



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117120433 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 24

(21) 申请号 202280024610.8

(22) 申请日 2022.03.25

(30) 优先权数据

2021-053783 2021.03.26 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.09.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/014681 2022.03.25

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/203082 JA 2022.09.29

(71) 申请人 日本医事物理股份有限公司

地址 日本东京都

(72) 发明人 渡边友理惠 大泽沙优里

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 田川婷

(51) Int.Cl.

C07D 403/12 (2006.01)

权利要求书2页 说明书17页

(54) 发明名称

化合物、化合物的制造方法及保管方法、靶向剂的制造方法、以及组合物

(57) 摘要

本发明的制造方法中,使能与金属离子配位的配体化合物、与具有能进行点击反应的原子团的第1化合物反应,得到包含结构中具有能进行点击反应的原子团及配体的第2化合物的产物。然后,使用包含具有规定物性的水溶性有机酸且不含三氟乙酸的洗脱液,将上述产物供于液相色谱法,得到经纯化的上述第2化合物。本发明也提供第2化合物的保管方法、包含第2化合物的组合物、及使用了第2化合物的靶向剂的制造方法。

1. 化合物的制造方法, 其中,
使能与金属离子配位的配体化合物、与具有能进行点击反应的原子团的第1化合物反应, 得到包含结构中具有能进行点击反应的原子团及配体的第2化合物的产物, 然后,
使用包含在1个大气压、20℃条件下为液体的水溶性有机酸、且不含三氟乙酸的洗脱液, 将所述产物供于液相色谱法, 得到经纯化的所述第2化合物。
2. 如权利要求1所述的制造方法, 其中, 使用在1个大气压下沸点为150℃以下的所述水溶性有机酸。
3. 如权利要求1或2所述的制造方法, 其中, 所述水溶性有机酸为乙酸。
4. 如权利要求1~3中任一项所述的制造方法, 其中, 能进行点击反应的所述原子团为二苯并环辛炔。
5. 如权利要求1~4中任一项所述的制造方法, 其中, 对经纯化的所述第2化合物进行冷冻干燥。
6. 如权利要求1~5中任一项所述的制造方法, 其中, 所述洗脱液还包含极性有机溶剂。
7. 如权利要求1~6中任一项所述的制造方法, 其中, 所述配体化合物为Macropa、去铁胺、HBED-CC、CDTA、DOTA、DTPA、或NOTA或者它们的衍生物。
8. 如权利要求1~7中任一项所述的制造方法, 其中, 使所述配体化合物与所述第1化合物进行酰胺化反应、或者以形成硫脲结构的反应方式进行反应。
9. 如权利要求1~7中任一项所述的制造方法, 其中,
使所述配体化合物所具有的羧基或氧基二羧基、与所述第1化合物所具有的氨基之间进行酰胺化反应; 或者,
使所述配体化合物所具有的异硫氰酸酯基、与所述第1化合物所具有的氨基之间以形成硫脲结构的反应方式进行反应。
10. 如权利要求1~9中任一项所述的制造方法, 其中, 所述配体化合物为DOTAGA或其酐, 所述第1化合物为DBC0-胺。
11. 靶向剂的制造方法, 其依次或以相反的顺序具备:
使通过权利要求1~10中任一项所述的制造方法得到的所述第2化合物配位于金属离子的工序; 和
使所述第2化合物、与具有能进行点击反应的原子团的靶向化合物在能进行点击反应的原子团彼此之间反应的工序。
12. 如权利要求11所述的制造方法, 其中, 作为所述金属离子, 使用放射性金属的离子。
13. 组合物, 其包含:
结构中具有能与金属离子配位的配体和能进行点击反应的原子团的化合物; 及
在1个大气压、20℃条件下为液体的水溶性有机酸,
并且不含三氟乙酸。
14. 如权利要求13所述的组合物, 其利用¹⁹F-NMR进行分析时, 没有观察到源自三氟乙酸的峰。
15. 如权利要求13或14所述的组合物, 其中, 能进行点击反应的所述原子团为二苯并环辛炔。
16. 如权利要求13~15中任一项所述的组合物, 其中, 所述水溶性有机酸为乙酸。

17. 化合物, 其在结构中具有能与金属离子配位的配体和能进行点击反应的原子团, 所述化合物于-20℃保管1个月后的纯度相对于保管开始时的纯度而言的降低率为5%以下。

18. 化合物的保管方法, 其中, 对通过权利要求1~10中任一项所述的制造方法纯化而得的所述第2化合物进行冷冻保管。

化合物、化合物的制造方法及保管方法、靶向剂的制造方法、 以及组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及化合物、化合物的制造方法及保管方法、靶向剂的制造方法、以及组合物。

背景技术

[0002] 出于在用于检测靶分子的试剂及诊断剂、或者用于治疗疾病的医药品中应用的目的,例如对能与放射性金属等各种金属配位的化合物的制造条件、保管条件进行了研究。

[0003] 专利文献1中公开了将作为上述化合物得到的DOTAGA-DBCO纯化,然后使用其来制造以放射性金属标记的多肽的方法。

[0004] 另外,非专利文献1中公开了一种制造方法,其涉及使DOTA衍生物配位于作为放射性金属的⁶⁴Cu来标记的纳米粒子的制造方法,在作为上述化合物的DO3A-DBCO的制造中,使用三氟乙酸进行纯化。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:国际公开第2019/125982号册

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1:Zeng等人,ACS Nano.2012,6(6),5209-5219.

发明内容

[0010] 然而,当对作为能与金属离子配位的化合物的DOTA、其衍生物等结构中含有羧基的配体化合物进行纯化时,如非专利文献1所公开的,本技术领域通常使用包含三氟乙酸(以下,本说明书中也称为“TFA”)的溶剂或洗脱液。

[0011] 但是,如后述的比较例1所示,本申请的发明人发现,在使用包含TFA的溶剂或洗脱液对上述化合物进行纯化并保管时,存在随着时间的推移,目标化合物的纯度降低的情况。根据这样的见解,期望提高目标化合物的保存稳定性的技术。

[0012] 因此,本发明的课题在于提高目标化合物的保存稳定性。

[0013] 本发明提供化合物的制造方法,其中,使能与金属离子配位的配体化合物、与具有能进行点击反应的原子团的第1化合物反应,得到包含结构中具有能进行点击反应的原子团及配体的第2化合物的产物,然后,

[0014] 使用包含在1个大气压、20℃条件下为液体的水溶性有机酸、并且不含三氟乙酸的洗脱液,将上述产物供于液相色谱法,得到经纯化的上述第2化合物。

[0015] 另外,本发明提供靶向剂的制造方法,其依次或以相反的顺序具备:

[0016] 使通过上述制造方法得到的第2化合物配位于金属离子的工序;

[0017] 使上述第2化合物、与具有能进行点击反应的原子团的靶向化合物在能进行点击反应的原子团彼此之间反应的工序。

- [0018] 另外,本发明提供组合物,所述组合物包含:
- [0019] 结构中具有能与金属离子配位的配体和能进行点击反应的原子团的化合物;及
- [0020] 在1个大气压、20℃条件下为液体的水溶性有机酸,
- [0021] 并且不含三氟乙酸。
- [0022] 另外,本发明提供化合物,其在结构中具有能与金属离子配位的配体和能进行点击反应的原子团,
- [0023] 所述化合物于-20℃保管1个月后的纯度相对于保管开始时的纯度而言的降低率为5%以下。
- [0024] 另外,本发明提供对通过制造方法纯化而得的第2化合物进行冷冻保管的、化合物的保管方法。

具体实施方式

[0025] 以下,基于优选实施方式对本发明进行说明。本发明的制造方法具备:使能与金属离子配位的配体化合物、与具有能进行点击反应的原子团的第1化合物反应,得到包含结构中具有能进行点击反应的原子团及配体的第2化合物的产物的工序(以下,也称为合成工序);和在规定条件下对经由合成工序得到的产物进行纯化,得到经纯化的第2化合物的工序(以下,也称为纯化工序)。

[0026] 在合成工序中,使配体化合物与第1化合物反应,得到包含第2化合物的产物。从反应的均匀性的观点考虑,两化合物的反应优选在两化合物溶解或分散于反应溶剂中的状态下进行。

[0027] 配体化合物、第1化合物及第2化合物、以及它们的反应条件的详细内容如后文所述。

[0028] 对于经由合成工序得到的产物而言,通过配体化合物与第1化合物的反应,除了包含作为目标主产物的第2化合物之外,还包含未反应的配体化合物及第1化合物、位置异构体等第2化合物以外的副产物、以及根据需要添加的反应溶剂。

[0029] 第2化合物是具有来源于配体化合物的化学结构的能与金属离子配位的配体、和来源于第1化合物的化学结构的能进行点击反应的原子团这2个化学结构的有机化合物。即,第2化合物在其结构中具备能与金属离子配位的化学结构、和能进行点击反应的化学结构。

[0030] 本制造方法的特征之一在于,在对上述的包含第2化合物的产物进行纯化的纯化工序中,采用规定的条件。

[0031] 对于结构中具有配体的有机化合物而言,在将其纯化时,一直以来使用包含TFA的溶剂或洗脱液。但是显然,在这样的条件下,无法将目标化合物适当地分离纯化,或者在保存纯化后的化合物时,存在目标化合物的纯度随着时间的推移而下降的情况。本申请的发明人对其原因进行了深入研究,推测是TFA不期望地配位或结合于配体上、或者不期望地与反应性高的官能团反应。

[0032] 根据这样的见解,通过在纯化工序中,使用TFA以外的有机酸、并且在不含TFA的条件下进行纯化,从而意外地发现,能够高纯度地进行纯化,并且能够抑制通过纯化得到的目标化合物的分解,能够提高保存稳定性。

[0033] 在纯化工序中,将包含第2化合物的产物供于液相色谱法。此时使用的洗脱液优选使用包含在1个大气压、常温下为液体的水溶性有机酸且不含TFA的液体,作为上述的水溶性有机酸,更优选使用在1个大气压、常温下为液体、并且在1个大气压下沸点为150℃以下的物质。通过采用这样的条件,在通过对包含纯化后的第2化合物的液体的组合物进行减压干燥或冷冻干燥而得到固体状的第2化合物的情况下,能够使洗脱液不残留地蒸散,其结果是,能够提高纯化效率,并且能够改善保存稳定性

[0034] 本说明书中的“水溶性有机酸”是指在1个大气压、20℃条件下在水中溶解的有机酸。水溶性有机酸优选具有在将该有机酸与水混合时目视观察不到层分离而成为均匀状态的物性。更优选地,本说明书中的水溶性有机酸是指在100mL的水中溶解3mL以上的有机酸。水溶性有机酸进一步优选具有在将该有机酸与水以体积比1:10(有机酸:水)混合时目视观察不到层分离而成为均匀状态的物性。

[0035] 另外,本说明书中“不含TFA”是指在反应体系、得到的化合物、组合物中刻意地不含TFA,但允许原料中微量存在等的TFA、或测定设备中微量残留的TFA不可避免地混入。以洗脱液为例,其旨在刻意地使洗脱液中不含TFA,但允许例如来自原料的TFA不可避免地混入洗脱液中。

[0036] 关于不含TFA,可通过在例如利用¹⁹F-NMR进行分析时观察不到来源于TFA的峰来判断。

[0037] 纯化工序中使用的液相色谱法例如可举出使用填充有各种填充剂的柱或者凝胶的柱色谱、高效液相色谱、中压制备液相色谱等中的至少一种。

[0038] 纯化工序中适宜使用的水溶性有机酸优选为在1个大气压下沸点为150℃以下的物质,具体而言,可举出甲酸(沸点:100.8℃)、乙酸(沸点:118℃)、丙酸(沸点:141.2℃)等。这些可以单独使用或使用多种。

[0039] 这些之中,从同时实现操作的简便性、纯化效率的提高、与第2化合物的不期望的化学反应的抑制、及经纯化的第2化合物的保存稳定性的提高的观点考虑,优选使用乙酸。

[0040] 洗脱液中的水溶性有机酸的浓度优选为0.001体积%以上10体积%以下,更优选为0.01体积%以上1.0体积%以下,进一步更优选为0.1体积%以上1.0体积%以下。通过在这样的浓度范围内,能够进一步提高纯化效率。

[0041] 作为构成洗脱液的水溶性有机酸以外的液体成分,例如,可举出蒸馏水、离子交换水等水;甲醇及乙醇等水溶性的质子性溶剂;乙腈、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、四氢呋喃、二甲基亚砷及丙酮等水溶性的非质子性溶剂;己烷、甲苯、乙酸乙酯等非水溶性有机溶剂。这些可以单独使用组合多种而使用。需要说明的是,本说明书中,有时将水溶性的质子性溶剂及水溶性的非质子性溶剂称为“极性有机溶剂”。

[0042] 这些之中,从使配体化合物、第1化合物及第2化合物全部溶解而容易纯化的观点考虑,洗脱液的液体成分优选包含水及极性有机溶剂中的至少一种,进一步优选包含水及乙腈中的至少一种。

[0043] 从缩短纯化时间、提高纯化效率及提高操作性的观点考虑,优选使用多种洗脱液进行纯化工序。具体而言,选择水及极性有机溶剂作为洗脱液的液体成分的情况下,可举出下述方法:使用不含TFA且含有上述水溶性有机酸的水溶液作为第1洗脱液,然后使用不含TFA且含有上述水溶性有机酸的极性有机溶剂溶液作为第2洗脱液。第1洗脱液和第2洗脱液

的切换可以作为分开的独立工序进行,或者也可以在一个工序内使它们的浓度梯度阶段性地或连续地变化而进行(所谓的gradient)。

[0044] 经由以上的各工序,能够得到经纯化的第2化合物。该第2化合物优选以溶解或分散于上述的洗脱液中的组合物的形态得到。即,该组合物包含结构中具有能与金属离子配位的配体和能进行点击反应的原子团的第2化合物,同时包含在1个大气压、20℃条件下为液体的水溶性有机酸,并且不含TFA。

[0045] 对于经纯化的第2化合物而言,可以将其以液体的组合物的状态供于后续的工序,或者将其以组合物的状态进行保管。另外,可以代替这些,将组合物供于减压干燥、冷冻干燥(冻结干燥)等干燥方法而将洗脱液除去,得到固体状的第2化合物。进行干燥的情况下,第2化合物可以作为单体(为单一物质,换言之为纯物质)得到,或者可以为残留有一部分有机酸的固体的组合物的形态。

[0046] 对于固体的第2化合物而言,可以将其溶解于其他溶剂后供于后续的工序、或者将其以固体的状态进行保管。保管条件可以为常温下、冷藏下或冷冻下。本说明书中所称的“常温”、“冷藏”及“冷冻”只要是各个术语所指的一般的数值范围的温度即可,没有限定,例如,“常温”可以设为15~25℃,“冷藏”可以设为0~10℃,“冷冻”可以设为-100~0℃。

[0047] 这些之中,从抑制由洗脱液引起的第2化合物的分解以及抑制杂质的增加的观点考虑,优选将经纯化的第2化合物冷冻干燥,获得固体的第2化合物。

[0048] 另外,无论是否将第2化合物供于干燥,从抑制第2化合物的分解及杂质的增加的观点考虑,经纯化的第2化合物也优选冷冻保管。

[0049] 就冷冻干燥的温度而言,作为对象化合物的品温,优选使其低于0℃,更优选使其为-15℃以下,进一步优选使其为-70℃以下。冷冻干燥中的外压可以为常压下,也可以为负压下。

[0050] 另外,经由上述的各工序而纯化的第2化合物于-20℃以下保管1个月后的纯度相对于保管开始时的纯度而言的降低率优选为5%以下,更优选为3%以下,进一步优选为2%以下。

[0051] 化合物的保管开始时及保管后的各纯度可以使用以高效液相色谱测得的结果并利用自动积分法算出峰面积,然后以面积百分率法算出。

[0052] 以下,对可共同适用于上述各实施方式的事项进行说明。

[0053] 配体化合物只要是能与金属离子配位的有机化合物即可,没有特别限定,例如,可举出以下的有机化合物及包含来源于该化合物的结构的化合物。

[0054] <CDTA或其衍生物>

[0055] CB-TE2A(1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸)

[0056] CDTA(环己烷-反式-1,2-二胺四乙酸)

[0057] CDTA(4-氰基-4-[[(十二烷基硫基) 硫酮甲基] 硫基]-戊酸)(4-cyano-4-[[(dodecylthio) thioxomethyl] thio]-Pentanoic acid)

[0058] <DOTA或其衍生物>

[0059] DOTA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸)

[0060] DOTMA((1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸)

- [0061] DOTAM(1,4,7,10-四(氨基甲酰基甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷)
- [0062] DOTAGA(α -(2-羧基乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸)
- [0063] DOTP(((1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四基)四(亚甲基))四膦酸)
- [0064] DOTMP(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦酸))
- [0065] DOTA-4AMP(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(乙酰氨基亚甲基膦酸))
- [0066] D02P(四氮杂环十二烷二甲烷膦酸)
- [0067] p-SCN-Bn-DOTA(2-“(4-异硫基氰酸苯基)甲基”-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸)
- [0068] <DTPA或其衍生物>
- [0069] DTPA(N,N-双[2-[双(羧基甲基)氨基]乙基]-甘氨酸)
- [0070] DTPA-BMA(5,8-双(羧基甲基)-11-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基]-3-氧代-2,5,8,11-四氮杂十三烷基-13-酸)
- [0071] <TETA,HEHA,PEPA或其衍生物>
- [0072] TETPA(1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四丙酸)
- [0073] TETA(1,4,8,11-四氮杂环十四烷-N,N',N'',N'''-四乙酸)
- [0074] TTHA(3,6,9,12-四(羧基甲基)-3,6,9,12-四氮杂十四烷二酸)
- [0075] HEHA(1,2,7,10,13-六氮杂环十八烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)
- [0076] 1,2-HOPO(N,N',N'',N'''-四(1,2-二氢-1-羟基-2-氧代吡啶-6-羰基)-1,5,10,14-四氮杂十四烷)
- [0077] PEPA(1,4,7,10,13-五氮杂环十五烷-N,N',N'',N'''-五乙酸)
- [0078] OTP(1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7三基三(亚甲基膦酸))
- [0079] <NOTA>
- [0080] NOTA(1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸)
- [0081] <链状的配体化合物>
- [0082] 去铁胺(Deferoxamine, DFO)
- [0083] EDTA(2,2',2'',2'''-(乙烷-1,2-二基双(氮杂三基))四乙酸)
- [0084] <macropa或其衍生物>
- [0085] H2macropa(6-(1,4,10,13-四氧杂-7,16-二氮杂环十八烷-N,N'-甲基)吡啶甲酸)
- [0086] macropa-NH₂(4-氨基-6-[[16-[(6-羧基吡啶-2-基)甲基]-1,4,10,13-四氧杂-7,16-二氮杂环十八烷-7-基]甲基]吡啶-2-甲酸)
- [0087] macropa-NCS(6-[[16-[(6-羧基吡啶-2-基)甲基]-1,4,10,13-四氧杂-7,16-二氮杂环十八烷-7-基]甲基]-4-异硫基氰酸吡啶-2-甲酸)
- [0088] <其他配体化合物>
- [0089] H4octapa(N,N'-双(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)
- [0090] H2bispa2(6,6'-((9-羟基-1,5-双(甲氧基羰基)-2,4-二(吡啶-2-基)-3,7-二氮杂双环[3.3.1]壬烷-3,7-二基)双(-亚甲基))吡啶二甲酸)
- [0091] H2dedpa(1,2-[(6-羧基)-吡啶-2-基]-甲基氨基)乙烷)
- [0092] H5decapa(N,N''-双(6-羧基-2-吡啶基甲基)-二乙烯三胺-N,N',N''-三乙酸)
- [0093] H6phospa(N,N'- (亚甲基膦酸酯)-N,N'-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲基-1,2-

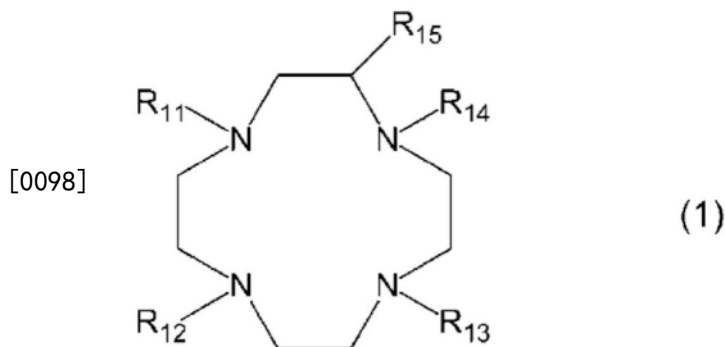
二氨基乙烷)

[0094] HP-D03A (羟丙基四氮杂环十二烷三乙酸)

[0095] HBED-CC(N,N'-双[2-羟基-5-(羧基乙基)-苄基]乙二胺-N,N'-二乙酸)

[0096] 这些之中,从同时实现后续的制造工序的简便性和络合物形成性的提高的观点考虑,合成工序中使用的配体化合物优选为Macropa、去铁胺、HBED-CC、CDTA、DOTA、DTPA、或NOTA或者它们的衍生物,进一步优选包含来源于DOTA或其衍生物的结构化合物。来源于DOTA的结构例如可举出以下的式(1)所示的结构。这些化合物可以为无水物,也可以为水合物,还可以为酸酐。

[0097] [化学式1]



[0099] 式(1)中, R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 各自独立地为由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_4N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、或 $-(CH_2)_pCONH_2$ 形成的基团。

[0100] 上述p各自独立地为0以上3以下的整数。

[0101] 式(1)中, R_{14} 或 R_{15} 中的一者为由氢原子、 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_4N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 、或、 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 形成的基团。

[0102] 式(1)中, R_{14} 或 R_{15} 中的另一者为由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_4N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、或、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 形成的基团、或者用于与后述的第1化合物连接的原子团。

[0103] 上述p各自独立地为0以上3以下的整数。

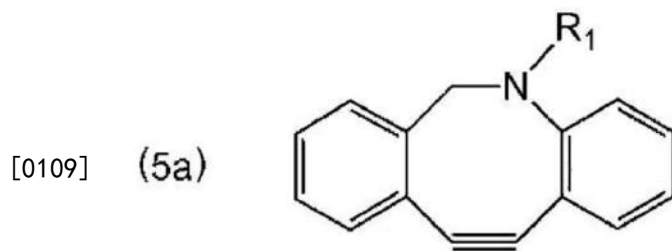
[0104] 合成工序中使用的第1化合物在其结构中具有能进行点击反应的原子团。作为这样的原子团,例如,可举出炔基或叠氮基、或者1,2,4,5-四嗪或烯基等二烯或亲双烯体。这些还优选为能够用于无金属催化剂的点击反应的原子团。

[0105] 点击反应为利用炔烃与叠氮化物的组合、或者1,2,4,5-四嗪与烯烃等二烯与亲双烯体的组合而发生的反应。作为利用这样的原子团的组合进行的点击反应的具体例,可举出Huisgen环加成反应、或逆电子需求型Diels-Alder反应等。

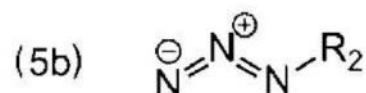
[0106] 典型而言,通过炔烃与叠氮化物的组合下的点击反应生成的化学结构包含三唑骨架,通过利用作为二烯与亲双烯体的组合的、1,2,4,5-四嗪与烯烃的组合下的点击反应生成的化学结构包含哒嗪骨架。

[0107] 作为能进行点击反应的原子团的具体例,如下式所示,可举出作为炔烃的包含二苯并环辛炔(DBCO)的原子团(式(5a))、作为叠氮化物的包含叠氮基的原子团(式(5b))、包含1,2,4,5-四嗪的原子团(式(5c))、或者作为烯烃的包含反式-环辛烯(TCO)的原子团(式(5d))。

[0108] [化学式2]

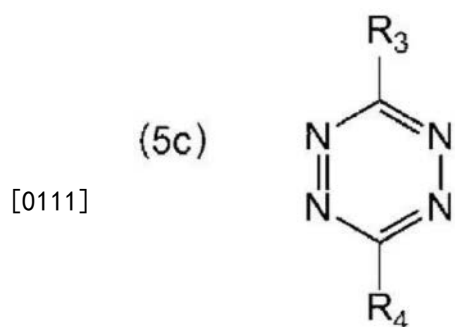


二苯并环辛炔

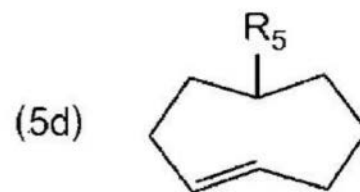


叠氮化物

[0110] [化学式3]



1,2,4,5-四嗪



反式-环辛烯

[0112] 式(5a)中, R_1 表示与其他结构的键合部位。

[0113] 式(5b)中, R_2 表示与其他结构的键合部位。

[0114] 式(5c)中, R_3 及 R_4 中的一者表示与其他结构的键合部位,另一者表示氢原子、甲基、苯基或吡啶基。

[0115] 式(5d)中, R_5 表示与其他结构的键合部位。

[0116] 从容易将能进行点击反应的原子团引入目标第2化合物的观点及、第2化合物的反应条件的简便性的观点考虑,第1化合物中的能进行点击反应的原子团优选为二苯并环辛炔(DBCO)。

[0117] 第1化合物可以使用市售的各种试剂。具体而言,在引入包含DBCO的原子团作为能进行点击反应的原子团的情况下,例如,可以使用DBCO-C6-acid、DBCO-amine (DBCO-胺)、DBCO-maleimide、DBCO-PEG acid、DBCO-PEG-NHS ester、DBCO-PEG-Alcohol、DBCO-PEG-amine、DBCO-PEG-NH-Boc、Carboxyrhodamine-PEG-DBCO、Sulforhodamine-PEG-DBCO、TAMRA-PEG-DBCO、DBCO-PEG-Biotin、DBCO-PEG-DBCO、DBCO-PEG-Maleimide、TCO-PEG-DBCO、DBCO-mPEG等DBCO试剂。

[0118] 合成工序中的配体化合物与第1化合物的反应优选在使两化合物溶解或分散于反应溶剂中的状态下进行。作为这样的例子,可举出:使固体的配体化合物和固体的第1化合物溶解或分散于反应溶剂的方法;向一化合物的溶液或分散液中以固体或液体的形态添加另一化合物的方式。根据需要,可以向反应体系中添加配体化合物及第1化合物以外的、能形成接头结构的其他化合物。作为这样的其他化合物,可举出氨基酸、聚乙二醇(PEG)等。

[0119] 作为合成工序中使用的反应溶剂,例如,可以将与上述的洗脱液中说明的溶剂同样的溶剂单独使用或组合多种来使用。

[0120] 在合成工序中于反应液中反应的情况下,反应液中的配体化合物的浓度可根据化

合物的种类而适当变更,从提高反应收率的观点考虑,优选为0.12mol/L以上0.44mol/L以下,更优选为0.26mol/L以上0.31mol/L以下。

[0121] 另外,从同样的观点考虑,反应液中的第1化合物的浓度可根据化合物的种类而适当变更,反应液中的第1化合物的浓度的下限优选为0.10mol/L以上,更优选为0.20mol/L以上、反应液中的第1化合物的上限优选为0.30mol/L以下,更优选为0.24mol/L以下,从提高反应收率的观点考虑,优选为0.10mol/L以上0.22mol/L以下,更优选为0.22mol/L以上0.24mol/L以下。

[0122] 另外,从同样的观点考虑,配体化合物相对于第1化合物而言的摩尔比优选为1.2以上3.0以下,更优选为1.2以上2.0以下,特别优选为1.2以上1.3以下。

[0123] 在合成工序中,从在短的制造时间内实现收率的进一步提高的观点考虑,优选对反应液进行加热而使其反应。需要说明的是,所谓加热,是指以25℃为基准,以反应液的温度变得高于25℃的方式从反应体系外部赋予热。作为从反应体系外部赋予热的方法,可以适当地使用已知的方法,例如,可举出水浴、油浴、缸体加热器(block heater)、加热套等。

[0124] 对反应液进行加热而使其反应的情况下,作为反应温度,从同时实现配体化合物的分解抑制和收率的进一步提高的观点考虑,将反应液加热至优选30℃以上100℃以下、进一步优选50℃以上80℃以下而使其反应。

[0125] 就反应时间而言,以上述的反应温度为条件,优选为2小时以上24小时以下,进一步优选为2小时以上4小时以下。

[0126] 反应压力可以为大气压。

[0127] 在配体化合物与第1化合物的反应中,从提高后续的制造工序的便利性的方面考虑,理想的是,选择不对配体化合物所具有的能与金属离子配位的化学结构、和第1化合物所具有的能进行点击反应的原子团的化学结构进行特别的修饰、而是维持两化学结构的条件。

[0128] 另外,就配体化合物与第1化合物的结合方式而言,从能够抑制所得到的化合物的分解、进一步提高所得到的化合物的保存稳定性的方面考虑,选择在通常的合成条件下形成具有稳定性的键的条件是优选的。

[0129] 作为能兼顾上述的合适条件而实现的反应方法,例如,可优选举出使配体化合物与第1化合物进行酰胺化反应而介由酰胺键使两化合物结合的方法。这些反应也优选在各化合物的侧链进行。

[0130] 具体而言,可举出下述方法:使用结构中包含羧基的配体化合物、和结构中包含氨基的第1化合物,在羧基与氨基之间进行酰胺化反应,得到结构中具有酰胺键的第2化合物。羧基为由“-COOH”或“-COO⁻”表示的一价官能团。氨基为由“-NH₂”或“-NH₃⁺”表示的一价官能团。

[0131] 另外,也可以代替羧基而使用具有氧基二羰基的配体化合物或第1化合物来进行酰胺化反应。氧基二羰基是由“-C(=O)OC(=O)-”表示的二价官能团,具有该官能团的化合物被称为酸酐或简称为酐。具有氧基二羰基的配体化合物或第1化合物可以是具有2个相同酰基的对称酐,也可以是具有不同酰基的混合酐。另外,也可以是多元羧酸的同分子内存在的羧基彼此进行脱水缩合而产生的环状酐。这些之中,从经济性及合成效率的观点考虑,优选为混合酐或环状酐,更优选为环状酐。

[0132] 就酰胺化反应的反应条件而言,只要在反应溶剂中在室温下或加热下搅拌而进行即可,可以根据需要添加酰胺缩合剂。

[0133] 作为酰胺缩合剂,例如,可以使用:N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)等碳二亚胺缩合剂;经由叠氮磷酸二苯酯(DPPA)等酸叠氮化物的缩合剂;将六甲基磷酰三胺(HMPA)与1-羟基苯并三唑(HOBT)组合而得的BOP试剂;将BOP试剂的二甲基氨基替换为吡咯烷基而得的PyBOP;将BOP试剂的磷替换为碳而成的O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)等脲阳离子型缩合剂、DMT-MM等三唑系缩合剂。

[0134] 另外,酰胺化反应可以根据需要添加三乙胺等碱来进行。

[0135] 作为能兼顾上述的合适条件而实现的其他反应方法,可优选举出以在配体化合物与第1化合物之间形成硫脲结构的反应方式使两化合物结合的方法。这些反应也优选在各化合物的侧链进行。

[0136] 具体而言,可举出下述方法:使用结构中含有异硫氰酸酯基的配体化合物、和结构中含有氨基的第1化合物,使得在异硫氰酸酯基与氨基之间反应,得到结构中具有硫脲结构的第2化合物。异硫氰酸酯基为由“-N=C=S”表示的官能团。硫脲结构为由“-NH-C(=S)-NH-”表示的化学结构。

[0137] 形成硫脲结构的反应条件例如可以设为使用N,N'-二异丙基乙胺或三乙胺等碱、在室温下或加热下进行搅拌的条件。

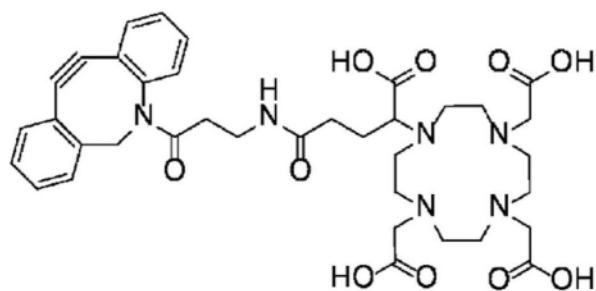
[0138] 作为结构中具有酰胺键的第2化合物的例子,可举出以下的式(7a)及(7b)表示的化合物,但不限于这些。

[0139] 作为结构中具有硫脲结构的第2化合物的例子,可举出以下的式(8a)及(8b)表示的化合物,但不限于这些。

[0140] 以下的式(7a)及(7b)、以及式(8a)及(8b)表示的第2化合物均同时维持着能与金属离子配位的化学结构、和第1化合物所具有的能进行点击反应的原子团的化学结构。

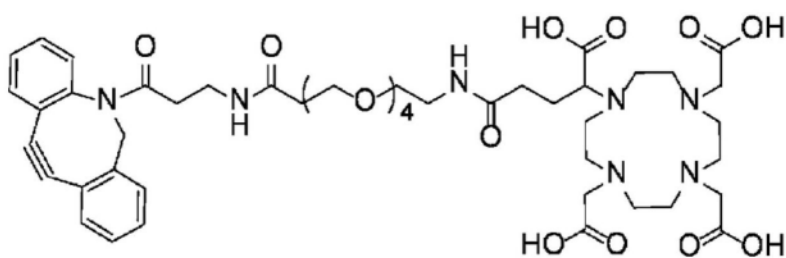
[0141] 第2化合物的化学结构可根据所使用的配体化合物及第1化合物的种类而适当变更。

[0142] [化学式4]



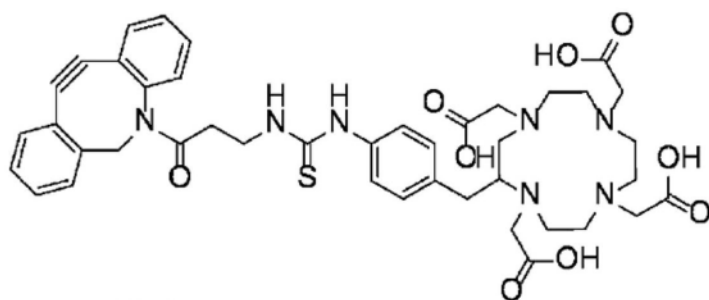
(7a) DOTAGA-DBCO

[0143]



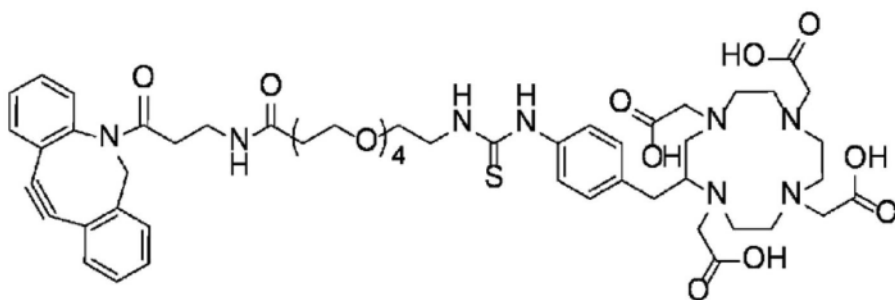
(7b) DOTAGA-PEG4-DBCO

[0144] [化学式5]



(8a) DOTA-Bn-DBCO

[0145]

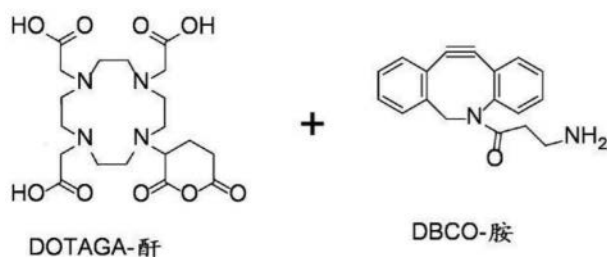


(8b) DOTA-Bn-PEG4-DBCO

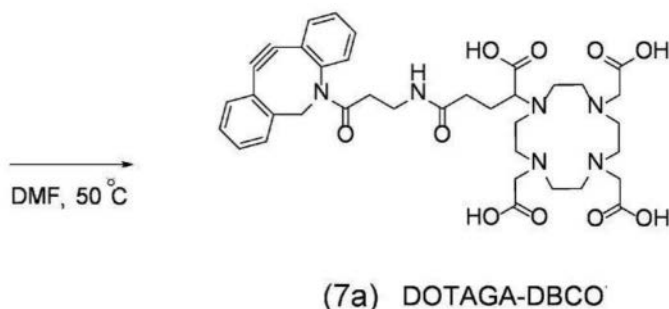
[0146] 从得到保存稳定性更高的第2化合物的观点、及更高效地进行后续的工序中的金属离子的配位反应及点击反应的观点考虑,优选配体化合物为DOTAGA或其酐、并且第1化合物为DBCO-胺。使这些化合物反应而得到的第2化合物为上述的式(7a)表示的DOTAGA-DBCO。

以下示出反应途径的一个实施方式。

[0147] [化学式6]



[0148]



[0149] 就经由纯化工序得到的第2化合物而言,可以将其以单体或组合物的状态供于后续的工序,或将其以溶解于溶剂、缓冲液等的状态供于后续的工序,或者以进行了将规定的洗脱液减压蒸馏的工序等之后的状态供于后续的工序。

[0150] 作为使用经由纯化工序得到的第2化合物的工序,例如,可举出以下的工序(a)及(b)。这些工序为制造靶向剂的方法的一个实施方式。靶向剂在其化学结构中包含:金属络合物;和具有对生物体内的靶器官或组织的靶向性、或者对靶分子的特异性结合性的原子团。

[0151] 工序(a):使第2化合物(详细而言,第2化合物的化学结构中包含的配体)配位于金属离子,形成金属络合物的工序(络合物形成工序)。

[0152] 工序(b):使第2化合物与具有能进行点击反应的原子团的靶向化合物在能进行点击反应的原子团彼此之间反应的工序(点击反应工序)。

[0153] 上述的工序(a)及(b)可以以(a)及(b)的工序顺序进行,也可以代替其而以(b)及(a)的工序顺序进行。另外,工序(a)及(b)可以依次或以相反的顺序连续进行,也可以代替其而在工序(a)与工序(b)之间存在工序(a)及(b)以外的其他工序。

[0154] 在制造靶向剂的方法中,优选按工序(a)及(b)的顺序进行。具体而言,优选地,进行使得到纯化工序的第2化合物配位于金属离子而得到金属络合物的工序,然后,进行使金属络合物、与具有能进行点击反应的原子团的靶向化合物在能进行点击反应的原子团彼此之间反应的工序。通过以这样的顺序进行各工序,在提高络合物的收率、能够在不将未反应的金属离子分离纯化的情况下将该靶向剂供于后续的工序的方面是有利的。另外,能够高生产率地得到提高对生物体内的靶标器官或组织的靶向性、或者对靶分子的特异性结合性的靶向剂。特别是在通过使用放射性金属的络合物从而能够有效地进行疾病的治疗及检测的方面是有利的。

[0155] 以下,以依次进行工序(a)及(b)的情况为例对靶向剂的优选制造方法进行说明。

[0156] 就经由纯化工序得到的第2化合物而言,将其以单体或组合物的状态、或者以溶解于溶剂、缓冲液等的水溶液的状态与金属离子反应,能够形成金属络合物(络合物形成工序)。

[0157] 本工序中得到的金属络合物是金属的离子配位于第2化合物的化学结构中包含的配体而成的。成为配位对象的金属可以为非放射性元素,也可以为放射性同位素。

[0158] 从提高络合物形成效率的观点考虑,与第2化合物反应的金属优选以能电离的金属化合物的方式使用,进一步优选以金属离子的方式使用(以下,也将这些方式统称为“金属源”)。作为金属源,例如,可以使用以金属离子的状态溶解于以水为主体的溶剂中的含金属离子的液体。

[0159] 另外,从在不依赖于第2化合物的结构中的配体与金属的组合的情况下提高络合物形成效率的观点考虑,在络合物形成中,优选对包含化合物和金属离子的反应体系进行加热而使其反应。

[0160] 加热条件优选为30℃以上100℃以下,进一步优选为50℃以上80℃以下。

[0161] 加热时间可根据所使用的金属的种类而适当变更,以上述的温度范围为条件,作为下限,优选为5分钟以上,更优选为10分钟以上,进一步优选为15分钟以上,更优选为30分钟以上,作为上限,优选为150分钟以下,更优选为120分钟以下,进一步优选为100分钟以下,更优选为90分钟以下。

[0162] 反应液量没有特别限定,从实用性的观点考虑,在本工序的开始时,0.01mL~100mL是实际的。另外,从目标金属络合物的收率的观点考虑,优选化合物及金属离子在反应液中的浓度各自独立地在本工序开始时为1μmol/L~100μmol/L。

[0163] 作为络合物形成工序中使用的溶剂,例如可以使用水、生理盐水、或者乙酸钠缓冲液、乙酸铵缓冲液、磷酸缓冲液、磷酸缓冲生理盐水、Tris缓冲液、HEPES缓冲液、或四甲基乙酸铵缓冲液等缓冲液等。

[0164] 成为配位对象的金属例如可举出碱金属、碱土金属、镧系元素、铜系元素、过渡金属或这些金属以外的金属的非放射性元素及放射性元素以及它们的同位素。

[0165] 以这样的金属元素为例时,可举出Sc、Cr、Co、Fe、Ga、Cu、Sr、Zr、Y、Tc、Ru、In、Sm、Dy、Ho、Lu、Re、Au、Tl、Hg、Bi、Pb、Th或Ac等。从能将金属络合物或包含其的组合物应用于疾病的治疗、诊断或检测的观点考虑,优选为Zr、Lu、In、Y、Ga、Cu或Ac,更优选为作为放射性金属的⁸⁹Zr、¹⁷⁷Lu、¹¹¹In、⁹⁰Y、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu或²²⁵Ac。

[0166] 这些金属可以按照通常方法制造,作为以电离状态含有金属的溶液而得到。

[0167] 经由络合物形成工序得到的金属络合物具有来源于第2化合物的化学结构的能进行点击反应的原子团。因此,使该金属络合物、与具有能进行点击反应的第2原子团的靶向化合物进行点击反应,制造靶向剂(点击反应工序)。由此,能够得到提高了对生物体内的靶器官或组织的靶向性、或者对靶分子的特异性结合性的试剂。特别地,在通过使用放射性金属的络合物从而能够有效地进行疾病的治疗及检测的方面是有利的。

[0168] 在靶向剂的制造中,优选在金属络合物的化学结构中包含的能进行点击反应的原子团、与靶向化合物的化学结构中包含的能进行点击反应的第2原子团之间,进行点击反应。

[0169] 在一个实施方式中,在使用DOTAGA-DBCO作为第2化合物的情况下,使用该第2化合

物得到的金属络合物具有DBC0作为能进行点击反应的原子团。因此,使用具有叠氮基作为能进行点击反应的第2原子团的靶向化合物,能够在DBC0与叠氮基之间进行点击反应。

[0170] 点击反应的反应条件可以采用已知的条件,从防止靶向化合物的改性的观点考虑,优选在非加热状态下进行。

[0171] 靶向化合物优选包含选自链状肽、环状肽、或它们的组合、蛋白质、抗体或其片段、肽适配体、生长因子、亲合体、UniBody、纳米抗体、单糖类、多糖类、维生素、反义核酸、siRNA、miRNA、核酸适配体、诱饵核酸、cPG寡核酸、肽核酸、脂质体、胶束、碳纳米管或纳米粒子中的原子团中的一种或二种以上。这些原子团也优选为能与目标靶分子结合的化学结构。

[0172] 另外,当向靶向化合物引入能进行点击反应的第2原子团时,可以使用已知的试剂。

[0173] 这些靶向化合物可以与金属络合物直接键合,也可以介由PEG等其他已知的接头结构而间接地键合。包含来源于PEG的结构作为接头结构的情况下,也优选通过以下的式(P)所示的接头结构间接地键合。式(P)中,n优选为2以上10以下的整数,更优选为2以上8以下的整数,进一步优选为2以上5以下的整数。

[0174] [化学式7]



[0176] 靶向化合物在结构中包含肽的情况下,该原子团优选包含与特定的分子特异性地结合的链状肽、环状肽、或它们的组合、蛋白质、抗体或其片段。

[0177] 作为这样的原子团的例子,只要是所构成的氨基酸残基为3个以上残基的肽即可,例如可举出具有IgG、IgA、IgM、IgD及IgE的类型的抗体(免疫球蛋白)、Fab片段、F(ab')₂片段等抗体片断、肽适配体。另外,构成这样的靶向剂的氨基酸可以为天然的氨基酸,也可以为合成的氨基酸。

[0178] 另外,含有肽的上述原子团的分子量没有特别限定。

[0179] 上述的各种肽可利用以往已知的方法、例如液相合成法、固相合成法、自动肽合成法、基因重组法、噬菌体展示法、及遗传密码子重编程、RaPID(Random non-standard Peptide Integrated Discovery,随机非标准肽整合发现)等方法合成。在合成各种肽时,可以根据需要进行所使用的氨基酸的官能团的保护。

[0180] 靶向化合物为结构中包含核酸的原子团的情况下,该原子团优选为包含能与特定分子特异性地结合的反义核酸、siRNA、miRNA、核酸适配体、诱饵核酸、cPG寡核酸、肽核酸的原子团。另外,核酸碱基可以为脱氧核糖核酸、核糖核酸等天然的核酸碱基,也可以为合成的核酸碱基。

[0181] 本发明中可使用的上述包含核酸的原子团可以利用以往已知的方法制造。例如在核酸适配体的情况下,可以采用SELEX法(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment,指数富集的配体系统进化)来制造与蛋白质等特定的靶物质特异性地结合的核酸适配体。

[0182] 经由上述的工序而生成的金属络合物及靶向剂典型而言以溶解于反应液中的状态存在。就这些溶液而言,各自独立地可以将其直接使用、或者也可以使用过滤器、膜滤器、填充有各种填充剂的柱、色谱仪等进行纯化。

[0183] 作为得到靶向剂之后的工序,例如,可以进一步进行用于得到以靶向剂为有效成分的药剂的制剂化工序。制剂化工序可以通过以下方式进行:适当地添加柠檬酸缓冲液、磷酸缓冲液、硼酸缓冲液等pH调节剂、聚山梨醇酯等增溶剂、稳定剂或抗氧化剂等各种添加剂;或者利用水、生理食盐液等等渗液进行稀释而调节试剂的浓度。另外,作为制剂化工序,在进行了各种添加剂的添加或者浓度调节之后,可以包括利用膜滤器等进行灭菌过滤从而制备成注射剂的工序。

[0184] 本说明书中的配体化合物、第1化合物及第2化合物各自独立地可以为利用与结构中的元素相同的元素的同位素进行标记或进行同位素取代而得的化合物,也可以1个以上的原子被具有与天然存在的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子取代。

[0185] 作为上述的同位素,例如,包括 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 等氢、碳、氮及氧的同位素。包含上述的同位素及/或其他原子的其他同位素的上述各化合物的药学上可接受的盐在本发明的范围内。掺入有 ^3H 及 ^{14}C 这样的放射性同位素的化合物在药物及/或底物组织分布分析等非临床或非医疗目的的研究中是有用的。该情况下,形成金属络合物时,成为配位对象的金属离子可以为非放射性元素。从制备及检测的容易度的观点考虑,结构中具有 ^3H 及 ^{14}C 中的至少一种的化合物是优选的。经同位素标记的上述化合物典型而言可通过使用同位素标记试剂来代替非同位素标记试剂而制备。

[0186] 实施例

[0187] 以下,利用实施例更详细地说明本发明。然而,本发明的范围不限于这些实施例。以下的实施例均在大气压下实施。

[0188] 以下的表中,以“-”示出的栏表示未实施。

[0189] [实施例1~4]

[0190] (合成工序)

[0191] 作为配体化合物使用DOTAGA的酐,作为第1化合物使用DBCO-胺,使它们溶解于DMF中,得到反应液。配体化合物相对于第1化合物而言的摩尔比设为3。将该反应液于50℃加热3小时,使得在配体化合物所具有的羧基与第1化合物所具有的氨基之间进行酰胺化反应,得到包含作为第2化合物的DOTAGA-DBCO的产物。

[0192] (纯化工序)

[0193] 接着,针对包含DOTAGA-DBCO的产物,使用洗脱液并供于中压制备液相色谱法,进行纯化。

[0194] 就中压制备液相色谱法中的洗脱液而言,作为第1洗脱液使用0.1体积%乙酸水溶液,并且作为第2洗脱液使用含有0.1体积%乙酸的乙腈,在以下的浓度梯度条件下进行洗脱。所有的洗脱液均不含TFA。

[0195] <中压制备液相色谱条件>

[0196] 使用第1洗脱液(以下,也称为洗脱液1)及第2洗脱液(以下,也称为洗脱液2)。按以下的(i)~(iii)的顺序,控制浓度梯度(体积%)进行送液。各洗脱液的流速设为12mL/min。

[0197] (i) 0~6分钟 洗脱液1:80、洗脱液2:20

[0198] (ii) 6 ~ 34分钟 洗脱液1: 80 ~ 58、洗脱液2: 20 ~ 42

[0199] (iii) 34 ~ 40分钟 洗脱液1: 58 ~ 0、洗脱液2: 42 ~ 100

[0200] 另外, 柱使用Biotage公司制Sfar C18, 检测利用紫外吸收检测器(测定波长: 290nm)进行。

[0201] 针对经由该工序而得到的液体, 利用旋转蒸发仪将乙腈减压蒸馏除去, 得到经纯化的作为第2化合物的DOTAGA-DBCO。该DOTAGA-DBCO为溶解于0.1体积%乙酸水溶液的状态的组合物。

[0202] 接下来, 利用冷冻干燥使该组合物干燥, 除去0.1体积%乙酸水溶液, 得到固体的DOTAGA-DBCO。将其放入褐色小瓶中保存。

[0203] 然后, 将装有DOTAGA-DBCO的褐色小瓶配置于室温下(实施例1: 21 ~ 25℃)、高温下(实施例2: 40℃)、冷藏下(实施例3: 5℃)、及冷冻下(实施例4: -20℃)的各条件下, 保管规定时间。

[0204] [实施例5]

[0205] (合成工序)

[0206] 作为使DOTAGA及DBCO-胺溶解的有机溶剂, 使用DMSO, 使配体化合物相对于第1化合物而言的摩尔比为1.2, 使反应温度为80℃, 除此以外, 利用实施例1 ~ 4的合成工序中记载的方法得到DOTAGA-DBCO。

[0207] (纯化工序)

[0208] 在第1及第2洗脱液中, 作为水溶性有机酸, 使用甲酸, 在以下所示的浓度梯度条件下进行洗脱, 除此以外, 与实施例1 ~ 4的纯化工序同样地对包含DOTAGA-DBCO的产物进行纯化。

[0209] <中压制备液相色谱条件>

[0210] 使用第1洗脱液(以下, 也称为洗脱液1)及第2洗脱液(以下, 也称为洗脱液2), 按以下的(i) ~ (v)的顺序, 控制浓度梯度(体积%)进行送液。各洗脱液的流速为12mL/min。

[0211] (i) 0 ~ 2.8分钟 洗脱液1: 95、洗脱液2: 5

[0212] (ii) 2.8 ~ 5.7分钟 洗脱液1: 95 ~ 80、洗脱液2: 5 ~ 20

[0213] (iii) 5.7 ~ 19.8分钟 洗脱液1: 80 ~ 40、洗脱液2: 20 ~ 60

[0214] (iv) 19.8 ~ 22.7分钟 洗脱液1: 40 ~ 5、洗脱液2: 60 ~ 95

[0215] (v) 22.7 ~ 25.5分钟 洗脱液1: 5、洗脱液2: 95

[0216] 针对经由该工序得到的液体, 利用旋转蒸发仪将乙腈减压蒸馏除去, 得到经纯化的作为第2化合物的DOTAGA-DBCO。该DOTAGA-DBCO为溶解于0.1体积%甲酸水溶液的状态的组合物。

[0217] 接下来, 利用冷冻干燥使该组合物干燥, 除去0.1体积%甲酸水溶液, 得到固体的DOTAGA-DBCO。将其放入无色透明玻璃小瓶中保存。

[0218] 然后, 将装有DOTAGA-DBCO的无色透明玻璃小瓶配置于室温下(实施例5: 19 ~ 23℃)的条件下, 保管规定时间。

[0219] [比较例1及2]

[0220] 利用与实施例1 ~ 4同样的方法进行合成工序后, 针对包含DOTAGA-DBCO的产物, 使用包含TFA的洗脱液, 利用与实施例1 ~ 4同样的方法, 进行纯化工序。就本比较例中的洗脱

液而言,作为第1洗脱液,使用0.1体积%TFA水溶液,并且作为第2洗脱液,使用含有0.1体积%TFA的乙腈。因此,本比较例中得到的组合物包含DOTAGA-DBCO和TFA。

[0221] 接下来,将利用与实施例1~4同样的方法干燥而得到的DOTAGA-DBCO放入褐色小瓶中,将该褐色小瓶配置在室温下(比较例1:21~25℃)、高温下(比较例2:40℃)的各条件下,保管规定时间。

[0222] (保存稳定性的评价)

[0223] 针对实施例及比较例的DOTAGA-DBCO,在保管开始时、保管7天后、保管1个月后、保管3个月后及保管6个月后的各时间点,利用以下的测定方法测定纯度。相对于保管开始时的纯度而言纯度下降越少,表示保存稳定性越优异。将结果示于以下的表1。

[0224] <纯度的测定方法>

[0225] 精确地称量1.0mg的对象化合物,关于实施例1及2以及比较例1及2,加入10mmol/L甲酸铵溶液(pH3.0)/液相色谱用乙腈混液(95:5),准确地取10mL,作为试样溶液。关于实施例3及4,加入10mmol/L甲酸铵溶液(pH3.0)/液相色谱用甲醇混液(95:5),准确地取10mL,关于实施例5,加入液相色谱用甲醇,准确地取10mL,作为试样溶液。

[0226] 针对这些试样溶液10 μ L,在以下的条件下利用高效液相色谱进行测定。利用自动积分法测定试样溶液的峰面积,利用面积百分率法求出它们的化合物量。试样溶液的制备次数设为1次,测定次数设为3次。将3次测定中的测定结果的算术平均值作为纯度(%)。需要说明的是,关于保管开始时,试样溶液的制备次数及测定次数均设为1次。

[0227] <高效液相色谱条件>

[0228] • 检测器(1):紫外分光光度计(测定波长:290nm,308nm)

[0229] • 检测器(2):ACQ-QDa(正向扫描:锥孔电压15V,毛细管电压0.8V;负向扫描:锥孔电压15V,毛细管电压0.8V,扫描范围:m/z 50~1200)

[0230] • 柱:在内径4.6mm、长度10cm的不锈钢管中填充有3.5 μ m的液相色谱用十八烷基甲硅烷基化硅胶的柱(XBridgeC18)。

[0231] • 柱温:维持在约25℃的恒定温度。

[0232] [实施例1~5以及比较例1及2]

[0233] • 流动相:使用(流动相A)10mmol/L甲酸铵溶液(pH3.0)、(流动相B)乙腈,按以下的(i)~(v)的顺序控制浓度梯度(体积%)进行送液。各流动相的流速为1mL/min。

[0234] (i) 0~12分钟 流动相A:95~50、流动相B:5~50

[0235] (ii) 12~13分钟 流动相A:50~5、流动相B:50~95

[0236] (iii) 13~20分钟 流动相A:5、流动相B:95

[0237] (iv) 20~20.01分钟 流动相A:5~95、流动相B:95~5

[0238] (v) 20.01~30分钟 流动相A:95、流动相B:5

[0239] [表1]

[0240]

	纯化时 有无TFA	化合物 保存条件	各保存时间下的化合物的纯度 (%)				
			保存开始	7天后	1个月后	3个月后	6个月后
实施例1	无	室温	97.6	97.1	96.9	95.7	93.6
实施例2	无	40°C	97.6	96.9	96.7	93.9	92.0
实施例3	无	5°C	96.9	97.4	97.0	93.2	96.8
实施例4	无	-20°C	96.9	97.4	97.6	93.5	95.5
实施例5	无	室温	97.5	97.2	96.0	—	—
比较例1	有	室温	96.4	95.5	90.9	—	—
比较例2	有	40°C	96.4	86.1	52.2	—	—

[0241] 如表1所示,表明与比较例的化合物相比,在不存在TFA的条件下纯化而得的各实施例的化合物即使在保管1个月后,也能够以维持了保管开始时的纯度的状态保存。特别是,在冷藏或冷冻条件下保存的实施例3及4中,即使在保管6个月后,也能够以维持了保管开始时的纯度的状态保存,表明其长期的保存稳定性优异。