

(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
2012 年 8 月 16 日(16.08.2012)



(10) 国際公開番号
WO 2012/108476 A1

- (51) 国際特許分類:
C07K 1/13 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01) C07K 14/575 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/052895
- (22) 国際出願日: 2012 年 2 月 8 日(08.02.2012)
- (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 2011-025963 2011 年 2 月 9 日(09.02.2011) JP
61/441,062 2011 年 2 月 9 日(09.02.2011) US
61/522,973 2011 年 8 月 12 日(12.08.2011) US
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立
大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP];
〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番
地 1 Kyoto (JP). アークレイ株式会社(ARKRAY,
INC.) [JP/JP]; 〒6018045 京都府京都市南区東九条
西明田町 5 7 番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 佐治英郎
(SAJI Hideo). 稲垣暢也(INAGAKI Nobuya). 木村寛
之(KIMURA Hiroyuki). 豊田健太郎(TOYODA Kent-

aro). 平尾佳(HIRAO Konomu). 松田洋和(MAT-
SUDA Hirokazu).

(74) 代理人: 特許業務法人池内・佐藤アンドパート
ナーズ(IKEUCHI SATO & PARTNER PATENT AT-
TORNEYS); 〒5306026 大阪府大阪市北区天満橋
1 丁目 8 番 3 0 号 O A P タワー 2 6 階 Osaka
(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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,
SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

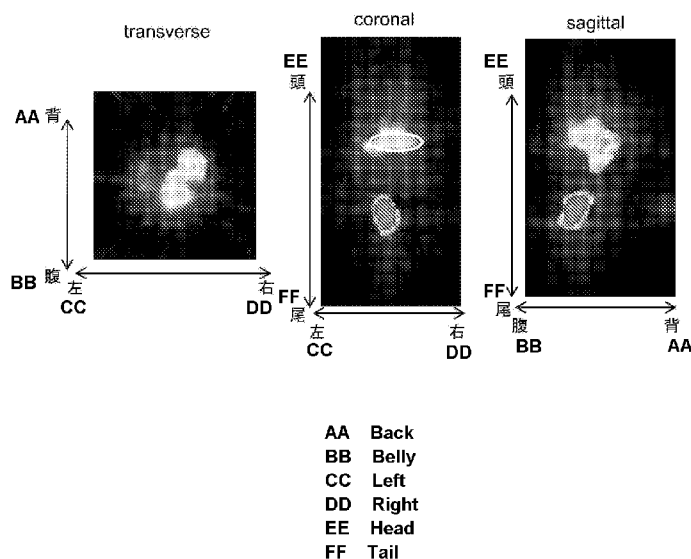
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ
ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユー
ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING RADIOACTIVELY LABELED POLYPEPTIDE

(54) 発明の名称: 放射性標識されたポリペプチドの製造方法

[図5]



(57) Abstract: Provided is a method for produ-
cing an exendin derivative, in which a labeling
target site is radioactively labeled, with high
yield. The present invention relates to a method
for producing a polypeptide, which comprises a
process wherein a molecular probe precursor
represented by the amino acid sequence set forth
in formula (1) is labeled using a labeling com-
pound that is capable of labeling lysine or a lys-
ine derivative. Y₁-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-
Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-
Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (SEQ ID NO: 1) In
formula (1), Y₁ represents the amino acid se-
quence set forth in SEQ ID NO: 2 or an amino
acid sequence which is produced by deleting 1-
8 amino acids from the N-terminus in the amino
acid sequence set forth in SEQ ID NO: 2; Xaa₁₂
represents lysine or a lysine derivative; Xaa₂₇
represents a basic amino acid that does not have
a functional group, which is reactive with the la-
beling compound, in a side chain, methyl lysine
or acetylated lysine; and Y₂ represents the
amino acid sequence set forth in SEQ ID NO: 3
or an amino acid sequence which is produced by
deleting 1-9 amino acids from the C-terminus in
the amino acid sequence set forth in SEQ ID

NO: 3. His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (SEQ ID NO: 2) Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Ser (3) (SEQ ID NO: 3)

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2012/108476 A1



OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

目的の標識部位が放射性標識された *exendin* 誘導体を高収率で製造できる方法の提供。式 (1) のアミノ酸配列で表される分子プローブ前駆体を、リジン又はリジン誘導体を標識可能な標識化合物を用いて標識することを含むポリペプチドの製造方法に関する。 Y_1 -Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (配列番号 1) 式 (1) において、Y₁ は式 (2) のアミノ酸配列又は式 (2) のアミノ酸配列において N 末端側から 1 ~ 8 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、Xaa₁₂ はリジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇ は側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、Y₂ は式 (3) のアミノ酸配列又は式 (3) のアミノ酸配列において C 末端側から 1 ~ 9 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す。 His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号 2) Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号 3)

明 細 書

発明の名称：放射性標識されたポリペプチドの製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、放射性標識されたポリペプチドの製造方法、放射性標識されたポリペプチド、及び前記製造方法に用いる分子プローブ前駆体等に関する。

背景技術

[0002] 日本における2型糖尿病患者は2007年度の統計で推定880万人を超え、年々増加し続けている。また、国際糖尿病連合（IDF）によると、世界の糖尿病人口も同様に増加しており、2010年の時点で2億8500万人、2030年には4億3500万人に増加すると予測されている。

[0003] この対策として耐糖能検査を基準とした糖尿病発症前の介入が行われているが、十分な成果が得られていない。その原因として、耐糖能検査で機能異常が明らかとなる境界型の段階では膵島の障害はすでに高度に進行しており、介入開始時期としては遅い可能性がある。

[0004] 近年、国内外において、2型糖尿病においても発症時にすでに膵島量が減少していることが報告され、また、発症後の膵β細胞のさらなる減少が2型糖尿病の治療抵抗性の一つと考えられている。このため、膵島量及び/又は膵β細胞量を検知することができれば、2型糖尿病や1型糖尿病の病因解明、超早期の診断、及び、発症を予防することができる可能性がある。このため、これらを測定可能とする分子プローブの研究開発が行われている。

[0005] 分子プローブの設計において、β細胞に特異的な機能性タンパク質を中心に膵島細胞における様々な標的分子が検討されている。中でも、標的分子として、膵β細胞に分布し、かつ、7回膜貫通型のG-タンパク質共役受容体であるGLP-1R（グルカゴン様ペプチド1受容体）が検討されている。

[0006] GLP-1Rを標的分子とするイメージング用分子プローブとして、標識化分子がC末端に結合したGLP-1のペプチド誘導体、exendin-3のペプチド誘導体及びexendin-4のペプチド誘導体が検討されて

いる（例えば、特許文献１、非特許文献１及び２）。また、その他には、*exendin*（９－３９）の誘導体が提案されている（例えば、特許文献２、非特許文献２及び３）。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献１：特表２００８－５１１５５７号公報

特許文献２：WO 2010/032509

非特許文献

[0008] 非特許文献１：M. Gotthardt et al. A new technique for in vivo imaging of specific GLP-1 binding sites: First results in small rodents, *Regulatory Peptides* 137 (2006) 162-267

非特許文献２：M. Beche et al. Are radiolabeled GLP-1 receptor antagonists useful for scintigraphy? 2009 SNM Annual Meeting, abstract, Oral Presentations No.327

非特許文献３：H. Kimura et al. Development of in vivo imaging agents targeting glucagons-like peptide-1 receptor (GLP-1R) in pancreatic islets. 2009 SNM Annual Meeting, abstract, Oral Presentations No.326

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 特許文献２には、標識前駆体として標識部位以外のアミノ基に保護基を結合させた*exendin*（９－３９）誘導体を準備し、それを標識化及び脱保護して分子プローブを得る方法が開示されている。しかしながら、この場合、標識後の脱保護が必須となることから標識後の手順が煩雑となり、また標識化から目的の分子プローブを得るまでに時間を要することから、得られる分子プローブの放射化学的純度及び放射化学的収率が低下する可能性がある。

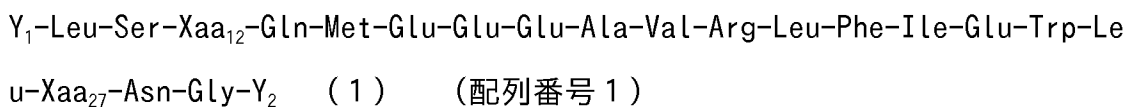
[0010] 一方、標識部位以外のアミノ基に保護基を結合させることなく*exend*

in (9-39) をそのまま使用して放射性標識を行うことが試みられている。しかしながら、この場合、目的の標識部位を特異的に標識することは困難であった。さらには、exendin (9-39) をそのまま使用して放射性標識した場合、第19位のリジンが優先的に標識されることから、第4位のリジン又はN末端の α -アミノ基が標識された分子プローブを得ることが困難であることが本発明者等の検討の結果明らかとなった。また、本発明者等の検討の結果、exendin-4についても同様の結果が得られている。

[0011] 本発明は、上記事情に鑑みなされたものであり、目的の標識部位が放射性標識されたexendin (9-39) 誘導体及びexendin-4 誘導体を高収率で製造できる方法を提供する。

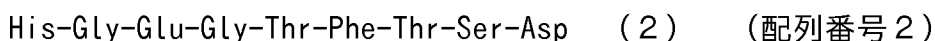
課題を解決するための手段

[0012] 本発明は、放射性標識されたポリペプチドを製造する方法であって、分子プローブ前駆体を、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物を用いて標識することを含み、前記分子プローブ前駆体は、式(1)のアミノ酸配列で表され、C末端のカルボキシル基はアミド化されているポリペプチドの製造方法に関する。



前記式(1)において、

Y_1 は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、



Xaa_{12} は、リジン又はリジン誘導体を示し、

Xaa_{27} は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、

Y_2 は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す。

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号3)

発明の効果

[0013] 本発明によれば、目的の標識部位が放射性標識された *exendin* (9-39) 誘導体及び *exendin*-4 誘導体を高収率で製造できる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]図1は、実施例1のポリペプチドを用いた体内分布実験の結果の一例を示すグラフである。

[図2]図2は、実施例1のポリペプチドを用いた2次元イメージング解析の結果の一例を示す画像である。

[図3]図3は、実施例2のポリペプチドを用いた体内分布実験の結果の一例を示すグラフである。

[図4]図4は、実施例2のポリペプチドを用いた2次元イメージング解析の結果の一例を示す画像である。

[図5]図5は、実施例3のポリペプチドを用いたSPECT撮像の結果の一例を示す画像である。

[図6]図6は、実施例4のポリペプチドを用いた体内分布実験の結果の一例を示すグラフである。

[図7]図7は、実施例5のポリペプチドを用いた体内分布実験の結果の一例を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0015] 本発明は、標識前駆体として式(1)のアミノ酸配列で表される分子プローブ前駆体を使用して標識を行うことにより、目的とする標識部位が特異的に放射性標識されたポリペプチドを簡便、短時間、高収率で製造できることができるという知見に基づく。また、本発明は、上記分子プローブ前駆体を使用することにより、十分な膵β細胞への親和性を示し、かつ膵島への集積を示す放射性標識されたポリペプチドを提供できるという知見に基づく。

[0016] すなわち、本発明は、

[1] 放射性標識されたポリペプチドを製造する方法であって、分子プロー

ブ前駆体を、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物を用いて標識することを含み、前記分子プローブ前駆体は、式(1)のアミノ酸配列で表され、C末端のカルボキシル基はアミド化されているポリペプチドの製造方法、

Y_1 -Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (配列番号1)

前記式(1)において、Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、

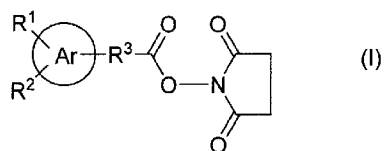
His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号2)

Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す、

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号3) ;

[2] 前記標識化合物は、式(I)で表される化合物である、[1]記載の製造方法、

[化1]



式(I)において、Arは、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環基を示し、R¹は、放射性核種を含む置換基を示し、R²は、水素原子、又は、R¹とは異なる1又は複数の置換基を示し、R³は、結合手、C₁－C₆アルキレン基及びC₁－C₆オキシアルキレン基のいずれかを示す；

[3] 前記式(1)において、Xaa₂₇は、アルギニン、モノメチルリジン、ジメ

チルリジン、モノアセチル化リジン、ノルアルギニン、ホモアルギニン、オルニチン、ジアミノプロピオン酸、及びジアミノ酪酸からなる群から選択される、〔1〕又は〔2〕に記載の製造方法；

〔4〕 前記分子プローブ前駆体は、式(4)又は(5)のアミノ酸配列で表される、〔1〕から〔3〕のいずれかに記載の製造方法、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (4) (配列番号4)

Asp-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (5) (配列番号5)

前記式(4)及び(5)において、Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示す；

〔5〕 式(6)のアミノ酸配列で表されるポリペプチドであって、
Y₁-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (6) (配列番号6)

該ポリペプチドのC末端のカルボキシル基はアミド化されているポリペプチド、

前記式(6)において、Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号2)

Xbb₁₂は、放射性標識されたリジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇は、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物が反応する官能基を側鎖に有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す、

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号3) ;

[6] 前記ポリペプチドは、式(7)又は(8)のアミノ酸配列で表される、[5]
] 記載のポリペプチド、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-
Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-
Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (7) (配列番号7)

Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-
Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (8)
(配列番号8)

前記式(7)及び(8)において、Xbb₁₂は、放射性標識されたリジン又はリジン
誘導体を示し、Xaa₂₇は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない
塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示す；

[7] [1] から [4] のいずれかに記載の製造方法により得られる、[5] 又
は [6] に記載のポリペプチド；

[8] [1] から [4] のいずれかに記載の製造方法に用いる分子プローブ前
駆体であって、式(1)のアミノ酸配列で表され、

Y₁-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Le
u-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (配列番号1)

該分子プローブ前駆体のC末端のカルボキシル基はアミド化されている、分
子プローブ前駆体、

前記式(1)において、Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表
されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したア
ミノ酸配列を示し、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号2)

Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇は、リジン又はリジン誘導体
のアミノ基を標識可能な標識化合物が反応する官能基を側鎖に有さない塩基
性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、Y₂は、式(3)で表
されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側

から 1 ～ 9 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す、

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号 3) ;

[9] [5] から [7] のいずれかに記載のポリペプチド、又は [8] 記載の分子プローブ前駆体を含むイメージング用組成物 ;

[10] [5] から [7] のいずれかに記載のポリペプチド、及び／又は [8] 記載の分子プローブ前駆体を含むキット ;

[11] 膵β細胞をイメージングするための方法であって、[5] から [7] のいずれかに記載のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出することを含むイメージング方法 ;

[12] 前記検出されたシグナルを再構成処理して画像に変換し表示することを含む、[11] 記載のイメージング方法 ;

[13] [5] から [7] のいずれかに記載のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出すること、及び、検出したポリペプチドのシグナルから膵島量を算出することを含む膵島量の測定方法 ;

[14] 算出した膵島量を提示することを含む、[13] 記載の膵島量の測定方法 ;

に関する。

[0017] 本発明によれば、目的の標識部位が特異的に放射性標識されたポリペプチドを高い標識収率で製造でき、また標識に要する時間を短縮できることから、イメージングに有用な分子プローブを低い製造コストで効率よく提供できるという効果を好ましくは奏しうる。また、本発明の製造方法により得られる放射性標識されたポリペプチドは、例えば、膵β細胞に特異的に集積し、血液クリアランスに優れるため、2型糖尿病や1型糖尿病といった疾患の病因解明、超早期の診断、及び／又は発症の予防を可能にしうるという効果を奏しうる。

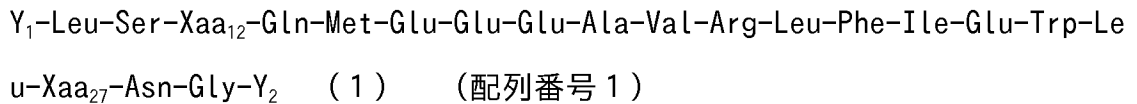
[0018] [放射性標識されたポリペプチドの製造方法]

本発明の放射性標識されたポリペプチドの製造方法（以下、「本発明の製造方法」ともいう）は、分子プローブ前駆体を標識化合物を用いて標識する

ことを含む。

[0019] 〔分子プローブ前駆体〕

本発明の製造方法に用いる分子プローブ前駆体（以下、「本発明の分子プローブ前駆体」ともいう）は、式(1)のアミノ酸配列で表され、C末端のカルボキシル基はアミド化されている。

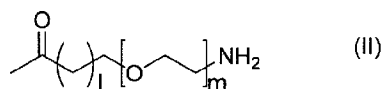


[0020] 式(1)において、Xaa₂₇は、側鎖に標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示す。本明細書において「塩基性アミノ酸」とは、塩基性側鎖を有するアミノ酸のことをいう。標識化合物は、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な化合物であって、例えば、後述する標識化合物であり、好ましくは式(I)で表される化合物、より好ましくは^[18F]N-succinimidyl 4-fluorobenzoate(^[18F]SFB)、及び^[123/124/125/131I]N-succinimidyl 3-iodobenzoate(^[123/124/125/131I]SIB)である。側鎖に標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸としては、例えば、標識化合物による標識を行う条件下において、^[18F]SFB及び/又は^[123/124/125/131I]SIBと反応する官能基を側鎖に有さない塩基性アミノ酸が好ましく、より好ましくは^[18F]SFB及び/又は^[123/124/125/131I]SIBと反応するアミノ基を有さない塩基性アミノ酸である。Xaa₂₇は、例えば、側鎖にグアニジル基を有する塩基性アミノ酸が好ましい。Xaa₂₇は、天然アミノ酸であってもよいし、非天然アミノ酸であってもよい。Xaa₂₇としては、例えば、アルギニン、モノメチルリジン、ジメチルリジン、モノアセチル化リジン、ノルアルギニン、ホモアルギニン、及びヒスチジン等が挙げられ、脾臓への集積が高いポリペプチドを得る点からは、アルギニン、モノメチルリジン及びホモアルギニンが好ましく、より好ましくはアルギニン及びモノメチルリジンである。

[0021] 式(1)において、Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示す。本明細書において「リジン誘導体」とは、アミノ基を標識可能な標識化合物が反応するアミノ基を側鎖に有するアミノ酸のことをいい、例えば、側鎖にリンカーが結

合したリジン、オルニチン、ジアミノプロピオン酸、及びジアミノ酪酸、並びに側鎖にリンカーが結合したこれらのアミノ酸等が挙げられ、好ましくは側鎖のアミノ基にリンカーが結合したリジンである。リンカーは、例えば、鎖状構造とアミノ基とを少なくとも含むことが好ましい。鎖状構造としては、例えば、アルキル鎖、及びポリエチレングリコール鎖等が挙げられる。リンカーとしては、より好ましくは式(II)で表される基である。Xaa₁₂は、中でも、リジン、又は側鎖のアミノ基に式(II)で表される基が結合したリジンが好ましく、血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られる点からは、側鎖のアミノ基に式(II)で表される基が結合したリジンがより好ましい。

[0022] [化2]



[0023] 式(II)において、 l は、メチレン基の個数を示し、 m は、オキシエチレン基の個数を示す。 l は、例えば、0～8の整数であり、好ましくは0～5の整数、より好ましくは0～3の整数、さらに好ましくは0又は1である。 m は1～30の整数であり、ペプチド誘導体の肝臓、腎臓、肺及び腸への集積を抑制し、かつ脾肝比及び脾腎比を向上させる点からは、 m は3～30の整数が好ましく、より好ましくは4以上、6以上、8以上、10以上、又は12以上の整数である。 m の上限は、好ましくは28以下、26以下、24以下、22以下、20以下、18以下、16以下、14以下、又は12以下の整数である。また、 m は、脾臓への集積を向上させる点からは、例えば、0～14の整数であり、好ましくは0～12の整数、より好ましくは2～8の整数、さらに好ましくは3、4、5、6、7、又は8である。

[0024] Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、中でも、式(2)で表されるアミノ酸配列、又はAspが好ましい。膀胱への集積

及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点からは、式(2)で表されるアミノ酸配列がより好ましく、製造コストの点からは、Aspがより好ましい。

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号2)

[0025] Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、好ましくは式(3)で表されるアミノ酸配列を示す。

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号3)

[0026] 分子プローブ前駆体は、式(4)又は(5)のアミノ酸配列で表されることが好ましく、脾臓への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点からは、式(4)で表されるアミノ酸配列がより好ましく、製造コストの点からは、式(5)で表されるアミノ酸配列がより好ましい。式(4)及び(5)において、Xaa₁₂及びXaa₂₇は、上記のとおりである。

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (4) (配列番号4)

Asp-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (5) (配列番号5)

[0027] 分子プローブ前駆体のN末端の α -アミノ基は、保護基により保護されていてもよいし、電荷を有さない修飾基により修飾されていてもよく、また非修飾であってもよい。N末端の α -アミノ基の正電荷を打ち消して放射性標識されたポリペプチドの腎臓への集積を抑制する点、より選択的な標識化を可能にする点、標識処理後の操作をより簡略化して製造時間を短縮する点からは、N末端の α -アミノ基は、電荷を有さない修飾基により修飾されていてもよい。

[0028] 電荷を有さない修飾基としては、例えば、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基(Fmoc)、tert-ブトキシカルボニル基(Boc)、ベ

ンジルオキシカルボニル基 (C b z)、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基 (T r o c)、アリルオキシカルボニル基 (A l l o c)、4-メトキシトリチル基 (M m t)、炭素数3から20個のアルキル基、9-フルオレンアセチル基、1-フルオレンカルボン酸基、9-フルオレンカルボン酸基、9-フルオレノン-1-カルボン酸基、ベンジルオキシカルボニル基、キサントリル基 (X a n)、トリチル基 (T r t)、4-メチルトリチル基 (M t t)、4-メトキシ2, 3, 6-トリメチル-ベンゼンスルホン基 (M t r)、メシチレン-2-スルホン基 (M t s)、4, 4-ジメトキシベンゾヒドリル基 (M b h)、トシル基 (T o s)、2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホン基 (P m c)、4-メチルベンジル基 (M e B z l)、4-メトキシベンジル基 (M e O B z l)、ベンジルオキシ基 (B z l O)、ベンジル基 (B z l)、ベンゾイル基 (B z)、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル基 (N p y s)、1-(4, 4-ジメチル-2, 6-ジアキソシクロヘキシリデン)エチル基 (D d e)、2, 6-ジクロロベンジル基 (2, 6-D i C l -B z l)、2-クロロベンジルオキシカルボニル基 (2-C l -Z)、2-ブロモベンジルオキシカルボニル基 (2-B r -Z)、ベンジルオキシメチル基 (B o m)、シクロヘキシルオキシ基 (c H x O)、t-ブトキシメチル基 (B u m)、t-ブトキシ基 (t B u O)、t-ブチル基 (t B u)、アセチル基 (A c)、トリフルオロアセチル基 (T F A)、o-ブロモベンジルオキシカルボニル基、t-ブチルジメチルシリル基、2-クロロベンジル (C l -z) 基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基、イソプロピル基、ピバロイル基、テトラヒドロピラン-2-イル基、トリメチルシリル基等が挙げられる。中でも、修飾基は、アセチル基、ベンジル基、ベンジルオキシメチル基、o-ブロモベンジルオキシカルボニル基、t-ブチル基、t-ブチルジメチルシリル基、2-クロロベンジル基、2, 6-ジクロロベンジル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基、イソプロピル基、ピバロイル基、テトラヒドロピラン-2-イル基、トシル基、トリメチルシリル基、又はトリチル基が好ましく、より好

ましくはアセチル基である。

[0029] 保護基は、標識化する間に、分子プローブ前駆体のN末端の α -アミノ基を保護するものであって、そのような機能を果たしうる公知の保護基を使用できる。保護基としては、特に制限されず、例えば、Fmoc、Boc、Cbz、Troc、Alloc、Mmt、アミノ基、炭素数3から20個のアルキル基、9-フルオレンアセチル基、1-フルオレンカルボン酸基、9-フルオレンカルボン酸基、9-フルオレノン-1-カルボン酸基、ベンジルオキシカルボニル基、Xan、Trt、Mtt、Mtr、Mts、Mbh、Tos、Pmc、MeBzl、MeOBzl、BzIO、Bzl、Bz、Npys、Dde、2,6-DiCl-Bzl、2-Cl-Z、2-Br-Z、Bom、cHxO、Bum、tBuO、tBu、Ac及びTFAなどが挙げられ、取扱いの点から、Fmoc又はBocが好ましい。

[0030] 本発明の分子プローブ前駆体は、式(1)、(4)又は(5)で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと相同性を有し、かつ標識後、膵 β 細胞のGLP-1Rに結合可能なポリペプチドを含み得る。該ポリペプチドと相同性を有するポリペプチドとしては、式(1)、(4)又は(5)で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドから、1～数個のアミノ酸が欠失、付加又は置換したポリペプチド、及び、該ポリペプチドのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するポリペプチドを含みうる。

[0031] 本発明の分子プローブ前駆体の形態としては、例えば、溶液、粉末等が挙げられ、取扱いの点からは、粉末が好ましく、より好ましくは凍結乾燥された粉末（凍結乾燥製剤）である。

[0032] 本発明の分子プローブ前駆体は、例えば、Fmoc法等の定法に従ったペプチド合成により製造することができ、ペプチドの合成方法は特に制限されない。

[0033] [標識化合物]

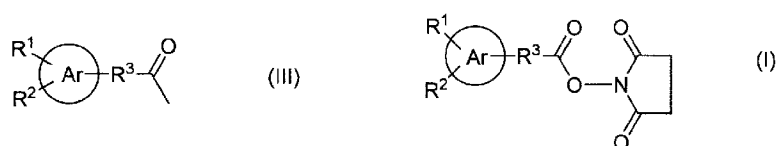
標識化合物は、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物であって、例えば、放射性核種を有し、リジン又はリジン誘導体のアミノ

基に反応して放射性標識基を導入可能なものであればよく、好ましくはリジン又はリジン誘導体の側鎖のアミノ基に反応してそのアミノ基に放射性標識基を結合させるものである。本発明の製造方法によれば、上記分子プローブ前駆体を使用するため、Xaa₁₂のリジン又はリジン誘導体を特異的に標識することができる。

[0034] 放射性核種としては、例えば、¹¹C、¹³N、¹⁵O、¹⁸F、⁶⁴Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、⁸²Rb、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹³¹I、及び¹⁸⁶Reが挙げられる。ポジトロン放射断層撮影法（PET）を行う観点からは、放射性核種は、¹¹C、¹³N、¹⁵O、¹⁸F、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁸Ga、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁸²Rb、及び¹²⁴Iなどのポジトロン放出核種が好ましい。シングルフォトン放射線コンピュータ断層撮影法（SPECT）を行う観点からは、放射性核種は、⁶⁷Ga、^{99m}Tc、⁷⁷Br、¹¹¹In、¹²³I、及び¹²⁵Iなどのγ線放出核種が好ましく、より好ましくは⁷⁷Br、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I又は¹²⁵Iである。これらの中でも、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁶Br、⁷⁷Br、¹²³I、及び¹²⁴Iなどの放射性ハロゲン核種がより好ましく、特に好ましくは¹⁸F、¹²³I、又は¹²⁴Iである。

[0035] 標識化合物は、臓腑への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点から、式(III)で表される基を有することが好ましく、より好ましくは式(III)で表される基がエステル結合を介してスクシンイミドと結合したスクシンイミジルエステル化合物であり、さらに好ましくは式(I)で表される化合物である。

[0036] [化3]



[0037] 式(I)及び(III)において、Arは、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環基を示す。芳香族炭化水素基は、炭素数6～18個の芳香族炭化水素基が好ま

しく、例えば、フェニル基、*o*-トリル基、*m*-トリル基、*p*-トリル基、2, 4-キシリル基、*p*-クメニル基、メシチル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、1-アントリル基、2-アントリル基、9-アントリル基、1-フェナントリル基、9-フェナントリル基、1-アセナフチル基、2-アズレニル基、1-ピレニル基、2-トリフェニレニル基、*o*-ビフェニリル基、*m*-ビフェニリル基、*p*-ビフェニリル基、ターフェニル基等が挙げられる。芳香族複素環基は、窒素原子、酸素原子又は硫黄原子を1又は2個有し、かつ、5～10員の複素環基が好ましく、例えば、トリアゾリル基、3-オキサジアゾリル基、2-フリル基、3-フリル基、2-チエニル基、3-チエニル基、1-ピロリル基、2-ピロリル基、3-ピロリル基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-ピラジル基、2-オキサゾリル基、3-イソオキサゾリル基、2-チアゾリル基、3-イソチアゾリル基、2-イミダゾリル基、3-ピラゾリル基、2-キノリル基、3-キノリル基、4-キノリル基、5-キノリル基、6-キノリル基、7-キノリル基、8-キノリル基、1-イソキノリル基、2-キノキサリニル基、2-ベンゾフリル基、2-ベンゾチエニル基、*N*-インドリル基、及び*N*-カルバゾリル基等が挙げられる。これらの中でも、*A_r*は、フェニル基、トリアゾリル基、又はピリジル基が好ましく、フェニル基がより好ましい。

[0038] 式(I)及び(III)において、*R*¹は、放射性核種を含む置換基を示し、例えば、放射性核種、放射性核種により置換されたC₁～C₃アルキル基、及び放射性核種により置換されたC₁～C₃アルコキシ基等が挙げられる。放射性核種としては、上述のものが挙げられるが、中でも放射性ハロゲン核種が好ましい。

[0039] 本明細書において「C₁～C₃アルキル基」とは、炭素数1～3個のアルキル基をいい、メチル基、エチル基、プロピル基等が挙げられる。本明細書において「放射性核種により置換されたC₁～C₃アルキル基」とは、炭素数1～3個であって、かつ、水素原子が放射性核種によって置換されたアルキル基をいう。本明細書において「C₁～C₃アルコキシ基」とは、炭素数1～3

個のアルコキシ基をいい、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基等が挙げられる。本明細書において「放射性核種により置換された C_1-C_3 アルコキシ基」とは、炭素数1～3個であって、かつ、水素原子が放射性核種によって置換されたアルコキシ基をいう。

[0040] R^1 は、例えば、 ^{18}F 、 $^{75}/^{76}/^{77}Br$ 、又は $^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I$ を含む置換基が好ましい。PETを行う観点からは、 R^1 は、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 又は ^{124}I を含む置換基が好ましく、より好ましくは ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 又は ^{124}I である。SPECTを行う観点からは、 R^1 は、 ^{77}Br 、 ^{123}I 又は ^{125}I を含む置換基が好ましく、より好ましくは ^{77}Br 、 ^{123}I 又は ^{125}I である。なお、本明細書において、「 $^{75}/^{76}/^{77}Br$ 」は、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 又は ^{77}Br を意味し、「 $^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I$ 」は、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、又は ^{131}I を意味する。

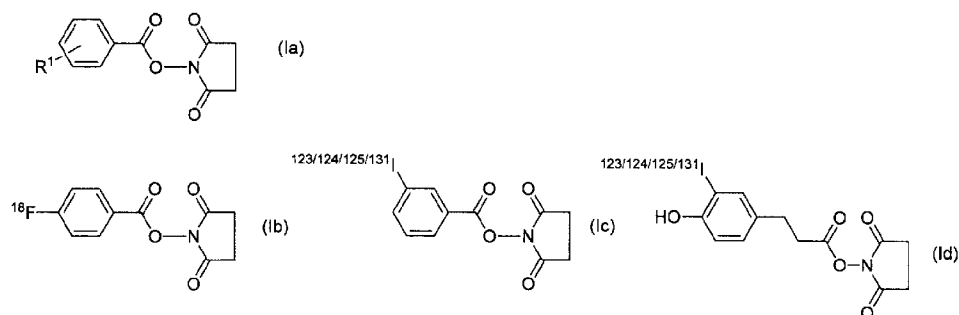
[0041] 式(I)及び(III)において、 R^2 は、水素原子若しくは R^1 とは異なる1又は複数の置換基を示す。 R^2 は、水素原子であっても、置換基であってもよいが、水素原子であることが好ましい。つまり、式(I)又は(III)において、 Ar は、 R^1 以外の置換基で置換されていないことが好ましい。 R^2 が複数の置換基である場合、それらは、同一であっても良いし、異なってもよい。置換基としては、例えば、水酸基、電子求引性基、電子供与性基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_2-C_6 アルケニル基、 C_2-C_6 アルキニル基等が挙げられる。電子求引性基としては、シアノ基、ニトロ基、ハロゲン原子、カルボニル基、スルホニル基、アセチル基、フェニル基等が挙げられる。ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙げられる。本明細書において「 C_1-C_6 アルキル基」とは、炭素数1～6個のアルキル基をいい、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基が挙げられる。本明細書において「 C_2-C_6 アルケニル基」とは、炭素数2～6個のアルケニル基をいい、例えば、ビニル基、1-プロペニル基、2-プロペニル基、イソプロペニル基、1-ブテニ

ル基、2-ブテニル基、3-ブテニル基が挙げられる。本明細書において「 C_2-C_6 アルキニル基」とは、炭素数2～6個のアルキニル基をいい、例えば、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、1-ブチニル基、2-ブチニル基、及び3-ブチニル基が挙げられる。これらの中でも、置換基は、水酸基、又は電子求引性基が好ましい。

[0042] R^3 は、結合手、炭素数1～6個のアルキレン基又は炭素数1～6個のオキシアルキレン基を示すことが好ましい。炭素数1～6個のアルキレン基としては、例えば、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、ブチレン基、ペンチレン基、ヘキシレン基等の直鎖状又は分岐状のアルキレン基が挙げられる。炭素数1～6個のオキシアルキレン基としては、例えば、オキシメチレン基、オキシエチレン基、オキシプロピレン基、オキシブチレン基、及びオキシペンチレン基等が挙げられる。 R^3 としては、脾臓への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点から、結合手、メチレン基、又はエチレン基が好ましく、より好ましくは結合手である。また、 R^1 が ^{18}F を含む置換基、好ましくは ^{18}F である場合、 R^3 は結合手であることが好ましい。 R^1 が $^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I$ を含む置換基、好ましくは $^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I$ である場合、 R^3 はメチレン基、エチレン基、又は結合手が好ましく、より好ましくは結合手である。

[0043] 標識化合物は、中でも、式(Ia)で表される化合物が好ましい。式(Ia)において、 R^1 は、 R^3 に対してオルト位、パラ位、及びメタ位のいずれに位置していてもよい。 R^1 が ^{18}F である場合、 R^1 は R^3 に対してパラ位（4位）に位置することが好ましく、 R^1 が $^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I$ である場合、 R^1 は R^3 に対してメタ位（3位又は5位）に位置することが好ましい。標識化合物は、より好ましくは式(Ib)で表される化合物（ $[^{18}F]SFB$ ）、式(Ic)で表される化合物（ $[^{123}/^{124}/^{125}/^{131}I]SIB$ ）及び式(Id)で表される化合物であり、脾臓への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点からは、式(Ic)で表される化合物及び式(Ib)で表される化合物がさらに好ましく、汎用性の点からは、式(Id)で表される化合物がさらに好ましい。

[0044] [化4]



[0045] 標識化合物を用いた標識は公知の方法により行うことができ、例えば、分子プローブ前駆体を含む溶液に標識化合物を添加し、ついでpHを所定の範囲に調整して反応させることにより行うことができる。

[0046] 本発明の製造方法は、標識後のポリペプチドに結合する保護基を除去するために放射性標識されたポリペプチドを脱保護することを含んでいてもよい。脱保護は、保護基の種類に応じた公知の方法で行うことができる。

[0047] 本発明の製造方法は、純度の高い放射性標識されたポリペプチドを製造する点からは、標識後のポリペプチドを精製する工程をさらに含んでいてもよい。精製は、例えば、ペプチド又はタンパク質を精製するための公知の分離操作を用いて行うことができる。分離操作としては、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等が挙げられ、必要に応じてこれらを組み合わせて行ってもよい。

[0048] 本発明の製造方法は、標識化合物を合成する工程、及び／又は分子プローブ前駆体を合成する工程を含んでいてもよい。この場合、標識化合物の合成及び分子プローブ前駆体の標識と1つの自動合成装置によって行ってもよく、また、分子プローブ前駆体の合成、標識化合物の合成及び分子プローブ前駆体の標識と1つの自動合成装置によって行ってもよい。

[0049] [放射性標識されたポリペプチド]

本発明は、その他の態様として、式(6)のアミノ酸配列で表されるポリペプチドであって、該ポリペプチドのC末端のカルボキシル基はアミド化され

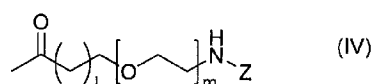
ているポリペプチド（以下、「本発明のポリペプチド」ともいう）に関する。本発明のポリペプチドによれば、膵β細胞に特異的に集積し、血液クリアランスに優れる、イメージングに有用な分子プローブを提供できる。また、本発明のポリペプチドは、上述の本発明の製造方法により製造することができる。

Y_1 -Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly- Y_2 (6) (配列番号 6)

[0050] 式(6)において、 Y_1 、Xaa₂₇、及び Y_2 は、式(1)の通りである。

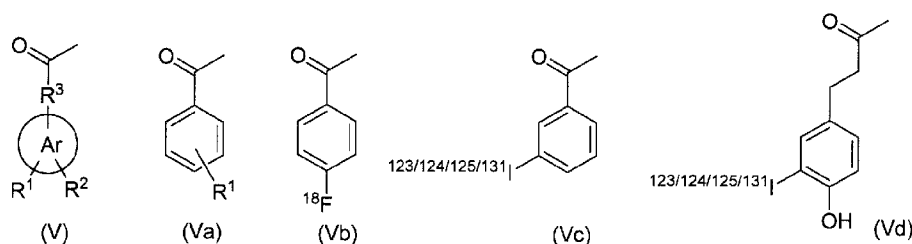
[0051] 式(6)において、Xbb₁₂は、放射性標識されたリジン又はリジン誘導体を示す。放射性標識されたリジンとしては、例えば、側鎖のアミノ基が放射性標識基と結合したリジンが挙げられる。放射性標識基としては、後述のものが挙げられる。放射性標識されたリジン誘導体としては、例えば、放射性標識基を有するリンカーが側鎖に結合したリジン、放射性標識されたオルニチン、ジアミノプロピオン酸、及びジアミノ酪酸、並びに側鎖に放射性標識基を有するリンカーが結合したこれらのアミノ酸等が挙げられ、好ましくは側鎖のアミノ基に放射性標識基を有するリンカーが結合したリジンである。放射性標識基を有するリンカーは、例えば、鎖状構造と放射性標識基とを少なくとも含むことが好ましく、鎖状構造と放射性標識基とがアミノ基を介して結合しているものがより好ましい。鎖状構造としては、例えば、アルキル鎖、及びポリエチレングリコール鎖等が挙げられる。側鎖のアミノ基に放射性標識基を有するリンカーとしては、例えば、式(IV)で表される基が好ましい。Xbb₁₂は、中でも、側鎖のアミノ基が放射性標識されたリジン、又は側鎖のアミノ基に式(IV)で表される基が結合したリジンが好ましく、血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点からは、側鎖のアミノ基に式(IV)で表される基が結合したリジンがより好ましい。

[0052] [化5]



[0053] 式(IV)において、 l 及び m は、式(II)の通りである。 Z は、放射性標識基を示す。放射性標識基としては、公知の様々な標識基が使用でき、脾臓への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポリペプチドを得られうる点からは、式(V)で表される基が好ましく、より好ましくは式(Va)で表される基であり、さらに好ましくは式(Vb)、(Vc)又は(Vd)で表される基、さらにより好ましくは式(Vb)、又は(Vc)で表される基である。式(V)において Ar 、 R^1 、 R^2 及び R^3 は、式(I)の通りであり、式(Va)において R^1 は、式(I)の通りである。

[0054] [化6]



[0055] 本発明のポリペプチドにおいて、放射性標識基は、金属放射性同位元素（放射性金属核種）で標識化する観点からは、放射性金属核種とその放射性金属核種をキレート可能なキレート部位とを含んでもよい。キレート部位を形成しうる化合物としては、例えば、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）、6-ヒドラジノピリジン-3-カルボン酸（HYN1C）、テトラアザシクロドデカン四酢酸（DOTA）、dithiosemicarbazone（DTS）、diaminedithiol（DADT）、mercaptoacetylglucylglycylglycine（MAG3）、monoamidemonoaminedithiol（MAMA）、diamidedithiol（DADS）、及びpropylene diamine dioxime（PnAO）等が挙げられる。

[0056] 本発明のポリペプチドのN末端の α -アミノ基は、非修飾であってもよいし、電荷を有さない修飾基により修飾されてもよい。電荷を有さない修飾基は、本発明の分子プローブ前駆体と同様である。

[0057] 本発明のポリペプチドは、式(7)又は(8)のアミノ酸配列で表されることが好ましく、脾臓への集積及び血液クリアランスが高い放射性標識されたポ

リペプチドを得られうる点からは、式(7)で表されるアミノ酸配列がより好ましく、製造コストの点からは、式(8)で表されるアミノ酸配列がより好ましい。式(7)及び(8)において、Xbb₁₂及びXaa₂₇は、上記のとおりである。

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (7) (配列番号7)

Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (8) (配列番号8)

[0058] 本発明のポリペプチドは、式(6)、(7)又は(8)で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同一性を有し、かつ膵β細胞のGLP-1Rに結合可能なポリペプチドを含み得る。該ポリペプチドと同一性を有するポリペプチドとしては、式(6)、(7)又は(8)で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドから、1～数個のアミノ酸が欠失、付加又は置換したポリペプチド、及び、該ポリペプチドのアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するポリペプチドを含みうる。

[0059] 本発明のポリペプチドは、例えば、膵島イメージングに用いることができ、好ましくは膵β細胞のイメージング、より好ましくは膵β細胞のGLP-1Rのイメージング用分子プローブに用いることができる。また、本発明のポリペプチドは、例えば、糖尿病の予防、治療又は診断のためのイメージングに用いられることができる。また、本発明のポリペプチドは、例えば、有効成分として本発明のポリペプチドを含む、上述する各種イメージングに用いる組成物、イメージング用試薬、造影剤、画像診断剤等として用いることができる。これらの組成物、画像診断剤等の取り得る形態としては、例えば、溶液、粉末等が挙げられ、放射性核種の半減期及び放射能減衰等を考慮すると、溶液が好ましく、注射液がより好ましい。

[0060] [イメージング用組成物]

本発明は、さらにその他の態様として、本発明のポリペプチド、又は本発

明の分子プローブ前駆体を含むイメージング用組成物に関する。イメージング用組成物の形態は、例えば、溶液、粉末等が挙げられる。本発明のイメージング用組成物が本発明のポリペプチドを含む場合、放射性核種の半減期及び放射能減衰等を考慮すると、その形態は、溶液が好ましく、注射液がより好ましい。本発明のイメージング用組成物が本発明の分子プローブ前駆体を含む場合、取扱いの点からは、その形態は、粉末が好ましく、より好ましくは凍結乾燥された粉末（凍結乾燥製剤）である。

[0061] 本発明のイメージング用組成物は、担体等の医薬品添加物を含んでいてもよい。本明細書において医薬品添加物は、日本薬局方、アメリカ薬局方及び／又はヨーロッパ薬局方等で医薬品添加物として許認可を受けている化合物をいう。担体としては、例えば、水性溶媒及び非水性溶媒が使用できる。水性溶媒としては、例えば、リン酸カリウム緩衝液、生理食塩水、リンゲル液、及び蒸留水等が挙げられる。非水性溶媒としては、例えば、ポリエチレングリコール、植物性油脂、エタノール、グリセリン、ジメチルスルホキサイド、及びプロピレングリコール等が挙げられる。

[0062] [キット]

本発明は、さらにその他の態様として、本発明のポリペプチド、及び／又は本発明の分子プローブ前駆体を含むキットに関する。キットの態様としては、例えば、本発明のポリペプチドを製造するためのキット、膵 β 細胞のイメージングを行うためのキット、膵 β 細胞のGLP-1Rのイメージングを行うためのキット、膵島量の測定を行うためのキット、及び糖尿病の予防又は治療又は診断のためのキット等が挙げられる。本発明のキットは、これらの各態様において、それぞれの形態に応じた取扱い説明書を含むことが好ましい。取扱い説明書は、キットに同梱されてもよいし、ウェブ上で提供されてもよい。

[0063] 本発明のポリペプチドの形態は、特に制限されず、例えば、溶液、粉末等が挙げられ、放射性核種の半減期及び放射能減衰等を考慮すると、溶液が好ましく、注射液がより好ましい。本発明の分子プローブ前駆体の形態は、特

に制限されず、例えば、溶液、及び粉末等が挙げられ、取扱いの点からは、粉末が好ましく、より好ましくは凍結乾燥された粉末（凍結乾燥製剤）である。

[0064] 本発明のキットは、分子プローブ前駆体を含む場合、例えば、分子プローブ前駆体の標識に使用する標識化合物、標識化合物の出発原料となる化合物、放射性標識に用いるその他の試薬等を含んでいてもよい。標識化合物は、上述のとおりである。

[0065] 出発原料としては、例えば、式(Ib)で表される標識化合物の出発原料、及び式(Ic)で表される標識化合物の出発原料が挙げられる。式(Ib)で表される標識化合物の出発原料としては、例えば、4-(trimethylammonium triflate) benzoic acidのエステル誘導体が挙げられる。4-(trimethylammonium triflate) benzoic acidのエステル誘導体としては、例えば、メチルエステル、エチルエステル、及びt-ブチルエステル及びペンタメチルエステル等が挙げられる。式(Ib)で表される標識化合物のその他の出発原料としては、例えば、ethyl 4-(trimethylammonium triflate) benzoate、ethyl 4-(tosyloxy)benzoate、及びethyl 4-(methanesulfonyloxy)benzoate等が挙げられる。前記式(Ic)で表される標識化合物の出発原料としては、例えば、2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-(tributylstannyl)benzoate、2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-bromobenzoate、2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-chlorobenzoate、及び2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 3-iodobenzoate等が挙げられる。放射性標識に用いるその他の試薬としては、例えば、標識化合物の合成に使用する放射性核種を含む試薬等が挙げられる。

[0066] 本発明のキットは、本発明のポリペプチド及び／又は本発明の分子プローブ前駆体を入れるための容器をさらに含んでいてもよい。容器としては、例えば、シリンジやバイアル瓶等が挙げられる。

[0067] 本発明のキットは、例えば、バッファー、浸透圧調整剤等の分子プローブを調製するための成分や、注射器等のポリペプチドの投与に使用する器具等をさらに含んでいてもよい。

[0068] 分子プローブ前駆体を含むキットは、例えば、標識化合物を合成するための自動合成装置を含んでもよい。自動合成装置は、標識化合物の合成に加えて、例えば、合成した標識化合物を用いた分子プローブ前駆体の標識化、標識後のポリペプチドの脱保護、及び分子プローブ前駆体の合成等が可能であってもよい。

[0069] [イメージング方法]

本発明は、さらにその他の態様として、膵 β 細胞をイメージングするための方法であって、本発明のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出することを含むイメージング方法に関する。本発明のイメージング方法によれば、本発明のポリペプチドを使用することから、膵 β 細胞のイメージング、好ましくは膵 β 細胞のGLP-1Rのイメージングを行うことができる。被検体としては、例えば、ヒト及び／又はヒト以外の哺乳類が挙げられる。

[0070] 本発明のイメージング方法は、第1の態様として、本発明のポリペプチドを予め投与された被検体から該ポリペプチドの放射性シグナルを検出することを含む。シグナルの検出は、例えば、ポリペプチド体を投与後、シグナルの検出に十分な時間が経過後に行うことが好ましい。

[0071] 本発明のイメージング方法は、例えば、検出されたシグナルを再構成処理して画像に変換し表示すること、及び／又は検出されたシグナルを数値化して集積量を提示することを含んでもよい。表示には、例えば、モニタに表示すること、及び印字すること等を含む。提示には、例えば、算出した集積量を保存すること、及び外部に出力することを含む。

[0072] シグナルの検出は、使用するポリペプチドの放射性核種の種類に応じて適宜決定でき、例えば、PET及びSPECT等を用いて行うことができる。SPECTは、例えば、本発明のポリペプチドを投与された被検体から放出される γ 線をガンマカメラにより測定することを含む。ガンマカメラによる測定は、例えば、ポリペプチドの放射性核種から放出される放射線（ γ 線）を一定時間単位で測定することを含み、好ましくは放射線が放出される方向

及び放射線数量を一定時間単位で測定することを含む。本発明のイメージング方法は、放射線の測定により得られた測定されたポリペプチドの分布を断面画像として表すこと、及び得られた断面画像を再構成することをさらに含んでいてもよい。

[0073] PETは、例えば、ポリペプチドを投与された被検体から、ポジトロンと電子との対消滅により生成するガンマ線をPET用検出器で同時計数することを含み、さらに、計測した結果に基づきポジトロンを放出する放射性核種の位置の三次元分布を描写することを含んでいてもよい。

[0074] SPECT又はPETによる測定にあわせて、X線CT及び／又はMRIの測定を行ってもよい。これにより、例えば、SPECT又はPETにより得られた画像（機能画像）と、CT又はMRIにより得られた画像（形態画像）とを融合させた融合画像を得ることができる。

[0075] 本発明のイメージング方法は、第2の形態として、本発明のポリペプチドを被検体に投与すること、及び投与された被検体からポリペプチドの放射性シグナルを検出することを含む。シグナルの検出、及び再構成処理等は、第1の態様と同様に行うことができる。

[0076] 被検体へのポリペプチドの投与は、局所的であってもよく、全身的であってもよい。投与経路は、被検体の状態等に応じて適宜決定できるが、例えば、静脈、動脈、皮内、腹腔内への注射又は輸液等が挙げられる。ポリペプチドの投与量（用量）は、特に制限されず、イメージングのために所望のコントラストを得るために十分な量を投与すればよく、例えば、 $1\mu\text{g}$ 以下とすることができる。本発明のポリペプチドは、担体等の医薬品添加物とともに投与することが好ましい。医薬品添加物としては、上述のとおりである。投与から測定までの時間は、例えば、ポリペプチドの膵 β 細胞への結合時間、ポリペプチドの種類及びポリペプチドの分解時間等に応じて適宜決定できる。

[0077] 第2の態様のイメージング方法は、本発明のポリペプチドを用いたイメージングの結果に基づき、膵島又は膵 β 細胞の状態を判定することを含んでも

よい。膵島又は膵 β 細胞の状態を判定することは、例えば、膵 β 細胞イメージングの画像を解析することにより膵島又は膵 β 細胞の有無を判断すること、膵島量の増減を判断すること等を含む。

[0078] 本発明は、さらにその他の態様として、本発明のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出すること、及び、検出したポリペプチドのシグナルから膵島量を算出することを含む膵島量の測定方法に関する。本発明の膵島量の測定方法によれば、本発明のポリペプチドを使用することから、膵 β 細胞のイメージング、好ましくは膵 β 細胞のGLP-1Rのイメージングを行うことができ、それらの結果から膵島量を測定することができる。本発明の膵島量の測定方法は、本発明のポリペプチドを予め投与された被検体からポリペプチドの放射性シグナルを検出すること、及び検出したポリペプチドのシグナルから膵島量を算出することを含むことが好ましい。

[0079] 膵島量の算出は、例えば、検出したシグナルの量、シグナルを再構成して得られたイメージング画像を解析すること等により行うことができる。また、イメージングの結果からイメージングの対象物の定量を行うことは、当業者であれば、例えば、検量線や適当なプログラムを用いて容易に行うことができる。イメージングの対象物としては、例えば、膵島であり、好ましくは膵 β 細胞である。本発明の膵島量の測定方法は、検査・診断の用途の観点から、膵 β 細胞量の測定方法であることが好ましい。

[0080] 本発明の膵島量の測定方法は、算出した膵島量を提示することをさらに含んでいてもよい。算出した膵島量を提示することは、例えば、算出した膵島量を保存又は外部に出力することを含む。外部に出力することは、例えば、モニタに表示すること、及び、印字すること等を含む。

[0081] [糖尿病の予防、治療、診断方法]

本発明は、さらにその他の態様として、糖尿病の予防又は治療又は診断方法に関する。上記のとおり、糖尿病の発症過程では、膵島量（とりわけ、膵 β 細胞量）が耐糖能異常に先行して減少するが、機能異常が検出・自覚され

る段階に至ってからでは、糖尿病はすでに治療が難しい段階となっている。しかし、本発明のポリペプチドを用いたイメージング方法及び／又は膵島量の測定方法によれば、膵島量及び／又は膵 β 細胞量の減少を早期に発見することができ、ひいては、新たな糖尿病の予防・治療・診断法が構築できる。糖尿病の予防・治療・診断の対象（被検体）としては、ヒト及び／又はヒト以外の哺乳類が挙げられる。

[0082] 本発明の糖尿病の診断方法は、本発明のポリペプチドを用いて膵 β 細胞のイメージングを行うこと、及び、得られた膵島の画像及び／又は膵島量に基づき膵島の状態を判定することを含み、さらに、判定結果に基づき糖尿病の診断を行うことを含んでいてもよい。膵島の状態の判定は、例えば、得られた膵島の画像と基準となる膵島の画像とを比較すること、得られた膵島量と基準となる膵島量とを比較すること等により、膵島量の増減又は変化を判定することを含む。また、膵島の状態の判定は、情報処理装置を用いて行ってもよく、膵島量が減少していると判定したときには、その情報を提示し、膵島量が増加又は維持されていると判定したときには、その情報を提示することが好ましい。判定結果に基づく糖尿病の診断は、例えば、糖尿病発症のリスクを判定すること、糖尿病と判断すること、糖尿病の進行度合いを判断すること等を含む。

[0083] 本発明の糖尿病の治療方法は、本発明のポリペプチドを用いた膵島のイメージング及びイメージング結果に基づく糖尿病の診断に加えて、診断に基づき糖尿病を治療することを含む。膵島のイメージング及び糖尿病の診断は、本発明の糖尿病の診断方法と同様に行うことができる。治療方法は、対象に対して行われる投薬や食事療法を含む治療効果を膵島量の変化に着目して評価することを含むことができる。

[0084] 本発明の糖尿病の予防方法は、本発明のポリペプチドを用いた膵島のイメージング、及びイメージング結果に基づき膵島の状態を判定して糖尿病発症のリスクを判定することを含む。本発明の糖尿病の予防方法は、例えば、定期的に膵島量の測定を行い、膵島量の減少傾向の有無をチェックすることを

含むことができる。

[0085] 本発明は、好ましいその他の態様として、糖尿病の超早期診断方法に関する。本発明の糖尿病の超早期診断方法は、例えば、人間ドック、健康診断において本発明の方法により膵島のイメージング及び／又は膵島量の測定を行うこと、及び、得られた膵島の画像及び／又は膵島量に基づき膵島の状態を判定することを含むことができる。また、本発明の糖尿病の治療方法は、本発明の方法により膵島のイメージング及び／又は膵島量の測定を行うこと、及び、得られた膵島の画像及び／又は膵島量に基づき膵島の機能回復を評価することを含むことができる。

[0086] [その他の用途]

本発明のポリペプチドは、*exendin-4*のアミノ酸配列（配列番号9）又は*exendin (9-39)*のアミノ酸配列（配列番号10）と相同性を有しうる。上記の通り、*exendin-4*及び*exendin (9-39)*は、GLP-1類似体であり、膵β細胞上に発現するGLP-1Rに結合することが知られている。このため、本発明のポリペプチドは、膵β細胞のGLP-1Rに結合可能であり、好ましくはGLP-1Rに特異的に結合可能であることから、例えば、GLP-1R陽性の細胞のイメージング及び定量、GLP-1Rの発現が関与する疾患の診断及び治療等に利用できる。したがって、上記膵島のイメージング・定量等と同様に、GLP-1R陽性の細胞のイメージング及び定量、GLP-1Rの発現が関与する疾患の診断及び／又は治療等を行うことができる。GLP-1Rの発現が関与する疾患としては、例えば、神経内分泌腫瘍（NET）等が挙げられる。神経内分泌腫瘍としては、例えば、インスリノーマ、小細胞気管支癌、及び膵癌等が挙げられる。

[0087] 以下に、実施例及び参考例を用いて本発明をさらに説明する。但し、本発明は以下の実施例に限定して解釈されない。

[0088] なお、本明細書の記載において、以下の略語を使用する。

Ac：アセチル基

I B : 3 - i o d o b e n z o y l 基

Rink Amide MBHA Resin (商品名、Merck製) : 4-(2',4' -Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxyacetamido-norleucyl-MBA

H B T U : 1 - [ビスジメチルアミノメチレン] - 1 H - ベンゾトリアゾリウム - 3 - オキシド - ヘキサフルオロホスフェイト

H O B t : 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール

D M F : ジメチルホルムアミド

B o c : tert-ブトキシカルボニル基

T F A : トリフルオロ酢酸

t B u : tert-ブチル基

T r t : トリチル基

P b f : 2, 2, 4, 6, 7 - ペンタメチルジヒドロベンゾフラン - 5 - スルホニル基

F m o c : 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル基

P E G 3 : - C (O) - C H ₂ - (O C ₂ H ₄) ₃ - N H -

T I S : トリイソプロピルシラン

D T : ドデカンチオール

E D T A : エチレンジアミン四酢酸

H P L C : 高速液体クロマトグラフィー

L C : 液体クロマトグラフィー

P B S : リン酸緩衝食塩水

H E P B S : 双極子イオン緩衝液

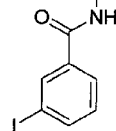
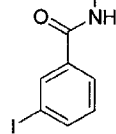
B S A : ウシ血清アルブミン

実施例

[0089] [Binding Assay]

式(11)で表されるポリペプチド(配列番号11)及び式(12)で表されるポリペプチド(配列番号12)(いずれもコールド体)を用いてBinding Assayを行った。

[0090] [化7]

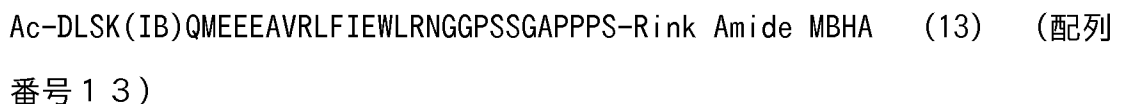


[0091] (コールド体の合成)

式(11)で表されるポリペプチドの合成

式(11)で表されるポリペプチドは、以下の手順で調製した。

[0092] まず、式(13)で表される保護ペプチド樹脂を合成した。なお、式(13)において、Lys (IB) 以外は側鎖の保護基の表記を省略した。



[0093] 式(13)で表される保護ペプチド樹脂の合成は、アドバンスケムテック社製のペプチド合成機 (ACT90) を用いて固相合成法により行った。出発樹脂担体として、Rink Amide MBHA Resin (0.39 mol/g, 0.25 mmol scale) を使用した。アミノ酸の原料としては、通常のFmoc-ペプチド合成法に使われるFmoc-アミノ酸誘導体を使用した。使用したFmoc-アミノ酸誘導体のうち、側鎖に官能基のあるアミノ酸はそれぞれAsp (tBu)、Ser (tBu)、Gln (Trt)、Glu (tBu)、Trp (Boc)、Arg (Pbf)、及びAsn (Trt) を用いた。但し、第4位のリジンにはFmoc-Lys (IB) を使用した。原料となるFmoc-アミノ酸誘導体を上記ペプチド合成機の反応容器にセットし、活性化剤であるHBTU及びHOBTとDMFに溶解して反応槽に加えて反応させた。得られた樹脂をピペリジン含有N-メチルピロリドン中で緩やかに攪拌してFmoc基を脱離し、洗浄後、次

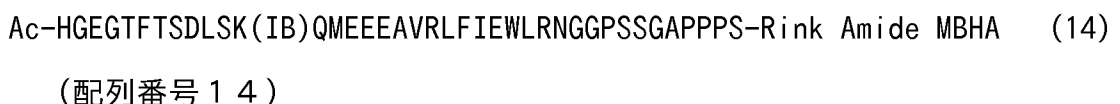
のアミノ酸誘導体の縮合に進み、ペプチドの配列に従い逐次ペプチド鎖の延長を行い保護ペプチド樹脂を得た。得られた保護ペプチド樹脂のN末端のAspの α -アミノ基に結合するFmoc基を脱離した後、定法に従って無水酢酸処理を行うことにより、N末端のAspの α -アミノ基をアセチル化して、式(13)で表される保護ペプチド樹脂を得た。

[0094] つぎに、得られた保護ペプチド樹脂を、トリフルオロ酢酸(TFA)を用いる定法の脱保護条件(TFA-TIS-H₂O-DT(95/2.5/2.5/2.5, v/v))で、室温で2時間処理して脱保護と樹脂からのペプチドの切り離しとを同時に行った。反応液から担体樹脂をろ別した後、TFAを留去し、残渣にエーテルを加えて得られる粗生成物の沈殿をろ取した。

[0095] 得られた粗生成ペプチドを、HPLC分取装置(商品名:LC-8A-2、島津製作所製、カラム:ODS30×250mm)を用いて0.1%トリフルオロ酢酸を含む水-アセトニトリルの系で分取精製し、目的のペプチドの分画を得た。ついで、アセトニトリルを留去した後、凍結乾燥粉末とし、式(11)で表されるポリペプチドをトリフルオロ酢酸塩として得た。

[0096] 式(12)で表されるポリペプチドの合成

式(12)で表されるポリペプチドは、保護ペプチド樹脂として式(14)で表される保護ペプチド樹脂を合成した以外は、式(11)で表されるポリペプチドと同様の手順で調製した。なお、第1位のヒスチジンとしてFmoc-His(Trt)を使用し、第12位のリジンとしてFmoc-Lys(IBM)を使用した。式(14)において、Lys(IBM)以外は側鎖の保護基の表記を省略した。



[0097] (Binding Assayの手順)

Binding Assayは以下の手順で行った。まず、マウスから単離した脾臓を50mLチューブに回収し、遠心(2000rpm、2分)した後、冷PBS 20mLで1回洗浄した。トリプシン-EDTA(トリプシン-EDTA(

0.05% / 0.53 mM) 3 mL に、PBS を含む 0.53 mM EDTA (pH 7.4 (NaOH)) 12 mL を加えたものを 15 mL 加え、37°C で振とうしながら 1 時間インキュベートした後、直ちに氷上に置いた。ついで、スポイト付 10 mL ピペットで泡立てることなく勢いよく 20 回ピペティングした後、冷 PBS を最終量が 30 mL になるように加えた。遠心 (3000 rpm、2 分) した後、冷 PBS 30 mL で 2 回洗浄した。上清を除去して脾臓細胞サンプルを得た。得られた脾臓細胞サンプルは -80°C で保存した。

[0098] 100 μ L / チューブとなるように脾臓細胞サンプルを Buffer (20 mM HEPES (pH 7.4)、1 mM $MgCl_2$ 、1 mg / mL bacitracin、1 mg / mL BSA) で懸濁した。ついで Buffer 880 μ L、式 (11) で表されるポリペプチド又は式 (12) で表されるポリペプチドを含む溶液 (ポリペプチドの終濃度: 0、 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-12}$ M) 10 μ L、 $[^{125}I]$ Bolton-Hunter 標識 exendin (9-39) を含む溶液 ($[^{125}I]$ Bolton-Hunter 標識 exendin (9-39) (製品コード: NEX335、1.85 MBq / mL = 50 μ Ci / mL、22.73 pmol / mL = 76.57 ng / mL、Perkin Elmer 社製) 10 μ L に Buffer 90 μ L を添加したもの) 10 μ L を添加し、室温で 60 分インキュベーションした。なお、 $[^{125}I]$ Bolton-Hunter 標識 exendin (9-39) の終濃度は 0.05 μ Ci / チューブとした。ついで予め湿らせたガラス繊維フィルタ (Whatman GF / C filter) をセットした吸引装置を用い、吸引により B / F 分離した後、フィルタを氷冷の PBS 5 mL で 3 回洗浄した。フィルタをチューブに入れ、 γ カウンターにより放射能の測定を行った。

[0099] 式 (11) で表されるポリペプチド及び式 (12) で表されるポリペプチドはいずれも、GLP-1R と $[^{125}I]$ Bolton-Hunter 標識 exendin (9-39) との結合を濃度依存的に阻害した。式 (11) で表されるポリペプチドの IC_{50} は 32.1 nM であり、式 (12) で表されるポリペプチド

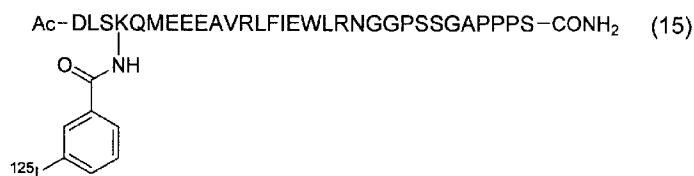
ドの IC_{50} は 23.6 nM であった。

[0100] (製造例 1)

式(15)で表されるポリペプチド(配列番号15)の合成

式(15)で表されるポリペプチドを以下の手順で調製した。

[0101] [化8]



[0102] まず、式(16)で表される保護ペプチド樹脂を合成した。保護ペプチド樹脂の合成は、第4位のリジンとして Fmoc-Lys(Boc) を使用した以外は、上記のコールド体の合成と同様の手順で行った。なお、式(16)において、Lys(Boc) 以外は側鎖の保護基の表記を省略した。

Ac-DLSK(Boc)QMEEEAVRLFIEWLRNGGPSSGAPPPS-Rink Amide MBHA (16) (配列番号16)

[0103] ついで、得られた保護ペプチド樹脂を、トリフルオロ酢酸を用いる定法の脱保護条件 (TFA-TIS-H₂O-DT (95/2.5/2.5/2.5, v/v)) で、室温で2時間処理して脱保護と樹脂からのペプチドの切り離しとを同時に行った。反応液から担体樹脂をろ別した後、TFAを留去し、残渣にエーテルを加えて得られる粗生成物の沈殿をろ取した。

[0104] 得られた粗生成ペプチドを、HPLC分取装置(商品名: LC-8A-2、島津製作所製、カラム: ODS30×250mm)を用いて0.1%トリフルオロ酢酸を含む水-アセトニトリルの系で分取精製し、目的のペプチドの分画を得た。ついで、アセトニトリルを留去した後、凍結乾燥粉末とし、式(17)で表される分子プローブ前駆体をトリフルオロ酢酸塩として得た。

Ac-DLSKQMEEEAVRLFIEWLRNGGPSSGAPPPS-CONH₂ (17) (配列番号17)

[0105] 式(17)で表される分子プローブ前駆体 (750 μg) を、アセトニトリル、Borate Buffer (pH 7.8) に溶解させ、それに [¹²⁵I]N-s

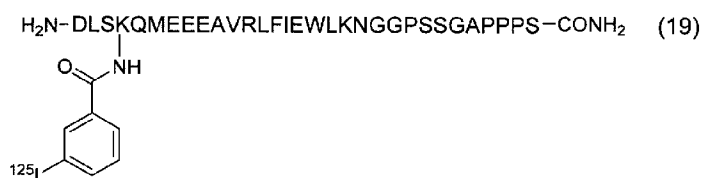
uccinimidyl3-iodobenzoate ($[^{125}\text{I}]\text{SIB}$)を加えた。反応溶液をpH 8.5～9.0に調整して30分間反応させることにより、4位のリジンの側鎖のアミノ基に $[^{125}\text{I}]$ 3-iodobenzoyl基 ($[^{125}\text{I}]\text{IB}$)を結合させて放射性標識し、目的物である式(15)で表されるポリペプチドを得た(放射化学的収率: 47.5%、放射化学的純度: >99%)。また、標識に要した時間は、3.5時間であった。標識化に要した時間とは、分子プローブ前駆体を標識化合物と反応させ、目的物である標識体(最終標品)を得るまでの時間である(以下同様)。本製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。仕込み時間とは、反応容器に標識化合物、分子プローブ前駆体、及びpH調整剤等の標識反応に用いる反応試剤を仕込むのに要する時間である(以下同様)。

[0106] (比較製造例1)

式(17)で表される分子プローブ前駆体に替えて、式(18)で表される分子プローブ前駆体を用い、 $[^{125}\text{I}]\text{SIB}$ との反応による放射性標識後、DMF及びピペリジンを加えることで脱保護反応を行った以外は、製造例1と同様に放射性標識を行い、式(19)で表されるポリペプチド(配列番号19)を調製した(放射化学的収率: 18.4%、放射化学的純度: 96.4%)。また、標識に要した時間は、5.5時間であった。本比較製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、脱保護反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。

Fmoc-DLSKQMEEEAVRLFIEWLK(Fmoc)NGGPSSGAPPPS-CONH₂ (18) (配列番号18)

[0107] [化9]



[0108] 製造例1及び比較製造例1に示すように、第19位のLysをArgに置

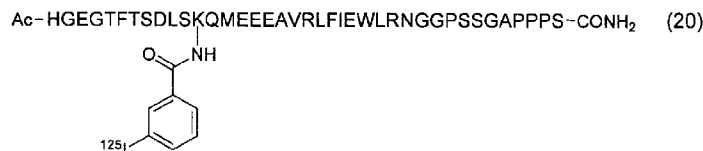
換した式(17)で表される分子プローブ前駆体を使用して放射性標識を行うことにより、該置換を行っていない式(18)で表される分子プローブ前駆体を使用した場合と比較して、放射性標識されたポリペプチドの収率が2.5倍以上向上するとともに、高純度の標品を得ることができた。また、標識に要する時間についても、短縮することができた。したがって、本発明の分子プローブ前駆体によれば、放射性標識されたポリペプチドを高純度で効率よく製造することができる。

[0109] (製造例2)

式(20)で表されるポリペプチド(配列番号20)の合成

式(20)で表されるポリペプチドを以下の手順で合成した。

[0110] [化10]



[0111] 式(20)で表されるポリペプチドは、式(17)で表される分子プローブ前駆体に替えて、式(21)で表される分子プローブ前駆体(820 μg)を用いた以外は、製造例1と同様の方法で調製した(放射化学的収率:37.0%、放射化学的純度:99%)。また、標識に要した時間は、2.5時間であった。本製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。

Ac-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLRNGGPSSGAPPPS-CONH₂ (21) (配列番号21)

[0112] (比較製造例2)

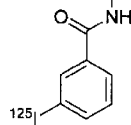
式(21)で表される分子プローブ前駆体に替えて、式(22)で表される分子プローブ前駆体を用い、[¹²⁵I]SIBとの反応による放射性標識後、DMF及びピペリジンを加えることで脱保護反応を行った以外は、製造例2と同様に放射性標識を行い、式(23)で表されるポリペプチド(配列番号23)を

調製した（放射化学的収率：18.4%、放射化学的純度：97.2%）。
また、標識に要した時間は、4.5時間であった。本比較製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、脱保護反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。

Fmoc-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLK(Fmoc)NGGPSSGAPPPS-CONH₂ (22) (配列番号22)

[0113] [化11]

H₂N-HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS-CONH₂ (23)



[0114] 製造例2及び比較製造例2に示すように、第27位のLysをArgに置換した式(21)で表される分子プローブ前駆体を使用して放射性標識を行うことにより、該置換を行っていない式(22)で表される分子プローブ前駆体を使用した場合と比較して、放射性標識されたポリペプチドの収率が2倍以上向上するとともに、高純度の標品を得ることができた。また、標識に要する時間についても短縮することができた。したがって、本発明の分子プローブ前駆体によれば、放射性標識されたポリペプチドを高純度で効率よく製造することができる。

[0115] (実施例1)

式(15)で表されるポリペプチド（以下、「実施例1のポリペプチド」ともいう）を用いてマウスの体内分布実験、及び二次元イメージング解析を行った。

[0116] [体内分布]

実施例1のポリペプチド（0.75 μCi）を無麻酔の6週齢ddYマウス（雄性、体重30g）に静脈注射（尾静脈）により投与した。投与5分後、15分後、30分後、60分後、120分後に各臓器を摘出した（n=5）。各臓器の重量と放射能とを測定し、単位重量あたりの放射能から集積量

(%dose/g) を算出した。その結果の一例を下記表 1 及び図 1 に示す。図 1 は、各臓器への実施例 1 のポリペプチドの集積の経時変化の一例を示すグラフである。また、下記表 2 に、実施例 1 のポリペプチドの各臓器への集積量に基づき、それらの脾/肝比（脾臓の集積量/肝臓の集積量）、脾/腎比（脾臓の集積量/腎臓の集積量）、及び脾/血比（脾臓の集積量/血液の集積量）を示す。

[0117] [表1]

(表1)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾臓	17.01 (4.04)	17.64 (2.77)	18.88 (4.15)	12.91 (4.03)	7.69 (0.97)
血液	8.04 (0.76)	6.05 (0.22)	4.80 (0.28)	3.45 (0.45)	1.95 (0.18)
心臓	4.10 (0.53)	2.94 (0.17)	2.33 (0.26)	1.78 (0.19)	0.98 (0.11)
肺	41.76 (11.22)	41.53 (4.39)	31.87 (3.57)	22.29 (5.78)	17.50 (6.19)
胃	2.88 (0.87)	2.82 (1.16)	6.31 (5.63)	10.54 (6.69)	6.64 (2.10)
腸	2.06 (0.45)	2.40 (0.37)	5.89 (6.03)	6.71 (1.83)	5.83 (1.14)
肝臓	33.51 (5.11)	23.19 (2.21)	17.73 (3.37)	14.09 (0.35)	8.79 (0.92)
脾臓	3.57 (0.43)	2.67 (0.27)	2.84 (1.10)	1.80 (0.18)	0.86 (0.12)
腎臓	18.32 (0.88)	16.68 (2.60)	15.98 (4.40)	12.26 (2.21)	7.39 (1.45)
甲状腺	3.44 (0.70)	2.33 (0.54)	2.40 (1.73)	1.71 (0.67)	1.30 (0.35)

各点は、5匹のマウスの平均値(SD)である。

[0118] [表2]

(表2)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾/肝比	0.51 (0.07)	0.76 (0.08)	1.06 (0.11)	0.92 (0.29)	0.88 (0.13)
脾/腎比	0.92 (0.18)	1.08 (0.24)	1.29 (0.51)	1.09 (0.43)	1.06 (0.18)
脾/血比	2.13 (0.51)	2.92 (0.49)	3.94 (0.92)	3.89 (1.59)	3.98 (0.72)

[0119] 表 1 及び図 1 に示すとおり、実施例 1 のポリペプチドの脾臓への集積は、

投与後早期に15%dose/gを超えるレベルに達し、投与後30分までの時間帯でそのレベルが維持された。また、実施例1のポリペプチドは、甲状腺への集積に大きな変化が見られなかったことから、生体内で実施例のポリペプチドが脱ヨウ素代謝を受けていないことが示唆された。

[0120] 表2に示すように、実施例1のポリペプチドは、脾/肝比が投与後30分の時間帯で1を超える値を示し、脾/腎比についてもすべての時間帯で略1又はそれを超える値を示した。

[0121] [2次元イメージング解析]

実施例1のポリペプチド(5 μ Ci/100 μ l)を無麻酔のMIP-GFPマウス(雄性、体重20g)に静脈注射により投与し、投与30分後及び60分後に脾臓を摘出した(n=1)。摘出した脾臓から切片を切り出し、切片をスライドガラス上に置き、その上にカバーガラスを載せた。切片の蛍光及び放射能(オートラジオグラフィー)は、画像解析装置(商品名:Typhoon 9410、GEヘルスケア社製)を用いて測定した(露光時間:18時間)。その結果の一例を図2のレーン1、4、及び5に示す。

[0122] また、標識していないexendin(9-39)(コールドプローブ、配列番号10)を無麻酔のMIP-GFPマウス(雄性、体重20g)に静脈注射により前投与した(50 μ g/100 μ l)。前投与から30分後に実施例1のポリペプチド(5 μ Ci/100 μ l)を静脈注射により投与し、上記ポリペプチドの投与から30分後及び60分後に脾臓を摘出した(n=2)。摘出した脾臓から切片を切り出し、得られた切片について、上記と同様にして蛍光及び放射能の測定を行った。その結果の一例を図2のレーン2、3、6及び7に示す。

[0123] 図2は、実施例1のポリペプチドを投与したMIP-GFPマウスの脾臓切片のイメージング解析の結果の一例であって、蛍光シグナルを示す画像(上図)及び式(15)で表されるポリペプチドの放射性シグナルを示す画像(下図)を示す。

[0124] 図2に示すように、MIP-GFPマウスの脾臓切片において、画像解析

装置によって蛍光GFPシグナル及び放射性シグナルがそれぞれ検出された。また、実施例1のポリペプチドの放射性シグナルの局在性は、GFPシグナルとほぼ一致していた。これらのことから、実施例1のポリペプチドが、膵β細胞に特異的に集積することが確認できた。また、コールドプローブを前投与して受容体をブロックすると、実施例1のポリペプチドの放射性シグナルはほとんど検出されなかった。したがって、実施例1のポリペプチドが、膵β細胞のGLP-1Rに特異的に集積していることが示唆された。

[0125] ここで、 ^{125}I 、 ^{123}I 及び ^{131}I はいずれもγ線放出核種である。さらに、 ^{125}I 及び ^{123}I は核スピン数も同一である。これらのことから、実施例1のポリペプチドの放射性ヨウ素原子を、 ^{123}I ヨウ素原子又は ^{131}I ヨウ素原子とした場合であっても、実施例1のポリペプチドとほぼ同様の挙動を示すことが推測される。また、 ^{124}I ヨウ素原子とした場合であっても、実施例1のポリペプチドとほぼ同様の挙動を示すと推測される。したがって、実施例1のポリペプチドにおいて ^{125}I ヨウ素原子を $^{123/124/131}\text{I}$ ヨウ素原子とすることにより、例えば、SPECTやPET等での膵β細胞のGLP-1Rの非侵襲の三次元イメージング、好ましくは膵β細胞のGLP-1Rの定量が可能なが示唆された。

[0126] (実施例2)

式(20)で表されるポリペプチド(以下、「実施例2のポリペプチド」ともいう)を用いてマウスの体内分布実験、及び二次元イメージング解析を行った。

[0127] [体内分布]

実施例2のポリペプチド($0.51\mu\text{Ci}$)を無麻酔の6週齢ddYマウス(雄性、体重30g)に静脈注射(尾静脈)により投与した。投与5分後、15分後、30分後、60分後、120分後に各臓器を摘出した($n=5$)。各臓器の重量と放射能とを測定し、単位重量あたりの放射能から集積量(%dose/g)を算出した。その結果の一例を下記表3及び図3に示す。図3は

、各臓器への実施例2のポリペプチドの集積の経時変化の一例を示すグラフである。また、下記表4に、実施例2のポリペプチドの各臓器への集積量に基づき、それらの脾/肝比、脾/腎比、脾/血比を示す。

[0128] [表3]

(表3)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾臓	22.60 (0.60)	30.19 (8.97)	26.20 (4.97)	23.15 (4.91)	8.58 (3.45)
血液	9.31 (0.93)	6.50 (0.55)	4.98 (0.40)	3.56 (0.72)	1.40 (0.20)
心臓	4.83 (0.66)	3.35 (0.44)	2.48 (0.12)	1.83 (0.28)	0.52 (0.31)
肺	80.97 (6.51)	61.95 (11.29)	49.18 (6.26)	53.77 (10.15)	23.51 (8.77)
胃	2.67 (0.56)	3.43 (1.55)	3.10 (0.50)	4.37 (0.70)	11.08 (10.71)
腸	2.46 (0.50)	2.71 (0.48)	3.02 (0.41)	3.47 (0.74)	6.20 (2.51)
肝臓	3.87 (0.17)	4.30 (0.35)	3.67 (0.61)	2.77 (0.68)	1.28 (0.17)
脾臓	3.71 (0.77)	3.24 (0.15)	2.17 (0.18)	1.66 (0.39)	0.96 (0.25)
腎臓	40.46 (6.49)	45.26 (5.76)	32.26 (6.36)	22.22 (2.89)	10.90 (2.94)
甲状腺	4.74 (0.86)	5.64 (0.91)	3.52 (0.31)	2.16 (0.19)	1.24 (0.49)

各点は、5匹のマウスの平均値(SD)である。

[0129] [表4]

(表4)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾/肝比	5.85 (0.22)	7.06 (2.17)	7.14 (0.80)	8.66 (2.51)	6.61 (2.16)
脾/腎比	0.57 (0.10)	0.69 (0.26)	0.84 (0.20)	1.05 (0.21)	0.79 (0.23)
脾/血比	2.44 (0.24)	4.73 (1.61)	5.23 (0.62)	6.70 (1.93)	6.01 (1.80)

[0130] 表3及び図3に示すとおり、実施例2のポリペプチドの脾臓への集積は、投与後早期に22%dose/gを超えるレベルに達し、それ以降も高いレベルで維持された。また、実施例2のポリペプチドは、甲状腺への集積に大きな変化が見られなかったことから、生体内で実施例2のポリペプチドが脱ヨウ素代謝を受けていないことが示唆された。

[0131] 表4に示すように、実施例2のポリペプチドは、脾/肝比が投与後早期に5

を越える値を示した。また、実施例2のポリペプチドの脾/血比が投与後早期で2を越える値を示し、良好な血液クリアランスを示した。このように脾臓への集積量が高い一方で、脾/肝比が高く、血液クリアランスに優れる実施例2のポリペプチドによれば、脾 β 細胞のイメージング、好ましくは脾 β 細胞のGLP1-Rのイメージングを行った際に、明瞭な画像が得られることが示唆された。

[0132] [2次元イメージング解析]

実施例2のポリペプチドを使用し、その投与量を $2.7 \mu\text{Ci} / 100 \mu\text{l}$ とし、露光時間を19時間とした以外は、実施例1と同様の手順で、蛍光及び放射能の測定を行った。その結果を図4に示す。

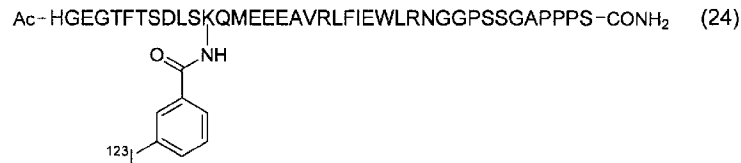
[0133] 図4は、実施例2のポリペプチドを投与したMIP-GFPマウスの脾臓切片のイメージング解析の結果の一例であって、蛍光シグナルを示す画像（上図）及び式(20)で表されるポリペプチドの放射性シグナルを示す画像（下図）を示す。図4において、レーン1～4はポリペプチドの投与から30分後に摘出したマウス、レーン5～8はポリペプチドの投与から60分後に摘出したマウス、レーン1、2、5及び6はコールドプローブを前投与しなかったマウス、レーン3、4、7及び8はコールドプローブを前投与したマウスの結果をそれぞれ示す。

[0134] 図4に示すように、MIP-GFPマウスの脾臓切片において、画像解析装置によって蛍光GFPシグナル及び放射性シグナルがそれぞれ検出された。また、実施例2のポリペプチドの放射性シグナルの局在性は、GFPシグナルとほぼ一致していた。これらのことから、実施例2のポリペプチドが、脾 β 細胞に特異的に集積することが確認できた。また、コールドプローブを前投与して受容体をブロックすると、実施例2のポリペプチドの放射性シグナルはほとんど検出されなかった。したがって、実施例2のポリペプチドが、脾 β 細胞のGLP-1Rに特異的に集積していることが示唆された。

[0135] (実施例3)

式(24)で表されるポリペプチド(配列番号24)を用いてSPECTによる三次元イメージングを行った。

[0136] [化12]



[0137] [ポリペプチドの調製]

式(24)で表されるポリペプチドは、[¹²⁵I]SIBに替えて[¹²³I]SIBを用いた以外は、製造例2と同様の手順で調製した。

[0138] [三次元イメージング]

式(24)で表されるポリペプチド(480 μCi (17.8 MBq))を6週齢 ddY マウス(雄性、体重約30 g)に静脈注射により投与し、ポリペプチドの投与後15分からインフルラン吸入麻酔を開始した。ついで、ポリペプチドの投与後21分からSPECT撮像を行った。SPECT撮像は、ガンマカメラ(製品名:SPECT2000H-40、日立メディコ製)を用いて下記の撮像条件で行った。得られた画像を下記の再構成条件で再構成処理を行った。

撮像条件

コリメータ : LEPH コリメータ
 収集範囲 : 360°
 ステップ角度 : 11.25°
 収集時間 : 1方向あたりの収集時間60秒
 60秒ごと1フレーム×32フレーム(計32分間)

再構成条件

前処理フィルタ: Butterworthフィルタ (order: 10、cutoff周波数: 0.15)

[0139] その結果の一例を図5に示す。図5に示す画像は、ポリペプチドの投与後

21～53分の画像であって、左から順に横断像 (transverse view)、冠状断像 (coronal view)、及び矢状断像 (sagittal view) であり、coronal viewにおいて白線で囲んだ位置が膵臓の位置を示す。

[0140] 図5に示すように、式(24)で表されるポリペプチドを用いたSPECT撮像により、マウスにおいて非侵襲的に膵臓の位置を確認することができた。このように、ヒトよりも膵臓のサイズが小さくかつ臓器が密集しているマウスにおいて、膵臓の位置を非侵襲的に確認できたことから、マウスよりも膵臓のサイズが大きくかつ臓器が密集していないヒトであれば、膵臓の位置及びサイズをより明確に判別することができ、さらには膵β細胞のGLP-1Rに結合するポリペプチドの量を測定できることが示唆された。

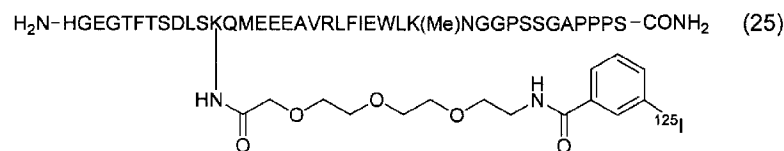
[0141] 以上の結果より、本発明のポリペプチドであれば、ヒトにおいて非侵襲的な膵島の三次元イメージングが可能であることが示唆された。したがって、本発明のポリペプチドを用いて膵β細胞のGLP-1Rを非侵襲的に三次元イメージングすることによりヒトの膵β細胞量 (又は膵島量) を定量することが可能であることが示唆された。

[0142] (製造例3)

式(25)で表されるポリペプチド (配列番号25) の合成

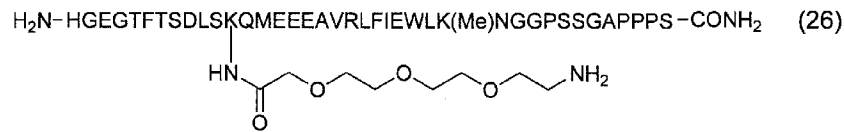
以下に示すように、式(25)で表されるポリペプチドを調製した。

[0143] [化13]



[0144] まず、第12位のリジンとしてFmoc-Lys (Boc-PEG3) を使用し、第27位のモノメチルリジンとしてFmoc-Lys (Me) を使用し、N末端のHisのα-アミノ基をアセチル化しない以外は、製造例1と同様の手順で、式(26)で表される分子プローブ前駆体を調製した。

[化14]



[0145] ついで、式(21)で表される分子プローブ前駆体に替えて、式(26)で表される分子プローブ前駆体(700 μ g)を用いた以外は、製造例1と同様の方法で、式(25)で表されるポリペプチドを調製した(放射化学的収率: 33.9%、放射化学的純度:>99%)。また、標識に要した時間は、2時間であった。本製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。

[0146] (実施例4)

式(25)で表されるポリペプチド(以下、「実施例4のポリペプチド」ともいう)を用いてマウスの体内分布実験を行った。

[0147] [体内分布]

実施例1のポリペプチドに替えて、実施例4のポリペプチド(0.61 μ Ci)を用いた以外は実施例1と同様の手順で行った。その結果の一例を下記表5及び図6に示す。図6は、各臓器への実施例4のポリペプチドの集積の経時変化の一例を示すグラフである。また、下記表6に、実施例4のポリペプチドの各臓器への集積量に基づき、それらの脾/肝比、脾/腎比、及び脾/血比を示す。

[0148]

[表5]

(表5)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾臓	22.79 (3.91)	32.91 (5.99)	34.05 (5.38)	29.72 (4.15)	20.03 (2.45)
血液	5.33 (0.89)	2.30 (0.31)	1.43 (0.24)	0.79 (0.16)	0.42 (0.04)
心臓	2.87 (0.18)	1.79 (0.20)	1.21 (0.44)	1.07 (0.35)	0.79 (0.30)
肺	92.87 (14.88)	113.25 (30.76)	115.42 (28.22)	100.08 (22.69)	78.90 (14.93)
胃	2.72 (0.66)	3.38 (0.71)	3.55 (0.66)	2.77 (0.74)	2.69 (0.54)
小腸	3.32 (0.62)	4.47 (0.74)	6.82 (1.18)	12.28 (1.20)	19.80 (3.90)
大腸	1.32 (0.21)	1.16 (0.42)	1.09 (0.16)	1.10 (0.13)	3.25 (2.63)
肝臓	2.30 (0.39)	3.78 (0.55)	5.08 (0.43)	5.06 (0.29)	3.02 (0.41)
脾臓	2.27 (0.45)	3.85 (5.31)	1.24 (0.32)	1.11 (0.59)	0.53 (0.13)
腎臓	55.86 (7.13)	76.75 (7.51)	66.27 (5.10)	42.58 (9.14)	15.98 (2.45)
甲状腺	18.31 (13.42)	12.28 (3.20)	11.22 (4.92)	12.38 (7.66)	15.98 (6.80)
胆嚢	0.66 (0.61)	12.49 (20.01)	30.75 (19.19)	71.96 (25.22)	117.23 (28.32)
脳	0.18 (0.06)	0.08 (0.01)	0.06 (0.02)	0.04 (0.01)	0.03 (0.00)

各点は、5匹のマウスの平均値(SD)である。

[0149] [表6]

(表6)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾/肝比	10.34 (3.49)	8.70 (0.73)	6.74 (1.20)	5.89 (0.83)	6.66 (0.40)
脾/腎比	0.41 (0.09)	0.43 (0.08)	0.51 (0.07)	0.72 (0.14)	1.27 (0.23)
脾/血比	4.42 (1.31)	14.39 (2.17)	24.63 (6.75)	38.38 (7.32)	47.83 (5.72)

[0150] 表5及び図6に示すとおり、実施例4のポリペプチドは、投与後早期に20%dose/gを超えるレベルに達し、すべての時間帯でそのレベルが維持された。また、実施例4のポリペプチドは、甲状腺への集積に大きな変化が見られなかったことから、生体内で実施例のポリペプチドが脱ヨウ素代謝を受けていないことが示唆された。

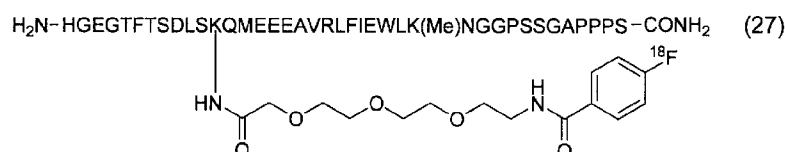
[0151] 表6に示すように、実施例4のポリペプチドは、脾/肝比が投与後早期に5

を越える値を示した。また、実施例 4 のポリペプチドの脾/血比が投与後早期で 4 を越える値を示し、良好な血液クリアランスを示した。このように脾臓への集積量が高い一方で、脾/肝比が高く、血液クリアランスに優れる実施例 4 のポリペプチドによれば、脾β細胞のイメージング、好ましくは脾β細胞の GLP 1-R のイメージングを行った際に、明瞭な画像が得られることが示唆された。

[0152] (製造例 4)

式(27)で表されるポリペプチド(配列番号27)の合成

[化15]



[0153] 式(26)で表される分子プローブ前駆体(510 μg)を用い、 ^{125}I SIBに替えて ^{18}F SFBを使用した以外は、製造例3と同様の方法で、式(27)で表されるポリペプチドを調製した(放射化学的収率: 7.3%)。また、標識に要した時間は、80分であった。本製造例において標識化に要した時間とは、仕込み時間、標識化合物との反応時間、LC精製時間及び濃縮時間を含む。

[0154] (実施例 5)

式(27)で表されるポリペプチド(以下、「実施例5のポリペプチド」ともいう)を用いてマウスの体内分布実験を行った。

[0155] [体内分布]

実施例1のポリペプチドに替えて、実施例5のポリペプチド(4.2 μCi)を用いた以外は実施例1と同様の手順で行った。その結果の一例を下記表7及び図7に示す。図7は、各臓器への実施例5のポリペプチドの集積の経時変化の一例を示すグラフである。また、下記表8に、実施例5のポリペプチドの各臓器への集積量に基づき、それらの脾/肝比、脾/腎比、及び脾/血

比を示す。

[0156] [表7]

(表7)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾臓	15.88 (3.05)	22.63 (5.21)	30.18 (5.60)	24.00 (3.14)	19.17 (2.10)
血液	3.93 (0.46)	1.90 (0.10)	1.10 (0.17)	0.63 (0.03)	0.33 (0.06)
心臓	2.27 (0.31)	1.28 (0.12)	0.99 (0.21)	0.69 (0.19)	0.33 (0.06)
肺	49.35 (18.15)	51.93 (16.72)	56.07 (14.89)	46.80 (8.43)	27.65 (8.43)
胃	2.25 (0.37)	2.86 (0.69)	3.79 (0.62)	3.50 (0.63)	3.42 (0.73)
小腸	2.92 (0.40)	2.44 (0.21)	3.35 (0.58)	4.20 (0.38)	7.42 (2.88)
大腸	1.23 (0.24)	0.91 (0.10)	0.89 (0.16)	0.77 (0.13)	0.77 (0.21)
肝臓	1.67 (0.36)	1.93 (0.32)	3.09 (0.51)	3.08 (0.61)	2.15 (0.86)
脾臓	1.39 (0.28)	1.04 (0.23)	0.81 (0.17)	0.43 (0.15)	0.34 (0.14)
腎臓	86.48 (7.56)	118.89 (9.08)	129.29 (9.98)	86.83 (8.42)	50.42 (16.34)
骨	1.22 (0.12)	0.66 (0.14)	0.44 (0.09)	0.23 (0.13)	0.02 (0.05)
胆嚢	0.38 (0.26)	1.20 (0.89)	4.27 (2.30)	13.85 (6.17)	30.24 (6.20)
脳	0.17 (0.02)	0.08 (0.01)	0.06 (0.01)	0.05 (0.03)	0.27 (0.45)

各点は、5匹のマウスの平均値(SD)である。

[0157] [表8]

(表8)	投与後の時間				
	5min	15min	30min	60min	120min
脾/肝比	9.95 (2.84)	11.80 (2.36)	9.85 (1.72)	8.05 (2.01)	10.27 (4.62)
脾/腎比	0.19 (0.04)	0.19 (0.05)	0.23 (0.03)	0.28 (0.05)	0.43 (0.21)
脾/血比	4.12 (1.05)	11.99 (3.13)	27.37 (2.53)	38.07 (5.17)	60.91 (15.01)

[0158] 表7及び図7に示すとおり、実施例5のポリペプチドは、投与後早期に15%dose/gを超えるレベルに達し、すべての時間帯でそのレベルが維持された。また、実施例5のポリペプチドは、骨への集積に大きな変化が見られなかったことから、生体内で実施例のポリペプチドが脱フッ素代謝を受けていないことが示唆された。

[0159] 表8に示すように、実施例5のポリペプチドは、脾/肝比が投与後早期に9

を越える値を示した。また、実施例5のポリペプチドの膵/血比が投与後早期で4を越える値を示し、良好な血液クリアランスを示した。このように膵臓への集積量が高い一方で、膵/肝比が高く、血液クリアランスに優れる実施例5のポリペプチドによれば、膵 β 細胞のPETイメージング、好ましくは膵 β 細胞のGLP1-RのPETイメージングを行った際に、明瞭な画像が得られることが示唆された。

産業上の利用可能性

[0160] 以上説明した通り、本発明は、例えば、医療分野、分子イメージング分野、糖尿病に関する分野などで有用である。

配列表フリーテキスト

[0161] 配列番号1：本発明の分子プローブ前駆体のアミノ酸配列の一例

配列番号2： Y_1 のアミノ酸配列

配列番号3： Y_2 のアミノ酸配列

配列番号4～5：本発明の分子プローブ前駆体のアミノ酸配列の一例

配列番号6～8：本発明のポリペプチドのアミノ酸配列の一例

配列番号9：exendin-4のアミノ酸配列

配列番号10：exendin(9-39)のアミノ酸配列

配列番号11～12：Binding Assayに使用したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号13～14：Binding Assayに使用したポリペプチドの作製に使用した保護ペプチド樹脂のアミノ酸配列

配列番号15：製造例1で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号16：製造例1で製造した保護ペプチド樹脂のアミノ酸配列

配列番号17：製造例1で製造した分子プローブ前駆体のアミノ酸配列

配列番号18：比較製造例1で使用した分子プローブ前駆体のアミノ酸配列

配列番号19：比較製造例1で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号20：製造例2で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号21：製造例2で製造した分子プローブ前駆体のアミノ酸配列

配列番号 22 : 比較製造例 2 で使用した分子プローブ前駆体のアミノ酸配列

配列番号 23 : 比較製造例 2 で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 24 : 実施例 3 で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 25 : 製造例 3 で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 26 : 製造例 3 で製造した分子プローブ前駆体のアミノ酸配列

配列番号 27 : 製造例 4 で製造したポリペプチドのアミノ酸配列

請求の範囲

[請求項1]

放射性標識されたポリペプチドを製造する方法であって、
分子プローブ前駆体を、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物を用いて標識することを含み、

前記分子プローブ前駆体は、式(1)のアミノ酸配列で表され、C末端のカルボキシル基はアミド化されている、ポリペプチドの製造方法。

Y_1 -Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (配列番号1)

前記式(1)において、

Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号2)

Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示し、

Xaa₂₇は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、

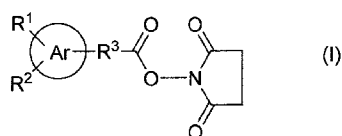
Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す。

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号3)

[請求項2]

前記標識化合物は、式(I)で表される化合物である、請求項1記載の製造方法。

[化1]



式 (I) において、 A_r は、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環基を示し、 R^1 は、放射性核種を含む置換基を示し、 R^2 は、水素原子、又は、 R^1 とは異なる 1 又は複数の置換基を示し、 R^3 は、結合手、 C_1-C_6 アルキレン基及び C_1-C_6 オキシアルキレン基のいずれかを示す。

[請求項3] 前記式 (1) において、 Xaa_{27} は、アルギニン、モノメチルリジン、ジメチルリジン、モノアセチル化リジン、ノルアルギニン、ホモアルギニン、及びヒスチジンからなる群から選択されるいずれかを示す、請求項 1 又は 2 に記載の製造方法。

[請求項4] 前記分子プローブ前駆体は、式 (4) 又は (5) のアミノ酸配列で表される、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の製造方法。

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser- Xaa_{12} -Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu- Xaa_{27} -Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (4) (配列番号 4)

Asp-Leu-Ser- Xaa_{12} -Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu- Xaa_{27} -Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (5) (配列番号 5)

前記式 (4) 及び (5) において、 Xaa_{12} は、リジン又はリジン誘導体を示し、 Xaa_{27} は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示す。

[請求項5] 式 (6) のアミノ酸配列で表されるポリペプチドであって、
 Y_1 -Leu-Ser- Xbb_{12} -Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu- Xaa_{27} -Asn-Gly- Y_2 (6) (配列番号 6)

該ポリペプチドの C 末端のカルボキシル基はアミド化されている、ポリペプチド。

前記式 (6) において、

Y_1 は、式 (2) で表されるアミノ酸配列、又は式 (2) で表されるアミノ酸配列において N 末端側から 1 ～ 8 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸

配列を示し、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号 2)

Xbb₁₂は、放射性標識されたリジン又はリジン誘導体を示し、

Xaa₂₇は、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物が反応する官能基を側鎖に有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、

Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す。

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号 3)

[請求項6] 前記ポリペプチドは、式(7)又は(8)のアミノ酸配列で表される、請求項5記載のポリペプチド。

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (7) (配列番号 7)

Asp-Leu-Ser-Xbb₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (8) (配列番号 8)

前記式(7)及び(8)において、Xbb₁₂は、放射性標識されたリジン又はリジン誘導体を示し、Xaa₂₇は、側鎖に前記標識化合物が反応する官能基を有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示す。

[請求項7] 請求項1から4のいずれかに記載の製造方法により得られる、請求項5又は6に記載のポリペプチド。

[請求項8] 請求項1から4のいずれかに記載の製造方法に用いる分子プローブ前駆体であって、

式(1)のアミノ酸配列で表され、

Y₁-Leu-Ser-Xaa₁₂-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Xaa₂₇-Asn-Gly-Y₂ (1) (配列番号 1)

該分子プローブ前駆体のC末端のカルボキシル基はアミド化されている、分子プローブ前駆体。

前記式(1)において、

Y₁は、式(2)で表されるアミノ酸配列、又は式(2)で表されるアミノ酸配列においてN末端側から1～8個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示し、

His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp (2) (配列番号 2)

Xaa₁₂は、リジン又はリジン誘導体を示し、

Xaa₂₇は、リジン又はリジン誘導体のアミノ基を標識可能な標識化合物が反応する官能基を側鎖に有さない塩基性アミノ酸、メチルリジン、又はアセチル化リジンを示し、

Y₂は、式(3)で表されるアミノ酸配列、又は式(3)で表されるアミノ酸配列においてC末端側から1～9個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を示す。

Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser (3) (配列番号 3)

[請求項9] 請求項5から7のいずれかに記載のポリペプチド、又は請求項8記載の分子プローブ前駆体を含む、イメージング用組成物。

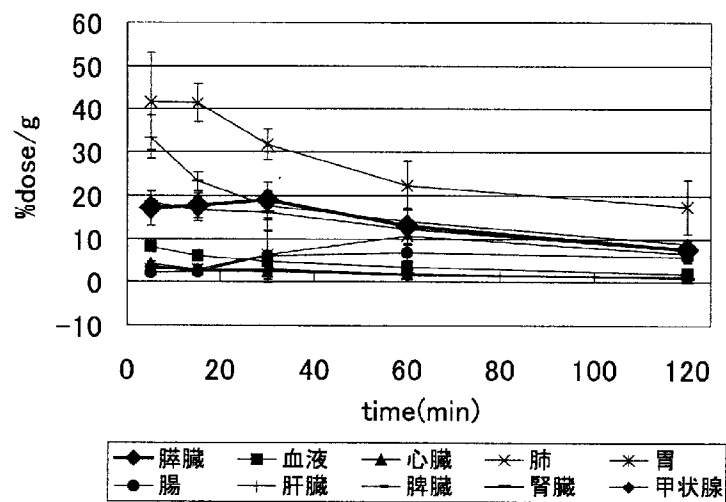
[請求項10] 請求項5から7のいずれかに記載のポリペプチド、及び／又は請求項8記載の分子プローブ前駆体を含む、キット。

[請求項11] 膵β細胞をイメージングするための方法であって、請求項5から7のいずれかに記載のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出することを含む、イメージング方法。

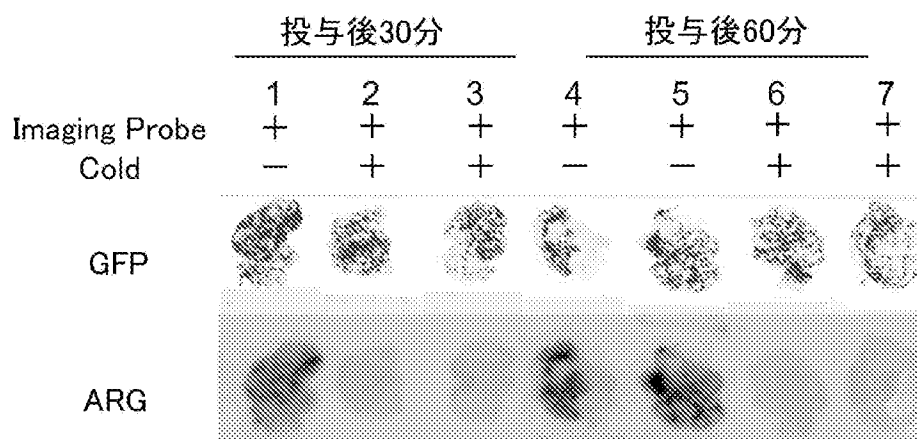
[請求項12] 前記検出されたシグナルを再構成処理して画像に変換し表示することを含む、請求項11記載のイメージング方法。

- [請求項13] 請求項5から7のいずれかに記載のポリペプチドを投与された被検体から前記ポリペプチドの放射性シグナルを検出すること、及び、検出したポリペプチドのシグナルから腓島量を算出することを含む、腓島量の測定方法。
- [請求項14] 算出した腓島量を提示することを含む、請求項13記載の腓島量の測定方法。

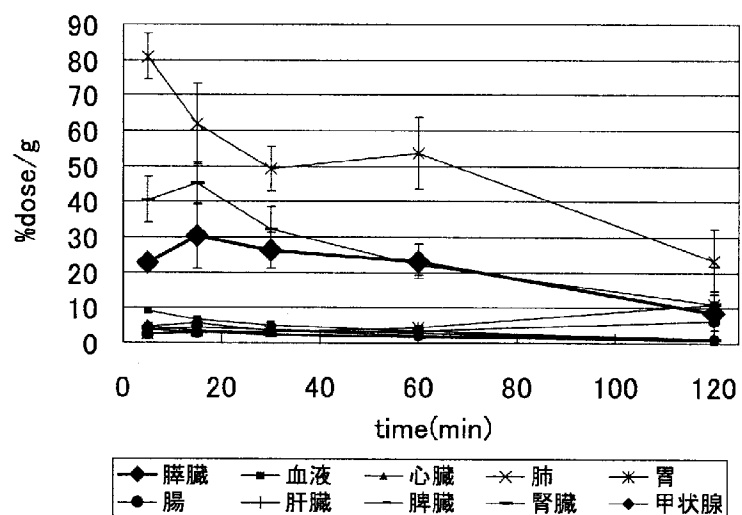
[図1]



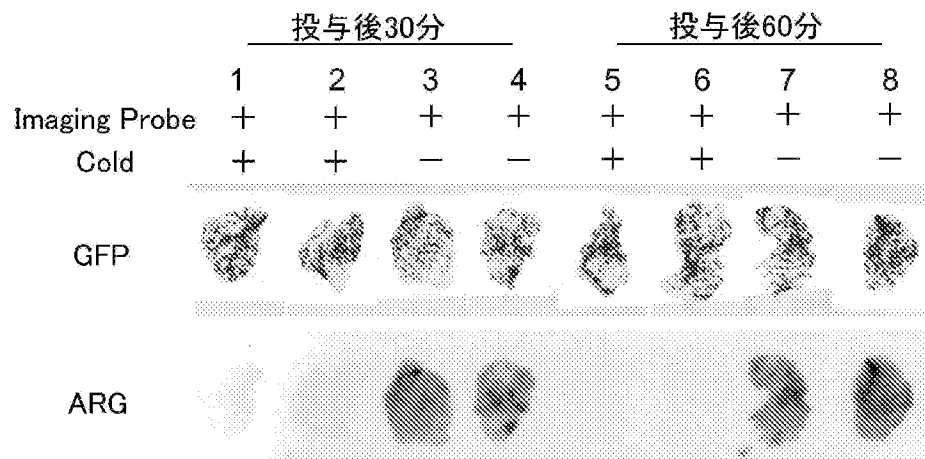
[図2]



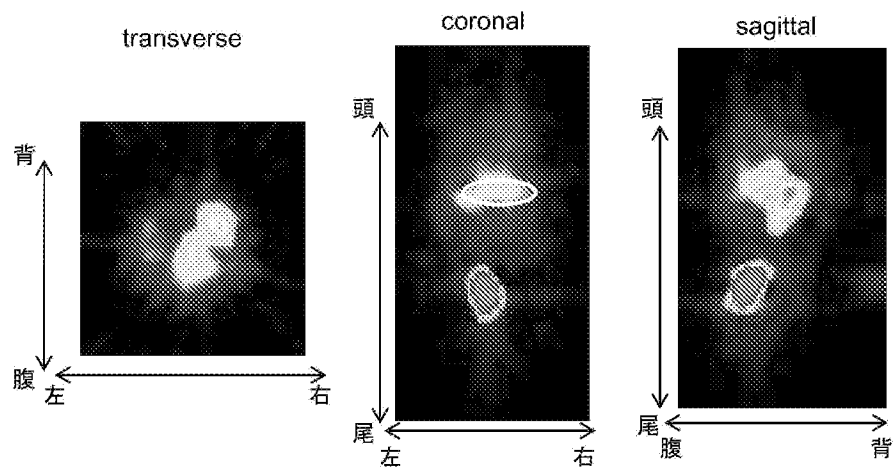
[図3]



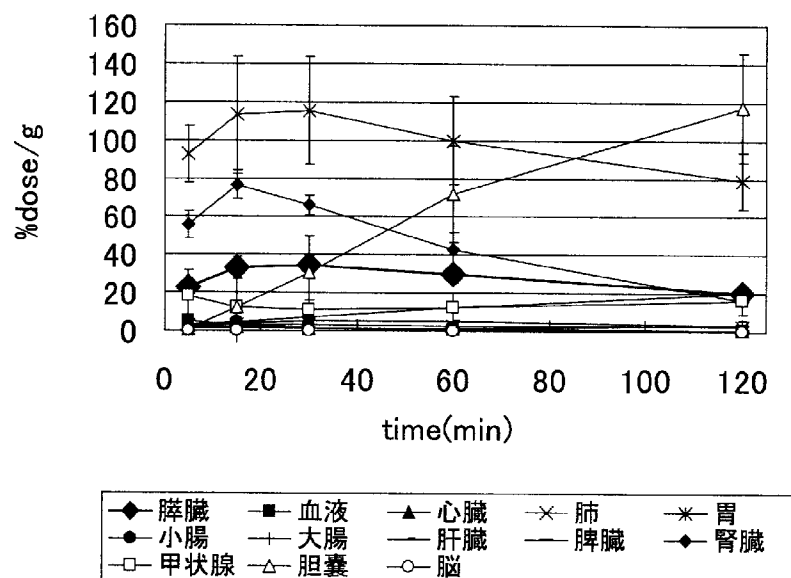
[図4]

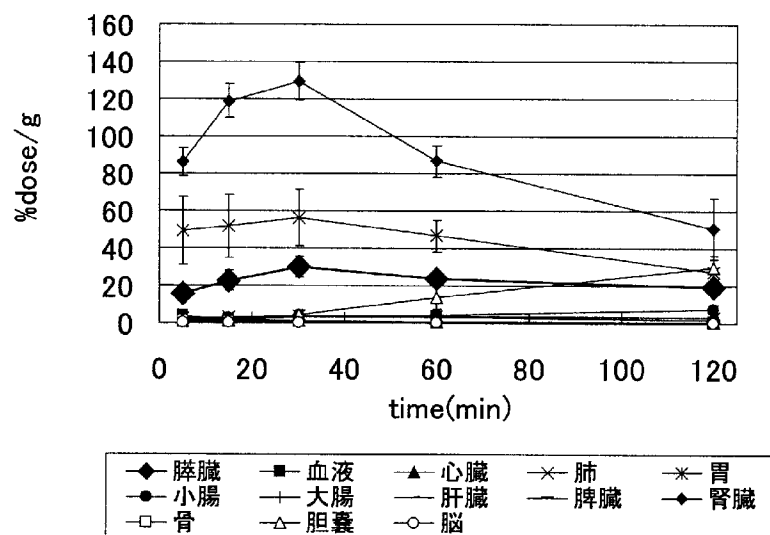


[図5]



[図6]





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/052895

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K1/13(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61K51/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, C07K14/575(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K1/13, A61K38/00, A61K51/00, A61P3/10, C07K14/575

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN),
REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2008/023050 A1 (NOVO NORDISK A/S), 28 February 2008 (28.02.2008), examples 41, 43, 44 & US 2009/0318353 A1 & EP 2057189 A	1-14
Y	Arkray, Inc., "Akusei Shuyo To Chiryo Shien Bunshi Imaging Kiki ni Kansuru Sento Kenkyu / Hi Shinshuteki Seitai Suito Imaging ni yoru Tonyobyō", New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) Seika Hokokusho, 19 September 2008 (19.09.2008), pages 1 to 6, Internet <URL: https://app5.infoc.nedo.go.jp/ disclosure/SearchResultDetail >	1-14



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
20 April, 2012 (20.04.12)

Date of mailing of the international search report
01 May, 2012 (01.05.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/052895

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/032509 A1 (Kyoto University), 25 March 2010 (25.03.2010), & JP 4642920 B & JP 2011-88895 A & EP 2335739 A1 & WO 2010/032833 A1 & CN 102159252 A & KR 10-2011-0043766 A	1-14
A	Yu OGAWA et al., "GLP-1 Juyotai o Hyoteki to suru Hoshasei Yoso Hyoshiki Imaging Probe no Kaihatsu", Japanese Journal of Nuclear Medicine, 30 September 2010 (30.09.2010), vol.47, no.3, page S276	1-14
A	Hiroyuki KIMURA et al., "Tonyobyo Cho Soki Shindan o Mezashita Suito GLP-1 Juyotai Imaging-zai no Kaihatsu", Abstracts of Symposium on Medicinal Chemistry, 10 November 2009 (10.11.2009), vol.28, pages 244 to 245	1-14
A	Hidero SAJI, "Tonyobyo Kanren Kekkanbyo (Domyaku Koka, Sokubyohen) no Soki Shindan Chiryo no Tamen Kokando Bunshi Imaging Probe no Kaihatsu", Research of New Medical Devices, 25 March 2010 (25.03.2010), vol.15, pages 70 to 71	1-14
A	Hiroyuki KIMURA et al., "Suito GLP-1 Juyotai Imaging o Mokuteki to shita Exendin Yudotai no Gosei to Hyoka", Abstracts of Symposium on Medicinal Chemistry, 18 October 2010 (18.10. 2010), vol.29, pages 70 to 71	1-14
A	WO 2009/035540 A2 (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES S.A.S.), 19 March 2009 (19.03.2009), & JP 2010-538069 A & US 2010/0256056 A1 & EP 2200626 A	1-14
A	Hidekazu KAWASHIMA, "Hi Shinshuteki Seitai Suito Imaging-yo Probe no in vitro, ex vivo Hyoka -18F Hyoshiki Exendin (9-39) ni Okeru Kento-", Hi Shinshuteki Seitai Suito Imaging ni yoru Tonyobyo no Cho Soki Shindanho no Kaihatsu ni Kansuru Kenkyu, Heisei 19-21 Nendo Sokatsu Buntan Kenkyu Hokokusho, 2010.04, pages 14 to 15	1-14
P,A	WO 2011/71083 A1 (Kyoto University), 16 June 2011 (16.06.2011), & US 2011/0206605 A1	1-14

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C07K1/13(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61K51/00(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, C07K14/575(2006.01)i

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 (I P C))

Int.Cl. C07K1/13, A61K38/00, A61K51/00, A61P3/10, C07K14/575

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII), CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), 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
Y	WO 2008/023050 A1 (NOVO NORDISK A/S) 2008.02.28, Example 41, 43, 44 & US 2009/0318353 A1 & EP 2057189 A	1-14
Y	アークレイ株式会社, 「悪性腫瘍等治療支援分子イメージング機器に関する先導研究/非侵襲的生体臓器イメージングによる糖尿病, 独立行政法人新エネルギー産業技術総合開発機構成果報告書, 2008.09.19, P.1-6, インターネット<URL: https://app5.infoc.nedo.go.jp/disclosure/SearchResultDetail >	1-14

☒ 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矛盾するものではなく、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

2 0 . 0 4 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

0 1 . 0 5 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

濱田 光浩

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8

4 B

3 7 6 3

C (続き) . 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
A	WO 2010/032509 A1 (国立大学法人京都大学) 2010.03.25, & JP 4642920 B & JP 2011-88895 A & EP 2335739 A1 & WO 2010/032833 A1 & CN 102159252 A & KR 10-2011-0043766 A	1-14
A	小川祐他, GLP-1 受容体を標的とする放射性ヨウ素標識イメージングプローブの開発, 核医学, 2010.09.30, Vol.47 No.3, Page.S276	1-14
A	木村寛之他, 糖尿病超早期診断を目指した膵島GLP-1受容体イメージング剤の開発, メディシナルケミストリーシンポジウム講演要旨集, 2009.11.10, Vol.28, Page.244-245	1-14
A	佐治英郎, 糖尿病関連血管病(動脈硬化・足病変)の早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発, 新しい医療機器研究, 2010.03.25, Vol.15, Page.70-71	1-14
A	木村寛之他, 膵島 GLP-1 受容体イメージングを目的とした Exendin 誘導体の合成と評価, メディシナルケミストリーシンポジウム講演要旨集, 2010.10.18, Vol. 29, Page.70-71	1-14
A	WO 2009/035540 A2 (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES S.A.S.) 2009.03.19, & JP 2010-538069 A & US 2010/0256056 A1 & EP 2200626 A	1-14
A	河嶋秀和, 非侵襲的生体膵島イメージング用プローブの in vitro, ex vivo 評価-18F 標識 Exendin (9-39)における検討-, 非侵襲的生体膵島イメージングによる糖尿病の超早期診断法の開発に関する研究 平成 19-21 年度 総括・分担研究報告書, 2010.04, Page.14-15	1-14
P. A	WO 2011/71083 A1 (国立大学法人京都大学) 2011.06.16, & US 2011/0206605 A1	1-14