(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年9月29日(29.09.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/203082 A1

(51) 国際特許分類:
C07D 403/12 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/014681

(22) 国際出願日： 2022年3月25日(25.03.2022)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2021-053783 2021年3月26日(26.03.2021) JP

(71) 出願人: 日本メジフィジックス株式会社(**NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒1360075 東京都江東区新砂３丁目４番１０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 渡邉 友理恵 (**WATANABE, Yurie**); 〒1360075 東京都江東区新砂３丁目４番１０号 日本メジフィジックス株式会社内 Tokyo (JP). 大澤 沙優里(**OSAWA, Sayuri**); 〒1360075 東京都江東区新砂３丁目４番１０号 日本メジフィジックス株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人翔和国際特許事務所 (**SHOWA INTERNATIONAL PATENT FIRM**); 〒1070052 東京都港区赤坂二丁目１２番１０号 ＨＦ溜池ビルディング２階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て：
一 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に関する申立て（規則4.17(ii)）

添付公開書類：
一 国際調査報告（条約第21条(3)）

(54) **Title:** COMPOUND, METHOD FOR PRODUCING AND METHOD FOR STORING COMPOUND, METHOD FOR PRODUCING TARGETING AGENT, AND COMPOSITION

(54) 発明の名称： 化合物、化合物の製造方法及び保管方法、ターゲッティング剤の製造方法、並びに組成物

(57) **Abstract:** In this production method, a ligand compound capable of being coordinated with a metal ion and a first compound having an atomic group capable of a click reaction are reacted to obtain a product comprising a second compound having in the structure thereof a ligand and an atomic group capable of a click reaction. Thereafter, an eluting solution which includes a water-soluble organic acid having prescribed physical properties and does not include a trifluoroacetic acid is used to subject the product to liquid chromatography to obtain the second compound which has been purified. The present invention also provides: a method for storing the second compound; a composition including the second compound; and a method for producing a targeting agent using the second compound.

(57) 要約：本発明の製造方法は、金属イオンに配位可能な配位子化合物と、クリック反応可能な原子団を有する第１化合物とを反応させて、クリック反応可能な原子団及び配位子を構造中に有する第２化合物を含む生成物を得る。その後、所定の物性を有する水溶性有機酸を含み、且つトリフルオロ酢酸を含まない溶離液を用いて前記生成物を液体クロマトグラフィー法に付して、精製された前記第２化合物を得る。本発明は、第２化合物の保管方法、第２化合物を含む組成物、及び第２化合物を用いたターゲッティング剤の製造方法も提供する。

WO 2022/203082 A1

明　細　書

発明の名称 ：

化合物、化合物の製造方法及び保管方法、ターゲッティング剤の製造方法、並びに組成物

技術分野

[0001]　本発明は、化合物、化合物の製造方法及び保管方法、ターゲッティング剤の製造方法、並びに組成物に関する。

背景技術

[0002]　標的分子の検出のための試薬及び診断薬、あるいは、疾患の治療のための医薬品への利用を目的として、例えば放射性金属等の各種金属に配位可能な化合物の製造条件や保管条件に関する検討が進められている。

[0003]　特許文献１には、上記化合物として得られたＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを精製し、その後、これを用いて、放射性金属で標識したポリペプチドを製造する方法が開示されている。

[0004]　また非特許文献１には、放射性金属である^{64}ＣｕにＤＯＴＡ誘導体を配位させて標識したナノ粒子の製造方法に関し、上記化合物であるＤＯ３Ａ－ＤＢＣＯの製造において、トリフルオロ酢酸を用いて精製したことが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開第２０１９／１２５９８２号パンフレット

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Ｚｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ，　ＡＣＳ　Ｎａｎｏ．　２０１２，６（６），５２０９－５２１９．

発明の概要

[0007]　ところで、金属イオンに配位可能な化合物として、ＤＯＴＡやその誘導体

等のカルボキシ基を構造中に含む配位子化合物を精製する場合には、非特許文献１に開示されているように、トリフルオロ酢酸（以下、本明細書において「ＴＦＡ」ともいう。）を含む溶媒あるいは溶離液を用いることが、本技術分野では一般的である。

しかし、後述する比較例１に示すように、ＴＦＡを含む溶媒あるいは溶離液を用いて前記化合物を精製して保管する場合には、時間の経過に伴って、目的の化合物の純度が低下してしまう場合があることが本発明者の知見により明らかとなった。このような知見から、目的の化合物の保存安定性を高くする技術が望まれていた。

[0008] したがって本発明の課題は、目的とする化合物の保存安定性を高めることにある。

[0009] 本発明は、金属イオンに配位可能な配位子化合物と、クリック反応可能な原子団を有する第１化合物とを反応させて、クリック反応可能な原子団及び配位子を構造中に有する第２化合物を含む生成物を得て、然る後に、

１気圧、２０℃で液体の水溶性有機酸を含み、且つトリフルオロ酢酸を含まない溶離液を用いて前記生成物を液体クロマトグラフィー法に付して、精製された前記第２化合物を得る、化合物の製造方法を提供するものである。

[0010] また本発明は、前記製造方法によって得られた第２化合物を金属イオンに配位させる工程と、

前記第２化合物と、クリック反応可能な原子団を有するターゲッティング化合物とを、クリック反応可能な原子団どうしの間で反応させる工程とを、この順で又は逆の順で備える、ターゲッティング剤の製造方法を提供するものである。

[0011] また本発明は、金属イオンに配位可能な配位子とクリック反応可能な原子団とを構造中に有する化合物と、

１気圧、２０℃で液体の水溶性有機酸を含み、且つトリフルオロ酢酸を含まない、組成物を提供するものである。

[0012] また本発明は、金属イオンに配位可能な配位子とクリック反応可能な原子

団とを構造中に有し、

保管開始時の純度に対する、－２０℃で１箇月保管した後の純度の低下率が５％以下である、化合物を提供するものである。

[0013] また本発明は、製造方法によって精製された第２化合物を冷凍保管する、化合物の保管方法を提供するものである。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、本発明を、その好ましい実施形態に基づき説明する。本発明の製造方法は、金属イオンに配位可能な配位子化合物と、クリック反応可能な原子団を有する第１化合物とを反応させて、クリック反応可能な原子団及び配位子を構造中に有する第２化合物を含む生成物を得る工程（以下、合成工程ともいう。）と、合成工程を経て得られた生成物を所定の条件で精製して、精製された第２化合物を得る工程（以下、精製工程ともいう。）とを備える。

[0015] 合成工程においては、配位子化合物と第１化合物とを反応させて、第２化合物を含む生成物を得る。反応の均一性の観点から、両化合物の反応は、反応溶媒中に両化合物を溶解又は分散させた状態で行うことが好ましい。

配位子化合物、第１化合物及び第２化合物、並びにこれらの反応条件の詳細は後述する。

[0016] 合成工程を経て得られた生成物は、配位子化合物と第１化合物との反応によって、目的とする主生成物である第２化合物に加えて、未反応の配位子化合物及び第１化合物、位置異性体等の第２化合物以外の副生成物、並びに必要に応じて反応溶媒を含むものである。

第２化合物は、配位子化合物の化学構造に由来する金属イオンに配位可能な配位子と、第１化合物の化学構造に由来するクリック反応可能な原子団との２つの化学構造を有する有機化合物である。すなわち、第２化合物は、その構造中に、金属イオンに配位可能な化学構造と、クリック反応可能な化学構造とを備える。

[0017] 本製造方法においては、上述の第２化合物を含む生成物を精製する精製工程において、所定の条件を採用することを特徴の一つとしている。

配位子を構造中に有する有機化合物は、これを精製する際に、ＴＦＡを含む溶媒又は溶離液が従来から用いられていた。しかし、このような条件では、目的とする化合物を適切に分離精製することができなかったり、あるいは精製後の化合物を保存したときに、時間の経過に伴って目的の化合物の純度が低下したりする場合があることが明らかとなった。この理由について本発明者が鋭意検討したところ、ＴＦＡが配位子に意図せず配位又は結合したり、あるいは反応性の高い官能基と意図せず反応したりしたものと推測された。

このような知見から、精製工程において、ＴＦＡ以外の有機酸を用い、且つＴＦＡを含まない条件で精製することによって、意外にも、純度高く精製できるとともに、精製によって得られた目的の化合物の分解を抑制することができ、保存安定性を向上できることを見出した。

[0018] 精製工程においては、第２化合物を含む生成物を液体クロマトグラフィー法に付す。このときに用いる溶離液は、１気圧、常温で液体の水溶性有機酸を含み、且つＴＦＡを含まないものを用いることが好ましく、上記の水溶性有機酸としては、１気圧、常温で液体であって、かつ１気圧で沸点１５０℃以下であるものを用いることがより好ましい。このような条件を採用することによって、精製後の第２化合物を含む液体の組成物を減圧乾燥又は凍結乾燥することで固体状の第２化合物を得る場合に溶離液を残留させることなく蒸散させることができ、その結果、精製効率を高め、且つ保存安定性を向上させることができる。

[0019] 本明細書における「水溶性有機酸」とは、１気圧、２０℃で水に溶解する有機酸を意味する。水溶性有機酸は、当該有機酸と水とを混合したときに、目視にて層分離が観察されず均一な状態となる物性を有することが好ましい。より好ましくは、本明細書における水溶性有機酸は、水１００ｍＬに対して３ｍＬ以上溶解する有機酸を意味する。水溶性有機酸は、当該有機酸と水とを体積比１：１０（有機酸：水）で混合したときに、目視にて層分離が観察されず均一な状態となる物性を有することがさらに好ましい。

[0020] また、本明細書において「ＴＦＡを含まない」とは、反応系や得られた化合物や組成物に対してＴＦＡを意図的に含有させない趣旨であり、原料中に微量存在するなどしたＴＦＡや、あるいは測定機器に微量残留したＴＦＡが不可避的に混入することは許容される。溶離液を例にとると、溶離液中に意図的にＴＦＡを含有させないが、例えば原料に由来するＴＦＡが不可避的に溶離液中に混入することは許容される趣旨である。

ＴＦＡを含まないことは、例えば^{19}Ｆ－ＮＭＲで分析したときに、ＴＦＡに由来するピークが観察されないことによって判断することができる。

[0021] 精製工程において用いられる液体クロマトグラフィー法は、例えば、種々の充填剤を充填したカラム若しくはゲルを用いたカラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、中圧分取液体クロマトグラフィー等の少なくとも一種が挙げられる。

[0022] 精製工程において好適に用いられる水溶性有機酸は、好ましくは１気圧で沸点１５０℃以下のものであり、具体的には、ギ酸（沸点：１００．８℃）、酢酸（沸点：１１８℃）、プロピオン酸（沸点：１４１．２℃）等が挙げられる。これらは単独で又は複数用いることができる。

これらのうち、取り扱いの簡便性、精製効率の向上、第２化合物との意図しない化学反応の抑制、及び精製した第２化合物の保存安定性の向上とを兼ね備える観点から、酢酸を用いることが好ましい。

[0023] 溶離液中の水溶性有機酸の濃度は、好ましくは０．００１体積％以上１０体積％以下、より好ましくは０．０１体積％以上１．０体積％以下、さらにより好ましくは０．１体積％以上１．０体積％以下である。このような濃度範囲であることによって、精製効率を更に向上させることができる。

[0024] 溶離液を構成する水溶性有機酸以外の液体成分としては、例えば、蒸留水やイオン交換水等の水；メタノール及びエタノール等の水溶性のプロトン性溶媒；アセトニトリル、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシド及びアセトン等の水溶性の非プロトン性溶媒；ヘキサン、トルエン、酢酸エチル等の非水溶性有機溶媒が挙げられ

る。これらは単独で複数組み合わせて用いることができる。なお本明細書においては、水溶性のプロトン性溶媒及び水溶性の非プロトン性溶媒を「極性有機溶媒」と呼ぶことがある。

これらのうち、配位子化合物、第１化合物及び第２化合物を全て溶解させて、精製を容易にする観点から、溶離液の液体成分は水及び極性有機溶媒の少なくとも一種を含むことが好ましく、水及びアセトニトリルのうち少なくとも一種を含むことが更に好ましい。

[0025] 精製時間の短縮、精製効率の向上及び取り扱い性の向上の観点から、複数種の溶離液を用いて精製工程を行うことが好ましい。具体的には、溶離液の液体成分として水及び極性有機溶媒を選択した場合には、第１の溶離液として、ＴＦＡを含まず且つ上述の水溶性有機酸の水溶液を用い、その後、第２の溶離液として、ＴＦＡを含まず且つ上述の水溶性有機酸を含む極性有機溶媒溶液を用いる方法が挙げられる。第１の溶離液と第２の溶離液との切り替えは、別個独立の工程として行ってもよく、あるいは一つの工程内でこれらの濃度勾配を段階的に又は連続的に変化させながら行ってもよい（いわゆるグラジエント）。

[0026] 以上の各工程を経て、精製された第２化合物を得ることができる。この第２化合物は、好ましくは、上述の溶離液中に溶解又は分散した組成物の態様として得られる。つまり、当該組成物は、金属イオンに配位可能な配位子とクリック反応可能な原子団とを構造中に有する第２化合物を含むとともに、１気圧、２０℃で液体である水溶性有機酸を含み、且つＴＦＡを含まないものである。

[0027] 精製された第２化合物は、これを液体の組成物の状態で以後の工程に供したり、あるいはこれを組成物の状態で保管したりすることができる。またこれに代えて、組成物を減圧乾燥や凍結乾燥（冷凍乾燥）などの乾燥方法に供して溶離液を除去して、固体状の第２化合物を得ることができる。乾燥を行った場合、第２化合物は、単体（単一の物質であり、言い換えると純物質）として得られるか、又は有機酸が一部残存した固体の組成物の形態であり得

る。

固体の第２化合物は、これを他の溶媒に溶解して以後の工程に供したり、あるいはこれを固体の状態で保管したりすることができる。保管条件は、常温下、冷蔵下、又は冷凍下とすることができる。本明細書中でいう「常温」、「冷蔵」及び「冷凍」は各々その用語が意味する一般的な数値範囲の温度であれば限定はされないが、例えば「常温」は１５～２５℃を、「冷蔵」は０～１０℃を、「冷凍」は－１００～０℃とすることができる。

[0028] これらのうち、溶離液による第２化合物の分解を抑制するとともに、不純物の増加を抑制する観点から、精製した第２化合物を凍結乾燥して、固体の第２化合物を得ることが好ましい。

また第２化合物を乾燥に供するか否かを問わず、第２化合物の分解及び不純物の増加を抑制する観点から、精製した第２化合物は、冷凍保管することも好ましい。

[0029] 凍結乾燥における温度は、対象となる化合物の品温として、好ましくは０℃未満、より好ましくは－１５℃以下、更に好ましくは－７０℃以下となるようにする。凍結乾燥における外圧は、常圧下であってもよく、陰圧下であってもよい。

[0030] また、上述の各工程を経て精製された第２化合物は、保管開始時の純度に対する、－２０℃以下で１箇月保管した後の純度の低下率が、好ましくは５％以下、より好ましくは３％以下、更に好ましくは２％以下である。

化合物の保管開始時及び保管後の各純度は、高速液体クロマトグラフィーで測定した結果を用いて自動積分法によってピーク面積を算出し、その後、面積百分率法で算出することができる。

[0031] 以下に、上述した各実施形態に共通して適用可能な事項を説明する。

[0032] 配位子化合物は、金属イオンに配位可能な有機化合物であれば特に限定されないが、例えば、以下の有機化合物及び該化合物に由来する構造を含む化合物が挙げられる。

[0033] ＜ＣＤＴＡ又はその誘導体＞

CB－TE2A（1，4，8，11－Tetraazabicyclo［6．6．2］hexadecane－4，11－diacetic acid）

CDTA（Cyclohexane－trans－1，2－diamine tetra－acetic acid）

CDTPA（4－cyano－4－［［（dodecylthio）thioxomethyl］thio］－Pentanoic acid）

[0034] ＜DOTA又はその誘導体＞

DOTA（1，4，7，10－Tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetraacetic acid）

DOTMA（（1R，4R，7R，10R）－α，α’，α’’，α’’’－tetramethyl－1，4，7，10－tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetraacetic acid）

DOTAM（1，4，7，10－tetrakis（carbamoylmethyl）－1，4，7，10－tetraazacyclododecane）

DOTAGA（α－（2－Carboxyethyl）－1，4，7，10－tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetraacetic acid）

DOTP（（（1，4，7，10－Tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetrayl）tetrakis（methylene））tetraphosphonicacid）

DOTMP（1，4，7，10－Tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetrakis（methylenephosphonic acid））

DOTA－4AMP（1，4，7，10－tetraazacyclododecane－1，4，7，10－tetrakis（acetamid

omethylenephosphonic acid)

DO2P (Tetraazacyclododecane dimethanephosphonic acid)

p-SCN-Bn-DOTA (2-「(4-isothiocyanatophenyl) methyl」-1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid)

[0035] ＜DTPA又はその誘導体＞

DTPA (N, N-bis [2-[bis (carboxymethyl) amino] ethyl]-glycine)

DTPA-BMA (5, 8-Bis (carboxymethyl) -11-[2- (methylamino) -2-oxoethyl]-3-oxo-2, 5, 8, 11-tetraazatridecan-13-oic acid)

[0036] ＜TETA, HEHA, PEPA又はその誘導体＞

TETPA (1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradecane-1, 4, 8, 11-tetrapropionic acid)

TETA (1, 4, 8, 11-Tetraazacyclotetradecane-N, N', N'', N'''-tetraacetic acid)

TTHA (3, 6, 9, 12-Tetrakis (carboxymethyl) -3, 6, 9, 12-tetraazatetradecanedioic acid)

HEHA (1, 2, 7, 10, 13-hexaazacyclooctadecane-1, 4, 7, 10, 13, 16-hexaacetic acid)

1, 2-HOPO (N, N', N'', N'''-tetra (1, 2-

dihydro－1－hydroxy－2－oxopyridine－6－carbonyl）－1，5，10，14－tetraazatetradecane）

PEPA（1，4，7，10，13－pentaazacyclopentadecane－N，N’，N’’，N’’’，N’’’’－penta－acetic acid）

OTP（1，4，7－Triazacyclononane－1，4，7－triyltris（methylenephosphonic acid）

[0037] ＜NOTA＞

NOTA（1，4，7－Triazacyclononane－1，4，7－triacetic acid）

[0038] ＜鎖状の配位子化合物＞

Deferoxamine（DFO）

EDTA（2，2’，2’’，2’’’－（ethane－1，2－diylbis（azanetriyl））tetraacetic acid）

[0039] ＜macropa又はその誘導体＞

H2macropa（6－（1，4，10，13－tetraoxa－7，16－diazacyclooctadecan－N，N’－methyl）picolinic acid）

macropa－NH_2（4－amino－6－［［16－［（6－carboxypyridin－2－yl）methyl］－1，4］，10，13－tetraoxa－7，16－diazacyclooctadec－7－yl］methyl）pyridine－2－carboxylic acid）

macropa－NCS（6－［［16－［（6－carboxypyridin－2－yl）methyl］－1，4，10，13－t］］etr

aoxa－7，16－diazacyclooctadec－7－yl）methyl］－4－isothiocyanatopyridine－2－carboxylic acid）

[0040] ＜その他の配位子化合物＞

H4octapa（N，N’－bis（6－carboxy－2－pyridylmethyl）－ethylenediamine－N，N’－diacetic acid）

H2bispa2（6，6’－（{9－hydroxy－1，5－bis（methoxycarbonyl）－2，4－di（pyridine－2－yl）－3，7－diazabicyclo［3．3．1］nonane－3，7－diyl} bis（－methylene））dipicolinic acid）

H2dedpa（1，2－［{6－（carboxy）－pyridin－2－yl}－methylamino］ethane）

H5decapa（N，N’’－bis（6－carboxy－2－pyridylmethyl）－diethylenetriamine－N，N’，N’’－triacetic acid）

H6phospa（N，N’－（methylenephosphonate）－N，N’－［6－（methoxycarbonyl）pyridin－2－yl］－methyl－1，2－diaminoethane）

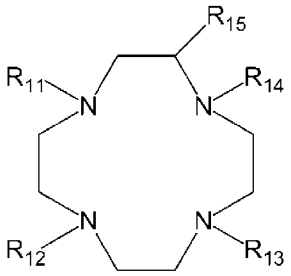
HP－DO3A（Hydroxypropyltetraazacyclododecanetriaceticacid）

HBED－CC（N，N’－Bis［2－hydroxy－5－（carboxyethyl）－benzyl］ethylenediamine－N，N’－diacetic acid）

[0041] これらのうち、合成工程で用いられる配位子化合物は、以後の製造工程の簡便性と錯体形成性の向上とを両立する観点から、Macropa、Deferoxamine、HBED－CC、CDTA、DOTA、DTPA、若

しくはＮＯＴＡ又はこれらの誘導体であることが好ましく、ＤＯＴＡ又はその誘導体に由来する構造を含む化合物であることが更に好ましい。ＤＯＴＡに由来する構造は、例えば以下の式（１）に示すものが挙げられる。これらの化合物は、無水物であってもよく、水和物であってもよいし、酸無水物であってもよい。

[0042] [化1]



(1)

[0043] 式（１）中、R_{11}、R_{12}及びR_{13}は、それぞれ独立して、－（CH_2）$_p$ＣＯＯＨ、－（CH_2）$_p$$C_5H_4N$、－（$CH_2$）$_p$$PO_3H_2$、又は－（$CH_2$）$_p$ＣＯ$NH_2$からなる基である。

上記ｐは、それぞれ独立して、０以上３以下の整数である。

[0044] 式（１）中、R_{14}又はR_{15}の一方が、水素原子、－（CH_2）$_p$ＣＯＯＨ、－（CH_2）$_p$$C_5H_4N$、－（$CH_2$）$_p$$PO_3H_2$、－（$CH_2$）$_p$$CONH_2$、又は、－（ＣＨＣＯＯＨ）（$CH_2$）$_p$ＣＯＯＨからなる基である。

式（１）中、R_{14}又はR_{15}の他方が、－（CH_2）$_p$ＣＯＯＨ、－（CH_2）$_p$$C_5H_4N$、－（$CH_2$）$_p$$PO_3H_2$、若しくは、－（$CH_2$）$_p$$CONH_2$からなる基であるか、又は、後述する第１化合物と連結するための原子団である。

上記ｐは、それぞれ独立して、０以上３以下の整数である。

[0045] 合成工程において用いられる第１化合物は、その構造中にクリック反応可能な原子団を有する。このような原子団としては、例えば、アルキニル基若しくはアジド基、又は１，２，４，５－テトラジン若しくはアルケニル基等のジエン若しくはジエノフィルが挙げられる。これらは、金属触媒フリーのクリック反応に用いることができる原子団であることも好ましい。

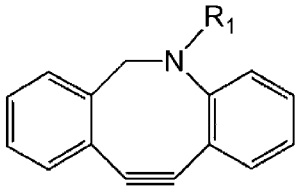
[0046] クリック反応は、アルキンとアジドとの組み合わせ、又は１，２，４，５－テトラジンとアルケン等のジエンとジエノフィルとの組み合わせによって生じる反応である。このような原子団の組み合わせによるクリック反応の具体例として、ヒュスゲン環化付加反応、あるいは逆電子要請型ディールスアルダー反応等が挙げられる。

[0047] 典型的には、アルキンとアジドとの組み合わせでのクリック反応により生成する化学構造はトリアゾール骨格を含むものであり、ジエンとジエノフィルとの組み合わせとして１，２，４，５－テトラジンとアルケンとの組み合わせでのクリック反応により生成する化学構造はピリダジン骨格を含む。

[0048] クリック反応可能な原子団の具体例としては、以下の式に示すように、アルキンとしてジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）を含む原子団（式（５ａ））、アジドとしてアジド基を含む原子団（式（５ｂ））、１，２，４，５－テトラジンを含む原子団（式（５ｃ））、又はアルケンとしてｔｒａｎｓ－シクロオクテン（ＴＣＯ）を含む原子団（式（５ｄ））が挙げられる。

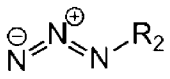
[0049] [化2]

(5a)



Dibenzocyclooctyne

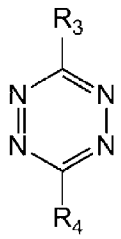
(5b)



Azide

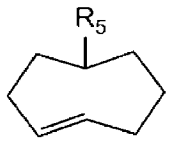
[0050] [化3]

(5c)



1,2,4,5-tetrazine

(5d)



trans-cyclooctene

[0051] 式（５ａ）中、R_1は、他の構造との結合部位を示す。

式（５ｂ）中、R_2は、他の構造との結合部位を示す。

式（５ｃ）中、R_3及びR_4のうち一方が他の構造との結合部位を示し、他方が水素原子、メチル基、フェニル基又はピリジル基を示す。

式（５ｄ）中、R_5は、他の構造との結合部位を示す。

[0052] クリック反応可能な原子団を目的とする第２化合物に導入しやすくする観点及び、第２化合物の反応条件の簡便性の観点から、第１化合物におけるクリック反応可能な原子団は、ジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）であることが好ましい。

[0053] 第１化合物は、市販されている種々の試薬を用いてもよい。具体的には、クリック反応可能な原子団としてＤＢＣＯを含む原子団を導入する場合は、例えば、ＤＢＣＯ－Ｃ６－ａｃｉｄ、ＤＢＣＯ－ａｍｉｎｅ、ＤＢＣＯ－ｍａｌｅｉｍｉｄｅ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧａｃｉｄ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－ＮＨＳｅｓｔｅｒ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－Ａｌｃｏｈｏｌ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－ａｍｉｎｅ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－ＮＨ－Ｂｏｃ、Ｃａｒｂｏｘｙｒｈｏｄａｍｉｎｅ－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ、Ｓｕｌｆｏｒｈｏｄａｍｉｎｅ－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ、ＴＡＭＲＡ－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－Ｂｉｏｔｉｎ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ－Ｍａｌｅｉｍｉｄｅ、ＴＣＯ－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ、ＤＢＣＯ－ｍＰＥＧなどのＤＢＣＯ試薬を用いることができる。

[0054] 合成工程における配位子化合物と第１化合物との反応は、好ましくは反応溶媒中に両化合物を溶解又は分散させた状態で行う。このような例としては、固体の配位子化合物と固体の第１化合物とを反応溶媒に溶解又は分散させる方法や、一方の化合物の溶液又は分散液に他方の化合物を固体又は液体の態様で添加する態様が挙げられる。必要に応じて、配位子化合物及び第１化合物以外の化合物であって、リンカー構造を形成可能な他の化合物を反応系中に添加してもよい。このような他の化合物としては、アミノ酸や、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）等が挙げられる。

[0055] 合成工程に用いられる反応溶媒としては、例えば、上述の溶離液にて説明した溶媒と同様のものを、単独でまたは複数組み合わせて用いることができ

る。

[0056] 合成工程において反応液中で反応させる場合、反応液中の配位子化合物の濃度は、化合物の種類に応じて適宜変更可能であるが、反応収率の向上の観点から、好ましくは０．１２ｍｏｌ／Ｌ以上０．４４ｍｏｌ／Ｌ以下、より好ましくは０．２６ｍｏｌ／Ｌ以上０．３１ｍｏｌ／Ｌ以下である。

また同様の観点から、反応液中の第１化合物の濃度は、化合物の種類に応じて適宜変更可能であるが、反応液中の第１化合物の濃度の下限は、好ましくは０．１０ｍｏｌ／Ｌ以上、より好ましくは０．２０ｍｏｌ／Ｌ以上、反応液中の第１化合物の上限は、好ましくは０．３０ｍｏｌ／Ｌ以下、より好ましくは０．２４ｍｏｌ／Ｌ以下であり、反応収率の向上の観点から、好ましくは０．１０ｍｏｌ／Ｌ以上０．２２ｍｏｌ／Ｌ以下、より好ましくは０．２２ｍｏｌ／Ｌ以上０．２４ｍｏｌ／Ｌ以下である。

また同様の観点から、第１化合物に対する配位子化合物のモル比は、好ましくは１．２以上３．０以下、より好ましくは１．２以上２．０以下、特に好ましくは１．２以上１．３以下である。

[0057] 合成工程においては、短い製造時間で収率のさらなる向上を達成する観点から、反応液を加熱して反応させることが好ましい。なお加熱とは、２５℃を基準として、反応液の温度が２５℃よりも高くなるように反応系外部から熱を付与することを指す。反応系外部から熱を付与する方法としては公知の方法を適宜用いることができ、例えば、水浴、油浴、ブロックヒーター、マントルヒーター等が挙げられる。

[0058] 反応液を加熱して反応させる場合、反応温度としては、配位子化合物の分解抑制と収率のさらなる向上とを両立する観点から、好ましくは３０℃以上１００℃以下、更に好ましくは５０℃以上８０℃以下に反応液を加熱して反応させる。

反応時間は、上述の反応温度であることを条件として、好ましくは２時間以上２４時間以下、更に好ましくは２時間以上４時間以下である。

反応圧力は、大気圧とすることができる。

[0059] 配位子化合物と第１化合物との反応においては、配位子化合物が有する金属イオンに配位可能な化学構造と、第１化合物が有するクリック反応可能な原子団の化学構造とに対して特段の修飾が行われずに、両化学構造が維持される条件を選択することが、以後の製造工程における利便性が高まる点から好ましい。

また、配位子化合物と第１化合物との結合様式は、通常の合成条件で安定性を有する結合が形成される条件を選択することが、得られる化合物の分解を抑制でき、得られる化合物の保存安定性を更に向上できる点で好ましい。

[0060] 上述の好適な条件を両立して達成可能な反応方法としては、例えば、配位子化合物と第１化合物とをアミド化反応させてアミド結合を介して両化合物を結合させる方法が好ましく挙げられる。これらの反応は各化合物の側鎖において行われることも好ましい。

具体的には、カルボキシ基を構造中に含む配位子化合物と、アミノ基を構造中に含む第１化合物とを用い、カルボキシ基とアミノ基との間でアミド化反応させて、構造中にアミド結合を有する第２化合物を得る方法が挙げられる。カルボキシ基は、「－ＣＯＯＨ」又は「－ＣＯＯ$^{-}$」で表される１価の官能基である。アミノ基は、「－ＮＨ$_{2}$」又は「－ＮＨ$_{3}^{+}$」で表される１価の官能基である。

[0061] またカルボキシ基に代えて、オキシジカルボニル基を有する配位子化合物又は第１化合物を用いてアミド化反応させることもできる。オキシジカルボニル基は、「－Ｃ（＝Ｏ）ＯＣ（＝Ｏ）－」で表される２価の官能基であり、当該官能基を有する化合物は酸無水物又は単に無水物と呼ばれる。オキシジカルボニル基を有する配位子化合物又は第１化合物は、２つの同一なアシル基を有する対称無水物であってもよいし、異なるアシル基を有する混合無水物であってもよい。また、多価カルボン酸の同一分子内に存在するカルボキシ基どうしが脱水縮合して生じる環状無水物であってもよい。これらのうち、経済性及び合成効率の観点から、混合無水物又は環状無水物であることが好ましく、環状無水物であることがより好ましい。

[0062] アミド化反応の反応条件は、反応溶媒中で室温下若しくは加熱下にて撹拌して行えばよく、必要に応じてアミド縮合剤を添加して行ってもよい。

アミド縮合剤としては、例えば、Ｎ，Ｎ’－ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）等のカルボジイミド縮合剤；ジフェニルリン酸アジド（ＤＰＰＡ）等の酸アジドを経由する縮合剤；ヘキサメチルリン酸トリアミド（ＨＭＰＡ）と１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）を組み合わせたＢＯＰ試薬；ＢＯＰ試薬のジメチルアミノ基をピロリジノ基に置換したＰｙＢＯＰ；ＢＯＰ試薬のリンを炭素に置換したＯ－（ベンゾトリアゾール－１－イル)－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（ＨＢＴＵ）等のウロニウム型縮合剤、ＤＭＴ－ＭＭなどのトリアゾール系縮合剤を用いることができる。

また、アミド化反応は必要に応じてトリエチルアミンなどの塩基を添加して行ってもよい。

[0063] 上述の好適な条件を両立して達成可能な別の反応方法としては、配位子化合物と第１化合物との間にチオウレア構造を形成させる反応様式で両化合物を結合させる方法が好ましく挙げられる。これらの反応は各化合物の側鎖において行われることも好ましい。

具体的には、イソチオシアネート基を構造中に含む配位子化合物と、アミノ基を構造中に含む第１化合物とを用い、イソチオシアネート基とアミノ基との間で反応させて、構造中にチオウレア構造を有する第２化合物を得る方法が挙げられる。イソチオシアネート基は、「－Ｎ＝Ｃ＝Ｓ」で表される官能基である。チオウレア構造は、「－ＮＨ－Ｃ（＝Ｓ）－ＮＨ－」で表される化学構造である。

チオウレア構造を形成させる反応条件は、例えば、Ｎ，Ｎ’－ジイソプロピルエチルアミン又はトリエチルアミンなどの塩基を用いて、室温下又は加熱下で撹拌する条件とすることができる。

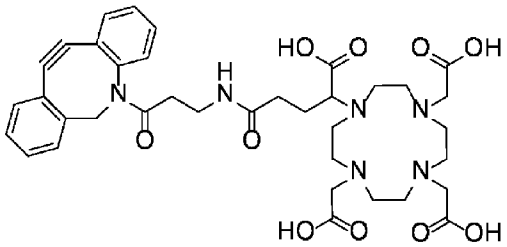
[0064] アミド結合を構造中に有する第２化合物の例としては、以下の式（７ａ）及び（７ｂ）で表される化合物が挙げられるが、これらに限られない。

チオウレア構造を構造中に有する第２化合物の例としては、以下の式（８ａ）及び（８ｂ）で表される化合物が挙げられるが、これらに限られない。

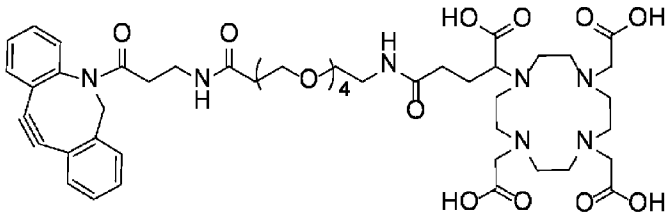
以下の式（７ａ）及び（７ｂ）、並びに式（８ａ）及び（８ｂ）で表される第２化合物はいずれも、金属イオンに配位可能な化学構造と、第１化合物が有するクリック反応可能な原子団の化学構造とがともに維持されている。

第２化合物の化学構造は、用いる配位子化合物及び第１化合物の種類に応じて、適宜変更可能である。

[0065] [化4]



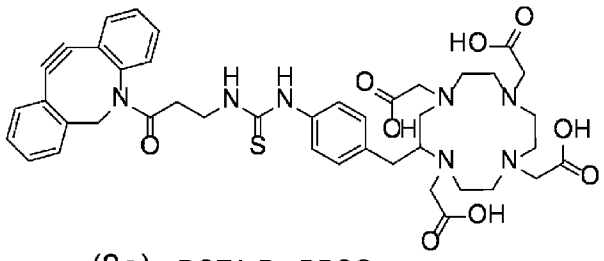
(7a) DOTAGA-DBCO



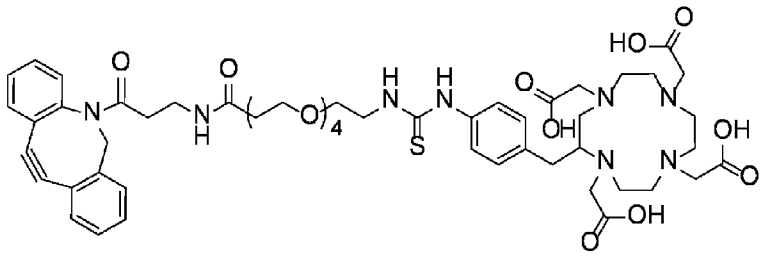
(7b) DOTAGA-PEG4-DBCO

[0066]

[化5]



(8a) DOTA-Bn-DBCO

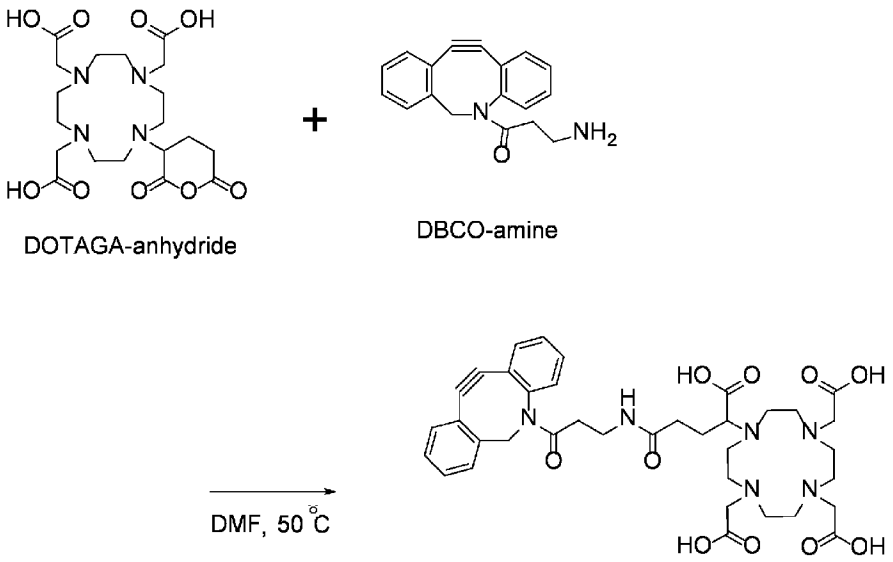


(8b) DOTA-Bn-PEG4-DBCO

[0067] 保存安定性が更に高い第２化合物を得る観点、及び以後の工程における金属イオンの配位反応及びクリック反応を更に効率的に行う観点から、配位子化合物がＤＯＴＡＧＡ又はその無水物であり、且つ第１化合物がＤＢＣＯ－ａｍｉｎｅであることが好ましい。これらの化合物を反応させて得られた第２化合物は、上述の式（７ａ）で表されるＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯである。以下に反応経路の一実施形態を示す。

[0068]

[化6]



(7a) DOTAGA-DBCO

[0069] 精製工程を経て得られた第２化合物は、これを単体又は組成物の状態で、若しくはこれを溶媒や緩衝液等に溶解した状態で、又は所定の溶離液を減圧留去する工程等を行った後の状態で、以後の工程に供することができる。

[0070] 精製工程を経て得られた第２化合物を用いる工程としては、例えば、以下の工程（ａ）及び（ｂ）が挙げられる。これらの工程は、ターゲッティング剤を製造する方法の一実施形態である。ターゲッティング剤は、その化学構造中に、金属錯体と、生体内の標的臓器若しくは組織に対する指向性、又は標的分子に対する特異的な結合性を有する原子団とを含む。

[0071] 工程（ａ）：第２化合物（詳細には、第２化合物の化学構造に含まれる配位子）を金属イオンに配位させて、金属錯体を形成させる工程（錯体形成工程）。

工程（ｂ）：第２化合物と、クリック反応可能な原子団を有するターゲッティング化合物とを、クリック反応可能な原子団どうしの間で反応させる工程（クリック反応工程）。

[0072] 上述した工程（ａ）及び（ｂ）は、（ａ）及び（ｂ）の工程順で行ってもよく、これに代えて、（ｂ）及び（ａ）の工程順で行ってもよい。また、工

程（ａ）及び（ｂ）は、この順で又は逆の順で連続して行ってもよく、これに代えて、工程（ａ）と工程（ｂ）との間に、工程（ａ）及び（ｂ）以外の他の工程が介在してもよい。

[0073] ターゲッティング剤を製造する方法のうち、工程（ａ）及び（ｂ）の順で行うことが好ましい。具体的には、精製工程を得た第２化合物を金属イオンに配位させて金属錯体を得る工程を行い、その後、金属錯体と、クリック反応可能な原子団を有するターゲッティング化合物とを、クリック反応可能な原子団どうしの間で反応させる工程を行うことが好ましい。このような順序で各工程を行うことによって、錯体の収率を高め、未反応の金属イオンを分離精製することなく、該ターゲッティング剤を以後の工程に供することができる点で有利である。また、生体内の標的臓器若しくは組織に対する指向性、又は標的分子に対する特異的な結合性を高めたターゲッティング剤を生産性高く得ることができる。特に、放射性金属の錯体を用いることによって、疾患の治療及び検出を効果的に行うことができる点で有利である。

[0074] 以下に、ターゲッティング剤の好適な製造方法を、工程（ａ）及び（ｂ）をこの順で行う場合を例にとり説明する。

精製工程を経て得られた第２化合物は、これを単体又は組成物の状態で、あるいは溶媒や緩衝液等の水溶液に溶解した状態で、金属イオンと反応させて、金属錯体を形成することができる（錯体形成工程）。

本工程で得られる金属錯体は、第２化合物の化学構造に含まれる配位子に金属のイオンが配位されてなるものである。配位対象となる金属は、非放射性元素であってもよく、放射性同位元素であってもよい。

[0075] 錯体形成効率を高める観点から、第２化合物と反応させる金属は、電離可能な金属化合物の態様で用いることが好ましく、金属イオンの態様で用いることが更に好ましい（以下、これらの態様を総称して「金属源」ともいう。）。金属源としては、例えば、水を主体とする溶媒中に金属イオンの状態で溶解した金属イオン含有液を用いることができる。

[0076] また、第２化合物の構造中における配位子と金属との組み合わせに依存す

ることなく、錯体形成効率を高める観点から、錯体形成において、化合物と金属イオンとを含む反応系を加熱して反応させることが好ましい。

加熱条件は、好ましくは３０℃以上１００℃以下、更に好ましくは５０℃以上８０℃以下とする。

加熱時間は、用いる金属の種類に応じて適宜変更可能であるが、上述の温度範囲であることを条件として、下限としては好ましくは５分以上、より好ましくは１０分以上、更に好ましくは１５分以上、一層好ましくは３０分以上であり、上限として好ましくは１５０分以下、より好ましくは１２０分以下、更に好ましくは１００分以下、一層好ましくは９０分以下である。

[0077] 反応液量は特に限定されないが、実用性の観点から、本工程の開始時において、０．０１ｍＬ～１００ｍＬが現実的である。また、化合物及び金属イオンの反応液中の濃度は、それぞれ独立して、本工程の開始時において、１μｍｏｌ／Ｌ～１００μｍｏｌ／Ｌであることが、目的とする金属錯体の収率の観点から好ましい。

[0078] 錯体形成工程で用いられる溶媒としては、例えば水、生理食塩水、又は酢酸ナトリウム緩衝液、酢酸アンモニウム緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水、Ｔｒｉｓ緩衝液、ＨＥＰＥＳ緩衝液、若しくはテトラメチルアンモニウム酢酸緩衝液等の緩衝液等を用いることができる。

[0079] 配位対象となる金属は、例えばアルカリ金属、アルカリ土類金属、ランタノイド、アクチノイド、遷移金属若しくはこれらの金属以外の金属の非放射性元素及び放射性元素並びにこれらの同位体が挙げられる。

このような金属元素を例にとると、Ｓｃ、Ｃｒ、Ｃｏ、Ｆｅ、Ｇａ、Ｃｕ、Ｓｒ、Ｚｒ、Ｙ、Ｔｃ、Ｒｕ、Ｉｎ、Ｓｍ、Ｄｙ、Ｈｏ、Ｌｕ、Ｒｅ、Ａｕ、Ｔｌ、Ｈｇ、Ｂｉ、Ｐｂ、Ｔｈ又はＡｃなどが挙げられる。金属錯体又はこれを含む組成物を疾患の治療、診断又は検出に適用可能とする観点から、好ましくはＺｒ、Ｌｕ、Ｉｎ、Ｙ、Ｇａ、Ｃｕ又はＡｃであり、より好ましくは放射性金属である^{89}Ｚｒ、^{177}Ｌｕ、^{111}Ｉｎ、^{90}Ｙ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{64}Ｃｕ又は^{225}Ａｃである。

これらの金属は、常法に従って製造し、金属が電離状態で含有される溶液として得ることができる。

[0080] 錯体形成工程を経て得られた金属錯体は、第２化合物の化学構造に由来するクリック反応可能な原子団を有している。したがって、当該金属錯体と、クリック反応可能な第２の原子団を有するターゲッティング化合物とをクリック反応させて、ターゲッティング剤を製造する（クリック反応工程）。これによって、生体内の標的臓器若しくは組織に対する指向性、又は標的分子に対する特異的な結合性を高めた剤を得ることができる。特に、放射性金属の錯体を用いることによって、疾患の治療及び検出を効果的に行うことができる点で有利である。

[0081] ターゲッティング剤の製造においては、金属錯体の化学構造に含まれるクリック反応可能な原子団と、ターゲッティング化合物の化学構造に含まれるクリック反応可能な第２の原子団との間で、クリック反応させることが好ましい。

一実施形態では、第２化合物としてＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを用いる場合には、該第２化合物を用いて得られる金属錯体は、クリック反応可能な原子団としてＤＢＣＯを有する。したがって、クリック反応可能な第２の原子団としてアジド基を有するターゲッティング化合物を用いて、ＤＢＣＯとアジド基との間でクリック反応させることができる。

クリック反応の反応条件は公知の条件を採用することができ、ターゲッティング化合物の変性を防ぐ観点から、好ましくは非加熱状態で行う。

[0082] ターゲッティング化合物は、鎖状ペプチド、環状ペプチド、若しくはこれらの組み合わせ、タンパク質、抗体若しくはそのフラグメント、ペプチドアプタマー、成長因子、アフィボディ、ユニボディ、ナノボディ、単糖類、多糖類、ビタミン、アンチセンス核酸、ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、核酸アプタマー、デコイ核酸、ｃＰＧオリゴ核酸、ペプチド核酸、リポソーム、ミセル、カーボンナノチューブ、又はナノ粒子から選ばれる原子団のうち一種又は二種以上を含むことが好ましい。これらの原子団は、目的とする標的分子と

結合可能な化学構造であることも好ましい。

また、ターゲッティング化合物にクリック反応可能な第２の原子団を導入する場合には、公知の試薬を用いることができる。

[0083] これらのターゲッティング化合物は、金属錯体と直接結合していてもよく、ＰＥＧなどの他の公知のリンカー構造を介して間接的に結合していてもよい。リンカー構造としてＰＥＧに由来する構造を含む場合、以下の式（Ｐ）に示すリンカー構造によって間接的に結合していることも好ましい。式（Ｐ）中、ｎは、好ましくは２以上１０以下の整数、より好ましくは２以上８以下の整数、更に好ましくは２以上５以下の整数である。

[0084] [化7]



[0085] ターゲッティング化合物が構造中にペプチドを含む場合、当該原子団は特定の分子と特異的に結合する鎖状ペプチド、環状ペプチド、若しくはこれらの組み合わせ、タンパク質、抗体若しくはそのフラグメントを含むことが好ましい。

このような原子団の例としては、構成するアミノ酸残基が３残基以上であるペプチドであればよく、例えばＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＤ及びＩｇＥのクラスを有する抗体（免疫グロブリン）、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）２フラグメント等の抗体断片、ペプチドアプタマーが挙げられる。また、このようなターゲッティング剤を構成するアミノ酸は天然のものであってもよく、合成されたものであってもよい。

またペプチドを含む上記原子団の分子量は特に限定されない。

[0086] 上述の各種ペプチドは、従来公知の方法、例えば、液相合成法、固相合成法、自動ペプチド合成法、遺伝子組み換え法、ファージディスプレイ法、及び遺伝暗号リプログラミング、ＲａＰＩＤ（Ｒａｎｄｏｍ　ｎｏｎ－ｓｔａｎｄａｒｄ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）法等の手法により合成することができる。各種ペプチドの合成にあたって

は、必要に応じて、用いられるアミノ酸の官能基の保護を行ってもよい。

[0087] ターゲッティング化合物が構造中に核酸を含む原子団である場合、当該原子団は特定の分子と特異的に結合するアンチセンス核酸、ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、核酸アプタマー、デコイ核酸、ｃＰＧオリゴ核酸、ペプチド核酸を含む原子団であることが好ましい。また、核酸塩基は、デオキシリボ核酸やリボ核酸などの天然のものであってもよく、合成されたものであってもよい。

[0088] 本発明に用いられ得る上述の核酸を含む原子団は、従来公知の方法で製造することができる。例えば核酸アプタマーの場合は、タンパク質などの特定の標的物質に特異的に結合する核酸アプタマーをＳＥＬＥＸ法（Ｓｙｓｔｅｍａｔｉｃ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ ｏｆ Ｌｉｇａｎｄｓ ｂｙ Ｅｘｐｏｎｅｎｔｉａｌ Ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ）を用いて製造することができる。

[0089] 上述の工程を経て生成した金属錯体及びターゲッティング剤は、典型的には、反応液中に溶解した状態で存在する。これらの溶液は、それぞれ独立して、これをそのままで用いてもよく、あるいは、ろ過フィルター、メンブレンフィルター、種々の充填剤を充填したカラム、クロマトグラフィー等を用いて精製してもよい。

[0090] ターゲッティング剤が得られた後の工程として、例えば、ターゲッティング剤を有効成分とする薬剤を得るための製剤化工程を更に行うことができる。製剤化工程は、適宜、クエン酸緩衝液、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等のｐＨ調節剤、ポリソルベート等の可溶化剤、安定剤若しくは酸化防止剤などの各種添加剤を添加したり、水や生理食塩液等の等張液で希釈して剤の濃度を調整したりすることによって行うことができる。また、製剤化工程として、各種添加剤の添加あるいは濃度調整を行った後、メンブレンフィルター等で滅菌ろ過を行って注射剤として調製する工程を含んでいてもよい。

[0091] 本明細書における配位子化合物、第１化合物及び第２化合物は、それぞれ独立して、構造中の元素と同一の元素の同位体で標識又は同位体置換された化合物であってもよく、１つ以上の原子が、天然に存在する原子質量又は質

量数とは異なる原子質量または質量数を有する原子によって置換されていてもよい。

上述の同位体としては、例えば、^{2}Ｈ、^{3}Ｈ、^{11}Ｃ、^{13}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{17}Ｏ、^{18}Ｏなどの水素、炭素、窒素及び酸素の同位体を含む。上記の同位体および／または他の原子の他の同位体を含む前記各化合物の薬学的に許容される塩は本発明の範囲内である。^{3}Ｈおよび^{14}Ｃのような放射性同位体が組み込まれた化合物は、薬物および／または基質組織分布アッセイ等の非臨床あるいは非医療目的での研究において有用である。この場合、金属錯体を形成する場合には、配位対象となる金属イオンは非放射性元素であってもよい。^{3}Ｈおよび^{14}Ｃのうち少なくとも一種を構造中に有する化合物は、その調製および検出の容易さの観点から好ましい。同位体標識された上述の化合物は、典型的には、同位体標識試薬を非同位体標識試薬に代えて用いることによって調製することができる。

実施例

[0092] 以下、実施例により本発明を更に詳細に説明する。しかしながら本発明の範囲は、かかる実施例に制限されない。以下の実施例はすべて大気圧にて実施した。

以下の表中、「－」で示す欄は未実施を示す。

[0093] ［実施例１～４］

（合成工程）

配位子化合物としてＤＯＴＡＧＡの無水物を用い、第１化合物としてＤＢＣＯ－ａｍｉｎｅを用いて、これらをＤＭＦ中に溶解させて、反応液を得た。第１化合物に対する配位子化合物のモル比は３とした。この反応液を５０℃で３時間加熱して、配位子化合物が有するカルボキシ基と第１化合物が有するアミノ基との間でアミド化反応させ、第２化合物としてのＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを含む生成物を得た。

[0094] （精製工程）

次いで、ＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを含む生成物を、溶離液を用いて中圧分

取液体クロマトグラフィー法に供し、精製を行った。

中圧分取液体クロマトグラフィー法における溶離液は、第１の溶離液として０．１体積％酢酸水溶液を用い、且つ第２の溶離液として０．１体積％酢酸含有アセトニトリルを用い、以下の濃度勾配条件にて溶離を行った。いずれの溶離液もＴＦＡは非含有とした。

[0095] ＜中圧分取液体クロマトグラフィー条件＞

第１の溶離液（以下、溶離液１ともいう。）及び第２の溶離液（以下、溶離液２ともいう。）を用い、以下の（ｉ）～（ｉｉｉ）の順で、濃度勾配（体積％）を制御して送液した。各溶離液の流速は、１２ｍＬ／ｍｉｎとした。

（ｉ）０～６分　　溶離液１：８０、溶離液２：２０

（ｉｉ）６～３４分　　溶離液１：８０～５８、溶離液２：２０～４２

（ｉｉｉ）３４～４０分　　溶離液１：５８～０、溶離液２：４２～１００

また、カラムはＢｉｏｔａｇｅ社製Ｓｆａｒ　Ｃ１８を用い、検出は紫外可視吸光検出器（測定波長：２９０ｎｍ）によって行った。

[0096] この工程を経て得られた液体をエバポレーターによってアセトニトリルを減圧留去して、精製された第２化合物としてのＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを得た。このＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯは、０．１体積％酢酸水溶液に溶解した状態の組成物である。

[0097] 続いて、この組成物を凍結乾燥で乾燥させて、０．１体積％酢酸水溶液を除去し、固体のＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを得た。これを褐色バイアルに入れて保存した。

その後、ＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯ入り褐色バイアルを、室温下（実施例１：２１～２５℃）、高温下（実施例２：４０℃）、冷蔵下（実施例３：５℃）、及び冷凍下（実施例４：－２０℃）の各条件に配置し、所定期間保管した。

[0098] ［実施例５］

（合成工程）

ＤＯＴＡＧＡ及びＤＢＣＯ－ａｍｉｎｅを溶解させる有機溶媒としてＤＭＳＯを用いたことと、第１化合物に対する配位子化合物のモル比を１．２としたこと、反応温度を８０℃としたこと以外は実施例１～４の合成工程に記載した方法でＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを得た。

[0099] （精製工程）

第１及び第２の溶離液に水溶性有機酸としてギ酸を用いたことと、以下に示す濃度勾配条件で溶離を行ったこと以外は、実施例１～４の精製工程と同様にＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを含む生成物を精製した。

[0100] ＜中圧分取液体クロマトグラフィー条件＞

第１の溶離液（以下、溶離液１ともいう。）及び第２の溶離液（以下、溶離液２ともいう。）を用い、以下の（ｉ）～（ｖ）の順で、濃度勾配（体積％）を制御して送液した。各溶離液の流速は、１２ｍＬ／ｍｉｎとした。

（ｉ）０～２．８分　　溶離液１：９５、溶離液２：５

（ｉｉ）２．８～５．７分　　溶離液１：９５～８０、溶離液２：５～２０

（ｉｉｉ）５．７～１９．８分　溶離液１：８０～４０、溶離液２：２０～６０

（ｉｖ）１９．８～２２．７分　溶離液１：４０～５、溶離液２：６０～９５

（ｖ）２２．７～２５．５分　　溶離液１：５、溶離液２：９５

[0101] この工程を経て得られた液体をエバポレーターによってアセトニトリルを減圧留去して、精製された第２化合物としてのＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを得た。このＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯは、０．１体積％ギ酸水溶液に溶解した状態の組成物である。

[0102] 続いて、この組成物を凍結乾燥で乾燥させて、０．１体積％ギ酸水溶液を除去し、固体のＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを得た。これを無色透明ガラスバイ

アルに入れて保存した。

その後、ＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯ入り無色透明ガラスバイアルを、室温下（実施例５：１９～２３℃）の条件に配置し、所定期間保管した。

[0103] ［比較例１及び２］

実施例１～４と同様の方法で合成工程を行った後、ＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを含む生成物を、ＴＦＡを含む溶離液を用いて、実施例１～４と同様の方法で精製工程を行った。本比較例における溶離液は、第１の溶離液として０．１体積％ＴＦＡ水溶液を用い、且つ第２の溶離液として０．１体積％ＴＦＡ含有アセトニトリルを用いた。したがって、本比較例において得られた組成物は、ＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯと、ＴＦＡを含むものであった。

続いて、実施例１～４と同様の方法で乾燥して得られたＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯを褐色バイアルに入れ、この褐色バイアルを室温下（比較例１：２１～２５℃）、高温下（比較例２：４０℃）、の各条件に配置し、所定期間保管した。

[0104] 〔保存安定性の評価〕

実施例及び比較例のＤＯＴＡＧＡ－ＤＢＣＯについて、保管開始時、保管７日後、保管１箇月後、保管３箇月後及び保管６箇月後の各時間点において、以下の測定方法で純度を測定した。保管開始時の純度に対して純度低下が少ないほど、保存安定性に優れるものであることを示す。結果を以下の表１に示す。

[0105] ＜純度の測定方法＞

対象の化合物１．０ｍｇを精密に量り、実施例１及び２並びに比較例１及び２については、１０ｍｍｏｌ／Ｌギ酸アンモニウム溶液（ｐＨ３．０）／液体クロマトグラフィー用アセトニトリル混液（９５：５）を加えて正確に１０ｍＬとし、試料溶液とした。実施例３及び４については、１０ｍｍｏｌ／Ｌギ酸アンモニウム溶液（ｐＨ３．０）／液体クロマトグラフィー用メタノール混液（９５：５）を加えて正確に１０ｍＬとし、実施例５については、液体クロマトグラフィー用メタノールを加えて正確に１０ｍＬとし、試料

溶液とした。

これらの試料溶液１０μＬにつき，以下の条件で高速液体クロマトグラフィーにて測定を行った。試料溶液のピーク面積を自動積分法により測定し，面積百分率法によりそれらの化合物量を求めた。試料溶液の調製回数は１回とし，測定回数は３回とした。３回の測定における測定結果の算術平均値を、純度（％）とした。なお、保管開始時については、試料溶液の調製回数及び測定回数をともに１回とした。

[0106] ＜高速液体クロマトグラフィー条件＞

・検出器（１）：紫外吸光光度計（測定波長：２９０ｎｍ，３０８ｎｍ）

・検出器（２）：ＡＣＱ－ＱＤａ（ポジティブスキャン：コーン電圧１５Ｖ，キャピラリー電圧０．８Ｖ；ネガティブスキャン：コーン電圧１５Ｖ，キャピラリー電圧０．８Ｖ，走査範囲：ｍ/ｚ ５０～１２００）

・カラム：内径４．６ｍｍ，長さ１０ｃｍのステンレス管に３．５μｍの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填したもの（ＸＢｒｉｄｇｅＣ１８）。

・カラム温度：約２５℃の一定温度に維持する。

[0107] ［実施例１～５並びに比較例１及び２］

・移動相：（移動相Ａ）１０ｍｍｏｌ／Ｌギ酸アンモニウム溶液（ｐＨ３．０）、（移動相Ｂ）アセトニトリルを用い、以下の（ｉ）～（ｖ）の順で濃度勾配（体積％）を制御して送液した。各移動相の流速は、１ｍＬ／ｍｉｎとした。

（ｉ）０～１２分　移動相Ａ：９５～５０、移動相Ｂ：５～５０

（ｉｉ）１２～１３分　移動相Ａ：５０～５、移動相Ｂ：５０～９５

（ｉｉｉ）１３～２０分　移動相Ａ：５、移動相Ｂ：９５

（ｉｖ）２０～２０．０１分　移動相Ａ：５～９５、移動相Ｂ：９５～５

（ｖ）２０．０１～３０分　　移動相Ａ：９５、移動相Ｂ：５

[0108] [表1]

	精製時のTFAの有無	化合物保存条件	各保存時間における化合物の純度(%)				
			保存開始	7日後	1箇月後	3箇月後	6箇月後
実施例1	なし	室温	97.6	97.1	96.9	95.7	93.6
実施例2	なし	40℃	97.6	96.9	96.7	93.9	92.0
実施例3	なし	5℃	96.9	97.4	97.0	93.2	96.8
実施例4	なし	−20℃	96.9	97.4	97.6	93.5	95.5
実施例5	なし	室温	97.5	97.2	96.0	−	−
比較例1	あり	室温	96.4	95.5	90.9	−	−
比較例2	あり	40℃	96.4	86.1	52.2	−	−

[0109] 表１に示すように、ＴＦＡの非存在下で精製した各実施例の化合物は、比較例のものと比較して、保管１箇月後であっても保管開始時の純度を維持した状態で保存できていることが判る。特に、冷蔵又は冷凍条件にて保存した実施例３及び４は、保管６箇月後であっても保管開始時の純度を維持した状態で保存できており、長期の保存安定性に優れることが判る。

請求の範囲

[請求項1] 金属イオンに配位可能な配位子化合物と、クリック反応可能な原子団を有する第１化合物とを反応させて、クリック反応可能な原子団及び配位子を構造中に有する第２化合物を含む生成物を得て、然る後に、

１気圧、２０℃で液体の水溶性有機酸を含み、且つトリフルオロ酢酸を含まない溶離液を用いて前記生成物を液体クロマトグラフィー法に付して、精製された前記第２化合物を得る、化合物の製造方法。

[請求項2] １気圧で沸点１５０℃以下である前記水溶性有機酸を用いる、請求項１に記載の製造方法。

[請求項3] 前記水溶性有機酸が酢酸である、請求項１又は２に記載の製造方法。

[請求項4] クリック反応可能な前記原子団がジベンゾシクロオクチンである、請求項１～３のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項5] 精製した前記第２化合物を凍結乾燥する、請求項１～４のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項6] 前記溶離液は、極性有機溶媒を更に含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項7] 前記配位子化合物が、Ｍａｃｒｏｐａ、Ｄｅｆｅｒｏｘａｍｉｎｅ、ＨＢＥＤ－ＣＣ、ＣＤＴＡ、ＤＯＴＡ、ＤＴＰＡ、若しくはＮＯＴＡ又はこれらの誘導体である、請求項１～６のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項8] 前記配位子化合物と前記第１化合物とを、アミド化反応させるか、又はチオウレア構造を形成する反応様式で反応させる、請求項１～７のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項9] 前記配位子化合物が有するカルボキシ基又はオキシジカルボニル基と、前記第１化合物が有するアミノ基との間でアミド化反応させるか、又は、

前記配位子化合物が有するイソチオシアネート基と、前記第１化合物が有するアミノ基との間でチオウレア構造を形成する反応様式で反応させる、請求項１～７のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項10] 前記配位子化合物がＤＯＴＡＧＡ又はその無水物であり、前記第１化合物がＤＢＣＯ－ａｍｉｎｅである、請求項１～９のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項11] 請求項１～１０のいずれか一項に記載の製造方法によって得られた前記第２化合物を金属イオンに配位させる工程と、

前記第２化合物と、クリック反応可能な原子団を有するターゲッティング化合物とを、クリック反応可能な原子団どうしの間で反応させる工程とを、この順で又は逆の順で備える、ターゲッティング剤の製造方法。

[請求項12] 前記金属イオンとして放射性金属のイオンを用いる、請求項１１に記載の製造方法。

[請求項13] 金属イオンに配位可能な配位子とクリック反応可能な原子団とを構造中に有する化合物と、

１気圧、２０℃で液体の水溶性有機酸を含み、且つトリフルオロ酢酸を含まない、組成物。

[請求項14] ^{19}Ｆ－ＮＭＲで分析したときに、トリフルオロ酢酸由来のピークが観察されない、請求項１３に記載の組成物。

[請求項15] クリック反応可能な前記原子団がジベンゾシクロオクチンである、請求項１３又は１４に記載の組成物。

[請求項16] 前記水溶性有機酸が酢酸である、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の組成物。

[請求項17] 金属イオンに配位可能な配位子とクリック反応可能な原子団とを構造中に有し、

保管開始時の純度に対する、－２０℃で１箇月保管した後の純度の低下率が５％以下である、化合物。

[請求項18] 請求項１～１０のいずれか一項に記載の製造方法によって精製された前記第２化合物を冷凍保管する、化合物の保管方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/014681

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 403/12(2006.01)i
FI: C07D403/12 CSP

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D403/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020/0353105 A1 (JANSSEN BIOTECH, INC.) 12 November 2020 (2020-11-12) claims, examples 2-16, schemes 3-4, paragraph [0516], scheme 12, paragraphs [0619]-[0620], scheme 14b, paragraph [0648]	1-18
X	YUAN, R. et al. Analytical Chemistry. 2019, vol. 91, pp. 4948-4952 fig. 1, Supporting Information, scheme S1, p. S4, lines 7-21	1-18
X	JP 2021-506842 A (JANSSEN BIOTECH, INC) 22 February 2021 (2021-02-22) claims, examples 5-6	1-18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
07 June 2022	**14 June 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/014681

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 2020/0353105 A1	12 November 2020	WO 2020/229974 A1	
JP 2021-506842 A	22 February 2021	US 2021/0017099 A1 claims, examples 5-6	
		WO 2019/125982 A1	
		EP 3727474 A1	
		CN 111491670 A	
		KR 10-2020-0100094 A	
		AU 2018388467 A	
		CA 3085465 A	
		SG 11202004906Q A	
		EA 202091420 A	
		IL 275242 D	
		BR 112020012099 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/014681

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C07D 403/12(2006.01)i
FI: C07D403/12 CSP

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C07D403/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAplus/REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	US 2020/0353105 A1 (JANSSEN BIOTECH, INC.) 12.11.2020 (2020-11-12) 特許請求の範囲、Examples 2～16、Scheme 3～4、[0516]、Scheme 12、[0619]-[0620]、Scheme 14b、[0648]	1-18
X	YUAN, R. et al., Analytical Chemistry, 2019, Vol. 91, pp. 4948-4952 Figure 1、Supporting InformationのScheme S1、S4頁第7～21行	1-18
X	JP 2021-506842 A (ヤンセン バイオテツク，インコーポレーテツド) 22.02.2021 (2021-02-22) 特許請求の範囲、実施例5～6	1-18

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
07.06.2022	14.06.2022

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

伊佐地　公美 4P 5809

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/014681

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
US 2020/0353105 A1	12.11.2020	WO 2020/229974 A1	
JP 2021-506842 A	22.02.2021	US 2021/0017099 A1 Claims, Examples 5-6	
		WO 2019/125982 A1	
		EP 3727474 A1	
		CN 111491670 A	
		KR 10-2020-0100094 A	
		AU 2018388467 A	
		CA 3085465 A	
		SG 112020049060 A	
		EA 202091420 A	
		IL 275242 D	
		BR 112020012099 A	