(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 35 638 T2** 2008.08.28

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 746 340 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 35 638.0**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/CA95/00106**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 909 606.6**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1995/022996**
(86) PCT-Anmeldetag: **24.02.1995**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **31.08.1995**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.12.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **07.11.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **28.08.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 51/08*** (2006.01)

(30) Unionspriorität:
202178 **25.02.1994** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
BRACCO International B.V., Amsterdam, NL

(74) Vertreter:
v. Bezold & Partner, 80799 München

(72) Erfinder:
GOODBODY, Anne, Toronto, Ontario M4L 2X7, CA;
POLLAK, Alfred, Toronto, Ontario M6B 4C6, CA

(54) Bezeichnung: **PEPTID-CHELATOR KONJUGATE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Diese Erfindung liegt auf dem Gebiet der diagnostischen Bildgebung und betrifft ein Peptid-Targeting-Mittel, das zum Abzielen auf Entzündungsstellen geeignet ist.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Die Kunst der diagnostischen Bildgebung nutzt abzielende Mittel („targeting agents"), die durch selektive Bindung oder Lokalisierung von Stellen innerhalb des Körpers bei der Auflösung der Abbildung, an der ein diagnostisches Interesse besteht, mithelfen. Monoklonale Antikörper wurden beispielsweise so entwickelt, dass sie eine hohe Affinität und Spezifität für bestimmte Krebszellen haben und daher für die Bildgebung von Tumoren nützlich sind. Trotz hoher Affinität und Spezifität liefern jedoch Antikörper keine idealen Bildgebungsmittel, da sie teuer in der Herstellung auf industriellem Maßstab sind und schlechte Markierungseigenschaften aufweisen. Insbesondere neigen Metall-Markierungen dazu, an zahlreiche Bindungsstellen geringer Affinität an Antikörpern zu binden und werden in vivo freigesetzt, was zu einer unerwünschten Akkumulierung der Markierung an Nicht-Zielstellen führt. Ein alternatives Targeting-Mittel für Antikörper sind kleine Rezeptor-bindende Peptide. Peptide bieten den Vorteil einer effizienten Markierung, was durch Konjugation an verschiedene Chelat-bildende Moleküle erleichtert wird. Andere Vorteile von Peptiden gegenüber Antikörpern sind ihre einfache Synthese, ihr rasches Eindringen in Gewebe und ihre rasche Clearance aus dem Körper.

[0003] Es wurde entdeckt, dass ein natürlich vorkommendes Tetrapeptid, Tuftsin TKPR, die Phagozytose stimuliert, indem es an Rezeptoren bindet, die an der Außenfläche von Neutrophilen und Makrophagen exprimiert sind. Die Phagozytose stellt eine Hauptverteidigungslinie eines Wirts gegen bakterielle Infektionen dar; daher wäre zu erwarten, dass Tuftsin als Phagozytose-Stimulator ein gutes Peptid zur Bildgebung von infektiösen Entzündungsstellen wäre. Untersuchungen zeigen jedoch, dass sich mit einem Radionuklid-Metall markiertes Tuftsin in unerwünschter Weise in Nicht-Zielgewebe ansammelt. Markiertes Tuftsin sammelt sich insbesondere im Magen-Darm-Trakt an, was seine Nützlichkeit als Bildgebungsmittel einschränkt.

[0004] Angesichts der mit Antikörpern verbundenen Schwierigkeiten wäre es wünschenswert, ein Peptid-Targeting-Mittel vorzusehen, das Entzündungsstellen lokalisieren kann, während es sich in Nicht-Zielgewebe nicht wesentlich ansammelt.

[0005] Najjar et al., „The Chemistry and Biology of Tuftsin" Lymphokine Rep. 1980, Bd. 1, S. 157–179, bespricht allgemein die Chemie und Biologie von Tuftsin, einem zellaktiven Tetrapeptid, das in vielen lebenden Organismen vorkommt. Najjar et al. bespricht auch detailliert die Eigenschaften von Tuftsin und erwähnt das Tuftsin-Analog TKPPR.

[0006] Bump et al., „Isolation and subunit composition of tuftsin receptor", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, Bd. 83, Nr. 19, S. 7187–7191, betrifft die Reinigung des Tuftsin-Rezeptors unter Verwendung des an einen festen Träger gebundenen Analogs TKPPR. Bump et al. stellten fest, dass TKPPR den Tuftsin-Rezeptor mit der vierfachen Avidität von Tuftsin in vitro bindet. Die WO A 93/15771 betrifft Amid-Thiolat-Liganden mit verbesserter Metallchelatbildungskinetik. Es wurde vorgeschlagen, dass diese Liganden für eine später gebildete Markierung biologischer Substanzen zur Verwendung bei der Diagnose und Therapie nützlich wären.

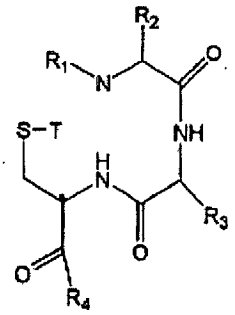
ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0007] Es sind Peptid-Chelator-Konjugate vorgesehen, die bei Markierung mit einem nachweisbaren Metall für die diagnostische Bildgebung von Entzündungsstellen geeignet sind. Die Peptid-Komponente ist ein Antagonist des natürlich vorkommenden Tetrapeptids Tuftsin, während die Chelator-Komponente als Markierungsstelle für Metalle, insbesondere Radionuklid-Metalle, wie Technetium-99m, dient. Gemäß einem Aspekt der Erfindung sind Peptid-Chelator-Konjugate vorgesehen, bei welchen Thr-X-Pro-Pro-Arg mit einem Metall-Chelator gekoppelt ist, wobei X ein Aminosäurerest oder ein Analog davon ist, mit der Maßgabe, dass das Peptid-Chelator-Konjugat nicht
Pic-Ser-Cys-Gly-TKPPR;
Pic-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
2-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
1-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
3-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;

Indol-2-Carbonsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Pyrrol-2-Carbonsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Ser-Cys-Gly-TKPPR; oder
S-Acm-Mercaptoacetyl-Ser-N-Methylhydrazino-Nikontinsäure-Gly-Thr-Lys-Pro-Pro-Arg
ist.

[0008] Bei einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hat die Metall-Chelator-Komponente des Konjugats die Formel I:

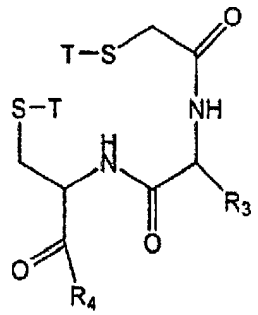
(I)



worin
R_1 und R_2 zusammen einen 5- oder 6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, welcher gegebenenfalls mit einem 5- oder 6-gliedrigen Ring verschmolzen ist, worin jeder Ring gegebenenfalls mit Gruppen substituiert ist, die ausgewählt sind aus Alkyl, Alkoxy, Carboxyl, Halogen, Hydroxyl und einer Linker-Gruppe;
R_3 ausgewählt ist aus H; Alkyl und Alkyl, das substituiert ist durch eine Gruppe ausgewählt aus Amino, Aminoacyl, Carboxyl, Guanidinyl, Hydroxyl, Thiol, Phenyl, Phenolyl, Indolyl und Imidazolyl;
R_4 ausgewählt ist aus Hydroxyl, Alkoxy und einer Linker-Gruppe, und
T H oder eine Schwefel-Schutzgruppe darstellt.

[0009] Bei einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hat die Metall-Chelator-Komponente des Konjugats die Formel II:

(II)



worin
R_3, R_4 und T der obigen Definition entsprechen.

[0010] Gemäß einem Aspekt der Erfindung werden die Peptid-Chelator-Konjugate in Form einer mit einem diagnostisch geeigneten Metall oder einem Oxid oder Nitrid davon komplexierten Form vorgesehen.

[0011] Gemäß noch einem anderen Aspekt der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung einer diagnostisch wirksamen Menge einer Zusammensetzung, die ein wie oben beschriebenes Peptid-Chelator-Konjugat umfasst, bei der Herstellung eines Mittels zur Bildgebung einer Entzündungsstelle bei einem Säuger vorgesehen.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0012] Die Erfindung sieht Peptid-Chelator-Konjugate vor, die, wenn sie mit einem diagnostisch geeigneten Metall komplexiert sind, zur Bildgebung von Entzündungsstellen geeignet sind. Das Peptid-Chelator-Konjugat, auch als „Konjugat" bezeichnet, beinhaltet als Peptid-Komponente einen Antagonisten von Tuftsin, der an einen Metall-Chelator gekoppelt ist, wobei die Peptid-Komponente aus der Aminosäuresequenz Thr-X-Pro-Pro-Arg (TXPPR) besteht, worin X ein natürlich oder nicht natürlich vorkommender Aminosäurerest ist. Bei einer besonderen Ausführungsform ist X ein Aminosäure-Rest mit einer α-Kohlenstoff-Seitenkette, die unter physiologischen Bedingungen geladen oder polar ist. Vorzugsweise ist X ausgewählt aus der Gruppe der

Aminosäurereste Lysin (Lys oder K) Glutamin (Gln oder Q), Arginin (Arg oder R), Asparagin (Asn oder N), Glutamat (Glu oder E), Aspartat (Asp oder D), Tyrosin (Tyr oder Y) und Threonin (Thr oder T). Mehr bevorzugt ist X ausgewählt aus Lysin, Glutamin, Arginin und Asparagin. Am meisten bevorzugt ist X ausgewählt aus Lysin und Glutamin.

[0013] Aminosäurereste, die nicht natürlich vorkommen, sind ebenso von X mit umfasst. Geeignete nicht natürlich vorkommende Reste sind jene, die Lysin oder Glutamin ersetzen können, ohne die Bioverteilungseigenschaften der Konjugate zu zerstören. Aus der Tatsache, dass ein Ersatz von Lysin durch Glutamin für Bildgebungszwecke gut verträglich ist ist verständlich dass X hinsichtlich der Seitenkettenstruktur stark variieren kann.

[0014] Insbesondere umfassen nicht-natürlich vorkommende Aminosäurereste jene, die sich von natürlichen Resten in der Länge ihrer Seitenkette unterscheiden, einschließlich Lysin, Glutamin, Arginin, Asparagin, Glutamat, Aspartat, Tyrosin und Threonin. Die Seitenkette eines nicht natürlich vorkommenden Restes wird eine C_1-Alkylenkette umfassen, die mit einer oder zwei C_{1-2}-Alkylgruppen verzweigt sein kann. Vorzugsweise hat die Alkylenkette 1-8 Methylengruppen und unterscheidet sich von einem entsprechenden natürlichen Rest durch 1 oder 2 Methylengruppen. Vorzugsweise inkludieren nicht natürlich vorkommende Reste Lysin und Glutamin mit einer zusätzlichen oder weniger Methylengruppen in ihrer Seitenkette. Geeignete nicht natürlich vorkommende Reste sind im Handel erhältlich oder können gemäß etablierter chemischer Techniken synthetisiert werden.

[0015] Verständlicherweise kann der Chelator entweder mit dem N- oder mit dem C-Terminus des Peptids Thr-X-Pro-Pro-Arg gekoppelt sein. Bei Kopplung mit dem Chelator an seinem N-Terminus kann das Peptid Thr-X-Pro-Pro-Arg an seinem C-Terminus vorzugsweise durch 1 bis 3 Aminosäurereste verlängert oder am C-Terminus modifiziert, beispielsweise amidiert oder in anderer Weise derivatisiert sein, um einen Verdau durch Exopeptidase zu verhindern. Annehmbare Verlängerungen oder Modifikationen sind jene, die die Fähigkeit des Konjugats zur Bildgebung von Entzündungen, wie durch das hierin beschriebene Beurteilungsmodell bestimmt, nicht wesentlich verschlechtern.

[0016] Für die Zwecke der diagnostischen Bildgebung ist ein Chelator eine Verbindung, die an ein Radionuklid-Metall bindet, um einen Komplex zu bilden, der unter physiologischen Bedingungen stabil ist und auch eine reaktive funktionelle Gruppe zur Konjugation mit einem Targeting-Molekül hat. Chelatoren des Radionuklid-Metalls ^{99m}Tc weisen typischerweise eine Kombination von vier Stickstoff- und Schwefel-Metall-koordinierenden Atomen auf und werden als N_4, N_3S, N_2S_2 usw. bezeichnet. Chelatoren können jedoch andere Metall-koordinierende Atome, wie Sauerstoff, Phosphor und Selen umfassen. Für eine praktische Synthese von Konjugaten der Erfindung sind die Chelatoren idealerweise auf Peptid-Basis, so dass die Konjugate in toto unter Verwendung von Festphasen-Peptid-Synthese-Techniken synthetisiert werden können.

[0017] Bei einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Peptid an seinem N-Terminus mit den Metall-Chelatoren vom N_3S-Typ der oben veranschaulichten Formel (I) gekoppelt, deren Herstellung und Verwendung in der gleichzeitig schwebenden U.S. Anmeldung im Namen von Pollak et al., eingereicht am 22. Dezember 1993, Ser. No. 08,171,737 geoffenbart ist. Bei einer anderen Ausführungsform ist das Peptid an seinem N-Terminus mit Metall-Chelatoren vom N_2S_2-Typ der Formel (II) gekoppelt. Die Ausdrücke, die die Variablen R_1–R_4 und T, wie oben in den Formeln (I) und (II) verwendet, definieren, haben die folgende Bedeutung:
„Alkyl" bezieht sich auf eine gerade oder verzweigte C_1-C_8-Kette und schließt Niedrig-C_1-C_4-Alkyl mit ein;
„Alkoxy" bezieht sich auf gerade oder verzweigte C_1-C_8-Alkoxy und schließt Niedrig-C_1-C_4-Alkoxy mit ein;
„Thiol" bezieht sich auf eine Sulfhydryl-Gruppe, die mit einer Alkylgruppe substituiert sein kann, um einen Thioether zu bilden;
„Schwefelschutzgruppe" bezieht sich auf eine chemische Gruppe, die an ein Schwefelatom gebunden ist und die Oxidation von Schwefel hemmt und Gruppen inkludiert, die nach Chelatbildung des Metalls abgespalten werden. Geeignete Schwefelschutzgruppen umfassen bekannte Alkyl-, Aryl-, Acyl-, Alkanoyl-, Aryloyl-, Mercaptoacyl- und Organothio-Gruppen;
„Linker-Gruppe" bezieht sich auf eine chemische Gruppe, die zur Kopplung des Peptdis an den Chelator dient, während sie weder die Targeting-Funktion des Peptids noch die Metallbindungsfunktion des Chelators beeinträchtigt. Zu den geeigneten Linker-Gruppen zählen Alkylketten und Aminosäureketten, die mit einer reaktiven Gruppe zur Kopplung an das Peptid oder den Chelator funktionalisiert sind.
„Metallchelator" bezieht sich auf ein Molekül, das mit einem nachweisbaren Metallatom unter physiologischen Bedingungen einen stabilen Komplex bildet, indem das Metall an das Konjugat in vivo gebunden bleibt.

[0018] Bei bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung entsprechen die Chelatoren den obigen Formeln

(I) und (II), worin: R_1 und R_2 zusammen einen sechsgliedrigen heterozyklischen Ring bilden; R_3 ausgewählt ist aus H und einer mit Hydroxyl substituierten Alkylgruppe ausgewählt aus Methyl und Ethyl und am meisten bevorzugt Hydroxymethyl; R_4 eine Linker-Gruppe von ein bis drei Aminosäureresten ist und T die Schwefelschutzgruppe Acetamidomethyl (Acm) oder Benzoyl (Bz) ist.

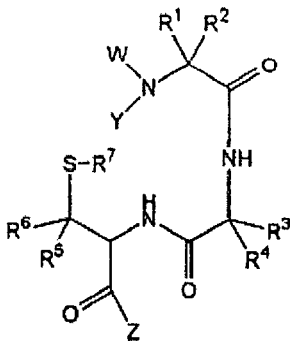
[0019] Bei mehr bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung entsprechen die Chelatoren der obigen Formel (I), worin R_1 und R_2 zusammen einen Pyridin-Ring bilden; R_3 Hydroxymethyl ist; T Acm ist und R_4 eine Linker-Gruppe ausgewählt aus -Gly- und -Gly-Asp-Gly- ist. Diese Chelatoren sind in einer mit dem Peptid gekoppelten Form dargestellt durch die Sequenzen:
Pic-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Pic-Ser-Cys(Acm)-Gly-TQPPR; und
Pic-Ser-Cys(Acm)-Gly-Asp-Gly-TKPPR;
worin Pic das Aminosäure-Derivat Picolinsäure darstellt.

[0020] Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erindung entsprechen die Chelatoren der obigen Formel (II), worin R_3 Hydroxymethyl ist; T Acm oder Bz ist, und R_4 die Linker-Gruppe -Gly-Asp-Gly- ist. Dieser mit dem Peptid an der Linker-Gruppe R_4 gekoppelte Chelator ist durch die Sequenz:
Bz-MA-Ser-Cys-Ser-Gly-Asp-Gly-TKPPR
dargestellt, worin Bz-MA die Gruppe Benzoylmercaptoessigsäure darstellt.

[0021] Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erindung entsprechen die Chelatoren der obigen Formel (II).

[0022] Bei noch einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Peptid an Metallchelatoren gekoppelt, die in der gleichzeitig schwebenden U.S. Anmeldung im Namen von Pollak et al, eingereicht am 22. Juli 1994, Ser. No. 08/279,155 geoffenbart sind, die der Formel (III) entsprechen:

(III)

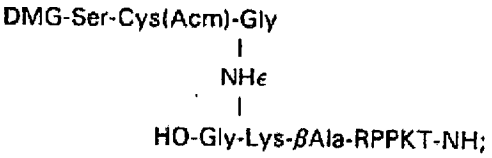


worin W eine lineare oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C_{1-4}-Alkylkette ist, die gegebenenfalls durch ein oder zwei Heteroatome ausgewählt aus N, O und S unterbrochen ist; und gegebenenfalls durch mindestens eine Gruppe ausgewählt aus Halogen, Hydroxyl, Amino, Carboxyl, C_{1-4}-Alkyl, Aryl und C(O)Z substituiert ist;
Y H oder ein durch W definierter Substituent ist;
W und Y zusammen einen 5- bis 8-gliedrigen gesättigten oder ungesättigten heterozyklischen Ring bilden können, der gegebenenfalls durch mindestens eine Gruppe ausgewählt aus Halogen, Hydroxyl, Amino, Carboxyl, Oxo, C_{1-4}-Alkyl, Aryl und C(O)Z substituiert ist;
R^1 bis R^4 unabhängig voneinander ausgewählt sind aus H; Carboxyl; C_{1-4}-Alkyl; C_{1-4}-Alkyl, das mit einer Gruppe ausgewählt aus Hydroxyl, Amino, Sulfhydryl, Halogen, Carboxyl, C_{1-4}-Alkoxycarbonyl und Aminocarbonyl substituiert ist; einer alpha-Kohlenstoff-Seitenkette oder eine D- oder L-Aminosäure, die nicht Prolin ist; und C(O)Z;
R^5 und R^6 unabhängig voneinander ausgewählt sind aus H; Carboxyl; Amino; C_{1-4}-Alkyl; C_{1-4}-Alkyl, das durch Hydroxyl, Carboxyl oder Amino substituiert ist; und C(O)Z;
R^7 ausgewählt ist aus H und einer Schwefelschutzgruppe; und
Z ausgewählt ist aus einem Targeting-Molekül, welches die Sequenz Thr-X-Pro-Pro-Arg aufweist, worin X der zuvor angegebenen Definition entspricht.

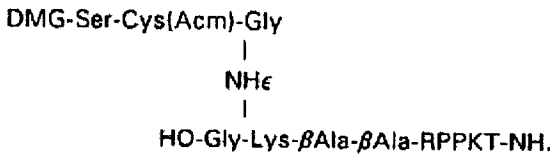
[0023] Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind R^1–R^7, W, X, Y und Z der obigen Formel (III) ausgewählt, um den Chelator DMG-Ser-Cys(Acm) zu ergeben, worin DMG das Aminosäurerest-Analog N',N-Dimethyl-glycin darstellt. Zu den Konjugaten des Peptids Thr-X-Pro-Pro-Arg mit diesem Chelator zählen:
DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TKPPR;
DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TQPPR;

DMG-Ser-Cys(Acm)-βAla-TKPPR; und
DMG-Ser-Cys(Acm)-βAla-βAla-TKPPR.

[0024] Bei einer anderen besonderen Ausführungsform haben die Konjugate des Peptids Thr-X-Pro-Pro-Arg den Chelator an den C-Terminus des Peptids gekoppelt. Zu den Konjugaten dieses Typs zählen:



und



[0025] Je nach dem ausgewählten Chelator können die Konjugate der Erfindung mit verschiedenen Verfahren hergestellt werden. Der Peptid-Teil des Konjugats wird am praktischsten mittels auf dem Gebiet der Peptid-Synthese allgemein etablierter Techniken hergestellt, wie auf dem Festphasen-Weg. Die Festphasen-Synthese umfasst die stufenweise Zugabe von Aminosäureresten zu einer wachsenden Peptid-Kette, die mit einem unlöslichen Träger oder einer Matrix, wie Polystyrol, verbunden ist. Der C-Terminus-Rest des Peptids wird zuerst an einem in Handel erhältlichen Träger verankert, wobei seine Aminogruppe mit einem N-Schutzmittel, wie eine t-Butyloxycarbonyl(tBOC)-Gruppe oder eine Fluorenylmethoxycarbonyl(FMOC)-Gruppe, geschützt ist. Die Aminoschutzgruppe wird mit geeigneten Entschützungsmitteln, wie TFA im Fall von tBOC oder Piperidin für FMOC, entfernt, und der nächste Aminosäurerest (in N-geschützter Form) wird mit einem Kupplungsmittel, wie Dicyclocarbodiimid (DCC), zugegeben. Nach der Bildung einer Peptidbindung werden die Reagenzien vom Träger abgewaschen. Nach Zugabe des letzten Restes wird das Peptid vom Träger mit einem geeigneten Reagens, wie Trifluoressigsäure (TFA) oder Fluorwasserstoff (HF) abgespalten.

[0026] Die Peptid- und Chelator-Komponenten werden zur Bildung eines Konjugats gekoppelt, indem die freie Aminogruppe des Thr-Restes des Peptids mit einer geeigneten funktionellen Gruppe des Chelators, wie einer Carboxylgruppe oder aktiviertem Ester, umgesetzt wird. Beispielsweise kann ein Konjugat den Chelator Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), der auf dem Gebiet der Koordinations-Chemie üblich ist, wenn er mit einem Carboxyl-Substituenten an der Ethylenkette funktionalisiert ist, umfassen. Die Synthese von EDTA-Derivaten dieser Art sind in Arya et al. (Bioconjugate Chemistry, 1991, 2: 323) berichtet, wobei die vier koordinierenden Carboxylgruppen jeweils mit einer t-Butylgruppe blockiert sind, während der Carboxyl-Substituent an der Ethylenkette frei ist, um mit der Aminogruppe des Peptids zu reagieren und dadurch ein Konjugat zu bilden.

[0027] Ein Konjugat kann eine Metall-Chelator-Komponente aufweisen, die peptidisch und mit der Festphasen-Peptid-Synthese kompatibel ist. In diesem Fall kann der Chelator mit dem Peptid auf dieselbe Weise wie die oben beschriebene EDTA gekoppelt sein, oder noch praktischer werden der Chelator und das Peptid in toto synthetisiert, beginnend mit dem C-terminalen Rest des Peptids und endend mit dem N-terminalen Rest des Chelators.

[0028] Die Konjugate können weiters eine Linker-Gruppen-Komponente aufweisen, die dazu dient, das Peptid mit dem Chelator zu koppeln, während weder die Targeting-Funktion des Peptids noch die Metallbindungsfunktion des Chelators beeinträchtigt werden. Zu den geeigneten Linker-Gruppen zählen Aminosäureketten und Alkylketten, die mit reaktiven Gruppen zwecks Kopplung an sowohl das Peptid als auch den Chelator funktionalisiert sind. Eine Aminosäurekette ist die bevorzugte Linker-Gruppe, wenn ein Chelator peptidisch ist, so dass das Konjugat in toto mittels Festphasen-Techniken synthetisiert werden kann. Bei einer besonderen Ausführungsform sind die Linker-Gruppen Aminosäureketten von 1–5 Resten und insbesondere 1–3 Resten. Bevorzugte Linker-Gruppen umfassen -Gly- und Gly-Asp-Gly- sowie Ketten aus synthetischen Aminosäureresten -βAla und -βAla-βAla.

[0029] Eine Alkylketten-Linker-Gruppe kann in das Konjugat eingebaut werden, indem die Aminogruppe des Thr-Restes des Peptids mit einer ersten funktionellen Gruppe an der Alkylkette, wie einer Carboxylgruppe oder einem aktivierten Ester, umgesetzt wird. Danach wird der Chelator an der Alkylkette angehängt, um die Bildung des Konjugates zu vervollständigen, indem eine zweite funktionelle Gruppe an der Alkylkette mit einer geeig-

neten Gruppe am Chelator umgesetzt wird. Die zweite funktionelle Gruppe an der Alkylkette ist ausgewählt aus Substituenten, die mit einer funktionellen Gruppe am Chelator reaktiv sind und vorzugsweise mit dem Thr-Rest des Peptids nicht reaktiv sind. Wenn z. B. der Chelator eine funktionelle Gruppe, wie eine Carboxylgruppe oder einen aktivierten Ester, aufweist, kann die zweite funktionelle Gruppe der Alkylketten-Linker-Gruppe eine Aminogruppe sein. Verständlicherweise kann die Bildung des Konjugats das Schützen und Entschützen der vorhandenen funktionellen Gruppen erfordern, um die Bildung unerwünschter Produkte zu verhindern. Das Schützen und Entschützen wird unter Verwendung von Schutzgruppen, Reagenzien und Protokollen, die auf dem Gebiet der organischen Synthese üblich sind, durchgeführt. Insbesondere können Techniken zum Schützen und Entschützen, die in der oben beschriebenen Festphasen-Peptid-Synthese verwendet werden, benützt werden.

[0030] Eine zu einer Alkylkette alternative chemische Linker-Gruppe ist Polyethylenglykol (PEG), das auf dieselbe Weise wie die oben beschriebene Alkylkette für den Einbau in die Konjugate funktionalisiert ist. Verständlicherweise können Linker-Gruppen alternativ zuerst an den Chelator und dann an das Peptid gekoppelt werden.

[0031] Gemäß einem Aspekt der Erfindung umfassen Peptid-Chelator-Konjugate ein diagnostisch geeignetes Metall, das einen Komplex bilden kann. Zu den geeigneten Metallen zählen Radionuklide, wie Technetium und Rhenium in ihren verschiedenen Formen, wie $^{99m}TcO^{3+}$, $^{99m}TcO_2^+$, ReO^{3+} und ReO_2^+. Der Einbau des Metalls im Konjugat kann mit verschiedenen auf dem Gebiet der Koordinations-Chemie üblichen Methoden erreicht werden. Wenn das Metall Technetium-99m ist, kann die folgende allgemeine Vorgangsweise verwendet werden, um einen Technetium-Komplex zu bilden. Zu Beginn wird eine Peptid-Chelator-Konjugat-Lösung gebildet, indem das Konjugat in wässerigem Alkohol, wie Ethanol, gelöst wird. Die Lösung wird dann zum Entfernen von Sauerstoff entgast, und danach werden die Thiol-Schutzgruppen mit einem geeigneten Reagens, beispielsweise mit Natriumhydroxid, entfernt, und danach mit einer organischen Säure, wie Essigsäure (pH 6,0–6,5), neutralisiert. Im Markierungsschritt wird von einem Molybdän-Generator erhaltenes Natriumpertechnetat zu einer Lösung des Konjugats mit einer für die Reduktion von Technetium ausreichenden Menge eines Reduktionsmittels, wie Zinn(II)-chlorid, zugegeben und erhitzt. Das markierte Konjugat kann von den Kontaminanten $^{99m}PcO_4$ und kolloidalem $^{99m}TcO_2$ chromatographisch getrennt werden, beispielsweise mit einer C-18 Sep Pak-Patrone.

[0032] Bei einem alternativen Verfahren kann das Markieren durch eine Trans-Chelations-Reaktion erreicht werden. Die Technetium-Quelle ist eine Lösung von mit instabilen Liganden komplexiertem Technetium, was einen Liganden-Austausch mit dem ausgewählten Chelator erleichtert. Zu den geeigneten Liganden für eine Trans-Chelation zählen Tartrat, Citrat und Heptagluconat. In diesem Fall ist das bevorzugte Reduktionsmittel Natriumdithionit. Verständlicherweise kann das Konjugat unter Verwendung der oben beschriebenen Techniken markiert werden, oder alternativ kann der Chelator selbst markiert und danach mit dem Peptid zur Bildung des Konjugats gekoppelt werden, ein Verfahren, das als „vormarkiertes Liganden"-Verfahren bezeichnet wird.

[0033] Bei einer weiteren Vorgehensweise zur Markierung von Konjugaten der vorliegenden Erfindung sind Techniken beteiligt, die in einer gleichzeitig schwebenden U.S. Anmeldung 08/152,680, eingereicht am 16. November 1993, beschrieben sind. Kurz gesagt werden die Peptid-Chelator-Konjugate auf einem Festphasen-Träger durch eine Bindung immobilisiert, die nach Metall-Chelatbildung gespalten wird. Dies wird erreicht, wenn der Chelator an eine funktionelle Gruppe des Trägers durch eines der Komplex-bildenden Atome gekoppelt ist. Vorzugsweise ist ein Komplex-bildendes Schwefelatom an den Träger gekoppelt, welches mit einer Schwefelschutzgruppe, wie Maleimid, funktionalisiert ist.

[0034] Wenn sie mit einem diagnostisch geeigneten Metall markiert sind, können die Peptid-Chelator-Konjugate der vorliegenden Erfindung zum Nachweis von Entzündungsstellen mittels Verfahren, die auf dem Gebiet der diagnostischen Bildgebung etabliert sind, verwendet werden. Ein mit einem Radionuklid-Metall, wie Technetium-99m, markiertes Konjugat kann einem Säuger durch intravenöse Injektion in einer pharmazeutisch akzeptablen Lösung, wie isotonischer Kochsalzlösung, verabreicht werden. Die Menge des für die Verabreichung passenden markierten Konjugats hängt vom Verteilungsprofil des gewählten Konjugats insofern ab, als ein Konjugat mit rascher Clearance in höheren Dosen verabreicht werden kann als eines mit einer weniger raschen Clearance. Die Einheitsdosen, die für die Bildgebung einer Entzündung akzeptabel sind, liegen im Bereich von etwa 5–40 mCi für ein Individuum mit 70 kg. Die Verteilung und Lokalisierung in vivo wird mittels Standard-Szintigraphie-Techniken zu einer geeigneten Zeit nach der Verabreichung verfolgt; typischerweise zwischen 30 Minuten und 180 Minuten, je nach der Geschwindigkeit der Ansammlung an der Zielstelle in Bezug auf die Clearance-Rate beim Nicht-Zielgewebe.

[0035] Die folgenden Beispiele werden zur Veranschaulichung bestimmter Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung präsentiert.

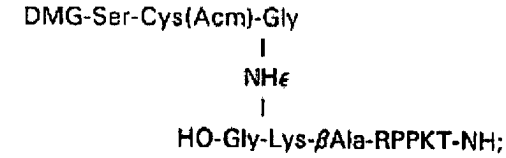
Beispiel 1 Herstellung von Konjugaten:
Pic-Ser-Cys(Acm)-G-TKPPR
Pic-Ser-Cys(Acm)-GDG-TKPPR
Bz-MA-Ser-Cys-GDG-TKPPR

[0036] Peptid-Chelator-Konjugate wurden in toto unter Verwendung der 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl(FMOC)-Chemie an einem 2-Methoxy-4-alkoxybenzylalkohol-Harz, das mit dem geschützten C-Terminus-Rest vorbeladen war (Sarsin resin, Bachem Biosciences Inc., Philadelphia PA), unter Verwendung eines Applied Biosystems 433A-Peptidsynthesizers (Foster City, CA) synthetisiert. Die N-Terminus-Reste Pic und Bz-MA wurden unter Verwendung von Picolinsäure bzw. Benzoylmercaptoessigsäure als letzter Rest bei der Synthese eingebaut.

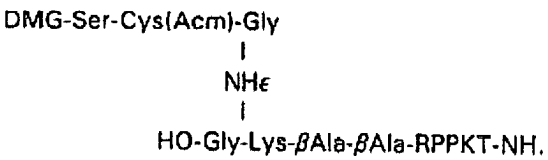
[0037] Das Harz-gebundene Konjugat wurde im Vakuum 12 Stunden lang getrocknet. Die Abspaltung des Konjugats vom Harz umfasste das 1,5 bis 2 Stunden lange Mischen einer gekühlten Lösung von 95% Trifluoressigsäure (TFA) und 5% Wasser (1 ml pro 100 mg des Peptid-Harzes) mit dem Konjugat-Harz bei Raumtemperatur. Das Harz wurde durch Filtration entfernt und 3 Mal mit 30 ml T-butylmethylether in einem konischen 50 ml-Polypropylen-Zentrifugenröhrchen gewaschen, was einen weißen Niederschlag erzeugte. Der Niederschlag wurde in Wasser mit zugesetztem Acetonitril gelöst Der Niederschlag wurde in Aceton-Trockeneis gefroren und während 12 Stunden lyophilisiert. Das resultierende weiße Pulver wurde in Wasser gelöst, durch einen 0,45 µm-Spritzenfilter (Gelman Acrodisc LC PVDF) filtriert, und durch Umkehrphasen-HPLC (Beckman System Gold) mit einer C_{18}-Säule (Waters RCM 25 × 10) gereinigt, wobei 0,1% TFA in Wasser als Puffer A und 0,1% TFA in Acetonitril als Puffer B verwendet wurde. Die Säule wurde mit 100:0 Puffer A:Puffer B äquilibriert und mit einem linearen Gradienten in 25 min mit 1 ml/min zu 50% Puffer B eluiert. Die Fraktionen wurden auf der HPLC reanalysiert und gemäß zusammenpassenden Profilen gepoolt. Wenn nötig, wurden die gepoolten Fraktionen unter Verwendung derselben Bedingungen wiederum gereinigt. Die reinen Fraktionen wurden in Aceton-Trockeneis gefroren und während 10 Stunden lyophilisiert, was ein weißes Pulver ergab.

[0038] Auf gleiche Weise wurden die Konjugate DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TKPPR; DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TQPPR; DMG-Ser-Cys(Acm)-βAla-TKPPR; und DMG-Ser-Cys(Acm)-βAla-βAla-TKPPR synthetisiert, wobei der im Handel erhältliche Rest N',N-Dimethyl-Glycin (DMG) als letzter Rest in der Synthese verwendet wurde.

Herstellung von Konjugaten:



und



[0039] Das Peptid Thr-X-Pro-Pro-Arg kann mit der folgenden Vorgangsweise an seinem C-Terminus mit einen Chelator oder einer daran befindliche Linker-Gruppe, die Lysin-Reste aufweist, gekoppelt werden auf dem Weg über die ε-Aminogruppe des Lysin-Rests. Für die genannten Konjugate wurden das Peptid und ein Teil des Linkers (TKPPR-βAla-Lys-Gly-OH und TKPPR-βAla-βAla-Lys-Gly-OH) zuerst synthetisiert unter Verwendung der 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl(FMOC)-Chemie mit einem mit FMOC-Glycin vorbeladenen 2-Methoxyl-4-alkoxyl-benzylalkohol-Harz und einem mit 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyolohexyliden)-ethyl(Dde) orthogonal geschützen Lysin mit einem Applied Biosystems 433A-Peptid-Synthesizer. Das Peptid-Harz wurde vom Synthesizer entfernt und 2 Stunden lang im Vakuum getrocknet.

[0040] Peptid-Harz (50 mg/2 ml) wurde mit einem 2% Hydrazinhydrat in einer N-Methylpyrrolidon(NMP)-Lösung 3 Minuten lang zweimal verwirbelt, dann filtriert und mit DCM gewaschen und im Vakuum 4 Stunden lang getrocknet, um die ε-Aminolysin-Schutzgruppe (Dde) zu entfernen.

[0041] Der Chelator-Teil DMG-Ser-Cys(Acm)-Gly-OH wurde zum ε-Aminolysin des Peptids auf dem 433A Peptid-Synthesizer zugegeben. Das Chelator-Peptid-Harz wurde im Vakuum 2 Stunden lang getrocknet. Die Abspaltung vom Harz und von den Schutzgruppen umfasste das Mischen einer gekühlten Lösung von 10 ml Trifluoressigsäure (TFA), 0,75 g Phenol, 0,25 ml 1,2-Ethandiol, 0,5 ml Thioanisol und 0,5 ml Wasser mit dem Chelator-Peptid-Harz während 2,5 bis 3 Stunden bei Raumtemperatur. Das Harz wurde durch Filtration entfernt und mit 1–3 ml TFA gewaschen, um 6–8 ml einer klaren gelben Flüssigkeit zu erhalten. Diese Flüssigkeit wurde langsam in 30–35 ml tert-Butylmethylether bei 0°C in einem konischen 50 ml Polypropylen-Zentrifugenröhrchen getropft, was einen weißen Niederschlag bildete. Der Niederschlag wurde bei 7000 U/min, 0°C, 10 Minuten lang zentrifugiert (Sorvall RT 6000, Dupont), dekantiert und noch zweimal mit t-Butylmethylether gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum wurde der Niederschlag in Wasser gelöst. Der Niederschlag wurde in Aceton-Trockeneis gefroren und während 10 Stunden lyophilisiert. Das resultierende weiße Pulver wurde in Dimethylsulfoxid (20 µl) und 50:50 Acetonitril:Wasser-Lösung (980 µl) gelöst, durch einen 0,45 µm Spritzenfilter (Gelman Acrodisc LC PVDF) filtriert und mittels Umkehrphasen-HPLC (Beckman System Gold) mit einer C18-Säule (Waters RCM 25 × 10) unter Verwendung von 0,1% TFA in Wasser als Puffer A und 0,1% TFA in Acetonitril als Puffer B gereinigt. Die Säule wurde mit 50:50 Puffer A:Puffer B äquilibriert und mit einem linearen Gradienten in 25 min mit 1 ml/min zu 100% Puffer B eluiert. Die Fraktionen wurden an HPLC reanalysiert und gemäß zusammenpassenden Profilen gepoolt. Die reinen Fraktionen wurden in Aceton-Trockeneis gefroren und während 12 Stunden lyophilisiert, was ein weißes Pulver ergab.

Beispiel 2 Markierung und Bildgebung von Konjugaten

[0042] Bildgebungsuntersuchungen wurden in einem Ratten-Entzündungsmodell wie folgt durchgeführt. Männlichen Wistar-Ratten (Charles River, 150–200 g) wurde Zymosan (25 mg), eine Hefezellwand-Suspension, intramuskulär in ihre linken Hinterbeine 24 Stunden vor der Bildgebung injiziert. Eine herdförmige Entzündung war nach 1 Tag im Bein visuell nachweisbar.

[0043] Jedes Konjugat (50 µl, 2 mg/ml Kochsalzlösung) wurde in ein 1,5 ml Röhrchen mit 100 µl Kochsalzlösung, 100 µl Pertechnetat (10 mCi) und 100 µl Zinn(II)-gluconat (50 µg Zinn(II)-chlorid und 1 mg Natriumgluconat) gegeben. Das Röhrchen wurde mit einer Kappe versehen und 10 Minuten lang in ein kochendes Wasserbad gegeben und danach durch eine Watman PVDF-Spritze filtriert, um die markierte Konjugat-Lösung zu sammeln, welche mit Kochsalzlösung weiter verdünnt wurde, um eine injizierbare Lösung (200 µl) herzustellen, die etwa 100 µCi (3,7 MBq) Aktivität enthielt. Die Ratten wurden mit Somnotol (40 bis 50 mg/kg) anästhesiert, und die mit Tc-99m markierte Konjugat-Lösung (200 µl) wurde intravenös über die Schwanzvene injiziert. Serielle Ganzkörper-Szintigramme wurden 30 Minuten nach der Verabreichung mit einer gamma-Kamera erhalten. Die Ratten wurden dann mit Anaesthesie getötet und Proben von Organen, Harn, Blut, entzündetem Muskel (linkes Bein) und nicht-entzündetem Muskel (rechtes Bein) wurden gewogen und entweder in einem Gamma-Zähler des Typs mit Vertiefungen („well-type gamma counter") oder in einem Gamma-Dosis-Eichgerät gezählt. Die Blutdosis-Berechnungen erfolgten auf Basis der Annahmen, dass (1) die Ratte 200 g wog und (2) das Blutvolumen 8% des Körpergewichts darstellte. Die in der folgenden Tabelle präsentierten Ergebnisse sind der Durchschnitt von mehrfachen Versuchen und sind hinsichtlich der Restdosis im Schwanz korrigiert.

Chelator	Linker-Gruppe	Peptid	Zeit (min)	% Dosis/g Harn	GI-Trakt	Blut	entz. Muskel	nicht-entz. Muskel	entz.: nicht-entz.
Pic-Ser-Cys(Acm)-	-Gly-	-TKPPR-OH	30	44.71	5,08	0,392	0,154	0,052	3,6
			180	80,62	3,71	0,048	0,026	0,006	4,7
		-TQPPR-OH	35	62,3	4,4	0,149	0,081	0,018	4,8
		-TKPR-OH	35	22,8	22,8	0,268	0,120	0,040	3,0
		- KPPR-OH	45	43,5	-	0,220	0,125	0,059	2,1
		- TKKPR-OH	35	16,1	4,2	0,136	0,071	0,022	3,2
		- RTKPR-OH	35	45,4	15,0	0,169	0,099	0,033	3,0
		- PRTKP-OH	35	52,5	27,1	0,089	0,046	0,019	2,6
DMG-Ser-Cys(Acm)-	-Gly-	- TKPPR-OH	30	46,2	3,4	0,272	0,070	0,014	5,0
		- TKPRTKPR	35	52,1	15,8	0,159	0,082	0,020	4,1
		- TQPPR-OH	35	43,4	7,8	0,127	0,073	0,015	4,8
DMG-Ser-Cys(Acm)-	-βAla-	- TKPPR-OH	60	81,1	2,1	0,062	0,035	0,007	5,1
DMG-Ser-Cys(Acm)-	-βAla-βAla-	- TKPPR-OH	60	82,5	1,8	0,050	0,032	0,012	4,2
Bz-MA-Ser-Cys(Acm)-	-GDG-	- TKPPR-OH	35	47,8	-	0,483	0,226	0,057	4,0
Pic-Ser-Cys(Acm)	-GDG-	- TKPPR-OH	35	63,1	-	0,228	0,166	0,034	4,9
DMG-Ser-Cys(Acm)-	- G-NHε HO-G-Lys-βAla	-RPPKT-NH	65	80,6	3,6	0,080	0,030	0,008	3,96
DMG-Ser-Cys(Acm)-	-G-NHε HO-G-Lys-βAla-βAla	-RPPKTNH	60	82,5	2,5	0,050	0,028	0,005	5,8
Pic-Ser-Cys(Acm)-	-G-G-NHε HO-A-Lys-G-	-RPPKTfor	35	12,2	11,3	0,748	0,213	0,086	2,5
Pic-Ser-Cys(Acm)-	-NH-NHε HO-A-Lys-G-	-RPPKTfor	35	14,3	9,2	0,485	0,163	0,062	2,6

[0044] Obgleich man nicht durch eine Theorie gebunden sein möchte, nimmt man an, dass gute Abbildungen erhalten werden, wenn sich ein Mittel selektiv an einem Zielgewebe ansammelt, was durch ein großes Target zu Hintergrund-Verhältnis angezeigt ist. Andere Faktoren, die für die Nützlichkeit eines Bildgebungsmittels maßgeblich sind, sind seine Bioverteilung und Clearance-Rate. Beispielsweise wird ein Mittel, das sich im Gastrointestinal-Trakt ansammelt, eine Abbildung verschleiern, wenn die Zielstelle sich in dieser Nähe befindet, im Vergleich zu einem solchen, das rasch durch die Nieren in den Harn ausgeschieden wird.

[0045] Die in der Tabelle zusammengefassten Ergebnisse zeigen, dass Konjugate, die das TKPPR- oder TQPPR-Peptid an Chelatoren am N-Terminus gekoppelt aufweisen, ein signifikant höheres Verhältnis von entzündetem zu nicht-entzündetem Muskel (Ziel zu Hintergrund) sowie bessere Verteilungsprofile im Vergleich zu den anderen mit Tuftsin verwandten getesteten Peptiden hatten. Infolgedessen ergaben diese Konjugate Abbildungen, die das entzündete Muskelgewebe höchst deutlich unterschieden. Das Peptid war an einen Chelator der Klassen N_2S_2 und N_3S gebunden, die beide ein hohes Target zu Hintergrund-Verhältnis und eine rasche Clearance in den Harn aufwiesen. Drei verschiedene Linker-Gruppen, deren Länge unterschiedlich von 1 bis 4 Aminosäuren war, wurden verwendet, um das Peptid an die Chelatoren zu koppeln, wovon jede gute Abbildungen ergab.

[0046] Das native Tuftsin-Peptid und andere Antagonisten wurden an den N_3S-Chelator gekoppelt und getestet, jedoch zeigte jedes ein Ziel zu Hintergrund-Verhältnis, das niedriger war als bei den TKPPR- und

TQPPR-Konjugaten, sowie eine starke Ansammlung im GI-Trakt, mit einer Ausnahme. Das TKKPR-Konjugat wies eine geringere Ansammlung in GI-Trakt und Blut auf, doch war die Menge im Harn besonders niedrig, was anzeigt, dass sich dieses Konjugat irgendwo anders angesammelt hatte, was für eine Bildgebung unerwünscht wäre. Gekoppelt an den Chelator an seinem C-Terminus ergab das TKPPR-Peptid ein relativ niedriges Target zu Hintergrund-Verhältnis und eine starke Ansammlung im GI-Trakt, was zu einer Abbildung mit geringerer Auflösung führte.

[0047] Die Ergebnisse zeigen an, dass Konjugate, die die Peptide TKPPR oder TQPPR eingebaut haben, an einen Chelator an seinem N-Terminus gekoppelt für die Bildgebung einer Entzündung geeignet sind und dass diese Indikation von der Art des Chelators oder der Linker-Gruppe, die im Konjugat eingebaut ist, unabhängig ist.

Patentansprüche

1. Peptid-Chelator-Konjugat, das zur Bildgebung von Entzündungsstellen nützlich ist, mit einem Metall-Chelator, der mit einem Peptid gekoppelt ist, welches die Sequenz Thre-X-Pro-Pro-Arg aufweist, wobei X ein Aminosäurerest oder ein Analog davon ist, mit der Maßgabe, dass das Peptid-Chelator-Konjugat nicht
Pic-Ser-Cys-Gly-TKPPR;
Pic-Ser-Cys (Acm)-Gly-TKPPR;
2-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
1-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
3-Chinolinsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Indol-2-Carbonsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Pyrrol-2-Carbonsäure-Ser-Cys(Acm)-Gly-TKPPR;
Ser-Cys-Gly-TKPPR; oder
S-Acm-Mercaptoacetyl-Ser-N-Methylhydrazino-Nikontinsäure-Gly-Thr-Lys-Pro-Pro-Arg
ist.

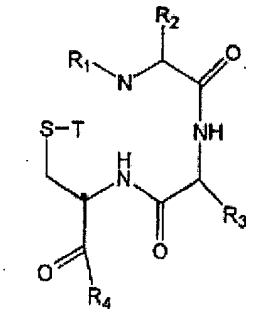
2. Peptid-Chelator-Konjugat nach Anspruch 1, worin X ein Aminosäurerest oder ein Analog davon ist mit einer Seitenkette, die eine Gruppe mit einschließt, die unter physiologischen Bedingungen geladen oder polar ist.

3. Peptid-Chelator-Konjugat nach einem vorhergehenden Anspruch, wobei der Metall-Chelator und das Peptid durch eine Linker-Gruppe gekoppelt sind.

4. Peptid-Chelator-Konjugat nach einem vorhergehenden Anspruch, wobei der Metall-Chelator an den N-Terminus des Peptids gekoppelt ist.

5. Peptid-Chelator-Konjugat nach einem vorhergehenden Anspruch, wobei der Metall-Chelator an den C-Terminus des Peptids gekoppelt ist.

6. Peptid-Chelator-Konjugat nach einem vorhergehenden Anspruch, wobei der Metall-Chelator eine allgemeine Formel:



hat, worin R_1 und R_2 zusammen einen 5- oder 6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, welcher gegebenenfalls mit einem 5- oder 6-gliedrigen Ring verschmolzen ist, worin jeder Ring gegebenenfalls mit Gruppen substituiert ist, die ausgewählt sind aus Alkyl, Alkoxy, Carboxyl, Halogen, Hydroxyl und einer Linker-Gruppe;
R_3 ausgewählt ist aus H; Alkyl und Alkyl, das substituiert ist durch eine Gruppe ausgewählt aus Amino, Aminoacyl, Carboxyl, Guanidinyl, Hydroxyl, Thiol, Phenyl, Phenolyl, Indolyl und Imidazolyl;
R_4 ausgewählt ist aus Hydroxyl, Alkoxy und einer Linker-Gruppe, und

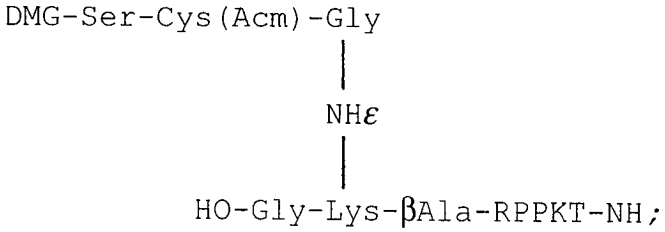
T H oder eine Schwefel-Schutzgruppe darstellt.

7. Peptid-Chelator-Konjugat nach Anspruch 6, wobei das Peptid bei R_4 mit dem Metall-Chelator gekoppelt ist.

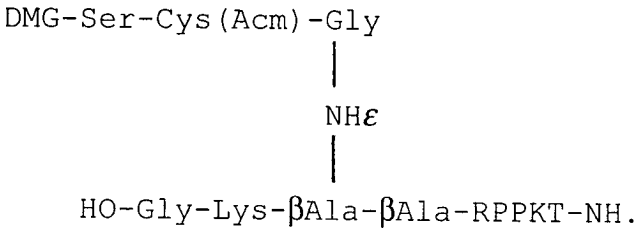
8. Peptid-Chelator-Konjugat nach Anspruch 6, wobei das Peptid- durch eine Linker-Gruppe bei R_4 mit dem Metall-Chelator gekoppelt ist.

9. Peptid-Chelator-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 8 in einer Form, die mit einem diagnostisch nützlichen Metall oder einem Oxid oder Nitrid davon komplexiert ist.

10. Peptid-Chelator-Konjugat nach Anspruch 1, ausgewählt aus
Pic-Ser-Cys (Acm)-GDG-TKPPR;
Pic-Ser-Cys(Acm)-G-TQPPR;
DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TKPPR;
DMG-Ser-Cys(Acm)-G-TQPPR;
DMG-Ser-Cys(Acm)-βAla-TKPPR;
DMG-Ser-Cys (Acm)-βAla-βAla-TKPPR;
Bz-Ma-Ser-Cys(Acm)-GDG-TKPPR;



und



11. Verwendung einer diagnostisch wirksamen Menge einer Zusammensetzung, die einen Peptid-Chelator gemäß einem vorhergehenden Anspruch umfasst, bei der Herstellung eines Mittels zur Bildgebung einer Entzündungsstelle bei einem Säuger.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen