

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2021년 10월 7일 (07.10.2021) **WIPO | PCT**



(10) 국제공개번호
WO 2021/201488 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 51/04 (2006.01) *A61K 47/22* (2006.01)
A61K 47/20 (2006.01) *A61K 47/24* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2021/003629
- (22) 국제출원일: 2021년 3월 24일 (24.03.2021)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2020-0039471 2020년 3월 31일 (31.03.2020) KR
- (71) 출원인: 재단법인 아산사회복지재단 (**THE ASAN FOUNDATION**) [KR/KR]; 05505 서울시 송파구 올림픽로 43길 88, Seoul (KR). 울산대학교 산학협력단 (**UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION**) [KR/KR]; 44610 울산시 남구 대학로 93, Ulsan (KR).
- (72) 발명자: 이상주 (**LEE, Sang Ju**); 05505 서울시 송파구 올림픽로 43길 88 서울아산병원 핵의학과 의국, Seoul (KR). 오승준 (**OH, Seung Jun**); 05505 서울시 송파구

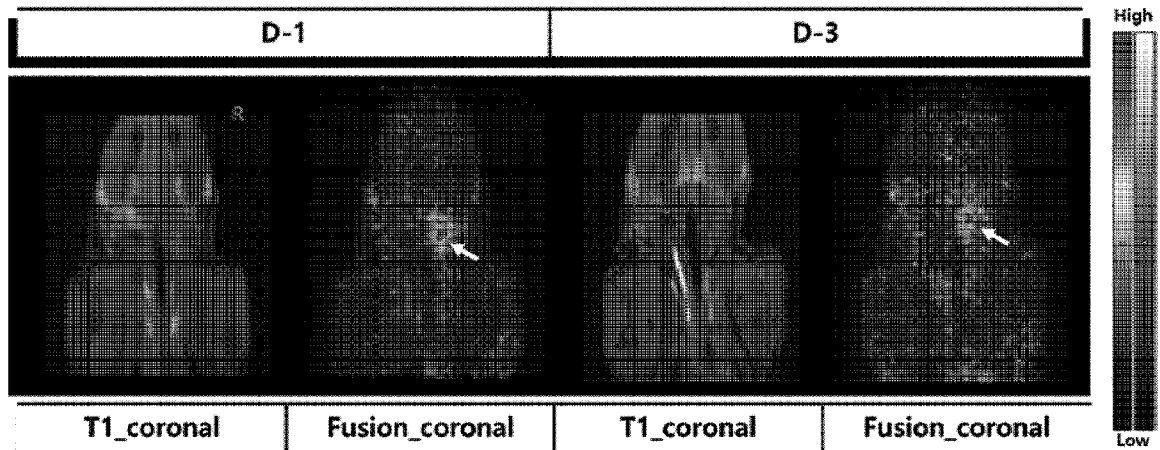
올림픽로 43길 88 서울아산병원 핵의학과 의국, Seoul (KR). 김재승 (**KIM, Jae-Seung**); 05505 서울시 송파구 올림픽로 43길 88 서울아산병원 핵의학과 의국, Seoul (KR). 문대혁 (**MOON, Dae-Hyuk**); 05505 서울시 송파구 올림픽로 43길 88, 서울아산병원 핵의학과 의국, Seoul (KR). 채선영 (**CHAE, Sun Young**); 05505 서울시 송파구 올림픽로 43길 88, 서울아산병원 핵의학과 의국, Seoul (KR).

(74) 대리인: 이명진 (**LEE, Myoung-Jin**); 06158 서울시 강남구 테헤란로 445, 13층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: THROMBUS IMAGING RADIOPHARMACEUTICAL AND COMPOSITION

(54) 발명의 명칭: 혈전영상을 위한 방사성의약품 및 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a thrombus imaging radiopharmaceutical for radioisotope labeling. The radiopharmaceutical of the present invention binds to glycoprotein IIb/IIIa with high affinity, enables thrombus imaging through quick reduction of background radioactivity, and can be simply synthesized at high yield by coupling a chelator to a metallic radioisotope. In addition, the radiopharmaceutical can be easily prepared in hospitals using a quick and convenient preparation method, which has been a challenge for conventional radiopharmaceuticals, and thus is expected to be advantageously applied to emergency patients.

(57) 요약서: 본 발명은 방사성 동위원소 표지를 위한 혈전영상용 방사성 의약품 등에 관한 것으로, 본 발명의 방사성 의약품은 당단백질 IIb/IIIa에 고친화적으로 결합하고, 빠른 배후방사능 감소를 통해 혈전 영상화가 가능하며, 킬레이터와 금속성 방사성 동위원소를 결합하여 고수율로 간단히 합성될 수 있다. 또한, 기존 방사성 의약품으로는 해결하지 못한, 빠르고 간편한 제조 방법을 통하여 병원에서 간편히 제조가 가능해 응급환자에 유용하게 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

[다음 쪽 계속]

WO 2021/201488 A1



SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 혈전영상을 위한 방사성의약품 및 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 혈전영상을 위한 방사성의약품 및 조성물 등에 관한 것이다.
- [2] 본 출원은 2020년 03월 31일에 출원된 한국특허출원 제10-2020-0039471호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다.

[3]

배경기술

- [4] 신규의 고도로 특이적인 비-펩티드 당단백질 IIb/IIIa 길항제는 선행 기술 (문헌 [Damiano et al., Thrombosis Research 2001 104, 113-126; Hoekstra, W.J., et al., J. Med. Chem., 1999, 42, 5254-5265])에 기재되어 있다. 이들 화합물은 항혈소판 및 항혈전 활성을 갖는 치료제로서 효과적인 GPIIb/IIIa 길항제인 것으로 공지되어 있다 (WO95/08536, WO96/29309, WO97/33869, WO9701/60813, 미국 특허 번호 6,515,130 참조). 또한, 조영제로서의 당단백질 IIb/IIIa 길항제의 잠재적인 사용이 또한 제안된 바 있다. 그러나, 당단백질 IIb/IIIa 길항제를 사용한 혈전 영상화 용도는 알려진 바 없었다.
- [5] 또한, 조영부를 포함하는 화합물을 제조하는 현재의 방법들은 [¹⁸F]-플루오르화 화학 기술을 포함하며, 다수의 방법이 플루오르화 칼륨(KF)을 사용하는 친핵성 [¹⁸F]-플루오르화 화학 기술에 초점을 맞추고 있다. 이러한 방법은, 예를 들어 탄산칼륨(K₂CO₃)과 사이클로트론에서 생성된 [¹⁸F] 함유 중 사이의 음이온 교환을 통해 원소 플루오르화물 공급원을 생성시키고, 종종 아자-클라운 에테르인 크립토폭스 222(Kryptofix 222)(4,7,13,16,21,24-헥사옥사-1,10-디아자비시클로[8.8.8]-헥사코산)를 부가하여 반응성을 증강시켜 줄 필요가 있다. 이러한 방법은 임상학적 양을 생산하는 데에는 적당하지만, 효율, 까다로운 정제 및 복잡한 과정은 광범위한 상업적 적용에 적당하지 않다.
- [6] 한편, F-18 방사성 표지된 화합물로 당단백질 IIb/IIIa에 고친화도로 특이적인 결합을 통해, PET 영상기법을 이용한 비침습적 영상화를 할 수 있었다. 그러나, 상기 언급한 바와 같이, F-18 방사성 표지 방법은 복잡하고, 별도의 장비가 필요하며, 정제 후 정도 관리 등의 절차를 거쳐 환자에게 투여되기까지 4시간 정도 걸림으로 응급환자에 대한 적용이 불가능하다는 문제가 있었다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 이에 본 발명자들은 당단백질 IIb/IIIa에 특이적으로 결합을 하면서 간단히

방사성 동위원소를 표지할 수 있는 방사성 의약품을 개발하고자 연구, 노력한 결과, 금속성 방사성 동위원소와 킬레이터의 결합을 이용하여 간편하게 표지하여 바로 사용할 수 있으며, 생체 내에서 높은 특이적 결합 및 낮은 백그라운드를 보이는 방사성 의약품을 개발함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

- [9] 따라서, 본 발명의 목적은 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 다른 목적은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 혈전 영상화용 조성물을 제공하는 것이다.
- [11] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 금속성 방사성 동위원소 표지된 방사성 의약품 제조용 키트를 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 혈전 영상화용 조성물을 유효성분으로 포함하는 혈전성 질환의 진단용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [13]
- [14] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

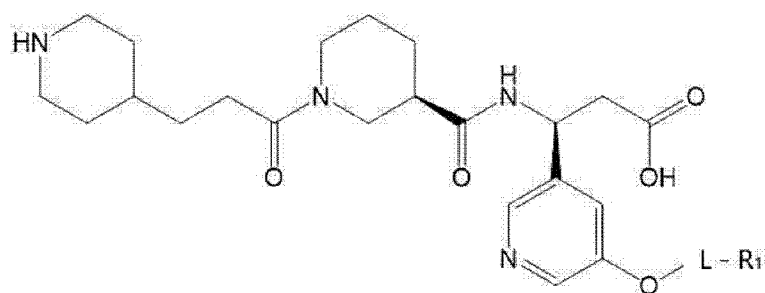
[15]

기술적 해결방법

- [16] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[17] [화학식 1]

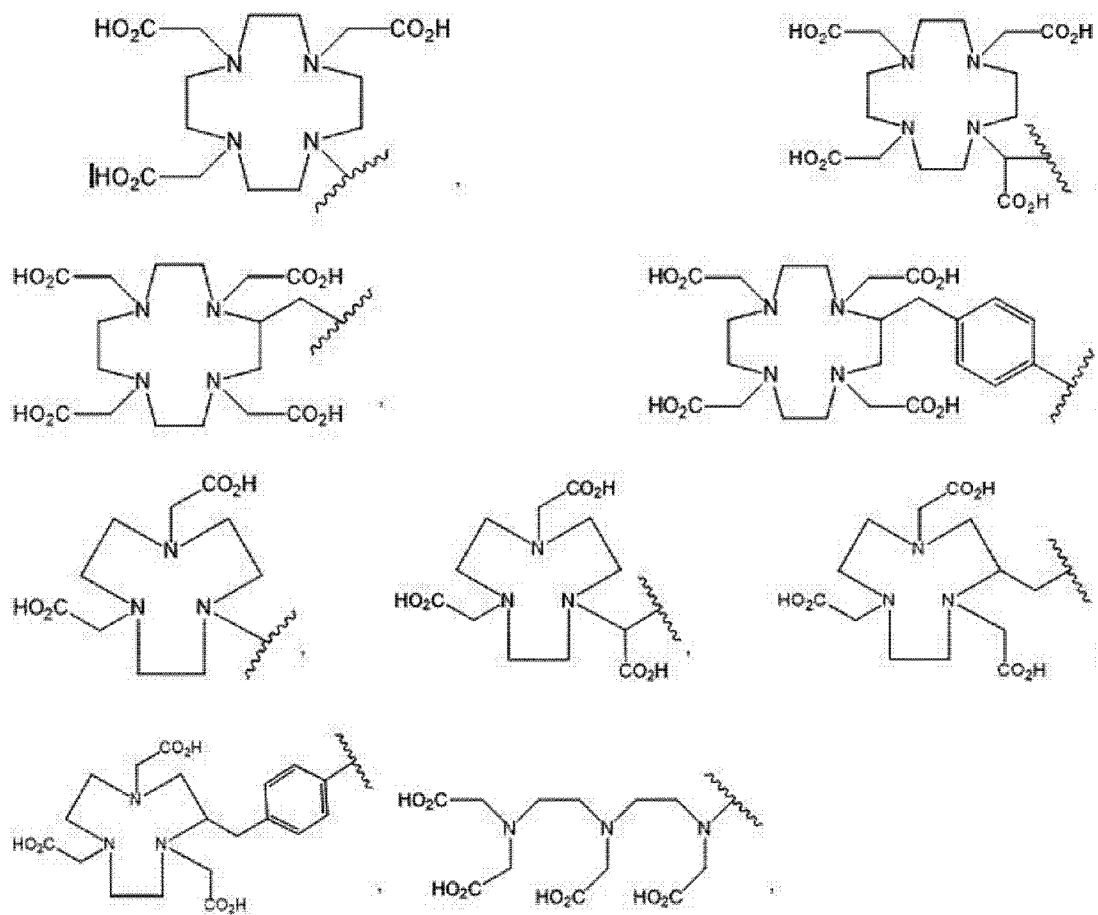
[18]



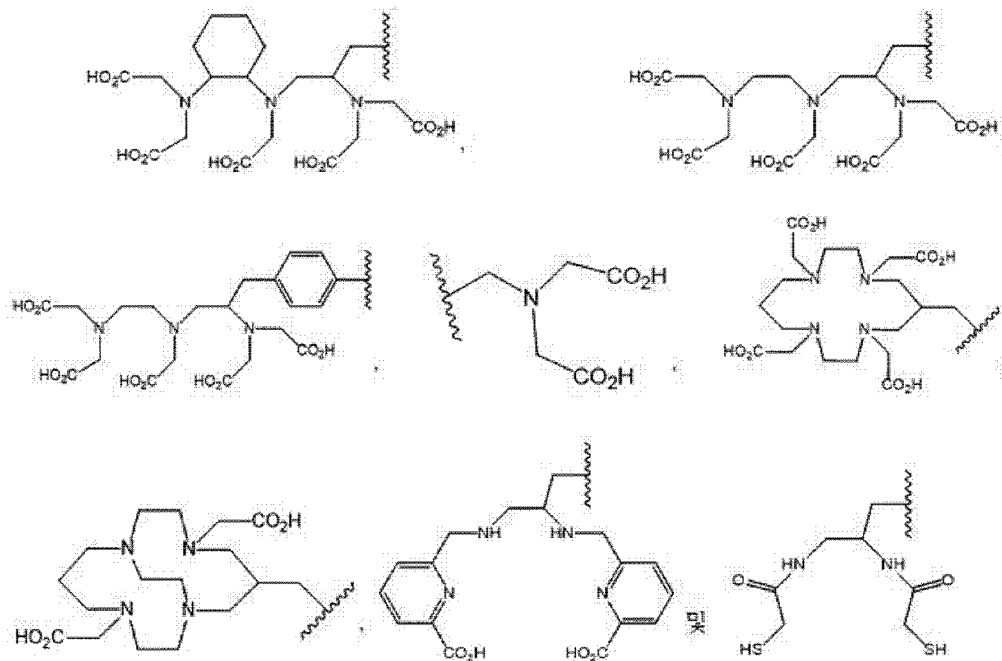
[19] (상기 화학식 1에서,

[20] 상기 R₁은

[21]



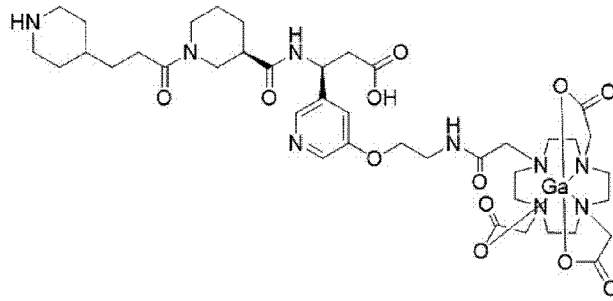
[22]



[23] 로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

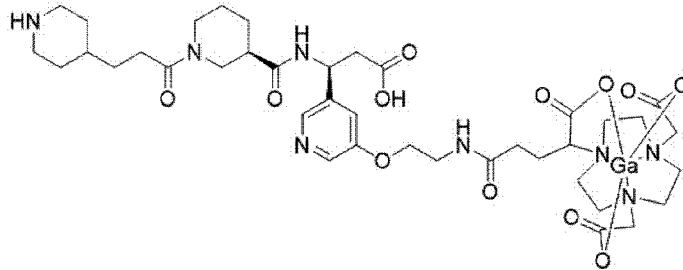
[24] 상기 L은 직접결합, $-(CH_2)_n-NHCO-(CH_2)_m-$, 또는 $-((CH_2)_2O)_x-(CH_2)_2$

-)n-NHCO-(CH₂)m- 이고, 상기 n, m 및 x는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이다.)
- [25] 더욱이, 본 발명은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 혈전 영상화용 조성물을 제공한다.
- [26] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 금속성 방사성 동위원소 표지된 방사성의약품 제조용 키트를 제공한다.
- [27] 또한, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물을 유효성분으로 포함하는 혈전성 질환의 진단용 약학적 조성물을 제공한다.
- [28] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 R₁은 금속성 방사성 동위원소가 표지되는 킬레이트제인 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [29] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [30] 2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid (GP-102);
- [31] 2,2'-(7-(1-carboxy-4-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutyl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetic acid (GP-103);
- [32] (S)-3-(5-(2-(2-DTPA acetamido)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)propanoic acid (GP-104); 및
- [33] 2,2'-((2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetic acid (GP-105).
- [34] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 금속성 방사성 동위원소는 Ga-66, Ga-68, Cu-61, Cu-62, Cu-64, Cu-67, Pb-212, Bi-212, Pd-109, Y-86, Co-55, Zr-89, Sr-83, Mn-52, As-72, Sc-44, Ga-67, In-111, 및 Tc-99m 로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [35] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 금속성 방사성 동위원소가 표지된 화합물은 하기 화학식 2 내지 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [36] [화학식 2]
- [37]



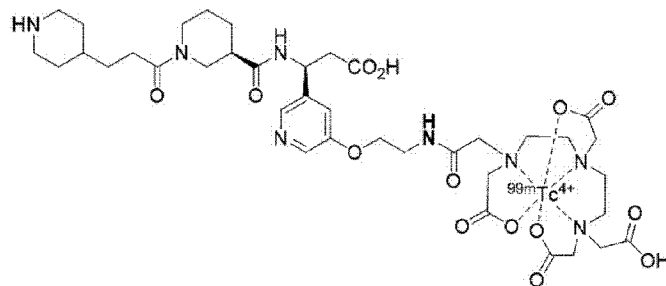
[38] [화학식 3]

[39]



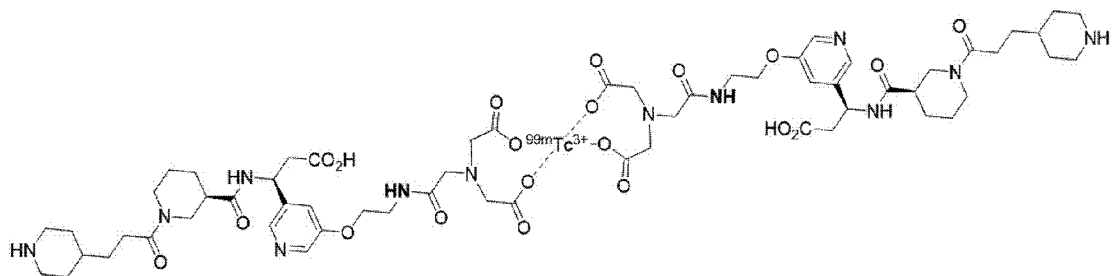
[40] [화학식 4]

[41]



[42] [화학식 5]

[43]



[44]

[45] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 키트는 시스테인, 비타민B1, 및 비타민 B6로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[46] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 키트는 금속성 방사성 동위원소를 추가적으로 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[47] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 키트에 용액상태, 냉장상태, 냉동상태, 및 동결 건조 상태로 이루어진 군으로부터 선택된 상태로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [48] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 키트는 HEPES 버퍼, 아세테이트 버퍼, 에탄올, 및 주사용수로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [49] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 혈전성 질환은 혈전증(thrombosis), 협심증, 심근경색, 동맥경화, 심근 허혈(myocardial ischemia), 고형화 종양(solid tumor) 및 전이암으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [50] 또한, 본 발명은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 혈전 영상화 용도를 제공한다.
- [51] 또한, 본 발명은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 혈전 영상화제 제조 또는 조제를 위한 용도를 제공한다.
- [52] 또한, 본 발명은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전 영상화 방법을 제공한다.
- [53] 또한, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물의 혈전성 질환의 진단 용도를 제공한다.
- [54] 또한, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물의 혈전성 질환의 진단제 제조 또는 조제를 위한 용도를 제공한다.
- [55] 또한, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전성 질환의 진단을 위한 정보제공 방법을 제공한다.
- [56] 또한, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전성 질환의 진단 방법을 제공한다.

[57]

발명의 효과

- [58] 본 발명의 방사성 의약품은 금속성 동위원소가 표지된 방사성 추적자로서 당단백질 IIb/IIIa에 고친화적으로 결합하고, 빠른 배후방사능 감소의 특성으로 PET 또는 SPECT 영상기법을 통하여 비침습적 영상화 방법으로 혈전을 영상화할 수 있다.
- [59] 또한, 본 발명의 방사성 의약품은 간편하고 빠른 표지 및 비정제 방법을 통하여 기존 방사성 의약품으로는 해결하지 못한 응급 환자들에게도 적용이 가능하며, F-18 방사성 의약품 제조 시설이 없는 대부분의 국내외 병원에서 직접 제조 혹은 조제하여 사용이 가능하다.
- [60] 따라서, 본 발명의 방사성 의약품은 응급 환자가 많은 혈전 질환의 특성에 쉽고 간단하게 적용할 수 있으므로, 검사의 편리성을 확보하고 환자의 의료복지를 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

[61]

도면의 간단한 설명

- [62] 도 1은 HEPES 버퍼를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-102를 C18 light Sep-Pak으로 정제한 결과를 나타낸 것이다.
- [63] 도 2는 아세트레이트 버퍼를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-102를 C18 light Sep-Pak으로 정제한 결과를 나타낸 것이다.
- [64] 도 3은 chromafix PS-H+ 및 아세트레이트 버퍼 키트를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-102를 정제 없이 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [65] 도 4는 HEPES 버퍼를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-103을 C18 light Sep-Pak으로 정제한 결과를 나타낸 것이다.
- [66] 도 5는 아세트레이트 버퍼를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-103을 C18 light Sep-Pak으로 정제한 결과를 나타낸 것이다.
- [67] 도 6은 아세트레이트 버퍼 키트를 이용하여 Ga-68을 표지한 [Ga-68]GP-103을 정제 없이 확인한 결과를 나타낸 것이다.
- [68] 도 7은 GP-104, SnCl_2 및 시스테인을 포함하는 동결 건조 바이알을 이용한 [Tc-99m]GP-104의 표지 결과를 나타낸 것이다.
- [69] 도 8은 GP-105 및 시스테인을 포함하는 동결 건조 바이알을 이용한 [Tc-99m]GP-105의 표지 결과를 나타낸 것이다.
- [70] 도 9a 및 도 9b는 시스테인 첨가 시기에 따른 Tc-99m을 표지한 [Tc-99m]GP-104의 표지 결과를 나타낸 것이다.
- [71] 도 10은 NaOH 첨가 방법에 따른 Tc-99m을 표지한 [Tc-99m]GP-105의 표지 결과를 나타낸 것이다.
- [72] 도 11은 본 발명의 실시예 5-1에서 제작한 혈전 질환 모델의 경동맥을 MR 영상 (좌) 및 조직면역화학염색 결과 (우)를 나타낸 것이다.
- [73] 도 12는 본 발명 실시예 5-2의 [Ga-68]GP-102의 당단백질 IIB/IIIa 특이적 섭취 평가 결과를 microPET/MR을 이용하여 영상으로 나타낸 것이다.
- [74] 도 13은 본 발명 실시예 5-3의 [Ga-68]GP-102의 생체 내 분포를 확인하기 위하여, microPET/MR 영상 (좌측) 및 시간(sec)에 따른 각 장기별 Standard uptake value(SUV) 수준을 나타낸 것이다.
- [75] 도 14는 본 발명 실시예 5-3의 [Ga-68]GP-102의 생체 내 분포 정도를 확인하기 위하여, 도 13에서 방광, 신장, 좌심실을 제외한 시간에 따른 각 장기별 SUV 수준을 나타낸 것이다.
- [76] 도 15는 본 발명 실시예 5-4의 [Ga-68]GP-103의 당단백질 IIB/IIIa 특이적 섭취 평가 결과를 microPET/MR을 이용하여 영상으로 나타낸 것이다.
- [77] 도 16은 본 발명 실시예 5-5의 [Ga-68]GP-103의 생체 내 분포를 확인하기 위하여, microPET/MR 영상 (좌측) 및 시간(sec)에 따른 각 장기별 Standard uptake value(SUV) 수준을 나타낸 것이다.
- [78] 도 17은 본 발명 실시예 5-5의 [Ga-68]GP-103의 생체 내 분포 정도를 확인하기

위하여, 도 13에서 방광, 신장, 좌심실을 제외한 시간에 따른 각 장기별 SUV 수준을 나타낸 것이다.

[79] 도 18은 본 발명 실시예 5-6의 [Tc-99m]GP-104의 당단백질 IIB/IIIa 특이적 섭취 평가 결과를 microSPECT을 이용하여 영상으로 나타낸 것이다.

[80] 도 19는 본 발명 실시예 5-7의 [Tc-99m]GP-105의 당단백질 IIB/IIIa 특이적 섭취 평가 결과를 microSPECT을 이용하여 영상으로 나타낸 것이다.

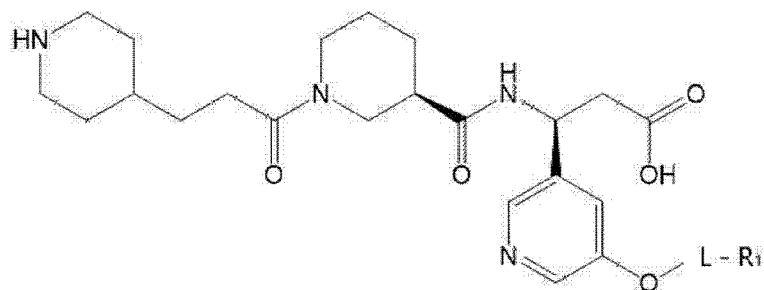
[81]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[82] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[83] [화학식 1]

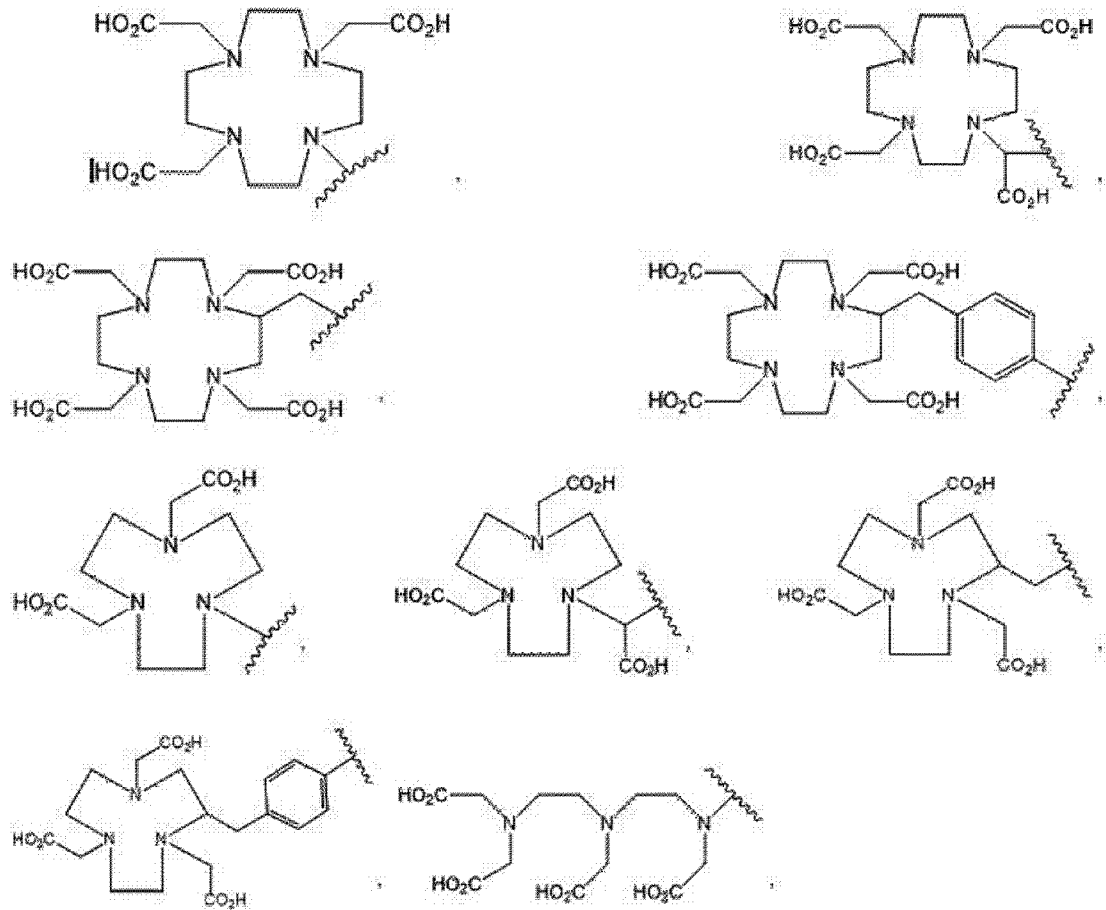
[84]



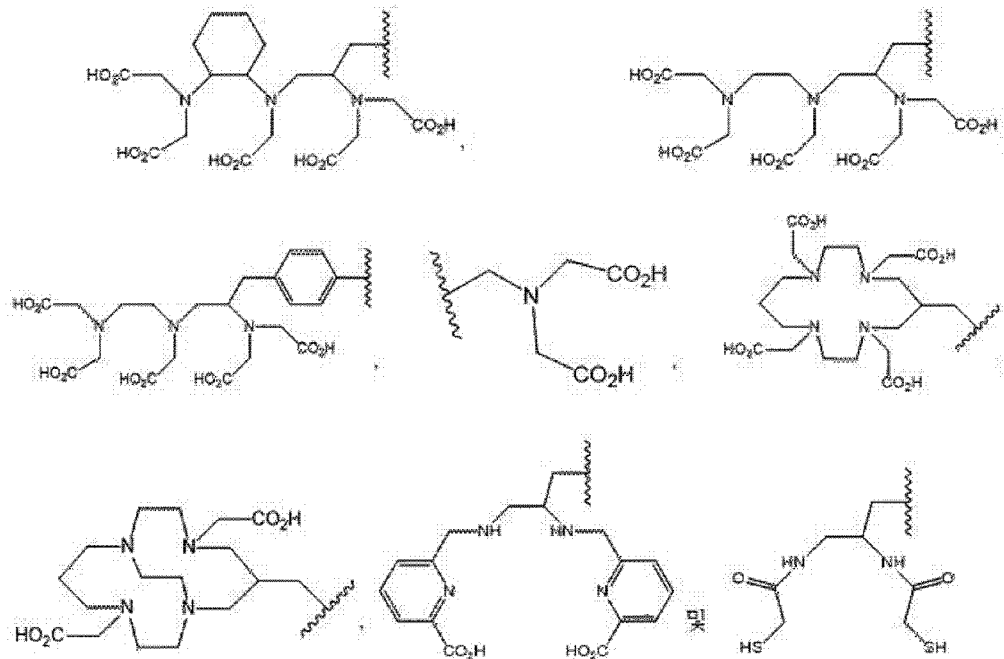
[85] (상기 화학식 1에서,

[86] 상기 R₁은

[87]



[88]



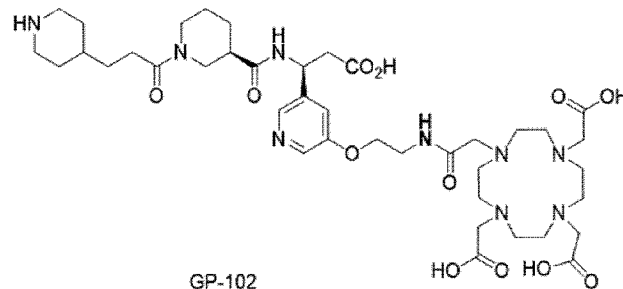
[89] 로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

[90] 상기 L은 직접결합, $-(CH_2)_n-NHCO-(CH_2)_m-$, 또는 $-((CH_2)_2O)_x-(CH_2)_2$

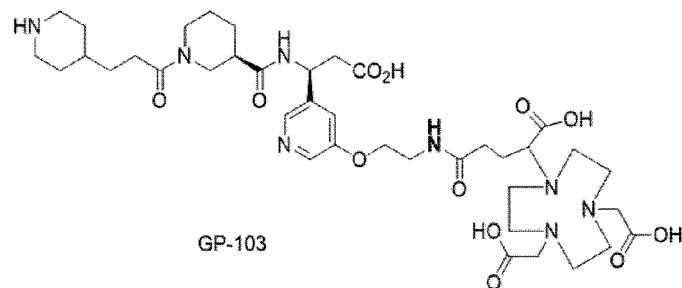
)n-NHCO-(CH₂)m- 이고, 상기 n, m 및 x는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이다.)

- [91] 본 발명에 있어서, 상기 R₁은 금속성 방사성 동위원소가 표시되는 킬레이트제인 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [92] 본 발명에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:
- [93] 2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid (GP-102);
- [94] 2,2'-(7-(1-carboxy-4-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutyl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetic acid (GP-103);
- [95] (S)-3-(5-(2-(2-DTPA acetamido)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)propanoic acid (GP-104); 및
- [96] 2,2'-((2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetic acid (GP-105).
- [97] 본 발명에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:

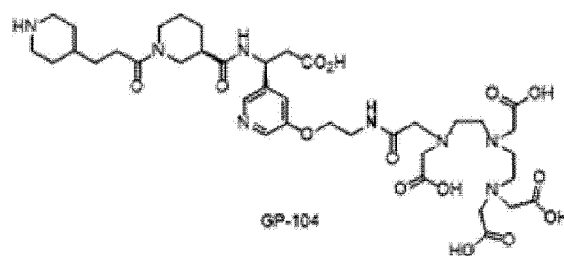
[98]



[99]

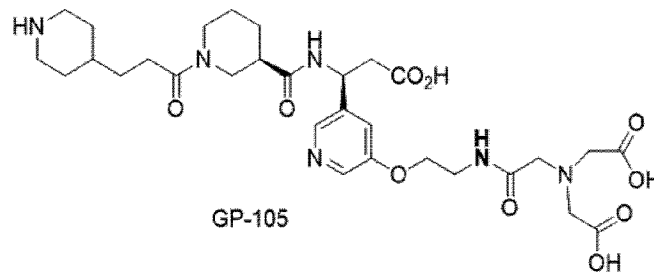


[100]



[101] 및

[102]



[103] 본 발명에서, 상기 화합물은 화합물 자체 및 이의 라세미체, 에난티오머, 동질이상체, 수화물, 용매화물을 모두 포함하는 의미로 사용된다.

[104] 본 발명은 또한, 화학식 1로 표시되는 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다.

[105] 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기 용매를 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 또한, 동물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

[106] 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻을 수 있다. 이 때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.

[107] 본 발명의 다른 양태로서, 본 발명은 금속성 방사성 동위원소가 표지된 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 혈전 영상화용 조성물을 제공한다.

[108] 본 발명에 있어서, "혈전"은 모든 종류의 혈액 혈병(정맥 및 동맥 혈전)을 기재한다. "혈전"은 또한 "혈전성 침착물" 및 "혈전 형성 부위"와 같은 어구의 임의의 용어를 포함한다. 혈전은 통상적으로는 지혈에서의 혈액 응고 단계의 결과로서 또는 병리학 상으로는 혈전성 장애와 같은 다양한 원인의 결과로서

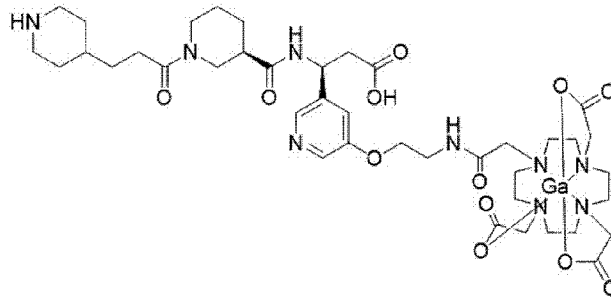
발생한다. 이 조사에서, 혈전을 함유하는 모든 혈소판 뿐만 아니라 혈관계 내 어딘가에서 움직이지 못하게 된 순환성 혈전 (색전)이 포함된다.

[109] 본 발명에 있어서, 상기 금속성 방사성 동위원소는 Ga-66, Ga-68, Cu-61, Cu-62, Cu-64, Cu-67, Pb-212, Bi-212, Pd-109, Y-86, Co-55, Zr-89, Sr-83, Mn-52, As-72, Sc-44, Ga-67, In-111, 및 Tc-99m 로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[110] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 금속성 방사성 동위원소를 표지한 화합물은 하기 화학식 2 내지 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다:

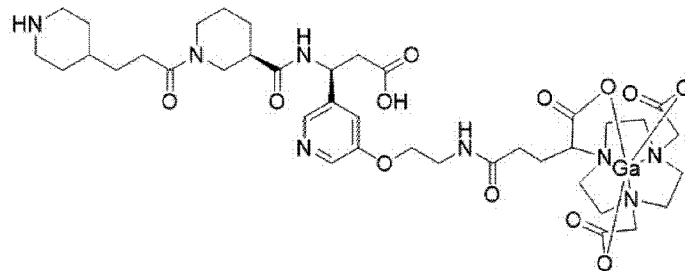
[111] [화학식 2]

[112]



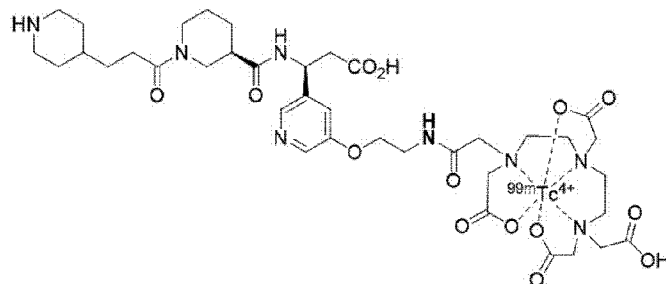
[113] [화학식 3]

[114]



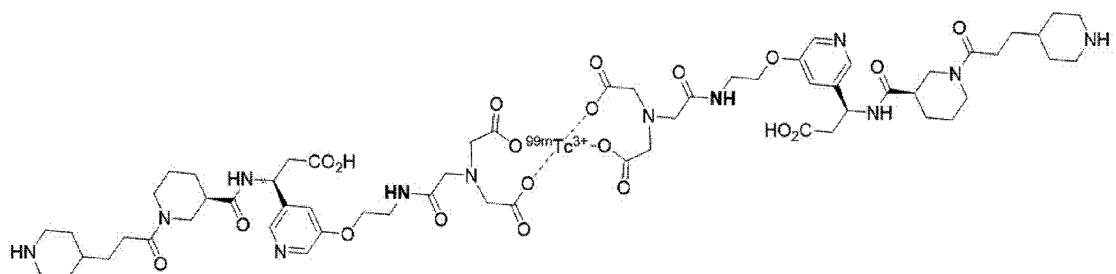
[115] [화학식 4]

[116]



[117] [화학식 5]

[118]



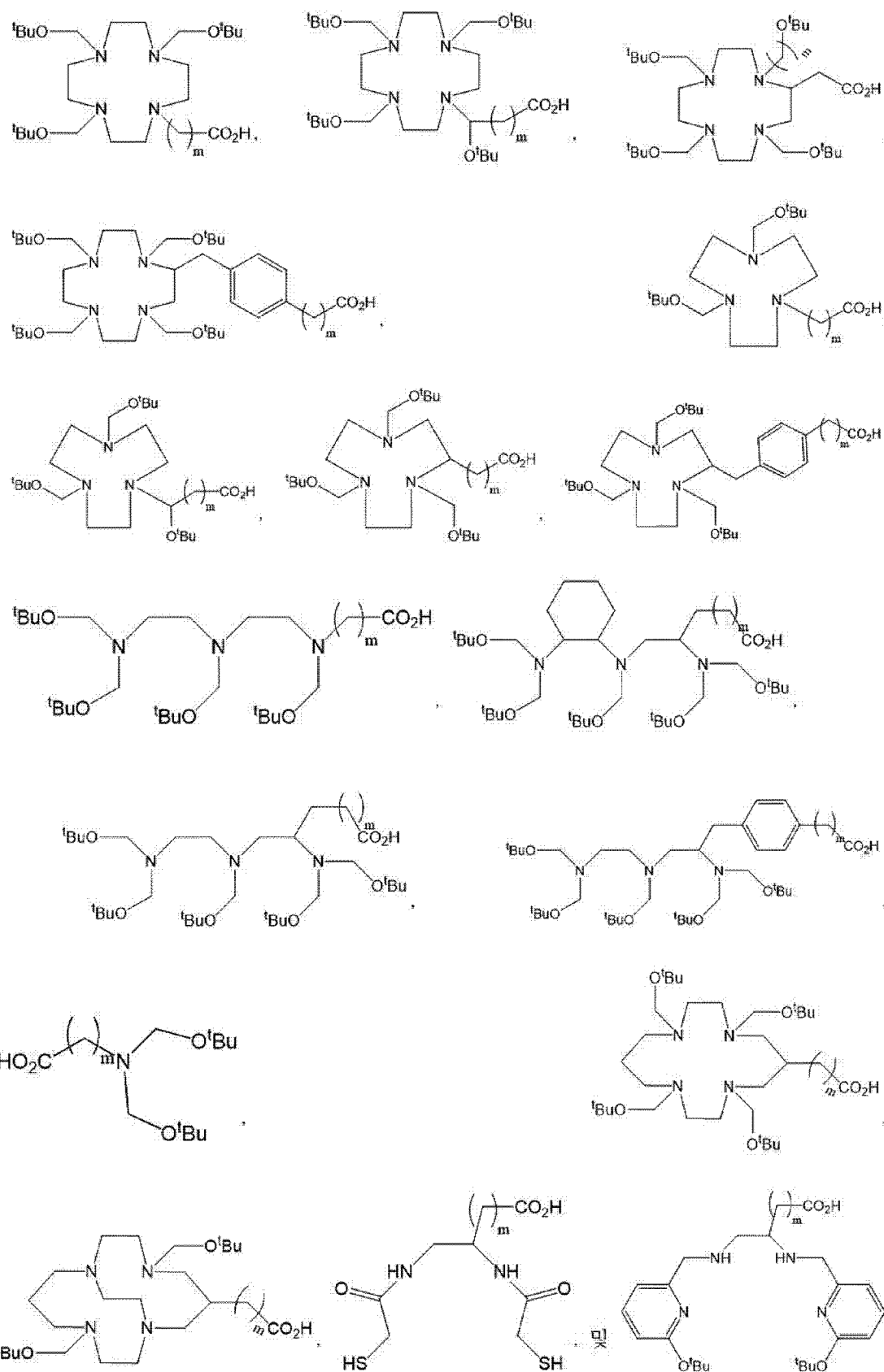
- [119] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에게 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구 복용, 피하 주사, 복강 투여, 정맥 주사, 근육 주사, 척수 주위 공간(경막 내) 주사, 설하 투여, 불점막 투여, 직장 내 삽입, 질 내 삽입, 안구 투여, 귀 투여, 비강 투여, 흡입, 입 또는 코를 통한 분무, 피부 투여, 경피 투여 등에 따라 투여될 수 있다.
- [120] 본 발명의 조성물은 진단할 질환, 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 질환의 중등도 등의 여러 관련 인자와 함께 활성성분인 약물의 종류에 따라 결정된다.
- [121] 주사 가능한 제제, 예를 들어 멸균 주사 수성 현탁액 또는 유질 현탁액이, 적당한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 당업계에 알려진 바와 같이 제제화될 수 있다. 주사용 멸균 제제는 또한, 무독성의 비 경구적으로 허용 가능한 희석제 또는 용매 중 주사용 멸균 용액, 현탁액 또는 에멀전(예를 들어 1,3-부탄디올 중 용액)일 수도 있다. 사용될 수 있는 허용 가능 비이클 및 용매로서는 물, 링거 용액, U.S.P. 및 등장성 염화 나트륨 용액이 있다. 뿐만 아니라, 멸균의 불휘발성 오일은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 이러한 목적으로, 임의의 완하성 지방유, 예를 들어 합성 모노글리세라이드 또는 디글리세라이드가 사용될 수 있다. 뿐만 아니라, 주사액 제조시에는 지방산, 예를 들어 올레산이 사용된다.
- [122] 주사용 제제는, 예를 들어 박테리아 보유 필터(bacteria retaining filter)를 통한 여과에 의하거나, 또는 사용전 멸균수 또는 기타 주사용 멸균 매질 중에 용해 또는 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물의 형태인 멸균제를 혼입함으로써 멸균될 수 있다.
- [123] 본 발명에서 "개체" 또는 "대상체"란 질병의 진단을 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐 (mouse), 쥐 (rat), 개, 고양이, 말, 및 소 등의 포유류를 의미한다.
- [124] 본 발명에서 "투여"란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 조성물을 제공하는 것을 의미한다.
- [125] 본 발명에서 "진단"이란 특정 질병 또는 질환에 대한 한 객체의 감수성(susceptibility)을 판정하는 것, 한 객체가 특정 질병 또는 질환을 현재 가지고 있는지 여부를 판정하는 것, 특정 질병 또는 질환에 걸린 한 객체의 예후(prognosis)(예컨대, 혈전성 질환 또는 혈전성 질환 상태의 동정, 혈전성 질환의 단계 결정 또는 치료에 대한 혈전성 질환의 반응성 결정)를 판정하는 것, 또는 테라메트릭스(therametrics)(예컨대, 치료 효능에 대한 정보를 제공하기 위하여 객체의 상태를 모니터링 하는 것)를 포함한다.
- [126] 본 명세서에서 사용된 용어, "정보제공방법(method for providing information)"이란, 혈전성 질환의 진단에 관한 정보를 제공하는 방법으로서, 혈전의 영상화, 특히 당단백질 IIb/IIIa의 검출을 통해, 혈전성 질환의 발병이나 발병 가능성(위험성)에 대한 정보를 획득하는 방법을 의미한다.
- [127] 본 발명에서 용어 "검출"은 목적하는 물질(본 발명에서의 검출 대상, 당단백질

IIb/IIIa 또는 이를 포함하는 혈전)의 존재(발현) 여부를 측정 및 확인하는 것, 또는 목적하는 물질의 존재 수준(발현 수준)의 변화를 측정 및 확인하는 것을 모두 포함하는 의미이다.

- [128] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 금속성 방사성 동위원소 표지된 방사성 의약품 제조용 키트를 제공한다.
- [129] 본 발명에 있어서, 상기 키트는 시스테인, 비타민 B1, 및 비타민 B6로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [130] 본 발명에 있어서, 상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 키트에 용액상태, 냉장상태, 냉동상태, 및 동결 건조 상태로 이루어진 군으로부터 선택된 상태로 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [131] 본 발명에 있어서, 상기 키트는 HEPES 버퍼, 아세테이트 버퍼, 에탄올, 및 주사용수로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [132] 본 발명에 있어서, 상기 키트는 PS-H+ SPE 카트리지를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [133] 본 발명에 있어서, 상기 키트는 멸균 용기 내에서 불활성 가스 환경 하에서 동결되거나 동결 건조된다. 상기 키트는 임상 병리사 또는 기술자가 사용하기 위한 주사제를 제조하기 위해 완충액 멸균 바이알, 식염수, 주사기, 필터, 칼럼 및 기타 보조 장치를 보충할 수 있다. 상기 키트가 환자 개인적인 필요 또는 식이요법에 따라 변화 및 변형될 뿐 아니라 방사성 동위원소가 제공되거나 얻어질 수 있는 형태에서의 변화도 가능하다는 것은 본 기술 분야의 통상적인 지식을 가진 사람에게 널리 공지되어 있다.
- [134] 본 발명의 진단용 조성물 및 키트 제조에 유용한 완충제로서는, 예를 들어 인산염, 시트르산염, 설포살리실산염 및 아세트산염 완충제를 포함한다. 본 발명의 진단용 조성물과 키트를 제조하는데 유용한 동결 건조 보조제로서는, 예를 들어 만니톨, 락토스, 솔비톨, 덱스트란, 피콜(FICOLL) 중합체 및 폴리비닐피롤리돈(PVP)를 포함한다. 본 발명의 조영제와 키트를 제조하는데 유용한 안정화 보조제로서는, 예를 들어 아스코르브산, 시스테인, 모노티오글리세롤, 중아황산 나트륨, 메타 중아황산 나트륨, 겐티신산 및 이노시톨을 포함한다. 본 발명의 진단용 조성물과 키트를 제조하는데 유용한 가용화 보조제로서는, 예를 들어 에탄올, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 모노올레산 폴리옥시에틸렌 솔비탄, 모노올레산 솔비탄, 폴리솔베이트, 폴리(옥시에틸렌)-폴리(옥시프로필렌)-폴리(옥시에틸렌) 블록 공중합체("플루로닉스(Pluronic)") 및 레시틴을 포함한다. 임의의 구체예에서, 가용화 보조제로서는 폴리에틸렌 글리콜, 시클로덱스트린 및 플루로닉스가 있다. 본 발명의 진단용 조성물과 키트를 제조하는데 유용한 정균제로서는, 예를 들어 벤질 알코올, 염화 벤잘코늄, 클로르부탄올 및 메틸, 프로필 또는 부틸

파라벤을 포함한다.

- [135] 본 발명의 키트 내 성분들을 담는 용기들이 병, 바이알(예를 들어, 격막 포함 바이알), 앰플 또는 주입 팩 등이건 간에, 이 용기들은 부가의 지표, 예를 들어 제제가 고압 멸균되거나 멸균 처리되었을 때 변색되는 통상의 마킹을 포함할 수 있음을 또한 이해할 것이다. 본 발명의 키트는 기타 구성요소, 예를 들어 시린지, 라벨, 바이알, 튜브, 카테터, 바늘 및 포트 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [136] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물을 유효성분으로 포함하는 혈전성 질환의 진단용 약학적 조성물을 제공한다.
- [137] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 상기 혈전 영상화용 조성물을 유효성분으로 포함하는 혈전성 질환의 진단 용도를 제공한다.
- [138] 본 발명에 있어서, 상기 혈전성 질환은 혈전증(thrombosis), 협심증, 심근경색, 동맥경화, 심근 허혈(myocardial ischemia), 고형화 종양(solid tumor) 및 전이암으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [139] 본 발명에 따른 영상화 방법 또는 진단 방법은 본 발명에 따른 상기 혈전 영상화용 조성물을 이용하며, 상기 진단방법은 당업계에 존재하는 공지된 진단방법을 모두 포함한다.
- [140] 또한, 본 발명의 또 다른 양태로서, 본 발명은 하기 화학식 6의 화합물을 HBTU (Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium) 및 HOBt (Hydroxybenzotriazole)의 존재 하에,
- [141]

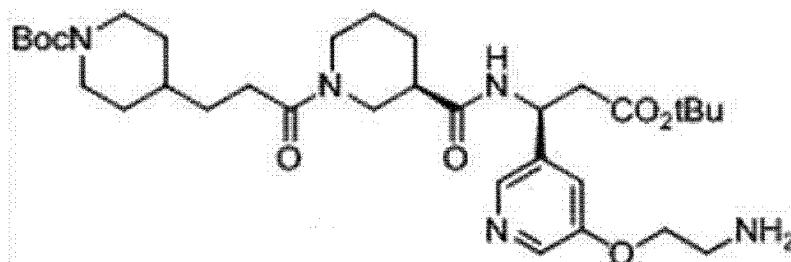


[142]

- [143] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 화합물 (상기 m은 0 내지 3의 정수이다.);
- [144] 과 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[145] [화학식 6]

[146]



[147]

발명의 실시를 위한 형태

- [148] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

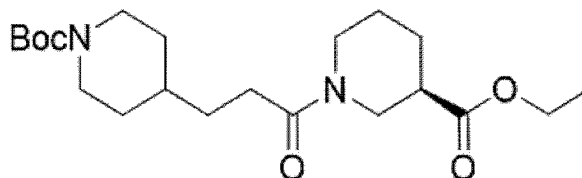
[149]

[150] 실시예 1. 화합물의 합성

[151] 실시예 1-1. *tert*-butyl

(*R*)-4-(3-(3-(ethoxycarbonyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[152]



[153] 아세토니트릴 (Acetonitrile)에 녹인

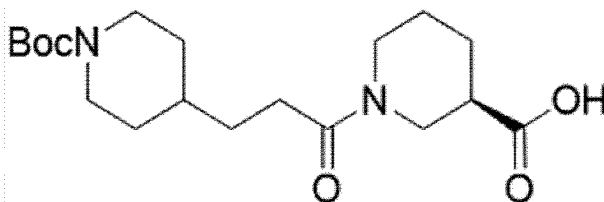
3-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoic acid (1) (367 mg, 2.3 mmol)을 0 °C에서 ethyl (*R*)-piperidine-3-carboxylate (2) (500 mg, 1.9 mmol), HBTU (872 mg, 2.3 mmol), HOBT (311 mg, 2.3 mmol), DIPEA (0.81 mL, 4.6 mmol) 혼합물에 넣은 후 상온에서 반응시켰다. 6시간 후, 100 mL 물과 에틸 아세테이트 (ethyl acetate, EA)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 1M HCl 수용액 (100 mL)과 소금물 (brine, 100 mL) 으로 워싱하고 MgSO₄으로 필터 후 농축하였다. 확보된 잔여물은 실리카 컬럼 (Hexane (Hx):EA=1:1)으로 정제 후 최종화합물 (3)을 수득하였다 (603 mg, 80%).

[154]

[155] 실시예 1-2.

(R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxylic acid의 합성

[156]

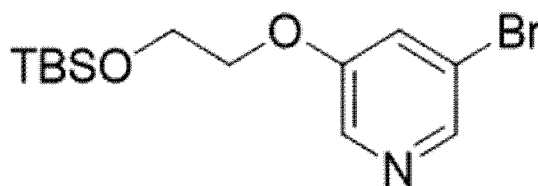


[157] 테트라하이드로퓨란 (THF, 30 mL)에 녹인 화합물 (3) (tert-butyl (R)-4-(3-(3-(ethoxycarbonyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate, 500 mg, 1.26 mmol)을 0 °C에서 5 mL LiOH (36 mg, 1.51mmol) 수화물에 첨가 후 상온에서 3시간 반응시켰다. 반응이 끝난 혼합물에 EA를 첨가하고 4M HCl 수용액을 넣어 pH=4로 최적화하였다. 물과 EA를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO_4 으로 필터 후 농축하였다. 최종화합물 (4)는 흰색 고체로 수득하였다 (350 mg, 75%).

[158]

[159] 실시예 1-3. 3-bromo-5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridine의 합성

[160]



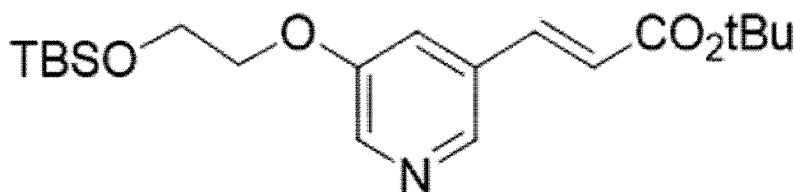
[161] 3-Bromo-5-hydroxypyridine (5) (5.00 g, 28.74 mmol)을 탈기된 DMF (30 mL)에 녹인 용액에 (2-bromoethoxy)(tert butyl)dimethylsilane (7.4 mL, 34.49 mmol)와 K_2CO_3 (7.94 g, 57.5 mmol)의 혼합물을 상온에서 첨가 후, 80 °C의 밀폐된 반응튜브에서 15시간 동안 반응시켰다. 반응 후 농축시킨 반응물은 물 (800 mL)과 EA (400 mL x 3)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO_4 으로 필터 후 농축하였다. 잔여물은 실리카 컬럼 (Hx:EA=5:1)으로 정제하여 아이보리색 고체의 최종 화합물 (6)을 수득하였다 (6.14 g, 64%).

[162]

[163] 실시예 1-4. tert-butyl

(E)-3-(5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)acrylate의 합성

[164]

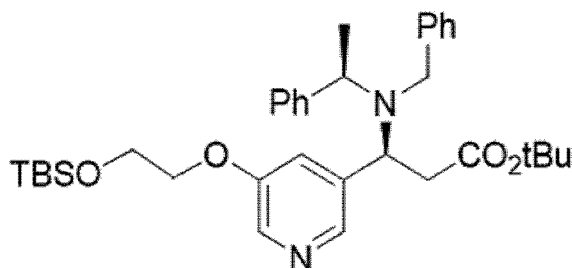


[165] 3-bromo-5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridine (6) (4.00 g, 12.04 mmol)을 탈기된 DMF (30 mL)에 녹인 용액에 tert-butyl acrylate (2.64 mL, 18.05 mmol), K_2CO_3 (3.33g, 24 mmol), phenylurea (32.8 mg, 0.24 mmol), palladium diacetate (134 mg, 0.6 mmol)의 혼합물을 상온에서 첨가 후, 130°C의 밀폐된 반응튜브에서 12시간 동안 반응시켰다. 반응 후 농축시킨 혼합물은 물 (400 mL x 3)과 EA (800 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 $MgSO_4$ 으로 필터 후 농축하였다. 잔여물은 실리카 컬럼 (Hx:EA=5:1)으로 정제하여 아이보리색 고체의 최종 화합물 (7)을 수득하였다 (6.14 g, 64%).

[166]

[167] 실시예 1-5. (S)-tert-Butyl 3-(benzyl((R)-1-phenylethyl)amino)-3-(5-(2-((tert butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)propanoate의 합성

[168]



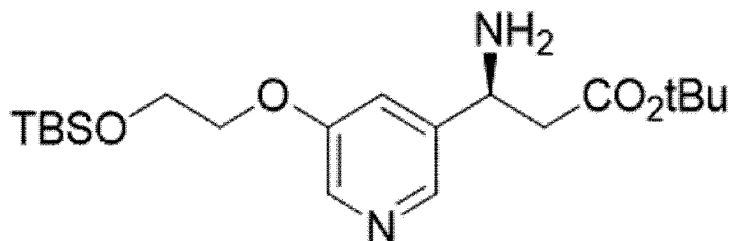
[169] (R)-(+)-N-benzyl-alpha-methylbenzylamine (4.77 mL, 24.45 mmol)을 무수 THF (50 mL)에 녹인 용액에 1.6 M의 n-BuLi/hexane (15.3 mL, 24.45 mmol) 용액을 -78 °C에서 천천히 첨가하고 15분 교반 후, tert-butyl (E)-3-(5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)acrylate (7) (5.6 g, 15.28 mmol)을 anhydrous THF (25 mL)에 녹인 용액을 첨가하고 -78 °C에서 4시간 동안 반응시켰다. NH_4Cl 수용액을 첨가하여 반응을 종료시킨 후 농축한 잔여물을 DCM (1300 mL)과 물 (600 mL)로 분리 · 정제 후 유기층은 $MgSO_4$ 으로 필터 후 농축하였다. 잔여물은 실리카 컬럼 (Hx:EA=10:1)으로 정제하여 갈색 오일 형태의 최종 화합물 (8)을 수득하였다 (3.7 g, 54%).

[170]

[171] 실시예 1-6. tert-butyl

(S)-3-amino-3-(5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)propanoate의 합성

[172]



[173] (S)-tert-Butyl 3-(benzyl((R)-1-phenylethyl)amino)-3-(5-(2-((tert butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)propanoate (8) (3.7 g, 6.36 mmol)을 MeOH (100 mL)에

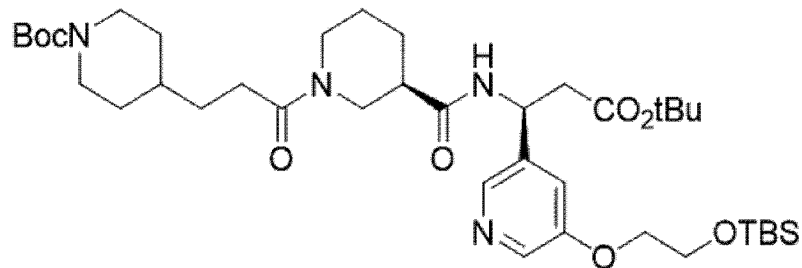
녹인 용액에 20% palladium hydroxide (752 mg, 20 wt%)을 상온의 H₂ (g) 환경에서 첨가 후 72시간 반응시켰다. 반응혼합물은 규조토로 필터 후 농축하였다. 이후, 실리카 컬럼 (Hx:EA=1:1 to DCM:MeOH=6:1 containing 2% TEA)으로 정제하여 갈색 고체의 최종 화합물 (9)을 수득하였다 (1.8 g, 71%).

[174]

[175] 실시예 1-7. **tert-Butyl**

4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[176]



[177] (R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxylic acid (9) (2.34 g, 4.99 mmol)을 DMF (40 mL)에 녹인 용액에 HBTU (1.89 g, 4.99 mmol), TEA (0.7 mL, 4.99 mmol),

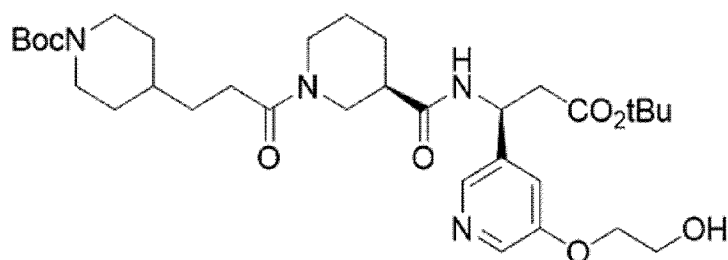
(R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxylic acid(4) (1.8 g, 4.54 mmol)을 상온에서 첨가 후 12시간 반응시켰다. 반응 후 혼합물은 농축하여 물 (300 mL)과 EA (150 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO₄으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (10)을 수득하였다 (1.4 g, 76%).

[178]

[179] 실시예 1-8.

tert-Butyl 4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-hydroxyethoxy)pyridin-3-yl)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[180]



[181] **tert-Butyl 4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-**

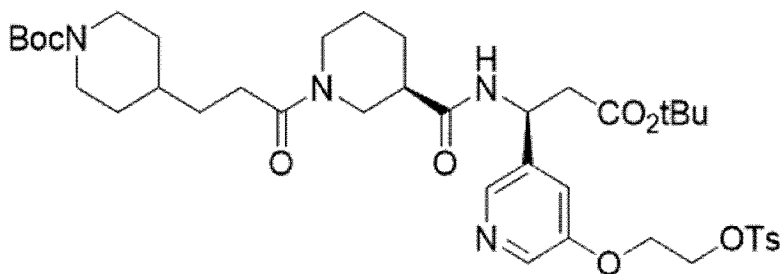
-carboxylate (10) (1.4 g, 1.87 mmol)을 THF (30 mL)에 녹인 용액에 1.0M TBAF/THF 용액 (2.8 mL, 2.80 mmol)을 상온에서 첨가 후 4시간 반응시켰다. 반응 후 혼합물은 농축 후 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (11)을 수득하였다 (1.1 mg, 94%).

[182]

[183] 실시예 1-9. *tert*-Butyl

4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-3-oxo-1-(5-(2-(tosyloxy)ethoxy)pyridin-3-yl)propyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[184]



[185] tert-Butyl 4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-hydroxyethoxy)pyridin

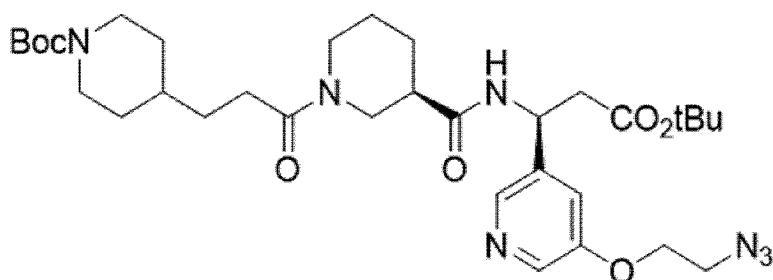
[186] -3-yl)-3 oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (11) (20 mg, 0.03 mmol)을 DCM (1 mL)에 녹인 용액에 TsCl (7.3 mg, 0.04 mmol)와 TEA (6 mg, 0.04 mmol)를 상온에서 첨가 후 12시간 반응시켰다. 반응 후 혼합물은 농축하여 물 (150 mL)과 DCM (300 mL)를 넣어 분리하고, 유기층은 $MgSO_4$ 으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (12)을 수득하였다 (20 mg, 83%).

[187]

[188] 실시예 1-10. *tert*-butyl

4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-azidoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[189]



[190] tert-Butyl

4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-3-oxo-1-(5-(2-(tosyloxy)ethoxy)pyridin-3-yl)propyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (12) (50 mg, 0.06 mmol)을 DMF (0.5 mL)에 녹인 용액에 sodium azide (12 mg, 0.18 mmol, 3.0 eq)를 첨가 후 80°C에서 6시간 반응시켰다. 반응 후 혼합물은 냉각 후 EA로 희석 후 물과 brine으로 정제 후 MgSO_4 으로 필터 후 농축하여 최종화합물 (13)은 노란색

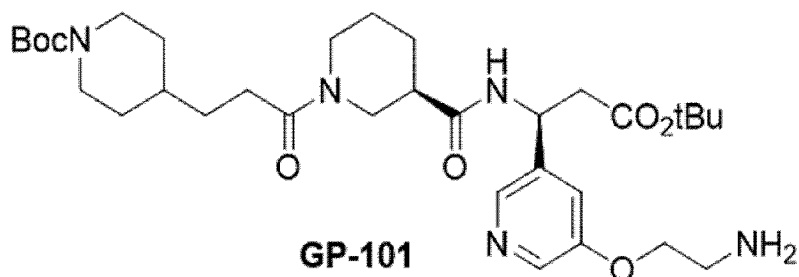
고체 형태로 수득하였다(54 mg, 97%).

[191]

[192] 실시예 1-11. *tert*-butyl

4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-aminoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(*tert*-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (GP-101)의 합성

[193]



[194] (*tert*-butyl

4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-azidoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(*tert*-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (13) (50 mg, 0.08 mmol)을 MeOH (1 mL)에 녹인 용액에 20% palladium hydroxide (752 mg, 20 wt%)을 상온의 H₂ (g) 환경에서 첨가 후 17시간 반응시켰다. 반응혼합물은 규조토(celite)로 필터 후 농축하여 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=6:1 containing 2% TEA)으로 정제하였다. 수득된 무색 오일형태의 최종 화합물을 (42 mg, 84%) ¹H-NMR으로 분석하였다.

[195]

[196] GP-101 화합물의 ¹H-NMR 분석결과는 다음과 같다 : (using pyridine): δ

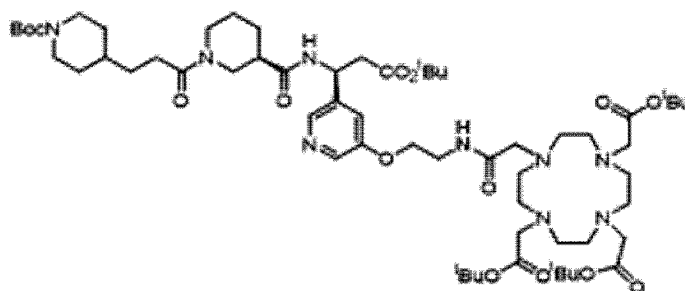
8.21-8.18(m, 2H), 5.38-5.35(m, 1H), 4.14-3.90(m, 2H), 3.58-3.44(m, 2H), 3.10-3.08(m, 1H), 2.78-2.66(m, 5H), 2.42-2.28(m, 3H), 1.91-1.80(m, 2H), 1.70-1.63(m, 3H), 1.61-1.55(m, 2H), 1.44(s, 11H), 1.35(s, 11H), 1.16-1.07(m, 3H), 1.06-0.84(m, 2H)

[197]

[198] 실시예 1-12. *tri-tert*-butyl

2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((S)-3-(*tert*-butoxy)-1-((R)-1-(3-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate의 합성

[199]



[200] (2-(4,7,10-tris(2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)acetic

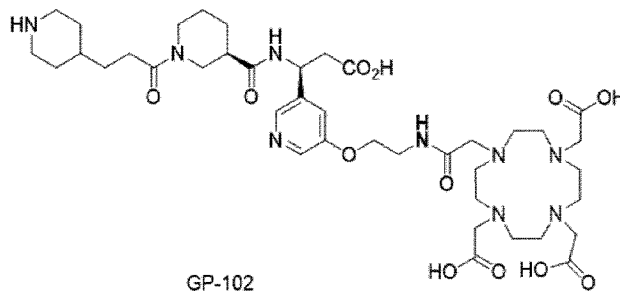
acid (60 mg, 0.10 mmol)을 DMF (1 mL)에 녹인 용액에 *tert*-butyl 4-(3-((*R*)-3-(((*S*)-1-(5-(2-aminoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(*tert*-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (GP-101) (56 mg, 0.08 mmol), HBTU (40 mg, 0.10 mmol) 및 HOBt (14 mg, 0.10 mmol)을 첨가하고, 상온의 N₂(g) 환경에서 TEA (30 μ L, 0.2 mmol)를 첨가하고 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 물 (150 mL)과 EA (300 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO₄으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (14)을 수득하였다 (70 mg, 67%).

[201]

[202] 실시예 1-13.

2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((*S*)-2-carboxy-1-((*R*)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid (GP-102)의 합성

[203]

[204] tri-*tert*-butyl

2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((*S*)-3-(*tert*-butoxy)-1-((*R*)-1-(3-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate (14) (70 mg, 0.059 mmol)을 DCM (1 mL)에 녹인 용액에 3 mL의 4N-HCl/1,4-dioxane을 상온에서 첨가하고, 동일 환경에서 48시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 농축하여 DCM slurry로 정제하여 고체의 최종화합물을 수득하였다 (20 mg, 39%).

[205] 고체의 GP-102 (10 mg)은 ACN/water (25 mL/25 mL)에 녹여 바이알에 0.5 mL씩 100병에 옮겨 -40°C 조건에서 3시간 동안 동결 건조하였다. 그리고 진공을 활성화시킨 후 다시 -40°C 조건에서 1일, 0°C 조건에서 1일, 25°C 조건에서 4시간 동안 동결 건조하였다. 바이알 입구를 고무마개로 막은 후 진공을 해제하고, 한 바이알 당 0.1 mg씩 확보한 건조된 GP-102는 알루미늄마개로 닫은 뒤 -20°C 조건에서 보관하였다 (Mass spectrometry (Agilent 6120. Single quadrupole) [M+Na]⁺ 884.4).

[206]

[207] GP-102의 ¹H-NMR 분석결과는 다음과 같다 : (BRUKER, MeOD, 400MHz NMR): δ 8.58-8.52(m, 2H), 8.32-8.27(m, 1H), 5.44-5.39(m, 1H), 4.41-4.26(m, 4H),

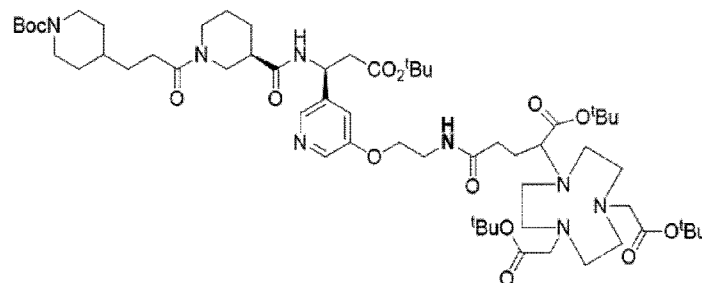
3.95-3.85(m, 4H), 3.85-3.67(m, 6H), 3.67-3.36(m, 11H), 3.20-3.18(m, 4H),
3.05-2.96(m, 7H), 2.83-2.80(m, 2H), 2.61-2.46(m, 3H), 2.04-1.98(m, 3H),
1.73-1.30(m, 10H)

[208]

[209] 실시예 1-14. di-tert-butyl

2,2'-(7-(1-(tert-butoxy)-5-((2-((5-((S)-3-(tert-butoxy)-1-((R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-1,5-dioxopentan-2-yl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetate의 합성

[210]



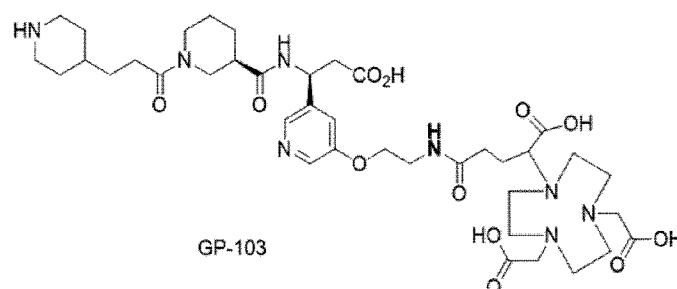
[211] 4-(4,7-bis(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)-1,4,7-triazonane-1-yl)-5-(tert-butoxy)-5-oxopentanoic acid (60mg, 0.10mmol)을 DMF (1 mL)에 녹인 용액에 tert-butyl 4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-aminoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (GP-101) (56 mg, 0.08 mmol), HBTU (40 mg, 0.10 mmol), HOBt (14 mg, 0.10 mmol)을 첨가하고, 상온의 N₂ (g)환경에서 TEA (30 μ L, 0.2 mmol)를 첨가 후 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 물 (150 mL)과 EA (300 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO₄으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (15)을 수득하였다 (70 mg, 67%).

[212]

[213] 실시예 1-15.

2,2'-(7-(1-carboxy-4-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutyl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetic acid (GP-103)의 합성

[214]



[215] di-tert-butyl

2,2'-(7-(1-(tert-butoxy)-5-((2-((5-((S)-3-(tert-butoxy)-1-((R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-1,5-dioxopentan-2-yl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetate (15) (70mg, 0.059mmol)을 DCM (1 mL)에 녹인 용액에 3 mL의 4N-HCl/1,4-dioxane을 상온에서 첨가하고, 동일환경에서 48시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 DCM slurry로 정제하여 고체의 최종화합물을 수득하였다 (20 mg, 39%). 고체의 GP-103 (10 mg)은 ACN/water (25 mL/25 mL)에 녹여 바이알에 0.5 mL씩 100병에 옮겨 -40°C 조건에서 3시간 동안 동결 건조하였다. 그리고 진공을 형성시킨 후 다시 -40°C 조건에서 1일, 0°C 조건에서 1일, 25°C 조건에서 4시간 동안 동결 건조하였다. 바이알 입구를 고무마개로 막은 후 진공을 해제하고, 한 바이알 당 0.1 mg씩 확보한 건조된 GP-103은 알루미늄마개로 닫은 뒤 -20°C 조건에서 보관하였다 (Mass spectrometry (Agilent 6120. Single quadrupole) [M+Na] 833.4

[216]

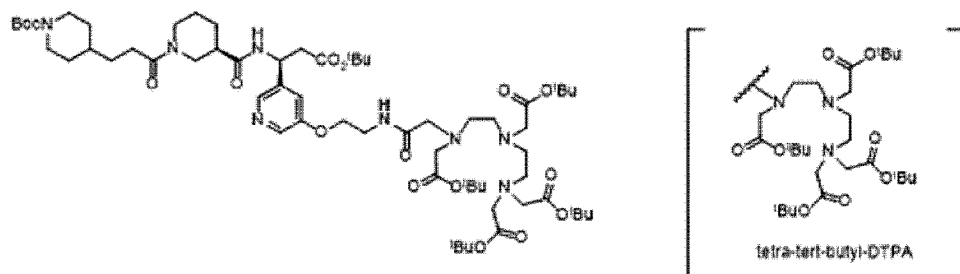
[217] GP-103의 ¹H-NMR 분석결과는 다음과 같다 : (BRUKER, MeOD, 400MHz NMR): δ 8.34-8.33 (m, 2H), 8.04-8.03 (m, 1H), 5.32-5.31 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 4.18-3.98 (m, 1H), 3.75 (s, 4H), 3.64 (s, 2H), 3.57-3.54 (m, 2H), 3.47 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 3.30 (d, J = 12.8 Hz, 2H), 3.14-3.05 (m, 6H), 2.96-2.83 (m, 7H), 2.40-2.34 (m, 4H), 2.11 (s, 5H), 1.90-1.84 (m, 3H), 1.60-1.44 (m, 5H), 1.33-1.26 (m, 2H)

[218]

[219] 실시예 1-16. **tert-butyl**

4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-(2-tetra-tert-butyl-DTPA acetamido)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate의 합성

[220]



[221] 3,6,9-tris(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)-13,13-dimethyl-11-oxo-12-oxa-3,6,9-triazatetra decanoic acid (235 mg, 0.38mmol)을 DMF (1 mL)에 녹인 용액에 **tert-butyl** 4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-aminoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (GP-101) (200 mg, 0.32mmol), HBTU (144mg, 0.38mmol) 및 HOBt (51mg, 0.38mmol)을 첨가하고, 상온의 N₂(g)환경에서 DIPEA (132 μL, 0.76 mmol)를 첨가하고 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 물 (150 mL)과 EA (300 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO₄으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카

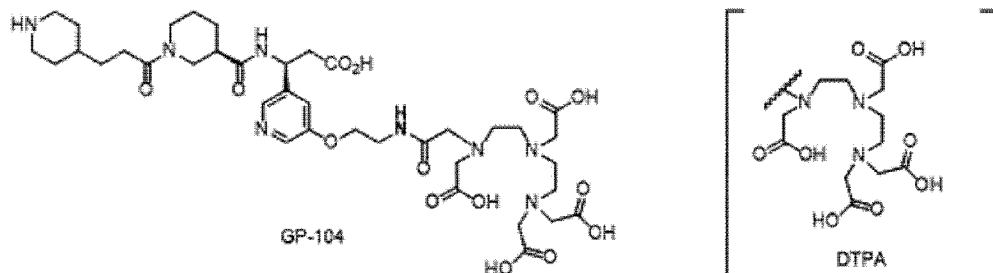
컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (16)을
수득하였다 (236 mg, 60%).

[222]

[223] 실시예 1-17. (S)-3-(5-(2-(2-DTPA

acetamido)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-
3-carboxamido)propanoic acid (GP-104)의 합성

[224]



[225]

tert-butyl 4-(3-((R)-3-(((S)-3-(tert-butoxy)-1-(5-(2-(2-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (16) (210 mg, 0.17mmol) 을 DCM (1 mL)에 녹인 용액에 4 mL의 4N-HCl/1,4-dioxane을 상온에서 첨가하고, 동일 환경에서 48시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 농축하여 DCM slurry로 정제하여 고체의 최종화합물을 수득하였다 (60 mg, 41%). Mass spectrometry (Agilent 6120. Single quadrupole) [M+H] 851.4

[226]

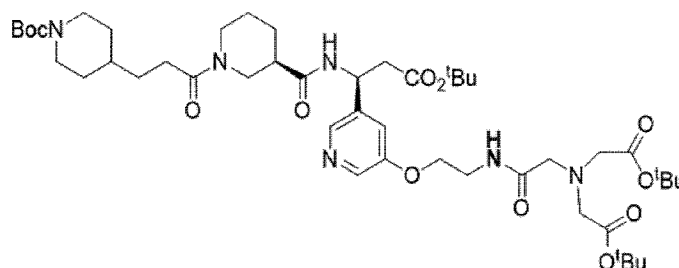
[227] GP-104의 ¹H-NMR 분석결과는 다음과 같다 : (BRUKER, MeOD, 400MHz NMR): δ 8.59-8.53(m, 2H), 8.39-8.35(m, 1H), 5.46-5.41(m, 1H), 4.40-4.34(m, 7H), 4.31-4.23(m, 6H), 3.85-3.79(m, 2H), 3.75-3.68(m, 6H), 3.68-3.58(m, 4H), 3.42-3.35(m, 3H), 3.29-3.19(m, 4H), 3.07-2.96(m, 3H), 2.89-2.88(m, 1H), 2.61-2.46(m, 2H), 2.04-1.97(m, 3H), 1.84-1.50(m, 5H), 1.50-1.30(m, 2H)

[228]

[229] 실시예 1-18. di-tert-butyl

2,2'-((2-((2-((5-((S)-3-(tert-butoxy)-1-((R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate의 합성

[230]



[231] bis(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)glycine (115 mg, 0.38mmol)을 DMF (1 mL)에 녹인

용액에 tert-butyl

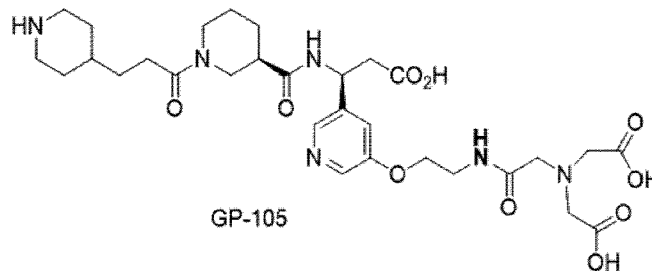
4-(3-((R)-3-(((S)-1-(5-(2-aminoethoxy)pyridin-3-yl)-3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-3-oxopropyl)piperidine-1-carboxylate (GP-101) (200 mg, 0.32 mmol), HBTU (144 mg, 0.38 mmol) and HOBt (51 mg, 0.38 mmol)을 첨가하고, 상온의 N₂(g)환경에서 DIPEA (132 μ L, 0.76 mmol)를 첨가하고 상온에서 4시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 물 (150 mL)과 EA (300 mL)를 넣어 각각 유기층과 물층으로 분리하고, 유기층은 MgSO₄으로 필터 후 농축시켰다. 잔여물은 실리카 컬럼 (DCM:MeOH=20:1)으로 정제하여 고체 형태의 최종화합물 (17)을 수득하였다 (190 mg, 65%).

[232]

[233] 실시예 1-19.

2,2'-((2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetic acid (GP-105)의 합성

[234]



[235] di-tert-butyl

2,2'-((2-((2-((5-((S)-3-(tert-butoxy)-1-((R)-1-(3-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)-3-oxopropyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetate (17) (180 mg, 0.20 mmol)을 DCM (1 mL)에 녹인 용액에 4 mL의 4N-HCl/1,4-dioxane을 상온에서 첨가하고, 동일 환경에서 48시간 반응시켰다. 반응 혼합물은 농축하여 DCM slurry로 정제하여 고체의 최종화합물을 수득하였다 (65 mg, 51%). 반응 혼합물은 농축하여 DCM slurry로 정제하여 고체의 최종화합물을 수득하였다 (20 mg, 39%).

[236] 고체의 GP-105 (50 mg)은 ACN/water (5 mL/5 mL)에 녹여 바이알에 0.5 mL씩 20병에 옮겨 -40°C 조건에서 3시간 동안 동결 건조하였다. 그리고 진공을 활성화시킨 후 다시 -40°C 조건에서 1일, 0°C 조건에서 1일, 25°C 조건에서 4시간 동안 동결 건조하였다. 바이알 입구를 고무마개로 막은 후 진공을 해제하고, 한 바이알 당 2.5 mg씩 확보한 건조된 GP-105는 알루미늄마개로 닫은 뒤 -20°C 조건에서 보관하였다. Mass spectrometry (Agilent 6120. Single quadrupole) [M+H]⁺ 649.3

[237]

[238] GP-105의 ¹H-NMR 분석결과는 다음과 같다 : (BRUKER, MeOD, 400MHz

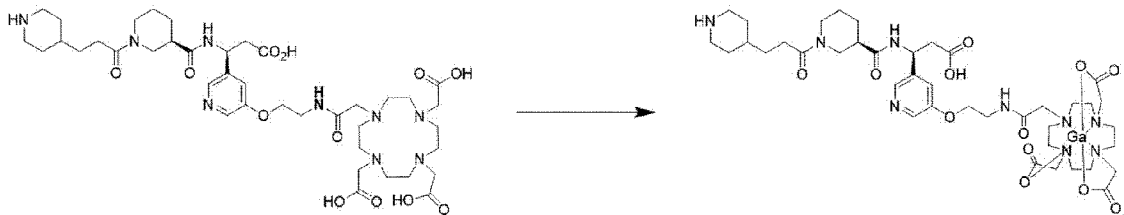
NMR): δ 8.57-8.52(m, 2H), 8.33-8.28(m, 1H), 5.45-5.38(m, 1H), 4.39-4.25(m, 9H), 3.77-3.68(m, 3H), 3.42-3.37(m, 3H), 3.01-2.98(m, 5H), 2.88-2.84(m, 1H), 2.54-2.46(m, 3H), 2.05(s, 1H), 2.04-1.98(m, 3H), 1.72-1.39(m, 9H)

[239]

[240] 실시예 2. 방사성 동위원소의 표지

[241] 실시예 2-1. HEPES 버퍼를 이용한 GP-102의 방사성 동위원소 표지

[242]



[243] 205 MBq의 Ga-68을 포함하는 2 mL의 0.6 N HCl을 아세트산나트륨으로 중화 후, 0.05~0.1 mg의 GP-102 전구체를 1 M HEPES 버퍼 (pH 4)용액에 녹여 혼합하고 100도에서 10분간 반응시켰다. 반응 혼합물을 C18 light Sep-Pak에 trap하여 미반응 Ga-68과 HEPES 버퍼를 주사용수로 제거해 주고 50% 에탄올을 이용하여 용리하여 106~451.77 MBq의 [Ga-68]GP-102를 30.53~51.71%의 수율로 얻었으며, HPLC(분석조건: Luna C18 250x4.6 mm, 0.1% 아세트산 및 3%메탄올 수용액:메탄올(100:0, 0-10 분; 80:20, 10-15 분; 80:20, 29 분; 100:0, 19.1분; 100:0.35분), 1.0 mL/min, UV=254 nm)로 확인한 순도는 91.6% 였다.

[244] 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[245]

[246] 실시예 2-2. 아세테이트 버퍼를 이용한 GP-102의 방사성 동위원소 표지

[247] 207 MBq의 Ga-68을 포함하는 2 mL의 0.6 N HCl을 아세트산나트륨으로 중화 후, 0.05 mg의 GP-102 전구체를 1 M 아세트산나트륨 버퍼 용액에 녹여 혼합하고 100도에서 10분간 반응시켰다. 반응 혼합물의 표지 효율을 HPLC로 55.7% 임을 확인하였으며, 반응 혼합물을 C18 light Sep-Pak에 trap하여 미반응 Ga-68을 주사용수로 제거해 주고 50% 에탄올을 이용하여 용리하여 58 MBq의 [Ga-68]GP-102를 28%의 수율로 얻었으며 실시예 2-1과 동일한 방법의 HPLC로 확인한 순도는 90.6% 였다.

[248] 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[249]

[250] 실시예 2-3. 아세테이트 버퍼 키트를 이용한 GP-102의 방사성 동위원소 표지

[251] Ga-68을 chromafix (PS-H+) 카트리지를 이용하여 정제하여 사용하였으며, 정제 후, 132 MBq의 Ga-68을 포함하는 NaCl 용액에 0.05 mg의 GP-102 전구체를 1 M 아세트산나트륨 버퍼 용액에 녹여 혼합하고 100도에서 10분간 반응시켰다. 반응 혼합물의 표지 효율을 HPLC로 90.1% 임을 확인하였으며, 반응 혼합물은 SPE

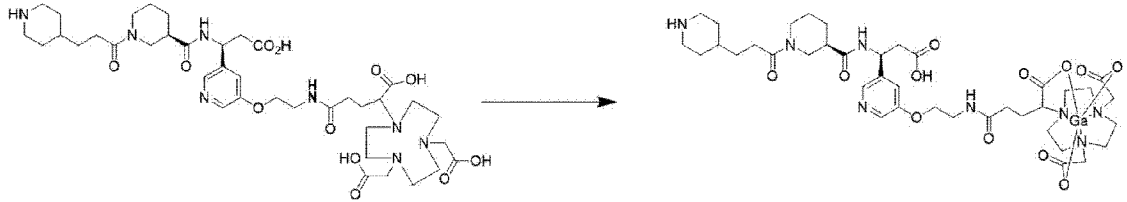
정제 없이 92 MBq의 [Ga-68]GP-102를 69.7%의 고수율로 얻었으며 실시예 2-1과 동일한 방법의 HPLC로 확인한 순도는 96.9% 였다.

[252] 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[253]

[254] 실시예 2-4. HEPES 버퍼를 이용한 GP-103의 방사성 동위원소 표지

[255]



[256] 194 MBq의 Ga-68을 포함하는 2 mL의 0.6 N HCl을 아세트산나트륨으로 중화 후, 0.05 mg의 GP-103 전구체를 1 M HEPES 버퍼 (pH 4)용액에 녹여 혼합하고 상온에서 10분간 방치하였다. 반응 혼합물을 C18 light Sep-Pak에 trap하여 미반응 Ga-68과 HEPES 버퍼를 주사용수로 제거해 주고 50% 에탄올을 이용하여 용리하여 154 MBq의 [Ga-68]GP-103를 79.71%의 수율로 얻었으며 실시예 2-1과 동일한 방법의 HPLC로 확인한 순도는 97.2% 였다.

[257] 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[258]

[259] 실시예 2-5. 아세테이트 버퍼를 이용한 GP-103의 방사성 동위원소 표지

[260] 184 MBq의 Ga-68을 포함하는 2 mL의 0.6 N HCl을 0.05 mg의 GP-103 전구체가 녹여져 있는 4.4 M 아세트산나트륨 버퍼 용액에 혼합하고 상온에서 10분간 방치하였다. 반응 혼합물을 C18 light Sep-Pak에 trap하여 미반응 Ga-68과 HEPES 버퍼를 주사용수로 제거해 주고 50% 에탄올을 이용하여 용리하여 115 MBq의 [Ga-68]GP-103를 62.9%의 수율로 얻었으며 실시예 2-1과 동일한 방법의 HPLC로 확인한 순도는 92.9% 였다.

[261] 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[262]

[263] 실시예 2-6. 아세테이트 버퍼 키트를 이용한 GP-103의 방사성 동위원소 표지

[264] 202 MBq의 Ga-68을 포함하는 2 mL의 0.6 N HCl을 0.05 mg의 GP-103 전구체가 녹여져 있는 1 M 아세트산나트륨 버퍼 용액에 혼합하고 상온에서 10분간 방치하였다. 반응 혼합물의 표지효율을 HPLC로 93.2% 임을 확인하였으며, 180 MBq의 [Ga-68]GP-103를 96.7%의 고수율로 얻었으며 실시예 2-1과 동일한 방법의 HPLC로 확인한 순도는 95.7% 였다.

[265] 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[266]

[267] 실시예 2-7. 시스테인을 포함하는 동결건조 제형을 이용한 ^{99m}Tc 표지 GP-104의

동결 건조 제형 제조

[268] GP-104 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , 및 cysteine 10 μg 을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 HPLC(분석조건: Luna C18 250x4.6 mm, 인산완충액:아세트니트릴(100:0, 0-5 분; 80:20, 5-10 분; 80:20, 17 분; 100:0, 17.1분; 100:0. 20분), 1.0 mL/min, UV=280 nm)를 이용하여 93.21%로 확인하였다.

[269] 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[270]

[271] 실시예 2-8. 시스테인을 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-104의 합성

[272] GP-104 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , 및 cysteine 20 μg (165 nmol) 을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[273]

[274] 실시예 2-9. 시스테인 및 비타민B1를 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-104의 합성

[275] GP-104 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , cysteine 10 μg (82.5 nmol) 및 VB1 22 μg (82.5 nmol)을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[276]

[277] 실시예 2-10. 시스테인 및 비타민B6를 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-104의 합성

[278] GP-104 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , cysteine 10 μg (82.5 nmol) 및 VB6 17 μg (82.5 nmol)을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[279]

[280] 실시예 2-11. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-105의 동결 건조 제형 제조

[281] GP-105 0.1 mg, SnCl_2 15 μg 을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 및 cysteine 10 μg 을 포함하는 안정액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 97.46%로 확인하였다.

[282] 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[283]

[284] 실시예 2-12. 시스테인을 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-105의 합성

- [285] GP-105 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , 및 cysteine 20 μg (165 nmol) 을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.
- [286]
- [287] 실시예 2-13. 시스테인 및 비타민B1를 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-105의 합성
- [288] GP-105 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , cysteine 10 μg (82.5 nmol) 및 VB1 22 μg (82.5 nmol)을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.
- [289]
- [290] 실시예 2-14. 시스테인 및 비타민B6를 포함하는 동결건조 제형을 이용한 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-105의 합성
- [291] GP-105 0.1 mg, SnCl_2 15 μg , cysteine 10 μg (82.5 nmol) 및 VB6 17 μg (82.5 nmol)을 포함하는 동결 건조 바이알에 Tc-99m을 2 mL 적가하여 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.
- [292]
- [293] 실시예 3. GP-104의 안정성 확인
- [294] 실시예 3-1. GP-104의 안정성 확인
- [295] GP-104 2.0 mg을 주사용수 1.8 mL와 에탄올 0.2 mL에 녹인 후, SnCl_2 (15 mg/mL) 20 μL 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 5 정도에서 상온에서 10분간 방치하고, NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. pH 5 및 pH 7의 조건에서 각각 4시간까지의 안정성을 radioTLC로 확인하였으며 그 결과는 아래의 표 1에 정리하였다. (TLC 분석 조건: iTLC를 사용하였으며 전개액 A: 메틸에틸케톤 100%, 전개액 B: 피리딘:아세트산:증류수=3:5:15, 순도계산: 전개액 A - 전개액 B)
- [296] 표 1에 나타난 바와 같이, pH 5에서는 0.5시간까지 순도가 90% 유지가 되었으며 pH 7에서는 반응 직후에만 90% 순도를 유지함을 확인하였다.
- [297]

[표1]

	pH 5			pH 7		
	전개액 A	전개액 B	순도	전개액 A	전개액 B	순도
0 시간	95.7	5.42	90.28	98.26	7.67	90.59
0.5 시간	95.42	4.06	91.36	92.82	14.78	78.04
1.0 시간	98.43	16.15	82.28	94.51	16.2	78.31
1.5 시간	85.7	12.91	72.79	96.11	13.41	82.7
2.0 시간	91.79	21.68	70.11	96.22	19.61	76.61
3.0 시간	91.64	23.93	67.71	87.58	9.65	77.93
4.0 시간	80.48	24.55	55.93	73.22	19.08	54.14

[298]

[299] 실시예 3-2. 시스테인 첨가 시 **GP-104**의 안정성 확인

[300] GP-104 2.0 mg을 주사용수 1.8 mL와 에탄올 0.2 mL에 녹인 후, SnCl_2 (15 mg/mL) 20 μL , cysteine (10 mg/mL) 20 μL 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 5정도가 되도록 하고 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. pH 5 및 pH 7의 조건에서 각각 4시간까지의 안정성을 radioTLC로 확인하였으며 그 결과는 아래의 표 2에 정리하였다. (TLC 분석 조건: iTLC를 사용하였으며 전개액 A: 메틸에틸케톤 100%, 전개액 B: 피리딘:아세트산:중류수=3:5:15, 순도계산: 전개액 A - 전개액 B)

[301] 표 2에 나타난 바와 같이, 시스테인 첨가시 pH 7에서, [Tc-99m]GP-104의 순도가 4시간 후에도 90% 이상으로, 높게 유지되었는 바, 시스테인 첨가시 pH 7에서만 4시간 후에도 안정한 상태로 유지됨을 확인하였다.

[302] [표2]

	cysteine, pH 5			cysteine, pH 7		
	전개액 A	전개액 B	순도	전개액 A	전개액 B	순도
0 시간	89.51	3.54	85.97	100	3.06	96.94
0.5 시간	93.51	5.62	87.89	98.3	4.94	93.36
1.0 시간	93.61	3.22	90.39	98.27	1.92	96.35
1.5 시간	95.55	2.08	93.47	100	2.31	97.69
2.0 시간	91.17	8.2	82.97	100	2.88	97.12
3.0 시간	89.61	3.55	86.06	100	5.86	94.14
4.0 시간	91.99	4.43	87.56	100	4.24	95.76

[303]

[304] 실시예 3-3. 시스테인 처리 시기에 따른 GP-104 0.1 mg의 안정성 확인

[305] 반응 후 시스테인 첨가의 효과를 확인하기 위하여, 다음과 같이 실험을 수행하였다: GP-104 0.1 mg을 주사용수에 녹이고, SnCl_2 (1.5 mg/mL) 10 μL , 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 3.5 정도가 되도록 하고 상온에서 10분 동안 방치하였다. NaOH 용액 및 cysteine (1.0 mg/mL) 10 μL 를 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 91.4%로 확인하였다.

[306]

[307] 반응 전 시스테인 첨가의 효과를 확인하기 위하여, 다음과 같이 실험을 수행하였다:

[308] GP-104 0.1 mg을 주사용수에 녹이고, SnCl_2 (1.5 mg/mL) 10 μL , cysteine (1.0 mg/mL) 10 μL 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 3.5 정도가 되도록 하고 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 94.84%로 확인하였다.

[309] 그 결과를, 표 3 및 도 7에 나타내었다.

[310] 표 3에 나타난 바와 같이, 시스테인 첨가 시기에 관계없이 pH 7에서, [Tc-99m]GP-104의 순도가 4시간 후에도 90% 이상으로, 높게 유지되었는 바, pH를 조절하였을 때 시스테인 첨가하는 것만으로도 [Tc-99m]GP-104가 안정한 상태로 유지됨을 확인하였다.

[311] [표3]

	반응 후 cysteine 첨가		반응 전 cysteine 첨가	
	pH 3	pH 7	pH 3	pH 7
0 시간	82.63	91.4	95.6	94.84
1 시간	70.01	91.42	92.7	94.43
2 시간	52.58	91.1	84.17	97.66
3 시간	42.46	90.3	76.77	98.53
4 시간	30.38	90.19	69.34	97.75

[312]

[313] 실시예 3-4. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 표지 GP-104의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 확인

[314] 실시예 2-8의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성 (pH 5.5) 및 염기성 (pH 8.5) 조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[315] 표 4에 나타난 바와 같이, 165 nmol의 cysteine을 포함하는 용액에서 산성,

염기성, 중성 조건 중 중성 조건에서만 [Tc-99m]GP-104가 4시간 후에도 90% 이상 순도를 나타내었으며, 산성 조건에서는 2시간 이후 순도가 90% 이하로 감소하였으며 특히 염기성 조건에서는 2시간 까지도 90% 순도를 유지할 수 없음을 확인하여 시스테인으로는 중성에서만 안정한 상태로 유지됨을 확인하였다.

[316] [표4]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	95.26	95.26	95.26
2 hr	91.45	91.19	79.83
4 hr	89.28	91.61	51.77

[317]

[318] 실시예 3-5. ^{99m}Tc 표지 GP-104의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 평가

[319] 실시예 2-9의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성(pH 5.5) 및 염기성(pH 8.5)조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[320] 표 5에서 나타난 바와 같이, 실시예 2-7의 절반에 해당하는 cysteine과 동일 물수의 VB1을 포함하는 용액에서는 pH 7에서는 4시간까지 방사화학적 순도를 98% 이상으로 고순도를 유지할 수 있었으며 산성조건에서도 4시간째까지 90% 이상의 방사화학적 순도를 보였고, 염기성 조건에서도 4시간째까지 80% 이상의 방사화학적 순도를 보임을 확인하였는 바, 시스테인과 VB1을 포함하는 조건에서 [Tc-99m]GP-104가 더 안정됨을 확인하였다.

[321] [표5]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	100	100	100
2 hr	92.72	98.63	83.08
4 hr	91.20	98.18	80.97

[322]

[323] 실시예 3-6. ^{99m}Tc 표지 GP-104의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 평가

[324] 실시예 2-10의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성(pH 5.5) 및 염기성(pH 8.5)조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[325]

[표6]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	97.24	97.24	97.24
2 hr	90.29	95.61	95.61
4 hr	90.65	96.25	91.19

[326]

[327] 표 6에 나타난 바와 같이, 실시예 2-7과 2-8의 절반에 해당하는 cysteine과 동일 물수의 VB6을 포함하는 용액에서는 pH 7에서는 4시간까지 방사화학적 순도를 96% 이상으로 가장 고순도를 유지할 수 있었으며, 산성조건 및 염기성 조건에서도 4시간째까지 90% 이상의 방사화학적 순도를 보임을 확인하였다.

[328]

[329] **실시예 4. GP-105의 안정성 확인**

[330] **실시예 4-1. GP-105의 안정성 확인**

[331] GP-105 2.0 mg을 주사용수 1.8 mL와 에탄올 0.2 mL에 녹인 후, SnCl_2 (15 mg/mL) 20 μL 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 5정도가 되도록 하고 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. pH 5 및 pH 7의 조건에서 각각 4시간까지의 안정성을 radioTLC로 확인하였다. (TLC 분석 조건: iTLC를 사용하였으며 전개액 A: 메틸에틸케톤 100%, 전개액 B: 피리딘:아세트산:증류수=3:5:15, 순도계산: 전개액 A - 전개액 B)

[332] 표 7에 나타난 바와 같이, pH 5 및 pH 7에서 [Tc-99m]GP-105의 최대 순도가 82.93%이고 시간이 지나면서 순도가 감소함을 확인하였다.

[333] [표7]

	pH 5			pH 7		
	전개액 A	전개액 B	순도	전개액 A	전개액 B	순도
0 시간	100	17.07	82.93	100	17.07	82.93
0.5 시간	95.67	23.14	72.53	90.76	25.13	65.63
1.0 시간	97.07	23.94	73.13	85.38	25.01	60.37
1.5 시간	94.54	23.31	71.23	95.97	37.24	58.73
2.0 시간	93.25	32.44	60.81	96.17	41.87	54.3
3.0 시간	80.67	19.68	60.99	94	39.88	54.12
4.0 시간	82.64	25.53	57.11	85.5	45.33	40.17

[334]

[335] **실시예 4-2. 시스테인 첨가 시 GP-105 2 mg의 안정성 확인**

- [336] GP-105 2.0 mg을 주사용수 1.8 mL와 에탄올 0.2 mL에 녹인 후, SnCl_2 (15 mg/mL) 20 μL , cysteine (10 mg/mL) 20 μL 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 5 정도가 되도록 하고 상온에서 10분 방치하고 NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. pH 5 및 pH 7의 조건에서 각각 4시간까지의 안정성을 radioTLC로 확인하였다. (TLC 분석 조건: iTLC를 사용하였으며 전개액 A: 메틸에틸케톤 100%, 전개액 B: 피리딘:아세트산:증류수=3:5:15, 순도계산: 전개액 A - 전개액 B)
- [337] 표 8에 나타난 바와 같이, 시스테인 첨가시, pH 5에서 [Tc-99m]GP-105의 순도가 70% 이상으로 유지되며 특히 pH 7에서 순도가 90% 이상으로 유지됨을 확인하였으며, 이는 시스테인의 첨가로 보다 안정됨을 나타내는 것이다.
- [338] [표8]

	cysteine, pH 5			cysteine, pH 7		
	전개액 A	전개액 B	순도	전개액 A	전개액 B	순도
0 시간	100	17.07	82.93	100	9.62	90.38
0.5 시간	100	7.63	92.37	98.65	6.37	92.28
1.0 시간	89.07	12.82	76.25	98.4	13.21	85.19
1.5 시간	100	12.26	87.74	97.22	5.59	91.63
2.0 시간	57.3	18.66	38.64	95.62	6.23	89.39
3.0 시간	97.4	19.8	77.6	100	9.91	90.09
4.0 시간	98.31	21.8	76.51	100	3.21	96.79

- [339]
- [340] 실시예 4-3. NaOH 처리 방법에 따른 GP-105 0.1 mg의 안정성 확인
- [341] GP-105 0.1 mg을 주사용수에 녹이고, SnCl_2 (1.5 mg/mL) 10 μL , 및 Tc-99m을 2 mL 추가하였을 때, pH가 3.5정도가 되도록 하고 상온에서 10분 방치하였다. NaOH 용액 및 cysteine (1.0 mg/mL) 10 μL 를 이용하여 pH 7로 맞춰 반응을 종결하였다. 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 98.1%로 확인하였다.
- [342] 표 9에 나타난 바와 같이, 반응 후 시스테인을 첨가하였을 때, NaOH를 별도로 첨가한 경우보다, NaOH를 시스테인과 혼합하여 첨가한 경우에 [Tc-99m]GP-105의 방사화학적 순도가 향상됨을 확인하였다.
- [343]

[표9]

	반응 후 cysteine 첨가	
	NaOH 별도	NaOH 혼합
0 시간	99.39	98.06
1 시간	99.04	95.17
2 시간	97.02	94.14
3 시간	91.14	91.91
4 시간	66.87	89.00

[344]

[345] 실시예 4-4. ^{99m}Tc 표지 GP-105의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 평가

[346] 실시예 2-12의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성(pH 5.5) 및 염기성(pH 8.5)조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[347] 표 10에 나타난 바와 같이, 165 nmol의 cysteine을 포함하는 용액에서는 pH 7에서는 2시간까지 방사화학적 순도를 90% 이상 유지할 수 있었으며 산성조건에서도 4시간까지 80% 이상의 방사화학적 순도를 보임을 확인하였다.

[348] [표10]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	100	100	100
2 hr	85.49	94.88	50.64
4 hr	82.11	85.55	23.98

[349]

[350] 실시예 4-5. ^{99m}Tc 표지 GP-105의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 평가

[351] 실시예 2-13의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성(pH 5.5) 및 염기성(pH 8.5)조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[352] 표 11에 나타난 바와 같이, 실시예 2-10의 절반에 해당하는 cysteine과 동일 물수의 VB1을 포함하는 용액에서는 pH 7에서는 4시간까지 방사화학적 순도를 94% 이상의 순도를 유지할 수 있었으며 산성조건에서도 4시간째까지 98% 이상의 높은 방사화학적 순도를 보였으며, 염기성조건에서도 4시간째까지 90% 이상의 방사화학적 순도를 보임을 확인하였는 바, 시스테인과 VB1을 포함하는 조건에서 GP-105가 보다 안정됨을 확인하였다.

[353]

[표11]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	100	100	100
2 hr	100	100	94.13
4 hr	98.63	94.88	90.17

[354]

[355] 실시예 4-6. ^{99m}Tc 표지 GP-104의 산성, 염기성 조건에서의 안정성 평가

[356] 실시예 2-14의 용액에 HCl과 NaOH를 추가로 적가하여 용액의 최종 pH를 산성(pH 5.5) 및 염기성(pH 8.5)조건에서 안정성 평가를 수행하였으며 표지 순도는 실시예 2-7과 동일한 방법의 HPLC를 이용하여 확인하였다.

[357] 표 12에 나타난 바와 같이, 실시예 2-10의 절반에 해당하는 cysteine과 동일 물수의 VB6을 포함하는 용액에서는 pH 7에서는 4시간까지 방사화학적 순도를 98% 이상으로 고순도를 유지할 수 있었으며 산성조건 에서도 4시간까지 95% 이상의 순도를 유지하였고, 염기성조건에서도 4시간째 90% 정도의 방사화학적 순도를 나타내었다.

[358] [표12]

	pH 5.5	pH 7	pH 8.5
0 hr	100	100	100
2 hr	97.24	98.56	92.21
4 hr	95.61	98.2	89.62

[359]

[360] 실시예 5. 조영효과 확인

[361] 실시예 5-1. 혈전 질환 모델의 제작

[362] 혈전질환 모델을 만들기 위해 랫트 6주령을 마취 후, 경동맥(carotid artery) 쪽 피부를 오픈하여 경동맥을 확보하였다. 그리고나서, 5% 염화철 용액이 적셔진 필터 페이퍼를 동맥 위에 노출시킨 후 생리식염수로 3회 이상 씻어주고 절개했던 피부를 다시 봉합하여 모델을 만들었다.

[363] 그 결과, 도 11의 좌측도에 나타난 바와 같이, MR을 통하여 질환 부위인 오른쪽 동맥에 혈전이 잘 생성됨을 확인하였다.

[364] 또한, 구축된 랫트 혈전 모델에서 PET/SPECT 영상 실험 후, 해당 혈전부위 및 반대 쪽 건강한 혈관부위를 대조군으로 함께 샘플링하였고 조직을 고정한 후 파라핀 블럭을 제작하였다. 조직면역화학염색을 위해 4 μm 두께의 절편을 제작한 후, 단계별 탈파라핀 과정, citrate buffer (pH 9.0)를 이용한 항원성의 부활 과정, 및 과산화수소로 내인성 활성물질의 활성을 억제시키는 과정을 거쳤다. 이후 CD41 일차항체 (24552-1-AP, Proteintech)는 4°C에서 12시간 이상, 이차항체

(REALTM EnVision Detection System, DAKO)는 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 DAB (Dako)으로 발색시켰다. 염색된 조직은 Vectra (Perkinelmer) 현미경을 통해 확인하였다.

[365] 그 결과, 도 11의 우측도에 나타난 바와 같이, 현미경을 통해 해당 혈전 부위에 당단백질 IIb/IIIa가 과발현됨을 확인하였다.

[366]

[367] 실시예 5-2. GP-102의 질환모델에서 당단백질 IIb/IIIa 특이적 섭취 평가

[368] 실시예 5-1에서 당단백질 IIb/IIIa가 과발현된 혈전이 형성된 질환모델을 이용하여 [Ga-68]GP-102가 해당 질환에 특이적인 섭취를 보임을 microPET/MR 장비를 통하여 확인하였으며 모델 확립 이후 1일차와 3일차에 영상을 획득하였다.

[369] 도 12에 나타난 바와 같이, 정량분석을 통하여 왼쪽과 오른쪽의 SUV mean의 max 값은 day 1에서 각각 0.7과 2.1로 target to non target 비율은 3.0이었으며 day 3에서는 SUVmean의 max 값이 0.6과 2.0으로 target to non target 비율은 3.3이었던 바, 질환모델의 [Ga-68]GP-102에 대한 높은 특이적 섭취를 확인하였다.

[370]

[371] 실시예 5-3. GP-102의 정상모델에서 빠른 배후 방사능 배출 평가

[372] 정상 쥐를 이용하여 [Ga-68]GP-102의 생체내 분포 및 배후방사능 배출정도를 평가하였다.

[373] 그 결과, 도 13 및 도 14에 나타난 바와 같이, 정맥 투여 후 체내 주요 장기에서 [Ga-68]GP-102가 빠르게 섭취되고, 신장/요로계 배설경로를 통해 빠르게 배출되었음을 확인하였다.

[374] 따라서, [Ga-68]GP-102를 이용하여 전신에 분포하는 활성 혈전의 영상화가 가능함을 확인할 수 있었다.

[375]

[376] 실시예 5-4. GP-103의 질환모델에서 당단백질 IIb/IIIa에 특이적 섭취 평가

[377] 실시예 5-1에서 당단백질 IIb/IIIa가 과발현된 혈전이 형성된 질환모델을 이용하여 [Ga-68]GP-103이 해당 질환에 특이적인 섭취를 보임을 microPET/MR 장비를 통하여 확인하였고, 모델 확립 이후 1일차와 3일차에 획득한 영상은 도 15에 나타내었다.

[378] 도 15에 나타난 바와 같이, 정량분석을 통하여 왼쪽과 오른쪽 artery의 SUVmean의 max 값은 day 1에서 각각 0.8과 2.1로 target to non target 비율은 2.6이었으며 day 3에서는 SUVmean의 max 값이 0.6과 1.9으로 target to non target 비율은 3.1이었던 바, 질환모델의 [Ga-68]GP-103에 대한 높은 특이적 섭취를 확인하였다.

[379]

[380] 실시예 5-5. GP-103의 정상모델에서 빠른 배후 방사능 배출 평가

[381] 정상 쥐를 이용하여 [Ga-68]GP-103의 생체내 분포 및 배후방사능 배출정도를

평가하였다.

[382] 그 결과, 도 16 및 도 17에 나타난 바와 같이, 정맥 투여 후 체내 주요 장기에서 [Ga-68]GP-103가 빠르게 섭취되고 제거되며, 신장/요로계 배설경로를 통해 빠르게 배출되었음을 확인하였다.

[383] 따라서, [Ga-68]GP-103를 이용하여 전신에 분포하는 활성 혈전의 영상화가 가능함을 확인할 수 있었다.

[384]

[385] 실시예 5-6. GP-104의 질환모델에서 당단백질 IIb/IIIa에 특이적 섭취 평가

[386] 실시예 5-1에서 당단백질 IIb/IIIa가 과발현된 혈전이 형성된 질환모델을 이용하여 [Tc-99m]GP-104가 해당 질환에 특이적인 섭취를 보임을 2시간째 렛트를 희생하여 감마카운터 값으로 방사능 값을 측정하였다. microSPECT 장비를 통하여 4시간까지 1시간 간격으로 확인하였다.

[387] 도 18에 나타난 바와 같이, 왼쪽과 오른쪽 동맥의 CPM(counts per minute)/g 값이 각각 1.3과 2.5로 target to non target 비율은 2.0으로 나타났는 바, [Tc-99m]GP-104의 높은 특이적 섭취를 확인하였으며, 따라서 [Tc-99m]GP-104가 빠른 배후 방사능 배출 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

[388]

[389] 실시예 5-7. GP-105의 질환모델에서 당단백질 IIb/IIIa에 특이적 섭취 평가

[390] 실시예 5-1에서 당단백질 IIb/IIIa가 과발현된 혈전이 형성된 질환모델을 이용하여 [Tc-99m]GP-105가 해당 질환에 특이적인 섭취를 보임을 2시간째 렛트를 희생하여 감마카운터 값으로 방사능 값을 측정하였다. microSPECT 장비를 통하여 4시간까지 1시간 간격으로 확인하였다.

[391] 그 결과, 도 19에 나타난 바와 같이, 왼쪽과 오른쪽 동맥의 CPM(counts per minute) /g 값이 각각 23.5과 63.9로 target to non target 비율은 2.7로 나타났는바, [Tc-99m]GP-105의 높은 특이적 섭취를 확인하였으며, 따라서 [Tc-99m]GP-105가 빠른 배후 방사능 배출 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

[392]

[393] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

[394]

산업상 이용가능성

[395] 본 발명의 방사성 의약품은 금속성 동위원소가 표지된 방사성 추적자로서 당단백질 IIb/IIIa에 고친화적으로 결합하고, 빠른 배후방사능 감소의 특성으로 PET 또는 SPECT 영상기법을 통하여 비침습적 영상화 방법으로 혈전을 영상화

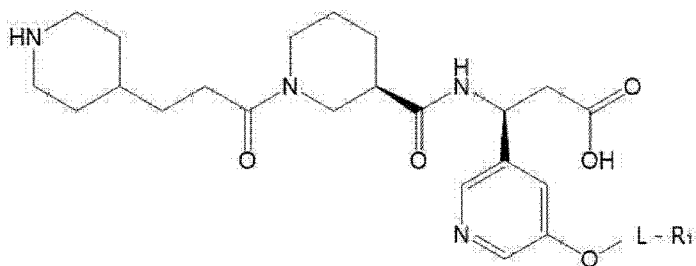
할 수 있다.

- [396] 또한, 본 발명의 방사성 의약품은 간편하고 빠른 표지 및 비정제 방법을 통하여 기존 방사성 의약품으로는 해결하지 못한 응급 환자들에게도 적용이 가능하며, F-18 방사성 의약품 제조 시설이 없는 대부분의 국내외 병원에서 직접 제조 혹은 조제하여 사용이 가능하다.
- [397] 따라서, 본 발명의 방사성 의약품은 응급 환자가 많은 혈전 질환의 특성에 쉽고 간단하게 적용할 수 있으므로, 검사의 편리성을 확보하고 환자의 의료복지를 개선할 수 있어, 산업상 이용가능성이 있다.

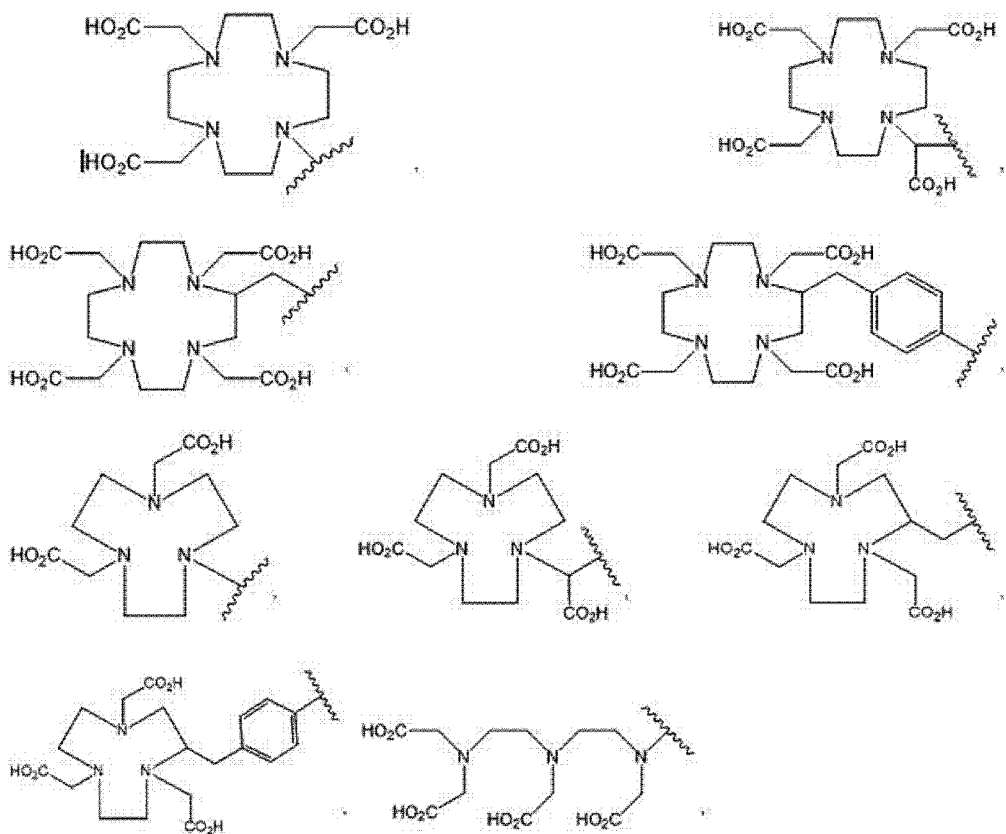
청구범위

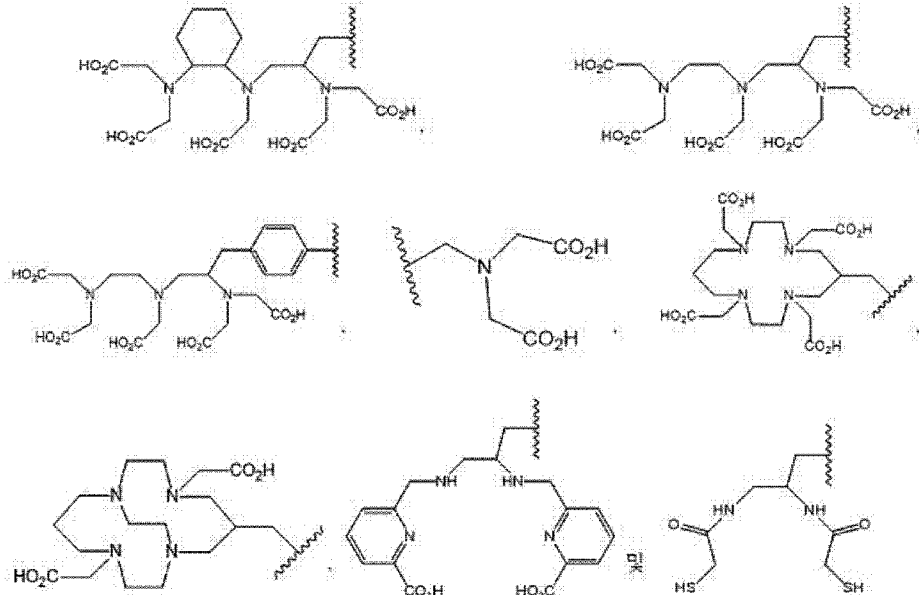
[청구항 1] 하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

[화학식 1]



(상기 화학식 1에서,
상기 R₁은





로 이루어진 군으로부터 선택된 것이고,

상기 L은 직접결합, $-(CH_2)_n-NHCO-(CH_2)_m-$, 또는 $-((CH_2)_2O)_x-(CH_2)_n-NHCO-(CH_2)_m-$ 이고, 상기 n, m 및 x는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이다.)

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 R₁은 금속성 방사성 동위원소가 표시되는 킬레이트제인 것을 특징으로 하는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 금속성 방사성 동위원소는 Ga-66, Ga-68, Cu-61, Cu-62, Cu-64, Cu-67, Pb-212, Bi-212, Pd-109, Y-86, Co-55, Zr-89, Sr-83, Mn-52, As-72, Sc-44, Ga-67, In-111, 및 Tc-99m 로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

[청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

2,2',2''-(10-(2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid;

2,2'-(7-(1-carboxy-4-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutyl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetic acid;

(S)-3-(5-(2-(2-DTPA

acetamido)ethoxy)pyridin-3-yl)-3-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidi

ne-3-carboxamido)propanoic acid; 및

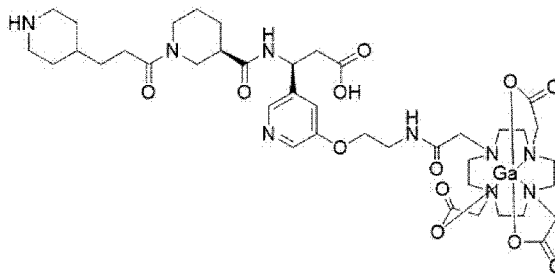
2,2'-((2-((2-((5-((S)-2-carboxy-1-((R)-1-(3-(piperidin-4-yl)propanoyl)piperidine-3-carboxamido)ethyl)pyridin-3-yl)oxy)ethyl)amino)-2-oxoethyl)azanediyl)diacetic acid.

[청구항 5] 금속성 방사성 동위원소가 표지된 제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 혈전 영상화용 조성물.

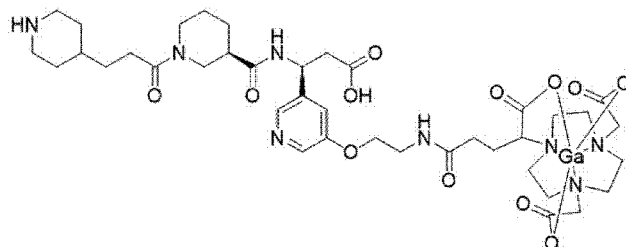
[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 금속성 방사성 동위원소는 Ga-66, Ga-68, Cu-61, Cu-62, Cu-64, Cu-67, Pb-212, Bi-212, Pd-109, Y-86, Co-55, Zr-89, Sr-83, Mn-52, As-72, Sc-44, Ga-67, In-111, 및 Tc-99m 로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 혈전 영상화용 조성물.

[청구항 7] 제5항에 있어서,
상기 금속성 방사성 동위원소가 표지된 제1항의 화합물은 하기 화학식 2 내지 화학식 5로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 혈전 영상화용 조성물.

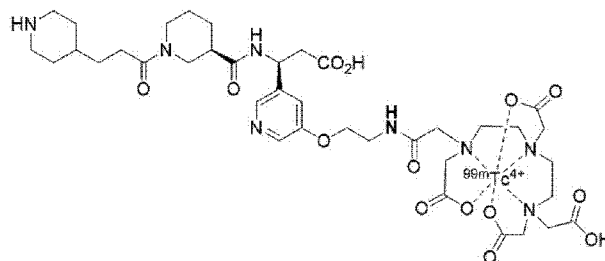
[화학식 2]



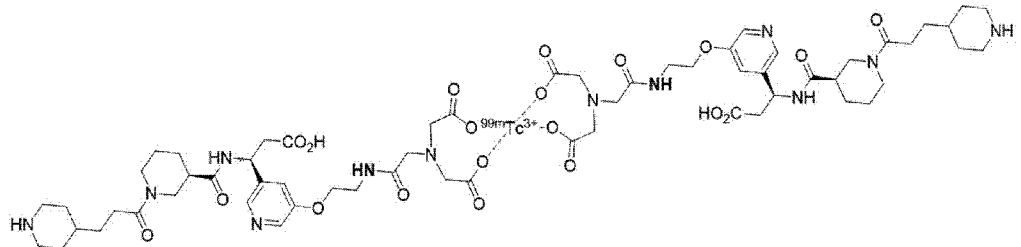
[화학식 3]



[화학식 4]



[화학식 5]



- [청구항 8] 제5항에 있어서,
상기 조성물은 시스테인, 비타민B1, 및 비타민 B6로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 혈전 영상화용 조성물.
- [청구항 9] 제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 금속성 방사성 동위원소 표지된 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 키트는 금속성 방사성 동위원소를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 11] 제10항에 있어서,
상기 금속성 방사성 동위원소는 Ga-66, Ga-68, Cu-61, Cu-62, Cu-64, Cu-67, Pb-212, Bi-212, Pd-109, Y-86, Co-55, Zr-89, Sr-83, Mn-52, As-72, Sc-44, Ga-67, In-111, 및 Tc-99m 로 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 12] 제9항에 있어서,
상기 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 용액상태, 냉장상태, 냉동상태, 및 동결 건조 상태로 이루어진 군으로부터 선택된 상태로 포함된 것을 특징으로 하는, 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 13] 제9항에 있어서,
상기 키트는 시스테인, 비타민B1, 및 비타민 B6로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 14] 제9항에 있어서,
상기 키트는 HEPES 버퍼, 아세테이트 버퍼, 에탄올, 및 주사용수로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방사성 의약품 제조용 키트.
- [청구항 15] 제5항의 혈전 영상화용 조성물을 유효성분으로 포함하는, 혈전성 질환의 진단용 약학적 조성물.
- [청구항 16] 금속성 방사성 동위원소가 표지된 제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 혈전 영상화 용도.
- [청구항 17] 금속성 방사성 동위원소가 표지된 제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 혈전 영상화제 제조 또는 조제를 위한 용도.
- [청구항 18] 금속성 방사성 동위원소가 표지된 제1항의 화합물 또는 이의 약학적으로

허용 가능한 염의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전의 영상화 방법.

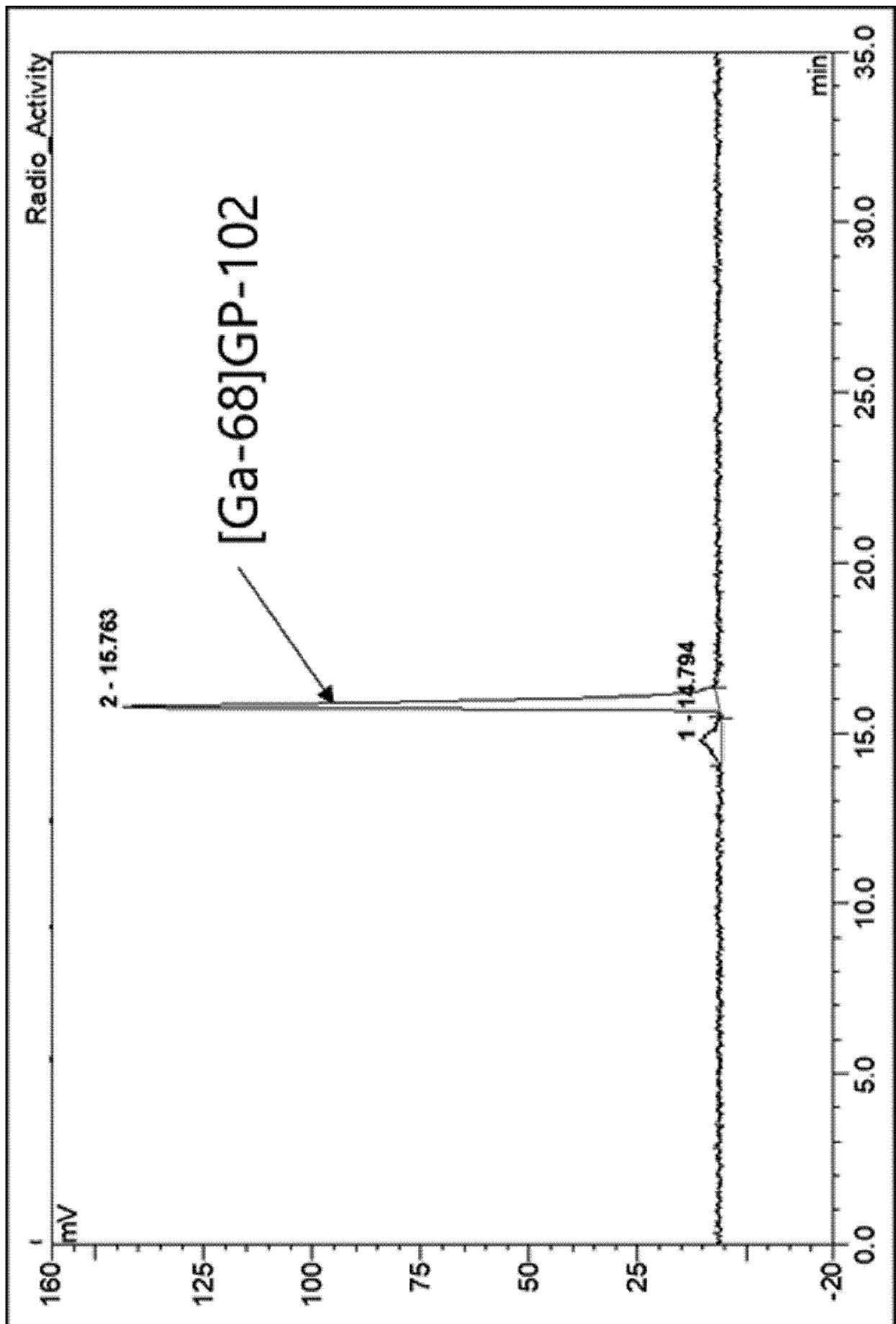
[청구항 19] 제5항의 혈전 영상화용 조성물의 혈전성 질환의 진단 용도.

[청구항 20] 제5항의 혈전 영상화용 조성물의 혈전성 질환의 진단제 제조 또는 조제를 위한 용도.

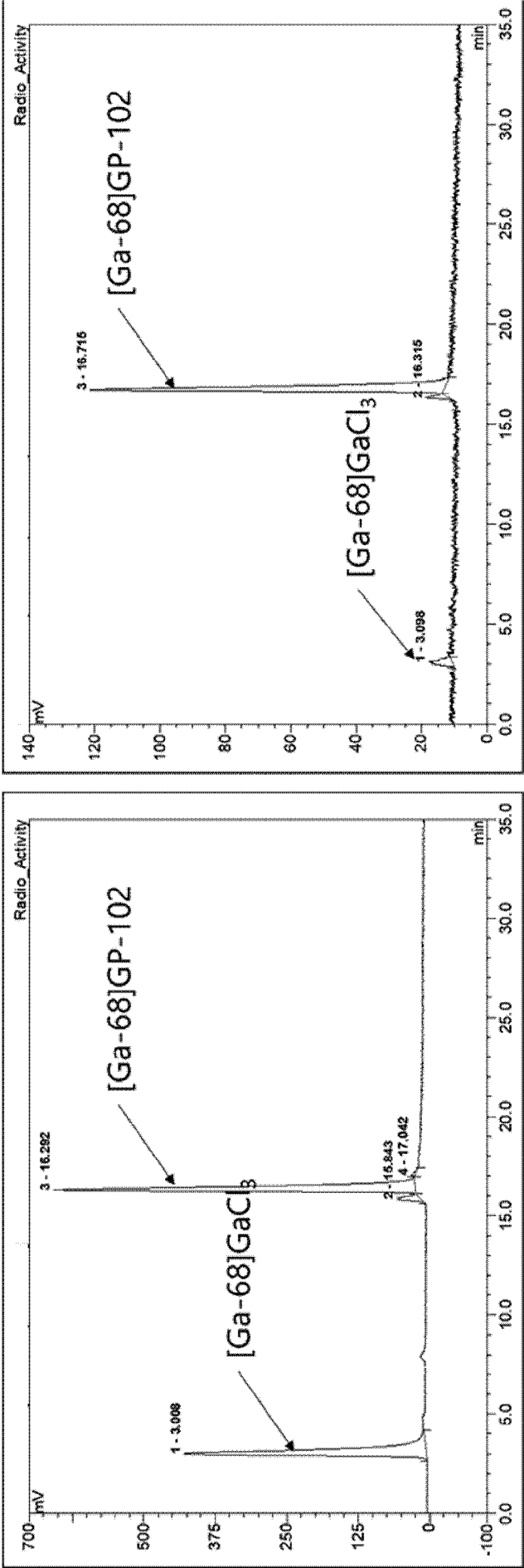
[청구항 21] 제5항의 혈전 영상화용 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전성 질환의 진단을 위한 정보제공 방법.

[청구항 22] 제5항의 혈전 영상화용 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 혈전성 질환의 진단 방법.

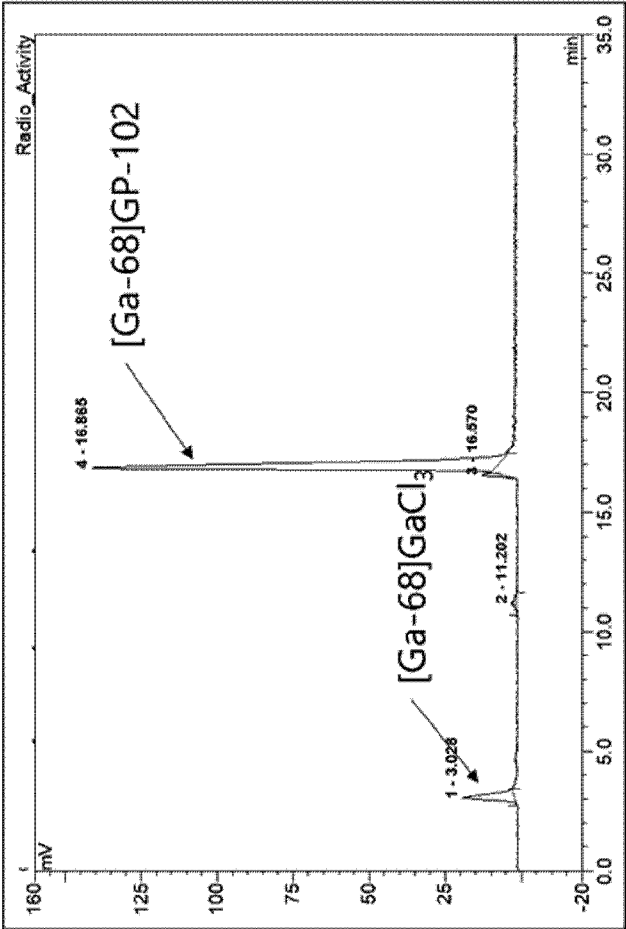
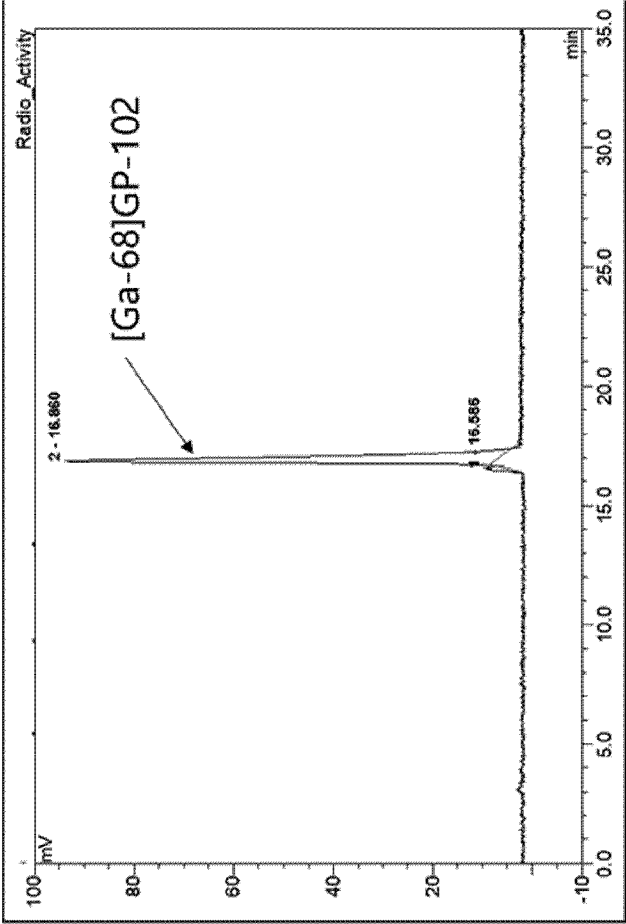
[도 1]



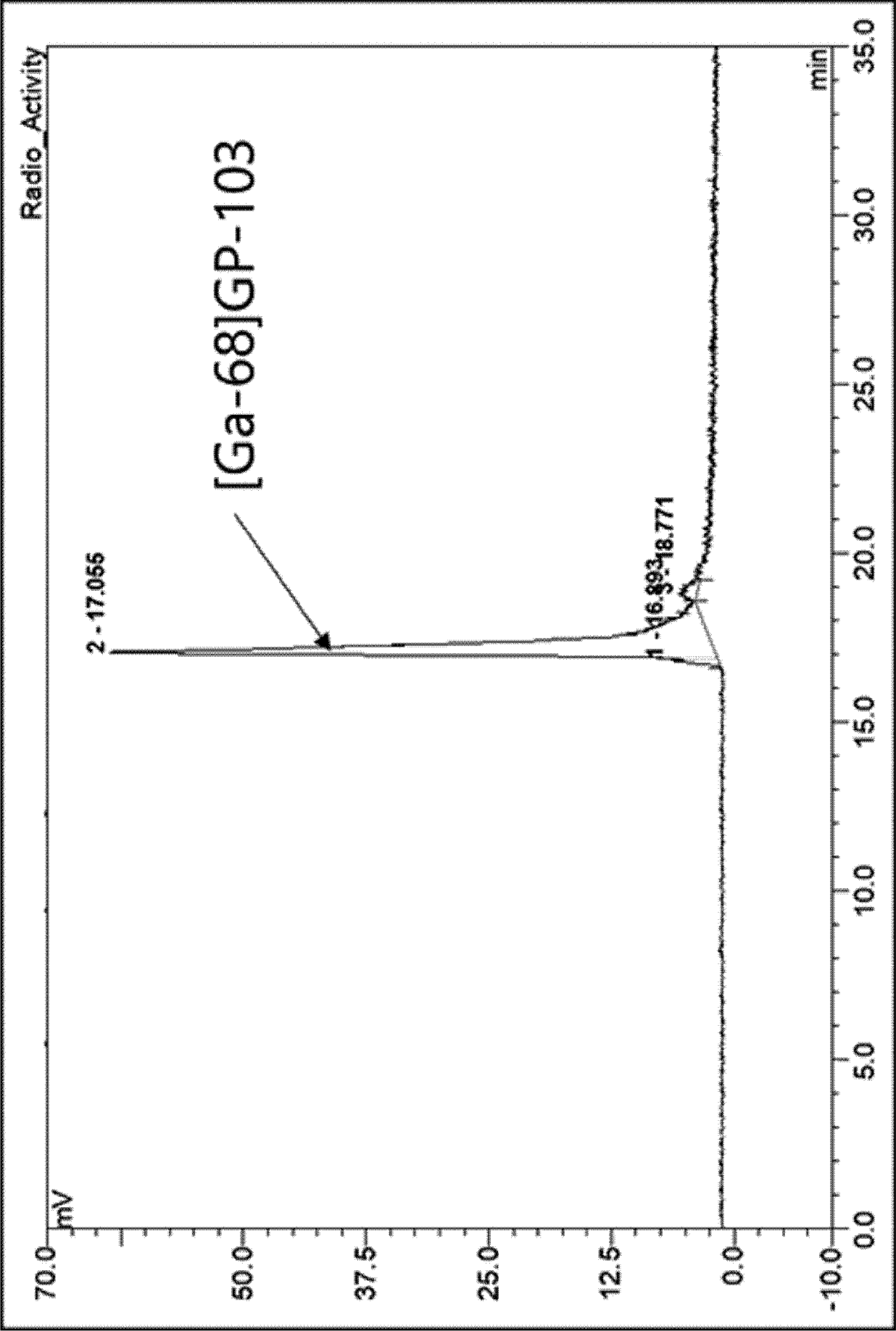
[도2]



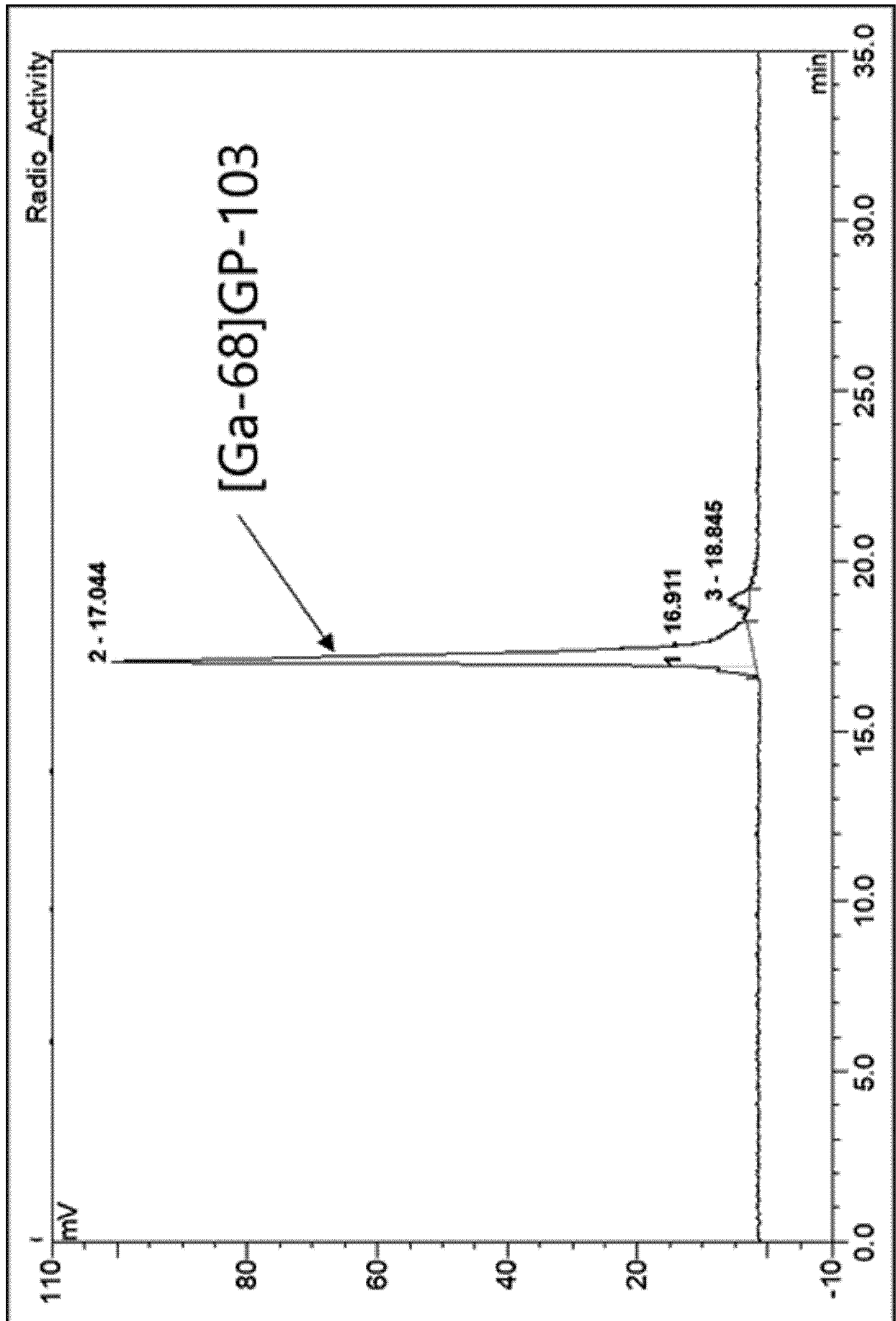
[도3]



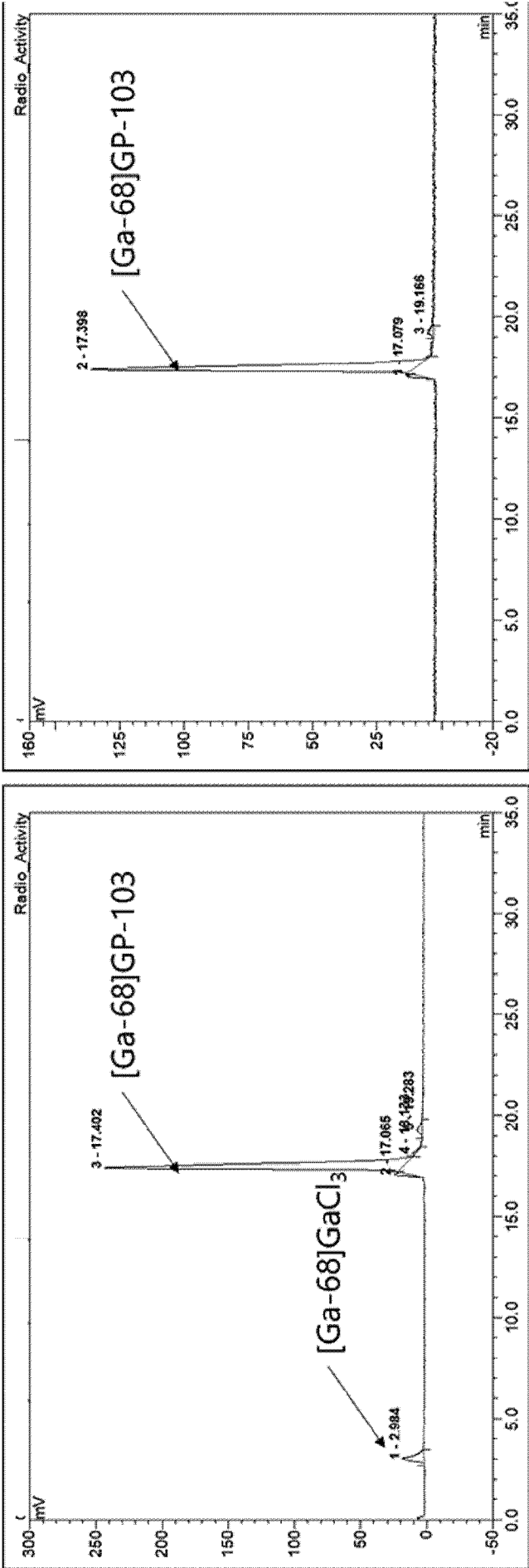
[도4]



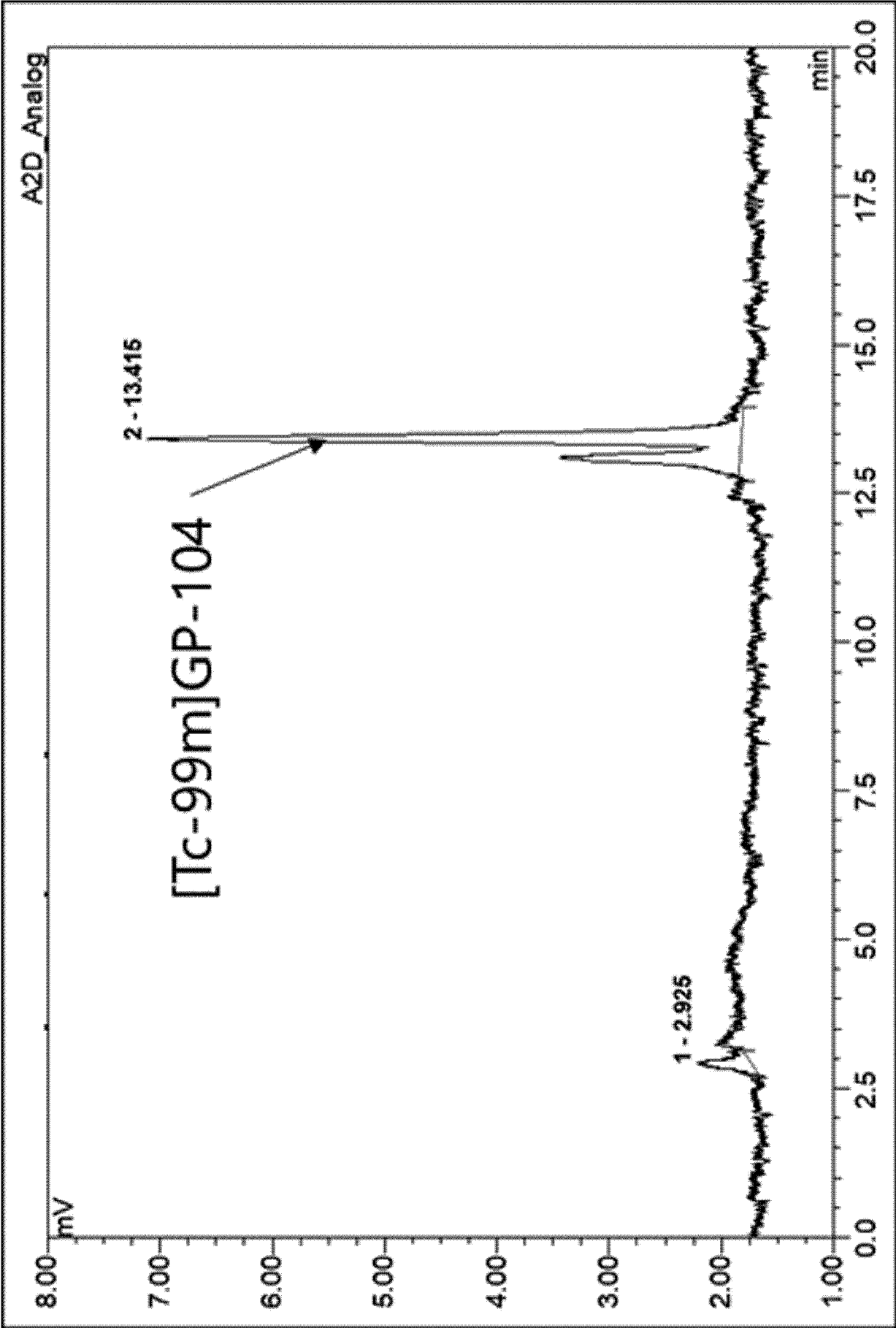
[도5]



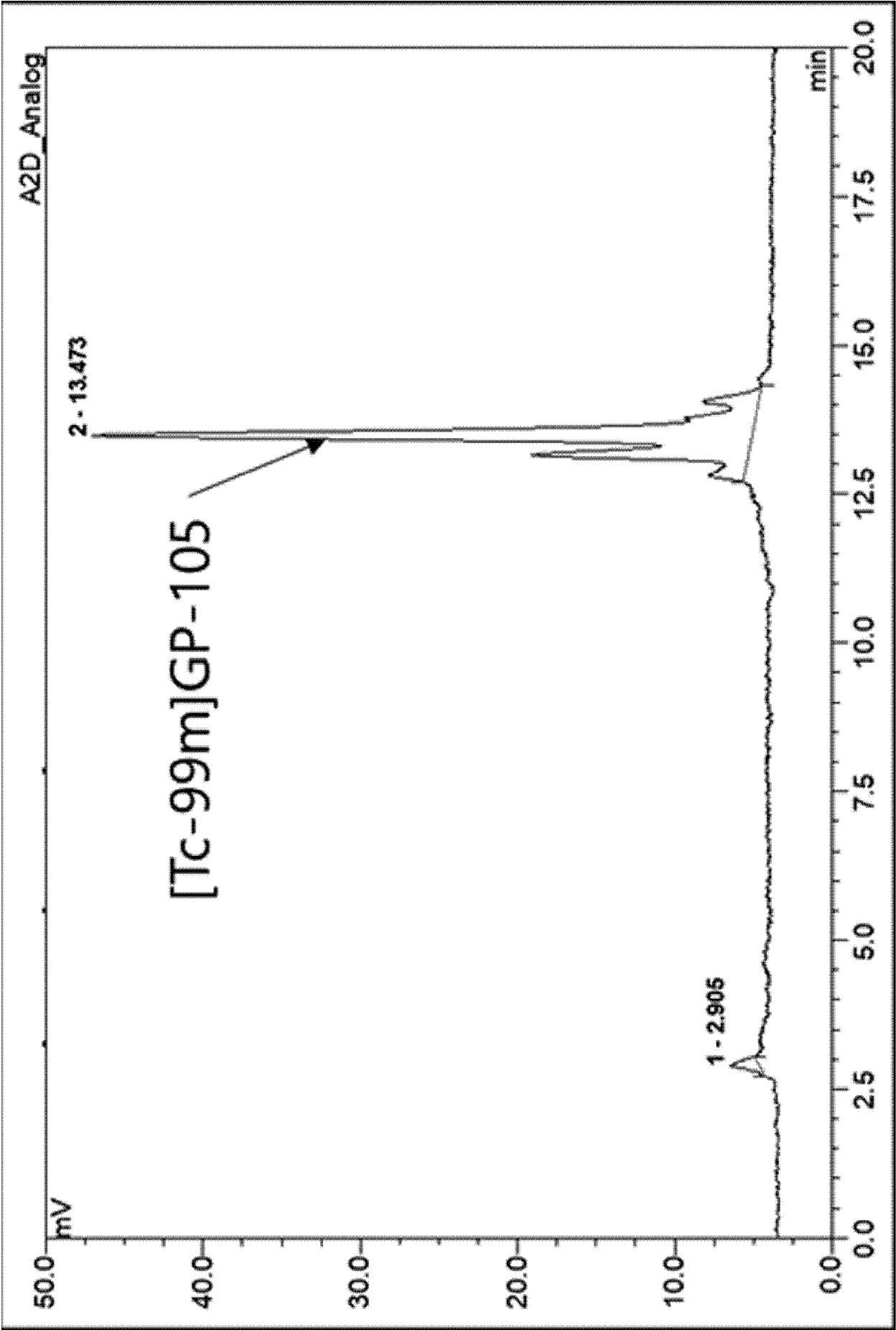
[도6]



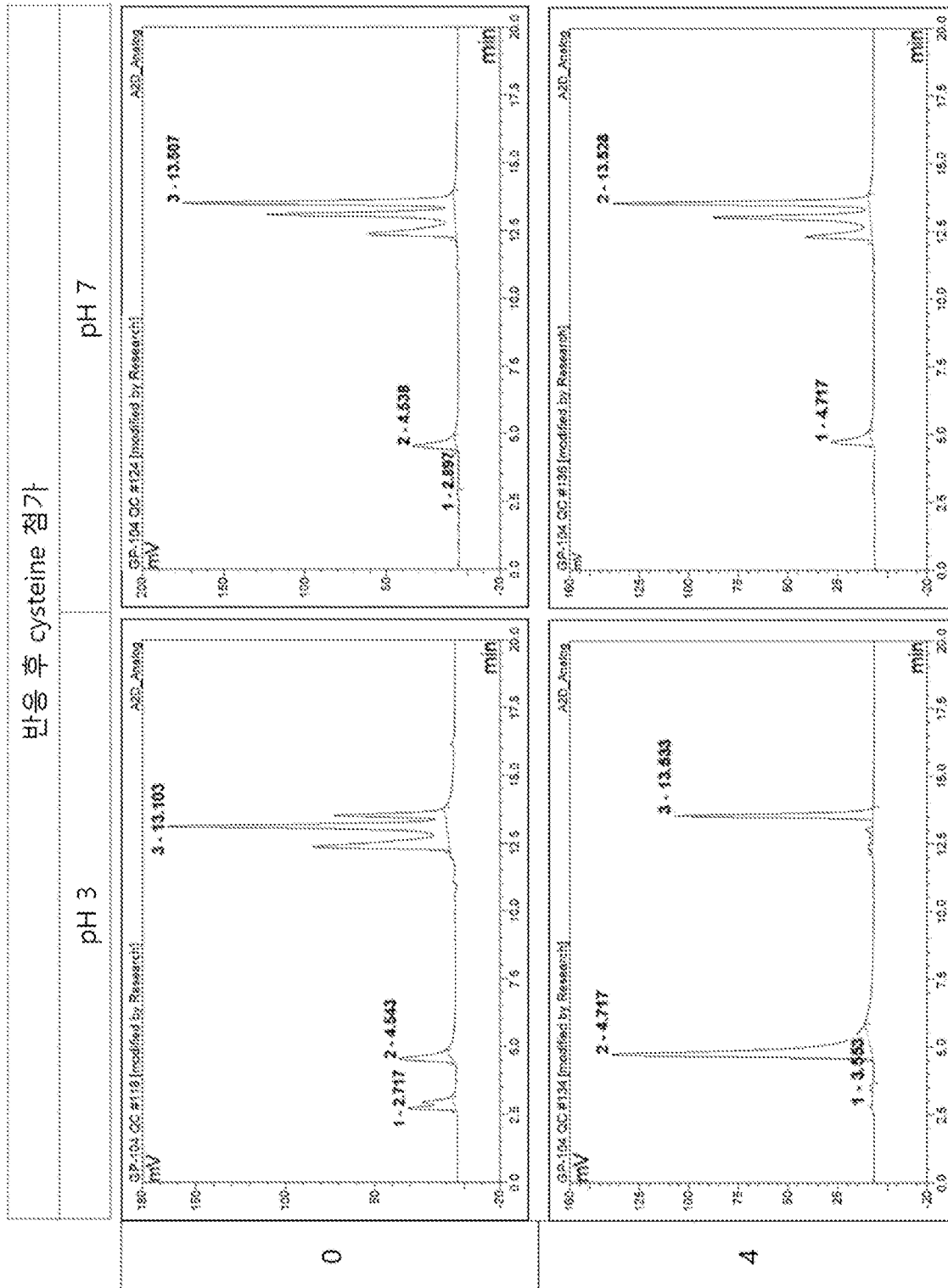
[도7]



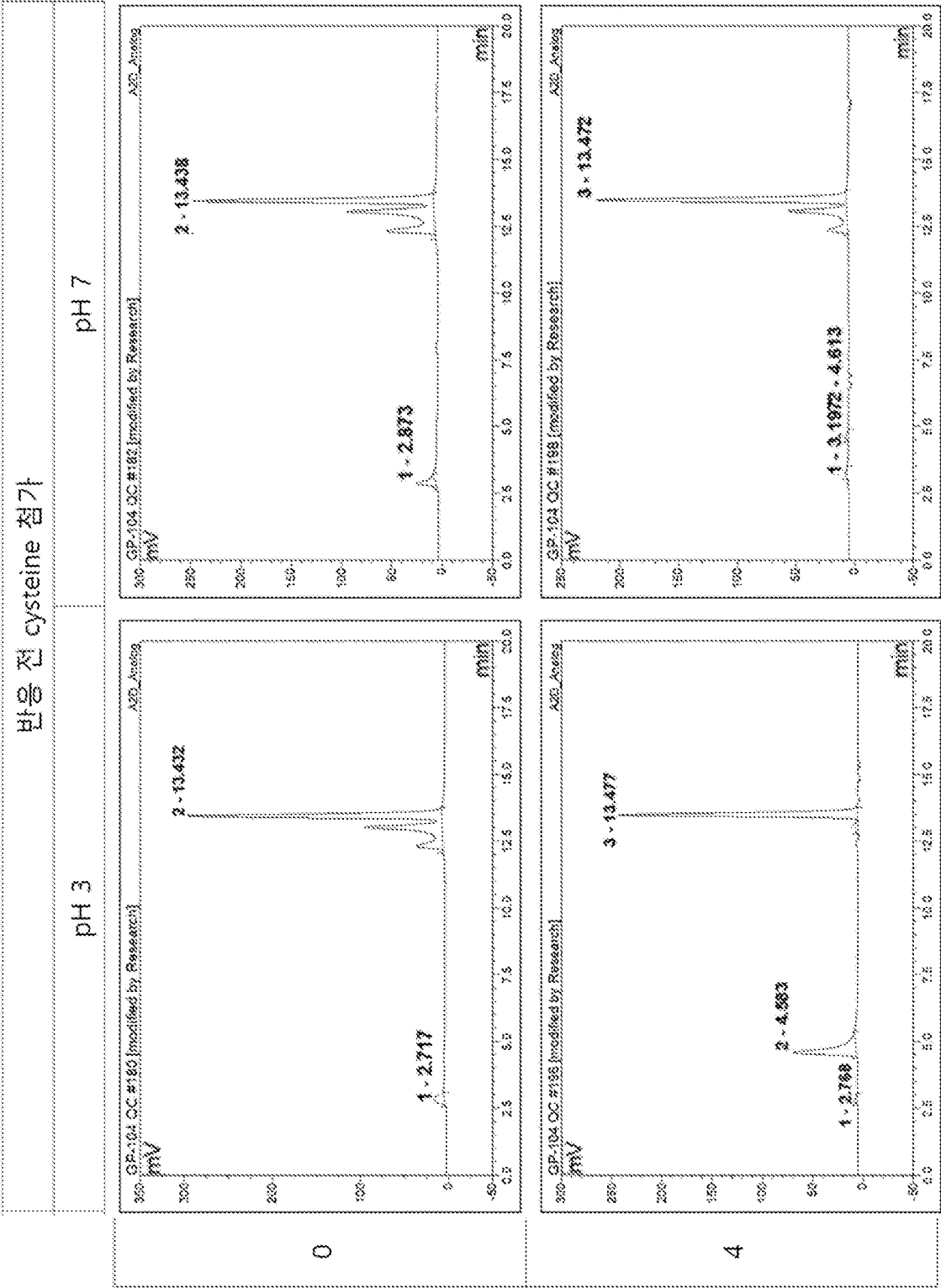
[도8]



[도 9a]



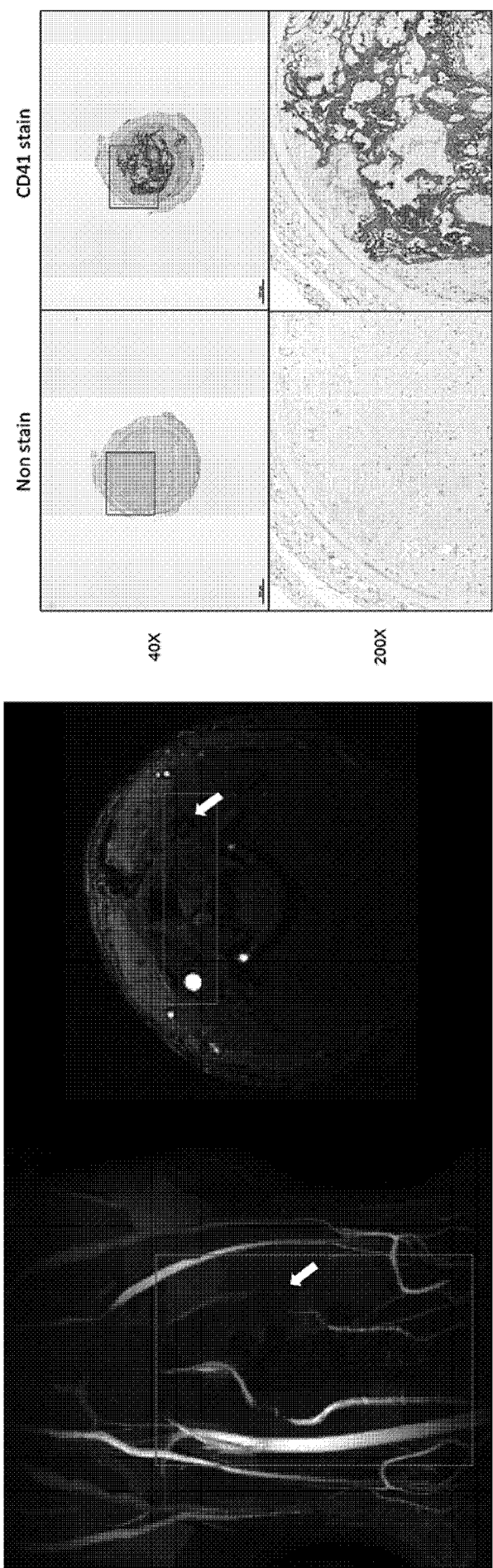
[도 9b]



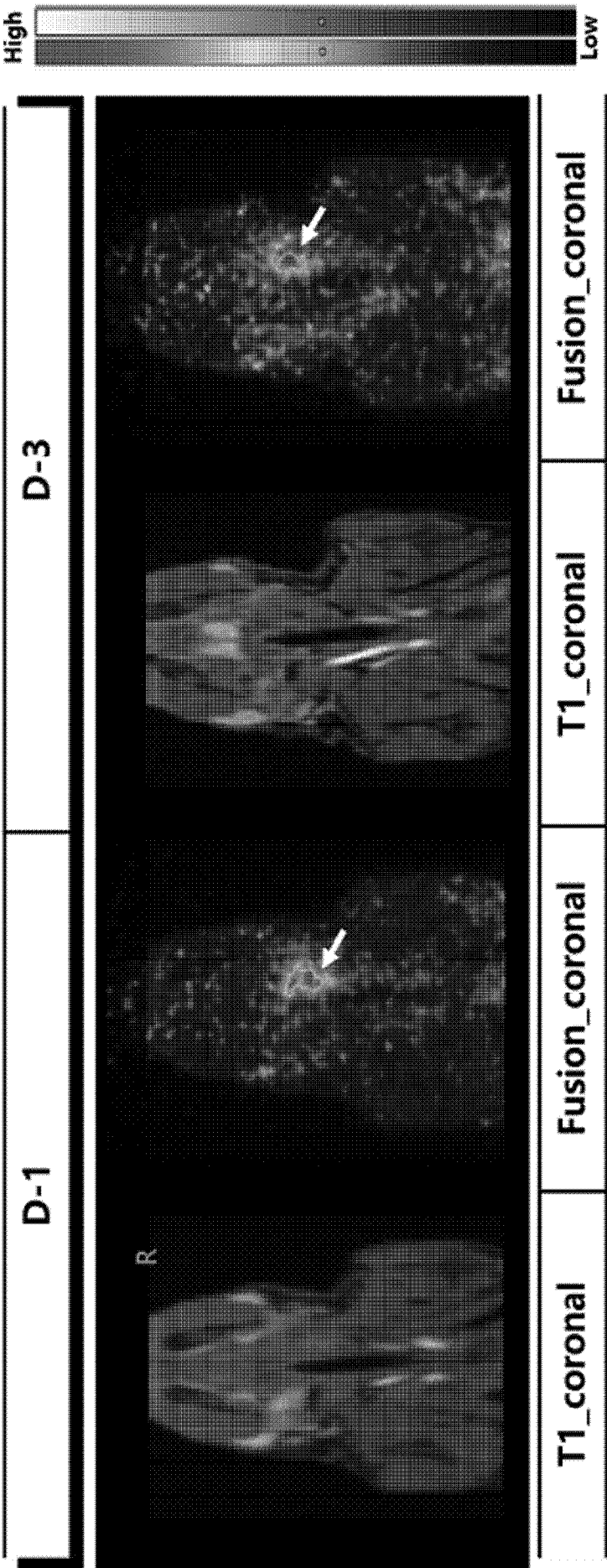
[도 10]



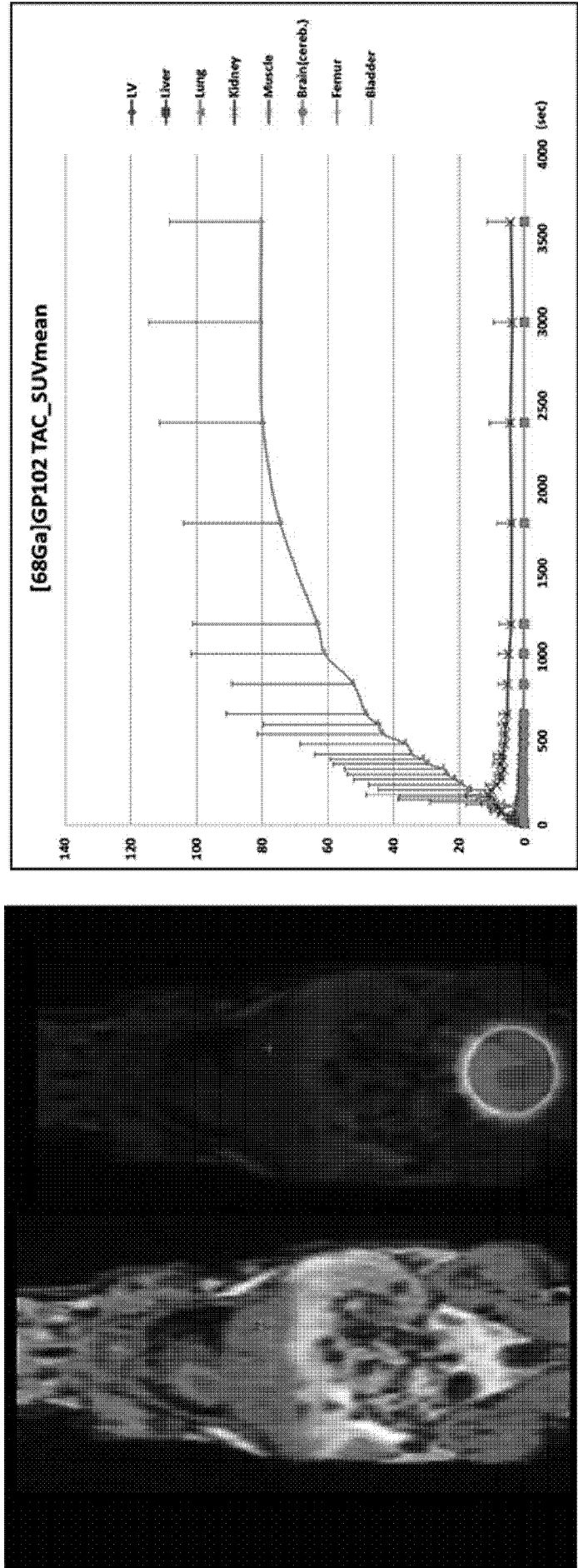
[도11]



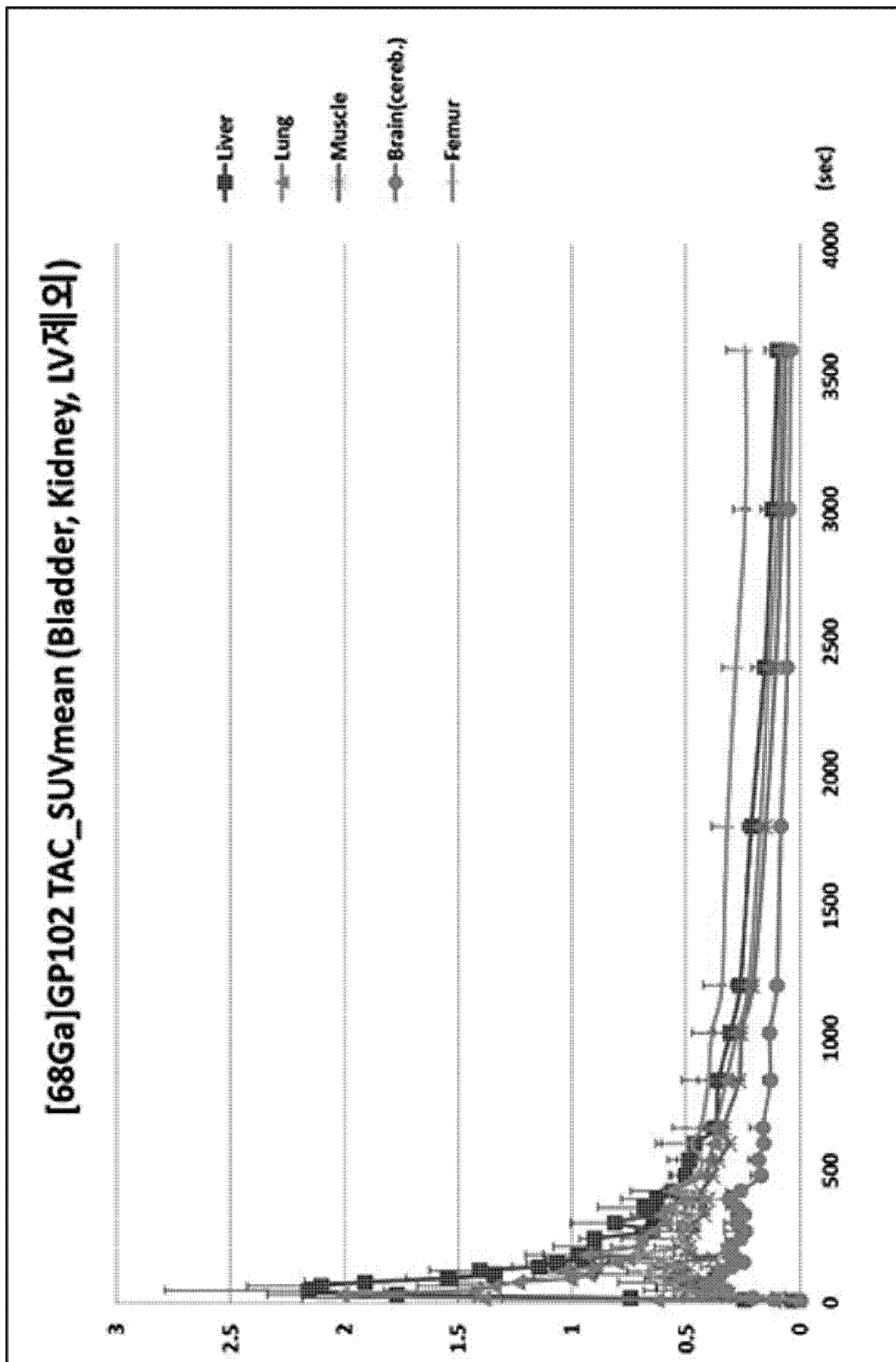
[도12]



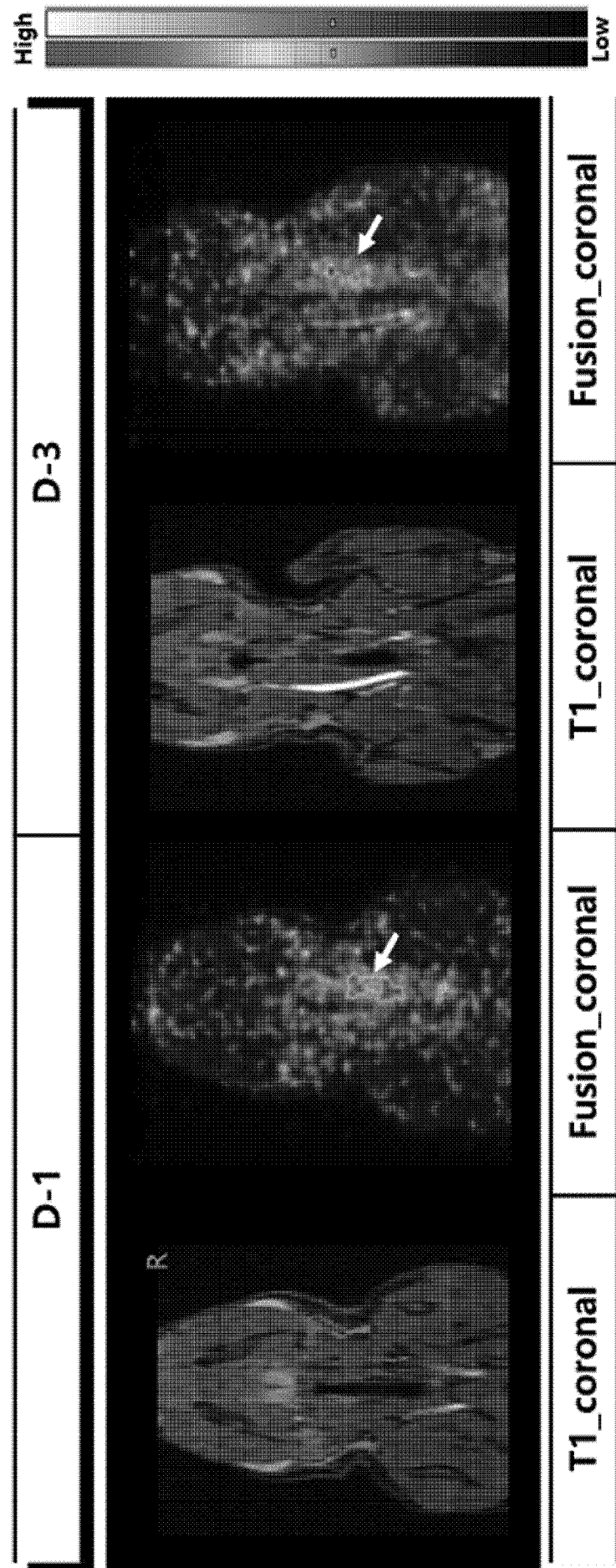
[도13]



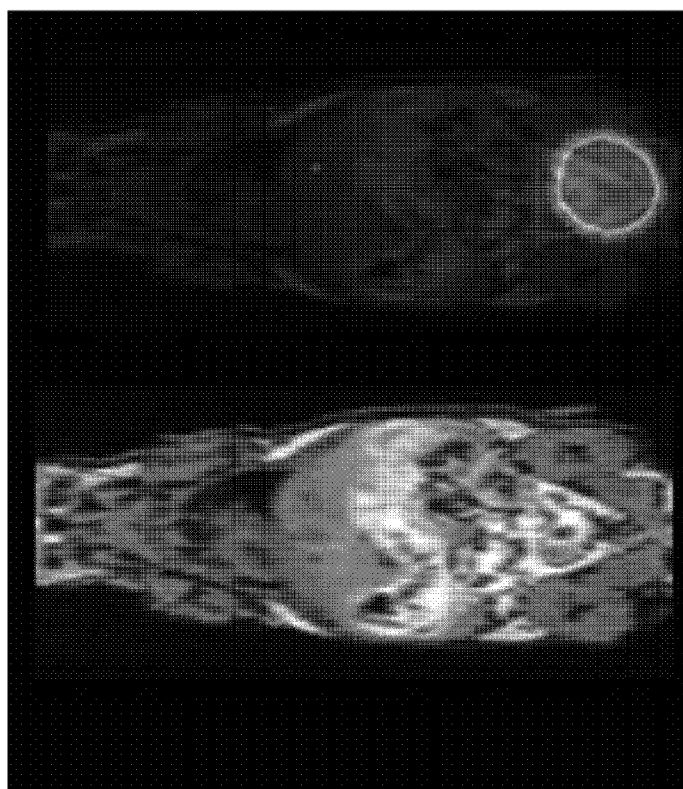
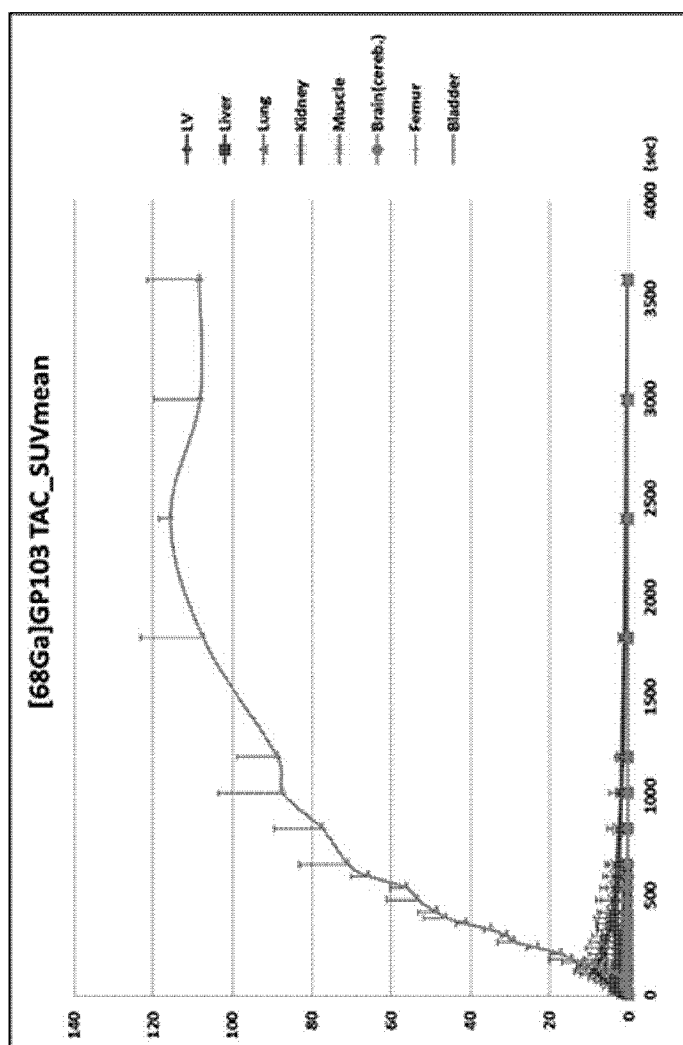
[도14]



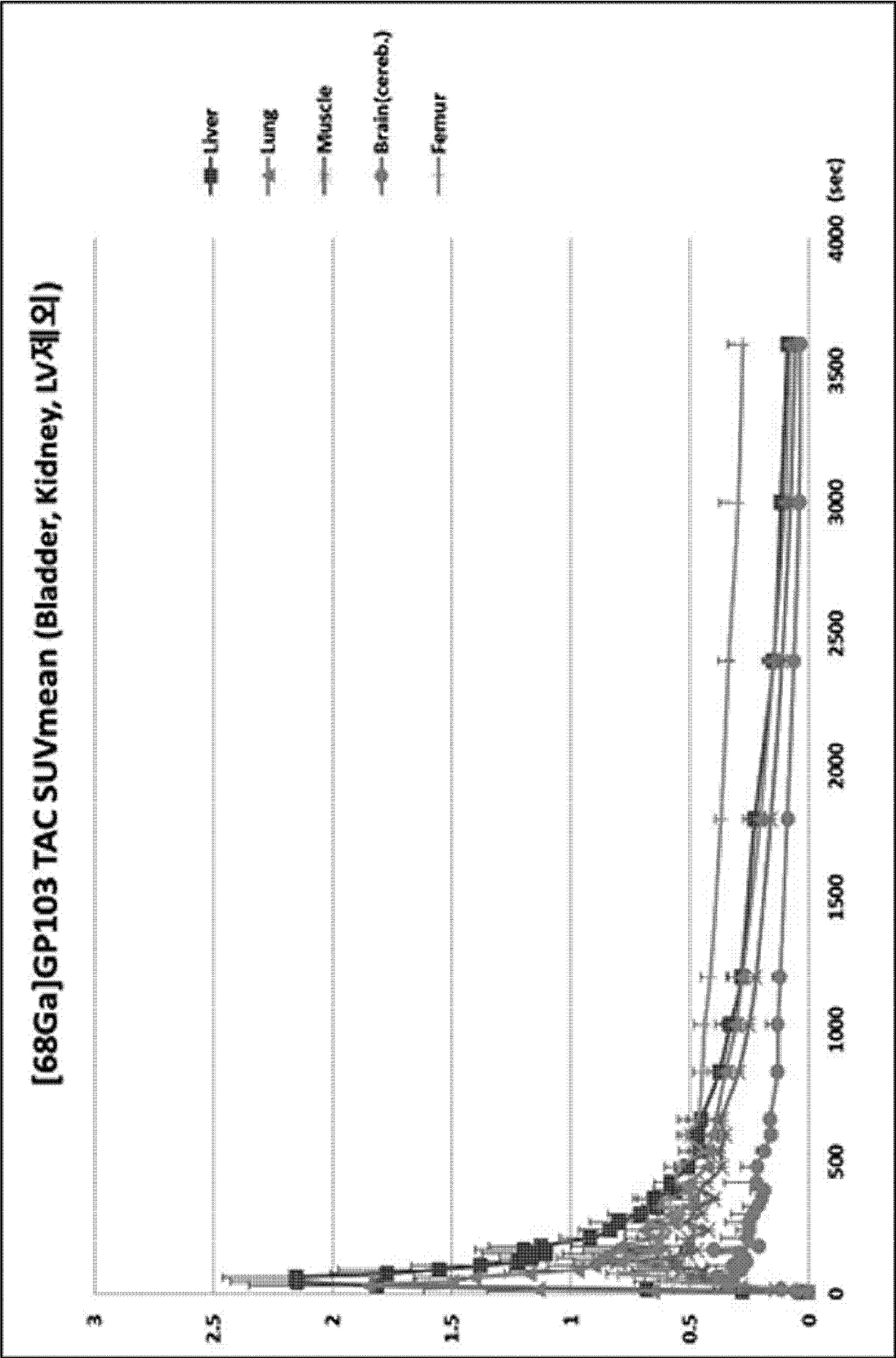
[도 15]



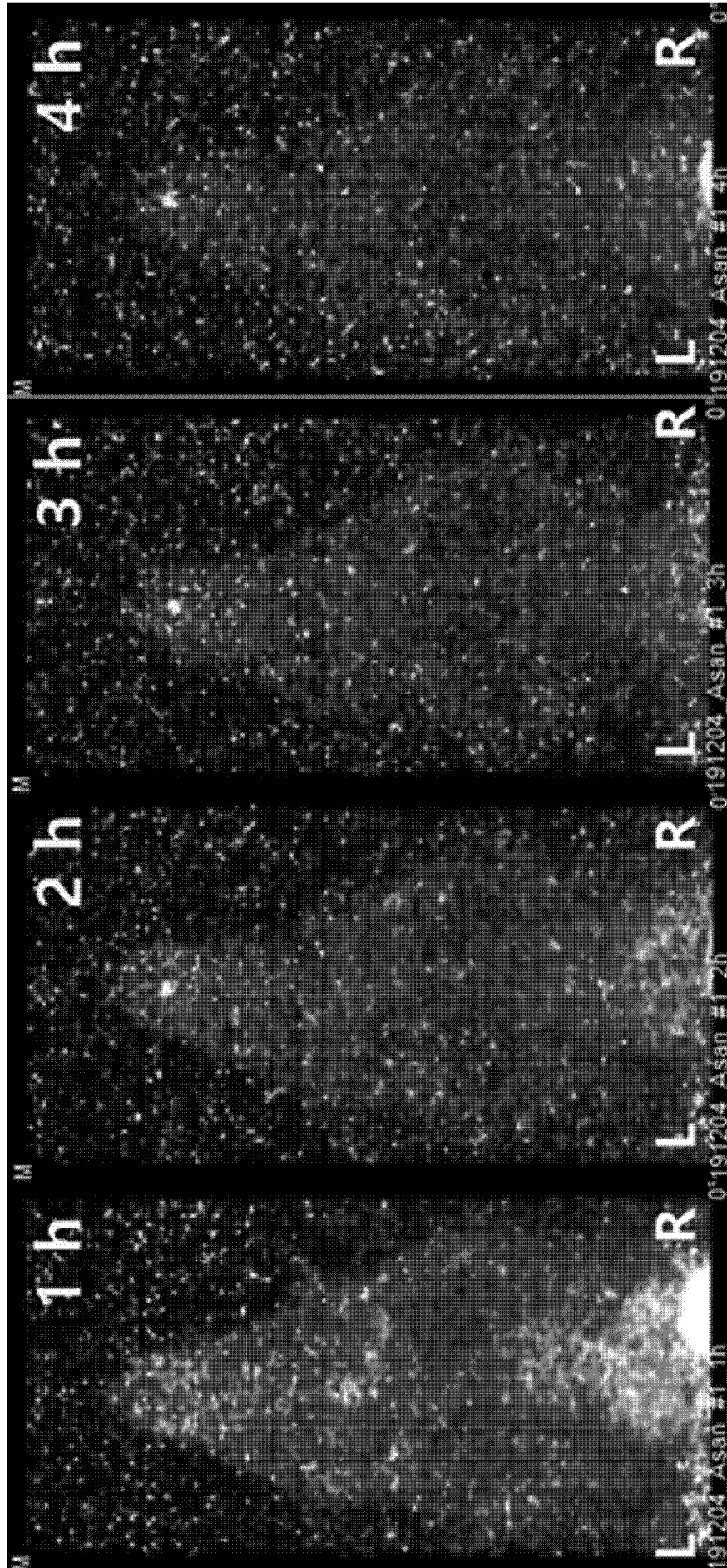
[516]



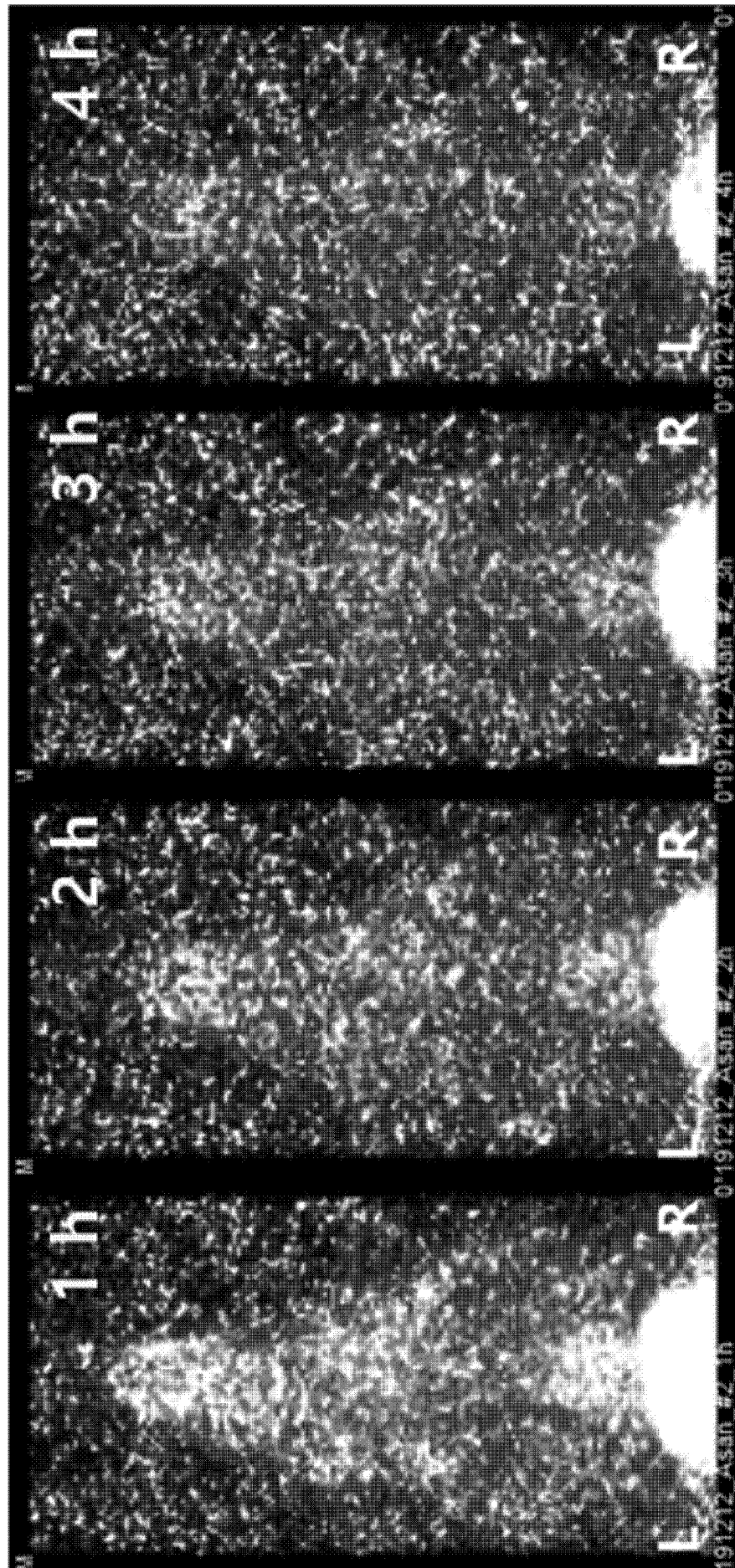
[도17]



[도18]



[도19]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003629

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 51/04(2006.01)i; A61K 47/20(2006.01)i; A61K 47/22(2006.01)i; A61K 47/24(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 51/04(2006.01); C07D 401/06(2006.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 급성 혈전 색전증 (acute thromboembolism), 동위원소 (isotope), 킬레이트 (chelates)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2014-0085426 A (PIRAMAL IMAGING SA) 07 July 2014 (2014-07-07) See abstract; paragraphs [0474]-[0475]; and claim 1.	1-17,19-21
A	LEE, N. et al. Radiation dosimetry of [18F] GPI for imaging activated glycoprotein IIb/IIIa receptors with positron emission tomography in patients with acute thromboembolism. Nuclear Medicine and Biology. 2019, vols. 72-32, pp. 45-48. See entire document.	1-17,19-21
A	LOHRKE, J. et al. 18F-GPI, a novel PET tracer designed for high-sensitivity, low-background detection of thrombi. Journal of Nuclear Medicine. 2017, vol. 58, no. 7, pp. 1094-1099. See entire document.	1-17,19-21
A	VELIKYAN, I. Prospective of 68Ga-radiopharmaceutical development. Theranostics. 2014, vol. 4, no. 1, pp. 47-80. See entire document.	1-17,19-21
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 July 2021		Date of mailing of the international search report 12 July 2021
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003629**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HOEKSTRA, W. J. et al. Potent, orally active GPIIb/IIIa antagonists containing a nipecotic acid subunit. Structure-activity studies leading to the discovery of RWJ-53308. Journal of Medicinal Chemistry. 1999, vol. 42, pp. 5254-5265. See entire document.	1-17,19-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2021/003629

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **18, 22**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 18 and 22 pertain to a diagnostic method of the human body by surgery or therapy, and thus pertain to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2021/003629

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2014-0085426	A	07 July 2014	AU	2012-297137	A1	27 March 2014
				AU	2012-297137	B2	02 March 2017
				BR	112014003366	A2	01 March 2017
				BR	112014003366	B1	04 August 2020
				CA	2845477	A1	21 February 2013
				CA	2845477	C	23 April 2019
				CN	103906743	A	02 July 2014
				CN	103906743	B	28 December 2016
				DK	2744802	T3	03 April 2017
				EP	2744802	A1	25 June 2014
				EP	2744802	B1	04 January 2017
				ES	2621379	T3	03 July 2017
				HK	1197064	A1	02 January 2015
				HK	1197064	A2	02 January 2015
				HR	P20170464	T1	19 May 2017
				IL	230854	A	31 March 2014
				JP	2014-525924	A	02 October 2014
				JP	2017-075159	A	20 April 2017
				JP	6243335	B2	06 December 2017
				MX	2014001784	A	01 May 2014
				MX	352546	B	29 November 2017
				NZ	620635	A	25 September 2015
				PL	2744802	T3	31 July 2017
				PT	2744802	T	15 March 2017
				RU	2014109853	A	27 September 2015
				RU	2597425	C2	10 September 2016
				SG	2014011225	A	27 June 2014
				SI	2744802	T1	31 May 2017
				US	2014-0314669	A1	23 October 2014
				US	2016-0137629	A1	19 May 2016
				US	9345793	B2	24 May 2016
				US	9744252	B2	29 August 2017
				WO	2013-023795	A1	21 February 2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 51/04(2006.01)i; A61K 47/20(2006.01)i; A61K 47/22(2006.01)i; A61K 47/24(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 51/04(2006.01); C07D 401/06(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: acute thromboembolism (급성 혈전 색전증), 동위원소 (isotope), 킬레이트 (chelates)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2014-0085426 A (피라말 이미징 에스에이) 2014.07.07 요약, 단락 [0474]-[0475]; 청구항 1	1-17,19-21
A	LEE, N. 등, "Radiation dosimetry of [18F] GP1 for imaging activated glycoprotein IIb/IIIa receptors with positron emission tomography in patients with acute thromboembolism", Nuclear Medicine and Biology, 2019, 72-32권, 페이지 45-48 전문	1-17,19-21
A	LOHRKE, J. 등, "18F-GP1, a novel PET tracer designed for high-sensitivity, low-background detection of thrombi", Journal of Nuclear Medicine, 2017, 58권, 7호, 페이지 1094-1099 전문	1-17,19-21
A	VELIKYAN, I., "Prospective of 68Ga-radiopharmaceutical development", Theranostics, 2014, 4권, 1호, 페이지 47-80 전문	1-17,19-21
A	HOEKSTRA, W. J. 등, "Potent, orally active GPIIb/IIIa antagonists containing a nipecotic acid subunit. Structure-activity studies leading to the discovery of RWJ-53308", Journal of Medicinal Chemistry, 1999, 42권, 페이지 5254-5265 전문	1-17,19-21
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2021년07월12일(12.07.2021)		국제조사보고서 발송일 2021년07월12일(12.07.2021)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 정다원 전화번호 +82-42-481-5373

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: **18, 22**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 18, 22는 수술 또는 치료에 의한 사람의 진단방법에 관한 것이므로 PCT 제 17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0085426 A	2014/07/07	AU 2012-297137 A1	2014/03/27
		AU 2012-297137 B2	2017/03/02
		BR 112014003366 A2	2017/03/01
		BR 112014003366 B1	2020/08/04
		CA 2845477 A1	2013/02/21
		CA 2845477 C	2019/04/23
		CN 103906743 A	2014/07/02
		CN 103906743 B	2016/12/28
		DK 2744802 T3	2017/04/03
		EP 2744802 A1	2014/06/25
		EP 2744802 B1	2017/01/04
		ES 2621379 T3	2017/07/03
		HK 1197064 A1	2015/01/02
		HK 1197064 A2	2015/01/02
		HR P20170464 T1	2017/05/19
		IL 230854 A	2014/03/31
		JP 2014-525924 A	2014/10/02
		JP 2017-075159 A	2017/04/20
		JP 6243335 B2	2017/12/06
		MX 2014001784 A	2014/05/01
		MX 352546 B	2017/11/29
		NZ 620635 A	2015/09/25
		PL 2744802 T3	2017/07/31
		PT 2744802 T	2017/03/15
		RU 2014109853 A	2015/09/27
		RU 2597425 C2	2016/09/10
		SG 2014011225 A	2014/06/27
		SI 2744802 T1	2017/05/31
		US 2014-0314669 A1	2014/10/23
		US 2016-0137629 A1	2016/05/19
		US 9345793 B2	2016/05/24
		US 9744252 B2	2017/08/29
		WO 2013-023795 A1	2013/02/21