 4 - スルホン酸 4 - (N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン) ブチルエステル

4 - (N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン) ブタン - 1 - オール (d) (170 mg、0.77 mmol) 及び トリエチルアミン (161  $\mu$ L、1.155 mmol) を 10 mL の乾燥 DCM に溶解した氷浴冷却攪拌溶液に、乾燥 DCM (5 mL) 中のトルエン - 4 - スルホンクロリド (190.8 mg、1.001 mmol) をアルゴン下で添加した。15 分後に氷浴を取り除き、反応混合物を室温に放置した。2 時間後、新しい反応剤 (トリエチルアミン (32  $\mu$ L、0.23 mmol)、トルエン - 4 - スルホンクロリド (29.36 mg、0.154 mmol)) を添加した。24 時間後、TLC 上で想定生成物を認めることができる。30 時間後、新しい反応剤 (トリエチルアミン (53  $\mu$ L、0.385 mmol)、トルエン - 4 - スルホンクロリド (73.5 mg、0.385 mmol)) を反応混合物に添加し、一晩放置した。有機相を 10 % NaHCO<sub>3</sub> (10 mL  $\times$  3) で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した。有機相を真空下で除去し、シリカ上でフラッシュする (ヘキサン: 酢酸エチル 6:4) ことで 111 mg (41.5%) の生成物を得た。NMR は、生成物中におけるトルエン - 4 - スルホンクロリド不純物の存在を示した。4 - スルホンクロリドを除去するために追加の精製が必要であった。ヘキサン: EtOAc (8:2) を用いることで、シリカフラッシュカラム上で良好な分離が達成され、4 - スルホンクロリドが除去された。収量: 64 mg (22%)。生成物を HPLC (カラム: Phenomenex Luna 3  $\mu$  C18 (2), 4.6  $\times$  50 mm、検出: 214 nm、勾配: 10 分で 20 ~ 80 % B (ただし、A = H<sub>2</sub>O / 0.1 % TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1 % TFA)、流量: 2 mL / 分、Rt = 2.70 分) によって分析した。生成物をエレクトロスプレー質量分析法 (ESI-MS) によって同定した (MH<sup>+</sup> 計算値 373.16、実測値 373.9)。NMR 分析によって追加の確認を行った。

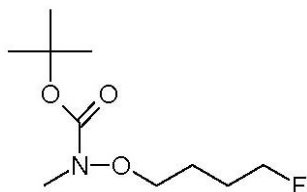
【0050】

## 例 2

非放射性標準としての O - (4 - フルオロブチル) - (N - メチル - N - Boc - ヒドロキシルアミン) の製造

【0051】

【化 19】



化合物 2

KF (4.64 mg、0.080 mmol) 及び クリプトフィックス (30.1 mg、0.080 mmol) を乾燥アセトニトリル (0.75 mL) に溶解した。混合物を 5 分間攪拌した後、乾燥アセトニトリル (0.250 mL) に溶解した化合物 1 (15 mg、0.040 mmol) をアルゴン下で添加した。混合物を 60 ° で 1 時間加熱した。1 時間後、TLC は反応が完了したことを示した。溶媒を蒸発させ、残留物をシリカ上でフラッシュする (ヘキサン / EtOAc (1:1)) ことで 4.5 mg (51%) の生成物を



得た。生成物をHPLC(カラム: Phenomenex Luna 3  $\mu$  C18(2), 4.6  $\times$  50 mm、検出: 214 nm、勾配: 10分で20~70% B(ただし、A = H<sub>2</sub>O / 0.1% TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1% TFA)、流量: 2 mL / 分、Rt = 2.70分)によって分析した。生成物をエレクトロスプレー質量分析法(ESI-MS)によって同定した(MH<sup>+</sup>計算値221.14、実測値221.7)。構造をNMRで確認した。

【0052】

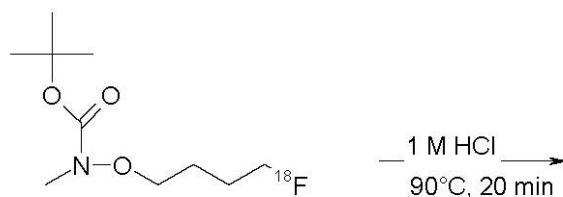
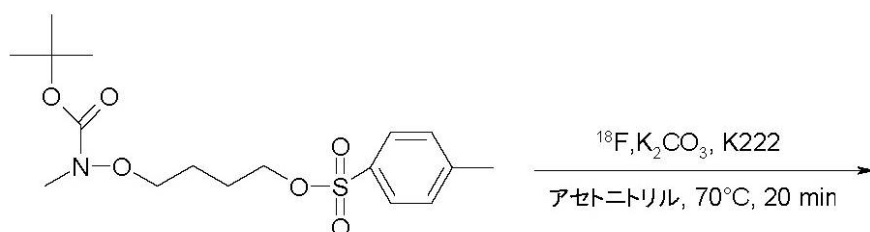
例 3

<sup>18</sup>F - 化合物 2 の放射合成及び 2 - プロモアセトフェノンへのコンジュゲーション

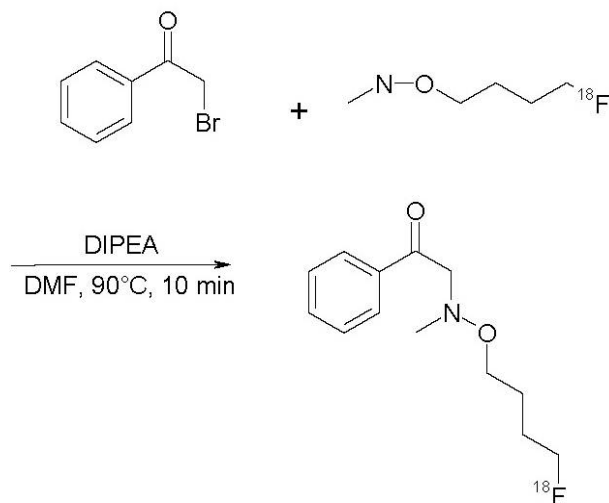
【0053】

10

【化20】



20



30

Raytest社からのSynChrom R&Dモジュール上で放射合成を実施した。 $\text{N}_2$ 下で90°に分間加熱することにより、クリプトフィックス222(1 mLのアセトニトリル中39.1 mg)及び炭酸カリウム(1 mLの水中65.7 mg)の存在下で<sup>18</sup>F-フッ化物(1 GBq以下)を共沸的に乾燥した。この間に、2  $\times$  1 mLのアセトニトリルを添加して蒸発させた。< 40°に冷却した後、トルエン-4-スルホン酸4-(N-メチル-N-Boc-アミノオキシ)ブチルエステル(化合物1)の溶液(1 mLのアセトニトリル中3 mg)を添加した。反応器を70°に20分間加熱して標識を行った。60/40 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>Oからなる定組成流を使用しながら、粗反応混合物を214 nmでHPLCにかけた。クロマトグラムは、非放射性標準と共溶出する良好な収量の標識化合物(約86% RCP)を示した。2 mLのACNを用いて粗反応混合物をSep

40

50

- P a k アルミニウムカラムから溶出させることで遊離フッ化物を除去し、遊離フッ化物の活量を測定した（遊離フッ化物は 15 % 未満であった）。「精製」混合物を H P L C で再分析したところ、遊離フッ化物は除去されていることがわかった。1 m L ( 100 M B q ) の精製生成物を 1 m L の 1 M H C l 中において 90 で 20 分間加水分解して B O C 保護基を除去することで、100 % の非保護 F - 18 放射性標識化合物を得た。1 m L の加水分解生成物を 10 m L のミリQ 水で希釈し、p H を p H 11 ~ 12 に調整し、プレコンディショニングを施した S E P - P A K C - 18 カラムから溶出させた。カラム上の放射能は 30 . 1 M B q と測定された。2 m L の D M F でカラムから反応バイアル中に溶出させることで、23 M B q を有する 2 m L の液体が得られた。6 m g のプロモアセトフェノンを 10  $\mu$  L のジイソプロピルエチルアミンと共に添加し、90 で 10 分間加熱した。反応混合物を H P L C で分析したところ、「遊離」前駆体に対応するピークより大きい面積（57 %）を有する新しいピークが 5 . 46 分の位置に溶出したことにより、コンジュゲート形成の証拠が示された。H P L C は次の通りであった。カラム：X t e r r a ( W a t e r s 社 ) 5  $\mu$  C 18 4 . 6  $\times$  250 m m、検出：250 n m 及び 214 n m、N a I 検出器、勾配：定組成、40 % A = H<sub>2</sub>O 及び 60 % B = アセトニトリル、流量：1 m L / 分。

10

【0054】

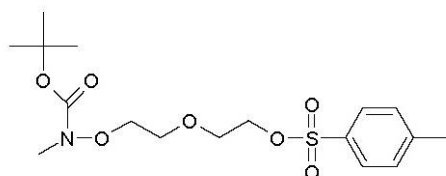
## 例 4

トルエン - 4 - スルホン酸 2 - [ 2 - ( N - メチル - N - B O C - アミノオキシ ) エトキシ ] エチルエステルの製造

20

【0055】

【化 21】



化合物 1

30

( a ) N - B o c - N - メチルヒドロキシルアミン

N - メチルヒドロキシルアミン ( 4 . 2 g、0 . 05 m o l ) を 50 % 水性テトラヒドロフラン ( T H F ) ( 20 m l ) に溶解し、攪拌しながら氷上で冷却した。氷冷溶液に炭酸カリウム ( 3 . 6 g、0 . 0275 m o l ) を添加し、次いで 15 m l の T H F に溶解したジ - t e r t - ブチルジカーボネート ( 12 g、0 . 055 m o l ) を添加した。混合物を 0 で 2 時間攪拌し、室温で 2 時間攪拌した。T H F を減圧下で除去し、残留物を D C M に溶解した。溶液を水で 2 回洗浄し、乾燥し ( M g S O<sub>4</sub> )、濃縮することで、ピンク色の低粘度油状物 6 . 47 g ( 88 % ) を得た。生成物をエレクトロスプレー質量分析法 ( E S I - M S ) ( M H<sup>+</sup> 計算値 147 . 09、実測値 147 . 6 ) 及び N M R によって同定した。生成物はそれ以上精製せずに使用した。

40

【0056】

( b ) トルエン - 4 - スルホン酸 2 - ( 2 - ヒドロキシエトキシ ) エチルエステル

ジエチレングリコール ( 22 g、207 . 5 m m o l ) の C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> ( 100 m l ) 溶液にトリエチルアミン ( 10 . 5 g、103 . 75 m m o l ) を添加した。9 . 89 g ( 51 . 8 m m o l ) のトルエン - 4 - スルホニルクロリドを一度に添加した。溶液を室温で 1 時間攪拌した。D C M 中 5 % M e O H を用いて T L C を実施した。1 / 2 時間後、T L C は生成物の生成物を示した。1 時間 15 分後、反応混合物を 0 . 1 M K H S O<sub>3</sub> 及び 5 % N a H C O<sub>3</sub> で洗浄した。有機相を N a<sub>2</sub> S O<sub>3</sub> で乾燥し、減圧下で蒸発させた。粗反応混合物をシリカゲル上に捕捉し、ヘキサン / E t O A c 50 : 50 を用いたコンビフラッシュ・コンパニオン ( C o m b i f l a s h C o m p a n i o n ) 装置 ( 330 g

50

カラム)上でのフラッシュクロマトグラフィーによって精製した。NMRで構造を確認した。

【0057】

(c) 4 - トルエンスルホン酸 2 - [ 2 - ( t e r t - ブチルジフェニルシラニルオキシ) エトキシ ] エチルエステル

i - P r <sub>2</sub> - N e t ( 6 m L 、 1 . 2 E q ) を含む C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> ( 3 0 m l ) にトルエン - 4 - スルホン酸 2 - ( 2 - ヒドロキシエトキシ ) エチルエステル ( b ) ( 7 . 6 2 2 g 、 2 9 . 2 8 m m o l ) を溶解した溶液に、アルゴン雰囲気下で t - B D P S i C l ( 9 m l 、 1 . 2 e q 、 3 5 . 1 3 6 m m o l ) 及び触媒量の D M A P を添加した。溶液を室温で2日間撹拌した。TLCは反応の完了を示唆した。粗反応混合物を100 mLのDCMで希釈し、2 × 100 mLの水及び100 mLのブラインで洗浄した。MgSO<sub>4</sub>を用いて有機相を乾燥し、真空下で蒸発させ、30分で0 ~ 50%酢酸エチルの勾配 ( E t O A c / ヘキサン ) を用いるコンパニオン・コンピフラッシュ ( 120 g カラム ) 上でのフラッシュクロマトグラフィーによって精製した。外観は透明で粘稠な油状物であった。NMRで構造を確認した。

【0058】

(d) O - { 2 - [ 2 - t e r t - ブチルジフェニルシラニルオキシ ) エトキシ ] エチル } - N - メチル - N - B O C - ヒドロキシルアミン

オーブン乾燥したフラスコ ( 50 mL ) に、NaH ( 鉱油中 60% 分散液 ) 481 mg ( 12 . 03 m m o l ) をアルゴン下で加えた。分散液をペンタンで3回洗浄して鉱油を除去した。純NaHに5 mLのTHF ( 乾燥 ) を添加した。5 mLのTHFに溶解した1 . 53 mg ( 10 . 43 m m o l ) のN - B O C - N - メチルヒドロキシルアミン ( a ) をゆっくりと添加した。反応混合物を、それ以上のガス発生が見られなくなるまで1 / 2時間放置する。溶液を氷浴上に載せ、1 / 2時間撹拌した後、4 g ( 8 . 02 m m o l ) の4 - トルエンスルホン酸 2 - [ 2 - ( t e r t - ブチルジフェニルシラニルオキシ) エトキシ ] エチルエステル ( c ) を滴下した。溶液を氷浴上に1 / 2時間放置し、次いでRTで一晩撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残留物をEtOAc ( 200 mL ) に溶解し、分液漏斗内に注入した。有機層を0 . 1 M NaOH ( 5 × 50 mL ) 、 H<sub>2</sub>O ( 50 mL ) 、 0 . 1 M K H S O<sub>4</sub>及びブライン ( 50 mL ) で洗浄し、次いでMgSO<sub>4</sub>で乾燥した。溶媒の除去後、DCM中のメタノール勾配 ( メタノール : 19分で0 ~ 20% ) を用いるコンパニオン・コンピフラッシュ上でのフラッシュクロマトグラフィーによって残留物を精製した。NMRで構造を確認した。

【0059】

(e) 2 - [ 2 - ( N - メチル - N - B O C - アミノオキシ ) エトキシ ] エタノール

乾燥THF ( 15 mL ) に溶解したO - { 2 - [ 2 - t e r t - ブチルジフェニルシラニルオキシ) エトキシ ] エチル } - N - メチル - N - B O C - ヒドロキシルアミン ( d ) ( 3 g 、 6 . 33 m m o l ) にTBAF ( 6 . 78 mL 、 6 . 78 m m o l ) を添加した。反応物を一晩撹拌した。THFを蒸発させ、残留物をDCMに溶解し、NH<sub>4</sub>Cl ( 飽和 ) ( 40 mL ) 、 水及びブラインで洗浄した。有機相を乾燥 ( MgSO<sub>4</sub> ) し、蒸発させた。残留物をコンパニオン・コンピフラッシュ ( 40 g カラム ) 上でのフラッシュクロマトグラフィー ( 勾配 : DCM中において20分で0 ~ 5% MeOH ) によって精製した。NMRで構造を確認した。

【0060】

(f) トルエン - 4 - スルホン酸 2 - [ 2 - ( N - メチル - N - B O C - アミノオキシ ) エトキシ ] エチルエステル

2 - [ 2 - ( N - メチル - N - B O C - アミノオキシ ) エトキシ ] エタノール ( e ) 1 g ( 4 . 25 m m o l ) を乾燥DCM ( 15 mL ) に溶解した撹拌溶液に、15 mLのDCM中のトリエチルアミン ( 910 mg 、 1254 μ L 、 9 m m o l ) 及びトルエン - 4 - スルホンクロリド ( 1620 mg 、 8 . 5 m m o l ) を添加した。反応混合物をアルゴン下で一晩撹拌した。TLC ( ヘキサン / 酢酸エチル 6 : 4 ) は反応の完了を示した

。反応混合物を50 mLのDCMで希釈し、有機相を5% NaHCO<sub>3</sub>、ブライン及び水で洗浄した。有機相をMgSO<sub>4</sub>上で乾燥し、濾過し、減圧下で蒸発させた。生成物を、ヘキサン/酢酸エチルの勾配を用いるコンパニオン・コンビフラッシュ(40 gカラム)によって精製した。NMRで構造を確認した。

【0061】

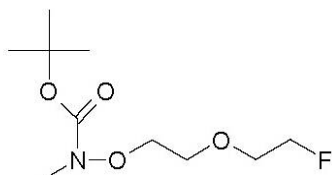
例 5

O - [ 2 - ( 2 - フルオロエトキシ ) エチル ] - N - メチル - N - BOC - ヒドロキシ  
ルアミンの製造

【0062】

【化22】

10



化合物 2

KF (58 mg、1 mmol) 及びクリプトフィックス (376 mg、1 mmol) を乾燥アセトニトリル (2 mL) に溶解した。混合物を5分間攪拌した後、乾燥アセトニトリル (0.250 mL) に溶解した化合物 1 (200 mg、0.51 mmol) をアルゴン下で添加した。混合物を80℃で1時間加熱した。1時間後、TLCは反応の完了を示した。減圧を用いて有機相を蒸発させ、DCMに再溶解し、シリカゲル上に捕捉した。シリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル 1:1) を用いて物質を精製した。収量: 83 mg (0.35 mmol)。NMRで構造を確認した。

20

【0063】

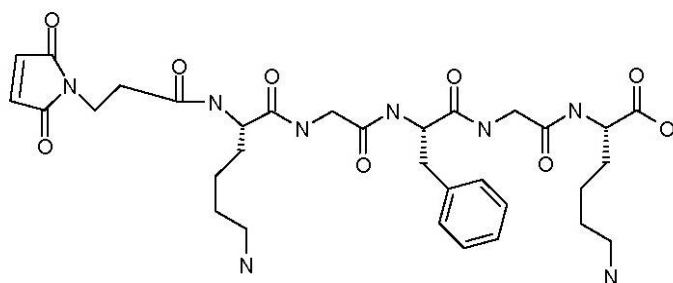
例 6

マレイミド - プロピオニル - Lys - Gly - Phe - Gly - Lys - OHの製造

【0064】

【化23】

30



化合物 3.

40

HBTU活性化を用いるスローmoc・シングル・カップル (Slowmoc Single Couple) 方法に従い、Fmoc-Lys(Boc)-Sasrin樹脂 (0.1 mmol) を用いて全自動ペプチド合成機 (ABI 433A合成機) 上でモデルペンタペプチドLys-Gly-Phe-Gly-Lys-OHをアセンブルした。3-(マレイミド)プロピオン酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (0.52 mmol) を用いてマレイミド-プロピオニル酸を手作業でカップリングした。トリイソプロピルシラン及び水を含むトリフルオロ酢酸 (95:2.5:2.5 v/v/v) 中で、樹脂からのペプチド除去及び側鎖保護基の脱保護を同時に実施した。濾過後、溶液を減圧下で

50

濃縮し、残留物をジエチルエーテルで洗浄した。粗生成物を逆相分取クロマトグラフィー（Phenomenex Luna C18（2）カラム，250×50 mm，10 μm、勾配：60分で0～30%溶媒B、流量：50 mL/分）で精製して66 mg（95%）の純化合物を得た。生成物をLC-MS [Phenomenex Luna C18 -（2），50×2.0 mm，5 μm、勾配：5分で0～30%溶媒B、流量：0.6 mL/分、 $t_R$  = 2.86分]で分析したところ、 $m/z$  = 687.6 ( $M+H$ )<sup>+</sup>、 $m/z$  計算値 = 687.34 ( $M+H$ )<sup>+</sup>であった。

【0065】

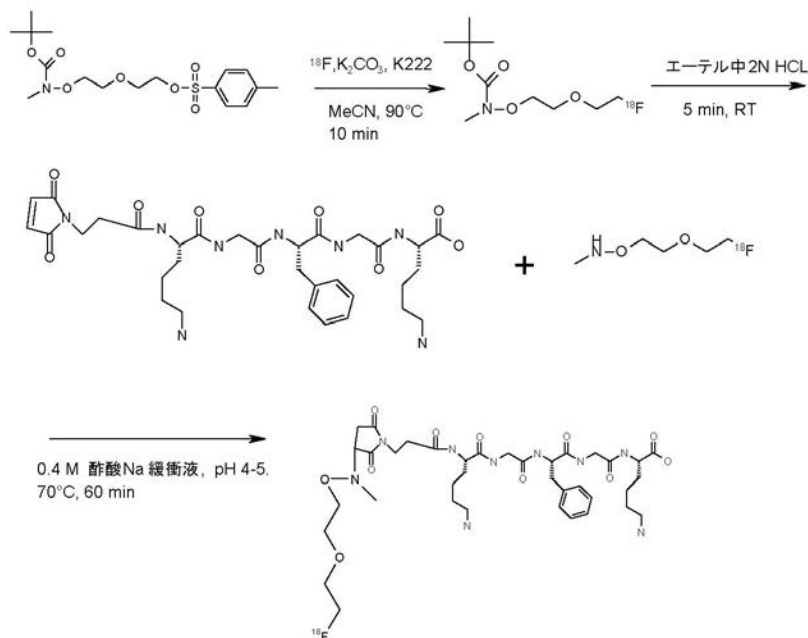
例7

<sup>18</sup>F - 化合物2の放射合成及び化合物3へのコンジュゲーション

10

【0066】

【化24】



20

30

GE Healthcare社からのTracerLab FxFnモジュール上で放射合成を実施した。 $N_2$ 下で100℃に9分間加熱することにより、クリプトフィックス222（1 mLのアセトニトリル中39.1 mg）及び炭酸カリウム（1 mLの水中65.7 mg）の存在下で<sup>18</sup>F-フッ化物（350 MBq以下）を共沸的に乾燥した。この間に、2×0.7 mLのアセトニトリルを添加して蒸発させた。＜50℃に冷却した後、トルエン-4-スルホン酸2-[2-(N-メチル-N-BOC-アミノオキシ)エトキシ]エチルエステル（化合物1）の溶液（1 mLの乾燥アセトニトリル中5 mg）を添加した。反応器を90℃に10分間加熱して標識を行った。粗反応混合物を5 mLの水で希釈した。TLC用の試料を採取すると共に、50 μLをHPLC（Phenomenex gemine 150 mm×4.60 C18 5 μm、214 nm、254 nm及び線検出器で検出、15分で20～80%の溶媒Bを用いた勾配流）にかけた。TLC（1：1 酢酸エチル/ヘキサン）は、約70%という良好な収率の標識化合物を示した（n = 3）。化合物は非放射性対照標準と共溶出した。粗反応混合物をさらに4 mLの水で希釈し、（5 mLのMeCN及び10 mLのH<sub>2</sub>Oでプレコンディショニングした）Oasis HLB Sep-Pakカートリッジに通した。Oasisカートリッジを50 mLの25%メタノール水溶液で洗浄し、1.5 mLのMeCNを用いて精製化合物を溶出した。MeCN溶出液に0.3 mLのエーテル中2N HClを添加し、RTで5分間攪拌してBOC基を定量的に除去した後、有機相を $N_2$ 流及び減圧下で65℃で3分間蒸発させ、1 mLのMeCNを添加した後にさらに3分間蒸発させた。0.8 mLの0.4 M酢酸ナ

40

50

トリウム緩衝液 (pH 5) に溶解した 5 mg の化合物 3 を乾燥混合物に添加し、反応物を 70 に 60 分間加熱してコンジュゲーションを行った。0 分及び 60 分に試料を採取した。反応混合物を HPLC で分析したところ、面積 (74%) を有する新しいピークが 11 分の位置に F19 - 対照標準と共溶出したことにより、化合物 3 へのコンジュゲート形成の証拠が示された (図 1)。HPLC は次の通りであった。Phenomenex gemine 150 mm × 4.60 C18 5 μm、勾配: 10 分で 0 ~ 40% 溶媒 B 及び 10 ~ 15 分に 40% 溶媒 B。

【0067】

例 8

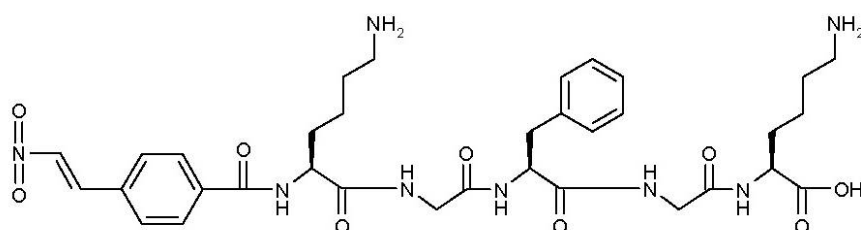
4 - (2 - ニトロビニル) ベンゾイル - Lys - Gly - Phe - Gly - Lys - O

10

H の製造

【0068】

【化 25】



20

例 6 に記載したようにしてモデルペプチド Lys - Gly - Phe - Gly - Lys - OH をアSEMBルした。純 DMF 中の樹脂 (0.2 mmol) に 58 mg (0.3 mmol) のトランス - 2 - ニトロスチレン及び 156.5 mg (0.3 mmol) の PyAOP を添加した後、102 μL (0.6 mmol) の DIPEA を添加し、反応物を 1 時間放置した。トリイソプロピルシラン及び水を含むトリフルオロ酢酸 (95:2.5:2.5 v/v/v) 中で、樹脂からのペプチド除去及び側鎖保護基の脱保護を同時に実施した。濾過後、溶液を減圧下で濃縮し、残留物をジエチルエーテルで洗浄した。粗生成物を逆相分取クロマトグラフィー (Phenomenex Luna C18 (2) カラム, 250 × 50 mm, 10 μm、勾配: 60 分で 0 ~ 40% 溶媒 B、流量: 50 mL / 分) で精製して 101 mg (70%) の純化合物を得た。生成物を LC-MS [Phenomenex Luna C18 - (2), 50 × 2.0 mm, 5 μm、勾配: 5 分で 0 ~ 30% 溶媒 B、流量: 0.6 mL / 分、 $t_R = 4.10$  分] で分析したところ、 $m/z = 711.3 (M + H)^+$ 、 $m/z$  計算値 = 711.3 (M + H)<sup>+</sup> であった。

30

【0069】

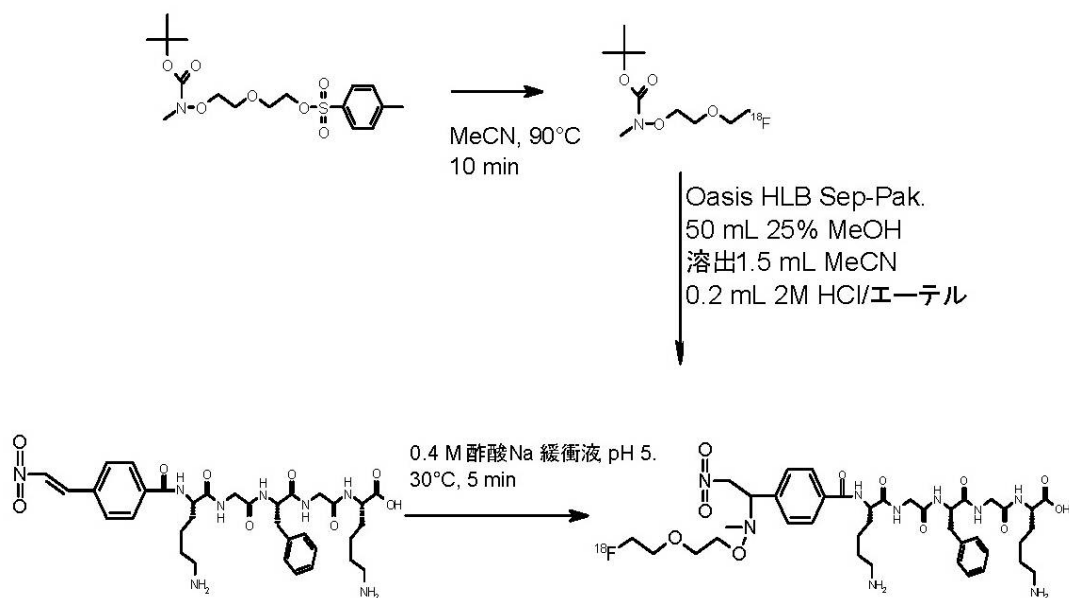
例 9

化合物 6 への <sup>18</sup>F - 化合物 4 のコンジュゲーション

【0070】

40

## 【化 2 6】



10

20

上記例 7 に記載したようにして  $^{18}\text{F}$  - 化合物 4 の放射合成及び精製を実施した。 $^{18}\text{F}$  - 化合物 4 を含む MeCN 溶出液に 0.2 mL のエーテル中 2 N HCl を添加し、RT で 5 分間撹拌して BOC 基を定量的に除去した後、有機相を  $\text{N}_2$  流及び減圧下で 65 で 3 分間蒸発させ、1 mL の MeCN を添加した後にさらに 3 分間蒸発させた。0.8 mL の 0.4 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) に溶解した 5 mg の化合物 6 を乾燥混合物に添加し、反応物を 30 に 5 分間加熱した。反応混合物を HPLC で分析したところ、面積 (72%) を有する新しいピークが 10.4 分の位置に  $^{19}\text{F}$  - 対照標準と共溶出したことにより、コンjugate 形成の証拠が示された (図 2)。HPLC は次の通りであった。Phenomenex gemine 150 mm x 4.60 C18 5  $\mu\text{m}$ 、勾配: 10 分で 0 ~ 40% 溶媒 B 及び 10 ~ 15 分に 40% 溶媒 B。

30

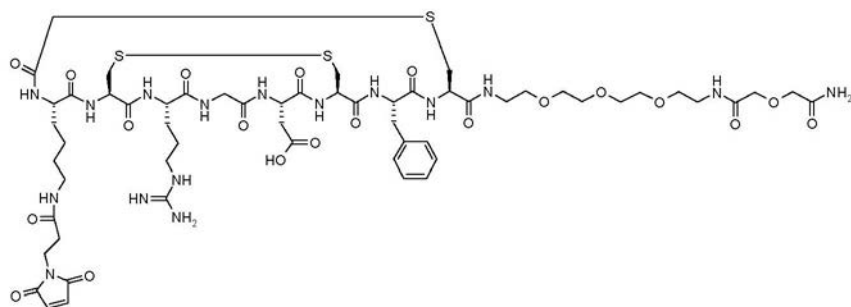
## 【0071】

## 例 10

## マレイミド - プロピオン - RDG ペプチドの製造

## 【0072】

## 【化 2 7】



40

5 mL 容器内で 50 mg (0.04 mmol) のペプチド NC100717 を 1 mL の DMF に溶解した。21.3 mg (0.1 mmol) の 3 - (マレイミド) プロピオン酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステルを 13.6  $\mu\text{L}$  (0.08 mmol) の DIPEA と共に 1 mL の DMF に溶解し、ペプチド溶液に添加した。反応物を RT で 1 時間撹拌した。DMF を蒸発させた。粗生成物を逆相分取クロマトグラフィー (Phenomenex

50

ex Luna C18 (2) カラム, 250 × 50 mm, 10 μm、勾配: 60 分で 0 ~ 40 % 溶媒 B、流量: 50 mL / 分) で精製して 23 mg (40 %) の純化合物を得た。生成物を LC-MS [Phenomenex Luna C18 - (2), 50 × 2.0 mm, 5 μm、勾配: 5 分で 5 ~ 40 % 溶媒 B、流量: 0.6 mL / 分、 $t_R = 2.74$  分] で分析したところ、 $m/z = 1409.9 (M+H)^+$ 、 $m/z$  計算値 = 1409.5 ( $M+H$ )<sup>+</sup> であった。

【0073】

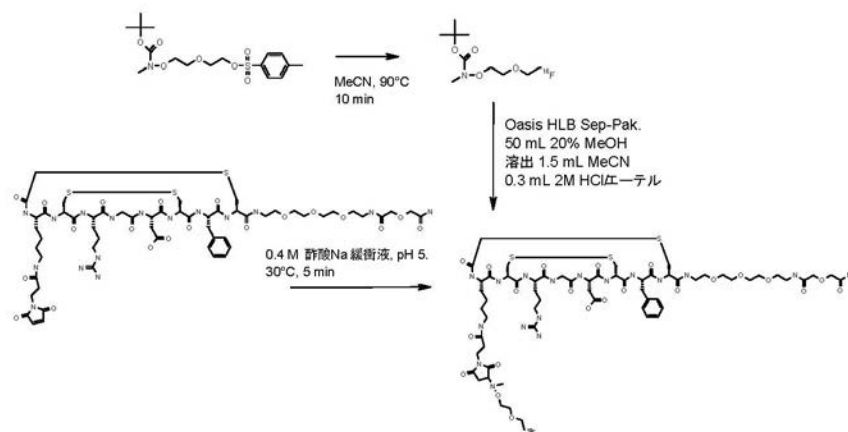
例 11

化合物 7 への  $^{18}\text{F}$  - 化合物 4 のコンジュゲーション

【0074】

10

【化 28】



20

上記例 7 に記載したようにして  $^{18}\text{F}$  - 化合物 4 の放射合成及び精製を実施した。MeCN 溶出液に 0.2 mL のエーテル中 2 N HCl を添加し、RT で 5 分間攪拌して BOC 基を定量的に除去した後、有機相を  $\text{N}_2$  流及び減圧下で 65 °C で 3 分間蒸発させ、1 mL の MeCN を添加した後にさらに 3 分間蒸発させた。0.6 mL の 0.4 M 酢酸塩緩衝液 (pH 5) + 0.4 mL の DMF に溶解した 5.75 mg の化合物 7 を乾燥残留物に添加した。ペプチド混合物を 70 °C に加熱し、45 分後に試料を採取した。粗反応混合物を放射性 HPLC で分析したところ、45 分後にペプチド中への  $^{18}\text{F}$  - シントンの 24 % 取込みが見られ、 $^{18}\text{F}$  - 化合物がその真正標準と共溶出した (図 3)。HPLC は次の通りであった。Phenomenex gemine 150 mm × 4.60 C18 5 μm、勾配: 10 分で 0 ~ 40 % 溶媒 B 及び 10 ~ 15 分に 40 % 溶媒 B。

30

【0075】

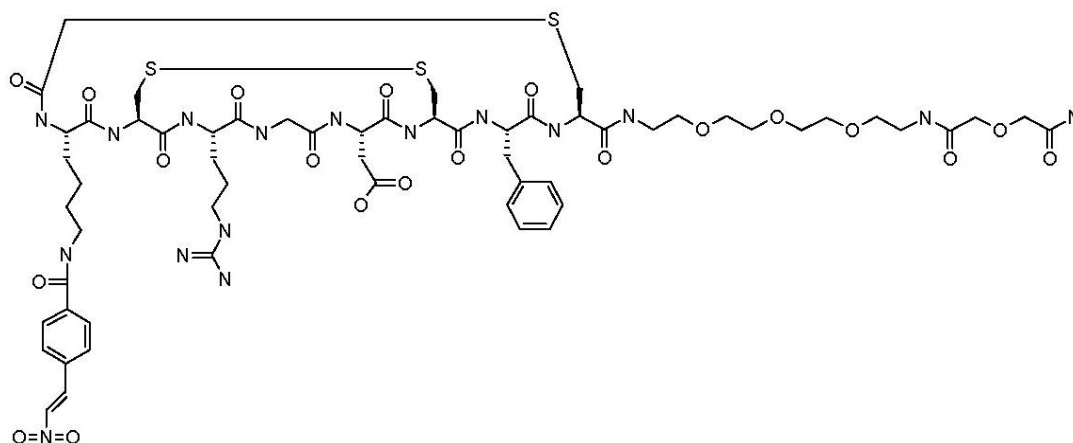
例 11

ベンゾイル - トランス - - ニトロスチレン - RDG の製造

【0076】



## 【化 29】



10

40 mg (0.032 mmol) のペプチド NC 100717 を 2 mL の DMF に溶解した。2 mL の DMF 及び 16  $\mu$ L (0.096 mmol) に溶解した 12.3 mg (0.064 mmol) の トランス - ニトロスチレン 及び 25 mg (0.048 mmol) の PyaOP を添加した。混合物を 10 分間予備活性化した後、それをペプチド (NC 100717) に添加した。15 分後、LC-MS は反応の完了を示し、反応混合物を MeCN / 0.1% TFA (20 mL) で奪活した。有機相を減圧下で除去した。

20

粗生成物を逆相分取クロマトグラフィー (Phenomenex Luna C18 (2) カラム, 250  $\times$  50 mm, 10  $\mu$ m、勾配: 60 分で 5 ~ 45% 溶媒 B、流量: 50 mL / 分) で精製して 12 mg (26%) の純化合物を得た。生成物を LC-MS [Phenomenex Luna C18 - (2), 50  $\times$  2.0 mm, 5  $\mu$ m、勾配: 5 分で 5 ~ 40% 溶媒 B、流量: 0.6 mL / 分、 $t_R$  = 2.74 分] で分析したところ、 $m/z$  = 1433.6 (M + H)<sup>+</sup>、 $m/z$  計算値 = 1433.5 (M + H)<sup>+</sup> であった。

## 【0077】

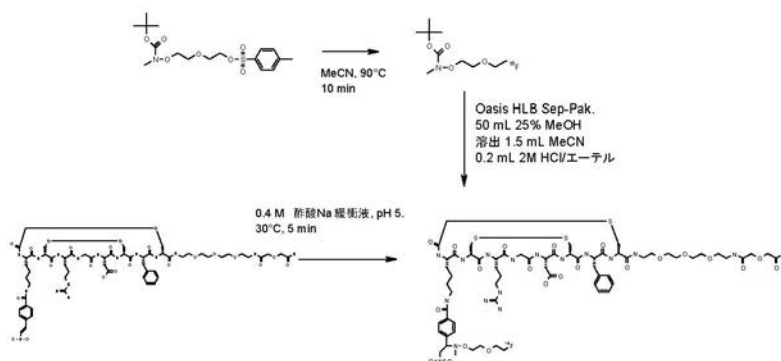
30

## 例 12

化合物 8 への <sup>18</sup>F - 化合物 4 のコンジュゲーション

## 【0078】

## 【化 30】



40

上記例 7 に記載したようにして <sup>18</sup>F - 化合物 4 の放射合成及び精製を実施した。MeCN 溶出液に 0.2 mL のエーテル中 2 N HCl を添加し、RT で 5 分間撹拌して BOC 基を定量的に除去した後、有機相を N<sub>2</sub> 流及び減圧下で 65 °C で 3 分間蒸発させ、1 mL の MeCN を添加した後にさらに 3 分間蒸発させた。0.8 mL の 0.4 M 酢酸塩緩衝液

50

(pH 5) + 0.4 mL の DMF に溶解した化合物 8 (5 mg) を乾燥残留物に添加した。反応物を 30 で 5 分間放置した。粗反応混合物を放射性 HPLC で分析したところ、5 分後にペプチド中への  $^{18}\text{F}$  - シントンの 25% 取込みが見られ、12 分後に  $^{18}\text{F}$  - 化合物がその真正標準と共溶出した (図 4)。HPLC は次の通りであった。Phenomenex gemine 150 mm × 4.60 C18 5 μm、勾配: 10 分で 0 ~ 40% 溶媒 B 及び 10 ~ 15 分に 40% 溶媒 B。

【0079】

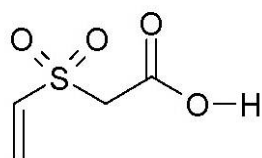
例 13

エテンスルホニル酢酸の合成

【0080】

10

【化 31】



化合物 9

250 mL の三つ口丸底フラスコ内で 1.1 g (47.5 mmol、1.2 eq) のナトリウムを 25 mL の無水アルコールに溶解した。H<sub>2</sub> の発生及びナトリウムの消失が完了した後、2-メルカプト酢酸エチル (4.60 mL、40.7 mmol、1 eq) を滴下した。得られた混合物を 20 分間撹拌した後、57 mL (57 mmol、1.4 eq) の臭化ビニル (THF 中 1 M 溶液) を添加した。混合物をオートクレーブに移し、105 に 1 時間加熱した。反応混合物を 4 時間撹拌し続けた。次いで、THF 及び EtOH を真空中で蒸発させ、残留物を水 (10 mL) に溶解し、ジエチルエーテル (5 × 60 mL) で抽出した。有機相を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥し、XS 溶媒を真空中で除去した。次いで、粗物質 (2.9 g) を 10 mL の氷酢酸に溶解し、0 に冷却した。36 ~ 40% 過酢酸 (7.4 mL、40 mmol) を添加し、反応混合物を 0 で 30 分間撹拌した後、さらに 2 時間にわたって撹拌し続けて温度を室温に上昇させた。再び溶媒を真空下で除去し、粗生成物を自動コンビフラッシュ装置上でのフラッシュクロマトグラフィー (10 分でヘキサン中 20 ~ 100% 酢酸エチル) によって精製した。NMR により、構造がスルホキシドであることを確認した。すべての画分を集め、スルホキシド (1.5 g、9.2 mmol) に関してさらに過酢酸 (2 eq) で酸化してすべての出発原料を消失させた。粗生成物をそれ以上精製せずに使用した。エテンスルホニル酢酸エチルエステルを 20 mL の 0.1 M HCl に溶解し、混合物を 100 で 13 時間還流させることでエテンスルホニル酢酸 (12.8 g、8 mmol) を得た。NMR で構造を確認した。

20

30

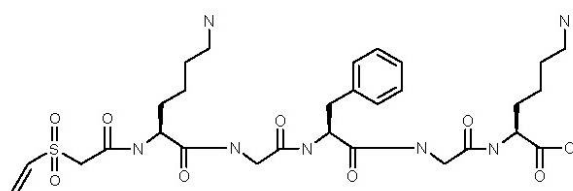
【0081】

エテンスルホニル - アセチル - Lys - Gly - Phe - Gly - Lys - OH の製造

【0082】

40

【化 32】



化合物 10

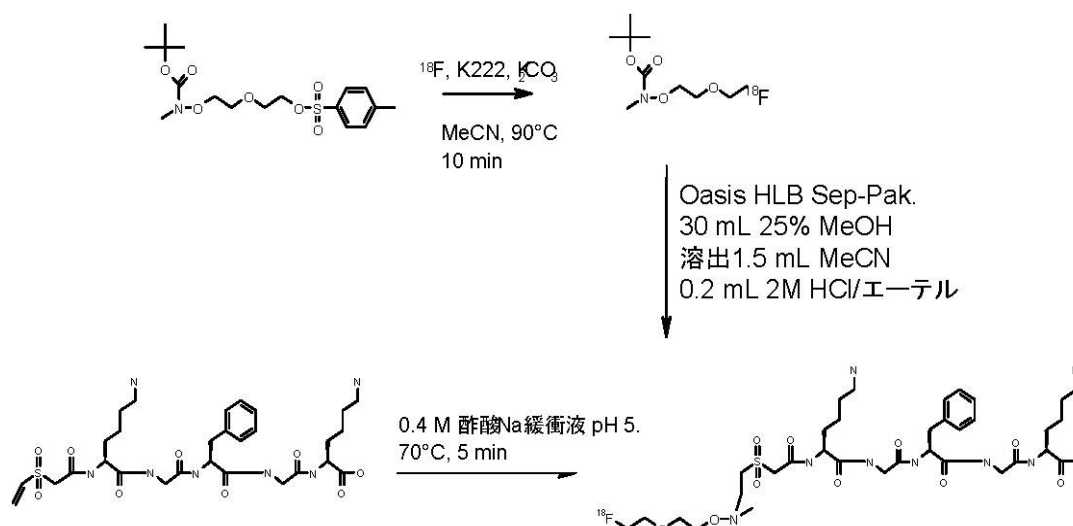
例 6 に記載したようにしてモデルペンタペプチド Lys - Gly - Phe - Gly - L

50

y s - O H をアセムブルした。純 D M F ( 5 m L ) 中のペプチド結合樹脂 ( 0 . 1 m m o l ) に 7 5 m g ( 0 . 5 m m o l ) のエテンスルホニル酢酸及び 2 6 1 m g ( 0 . 5 m m o l ) の P y A O P を添加した後、1 7 1  $\mu$  L ( 1 m m o l ) の D I P E A を添加し、反応物を 2 時間放置した。トリイソプロピルシラン及び水を含むトリフルオロ酢酸 ( 9 5 : 2 . 5 : 2 . 5 v / v / v ) 中で、樹脂からのペプチド除去及び側鎖保護基の脱保護を同時に実施した。濾過後、溶液を減圧下で濃縮し、残留物をジエチルエーテルで洗浄した。粗生成物を逆相分取クロマトグラフィー ( P h e n o m e n e x L u n a C 1 8 ( 2 ) カラム, 2 5 0  $\times$  5 0 m m , 1 0  $\mu$  m 、勾配 : 6 0 分 で 0 ~ 3 0 % 溶媒 B 、流量 : 1 0 m L / 分 ) で精製して 5 1 m g ( 7 6 % ) の純化合物を得た。生成物を L C - M S [ P h e n o m e n e x L u n a C 1 8 - ( 2 ) , 5 0  $\times$  2 . 0 m m , 5  $\mu$  m 、勾配 : 5 分 で 0 ~ 3 0 % 溶媒 B 、流量 : 0 . 6 m L / 分、 $t_R$  = 2 . 6 1 分 ] で分析したところ、 $m/z$  = 6 6 8 . 4 ( M + H ) ^ + 、 $m/z$  計算値 = 6 6 8 . 3 ( M + H ) ^ + であった。

【 0 0 8 3 】

【 化 3 3 】



11

G E M e d i c a l S y s t e m s 社からの T r a c e r L a b F x F n モジュール上で放射合成を実施した。N<sub>2</sub> 流及び真空下で 1 0 0 ° に 9 分間加熱することにより、2 1 5  $\mu$  L の水及び 7 8 5  $\mu$  L のアセトニトリル ( 総量 0 . 8 m L ) に溶解した 5 6 m g のクリプトフィックス 2 2 2 ( K<sub>222</sub>、4 , 7 , 1 3 , 1 6 , 2 1 , 2 4 - ヘキサオキサ - 1 , 1 0 - ジアザピシクロ [ 8 . 8 . 8 ] ヘキサコサン ) 及び 1 0 m g の K<sub>2</sub> C O<sub>3</sub> の存在下で <sup>18</sup>F - フッ化物 ( 2 0 0 M B q ) を共沸的に乾燥した。この間に、2  $\times$  0 . 8 m L のアセトニトリルを添加して蒸発させた。 < 5 0 ° に冷却した後、トルエン - 4 - スルホン酸 2 - [ 2 - ( N - メチル - N - B o c - アミノオキシ ) エトキシ ] エチルエステル ( 化合物 3 ) の溶液 ( 1 m L の乾燥アセトニトリル中 3 m g ) を添加した。密閉した反応器を 9 0 ° に 1 0 分間加熱して標識を行った。粗反応混合物を 9 m L の水で希釈し、( 5 m L の M e C N 及び 1 0 m L の H<sub>2</sub> O でプレコンディショニングした ) O a s i s H L B S e p - P a k カートリッジ ( W a t e r s 社 ) に通した。O a s i s カートリッジを 5 0 m L の 2 5 % M e O H 水溶液で洗浄し、1 . 5 m L の M e C N を用いて精製化合物を溶出した。M e C N 溶出液にエーテル中の 2 N H C l ( 0 . 2 m L ) を添加し、混合物を R T で 5 分間攪拌して B o c 基を定量的に除去した。有機相を真空中及び N<sub>2</sub> 流下で 6 5 ° で 3 分間蒸発させ、次いで 1 m L の M e C N を添加し、再び真空中で 3 分間蒸発させた。

【 0 0 8 4 】

10

20

30

40

50

0.8 mL の 0.4 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) に溶解した 5 mg の化合物 10 を乾燥混合物に添加し、反応物を 70 °C に 10 分間加熱してコンジュゲーションを行った。反応混合物を HPLC で分析したところ、コンジュゲート形成の証拠 (8.92 分の位置に <sup>19</sup>F - 対照標準と共溶出した新しいピーク、収率 40%) が示された。HPLC は次の通りであった。Phenomenex gemine 150 mm × 4.60 mm C18 5 μm、勾配: 10 分で 0 ~ 40% 溶媒 B 及び 10 ~ 15 分に 40% 溶媒 B。

## 【図 1】

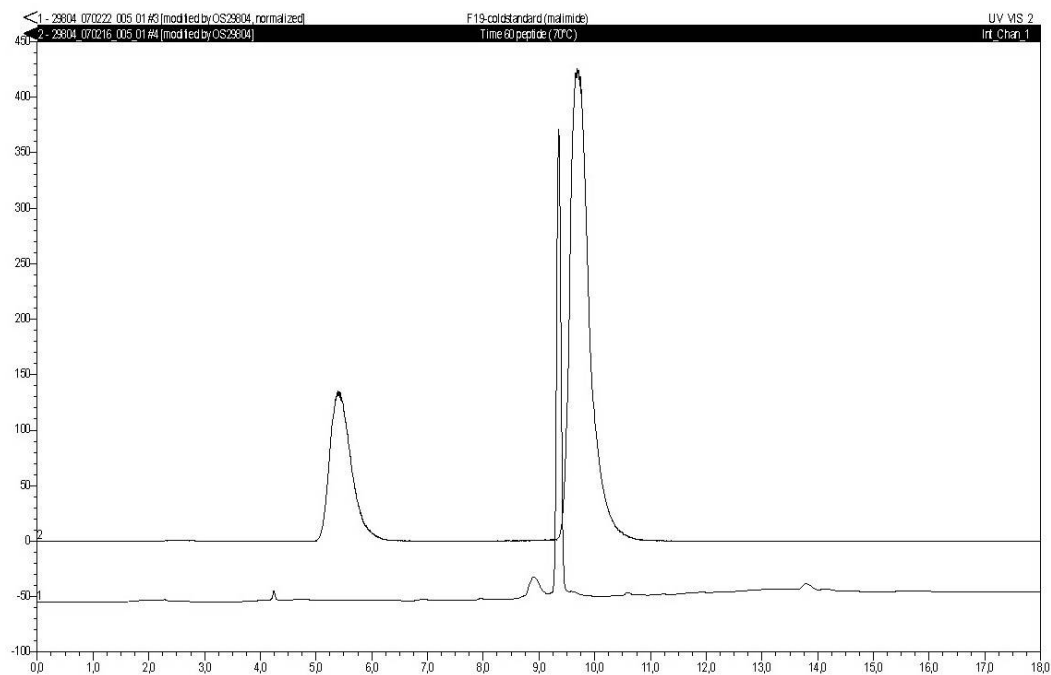


図1: 化合物 3 の  $^{18}\text{F}$ -コンジュゲートの HPLC クロマトグラム。上側のクロマトグラム: 左側のピークは未反応  $^{18}\text{F}$ -シント、右側のピークは  $^{18}\text{F}$ -シント-化合物 3 コンジュゲート。下側のクロマトグラムは  $^{19}\text{F}$ -シント-化合物 3 の対照標準 (254 nm)。

## 【図 2】

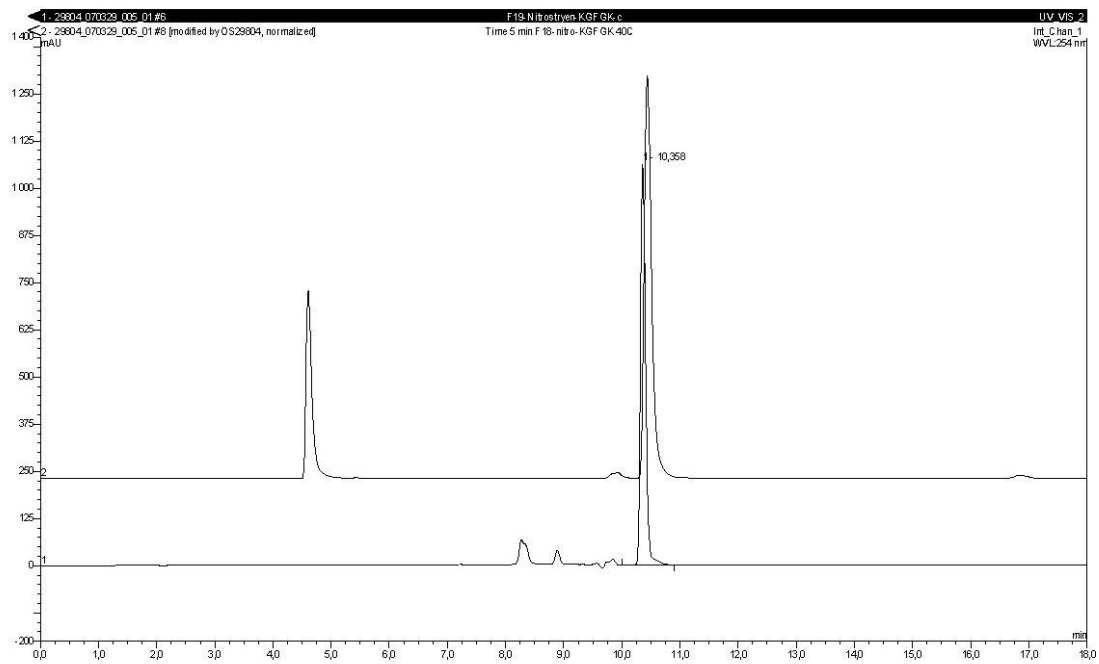


図 2: 化合物 6 の  $^{18}\text{F}$ -コンジュゲートの HPLC クロマトグラム。上側のクロマトグラム: 左側のピークは未反応  $^{18}\text{F}$ -シントン; 右側のピークは  $^{18}\text{F}$ -シントン-化合物 6 コンジュゲート。下側のクロマトグラム:  $^{19}\text{F}$ -シントン-化合物 6 の対照標準 (254 nm)。

## 【図 3】

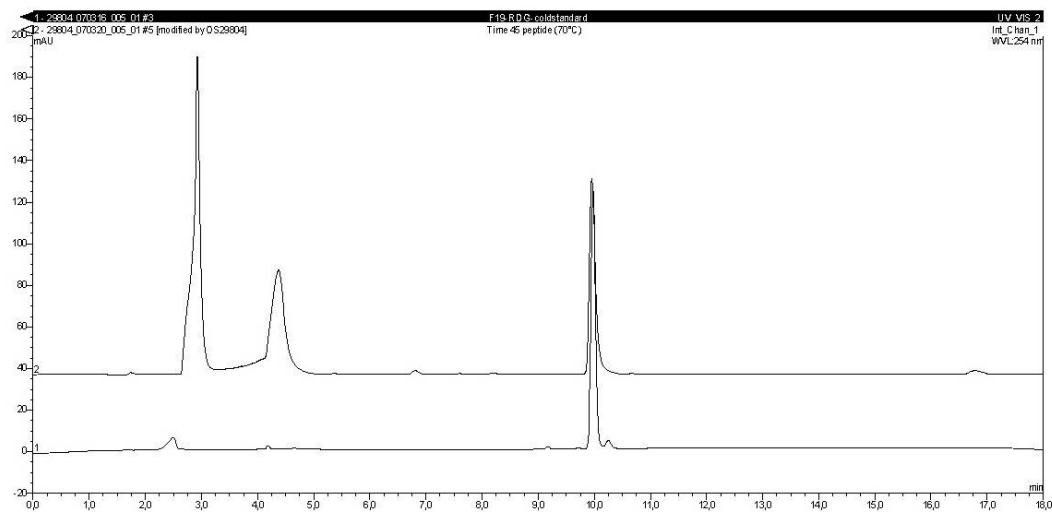


図 3: 化合物 7 の  $^{18}\text{F}$ -コンジュゲートの HPLC クロマトグラム。上側のクロマトグラム: 左側の 2 本のピークは未反応  $^{18}\text{F}$ -シントン; 右側のピークは  $^{18}\text{F}$ -シントン-化合物 67 コンジュゲート。下側のクロマトグラム:  $^{19}\text{F}$ -シントン-化合物 7 の対照標準 (254 nm)。

## 【 図 4 】

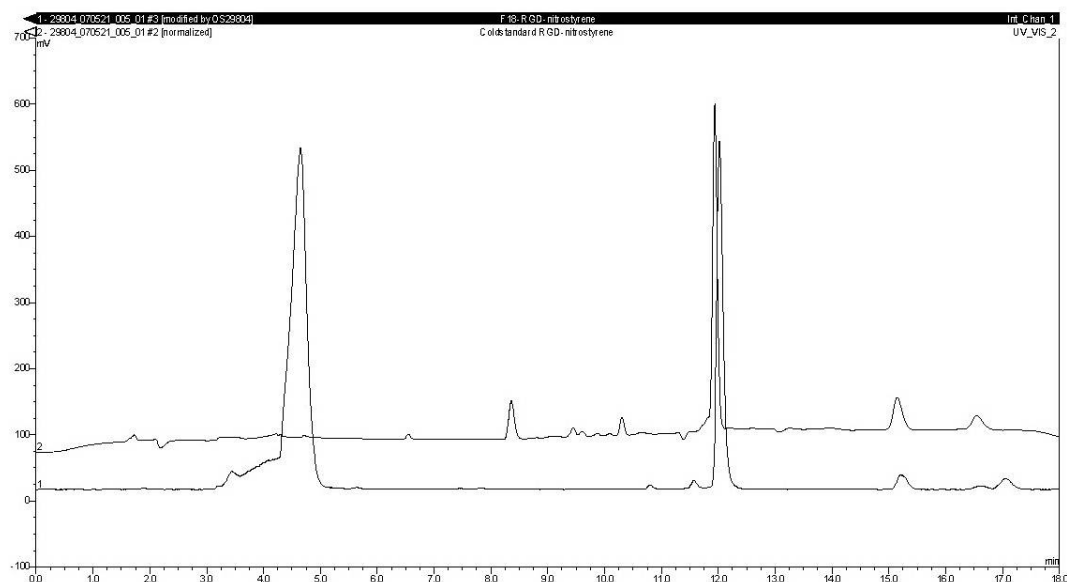


図 4: 化合物 8 の  $^{18}\text{F}$ -コンジュゲートの HPLC クロマトグラム。上側のクロマトグラム: 左側のピークは未反応  $^{18}\text{F}$ -シントン、右側のピークは  $^{18}\text{F}$ -シントン-化合物 8 コンジュゲート。下側のクロマトグラムは  $^{19}\text{F}$ -シントン-化合物 8 の対照標準 (254 nm)。

## 【 図 5 】

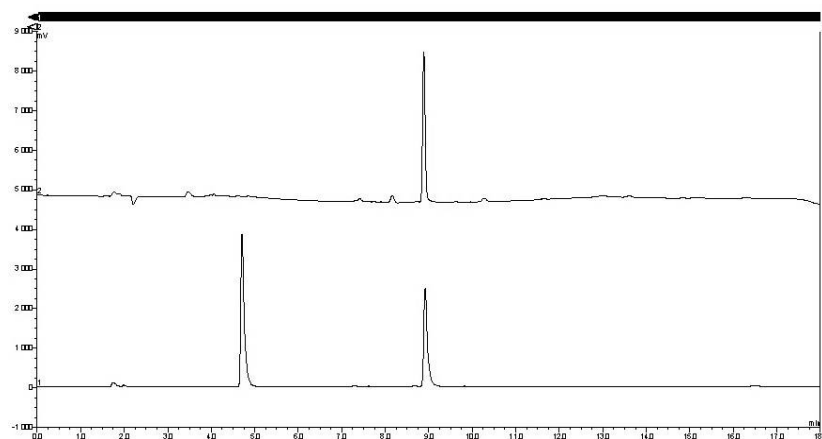


図 5: 化合物 11 の  $^{18}\text{F}$ -コンジュゲートの HPLC クロマトグラム。上側のクロマトグラム:  $^{19}\text{F}$ -シントン-化合物 11 の対照標準 (254 nm)。下側のクロマトグラム: 左側のピークは未反応  $^{18}\text{F}$ -シントン、右側のピークは  $^{18}\text{F}$ -シントン-化合物 11 コンジュゲート。

## フロントページの続き

- (72)発明者 カスヴァートソン, アラン  
ノルウェー、0401・オスロ、ニイコペイエン・1-2、ニイダレン、ピーオーボックス・42  
20、ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ
- (72)発明者 ソルバックェン, マグネ  
ノルウェー、0401・オスロ、ニイコペイエン・1-2、ニイダレン、ピーオーボックス・42  
20、ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ
- (72)発明者 オルベルグ, ダグ・エルランド  
ノルウェー、2007・クジェラー、インスティチュットベイエン・18、ポストボックス・65、  
ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ

審査官 今井 周一郎

- (56)参考文献 国際公開第2006/030291(WO, A1)  
特開平07-509778(JP, A)  
特表2007-513063(JP, A)  
国際公開第1997/003093(WO, A1)  
特開2002-049136(JP, A)  
特開平08-081432(JP, A)  
国際公開第2008/083191(WO, A2)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C07K 5/09  
C07K 7/00  
C07C 239/20