

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7589356号
(P7589356)

(45)発行日 令和6年11月25日(2024.11.25)

(24)登録日 令和6年11月15日(2024.11.15)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 401/12 (2006.01)

C 0 7 D 401/12

C S P

A 6 1 K 51/04 (2006.01)

A 6 1 K 51/04

C 0 7 D 409/14 (2006.01)

C 0 7 D 409/14

A 6 1 K 31/444 (2006.01)

A 6 1 K 31/444

請求項の数 21 (全43頁)

(21)出願番号	特願2023-535896(P2023-535896)	(73)特許権者	594197872
(86)(22)出願日	令和3年12月15日(2021.12.15)		イーライ リリー アンド カンパニー
(65)公表番号	特表2023-554004(P2023-554004 A)		アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2
			8 5 インディアナポリス リリー コー
(43)公表日	令和5年12月26日(2023.12.26)		ポレイト センター (番地なし)
(86)国際出願番号	PCT/US2021/063552	(74)代理人	100092783
(87)国際公開番号	WO2022/132924		弁理士 小林 浩
(87)国際公開日	令和4年6月23日(2022.6.23)	(74)代理人	100095360
審査請求日	令和5年6月13日(2023.6.13)		弁理士 片山 英二
(31)優先権主張番号	63/126,100	(74)代理人	100103182
(32)優先日	令和2年12月16日(2020.12.16)		弁理士 日野 真美
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100139310
			弁理士 吉光 真紀
(31)優先権主張番号	63/166,484	(72)発明者	カグノリニ, アルド
(32)優先日	令和3年3月26日(2021.3.26)		アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 2
	最終頁に続く		最終頁に続く

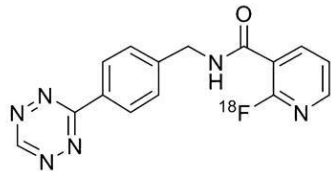
(54)【発明の名称】 プレターゲットイメージング剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式の化合物、

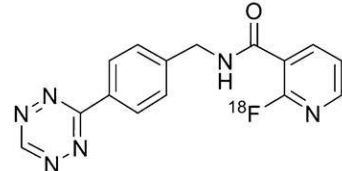
【化 1】



又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

【化 2】

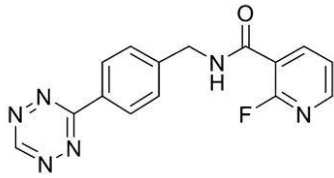


である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

以下の式の化合物、

【化 3】

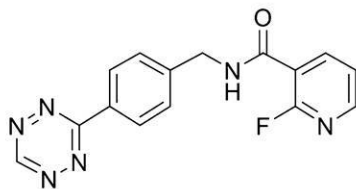


又はその薬学的に許容される塩。

10

【請求項 4】

【化 4】



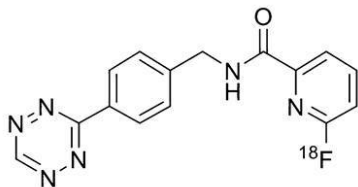
である、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

20

以下の式の化合物、

【化 5】

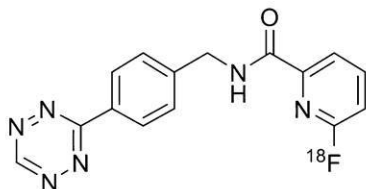


又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 6】

30

【化 6】



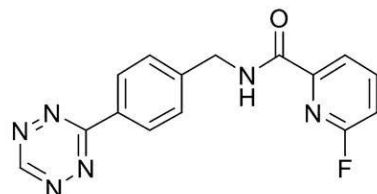
である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

以下の式の化合物、

40

【化 7】

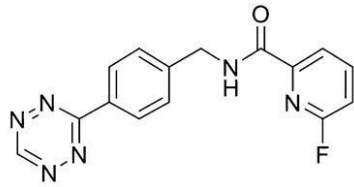


又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 8】

50

【化 8】



である、請求項 7 に記載の化合物。

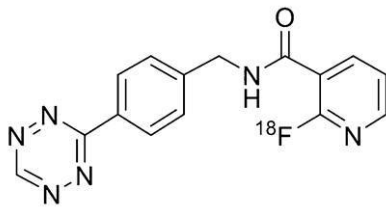
【請求項 9】

1 種以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤とともに、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩を含む、医薬組成物。

10

【請求項 10】

【化 9】



20

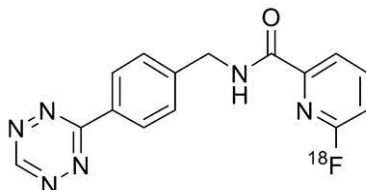
又はその薬学的に許容される塩、並びにエタノール及び P B S 緩衝液を含む、組成物。

【請求項 11】

前記組成物が、アスコルビン酸塩又はアスコルビン酸を含まない、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

【化 10】



30

又はその薬学的に許容される塩、並びにエタノール及び P B S 緩衝液を含む、組成物。

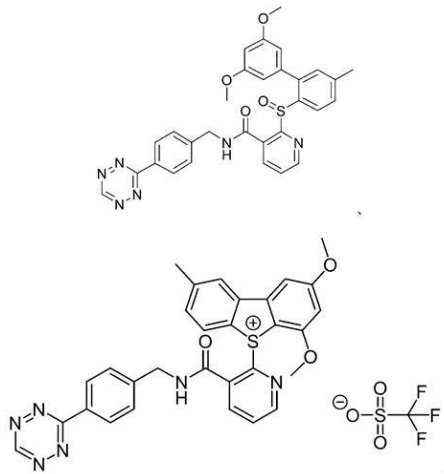
【請求項 13】

前記組成物が、アスコルビン酸塩又はアスコルビン酸を含まない、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

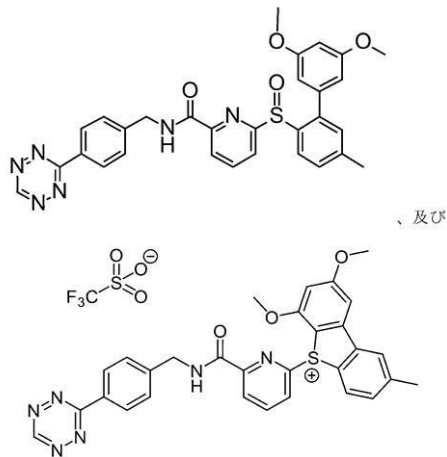
40

【化 1 3 - 1】



10

【化 1 3 - 2】



20

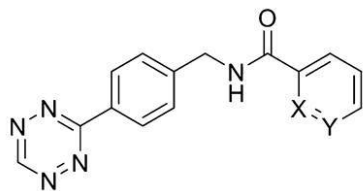
からなる群から選択される、中間体。

30

【請求項 1 5】

以下の式の化合物、

【化 1 4】



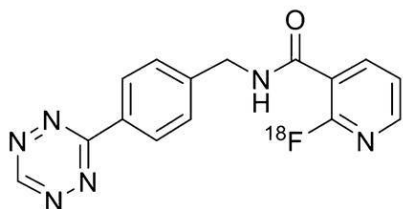
(X は、C - F、C - ^{18}F 、又は N であり、
 Y は、C - F、C - ^{18}F 、又は N であり、
 X 及び Y の一方 (両方ではない) は、N であり、
 X が N である場合、Y は C - F 又は C - ^{18}F であり、
 Y が N である場合、X は C - F 又は C - ^{18}F である)
 又はその薬学的に許容される塩。

40

【請求項 1 6】

50

【化 1 5】

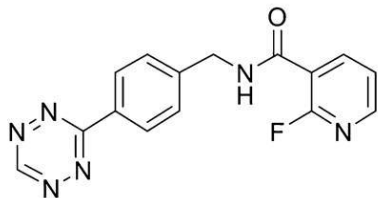


である、請求項 1 5 に記載の化合物。

【請求項 1 7】

10

【化 1 6】

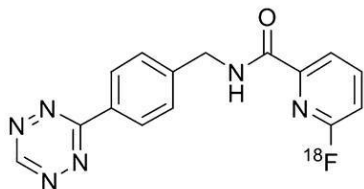


である、請求項 1 5 に記載の化合物。

【請求項 1 8】

20

【化 1 7】

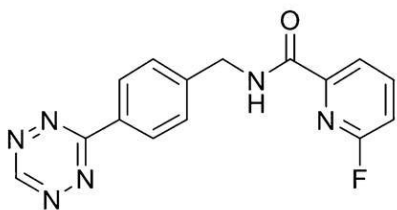


である、請求項 1 5 に記載の化合物。

【請求項 1 9】

【化 1 8】

30



である、請求項 1 5 に記載の化合物。

【請求項 2 0】

1 種以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤とともに、請求項 1 5 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩を含む、医薬組成物。

40

【請求項 2 1】

生体分子を放射性標識する方法であって、

T C O 部分を前記生体分子に結合させ、それにより生体分子 - T C O コンjugate を形成することと、

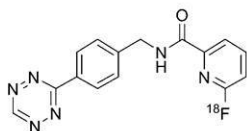
前記生体分子 - T C O コンjugate を 1 8 F 標識テトラジンと反応させて、生体分子 - T C O - テトラジン - 1 8 F 分子を形成することとを含み、前記 1 8 F 標識テトラジンは、

50

【化 19】



及び



10

からなる群から選択される、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、化合物N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミド、及びこの化合物の [^{18}F] 放射線標識バージョン、並びにこれらの化合物の薬学的に許容される塩、並びにこれらの化合物の調製のための中間体、並びにプレターゲットイメージングのためのこれらの化合物の使用方法、並びに診断イメージング (プレターゲットイメージングなど) のためのこれらの化合物の組成物及び配合物、並びにこれらの化合物、組成物、及び配合物を使用するプレターゲットイメージングの方法に関する。

20

【0002】

本発明はまた、化合物N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド、及びこの化合物の ^{18}F 標識バージョン、並びにこれらの化合物の薬学的に許容される塩、並びにこれらの化合物の調製のための中間体、並びにプレターゲットイメージングのためのこれらの化合物の使用方法、並びに診断イメージング (プレターゲットイメージングなど) のためのこれらの化合物の組成物及び配合物、並びにこれらの化合物、組成物、及び配合物を使用するプレターゲットイメージングの方法に関する。

30

【背景技術】

【0003】

歴史的に、高分子を使用したPETイメージングは、全長抗体を直接標識することで実現されてきた。抗体は絶妙な特異性及び選択性を有しているが、クリアランスが遅く脳透過性が低いためにしばしば妨げられる。抗体を用いたイメージングは、長寿命の放射性核種を利用し、非特異的なバックグラウンド信号をクリアするために、放射性免疫複合体の注射後7～10日後にイメージングが実行される。このタイムラインは臨床診療に容易に組み込まれず、治療対象を高いレベルの放射能に曝露する。通常の臨床診療への混乱及び治療対象への放射線曝露を最小限に抑えるために、プレターゲットベースのイメージングシステムが開発されている。このプレターゲットアプローチは、テトラジンとトランスシクロオクテン (TCO) 誘導体との間の双直交逆電子需要ディールス・アルダー (IEDDA) 反応に基づく2ステップのプロセスであり、高分子の特異性及び選択性、並びに短寿命の放射性核種を含む小分子の急速な薬物動態を利用する。周辺ターゲットの文献に記載されているプレターゲットイメージングの前臨床例は多数ある (J . Med . Chem . 2017 , 60 , 8201 - 8217、及び J . Label Compd . Radiopharm 2014 , 57 285 - 290を参照されたい)。

40

【0004】

抗体ベースのCNSイメージング剤の場合、血液脳関門 (BBB) には追加の課題がある。2017年、Syvanen教授ら (Uppsala University) は、トランスフェリン受容体 (TfR) を介した血液脳関門を通過する輸送を通じて、Aβ

50

ロトフィブリルを標的とする二重特異性抗体の脳への取り込みが改善されることを実証した。¹²⁴I 標識抗体を使用したその後の PET イメージング研究では、注射後 3 日で、トランスジェニックマウスと野生型マウスとの間で分布が異なることが示された。様々な脳領域の分布パターンは、A β の病理と良好な相関関係があった。Stina Syvanen et al. Theranostics, 2017; 7(2): 308 - 318 を参照されたい。Syvanen S、Fang XT、Faresjo R、Rokka J、Lannfelt L、Olberg DE、Eriksson J、Sehlin D. Fluorine-18-Labeled Antibody Ligands for PET Imaging of Amyloid- β in Brain. ACS Chem. Neurosci. 2020, 11, 4460 - 4468 も参照されたい。

10

【0005】

脳浸透性の高分子以上に、CNS プレターゲットイメージング研究を成功させるためのもう 1 つの必要条件は、脳浸透性で、急速にクリアする、反応性でありながら安定な、反応性テトラジン基を含む小分子チェイサーの可用性である。いくつかの¹¹C 及び¹⁸F 標識小分子テトラジンチェイサーは、かなりの脳への取り込みがあると報告されている (Hannes Mikula et al. Bioconjugate Chem. 2016, 27, 7, 1707 - 1712、及び Hannes Mikula et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 9655 - 9659 を参照されたい)。ただし、CNS プレターゲットイメージング研究でのそれらの適用は報告されていない。

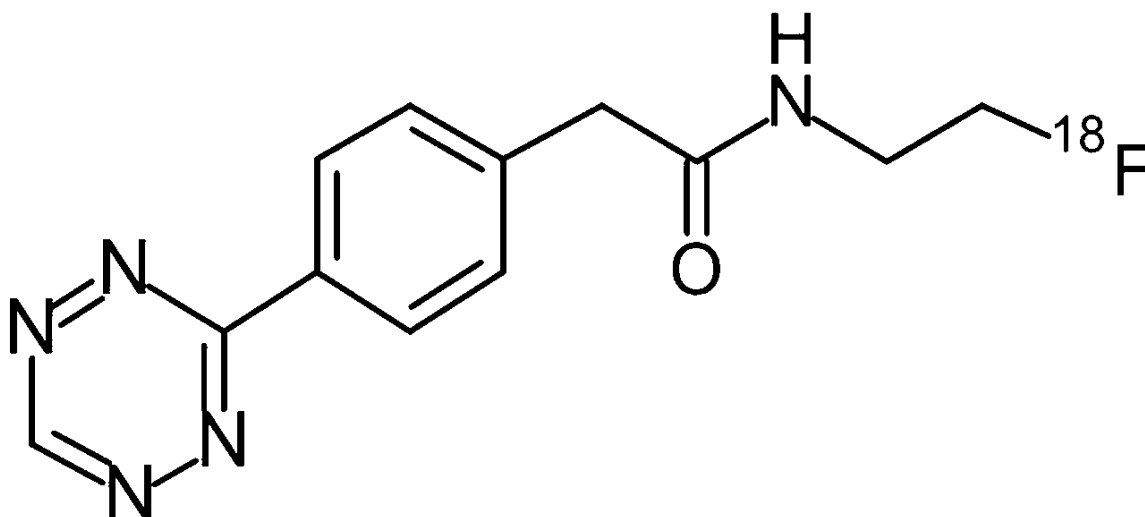
20

【0006】

2019 年、Brendon Cook 及び共同研究者は、ラットの脳におけるアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) の分布を研究するための CNS プレターゲットイメージングの最初の症例を報告した (2019 World Molecular Imaging Congress Conference, Poster 139)。ラットに 2.5 mM の ASO - TCO コンjugate を 30 μ L の生理食塩水で髄腔内投与し、続いて ASO - TCO 投与の 24 時間後及び 168 時間後、CNS 浸透性テトラジン [¹⁸F] 537 - Tz を静脈内注射した。静的 PET - CT スキャンを、[¹⁸F] 537 - Tz の投与の 75 ~ 90 分後に実行した。対照群と比較して、ASO - TCO を投与された動物の脳及び脊椎でより高い放射性トレーサの取り込みが観察された。[¹⁸F] 537 - Tz は、動的 PET イメージングにより、野生型マウスで脳への取り込み (10 分 P.I. で 1.7 $\pm$ 0.9 % ID) を示したことも報告された。この [¹⁸F] 537 - Tz 化合物は、2 - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル) - N - (2 - フルオロエチル) アセトアミドであると考えられている。

30

【化 1】



40

【0007】

50

比較すると、本明細書に開示される $[^{18}\text{F}] \text{N} - (4 - (1, 2, 4, 5 - \text{テトラジン} - 3 - \text{イル}) \text{ベンジル}) - 2 - \text{フルオロニコチンアミド}$ 及び $[^{18}\text{F}] \text{N} - (4 - (1, 2, 4, 5 - \text{テトラジン} - 3 - \text{イル}) \text{ベンジル}) - 6 - \text{フルオロピコリンアミド}$ の $\text{CD} - 1$ 雄マウスにおけるダイナミック PET イメージングは、これらの化合物が血液脳関門を容易に通過し、それぞれ $3.3 \pm 0.4\% \text{ ID/g}$ 及び $4.3 \pm 0.3\% \text{ ID/g}$ のピーク脳取り込みに達することを示した。次いで、これらの化合物は、注射後 60 分までに脳からほぼバックグラウンドレベル（筋肉）まで安定したクリアランスを示した。着実な脳への浸透及び脳からの迅速かつ完全なウォッシュアウトを備えたこれらの薬剤は、より大きなウィンドウを提供して、より高い信号対バックグラウンド比を達成し、より良好な画質をもたらす。したがって、本発明者らは、本明細書に開示される化合物が、プレターゲット CNS イメージングに利点をもたらすと期待している。

10

【0008】

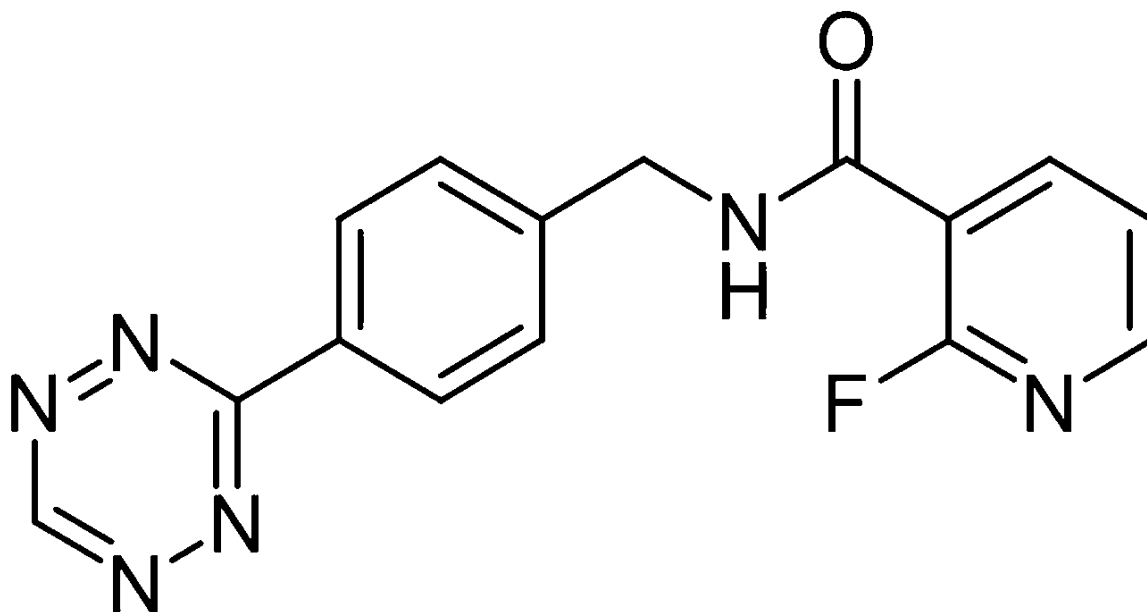
本実施形態は、新規化合物、組成物、配合物、及びプレターゲットイメージングのための方法を提供する。したがって、治療対象をイメージングする能力を向上させるこのタイプの改善された技術は、診断イメージングの臨床的利益及び影響を拡大するためにも必要である。改良されたイメージング剤は、現在知られている薬剤と比較して、強化されたプレターゲットイメージを提供する。

【0009】

本実施形態はまた、本明細書において「化合物 1」とも呼ばれる化合物 $\text{N} - (4 - (1, 2, 4, 5 - \text{テトラジン} - 3 - \text{イル}) \text{ベンジル}) - 2 - \text{フルオロニコチンアミド}$ を提供し、これは、構造的に式 I の化合物として表すことができる。

20

【化 2】



30

I

40

【0010】

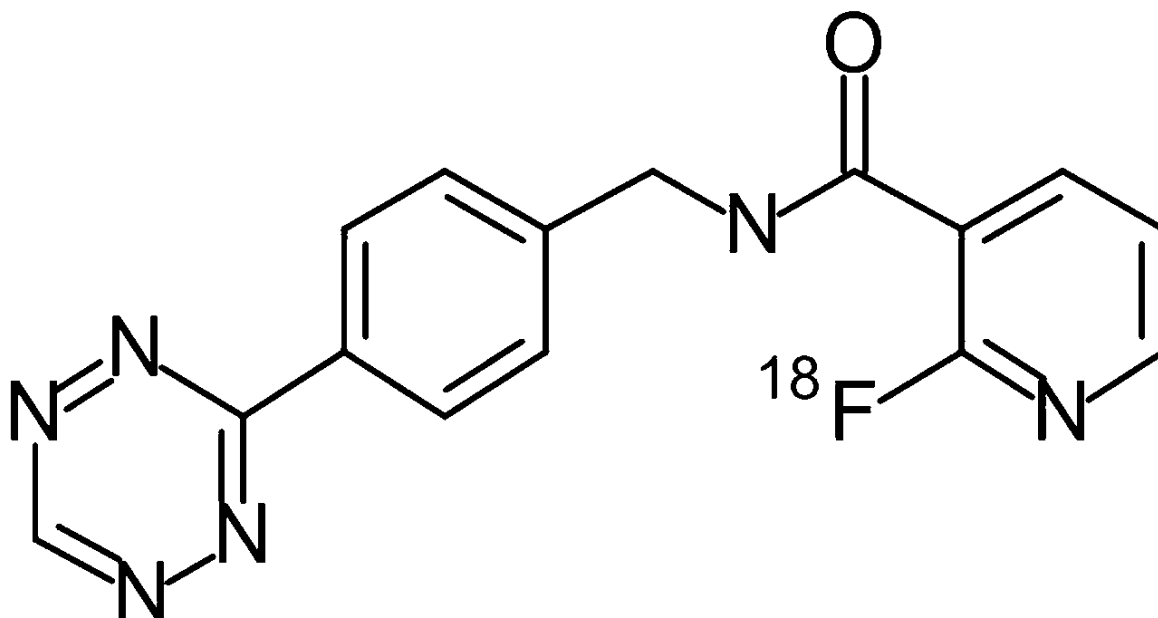
式 I の化合物は遊離塩基として上に示されている。式 I の化合物は、薬学的に許容される塩に変換されてもよく、本実施形態では塩の形態で使用され得る。

【0011】

本実施形態は、本明細書において「化合物 2」とも呼ばれる化合物、化合物 1 の ^{18}F - バージョンを提供し、これは、構造的に式 II の化合物として表すことができる。

50

【化 3】



10

20

II

【0012】

式IIの化合物は遊離塩基として上に示されている。式IIの化合物は、薬学的に許容される塩に変換されてもよく、本実施形態では塩の形態で使用され得る。

【0013】

本実施形態は、式I若しくは式IIのいずれかの薬学的に許容される塩の使用、又は遊離塩基としての化合物の使用を提供する。

30

【0014】

本実施形態は、例えば、プレターゲットイメージング剤などのイメージング剤の調製のための、式Iの化合物及び/若しくは式IIの化合物、並びに/又はそれらの混合物の使用を更に提供する。

【0015】

本実施形態は、ヒトにおけるイメージング（プレターゲットイメージング）のための放射性医薬品の製造のための、式I又はIIの化合物の使用を提供する。別の態様では、本発明は、式I又はIIの化合物を調製する方法を提供する。

【0016】

別の態様では、本実施形態は、エタノール（例えば、10% EtOH (v/v) など）及び好ましくはヒトで使用するため緩衝液（PBS緩衝液であり得る）で配合される、化合物1若しくは化合物2、又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、式I及び式IIのテトラジン部分がアスコルビン酸塩配合物によって容易に還元され得ることが見出されたので、配合物はアスコルビン酸塩又はアスコルビン酸を含まないことに留意されたい。したがって、アスコルビン酸塩配合物は、イメージングのための多くの配合物で容易に使用されるが、式I又は式IIの化合物を用いたイメージングには適さない場合がある。

40

【0017】

本発明はまた、検出可能な量の化合物1若しくは2、又はその薬学的に許容される塩、又はその組成物を治療対象に導入することを含む、プレターゲットイメージングのための

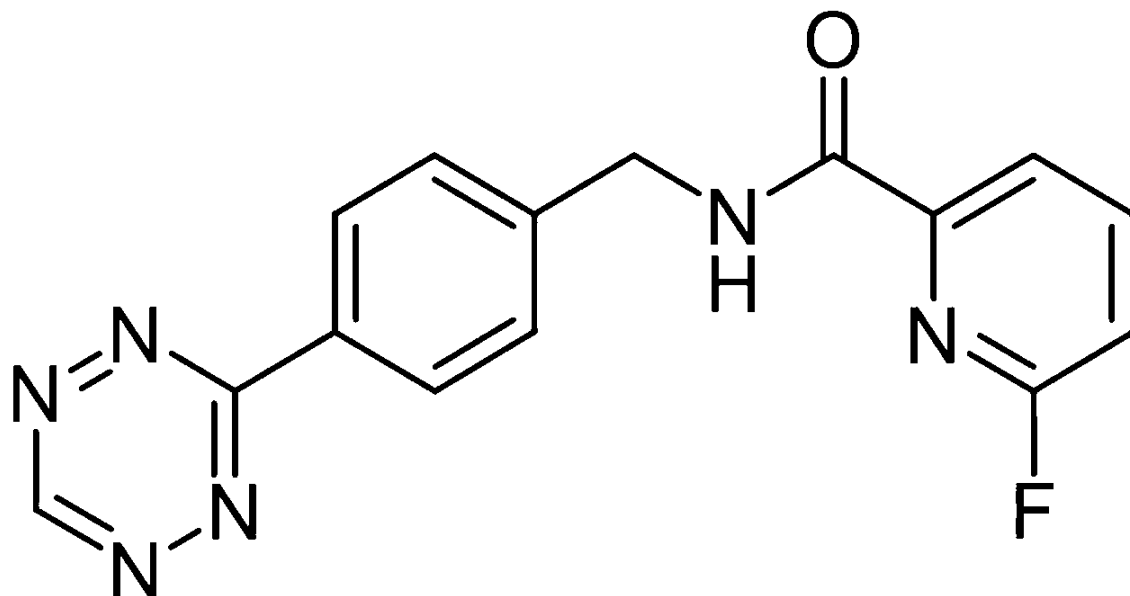
50

方法を提供する。

【 0 0 1 8 】

本実施形態はまた、本明細書において「化合物 3」とも呼ばれる N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドを提供し、これは、構造的に式 I I I の化合物として表すことができる。

【 化 4 】



III

【 0 0 1 9 】

式 I I I の化合物は遊離塩基として示されている。式 I I I の化合物は、薬学的に許容される塩に変換されてもよく、本実施形態では塩の形態で使用され得る。

【 0 0 2 0 】

本実施形態は、本明細書において「化合物 4」とも呼ばれる化合物、化合物 3 の ^{18}F - バージョンを提供し、これは、構造的に式 I V の化合物として表すことができる。

10

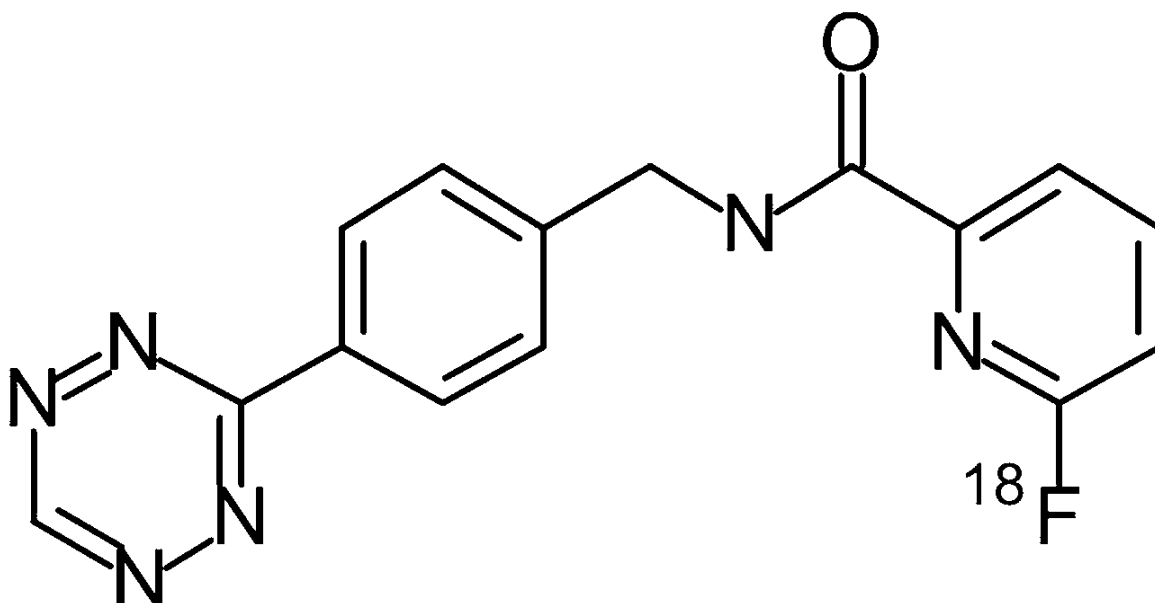
20

30

40

50

【化 5】



10

IV

20

【0021】

式IVの化合物は遊離塩基として示されている。式IVの化合物は、薬学的に許容される塩に変換されてもよく、本実施形態では塩の形態で使用され得る。

【0022】

本実施形態は、式III又はIVのいずれかの薬学的に許容される塩の使用、又は遊離塩基としての化合物の使用を提供する。

【0023】

本実施形態は、例えば、プレターゲットイメージング剤などのイメージング剤の調製のための、式IIIの化合物及び/若しくは式IVの化合物、並びに/又はそれらの混合物の使用を更に提供する。

30

【0024】

本実施形態は、ヒトにおけるイメージング（プレターゲットイメージング）のための放射性医薬品の製造のための、式III又はIVの化合物の使用を提供する。別の態様では、本発明は、式III'又はIVの化合物を調製する方法を提供する。

【0025】

別の態様では、本実施形態は、エタノール（例えば、10% EtOH (v/v) など）及び好ましくはヒトで使用するため緩衝液（PBS緩衝液であり得る）で配合される、化合物3若しくは化合物4、又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、式III及び式IVのテトラジン部分がアスコルビン酸塩配合物によって容易に還元され得ることが見出されたので、配合物はアスコルビン酸塩又はアスコルビン酸を含まないことにも留意されたい。したがって、アスコルビン酸塩配合物は、イメージングのための多くの配合物で容易に使用されるが、式III又は式IVの化合物を用いたイメージングには適さない場合がある。

40

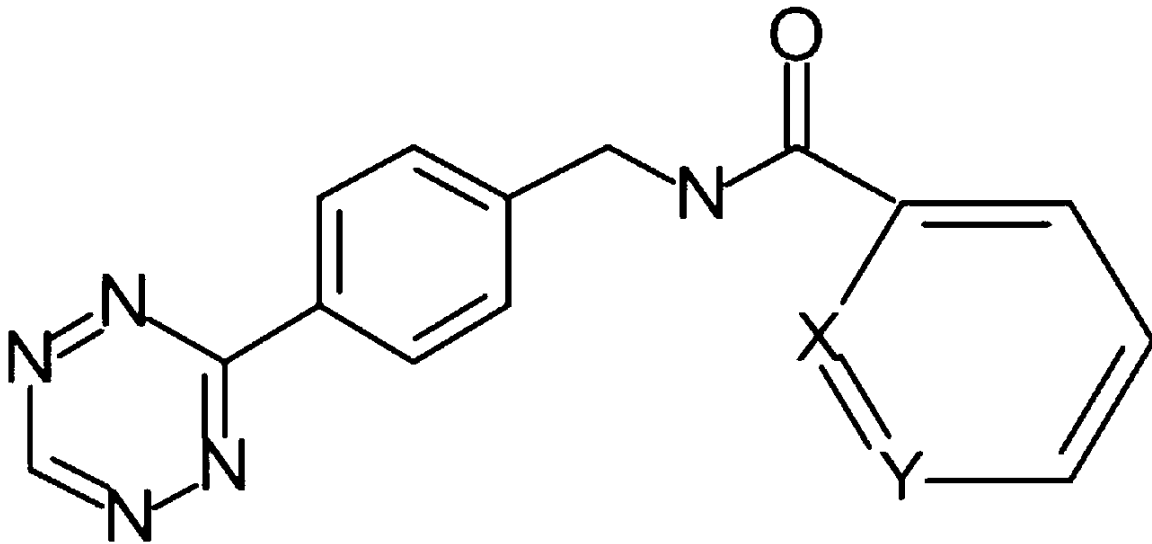
【0026】

本発明はまた、検出可能な量の化合物3若しくは4、又はその薬学的に許容される塩、又はその組成物を治療対象に導入することを含む、プレターゲットイメージングのための方法を提供する。

【0027】

50

本実施形態は、以下に構造的に表すことができる式 V の化合物：
【化 6】



V

(式中、Xは、C - F、C - ^{18}F 、又はNであってもよく、
Yは、C - F、C - ^{18}F 、又はNであってもよく、
X及びYの一方(両方ではない)は、Nであり、
XがNである場合、YはC - F又はC - ^{18}F であり、
YがNである場合、XはC - F又はC - ^{18}F である)、又はその薬学的に許容される
塩を提供する。

【0028】

当業者は、式 V が上記の化合物 1、2、3 及び 4 (並びにこれらの化合物の薬学的に許容される塩) を包含する属として表すことを理解するであろう。したがって、化合物 1、2、3 及び 4 (又は式 I ~ IV) の実施形態、並びにそれらの関連する使用、組成物、配合物などに関する上記の開示は、式 V の化合物にも同様に適用される。

【0029】

本実施形態は、式 V のいずれかの薬学的に許容される塩の使用、又は遊離塩基としての化合物の使用を提供する。

【0030】

本実施形態は、例えば、プレターゲットイメージング剤などのイメージング剤の調製のための、式 V の化合物、並びに / 又はそれらの混合物の使用を更に提供する。

【0031】

本実施形態は、ヒトにおけるイメージング(プレターゲットイメージング)のための放射性医薬品の製造のための、式 V の化合物の使用を提供する。別の態様では、本発明は、式 V の化合物を調製する方法を提供する。

【0032】

別の態様では、本実施形態は、エタノール(例えば、10% EtOH (v/v) など) 及び好ましくはヒトで使用するため緩衝液(PBS 緩衝液であり得る)で配合される、式 V の化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、式 V のテトラジン部分がアスコルビン酸塩配合物によって容易に還元され得ることが見出されたので、配合物はアスコルビン酸塩又はアスコルビン酸を含まないこと

にも留意されたい。したがって、アスコルビン酸塩配合物は、イメージングのための多くの配合物で容易に使用されるが、式Ⅴの化合物を用いたイメージングには適さない場合がある。

【 0 0 3 3 】

本発明はまた、検出可能な量の式Ⅴの化合物、又はその薬学的に許容される塩、又はその組成物を治療対象に導入することを含む、プレターゲットイメージングのための方法を提供する。

【 0 0 3 4 】

以下の調製及び実施例は、本発明の実施をよりよく説明するために提供される。これらのスキーム、調製、及び実施例のステップに対する好適な反応条件は、当該技術分野において周知であり、溶媒及び共試薬の置換を含む反応条件の適切な変更は、当業者の能力の範囲内である。

【 0 0 3 5 】

更に、当業者であれば、いくつかの状況下で、部分 (m o i e t i e s) が導入される順序が重要ではないことを認識するであろう。式Ⅰ又は式Ⅱ又は式Ⅲ又は式Ⅳの化合物を生成するのに必要なステップの特定の順番は、熟練した化学者によく理解されているように、合成される特定の化合物、出発化合物、及び置換部分の相対的な不安定性に依存する。これらの化合物は、当技術分野で周知の方法による合成の都合のよい時点で保護又は修飾することができる。本発明の中間体及び最終生成物は、必要に応じて、再結晶、又はシリカゲル若しくはアルミナなどの固体支持体上でのクロマトグラフィーなどの一般的な技術によって更に精製することができる。

【 0 0 3 6 】

本発明の化合物は、好ましくは、様々な経路によって投与される放射性医薬組成物として配合される。好ましくは、そのような組成物は、好ましくはヒトにおいて、静脈内使用のためのものである。そのような医薬組成物及びそれらを調製するためのプロセスは、当該技術分野において周知である。例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy (P. P. Gerbino, 21st ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)を参照されたい。

【 0 0 3 7 】

好ましい配合物は、化合物 1 又は化合物 2 の調製物であり得る。好ましい配合物は、化合物 3 又は化合物 4 の調製物であり得る。特に好ましいのは、本明細書に記載の手順に従って調製された化合物 1 又は化合物 2 又は化合物 3 又は化合物 4 である。化合物 1 又は化合物 2 の好ましい配合物は、例えば、10% EtOH (v/v) などのエタノール中で配合される。この配合物はまた、PBS 緩衝液などの緩衝液を含み得る。他の成分も使用することができる。化合物 3 又は化合物 4 の好ましい配合物は、例えば、10% EtOH (v/v) などのエタノール中で配合される。この配合物はまた、PBS 緩衝液などの緩衝液を含み得る。他の成分も使用することができる。

【 0 0 3 8 】

式Ⅰ及びⅡ及びⅢ及びⅣの化合物は、好ましくはヒトの臨床イメージングを含む、プレターゲットイメージングに驚くほどかつ予想外に有利であることが発見された。いくつかの実施形態では、式Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、又はⅤの化合物は、プレターゲットイメージングに使用され得る。例えば、式Ⅰ～Ⅴの化合物は、脳浸透性である可能性があり、したがって、CNS (中枢神経系) のプレターゲットイメージングのためのトレーサーとして使用され得る。いくつかの実施形態では、CNS 標的のプレターゲットイメージングは、3つ又は4つのステップで達成され得る。

【 0 0 3 9 】

1. 生物配合物 - TCO コンジュゲート (例えば、シャトル二重特異性抗体 - TCO コンジュゲート、若しくはオリゴヌクレオチド - TCO コンジュゲート) のⅠ・Ⅴ・ (静脈内) 又はⅠ・Ⅲ (髄腔内) 投与、

10

20

30

40

50

【 0 0 4 0 】

2. 生物配合物 - T C O コンジュゲートの分布及び全身性クリアランスを可能にするのに十分な時間 (日) を待つ、

【 0 0 4 1 】

3. 末梢循環生物配合物 - T C O コンジュゲートをマスクするための末梢制限テトラジンの I . V . 注射の任意選択のステップ、

【 0 0 4 2 】

4. 式 I 又は式 I I 又は式 I I I 又は式 V の式 I V の脳浸透性化合物の I . V . 投与、それに続く脳 P E T イメージング。

【 0 0 4 3 】

生物配合物 - T C O コンジュゲートの調製に関しては、そのような技術の使用は文献に公開されており (以下を参照) 、腫瘍学のプレターゲットイメージング研究で知られている。

【 0 0 4 4 】

1. Bioconjugate Chem. 2018, 29, 538 - 545 (T C O antibody conjugation; Use of clearing agent to mask circulating antibody - T C O)

【 0 0 4 5 】

2. Bioconjugate Chem. 2013, 24, 1210 - 1217 (T C O antibody conjugation)

J. Med. Chem. 2017, 60, 8201 - 8217 (T C O antibody conjugation, Pretargeting Radioligand Optimization)

【 0 0 4 6 】

オリゴヌクレオチド - T C O コンジュゲーションの場合、このタイプのコンジュゲート (T C O - P E G 4 オリゴ修飾) は、Bio - Synthesis 社 (Lewisville, Texas, USA) から市販されている。したがって、当業者は、生物配合物 - T C O コンジュゲートの調製をどのように達成するかを理解するであろう。

【 0 0 4 7 】

プレターゲットイメージングの潜在的な利点のいくつかには、放射能の送達を、高い特異性及び選択性を備えた生物配合物などのターゲットベクターから分離することによって短命の放射性核種を使用する能力、並びに治療対象の放射能への曝露を減らす能力が含まれる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 8 】

【図 1】[^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミド精製の代表的な半分取 H P L C クロマトグラムである。

【図 2】配合された [^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミドの代表的な分析用 H P L C クロマトグラムである。

【図 3】[^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド精製の代表的な半分取 H P L C クロマトグラムである。

【図 4】配合された [^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドの代表的な分析用 H P L C クロマトグラムである。

【図 5】[^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミド精製の代表的な半分取 H P L C クロマトグラムである。

【図 6】配合された [^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミドの代表的な分析用 H P L C クロマトグラムである。

【図 7】テトラジンとの M a l a t 1 A S O - T C O 反応の代表的な E S I 質量結果である。

【図 8】テトラジンの代表的な放射性微量 [^{18}F] N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テト

10

20

30

40

50

ラジン - 3 - イル)ベンジル) - 2 - フルオロピコリンアミド、[^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル)ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド、及びMalat1 ASO - TCOとの反応物である。

【0049】

以下では、特定の略語を使用する場合がある。これらの略語は次のことを意味する。「CAS番号」はChemical Abstracts Registry番号を指し、「Ci」はキュリー(複数可)を指し、「CT」はコンピュータ断層撮影を指し、「 δ 」は、核磁気共鳴分光法における化学シフトを指し、「DMF」はN, N - ジメチルホルムアミドを指し、「DMSO」はジメチルスルホキシドを指し、「DMSO - d_6 」は重水素化DMSOを指し、「ES/MS」はエレクトロスプレー質量分析を指し、「EtOH」はエタノール又はエチルアルコールを指し、「HATU」は1 - [ビス(ジメチルアミノ)メチレン] - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾロ[4, 5 - b]ピリジニウム3 - オキシドヘキサフルオロホスフェートを指し、「HPLC」は高速液体クロマトグラフィーを指し、「h」及び「hr」は時間(複数可)を指し、「min」は分(複数可)を指し、「%ID/g」はグラム当たりの注射用量%を指し、「mCi」はミリキュリー(複数可)を指し、「MHz」はメガヘルツを指し、「 μL 」はマイクロリットル(複数可)を指し、「N」は、実験における複製の数又はサンプルサイズを指し、「NMR」は核磁気共鳴を指し、「PET」は陽電子放出断層撮影を指し、「OAc」は酢酸塩を指し、「ppm」は100万分の1を指し、「s」は一重項を指し、「SEM」は平均の標準誤差を指し、「 t_R 」は保持時間を指し、「THF」はテトラヒドロフランを指す。

【0050】

一般的化学及び調製

下記の調製及び実施例は、本発明について更に例示し、本発明の化合物の典型的な合成を表す。試薬及び出発材料は、容易に入手可能であるか、又は当業者によって容易に合成され得る。調製及び実施例は、限定ではなく例示として記載されており、当業者によって様々な変更がなされ得ることを理解されたい。

【0051】

^1H 及び ^{19}F スペクトルのNMR分光分析は、Bruker Avance(商標)I I HD 400MHz NMR分光計で実行され、CDCl₃又はDMSO - d_6 溶液として得られ、残留溶媒共鳴(CDCl₃、7.26ppm; DMSO - d_6 、2.50ppm)を ^1H NMR参照標準として使用して、ppmで報告される。 ^{19}F スペクトルには参照標準は使用されない。ピーク重複度が報告される場合、下記の略語、s(一重項)、d(二重項)、t(三重項)、q(四重項)、m(多重項)、br - s(ブロードな一重項)、dd(二重の二重項)、dt(二重の三重項)が使用され得る。結合定数(J)は、報告される場合、ヘルツ(Hz)で報告される。

【0052】

ES/MSは、Waters(登録商標)Acquity UPLCシステムで実行される。エレクトロスプレー質量分析測定(ポジティブ及び/又はネガティブモードで取得)は、UPLCシステムに接続されたWaters(登録商標)Acquity QDa質量検出器で実行される。以下の実験の項で別段に指定されない限り、LC - MS条件は次のとおりである。カラム: Waters Acquity UPLC(登録商標)BEH 2.1×30mm、1.7 μ ; 波長250~650nm。次の2つの勾配のうちの1つを使用する: 勾配1: 最初は10%Bで0.5分間保持し、10~98%Bで3.5分間保持し、98%Bで0.5分間保持し、0.6分間10%Bに戻す; 勾配2: 最初は10%Bで0.5分間保持し、10~98%Bで1.5分間保持し、98%Bで0.5分間保持し、再平衡化するために10%Bに戻す。カラム温度: 40 + / - 10 ; 流量: 0.5mL/分; Aの溶媒: 0.1% HCOOHを含む脱イオン水; Bの溶媒: 100%アセトニトリル。

【0053】

もちろん、他の機器及び検出手段並びにES/MSについては当業者に知られており、

当業者には知られているであろう。

【 0 0 5 4 】

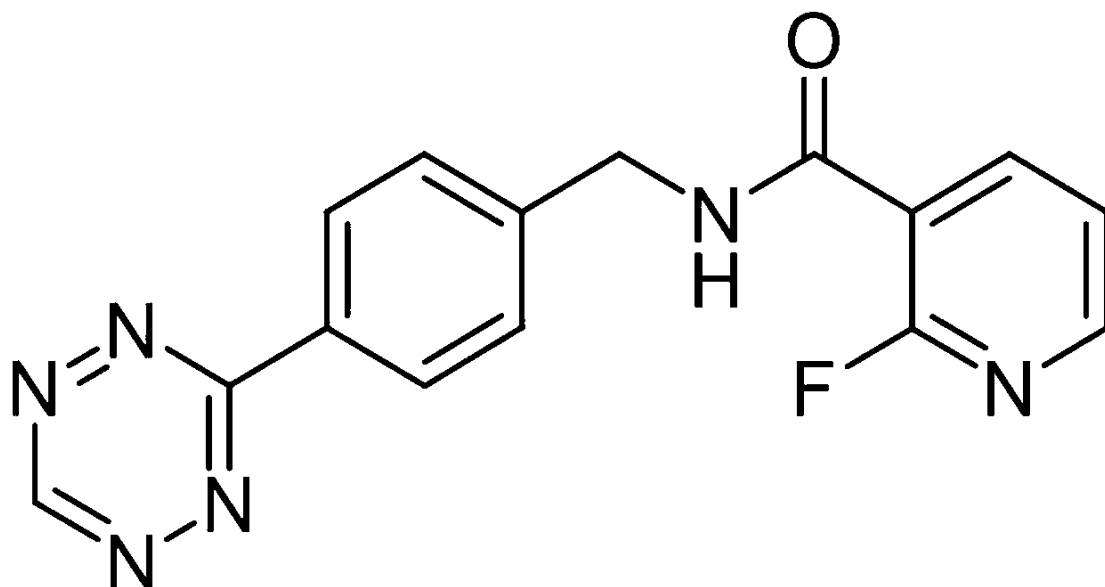
使用する場合の分取及び分析用 H P L C 条件の詳細を以下に示す。

【 0 0 5 5 】

実施例 1

N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミド

【 化 7 】



[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メタンアミン塩酸塩 (1 1 5 m g 、 0 . 5 1 m m o l 、 C l i c k C h e m i s t r y T o o l s 、 C A S 番 号 1 4 1 6 7 1 1 - 5 9 - 5) 及び 2 - フルオロピリジン - 3 - カルボン酸 (9 0 m g 、 0 . 6 4 m m o l) のジクロロメタン (6 m L) 中の攪拌溶液に、H A T U (2 6 0 m g 、 0 . 6 7 m m o l) 及び N , N - ジイソプロピルエチルアミン (0 . 2 m L 、 1 . 0 m m o l) を添加する。反応混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、有機層を飽和 N a H C O ₃ 水溶液、飽和 N a C l 水溶液で順次洗浄し、N a ₂ S O ₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮する。得られた残渣を、酢酸エチル中の 0 ~ 5 0 % ジクロロメタンの勾配で溶出するシリカ上のカラムクロマトグラフィーによって精製し、所望のクロマトグラフィー画分の溶媒蒸発後に紫色の固体として表題化合物を得る (1 5 0 m g 、収率 6 4 % 、ヘキサフルオロリン酸塩を含む) 。表題化合物を、2 0 m L のジクロロメタンに溶解し、3 × 0 . 5 M 酢酸カリウム水溶液で洗浄することによって更に精製する (7 5 m g 、 0 . 1 6 m m o l) 。得られた有機層を N a ₂ S O ₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、紫色の固体として精製された表題化合物を得る (5 1 m g) 。¹ H N M R (4 0 0 . 1 3 M H z 、 D M S O - d ₆) δ p p m : 4 . 6 3 (d 、 J = 6 . 0 H z 、 2 H) 、 7 . 5 1 ~ 7 . 4 7 (m 、 1 H) 、 7 . 6 5 (d 、 J = 8 . 6 H z 、 2 H) 、 8 . 2 6 - 8 . 2 2 (m 、 1 H) 、 8 . 3 6 - 8 . 3 9 (m 、 1 H) 、 8 . 5 1 - 8 . 4 8 (m 、 2 H) 、 9 . 1 7 - 9 . 1 2 (m 、 1 H) 、 1 0 . 5 8 (s 、 1 H) 。¹⁹ F N M R (3 7 6 . 4 5 M H z 、 D M S O - d ₆) δ p p m : - 6 7 . 6 。 E S / M S (m / z) : 3 1 1 (M + H) 。

【 0 0 5 6 】

調製物 1

2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニルピリジン - 3 - カルボン酸

10

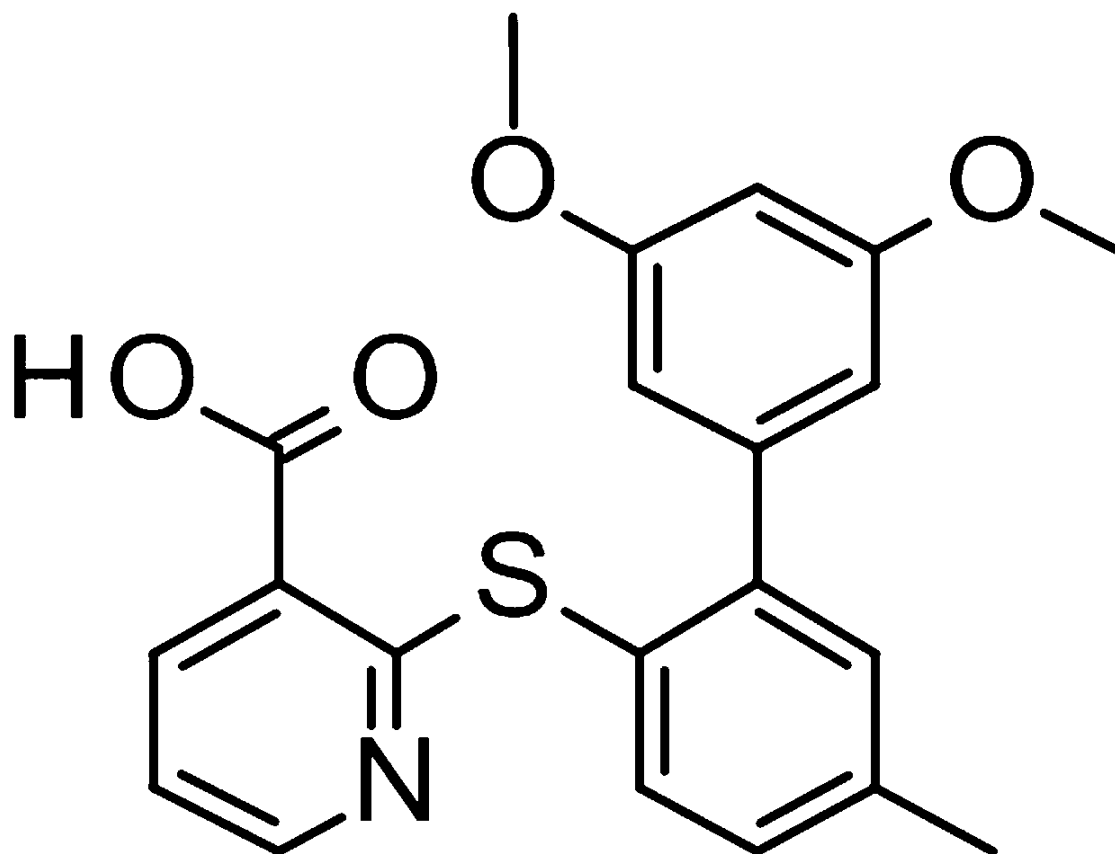
20

30

40

50

【化 8】



10

20

メチル 2 - クロロピリジン - 3 - カルボキシレート (3 8 0 m g 、 2 . 2 m m o l) 及び 2 - エチルヘキシル 3 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニルプロパノエート (9 0 0 m g 、 2 . 0 m m o l) 、 トリス (ジベンジリデンアセトン) ジパラジウム (0) (1 8 0 m g 、 0 . 2 0 m m o l) 及び 4 , 5 - ビス (ジフェニルホスフィノ) - 9 , 9 - ジメチルキサンテン (2 3 0 m g 、 0 . 4 0 m m o l) の 1 , 4 - ジキソアン (8 m L) 中の溶液を、 N₂ で 5 分間バブリングし、 T H F 中のカリウム *tert* - ブトキシドの 1 M 溶液 (2 . 2 0 m L 、 2 . 2 0 m m o l) を添加する。反応混合物を密封し、 1 0 0 °C まで一晩加熱する。反応混合物を室温に冷却し、 1 N N a O H 水溶液 (6 m L) を添加する。得られた混合物を室温で 2 ~ 3 時間攪拌し、水 (3 0 m L) で希釈し、酢酸エチル (2 × 3 0 m L) で抽出する。水層を 1 N H C l 水溶液で p H 約 1 に中和し、酢酸エチル (2 × 3 0 m L) で抽出する。有機層を合わせ、飽和 N a C l 水溶液で洗浄し、 N a₂ S O₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮する。得られた残渣を、酢酸エチル中 0 ~ 1 0 0 % ヘキサンの勾配で溶出するシリカ上のカラムクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物 (2 7 0 m g 、 収率 3 3 %) を黄色固体として得る。 E S / M S (m / z) : 3 8 2 [M + H] 。

30

40

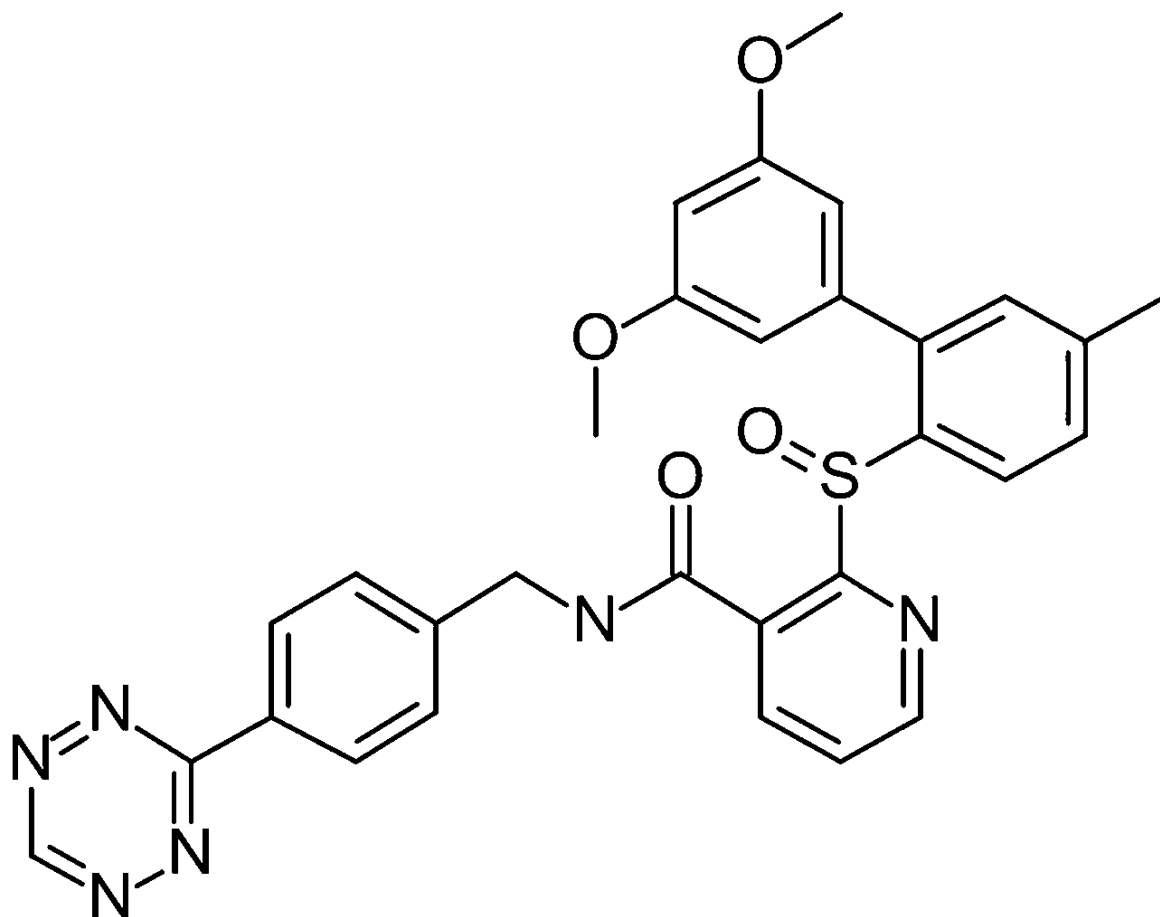
【 0 0 5 7 】

調製物 2

2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルフィニル - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミド

50

【化 9】



2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニルピ
リジン - 3 - カルボン酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 6 m m o l) 及び [4 - (1 , 2 , 4 , 5
- テトラジン - 3 - イル) フェニル] メタンアミン塩酸塩 (5 9 m g 、 0 . 2 6 m m o l
、 C l i c k C h e m i s t r y T o o l s 、 C A S 番 号 1 4 1 6 7 1 1 - 5 9 - 5)
及び H A T U (1 2 2 m g 、 0 . 4 1 m m o l) のジクロロメタン (2 . 6 m L) 中の攪
拌溶液に、N , N - ジイソプロピルエチルアミン (1 2 0 μ L 、 0 . 6 7 m m o l) を添
加する。反応混合物を室温で一晩攪拌する。揮発性物質を減圧下で除去する。得られた残
渣を酢酸エチル (5 0 m L) に溶解し、0 . 5 M K H C O ₃ 水溶液 (2 $\times$ 3 0 m L) 及
び飽和 N a C l 水溶液 (3 0 m L) で順次洗浄する。有機抽出物を N a ₂ S O ₄ で乾燥さ
せ、濾過し、減圧下で濃縮する。得られた残渣をシリカゲル上のクロマトグラフィー (0
~ 1 0 0 % ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製して、2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシ
フェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニル - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テ
トラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミド (1 2 1 m g 、
収率 8 4 %) をピンク色の泡状物として得る。

【 0 0 5 8 】

2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニル -
N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン -
3 - カルボキサミド (1 2 1 m g 、 0 . 2 2 m m o l) のジクロロメタン (2 . 5 m L)
中の攪拌溶液に、3 - クロロペルオキシ安息香酸 (純度 7 7 % 、 3 6 m g 、 0 . 1 6 m m
o l) を添加する。混合物を室温で 3 0 分間攪拌し、減圧下で濃縮する。得られた残渣を
、 0 ~ 1 0 0 % ヘキサン / 酢酸エチルの勾配で溶出するシリカゲル上のクロマトグラフィー
によって精製して、2 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニ
ル] スルフィニル - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル]
メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミド (9 1 m g 、 0 . 1 6 m m o l 、 収率 7 3 %) を

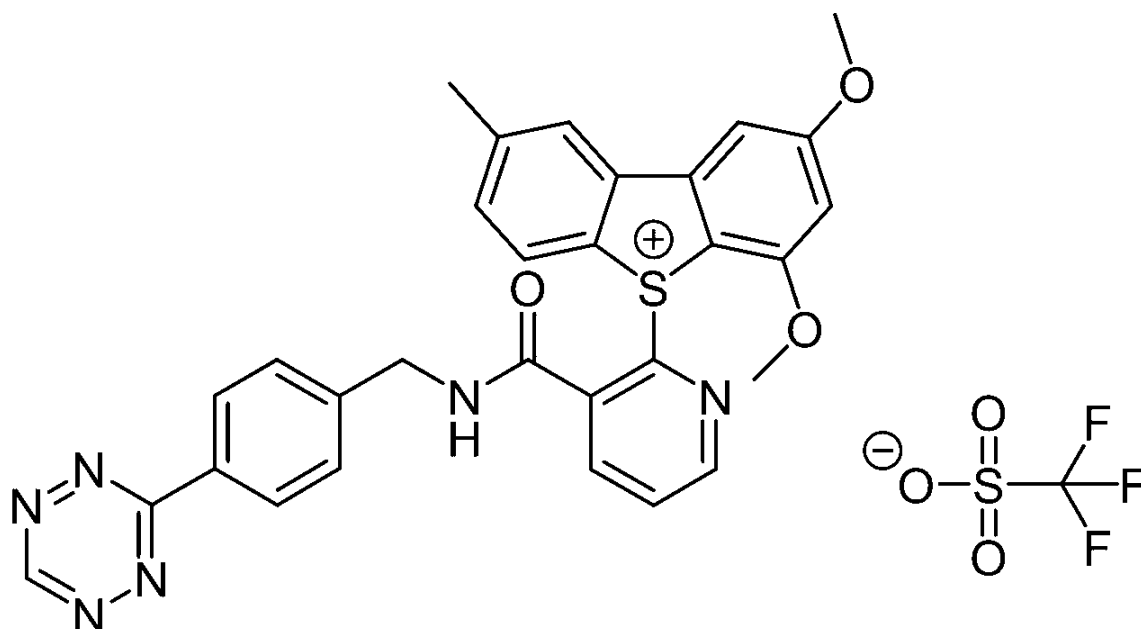
ピンク色の泡状物として得る： ^1H NMR (400.13 MHz)、DMSO- d_6) δ ppm: 2.39 (s, 3H)、3.69 (s, 6H)、4.60 - 4.42 (m, 2H)、6.50 - 6.46 (m, 3H)、7.19 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H)、7.36 - 7.33 (m, 1H)、7.59 - 7.56 (m, 5H)、8.10 - 8.07 (m, 1H)、8.43 (d, $J = 8.5$, 2H)、8.69 - 8.67 (m, 1H)、9.08 (t, 1H)、10.56 (s, 1H)。ES/MS (m/z): 567 ($M + H$)。

【0059】

調製物 3

2 - (2, 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - ジベンゾチオフェン - 5 - イウム - 5 - イル) - N - [[4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミドトリフルオロメタンスルホネート

【化10】



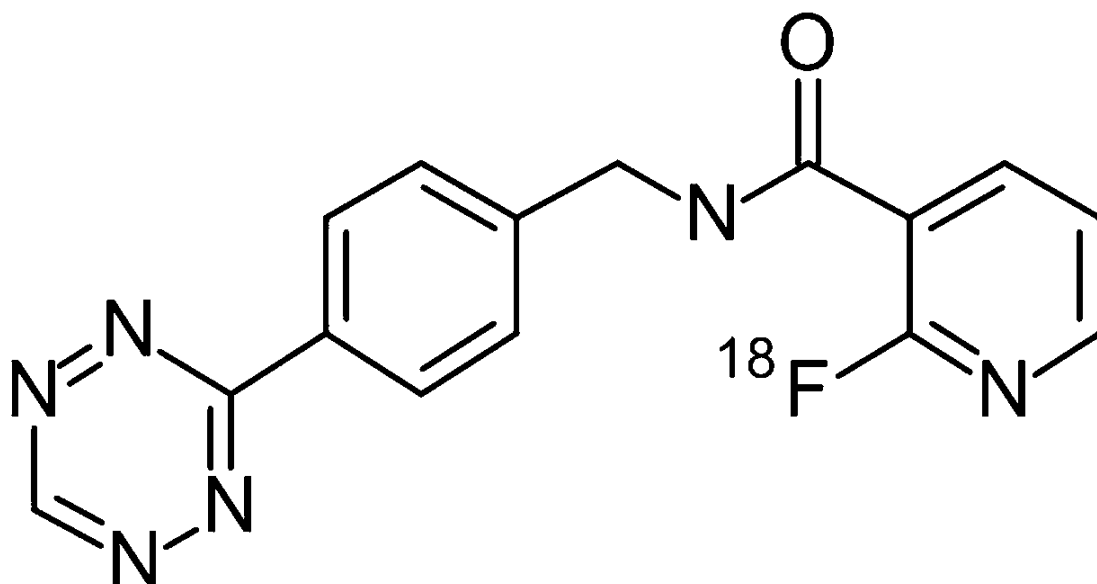
2 - [2 - (3, 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルフィニル - N - [[4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミド (25 mg, 0.04 mmol) 及びジエチルアミノポリスチレン (3.2 mmol/g, 100 mg, 0.32 mmol) の 0 に冷却したジクロロメタン (3 mL) 中の攪拌スラリーに、トリフルオロメタンスルホン酸無水物のジクロロメタン (150 μL , 0.15 mmol) 中の 1 M 溶液を添加する。反応混合物を室温まで温め、30 分間攪拌し、水を一滴加えて反応をクエンチする。混合物を濾過し、固体をジクロロメタンで洗浄する。合わせた濾液を減圧下で濃縮し、得られた残渣を、ジクロロメタン中 0 ~ 15 % メタノールの勾配を使用したシリカゲル上のクロマトグラフィーで精製して、表題化合物 (10 mg, 0.014 mmol, 収率 32%) を紫色の固体として得る： ^1H NMR (400.13 MHz、DMSO- d_6) δ ppm: 2.46 (s, 3H)、3.86 (s, 3H)、4.03 (s, 3H)、4.94 - 4.81 (m, 2H)、6.43 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)、7.45 - 7.42 (m, 1H)、7.67 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)、7.80 (d, 8.5 Hz, 2H)、7.91 - 7.88 (m, 1H)、8.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)、8.28 (s, 1H)、8.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H)、8.60 ~ 8.59 (m, 1H)、8.73 ~ 8.70 (m, 1H)、10.30 (t, 1H)、10.61 (s, 1H)。 ^{19}F NMR (376.45 MHz、DMSO- d_6) δ ppm: -77.7。ES/MS (m/z): 549 (M^+)。

【 0 0 6 0 】

実施例 2

[^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フル
オロニコチンアミド

【 化 1 1 】



表題化合物放射線合成の典型的な放射化学収率は、0.435 ~ 1.442 Ci の開始活性を使用し、合成時間 50 分で、 $3.6 \pm 1.34\%$ (N = 3) である。

【 0 0 6 1 】

[^{18}F] フッ化物活性 (0.435 ~ 1.442 Ci) は、Sep - Pak Accell Plus QMA Plus ライトカートリッジ (130 mg、37 ~ 55 μm 、Waters 部品番号 WAT023525 ; 注射用水 5 mL で事前調整済み) で維持され、アセトニトリルを含有する 0.8 mL の重炭酸テトラエチルアンモニウム水溶液 [水 (0.2 mL) 及びアセトニトリル (0.6 mL)] 中の重炭酸テトラエチルアンモニウム (3.5 mg)] を使用して TRACERlab Fx_{F-N} 反応容器内に溶出される。溶出した活性物質を 70 ° に加熱し、圧縮窒素ガスパージ及び真空下で 5 分間乾燥させる。次いで温度を 100 ° に上げ、真空下で 5 分間保持すると、[^{18}F] テトラエチルアンモニウムフルオリドが得られる。反応器を 35 ° に冷却し、無水 DMSO (1 mL) 中の 2 - (2 , 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - ジベンゾチオフェン - 5 - イウム - 5 - イル) - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5) - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 3 - カルボキサミドトリフルオロメタンスルホネート (1 mg、1.43 μmol) の溶液を添加する。温度を 40 ° に上げ、反応混合物を 40 ° で 5 分間維持する。次いで、混合物を水中の 0.1 % (v/v) トリフルオロ酢酸 3.5 mL で希釈し、得られた粗反応混合物を精製のために半分取 HPLC カラムに装填する (条件は図 1 に列挙されている) 。精製された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミドを含む HPLC 画分 (図 1) を、40 mL の水を含むバイアル内に収集し、Sep - Pak (登録商標) Light 1cc Vac C18 カートリッジ (50 mg、55 ~ 105 μm 、Waters 部品番号 WAT054955 ; 5 mL の EtOH 及び 5 mL の水で連続的に前処理済み) に装填する。維持された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミドを 0.5 mL の EtOH を使用して溶出し、リン酸緩衝食塩水中の 10 % (v/v) EtOH の 5 mL の配合物に再構成する。得られた [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミドの量は、0.014 ~ 0.033 Ci の範囲であった。配合された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 ,

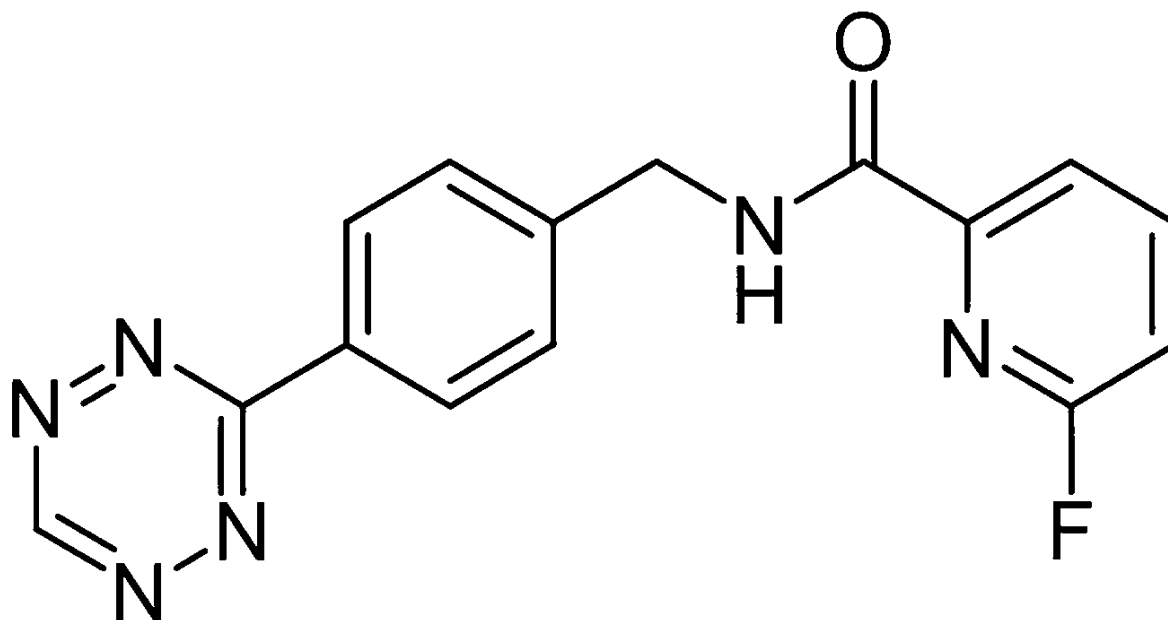
4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 2 - フルオロニコチンアミドの代表的な分析 HPLC を図 2 に示す。

【0062】

実施例 3

N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド

【化12】



[4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メタンアミン塩酸塩 (60 mg、0.27 mmol、Click Chemistry Tools、CAS 番号 1416711-59-5) 及び 6 - フルオロピリジン - 2 - カルボン酸 (45 mg、0.32 mmol) のジクロロメタン (4 mL) 中の混合物に、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (150 μ L、0.86 mmol)、続いて HATU (135 mg、0.35 mmol) を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌する。得られたピンク色のスラリーをジクロロメタンと 1 M クエン酸水溶液との間で分配する。層を分離し、水相をジクロロメタン (3 $\times$ 10 mL) で抽出する。合わせた有機抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、シリカゲル上で減圧下で濃縮する。得られた残渣を、溶離液としてジクロロメタン / 酢酸エチルの勾配で溶出するシリカゲル上のクロマトグラフィーによって精製して、フルオロリン酸塩で汚染された粗表題化合物を得る。粗生成物をジクロロメタン (10 mL) に溶解し、0.5 M 酢酸カリウム水溶液 (2 $\times$ 10 mL) で洗浄する。有機抽出物を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、純粋な表題化合物 (64 mg、収率 77%) をマゼンタの固体として得る：¹H NMR (400.13 MHz、DMSO - d₆) δ ppm : 4.62 (d、J = 6.2 Hz、2 H)、7.45 - 7.43 (m、1 H)、7.61 (d、J = 8.8 Hz、2 H)、8.02 - 7.99 (m、1 H)、8.20 (q、1 H)、8.46 (d、J = 8.5 Hz、2 H)、9.39 (t、1 H)、10.56 (s、1 H)。¹⁹F NMR (376.45 MHz、DMSO - d₆) δ ppm : -68.0。ES / MS (m / z) : 311 (M + H)。

【0063】

調製物 4

6 - [2 - (3, 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチルフェニル] スルファニルピリジン - 2 - カルボン酸

10

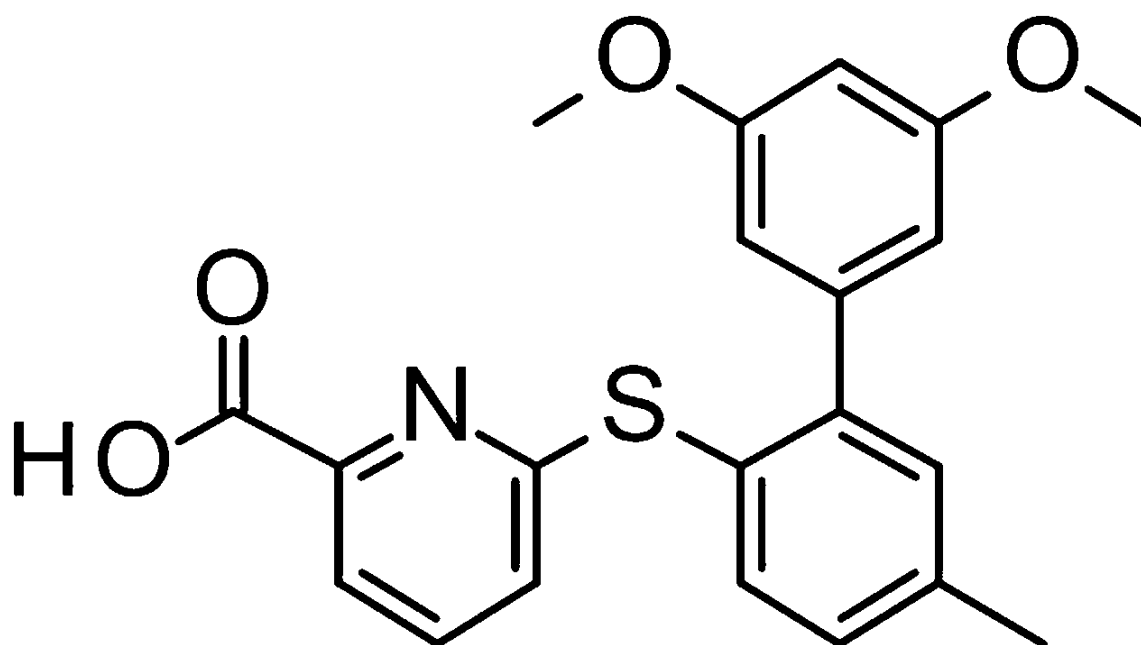
20

30

40

50

【化 1 3】



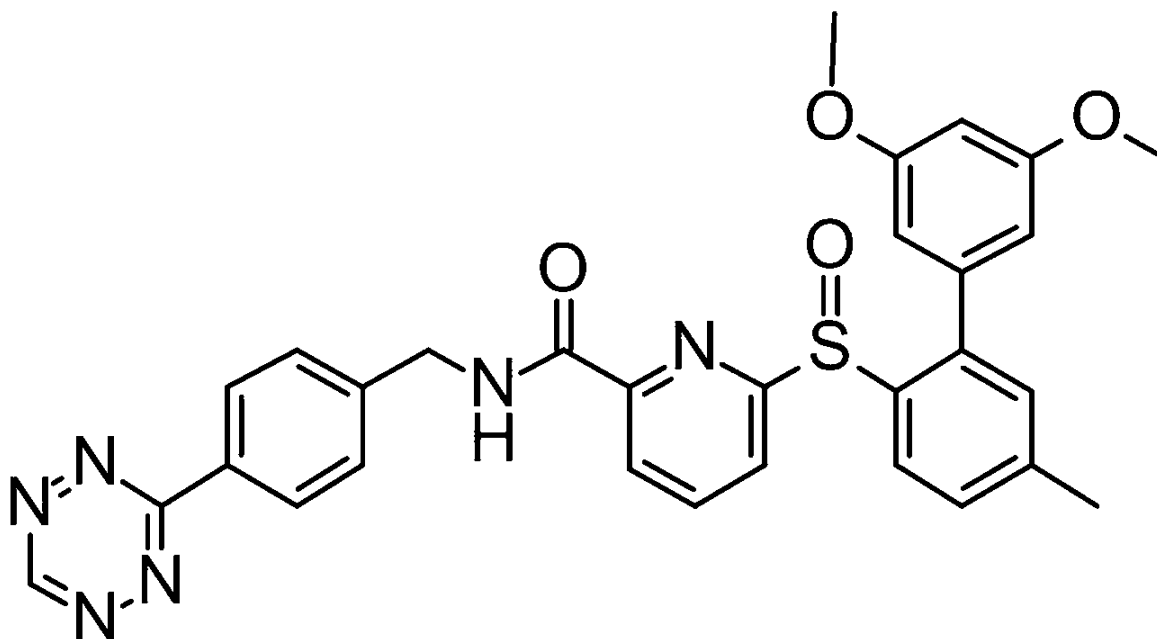
トリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（0）（312 mg、0.33 mmol）及びビス（2-ジフェニルホスフィノフェニル）エーテル（365 mg、0.66 mmol）のN,N-ジメチルアセトアミド（15 mL）中の溶液に、メチル6-ブロモピリジン-2-カルボキシレート（1.71 g、8.0 mmol）、2-エチルヘキシル3-[2-（3,5-ジメトキシフェニル）-4-メチル-フェニル]スルファニルプロパノエート（3.0 g、6.6 mmol）及びカリウムtert-ブトキシド（2.3 g、19.8 mmol）のN,N-ジメチルアセトアミド（20 mL）中の溶液を添加する。混合物をN₂下、120℃で6時間撹拌し、より小規模な反応（N,N-ジメチルアセトアミド中の2-エチルヘキシル3-[2-（3,5-ジメトキシフェニル）-4-メチル-フェニル]スルファニルプロパノエート（100 mg、0.22 mmol）及びメチル6-ブロモピリジン-2-カルボキシレート（58 mg、0.27 mmol）を使用）と組み合わせる。反応混合物を2 M NaOH水溶液（10 mL）で処理し、40℃で1時間撹拌する。混合物を水（70 mL）で希釈し、EtOAc（30 mL）で抽出し、有機層を廃棄する。1 N HCl水溶液を加えて水相をpH約3に調整する。酸性化した混合物をEtOAc（2×30 mL）で抽出する。合わせた有機抽出物をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮する。得られた残渣を分取HPLC（カラム：YMC-Triart C18、250×50 mm、7 μm）により精製し、0.225%ギ酸を含む水中40%～80%アセトニトリルの勾配で25分間溶出する。所望の画分を凍結乾燥して、表題化合物（1.49 g、収率53%）を黄色固体として得る。ES/MS（m/z）：382 [M+H]。ES/MS条件：LC（低pH）：ES/MSは、Shimadzu LCMS 2020液体クロマトグラフィーシステムで実行される。エレクトロスプレー質量分析測定（ポジティブモードで取得）は、LCシステムに接続されたスキャンモード四重極質量分析で実行される。LC-MSカラム：Xtimate（登録商標）C18 2.1×30 mm、3 μm、勾配：10～80%B 3分、80%B 0.5分、カラム温度：50℃、流速：1.2 mL/分、溶媒A：0.037%ギ酸を含む脱イオン水、溶媒B：0.018%ギ酸を含むアセトニトリル、波長UV 220 nm及び254 nm。

【0064】

調製物5

6-[2-（3,5-ジメトキシフェニル）-4-メチル-フェニル]スルフィニル-N

- [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン - 2
 - カルボキサミド
 【化 1 4】



6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニルピ
 リジン - 2 - カルボン酸 (1 5 0 m g 、 0 . 3 9 m m o l) 及び [4 - (1 , 2 , 4 , 5
 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メタンアミン塩酸塩 (9 0 m g 、 0 . 4 0 m m o l
 、 Click Chemistry Tools 、 CAS 番号 1 4 1 6 7 1 1 - 5 9 - 5)
 のジクロロメタン (4 m L) 中の攪拌溶液に、HATU (1 9 0 m g 、 0 . 4 9 m m o l
) 及び N , N - ジイソプロピルエチルアミン (0 . 1 4 m L 、 0 . 8 0 m m o l) を添加
 する。混合物を室温で一晩攪拌する。反応混合物を減圧下で部分容積まで濃縮し、3 0 m
 L の酢酸エチルで希釈し、0 . 5 M K H C O ₃ 水溶液 (2 回) 及び飽和 N a C l 水溶液
 (1 回) で順次洗浄し、N a ₂ S O ₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮する。得られた
 残渣を、ヘキサン中 0 ~ 9 0 % 酢酸エチルの勾配で溶出するシリカ上のカラムクロマトグ
 ラフィーによって精製して、6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル -
 フェニル] スルファニル - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェ
 ニル] メチル] ピリジン - 2 - カルボキサミド (1 8 0 m g 、 収率 8 5 %) を紫色の泡状
 固体として得る。E S / M S (m / z) : 5 5 1 (M + H) 。

【 0 0 6 5 】

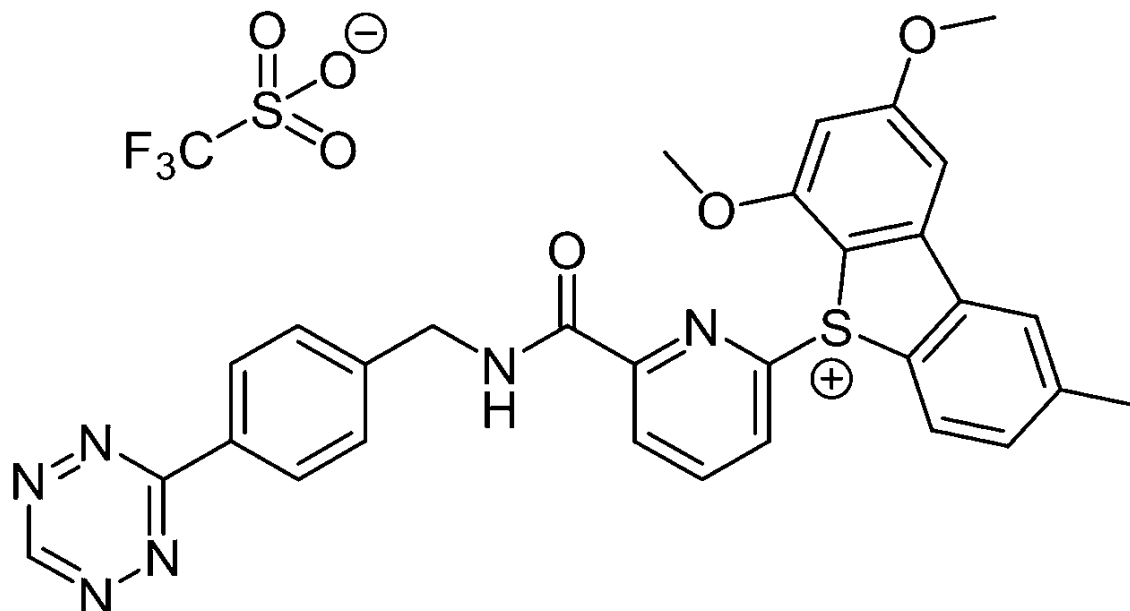
6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニル -
 N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン -
 2 - カルボキサミド (1 8 0 m g 、 0 . 3 3 m m o l) のジクロロメタン (1 0 m L) 中
 の攪拌溶液に、3 - クロロペルオキシ安息香酸 (純度 7 7 % 、 7 3 m g 、 0 . 3 3 m m o
 l) を添加する。得られた混合物を室温で 2 ~ 3 時間攪拌する。混合物を、ヘキサン中 0
 ~ 1 0 0 % 酢酸エチルの勾配で溶出するシリカ上のカラムクロマトグラフィーによって精
 製して、表題化合物 (1 6 7 m g 、 収率 9 9 %) を紫色の泡状固体として得る。E S / M
 S (m / z) : 5 6 7 (M + H) 。

【 0 0 6 6 】

調製物 6

6 - (2 , 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - ジベンゾチオフェン - 5 - イウム - 5 - イル)
 - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン
 - 2 - カルボキサミドトリフルオロメタンスルホネート

【化 15】



10

6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルフィニル -
 N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メチル] ピリジン -
 2 - カルボキサミド (88 mg、0.16 mmol) 及びポリマー担持トリエチルアミン
 (0.4 g、1 mmol、3.2 mmol / g) の 0 のジクロロメタン (8 mL) 中の
 攪拌懸濁液に、トリフルオロメタンスルホン酸無水物のジクロロメタン中の 1 M 溶液 (0
 . 42 mL、0.42 mmol) を添加する。混合物を室温で 30 分間攪拌し、水の滴下
 により反応をクエンチする。得られた懸濁液を濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、減圧下
 で濃縮する。得られた残渣を、ジクロロメタン中の 0 ~ 15 % メタノールの勾配で溶出す
 るシリカ上のカラムクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物 (91 mg、収率
 81 %) を紫色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz、DMSO - d₆) δ
 ppm : 2.49 (s、3 H)、4.01 - 4.00 (m、6 H)、4.75 - 4.63
 (m、2 H)、5.75 (s、1 H)、7.01 (d、J = 2.1 Hz、1 H)、7.
 62 - 7.59 (m、3 H)、7.76 - 7.72 (m、2 H)、8.23 (t、J = 7
 . 8 Hz、1 H)、8.30 (dd、J = 0.9、7.8 Hz、1 H)、8.37 - 8
 . 34 (m、1 H)、8.44 (d、J = 8.3 Hz、1 H)、8.55 - 8.52 (m、2 H)、9.12 - 9.08 (m、1 H)、10.61 (s、1 H)。¹⁹F NMR
 (376 MHz、DMSO - d₆) δ ppm : - 77.7。ES / MS (m / z) : 5
 49 (M⁺)。

20

30

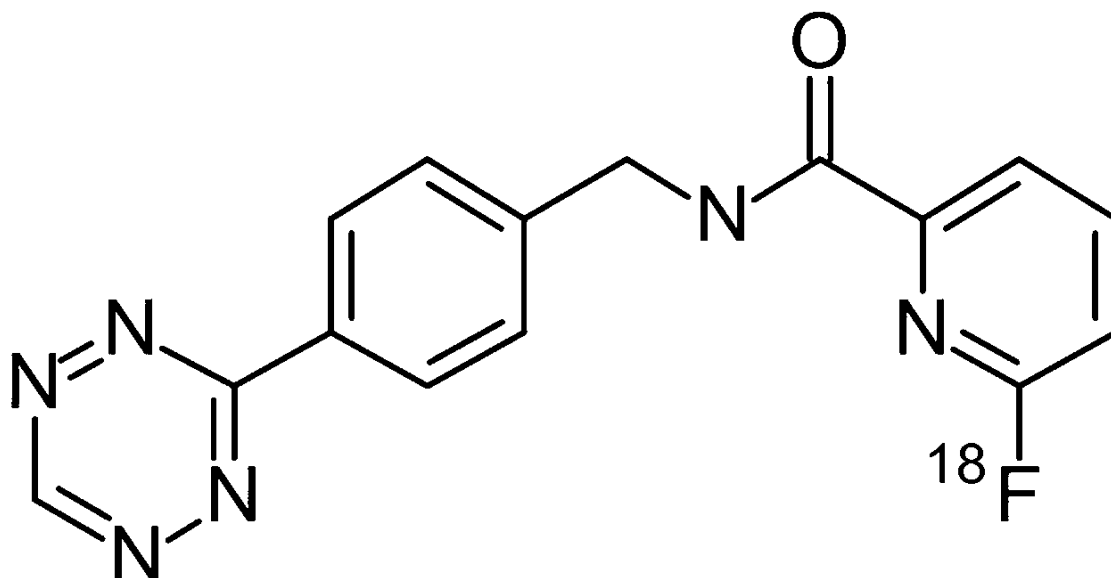
【 0067】

実施例 4

[¹⁸F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フル
 オロピコリンアミド

40

【化 16】



〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フ
ルオロピコリンアミド放射線合成の典型的な放射化学収率は、0.675 ~ 1.327 Ci
を使用し、剛性時間 45 ~ 50 分で、 $18.5 \pm 4.6\%$ ($\text{N} = 6$) である。

【0068】

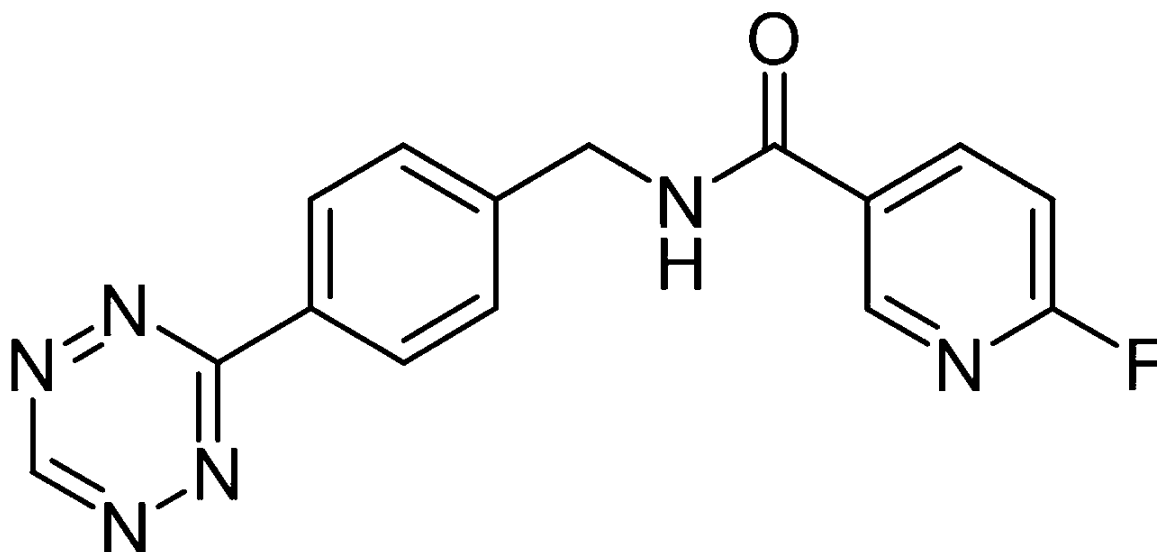
〔 ^{18}F 〕フッ化物活性 (0.195 ~ 1.475 Ci) は、Sep - Pak Accel
11 Plus QMA Plus ライトカートリッジ (130 mg、37 ~ 55 μm 、W
aters 部品番号 WAT023525 ; 注射用水 5 mL で事前調整済み) で維持され、
0.8 mL の重炭酸テトラエチルアンモニウム水溶液 [水 (0.2 mL) 及びアセトニ
リル (0.6 mL) 中の重炭酸テトラエチルアンモニウム (3.5 mg)] を使用して T
RACERlab Fx_{F-N} 反応容器内に溶出される。溶出した活性物質を 70 ° に加熱
し、圧縮窒素ガスパージ及び真空下で 5 分間乾燥させる。温度を 100 ° に上げ、真空下
で 5 分間保持すると、〔 ^{18}F 〕テトラエチルアンモニウムフルオリドが得られる。1 mL
の無水 DMSO を反応器に添加し、反応器を 35 ° に冷却する。〔 ^{18}F 〕テトラエチ
ルアンモニウムフルオリド溶液を、6 - (2 , 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - ジベンゾチ
オフェン - 5 - イウム - 5 - イル) - N - [[4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 -
イル) フェニル] メチル] ピリジン - 2 - カルボキサミドトリフルオロメタンスルホネー
ト (1 mg、1.43 μmol) の無水 DMSO (0.2 mL) 中の溶液を含む TRAC
ERlab 注入バイアル (RV2) 内に移し、室温で 5 分間保持する。混合物を 3.5 mL
の水中 0.1% (v / v) トリフルオロ酢酸水溶液で希釈し、得られた粗反応混合物を
精製のために半分取 HPLC カラムに装填する (条件は図 3 に列挙される)。精製された
〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フル
オロピコリンアミドを含む HPLC 画分 (図 3) を、40 mL の水を含むバイアル内に収
集し、Sep - Pak (登録商標) Light 1 cc Vac C18 カートリッジ (5
0 mg、55 ~ 105 μm 、Waters 部品番号 WAT054955 ; 5 mL の EtOH
及び 5 mL の水で事前調整済み) に装填する。維持された〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 ,
2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドを 0.5
mL の EtOH を使用して溶出し、リン酸緩衝食塩水中の 10% (v / v) EtOH の 5
mL の配合物に再構成する。得られた〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジ
ン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドの量は、0.0085 ~ 0.0
66 Ci の範囲であった。配合された〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジ
ン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドの代表的な分析用 HPLC を図
4 に示す。

【 0 0 6 9 】

比較参考：例 5

N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミド

【 化 1 7 】



【 4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル 】メタンアミン塩酸塩 (6 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l 、 C l i c k C h e m i s t r y T o o l s 、 C A S 番 号 1 4 1 6 7 1 1 - 5 9 - 5) 及 び 6 - フルオロピリジン - 3 - カルボン酸 (4 6 m g 、 0 . 3 3 m m o l) のジクロロメタン (4 m L) 中 の 攪 拌 溶 液 に 、 H A T U (1 3 5 m g 、 0 . 3 5 m m o l) 及 び N , N - ジイソプロピルエチルアミン (0 . 1 m L 、 0 . 5 7 m m o l) を 添 加 す る 。 反 応 混 合 物 を 室 温 で 一 晩 攪 拌 す る 。 反 応 混 合 物 を 濃 縮 し 、 酢 酸 エ チ ル で 希 釈 し 、 有 機 層 を 飽 和 N a H C O ₃ 水 溶 液 、 飽 和 N a C l 水 溶 液 で 順 次 洗 浄 し 、 N a ₂ S O ₄ で 乾 燥 さ せ 、 濾 過 し 、 減 圧 下 で 濃 縮 す る 。 得 ら れ た 残 渣 を 、 酢 酸 エ チ ル 中 の 0 ~ 5 0 % ジクロロメタンの勾配で溶出するシリカ上のカラムクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物を紫色の固体として得る (1 8 m g 、 0 . 0 6 m m o l) 。

¹ H N M R (4 0 0 . 1 3 M H z 、 C D C l ₃) : 4 . 8 1 (d 、 J = 5 . 9 H z 、 2 H) 、 6 . 6 1 - 6 . 5 6 (m 、 1 H) 、 7 . 0 6 (d d 、 J = 2 . 1 、 8 . 4 H z 、 1 H) 、 7 . 6 2 (d 、 J = 8 . 1 H z 、 2 H) 、 8 . 3 5 - 8 . 3 0 (m 、 1 H) 、 8 . 6 9 - 8 . 6 4 (m 、 3 H) 、 1 0 . 2 4 (s 、 1 H) 、 ¹⁹ F N M R (3 7 6 . 4 5 M H z 、 C D C l ₃) δ p p m : - 6 2 . 8 。 E S / M S (m / z) : 3 1 1 [M + H] ⁺ 。

【 0 0 7 0 】

調製物 7

6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチル - フェニル] スルファニルピリジン - 3 - カルボン酸

10

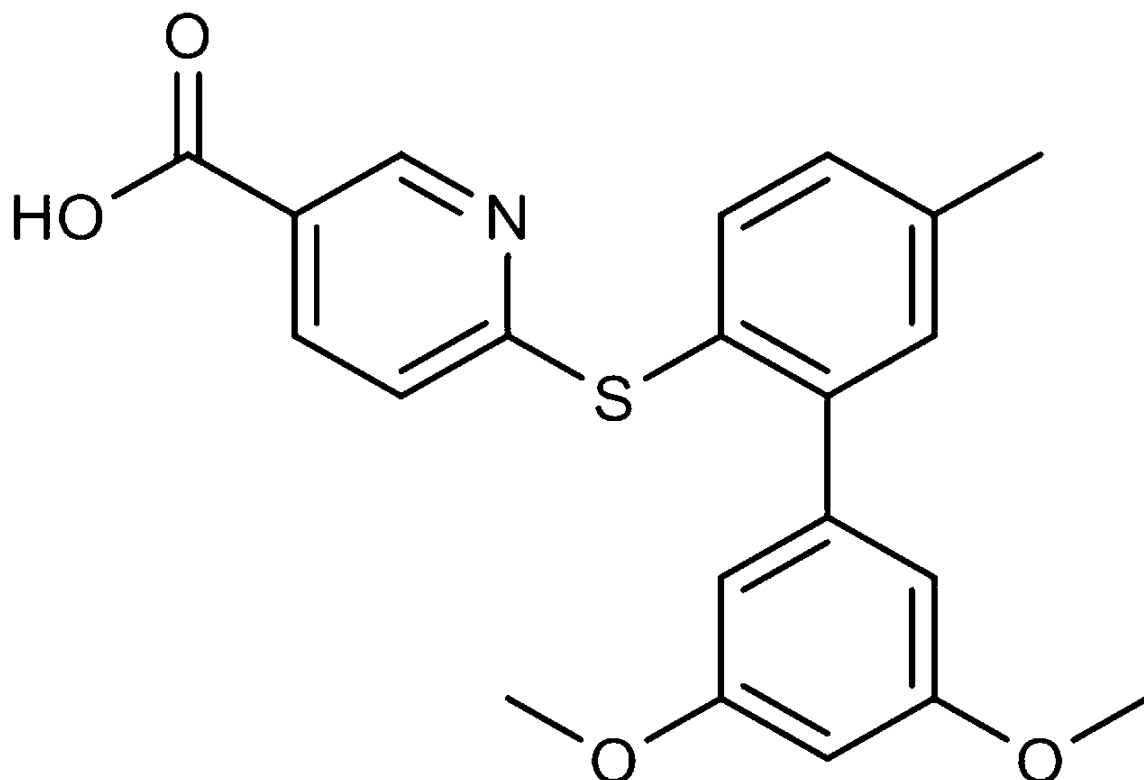
20

30

40

50

【化 18】



エチル 6 - クロロピリジン - 3 - カルボキシレート (280 mg、1.51 mmol) 及び 2 - エチルヘキシル 3 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチルフェニル] スルファニルプロパノエート (740 mg、1.66 mmol) の 1 , 4 - ジキソアン (10 mL) 中の溶液に、THF 中のカリウム *tert* - ブトキシドの 1 M 溶液 (1 . 8 mL、1.8 mmol) を添加する。溶液を 80 に 4 ~ 5 時間加熱し、次いで室温で一晩撹拌する。2 M 水酸化リチウム水溶液 (10 mL、20 mmol) を添加し、混合物を 80 で 2 ~ 3 時間撹拌する。溶液を室温に冷却し、2 N HCl で酸性化し、酢酸エチルで抽出する。次いで、有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮する。残渣をシリカゲルカラム (0 ~ 80 % ヘキサン / 酢酸エチル) で精製して、表題化合物 (527 mg、1.31 mmol) をオフホワイトの固体として得る。ES / MS (*m/z*) : 382 [*M* + *H*]⁺。

【0071】

調製物 8

N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - ((3 ' , 5 ' - ジメトキシ - 5 - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 2 - イル) スルフィニル) ニコチンアミド

10

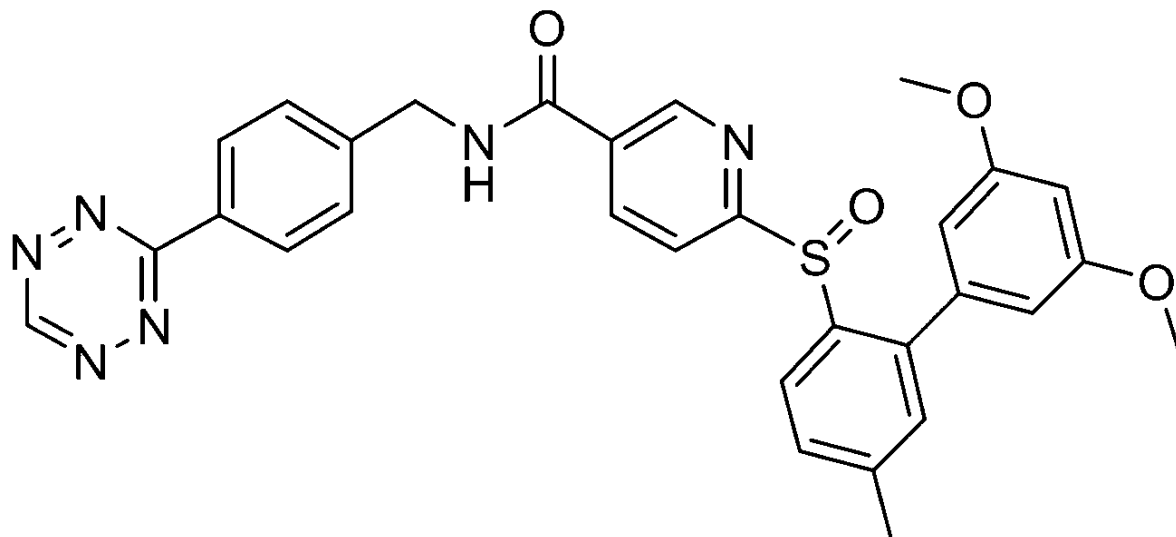
20

30

40

50

【化 19】



10

6 - [2 - (3 , 5 - ジメトキシフェニル) - 4 - メチルフェニル] スルファニルピリジン - 3 - カルボン酸 (94 mg、0.25 mmol) 及び [4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) フェニル] メタンアミン塩酸塩 (55 mg、0.25 mmol) 及び HATU (115 mg、0.30 mmol) のジクロロメタン (2 mL) 中の攪拌混合物に、N,N - ジイソプロピルエチルアミン (0.07 mL、0.4 mmol) を添加する。反応混合物を室温で一晩攪拌する。得られた残渣をジクロロメタンで希釈し、飽和 NaHCO₃ 水溶液及び飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄する。有機抽出物を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮する。得られた残渣をシリカゲル上のクロマトグラフィー (0 ~ 80 % ヘキサン / 酢酸エチル) により精製して、N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - ((3' , 5' - ジメトキシ - 5 - メチル - [1 , 1' - ビフェニル] - 2 - イル) チオ) ニコチンアミド (70 mg、0.13 mmol) をピンク色の泡状物として得る。

20

【 0072 】

30

N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - ((3' , 5' - ジメトキシ - 5 - メチル - [1 , 1' - ビフェニル] - 2 - イル) チオ) ニコチンアミド (70 mg、0.13 mmol) のジクロロメタン (4 mL) 中の溶液に、3 - クロロペルオキシ安息香酸 (20 mg、0.09 mmol、純度 77 %) を添加する。混合物を室温で 2 ~ 3 時間攪拌する。次いで、混合物をシリカゲルカラム (12 g、0 ~ 100 % ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製して、表題化合物 (24 mg) をピンク色の泡状物として得る：ES / MS (m / z) : 567 [M + H]⁺。

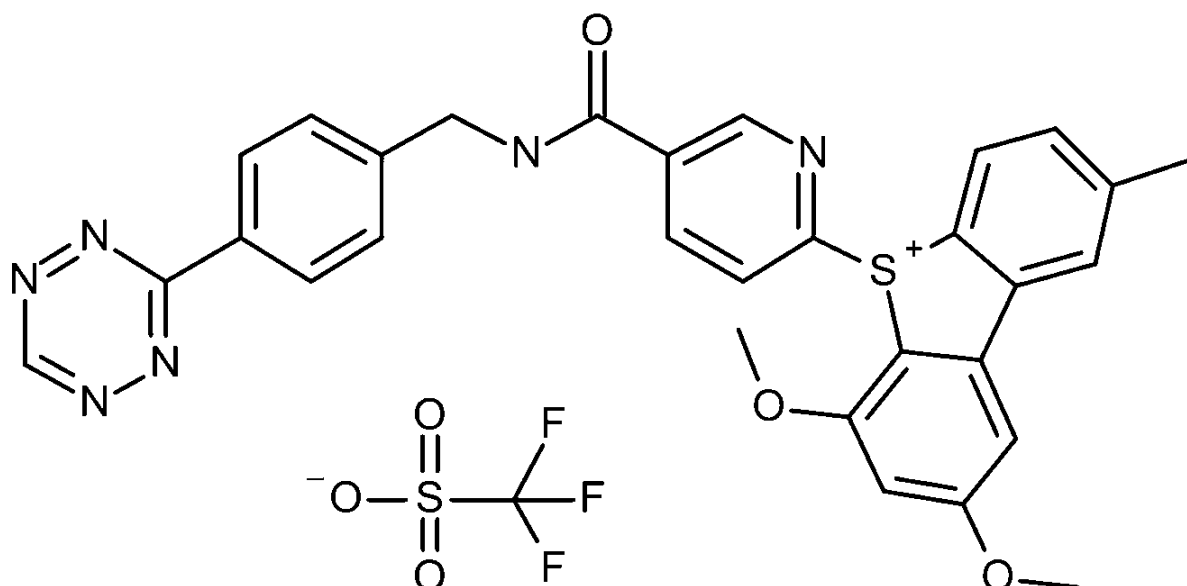
【 0073 】

調製物 9

5 - (5 - ((4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) カルバモイル) ピリジン - 2 - イル) - 2 , 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - 5 H - ジベンゾ [b , d] チオフェン - 5 - イウムトリフルオロメタンスルホネート

40

【化 20】



10

N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - ((3 ' , 5 ' - ジメトキシ - 5 - メチル - [1 , 1 ' - ビフェニル] - 2 - イル) スルフィニル) ニコチンアミド (23 mg、0.04 mmol) 及びジエチルアミノポリスチレン (3.2 mmol / g、70 mg、0.22 mmol) の 0 に冷却したジクロロメタン (3 mL) 中の攪拌スラリーに、トリフルオロメタンスルホン酸無水物のジクロロメタン中の 1 M 溶液 (130 μ L、0.13 mmol) を添加する。反応混合物を室温まで温め、30 分間攪拌する。水を一滴加えることにより反応を停止させる。混合物を濾過し、固体をジクロロメタンで洗浄する。合わせた濾液を減圧下で濃縮し、得られた残渣を、ジクロロメタン中 0 ~ 20 % メタノールの勾配を使用したシリカゲル上のクロマトグラフィーで精製して、表題化合物 (12 mg、0.017 mmol、収率 41 %) を紫色の固体として得る：¹H NMR (400.13 MHz、DMSO - d₆) δ ppm : 2.55 (s、3 H)、3.95 (s、3 H)、4.00 (s、3 H)、4.64 - 4.62 (m、2 H)、6.92 (d、J = 2.1 Hz、1 H)、7.62 - 7.57 (m、3 H)、7.69 (d、J = 2.1 Hz、8.26 (d、J = 8.2 Hz、1 H)、8.39 - 8.37 (m、2 H)、8.48 - 8.44 (m、2 H)、8.54 - 8.52 (m、1 H)、8.92 - 8.91 (m、1 H)、9.48 - 9.44 (m、1 H)、10.58 (s、1 H)、¹⁹F NMR (376.45 MHz、DMSO - d₆) δ ppm : - 77.7。ES / MS (m / z) : 549 [M⁺]。

20

30

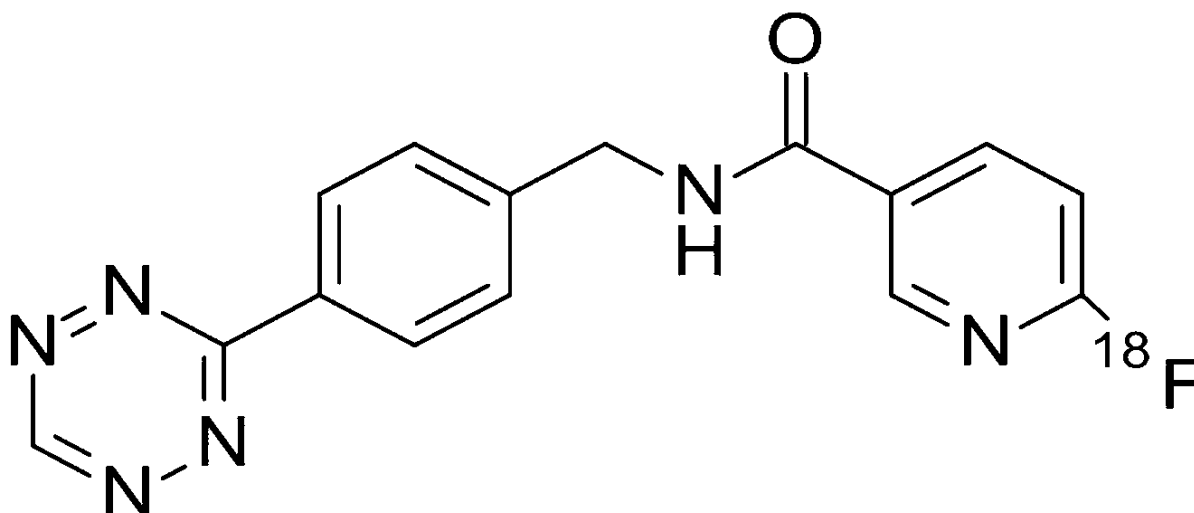
【 0074】

比較参考例 6

[¹⁸F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミド

40

【化 2 1】



10

〔 ^{18}F 〕 N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミド放射線合成の典型的な放射化学収率は、 $0.318 \sim 0.615 \text{ Ci}$ の開始活性を使用し、剛性時間 50 分で、 $20 \pm 2.18\%$ ($\text{N} = 3$) である。

20

【0075】

〔 ^{18}F 〕フッ化物活性 ($0.318 \sim 0.615 \text{ Ci}$) は、Sep - Pak Accell Plus QMA Plus ライトカートリッジ (130 mg 、 $37 \sim 55 \mu\text{m}$ 、Waters 部品番号 WAT023525) で維持され、 0.8 mL の重炭酸テトラエチルアンモニウム水溶液 [水 (0.2 mL) 及びアセトニトリル (0.6 mL) 中の重炭酸テトラエチルアンモニウム (3.6 mg)] を使用して TRACERlab Fx_F-N 反応容器内に溶出される。溶出した活性物質を 70°C に加熱し、圧縮窒素ガスバージ及び真空下で 5 分間乾燥させる。次いで、温度を 100°C に上げ、真空下で 5 分間保持すると、テトラエチルアンモニウム [^{18}F] フルオリドが得られる。次いで、反応器を 30°C に冷却し、 1.2 mL の無水 DMSO を反応器に添加する。テトラエチルアンモニウム [^{18}F] フルオリド溶液を、5 - (5 - ((4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) カルバモイル) ピリジン - 2 - イル) - 2 , 4 - ジメトキシ - 8 - メチル - 5 H - ジベンゾ [b , d] チオフェン - 5 - イウムトリフルオロメタンスルホネート [0.3 mL の無水 DMSO 中 (1 mg 、 $1.83 \mu\text{mol}$)] の前駆体溶液を含む TRACERlab 注入バイアル (RV2) に移し、室温で 2 分間維持する。次いで、混合物を水中の 1% (v/v) TFA 3.5 mL で希釈し、得られた粗反応混合物を精製のために半分取 HPLC カラムに装填する (条件は図 5 に列挙されている)。精製された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミドを含む HPLC 画分 (図 5) を、 40 mL の水中 0.02% (v/v) TFA を含むバイアルに収集し、Sep - Pak (登録商標) Light C18 カートリッジ (130 mg 、 $55 \sim 105 \mu\text{m}$ 、Waters 部品番号 WAT023501) に装填する。

30

40

【0076】

維持された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミドを 5 mL の 0.02% (v/v) TFA 水溶液で洗浄し、 1 mL の EtOH を使用して溶出し、PBS 中の 10% (v/v) EtOH の 10 mL の配合物に再構成する。得られた [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミドの量は、 $0.046 \sim 0.125 \text{ Ci}$ の範囲であった。配合された [^{18}F] N - (4 - (1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロニコチンアミドの代表的な分析 HPLC クロマトグラムを図 6 に示す。

50

【0077】

[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミド(実施例2)のPET-CTイメージング

Siemens Inveon(登録商標)Multimodality Scanner(Siemens、Germany)を、マイクロPET/CTイメージングに使用する。雄CD-1(6週齢、約30g)マウスを、3%イソフルラン/97%酸素で麻酔し、スキャナーのベッドに置く。マウスに[¹⁸F]-N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドをボラス静脈内尾静脈注射(150μLの生理食塩水総量で約350μCi)により投与する。合計4回の動的PETスキャンを実行し、続いて解剖学的位置合わせのための短い高解像度CTスキャンを実行する。PET画像是取得時間の1分ごとに生成される。脳、筋肉、及び骨へのトレーサーの取り込みは、融合したPET/CT画像に基づいて関心領域(ROI)を視覚的に描画することによって決定し、対応する活動値はInveon(登録商標)Research Workplaceソフトウェアを使用して決定する。全ての値は、グラムあたりの注射量の割合(%ID/g)として表される。

【0078】

4つの60分のPETスキャンの分析は、[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドが血液脳関門を容易に通過することを示している。3.3%ID/gのピーク脳取り込みが注射後4.5分で観察され、続いて、59.5分で1.2%ID/gまでトレーサーが安定してクリアランスされる。[¹⁸F]-N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドの取り込みは、肝臓、腎臓、及び心臓などの臓器において身体末梢全体でも観察される。脱フッ素化がないことと一致して、スキャン期間中の骨の取り込みは低いままであった。CD-1雄マウス(n=4)における[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドについて、時間活性曲線が生成される。データは以下に表形式(表1)で示される。

【0079】

表1は、[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミド(脳、筋肉、及び骨、N=4)の60分間のPET時間活性結果を示す。

【表1-1】

表1. [¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドの60分間のPET時間活性の表(実施例2)(脳、筋肉、及び骨)

時間 (分)	脳			筋肉			骨		
	平均 (%ID/g)	標準誤差	N	平均 (%ID/g)	標準誤差	N	平均 (%ID/g)	標準誤差	N
0	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4
0.5	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4
1.5	0.64	0.24	4	0.16	0.10	4	0.19	0.10	4
2.5	2.74	0.93	4	0.76	0.31	4	0.95	0.37	4
3.5	2.47	0.80	4	0.79	0.32	4	1.06	0.39	4
4.5	3.27	0.35	4	1.13	0.20	4	1.32	0.14	4
5.5	3.05	0.34	4	1.21	0.18	4	1.37	0.14	4
6.5	2.95	0.28	4	1.33	0.18	4	1.42	0.15	4
7.5	2.74	0.27	4	1.36	0.19	4	1.44	0.14	4

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

8.5	2.57	0.30	4	1.44	0.17	4	1.52	0.11	4
9.5	2.42	0.29	4	1.51	0.17	4	1.56	0.10	4
10.5	2.29	0.28	4	1.53	0.18	4	1.58	0.08	4
11.5	2.18	0.26	4	1.57	0.16	4	1.54	0.10	4
12.5	2.07	0.24	4	1.60	0.13	4	1.58	0.12	4
13.5	1.97	0.22	4	1.58	0.17	4	1.63	0.09	4
14.5	1.89	0.20	4	1.58	0.15	4	1.58	0.07	4
15.5	1.82	0.20	4	1.67	0.14	4	1.59	0.08	4
16.5	1.75	0.19	4	1.64	0.15	4	1.64	0.08	4
17.5	1.70	0.17	4	1.65	0.11	4	1.65	0.07	4
18.5	1.65	0.16	4	1.59	0.12	4	1.64	0.06	4
19.5	1.60	0.15	4	1.64	0.12	4	1.65	0.09	4
20.5	1.56	0.14	4	1.63	0.11	4	1.62	0.04	4
21.5	1.51	0.13	4	1.67	0.10	4	1.61	0.09	4
22.5	1.47	0.12	4	1.68	0.12	4	1.59	0.02	4
23.5	1.45	0.11	4	1.66	0.13	4	1.63	0.04	4
24.5	1.42	0.11	4	1.69	0.10	4	1.63	0.08	4
25.5	1.39	0.09	4	1.64	0.13	4	1.62	0.05	4
26.5	1.37	0.09	4	1.62	0.13	4	1.57	0.05	4
27.5	1.36	0.08	4	1.69	0.11	4	1.62	0.05	4
28.5	1.33	0.09	4	1.65	0.13	4	1.61	0.03	4
29.5	1.32	0.08	4	1.68	0.10	4	1.66	0.05	4
30.5	1.29	0.07	4	1.72	0.11	4	1.64	0.02	4
31.5	1.29	0.07	4	1.64	0.11	4	1.58	0.04	4
32.5	1.27	0.07	4	1.66	0.08	4	1.64	0.03	4
33.5	1.26	0.06	4	1.69	0.08	4	1.55	0.03	4
34.5	1.25	0.06	4	1.62	0.09	4	1.67	0.03	4
35.5	1.25	0.06	4	1.65	0.15	4	1.57	0.05	4
36.5	1.24	0.06	4	1.70	0.11	4	1.61	0.07	4
37.5	1.22	0.05	4	1.66	0.09	4	1.58	0.02	4
38.5	1.21	0.06	4	1.62	0.09	4	1.61	0.05	4
39.5	1.21	0.05	4	1.67	0.14	4	1.66	0.03	4
40.5	1.21	0.05	4	1.65	0.11	4	1.60	0.03	4
41.5	1.20	0.05	4	1.70	0.10	4	1.65	0.05	4
42.5	1.19	0.05	4	1.63	0.09	4	1.63	0.06	4
43.5	1.18	0.06	4	1.68	0.15	4	1.71	0.10	4
44.5	1.19	0.05	4	1.66	0.13	4	1.61	0.04	4
45.5	1.19	0.05	4	1.70	0.09	4	1.60	0.03	4
46.5	1.19	0.05	4	1.59	0.09	4	1.52	0.03	4

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

47.5	1.19	0.06	4	1.64	0.06	4	1.57	0.06	4
48.5	1.18	0.05	4	1.57	0.11	4	1.62	0.05	4
49.5	1.18	0.05	4	1.65	0.08	4	1.59	0.05	4
50.5	1.17	0.05	4	1.57	0.11	4	1.66	0.04	4
51.5	1.18	0.05	4	1.61	0.07	4	1.64	0.03	4
52.5	1.17	0.05	4	1.62	0.12	4	1.64	0.05	4
53.5	1.16	0.05	4	1.66	0.13	4	1.55	0.07	4
54.5	1.17	0.05	4	1.58	0.11	4	1.61	0.04	4
55.5	1.17	0.05	4	1.55	0.09	4	1.65	0.08	4
56.5	1.17	0.05	4	1.72	0.09	4	1.62	0.05	4
57.5	1.18	0.05	4	1.59	0.05	4	1.65	0.08	4
58.5	1.17	0.05	4	1.57	0.10	4	1.64	0.04	4
59.5	1.17	0.05	4	1.53	0.08	4	1.62	0.09	4

10

【0080】

[^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド (実施例 4) の PET - CT イメージング

20

Siemens Inveon (登録商標) Multimodality Scanner (Siemens, Germany) を、マイクロ PET / CT イメージングに使用する。雄 CD - 1 (6 週齢、約 30 g) マウスを、3 % イソフルラン / 97 % 酸素で麻酔し、スキャナーのベッドに置いた。マウスに [^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドをボラス静脈内尾静脈注射 (150 μL の生理食塩水総量で約 300 μCi) により投与する。合計 4 回の動的 PET スキャンを実行し、続いて解剖学的位置合わせのための短い高解像度 CT スキャンを実行する。PET 画像は取得時間の 1 分ごとに生成される。脳、筋肉、及び骨へのトレーサーの取り込みは、融合した PET / CT 画像に基づいて関心領域 (ROI) を視覚的に描画することによって決定し、対応する活動値は Inveon (登録商標) Research Workplace ソフトウェアを使用して決定する。全ての値は、グラムあたりの注射量の割合 (% ID / g) として表される。

30

【0081】

4 つの 60 分の PET スキャンの分析は、[^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドが血液脳関門を容易に通過することを示している。4.3 % ID / g のピーク脳取り込みが注射後 2.5 分で観察され、続いて、59.5 分で 1.1 % ID / g までトレーサーが安定してクリアランスされる。[^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドの取り込みは、肝臓、腎臓、及び心臓などの臓器において身体

40

の末梢全体でも観察される。脱フッ素化がないことと一致して、スキャン期間中の骨の取り込みは低いままであった。CD - 1 雄マウス (n = 4) における [^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミドについて、時間活性曲線が生成される。データは以下に表形式 (表 2) で示される。

【0082】

表 2 は、[^{18}F]N - (4 - (1, 2, 4, 5 - テトラジン - 3 - イル) ベンジル) - 6 - フルオロピコリンアミド (脳、筋肉、及び骨、N = 4) の 60 分間の PET 時間活性結果を示す。

50

【表 2 - 1】

表 2. [^{18}F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミドの 60 分間の PET 時間活性の表 (実施例 4) (脳、筋肉、及び骨)

時間 (分)	脳			筋肉			骨		
	平均%ID/g	標準誤差	N	平均%ID/g	標準誤差	N	平均%ID/g	標準誤差	N
0	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4
0.5	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4	0.00	0.00	4
1.5	0.68	0.29	4	0.08	0.05	4	0.10	0.06	4
2.5	4.30	0.30	4	0.94	0.22	4	0.89	0.15	4
3.5	3.34	0.09	4	1.11	0.24	4	1.09	0.15	4
4.5	2.61	0.04	4	1.14	0.21	4	1.02	0.09	4
5.5	2.14	0.02	4	1.13	0.22	4	0.97	0.14	4
6.5	1.94	0.02	4	1.18	0.22	4	1.05	0.07	4
7.5	1.71	0.02	4	1.23	0.22	4	1.09	0.11	4
8.5	1.58	0.01	4	1.18	0.17	4	1.11	0.11	4
9.5	1.46	0.01	4	1.24	0.21	4	1.13	0.06	4
10.5	1.38	0.01	4	1.22	0.14	4	1.03	0.07	4
11.5	1.32	0.01	4	1.24	0.16	4	1.03	0.07	4
12.5	1.27	0.01	4	1.19	0.12	4	1.11	0.05	4
13.5	1.23	0.01	4	1.19	0.15	4	1.06	0.07	4
14.5	1.21	0.01	4	1.16	0.16	4	1.11	0.06	4
15.5	1.17	0.00	4	1.17	0.17	4	1.11	0.06	4
16.5	1.16	0.00	4	1.21	0.15	4	1.08	0.04	4
17.5	1.15	0.01	4	1.24	0.13	4	1.05	0.03	4
18.5	1.14	0.00	4	1.24	0.10	4	1.16	0.06	4
19.5	1.13	0.01	4	1.17	0.12	4	1.07	0.04	4
20.5	1.12	0.01	4	1.20	0.14	4	1.05	0.08	4
21.5	1.13	0.01	4	1.22	0.12	4	1.16	0.09	4
22.5	1.14	0.01	4	1.15	0.10	4	1.12	0.09	4
23.5	1.11	0.01	4	1.16	0.10	4	1.16	0.11	4
24.5	1.12	0.01	4	1.22	0.09	4	1.07	0.08	4
25.5	1.10	0.02	4	1.16	0.09	4	1.22	0.07	4
26.5	1.10	0.03	4	1.13	0.14	4	1.12	0.06	4
27.5	1.09	0.02	4	1.12	0.09	4	1.13	0.11	4
28.5	1.10	0.02	4	1.16	0.09	4	1.13	0.08	4
29.5	1.09	0.03	4	1.19	0.10	4	1.16	0.04	4

10

20

30

40

【表 2 - 2】

30.5	1.09	0.03	4	1.14	0.10	4	1.20	0.07	4
31.5	1.09	0.03	4	1.15	0.09	4	1.21	0.13	4
32.5	1.09	0.02	4	1.16	0.09	4	1.11	0.10	4
33.5	1.09	0.02	4	1.12	0.07	4	1.20	0.10	4
34.5	1.10	0.02	4	1.17	0.09	4	1.18	0.09	4
35.5	1.09	0.02	4	1.12	0.10	4	1.21	0.08	4
36.5	1.09	0.02	4	1.15	0.08	4	1.20	0.08	4
37.5	1.08	0.03	4	1.14	0.08	4	1.25	0.05	4
38.5	1.09	0.02	4	1.15	0.07	4	1.23	0.13	4
39.5	1.09	0.02	4	1.10	0.10	4	1.28	0.12	4
40.5	1.10	0.02	4	1.13	0.12	4	1.16	0.08	4
41.5	1.09	0.02	4	1.14	0.11	4	1.21	0.11	4
42.5	1.10	0.03	4	1.16	0.07	4	1.22	0.13	4
43.5	1.09	0.02	4	1.12	0.10	4	1.22	0.12	4
44.5	1.10	0.03	4	1.14	0.09	4	1.28	0.08	4
45.5	1.10	0.02	4	1.14	0.14	4	1.23	0.10	4
46.5	1.11	0.03	4	1.18	0.07	4	1.29	0.09	4
47.5	1.11	0.04	4	1.18	0.09	4	1.29	0.11	4
48.5	1.11	0.04	4	1.18	0.10	4	1.23	0.12	4
49.5	1.11	0.04	4	1.13	0.11	4	1.27	0.10	4
50.5	1.12	0.04	4	1.10	0.09	4	1.28	0.17	4
51.5	1.12	0.04	4	1.09	0.10	4	1.27	0.11	4
52.5	1.11	0.04	4	1.18	0.08	4	1.29	0.12	4
53.5	1.12	0.04	4	1.14	0.10	4	1.31	0.11	4
54.5	1.12	0.04	4	1.12	0.09	4	1.34	0.14	4
55.5	1.12	0.04	4	1.14	0.10	4	1.27	0.09	4
56.5	1.12	0.05	4	1.11	0.08	4	1.31	0.17	4
57.5	1.13	0.05	4	1.07	0.12	4	1.29	0.15	4
58.5	1.13	0.04	4	1.09	0.10	4	1.33	0.13	4
59.5	1.13	0.05	4	1.12	0.10	4	1.40	0.11	4

10

20

30

【 0 0 8 3 】

[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロニコチンアミド(比較例6)のPET-CTイメージング

40

Siemens Inveon(登録商標)Multimodality Scanner(Siemens、Germany)を、マイクロPET/CTイメージングに使用する。雄CD-1(6週齢、30~40g)マウスを、3%イソフルラン/97%酸素で麻酔し、スキャナーのベッドに置く。マウスに[¹⁸F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロニコチンアミドをボーラス静脈内尾静脈注射(150μLの生理食塩水総量で約300μCi)により投与する。合計2回の動的PETスキャンを実行し、続いて解剖学的位置合わせのための短い高解像度CTスキャンを実行する。PET画像は取得時間の1分ごとに生成される。脳、筋肉、及び骨へのトレーサーの取り込みは、融合したPET/CT画像に基づいて関心領域(ROI)を視覚的

50

に描画することによって決定し、対応する活動値はInveon（登録商標）Research Workplaceソフトウェアを使用して決定する。全ての値は、グラムあたりの注射量の割合（%ID/g）として表される。

【0084】

2つのPETスキャンの分析は、 $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ が血液脳関門を通過することを示している。2.6%ID/gのピーク脳取り込みが注射後2.5分で観察され、続いて、59.5分で1.1%ID/gまでトレーサーが安定してクリアランスされる。 $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ の取り込みは、肝臓、腎臓、及び心臓などの臓器において身体の末梢全体で観察される。脱フッ素化がないことと一致して、スキャン期間中の骨の取り込みは低いままであった。CD-1雄マウス（ $n=2$ ）における $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ について、時間活性曲線が生成される。データは以下に表形式（表3）で示される。

10

【0085】

表3は、 $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ （脳、筋肉、及び骨、 $N=2$ ）の60分間のPET時間活性結果を示す。

【表3-1】

表3. $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ （比較例6）の60分間のPET時間活性の表（脳、筋肉、及び骨）

20

時間 (分)	脳			筋肉			骨		
	平均%ID/g	標準誤差	N	平均%ID/g	標準誤差	N	平均%ID/g	標準誤差	N
0.0	0.00	0.00	2	0.00	0.00	2	0.00	0.00	2
0.5	0.00	0.00	2	0.00	0.00	2	0.00	0.00	2
1.5	0.52	0.52	2	0.07	0.07	2	0.09	0.09	2
2.5	2.57	0.24	2	0.56	0.11	2	0.83	0.13	2
3.5	2.45	0.07	2	0.67	0.09	2	0.95	0.19	2
4.5	2.29	0.09	2	0.73	0.02	2	0.85	0.07	2
5.5	2.20	0.08	2	0.72	0.02	2	0.86	0.06	2
6.5	2.23	0.08	2	0.80	0.00	2	0.90	0.13	2
7.5	2.15	0.08	2	0.84	0.01	2	0.90	0.10	2
8.5	2.10	0.09	2	0.84	0.03	2	0.90	0.10	2
9.5	2.00	0.12	2	0.78	0.03	2	0.81	0.15	2
10.5	1.95	0.12	2	0.79	0.01	2	0.90	0.06	2
11.5	1.89	0.12	2	0.84	0.01	2	0.92	0.14	2
12.5	1.86	0.13	2	0.84	0.02	2	0.94	0.20	2

30

40

50

【表 3 - 2】

13.5	1.83	0.13	2	0.88	0.02	2	0.97	0.11	2
14.5	1.78	0.12	2	0.88	0.04	2	0.98	0.00	2
15.5	1.76	0.14	2	0.89	0.04	2	0.98	0.12	2
16.5	1.72	0.12	2	0.93	0.07	2	0.83	0.11	2
17.5	1.69	0.15	2	0.91	0.04	2	1.00	0.18	2
18.5	1.65	0.13	2	0.89	0.00	2	0.97	0.08	2
19.5	1.63	0.14	2	0.90	0.03	2	0.93	0.17	2
20.5	1.61	0.15	2	0.95	0.07	2	1.01	0.03	2
21.5	1.58	0.15	2	0.98	0.07	2	0.91	0.25	2
22.5	1.56	0.15	2	0.95	0.03	2	1.02	0.10	2
23.5	1.55	0.17	2	1.00	0.09	2	1.04	0.06	2
24.5	1.51	0.15	2	0.98	0.05	2	1.11	0.14	2
25.5	1.49	0.15	2	0.99	0.09	2	0.93	0.06	2
26.5	1.46	0.14	2	0.95	0.05	2	0.86	0.09	2
27.5	1.45	0.15	2	0.94	0.03	2	0.94	0.08	2
28.5	1.42	0.14	2	1.00	0.06	2	1.00	0.08	2
29.5	1.40	0.15	2	0.97	0.05	2	1.05	0.03	2
30.5	1.38	0.16	2	0.99	0.05	2	0.95	0.14	2
31.5	1.38	0.15	2	0.95	0.01	2	1.04	0.05	2
32.5	1.36	0.15	2	0.97	0.04	2	1.04	0.09	2
33.5	1.36	0.14	2	1.00	0.07	2	1.01	0.01	2
34.5	1.34	0.16	2	1.04	0.06	2	1.06	0.15	2
35.5	1.33	0.15	2	1.04	0.08	2	0.97	0.10	2
36.5	1.30	0.16	2	1.04	0.07	2	1.01	0.03	2
37.5	1.31	0.15	2	1.03	0.05	2	0.99	0.10	2
38.5	1.29	0.15	2	1.03	0.05	2	1.12	0.01	2
39.5	1.26	0.16	2	1.03	0.05	2	1.13	0.05	2
40.5	1.25	0.14	2	1.05	0.07	2	1.07	0.17	2
41.5	1.26	0.17	2	1.08	0.08	2	1.06	0.10	2
42.5	1.23	0.15	2	1.06	0.05	2	1.00	0.01	2
43.5	1.23	0.17	2	1.07	0.06	2	1.09	0.02	2
44.5	1.21	0.15	2	1.02	0.03	2	0.97	0.08	2
45.5	1.21	0.15	2	1.10	0.07	2	1.09	0.00	2
46.5	1.19	0.15	2	1.06	0.05	2	1.04	0.16	2
47.5	1.19	0.16	2	1.07	0.05	2	1.07	0.01	2
48.5	1.18	0.17	2	1.06	0.02	2	1.06	0.11	2
49.5	1.18	0.16	2	1.06	0.00	2	1.03	0.09	2
50.5	1.17	0.16	2	1.11	0.06	2	1.27	0.09	2
51.5	1.16	0.16	2	1.09	0.05	2	1.15	0.03	2

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

52.5	1.15	0.17	2	1.10	0.05	2	1.19	0.14	2
53.5	1.14	0.16	2	1.10	0.04	2	1.08	0.09	2
54.5	1.13	0.15	2	1.10	0.02	2	1.11	0.14	2
55.5	1.09	0.13	2	1.11	0.05	2	1.13	0.01	2
56.5	1.09	0.13	2	1.05	0.02	2	1.13	0.13	2
57.5	1.09	0.13	2	1.13	0.08	2	1.09	0.01	2
58.5	1.08	0.13	2	1.05	0.01	2	1.03	0.09	2
59.5	1.09	0.13	2	1.09	0.03	2	1.07	0.00	2

10

【0086】

表1及び2に示すPET-CTデータは、実施例2及び実施例4の ^{18}F 標識化合物が、CD-1マウスで試験した場合に血液脳関門を通過することを示している。ピーク脳取り込み(%ID/g)は注射後約2分で観察され、次いで、トレーサーは注射後60分で筋肉への取り込みによって定義されるベースラインレベルまで安定してクリアランスされる。インビボ脱フッ素化がないことと一致して、スキャン期間中の骨の取り込みは低いままであった。これらのデータは、実施例2及び実施例4の ^{18}F 標識化合物がCNSプレターゲットイメージング用のPET-CTイメージング剤として有用であることを示している。

20

【0087】

2つのPETスキャンの分析は、 $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ (比較例6)が血液脳関門を通過することを示している。2.6%ID/gのピーク脳取り込みが注射後2.5分で観察され、続いて、59.5分で1.1%ID/gまでトレーサーが安定してクリアランスされる。

【0088】

比較すると、本明細書に開示される $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-2\text{-フルオロニコチンアミド}$ (実施例2)及び $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ (実施例4)のCD-1雄マウスにおけるダイナミックPETイメージングは、これらの化合物が血液脳関門を容易に通過し、それぞれ $3.3 \pm 0.4\%$ ID/g及び $4.3 \pm 0.3\%$ ID/gのピーク脳取り込みに達することを示した。次いで、これらの化合物は、注射後60分までに脳からほぼバックグラウンドレベル(筋肉)まで安定したクリアランスを示した。

30

【0089】

これらの薬剤は、より高い脳への浸透及び脳からの迅速かつ完全なウォッシュアウトを備え、したがってより大きなウィンドウを提供して、より高い信号対バックグラウンド比を達成し、より良好な画質をもたらす。したがって、本発明者らは、本明細書に開示される $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-2\text{-フルオロニコチンアミド}$ (実施例2)及び $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ (実施例4)が、 $[\text{}^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル})\text{ベンジル})-6\text{-フルオロニコチンアミド}$ (比較例6)に勝る利点をプレターゲットCNSイメージングに提供すると期待している。

40

【0090】

プレターゲットイメージング研究における潜在的な応用に加えて、放射性標識テトラジンは、生体分子の標識に有用な補欠分子族であることも複数の出版物で示されている。Steven Liangらは、ラクダ科動物の単一ドメイン抗体フラグメントのソルター

50

ゼ媒介修飾とその後の ^{18}F 標識テトラジンによる放射性標識を報告している (Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 528-533、WO2017/059397A1)。Stina Syvanenらは、トランスシクロオクテン (TCO) 基による官能化とその後の ^{18}F 標識テトラジンとの結合を室温で行うことによる二重特異性抗体の放射性標識を報告している (ACS Chem. Neurosci. 2020, 11, 24, 4460-4468)。Michael Zalutskyらは、AlFキレート又はフルオロピリジン官能基の両方を有する放射性標識テトラジンによるナノボディなどの生体分子の放射性標識を開示している (Bioconjugate Chem. 2018, 29, 4090-4103、WO2020/242948A1)。

【0091】

10

文献の先例に基づいて、本明細書で特許請求されているテトラジンは、生体分子の標識のための補欠分子族としての有用性を有することが期待される。生体分子、Malat1アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) に結合したトランスシクロオクテン (TCO) を有するテトラジンN-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロピコリンアミド及びN-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミドの反応性 (2019 World Molecular Imaging Congress Conference, Poster 139) は、それぞれLC-MS及びHPLC-放射線検出で監視した ^{19}F 実験及び ^{18}F 実験の両方で確認された。

【0092】

20

2.5 mg/mL (2.67 μM) のMalat1 ASO-TCOの水溶液に、2当量のテトラジンを添加し、光から保護して室温で30分間穏やかに振盪した。反応混合物を、Waters (登録商標) Xevo QToF質量分析計を備えたWaters (登録商標) Acquity UPLCシステムでES/MSによって監視した。LC-MS条件は次のとおりであった：カラム：Waters (登録商標) ACQUITY PREMIER UPLCオリゴヌクレオチドBEH C18 (130、1.7 μm 、2.1 mm $\times$ 50 mm)；波長250~650 nm；勾配：最初は5% Bで3.5分間保持、1.5分で5~75% B、75% Bで4分間保持、0.5分で75~98% Bに増加、98% Bで1分間保持、再平衡化のために5% Bに戻す；カラム温度：70 + / - 5；流量：0.2 mL / 分；Aの溶媒：水中の7 mM TEA及び100 mM HFIP；Bの溶媒：75% メタノール / 25% アセトニトリル中の7 mM TEA及び100 mM HFIP。

30

【0093】

ネガティブモードの質量スペクトル (500~3000 m/z) を目的のピークから合計し、MaxEntで処理してゼロ電荷質量の結果を生成した。各テトラジン (N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロピコリンアミド及びN-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミド) は、282 Daの差 (7502 Da~7784 Daへのシフト) を示し、親は残っており、Malat1 ASO-TCOとテトラジンとの完全な反応を示した (図7)。

【0094】

40

^{18}F N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロピコリンアミド及び ^{18}F N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミドを計算し、それぞれ0.4 mLを2部のMalat1-ASO-TCOと反応させた。反応物を光から保護して室温で15分間穏やかに振盪した後、水で100倍に希釈した。次いで、希釈した試料を、BGO一致検出器を備えたAgilent 1290シリーズUPLC UVで分析した。HPLC条件は次のとおりであった：カラム：Waters (登録商標) ACQUITY PREMIER UPLCオリゴヌクレオチドBEH C18 (130、1.7 μm 、2.1 mm $\times$ 50 mm)；勾配：最初は5% Bで3分間保持、1.5分で5~75% B、75% Bで6分間保持、1分で75~98% Bに増加、98% Bで1分間保持、再平衡化のために5% Bに

50

戻す；カラム温度：70 ± 5 ；流量：0.25 mL / 分；Aの溶媒：水中の7 mM TEA及び100 mM HFIP；Bの溶媒：75 %メタノール / 25 %アセトニトリル中の7 mM TEA及び100 mM HFIP。

【0095】

Malat1 ASO-TCOとの反応前後の各テトラジン（[¹⁸F]N-（4-（1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル）ベンジル）-2-フルオロピコリンアミド及び[¹⁸F]N-（4-（1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル）ベンジル）-6-フルオロピコリンアミド）の放射性微量は、未反応テトラジンからなる単一ピーク（RT = 9分）から2つのピークへのシフトを示したが、より早い溶出ピーク（RT = 3.4分）は反応種を表す（図8）。

10

【0096】

したがって、本実施形態では、分子を放射性標識する方法が開示される。特に、第1のステップにおいて、生体分子は、TCO部分を結合又は含むように修飾されて、生体分子-TCOコンジュゲートを形成する。（これを行うための1つの例示的な方法は、上記のACS Chem. Neurosci. 2020, 11, 24, 4460-4468に開示されている）。次いで、第2のステップにおいて、生体分子-TCOコンジュゲートが¹⁸F標識テトラジンと反応して、環化付加反応を介して生体分子-TCO-テトラジン-¹⁸Fを形成する。

【0097】

具体的には、方法は、生体分子を放射性標識する方法であって、

20

TCO部分を前記生体分子に結合させ、それにより生体分子-TCOコンジュゲートを形成することと、

生体分子-TCOコンジュゲートを¹⁸F標識テトラジンと反応させて、生体分子-TCO-テトラジン-¹⁸F分子を形成することとを含み、¹⁸F標識テトラジンは、式Iの化合物及び式IVの化合物からなる群から選択される方法を含み得る。

30

40

50

【図面】

【図 1】

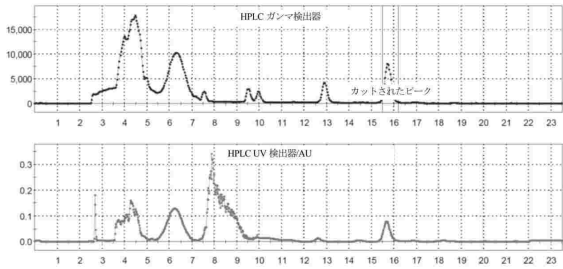


図 1: [18F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミド精製の代表的な半分取 HPLC クロマトグラム

カラム: ZORBAX (登録商標) Eclipse XDB C18 半分取 (Agilent 部品番号 990967-202, 9.4×250mm, 5μm)
条件: 流量 4mL/分、280nm、*t*_R15.5 分
移動相: 70%の水中 20mM NH₄OAc/30%のアセトニトリル

【図 2】

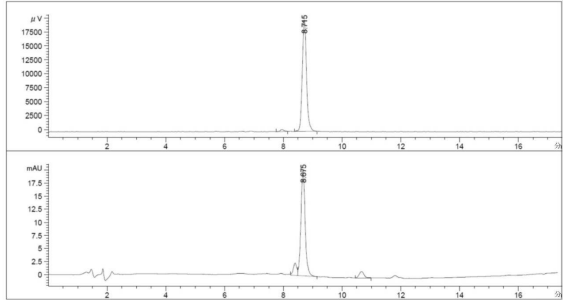


図 2: 配合された[18F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-2-フルオロニコチンアミドの代表的な分析用 HPLC クロマトグラム

カラム: ZORBAX (登録商標) Eclipse XDB C18 (Agilent 部品番号 993967-902 4.6×150mm, 5μm)
条件: 流量 1mL/分、280nm、*t*_R8.7 分
移動相: 15 分で 90%の 20mM NH₄OAc/10%のアセトニトリルから 10%の 20mM NH₄OAc/90%のアセトニトリルへの勾配溶出

【図 3】

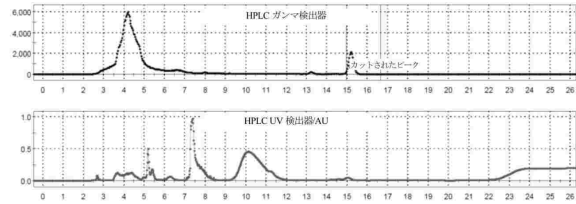


図 3: [18F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミド精製の代表的な半分取 HPLC クロマトグラム

カラム: ZORBAX (登録商標) Eclipse XDB C18 半分取 (Agilent 部品番号 990967-202, 9.4×250mm, 5μm)
条件: 流量 4mL/分、280nm、保持時間 15.5 分
移動相: 60%の水中 20mM NH₄OAc/40%のアセトニトリル

【図 4】

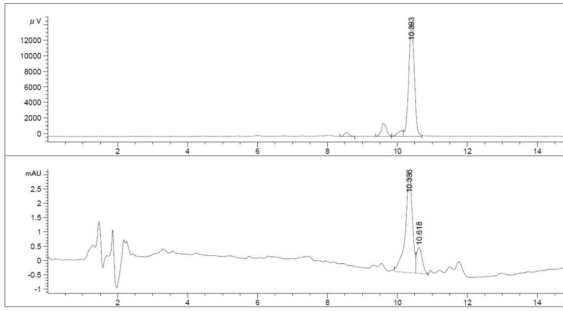


図 4: 配合された[18F]N-(4-(1,2,4,5-テトラジン-3-イル)ベンジル)-6-フルオロピコリンアミドの代表的な分析用 HPLC クロマトグラム

カラム :ZORBAX (登録商標) Eclipse XDB C18 (Agilent 部品番号 993967-902 4.6×150mm, 5μm)
条件: 流量 1mL/分、280nm、*t*_R10.3 分
移動相: 15 分にわたり 90%の 20mM NH₄OAc/10%のアセトニトリルから 10%の 20mM NH₄OAc/90%のアセトニトリルへの勾配溶出

10

20

30

40

50

【図 5】

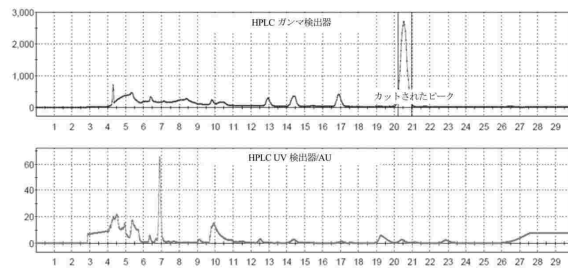


図 5: $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル)ベンジル})\text{-6-フルオロニコチンアミド}$ 精製の代表的な半分離 HPLC クロマトグラム

カラム: ZORBAX Eclipse XDB C18 半分取 (Agilent 部品番号 990967-202, $9.4\times 250\text{mm}$, $5\mu\text{m}$)

条件: 流量 4mL/分 , 280nm , 保持時間 15.5分

移動相: 70% の水中 0.1% TFA(v/v)/ 30% のアセトニトリル

【図 6】

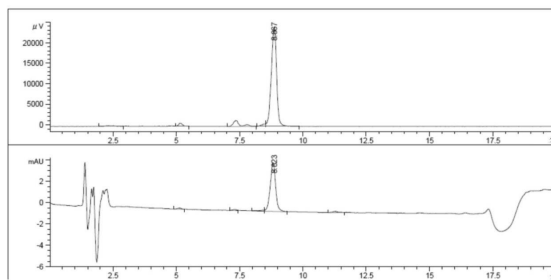


図 6: 配合された $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル)ベンジル})\text{-6-フルオロニコチンアミド}$ の代表的な分析用 HPLC クロマトグラム

カラム: ZORBAX Eclipse XDB C18 (部品番号 993967-902 $4.6\times 150\text{mm}$, $5\mu\text{m}$)

条件: 流量 1mL/分 , 280nm , 保持時間 8.7分

移動相: 15分 で 75% の水中 0.1% (v/v) TFA/ 25% のアセトニトリルから 50% の水中 0.1% (v/v) TFA/ 50% のアセトニトリルへの勾配溶出

【図 7】

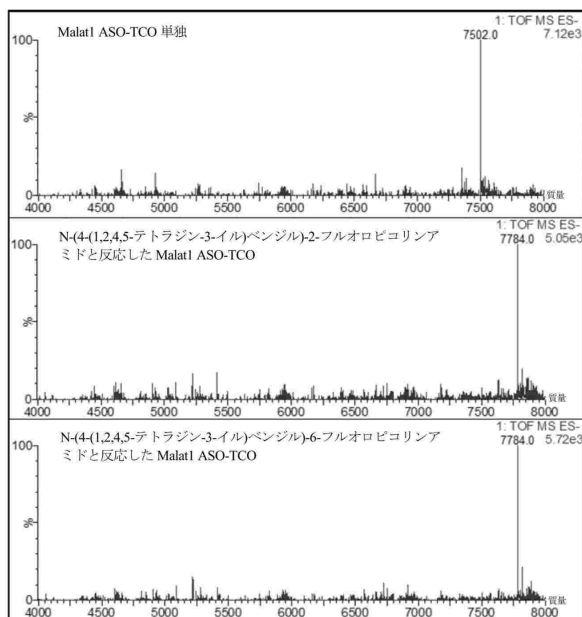


図 7: テトラジンとの MalatI ASO-TCO 反応の代表的な ESI 質量結果。

【図 8】

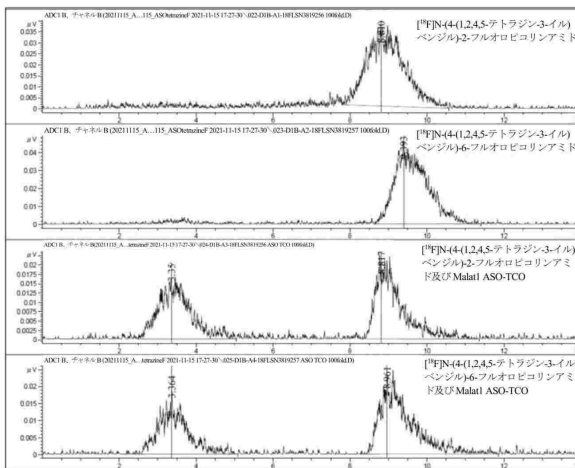


図 8. テトラジンの代表的な放射性微量 $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル)ベンジル})\text{-2-フルオロニコチンアミド}$, $[^{18}\text{F}]\text{N}-(4-(1,2,4,5\text{-テトラジン-3-イル)ベンジル})\text{-6-フルオロニコチンアミド}$, 及び MalatI ASO-TCO との反応物。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

06 - 6288, インディアナポリス, ピー・オー・ボックス 6288, イーライ リリー アンド カンパニー内

(72)発明者 ホウイ, アダム トーマス

アメリカ合衆国 インディアナ州 46206 - 6288, インディアナポリス, ピー・オー・ボックス 6288, イーライ リリー アンド カンパニー内

(72)発明者 リー, シーミン

アメリカ合衆国 インディアナ州 46206 - 6288, インディアナポリス, ピー・オー・ボックス 6288, イーライ リリー アンド カンパニー内

(72)発明者 ライト, ジャスティン パトリック

アメリカ合衆国 インディアナ州 46206 - 6288, インディアナポリス, ピー・オー・ボックス 6288, イーライ リリー アンド カンパニー内

(72)発明者 ション, フイ

アメリカ合衆国 インディアナ州 46206 - 6288, インディアナポリス, ピー・オー・ボックス 6288, イーライ リリー アンド カンパニー内

審査官 前田 憲彦

(56)参考文献 特開2019 - 112326 (JP, A)

特表2018 - 511648 (JP, A)

国際公開第2019 / 168170 (WO, A1)

国際公開第2019 / 143016 (WO, A1)

国際公開第2019 / 105913 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07D 401 /

A61K 51 /

C07D 409 /

A61K 31 /

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)