

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7651785号
(P7651785)

(45)発行日 令和7年3月27日(2025.3.27)

(24)登録日 令和7年3月18日(2025.3.18)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 D 401/14 (2006.01)	C 0 7 D 401/14		C S P
A 6 1 K 51/04 (2006.01)	A 6 1 K 51/04	1 0 0	
	A 6 1 K 51/04	2 0 0	

請求項の数 8 (全38頁)

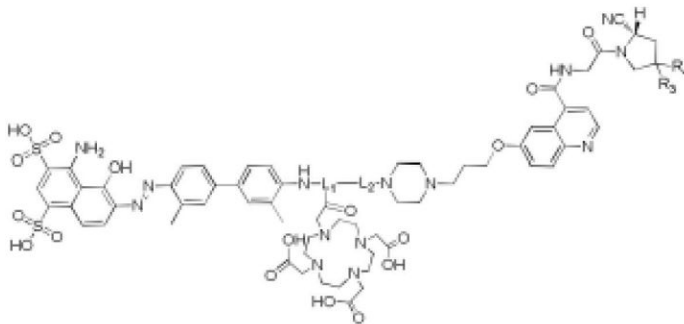
(21)出願番号	特願2023-531665(P2023-531665)	(73)特許権者	523192875 烟台藍納成生物技术股 ぶん 有限公司 YANTAI LANNACHENG B IOTECHNOLOGY CO., L T D . 中国山東省烟台市牟平区濱海東路500 号52号楼101号 Room 101, Building 52, No. 500 Binhai E ast Road, Muping Di strict Yantai, Shan dong 264199, China
(86)(22)出願日	令和3年7月11日(2021.7.11)	(74)代理人	110002262 T R Y国際弁理士法人
(65)公表番号	特表2023-545213(P2023-545213 A)	(72)発明者	陳 小元
(43)公表日	令和5年10月26日(2023.10.26)		
(86)国際出願番号	PCT/CN2021/105637		
(87)国際公開番号	WO2022/170732		
(87)国際公開日	令和4年8月18日(2022.8.18)		
審査請求日	令和5年5月23日(2023.5.23)		
(31)優先権主張番号	202110753794.9		
(32)優先日	令和3年7月3日(2021.7.3)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		
(31)優先権主張番号	202110182478.0		
(32)優先日	令和3年2月10日(2021.2.10)		
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤及びその調製方法と応用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤化合物又はその薬学的に許容される塩であって、その分子構造は、連結基が切断型エバンスブルー、線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤及び核種キレート基を共に連結することによって形成され、その構造は以下の式(II)に示すとおりであり、



式(II)

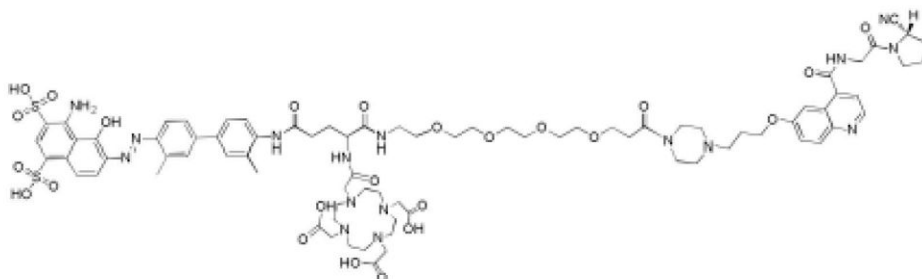
ここで、R₃とR₄は両方ともH又はFであり、L₁はグルタミン酸又はリジン構造であり、L₁はグルタミン酸構造である場合、L₂は-(CH₂)₀-、-NH-CH₂-(C

O) -、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-、

L₁ はリジン構造である場合、L₂ は-(CO)-CH₂-(CO)-、-(CO)-(CH₂)₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-又は-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-である、ことを特徴とする化合物。

【請求項 2】

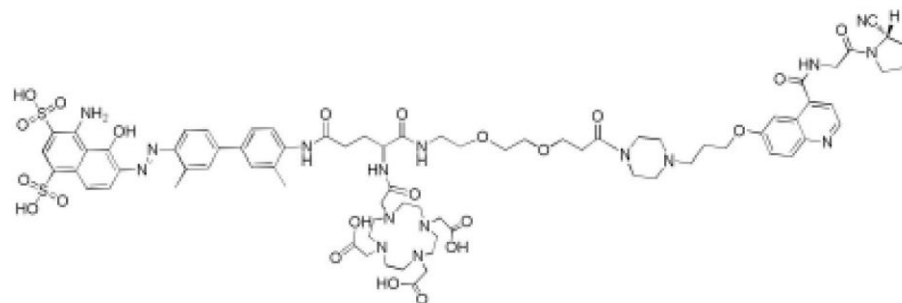
前記化合物の構造が、以下の式(II-1)~式(II-16)のいずれかである、ことを特徴とする請求項 1 に記載の化合物。



10

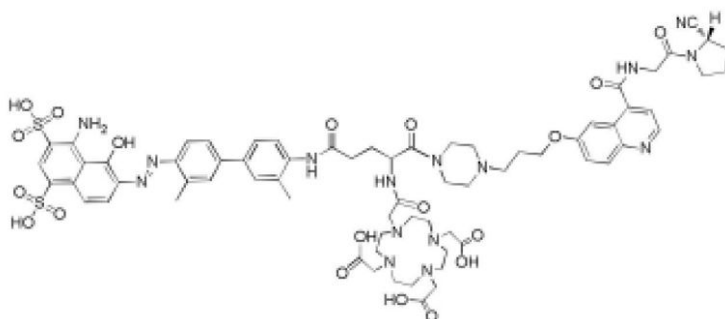
式(II-1)

20



30

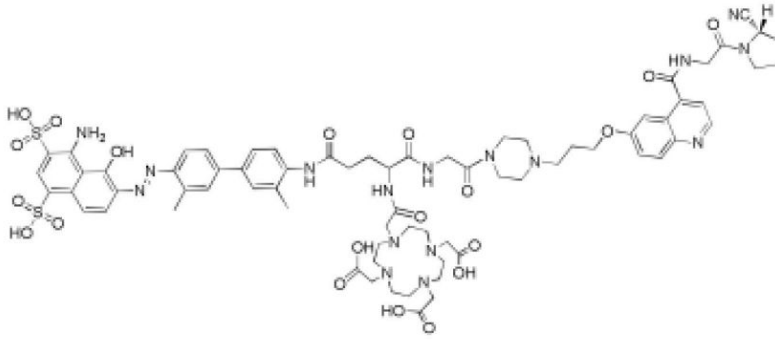
式(II-2)



40

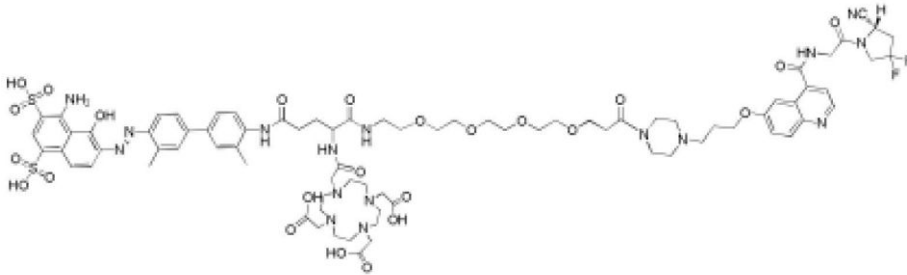
式(II-3)

50



10

式 (I I - 4)



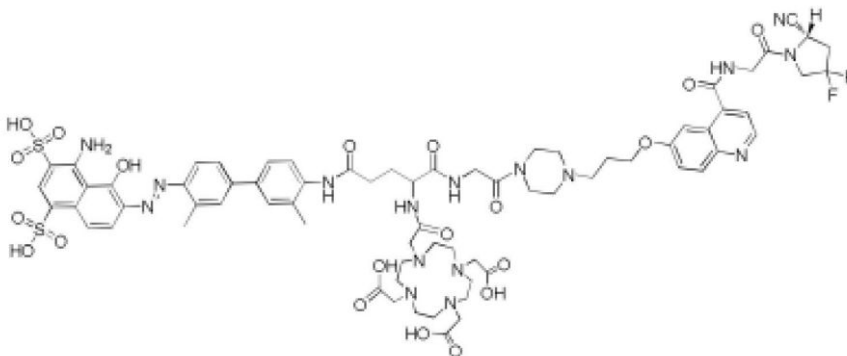
20

式 (I I - 5)



30

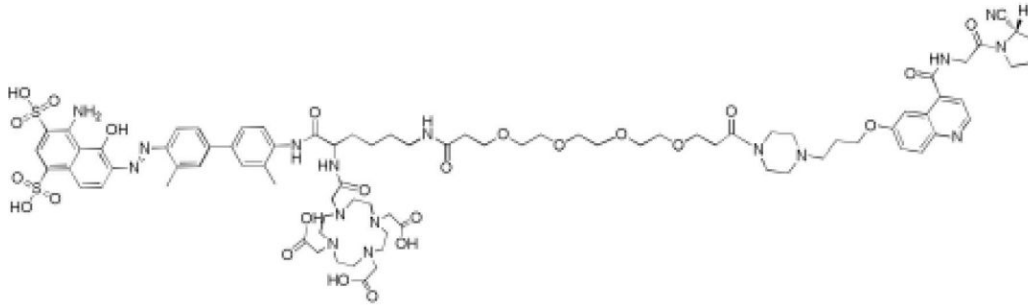
式 (I I - 6)



40

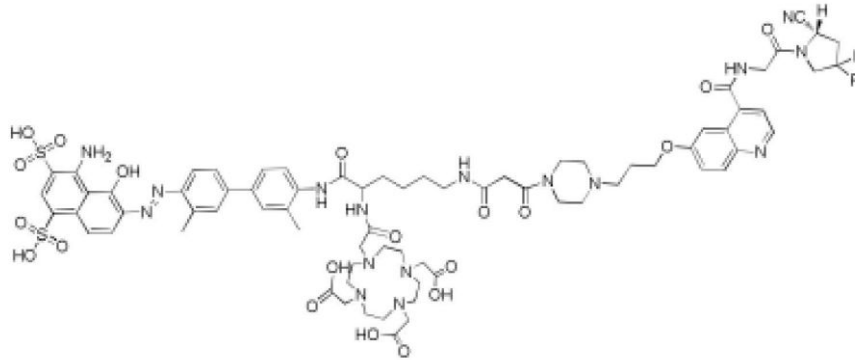
式 (I I - 7)

50



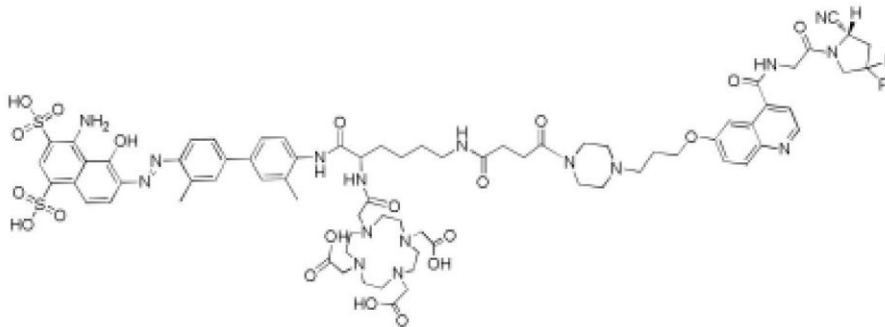
10

式 (I I - 1 2)



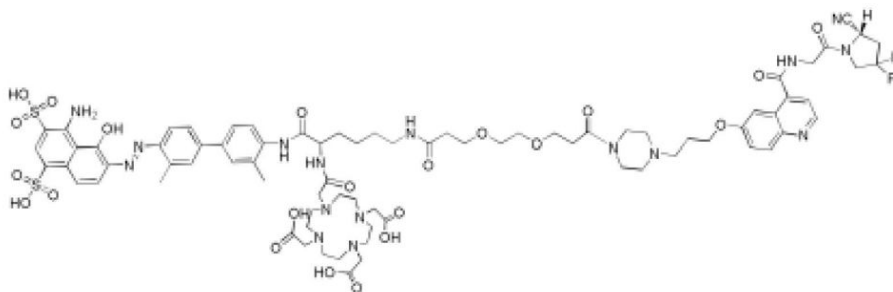
20

式 (I I - 1 3)



30

式 (I I - 1 4)

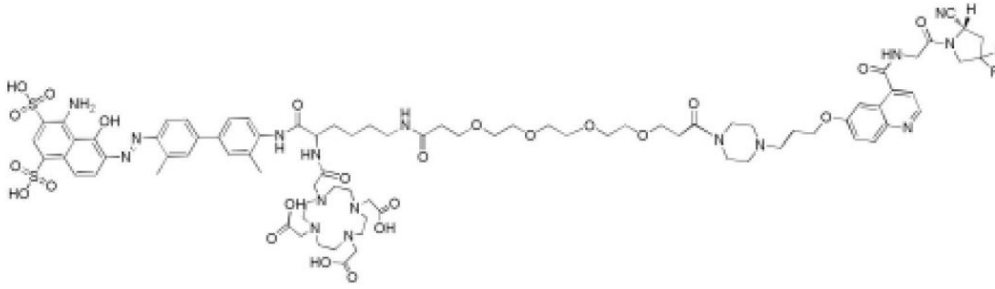


40

式 (I I - 1 5)

又は

50



10

式 (II - 16)

【請求項 3】

切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤の調製方法であって、

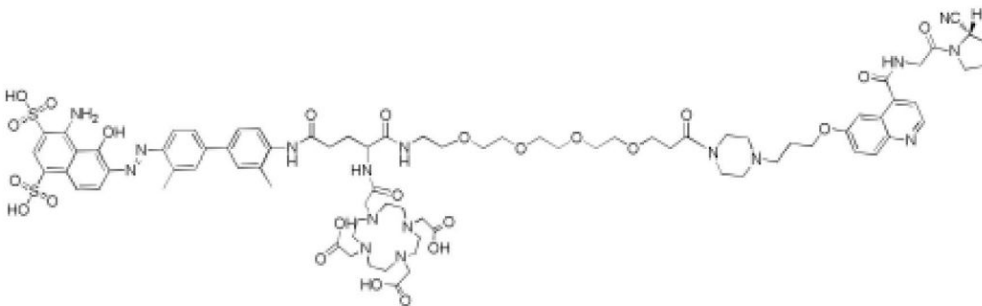
(1) 6 - ヒドロキシ - 4 - キノリンカルボン酸とグリシン *tert* - ブチルエステルをアミド縮合反応させ、1 - ブロモ - 3 クロロプロパン及び 1 - *tert* - ブトキシカルボニルピペラジンと順次反応させ、続いて TFA の作用下で Boc 及び *tert* - ブチル保護基を除去し、アミノ基に Boc 保護を導入し、次に、(S) - ピロリジン - 2 - カルボニトリル塩酸塩とアミド縮合反応させ、*p* - トルエンスルホン酸を使用して Boc 保護を除去し、更に 5, 8, 11, 14 - テトラオキサ - 2 - アザヘプタデカン二酸 - 1 - *tert* - ブチルエステルと縮合反応させ、再び *p* - トルエンスルホン酸を使用して Boc 保護を除去し、中間体化合物 A を得るステップと、

20

(2) 4, 4' - ジアミノ - 3, 3' - ジメチルピフェニルの一端に Boc 保護を導入し、1 - アミノ - 8 - ナフトール - 2, 4 - ジスルホン酸 - ナトリウム塩と反応させて切断型エバンスブルー誘導体を得て、続いて Boc 保護を除去し、N - *tert* - ブトキシカルボニル - L - グルタミン酸 - 1 - *tert* - ブチルエステルとアミド縮合反応させ、次に TFA の作用下で Boc 及び *tert* - ブチル保護基を除去し、更に二炭酸ジ - *tert* - ブチルと反応させ、アミノ基に Boc 保護を導入し、中間化合物 B を得るステップと、

(3) (1) で得られた中間体化合物 A と (2) で得られた中間体化合物 B をアミド縮合反応させ、次に、*p* - トルエンスルホン酸を使用して Boc 保護を除去し、最後に DOTA - NHS と反応させて以下の式 (II - 1) に示す構造を有する切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害化合物を得るステップとを含む、ことを特徴とする調製方法。

30



40

式 (II - 1)

【請求項 4】

放射性標識切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤複合体であって、請求項 1 に記載の式 (II) の化合物をリガンドとして放射性核種で標識することによって得られる複合体であり、前記放射性核種は、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{18}F 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{89}Sr 、 ^{153}Sm 、 ^{149}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{226}Th 、 ^{227}Th 、 ^{131}I 、 ^{211}At 又は ^{111}In のいずれかであり、放

50

放射性核種は、 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 又は ^{90}Y である、複合体。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の式 (I I) の化合物を緩衝液又は脱イオン水に溶解するステップと、得られた溶液に放射性核種溶液を加え、密閉状態で 5 ~ 40 分間反応させて、放射性核種標識複合体を生成するステップとを含む、放射性標識切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤複合体の調製方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の式 (I I) の化合物を緩衝液又は脱イオン水に溶解するステップと、得られた溶液を無菌濾過した後、容器に分注し、凍結乾燥して密栓して凍結乾燥キットを得るステップと、前記凍結乾燥キットに適量の酢酸溶液又は緩衝液を加えて溶解し、対応する放射性核種溶液を加え、密閉状態で 5 ~ 40 分間反応させて、放射性核種標識複合体を生成するステップとを含む、放射性標識切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤複合体の調製方法。

10

【請求項 7】

FAP タンパク質の高発現を伴う腫瘍に対する放射性核種治療又は造影剤の調製における、請求項 1 ~ 2 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 8】

FAP タンパク質の高発現を伴う腫瘍に対する放射性核種治療又はイメージングにおける、請求項 4 に記載の複合体。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、核医学及び分子イメージングの分野に関し、具体的には、切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤、その調製及び標識、並びにその応用に関する。

【背景技術】

【0002】

線維芽細胞活性化タンパク質 (Fibroblast activation protein、FAP) は、腫瘍間質の活性化線維芽細胞の表面に発現する膜セリンペプチダーゼであり、腫瘍の発生と進行に重要な役割を果たす。以前の研究では、FAP は通常、正常なヒト組織では発現しないが、乳癌、卵巣癌、肺癌、結腸直腸癌、胃癌、及び膵臓癌などを含む上皮性悪性腫瘍の 90 % 以上で間質線維芽細胞の表面に選択的に高度に発現することが示されている。腫瘍におけるその広範な発現及び重要な役割を考慮して、FAP は腫瘍イメージング及び治療における重要な標的となっている。

30

【0003】

現在、キノリン酸誘導体に代表される放射性核種標識線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤 (FAPI) は、正確な腫瘍イメージングの分野で重要な進歩を遂げている。例えば、FAPI - 02 や FAPI - 04 などの PET / CT 造影剤は、30 種類以上の腫瘍の特異的イメージングを実現している。FDG イメージングと比較して、FAPI イメージングは、脳、肝臓、及び中咽頭粘膜でのバックグラウンドがより低く、腫瘍病変の検出率がより高い。現在報告されている FAPI は、血液循環から急速に除去され、同時に腫瘍部位で急速に溶出される。この代謝特性は、よりクリーンなバックグラウンドを提供するため、イメージングに有利である。しかしながら、急速な代謝と溶出により、腫瘍部位での実効線量が低くなり、保持時間が短くなり、治療のニーズを満たすために高用量又はより頻繁な投与が必要になり、副作用の可能性が高くなるため、治療には非常に不利である。

40

【0004】

FAPI - 02 を例にとると、これは、1 時間以内に血液循環から完全に除去され、24 時間後に腫瘍部位での保持線量が約 75 % 低下する。最近の研究では、FAPI 構造の非ファーマコフォア部分は最適化されているが、FAPI の腫瘍取り込み量と保持時間の改良は非常に限られており、治療用途のニーズを満たすことはできない。当業者は、低分

50

子薬物が血管内を循環する時間が短すぎるか、又は身体によって急速に除去される場合、標的への薬物の結合が不十分になることを知っている。したがって、F A P Iプローブを調製する際に、プローブの血液循環半減期を適切に延長できれば、標的部位でのプローブの取り込み量と保持時間を増加させることが可能になる。

【0005】

したがって、放射性核種治療及びイメージングのニーズを満たすために、F A P Iプローブの血液循環半減期を延長して、適切な代謝動態、より高い腫瘍取り込み量、及びより長い腫瘍保持時間を有するようにするための新しい戦略が必要である。

【発明の概要】

【0006】

上記の背景に基づいて、本発明の主な目的は、切断型エバンスブルー（t E B）と線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤（F A P I）との一種の複合体を開発することであり、その特徴は、切断型エバンスブルーと血清アルブミンとを効果的に結合することにより、アルブミンをF A P I送達担体として使用することを実現することであり、それによって末梢血での半減期を延長し、腫瘍での取り込みと蓄積及び保持時間を増加させる。本発明によって開発されたt E B - F A P I複合体は、低分子F A P Iの高速代謝及び標的臓器での短い保持時間の欠点を克服し、F A P タンパク質を標的とする放射性核種治療及びイメージング効果を改良することができ、臨床応用の可能性を有する。

【0007】

本発明の別の目的は、長い血液循環半減期を有する放射性標識切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤（t E B - F A P I）を提供することである。

【0008】

本発明の別の目的は、上記の放射性標識t E B - F A P I複合体の調製方法を提供することである。

【0009】

本発明の更に別の目的は、F A P タンパク質を標的とする腫瘍核種イメージング及び治療における上記複合体の応用を提供することである。

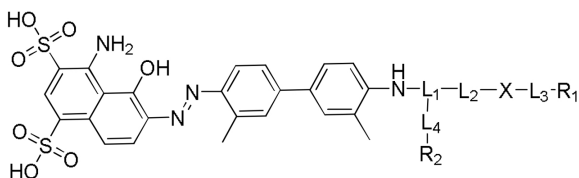
【0010】

上述した本発明の主な目的を実現するための技術的解決策には、以下のリガンド合成と放射性標識の2つの態様がある。

【0011】

第1の態様では、本発明は、切断型エバンスブルー（t E B）修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤（F A P I）を提供し、この化合物の構造は以下の式（I）に示すとおりであり、「t E B - F A P I」と表記され、

【化1】



式（I）

ここで、L₁は、リジン若しくはグルタミン酸構造、又はリジン若しくはグルタミン酸構造を含む誘導体化合物構造であり、

L₂は - (C H₂)_n - であり、nは0～30の整数であり、各C H₂は独立して - O -、- N H -、- (C O) -、- N H (C O) - 又は - (C O) - N H - で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つのC H₂基が置換されていないことであり、

L₃は - (C H₂)_m - であり、mは0～30の整数であり、各C H₂は独立して - O - 又は - (C O) - で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する

10

20

30

40

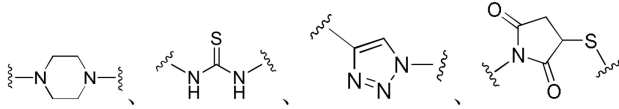
50

2つのCH₂基が置換されていないことであり、

L₄は-(CH₂)_p-であり、pは0~30の整数であり、各CH₂は独立して-O-、-NH-、-(CO)-、-NH(CO)-又は-(CO)-NH-で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つのCH₂基が置換されていないことであり、

Xは、N、C、O、S又は以下の構造のいずれかから選択され、

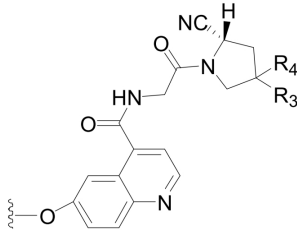
【化2】



10

R₁は、以下の線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤の構造であり、

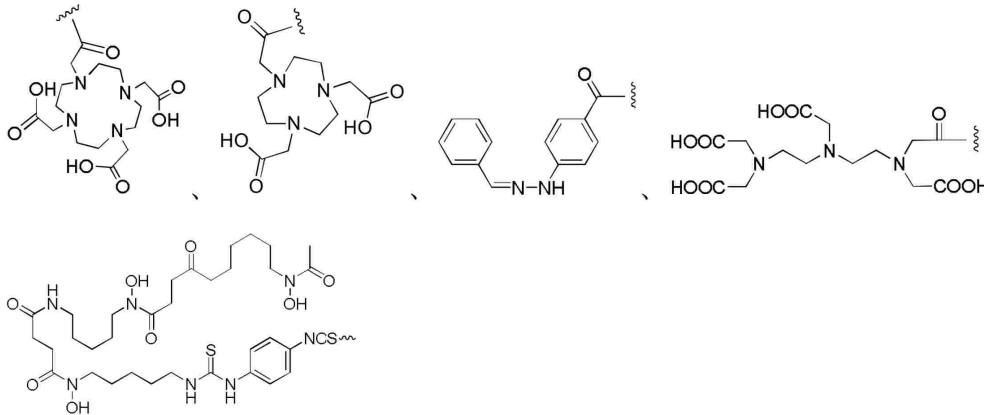
【化3】



20

R₂は以下の構造のいずれかから選択される核種キレート基であり、

【化4】



30

R₃~R₄は同一又は異なり、いずれもH又はFから独立して選択される。

【0012】

本発明の好ましい実施形態では、式(I)中のL₂は-(CH₂)_n-であり、nは0~16の整数であり、より好ましくは0~12の整数であり、更に好ましくは0、3又は10であり、ここで、各-CH₂-は独立して-O-、-NH-又は-(CO)-で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つの-CH₂-基が置換されていないことである。

40

【0013】

本発明の好ましい実施形態では、式(I)中のL₃は-(CH₂)_m-であり、mは0~20の整数であり、より好ましくは1~6の整数であり、更に好ましくは2又は3であり、ここで、各-CH₂-は独立して-O-で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つの-CH₂-基が置換されていないことである。

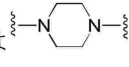
【0014】

本発明の好ましい実施形態では、式(I)中のL₄は-(CH₂)_p-であり、pは0~20の整数であり、より好ましくは0~12の整数であり、更に好ましくは3、4、9又は12であり、最も好ましくは3であり、ここで、各-CH₂-は独立して-O-、-N

50

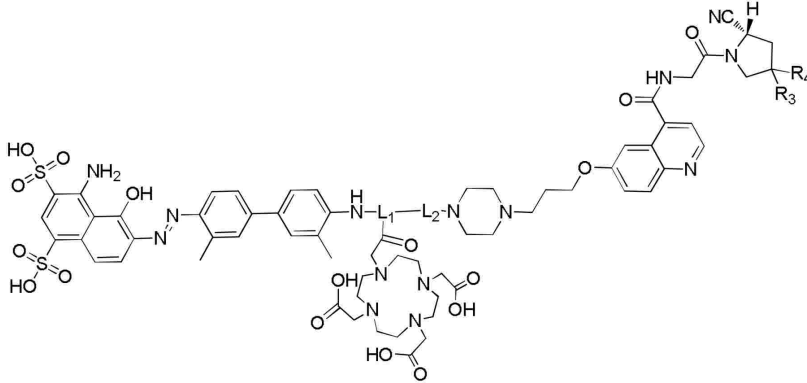
H -、 - (CO) -、 - NH (CO) - 又は - (CO) - NH - で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つの - CH₂ - 基が置換されていないことである。

【0015】

本発明の好ましい実施形態では、式(I)中のXはであり、L₃は-(CH₂)₃-であり、L₄は-(CH₂)₀-であり、R₂はDOTAであり、即ち、本発明の好ましい化合物tEB-FAPIの構造は、以下の式IIに示すとおりであり、

10

【化5】

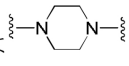


20

式(II)

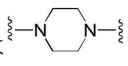
ここで、R₃とR₄は両方ともH又はFであり、L₁はグルタミン酸又はリジン構造であり、L₂は-(CH₂)₀-、-NH-CH₂-(CO)-、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CO)-、-(CO)-(CH₂)₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-又は-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-である。

【0016】

本発明のより好ましい実施形態では、式(I)中のXはであり、L₁はグルタミン酸構造であり、L₂は-(CH₂)₀-、

-NH-CH₂-(CO)-、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-又は-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-であり、L₃は-(CH₂)₃-であり、L₄は-(CH₂)₀-であり、R₂はDOTAであり、R₃とR₄は両方ともH又はFである。

【0017】

本発明の別のより好ましい実施形態では、式(I)中のXはであり、L₁はリジン構造であり、L₂は-(CO)-CH₂-(CO)-、-(CO)-(CH₂)₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-又は-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-であり、L₃は-(CH₂)₃-であり、L₄は-(CH₂)₀-であり、R₂はDOTAであり、R₃とR₄は両方ともH又はFである。

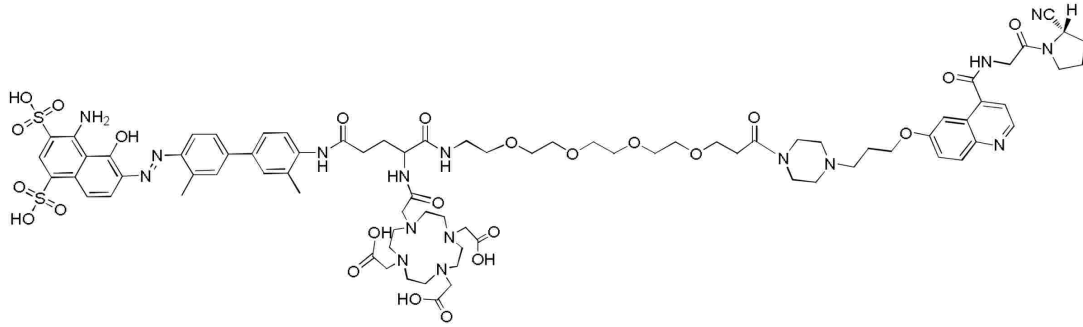
40

【0018】

本発明の更に好ましい実施形態では、上記化合物tEB-FAPIの構造は、以下の式(II-1)~式(II-16)のいずれかである。

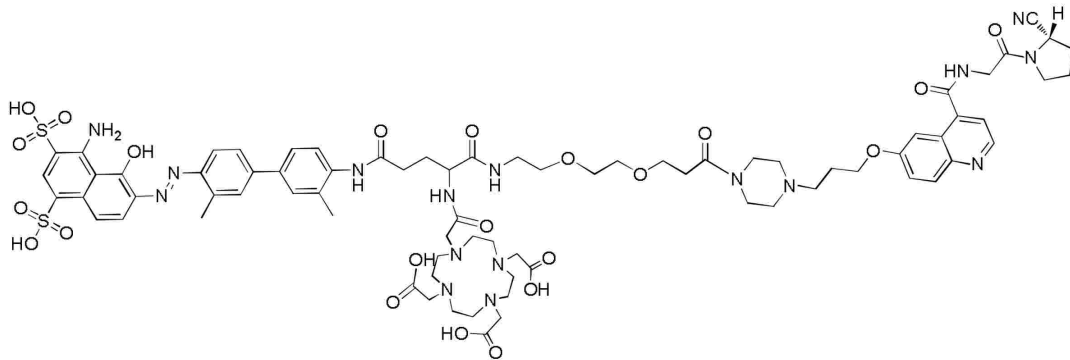
50

【化 6】



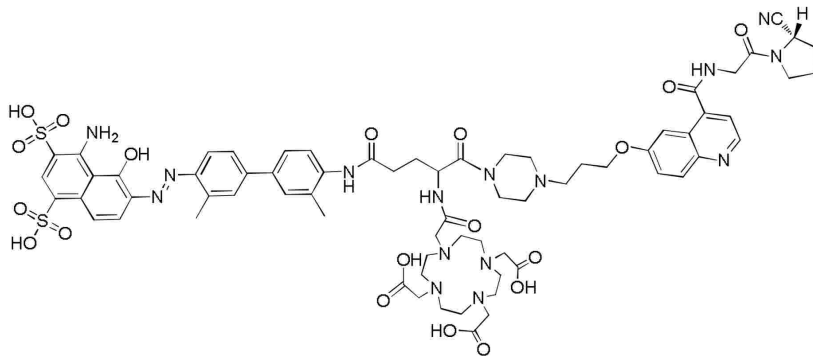
10

式 (I I - 1)



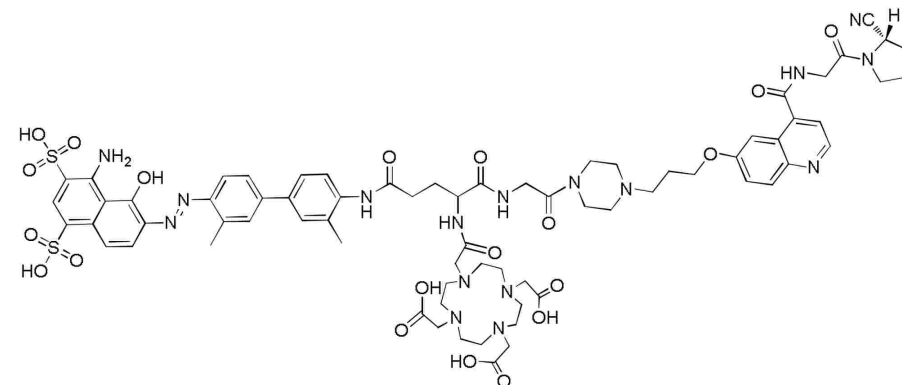
20

式 (I I - 2)



30

式 (I I - 3)

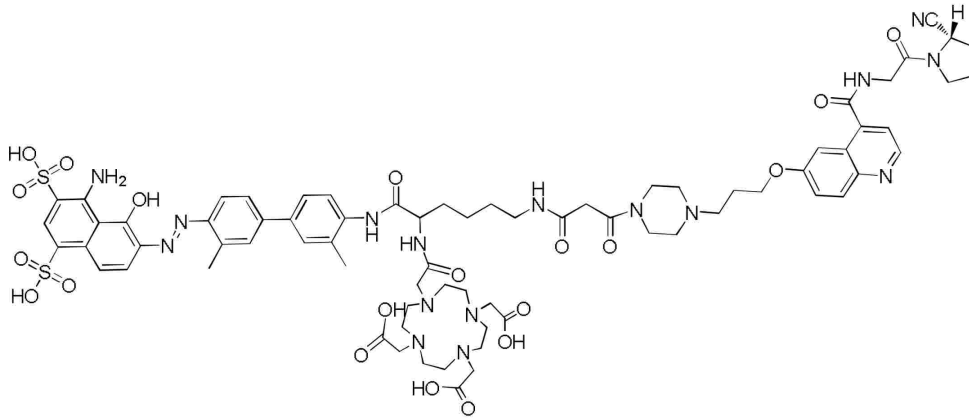


40

式 (I I - 4)

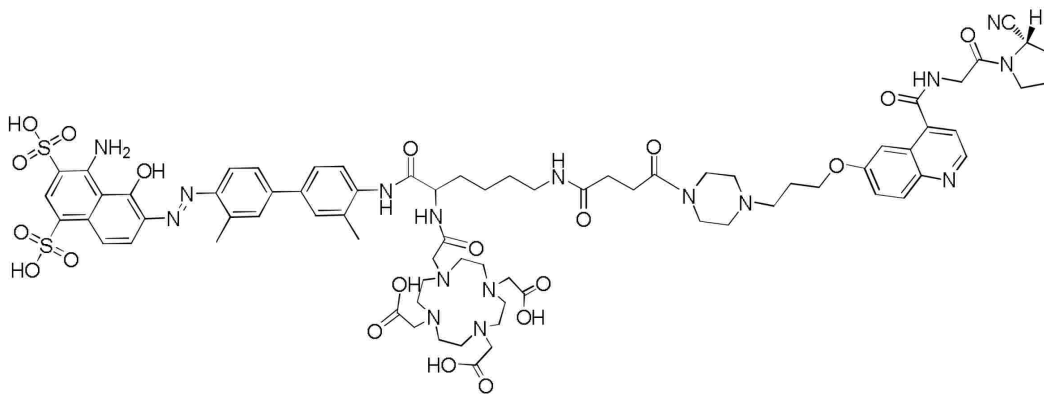
50

式 (I I - 8)



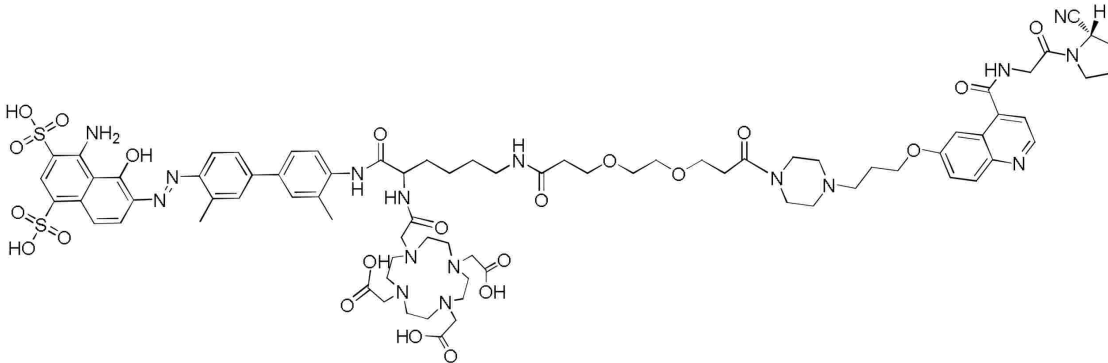
10

式 (I I - 9)



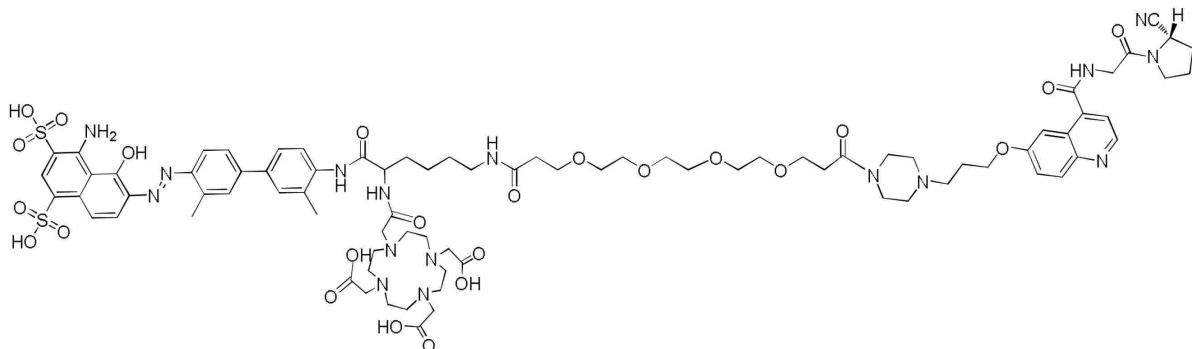
20

式 (I I - 10)



30

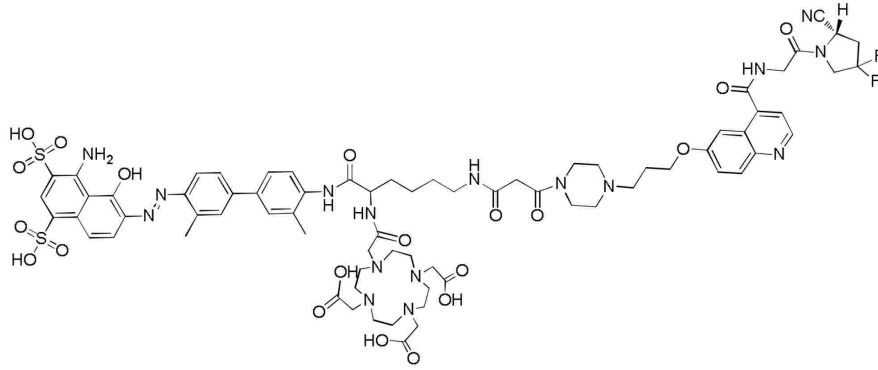
式 (I I - 11)



40

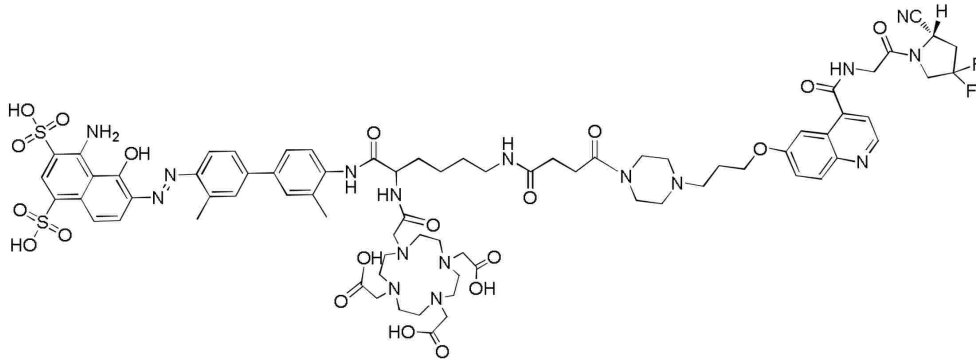
50

式 (I I - 1 2)



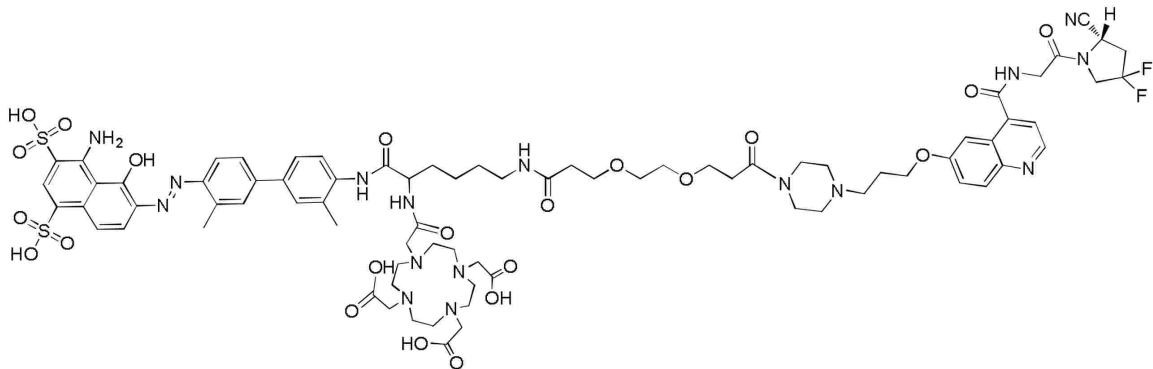
10

式 (I I - 1 3)



20

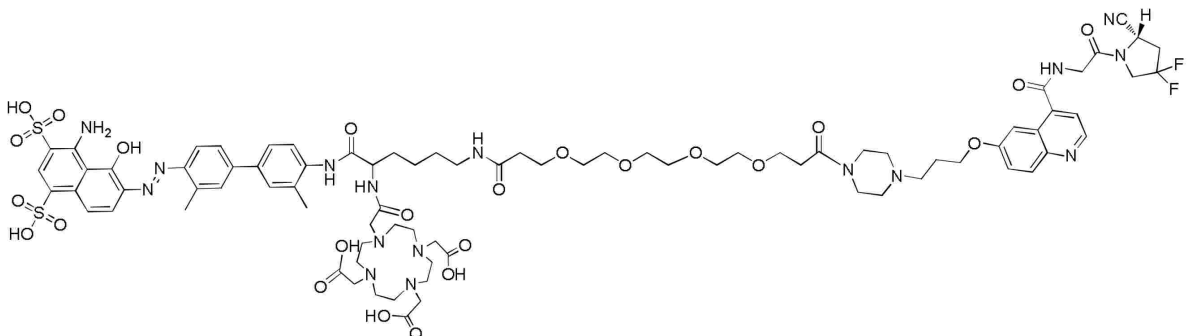
式 (I I - 1 4)



30

式 (I I - 1 5)

又は



40

50

式 (I I - 1 6)

【 0 0 1 9 】

上記に基づいて、本発明は式 (I I - 1) で表される化合物 t E B - F A P I の調製方法を更に提供し、この方法は、

(1) 6 - ヒドロキシ - 4 - キノリンカルボン酸とグリシン t e r t - ブチルエステルをアミド縮合反応させ、1 - ブロモ - 3 クロロプロパン及び 1 - t e r t - ブトキシカルボニルピペラジンと順次反応させ、続いて T F A の作用下で B o c 及び t e r t - ブチル保護基を除去し、アミノ基に B o c 保護を導入し、次に、(S) - ピロリジン - 2 - カルボニトリル塩酸塩とアミド縮合反応させ、p - トルエンスルホン酸を使用して B o c 保護を除去し、更に 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラオキサ - 2 - アザヘプタデカン二酸 - 1 - t e r t - ブチルエステルと縮合反応させ、再び p - トルエンスルホン酸を使用して B o c 保護を除去し、中間体化合物 A を得るステップと、

10

(2) 4 , 4 ' - ジアミノ - 3 , 3 ' - ジメチルビフェニルの一端に B o c 保護を導入し、1 - アミノ - 8 - ナフトール - 2 , 4 - ジスルホン酸 - ナトリウム塩と反応させて切断型エバンスブルー誘導体を得て、続いて B o c 保護を除去し、N - t e r t - ブトキシカルボニル - L - グルタミン酸 - 1 - t e r t - ブチルエステルとアミド縮合反応させ、次に T F A の作用下で B o c 及び t e r t - ブチル保護基を除去し、更に二炭酸ジ - t e r t - ブチルと反応させ、アミノ基に B o c 保護を導入し、中間体化合物 B を得るステップと、

(3) 中間体化合物 A と中間体化合物 B をアミド縮合反応させ、次に、p - トルエンスルホン酸を使用して B o c 保護を除去し、最後に D O T A - N H S と反応させて式 (I I - 1) で表される化合物を得るステップとを含む。

20

【 0 0 2 0 】

本発明の式 (I I - 1) で表される化合物 t E B - F A P I の好ましい調製方法は、具体的には以下のステップを含む。

【 0 0 2 1 】

6 - ヒドロキシ - 4 - キノリンカルボン酸 (化合物 1) とグリシン t e r t - ブチルエステルを N , N - ジメチルホルムアミドに溶解し、H A T U を加えて化合物 2 を得る。化合物 2 を N , N - ジメチルホルムアミドに溶解し、1 - ブロモ - 3 クロロプロパンと炭酸カリウムを加え、反応系を 6 0 に一定時間加熱し、化合物 3 を得る。化合物 3 を N , N - ジメチルホルムアミドに溶解し、1 - t e r t - ブトキシカルボニルピペラジンとヨウ化カリウムを加えて反応させ、化合物 4 を得る。化合物 4 をトリフルオロ酢酸溶液に溶解して保護基を除去し、化合物 5 を得る。化合物 5 を N , N - ジメチルホルムアミドに溶解し、二炭酸ジ - t e r t - ブチルと酸結合剤を加えて化合物 6 を得る。H A T U 及び D I P E A の作用下で化合物 6 を (S) - ピロリジン - 2 - カルボニトリル塩酸塩と縮合させて、化合物 7 を得る。化合物 7 を p - トルエンスルホン酸の作用下で脱保護し、化合物 8 を得る。H A T U 及び D I P E A の作用下で化合物 8 を 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラオキサ - 2 - アザヘプタデカン二酸 - 1 - t e r t - ブチルエステルと縮合させて、化合物 9 を得る。化合物 9 を p - トルエンスルホン酸の作用下で脱保護し、化合物 1 0 (即ち、中間体化合物 A) を得る。

30

【 0 0 2 2 】

4 , 4 ' - ジアミノ - 3 , 3 ' - ジメチルビフェニル (化合物 1 1) を二炭酸ジ - t e r t - ブチルと反応させて化合物 1 2 を得る。化合物 1 2 を 1 - アミノ - 8 - ナフトール - 2 , 4 - ジスルホン酸 - ナトリウム塩及び亜硝酸ナトリウムと反応させて、切断型エバンスブルー誘導体 (化合物 1 3) を得る。化合物 1 3 の B o c 保護を除去して化合物 1 4 を得る。H A T U 及び D I P E A の作用下で化合物 1 4 を N - t e r t - ブトキシカルボニル - L - グルタミン酸 - 1 - t e r t - ブチルエステルと縮合させて化合物 1 5 を得る。化合物 1 5 をトリフルオロ酢酸溶液に溶解して保護基を除去し、化合物 1 6 を得る。化合物 1 6 を N , N - ジメチルホルムアミドに溶解し、二炭酸ジ - t e r t - ブチルと酸結合剤を加えて化合物 1 7 (即ち、中間体化合物 B) を得る。

40

【 0 0 2 3 】

50

HATU及びDIPEAの作用下で化合物17と化合物10を縮合させて化合物18を得る。化合物18をp-トルエンスルホン酸の作用下で脱保護し、化合物19を得る。化合物19をDOTA-NHSと反応させて、式(II-1)で表される最終化合物20を得る。

【0024】

上記の具体的なステップの合成ルートは以下のとおりである。

【化7】



【0025】

本発明の解決策における他のtEB-FAPI化合物の調製方法は、化合物20の調製方法と同様であり、基本的には既存の従来手段に基づいて化合物20の合成ルートを参照

10

20

30

40

50

して調製することができる。

【0026】

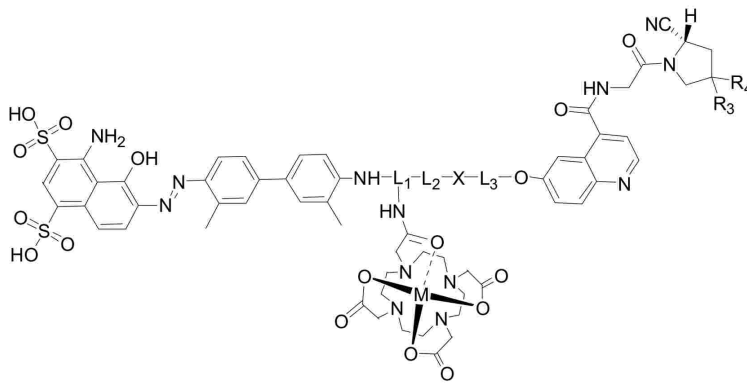
別の態様では、本発明は放射性標識 t E B - F A P I 複合体を更に提供し、この複合体は、本発明に記載の式 (I) の化合物をリガンドとして放射性核種で標識することによって得られる複合体である。放射性標識複合体は、新しいタイプの腫瘍放射性診断及び治療プローブとして使用することができ、即ち、放射性核種診断プローブ又は放射性核種治療プローブとして使用することができる。放射性核種は、好ましくは、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{18}F 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{89}Sr 、 ^{153}Sm 、 ^{149}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{226}Th 、 ^{227}Th 、 ^{131}I 、 ^{211}At 又は ^{111}In のいずれかから選択することができ、好ましくは、 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 又は ^{90}Y である。

10

【0027】

本発明の好ましい複合体の構造は以下の式 (I V) に示すとおりであり、

【化8】



20

式 (I V)

ここで、 L_1 は、リジン若しくはグルタミン酸構造、又はリジン若しくはグルタミン酸構造を含む誘導体化合物構造であり、

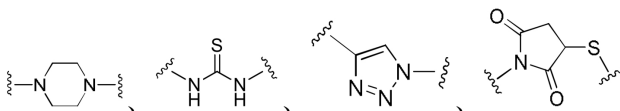
L_2 は $-(\text{CH}_2)_n-$ であり、 n は 0 ~ 30 の整数であり、各 CH_2 は独立して $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(\text{CO})-$ 、 $-NH(\text{CO})-$ 又は $-(\text{CO})-NH-$ で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する 2 つの CH_2 基が置換されていないことであり、

30

L_3 は $-(\text{CH}_2)_m-$ であり、 m は 0 ~ 30 の整数であり、各 CH_2 は独立して $-O-$ 又は $-(\text{CO})-$ で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する 2 つの CH_2 基が置換されていないことであり、

X は、 N 、 C 、 O 、 S 又は以下の構造から選択され、

【化9】



40

R_3 と R_4 は同一又は異なり、いずれも H 又は F から独立して選択され、

M は、 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 又は ^{90}Y のいずれか 1 つから選択される放射性核種である。

【0028】

本発明の好ましい複合体の実施形態では、式 (I V) 中の L_2 は $-(\text{CH}_2)_n-$ であり、 n は 0 ~ 16 の整数であり、より好ましくは 0 ~ 12 の整数であり、更に好ましくは 0、3 又は 10 であり、ここで、各 $-\text{CH}_2-$ は独立して $-O-$ 、 $-NH-$ 又は $-(\text{CO})-$ で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する 2 つの $-\text{CH}_2-$ 基が置換されていないことである。より好ましい L_2 は $-(\text{CH}_2)_0$ 、 $-NH-\text{CH}_2-$

50

- (CO) -、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-、-NH-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CO)-、-(CO)-(CH₂)₂-(CO)-、-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₂-CH₂-(CO)-又は-(CO)-CH₂-(CH₂OCH₂)₄-CH₂-(CO)-である。

【0029】

本発明の好ましい複合体の実施形態では、式(IV)中のL₃は-(CH₂)_m-であり、mは0~20の整数であり、より好ましくは1~6の整数であり、更に好ましくは2又は3であり、ここで、各-CH₂-は独立して-O-で置換されていても置換されていなくてもよく、置換条件は、隣接する2つの-CH₂-基が置換されていないことである。より好ましいL₃は-(CH₂)₃-である。

10

【0030】

本発明の放射性標識複合体は、既存の様々な標識方法に従って放射性核種を含む化合物及び本発明に記載の式(I)の化合物から調製することができるが、本発明の好ましい標識方法は、以下の湿式法又は凍結乾燥法である。

【0031】

湿式標識法は、本発明に記載の式(I)の化合物の適量を緩衝液又は脱イオン水に溶解するステップと、得られた溶液に放射性核種溶液を加え、密閉状態で5~40分間反応させて、放射性核種標識複合体を生成するステップとを含む。

【0032】

又は、凍結乾燥標識法は、本発明に記載の式(I)の化合物の適量を緩衝液又は脱イオン水に溶解するステップと、得られた溶液を無菌濾過した後、容器に分注し、凍結乾燥して密栓して凍結乾燥キットを得るステップと、凍結乾燥キットに適量の酢酸溶液又は緩衝液を加えて溶解し、対応する放射性核種溶液を加え、密閉状態で5~40分間反応させて、放射性核種標識複合体を生成するステップとを含む。ここで、上記の分注用容器は、好ましくは凍結保存用チューブ又は抗生物質用チューブバイアルである。また、キット中の凍結乾燥粉末成形状態に応じてキットにマンニトール、アスコルビン酸などの賦形剤を加え、本発明に記載の式(I)の化合物及び賦形剤の投与量を調整することによって、キットの成形状態を最適にすることができる。

20

【0033】

上記の湿式標識法及び凍結乾燥標識法によって得られた生成物は、従来の処理(例えば、クロマトグラフィーによる分離及び精製、溶媒を除去するための回転蒸発、PBS又は水又は生理食塩水による残留物の溶解、無菌濾過など)によって更に注射液に調製することができる。

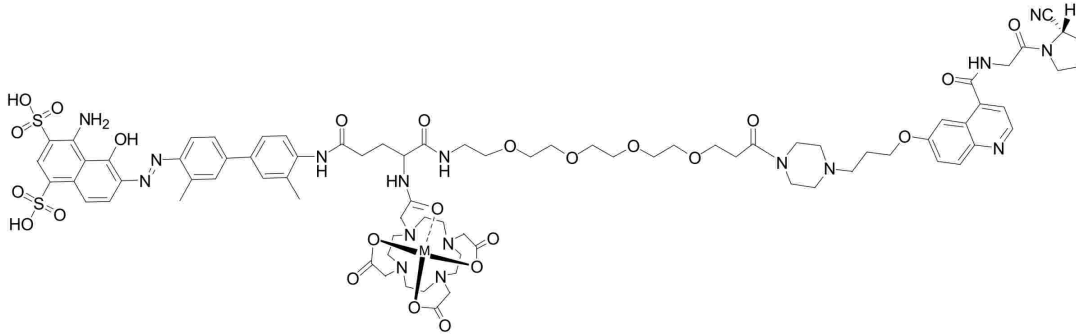
30

【0034】

本発明の好ましい特定の実施形態では、式(II-1)で表される化合物20をリガンドとして使用する場合、放射性標識化合物20の好ましい調製方法は、湿式標識法であり、この方法は、化合物20を緩衝液又は脱イオン水に溶解するステップと、新鮮な放射性溶液を加え、密閉状態で37~90℃で5~40分間反応させ、冷却するステップと、水を加えて反応液を希釈し、Sep-Pak C18クロマトグラフィーカラムで分離精製し、クロマトグラフィーカラムを緩衝液又は水で洗浄して未反応の放射性イオンを除去し、塩酸エタノール溶液又はエタノール溶液ですすぎ、生理食塩水又はPBSで希釈して無菌濾過して、式(IV-1)に記載の構造を有する放射性標識複合体の注射液を得るステップとを含み、ここで放射性核種Mは⁶⁸Ga、¹⁷⁷Lu又は⁹⁰Yなどである。

40

【化 1 0】



式 (I V - 1)

【 0 0 3 5】

本発明の放射性標識化合物 2 0 の別の好ましい調製方法は、凍結乾燥標識法であり、この方法は、化合物 2 0 及び他の必要な試薬を緩衝液に溶解し、得られた溶液を無菌濾過した後、凍結保存用チューブに分注し、凍結乾燥して密封して凍結乾燥キットを得るステップと、凍結乾燥キットに適切な量の緩衝液を加えて溶解し、次に新しく調製した放射性溶液を加え、密閉状態で 3 7 ~ 1 2 0 で 5 ~ 4 0 分間反応させ、冷却するステップと、水を加えて反応液を希釈し、Sep-Pak C 1 8 クロマトグラフィーカラムで分離精製し、クロマトグラフィーカラムを緩衝液又は水で洗浄して未反応の放射性イオンを除去し、塩酸エタノール溶液又はエタノール溶液ですすぎ、生理食塩水又は P B S で希釈して無菌濾過して、式 (I V - 1) に記載の構造を有する放射性標識複合体の注射液を得るステップとを含み、ここで放射性核種 M は ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 又は ^{90}Y などである。

【 0 0 3 6】

上記の合成工程で使用される他の化学物質は市販されているものである。

【 0 0 3 7】

緩衝液は、反応液の p H 値を安定させるための物質であり、酢酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、アスコルビン酸塩、炭酸塩、リン酸塩、及びそれらの混合物などであってもよい。

【 0 0 3 8】

別の態様では、本発明はまた、F A P タンパク質の高発現を伴う腫瘍に対する放射性核種治療又は造影剤の調製における、式 (I) で表される t E B - F A P I 化合物又はその薬学的に許容される塩の応用を提供する。

【 0 0 3 9】

本発明はまた、F A P タンパク質の高発現を伴う腫瘍に対する放射性核種治療又はイメージングにおける、式 (I V) で表される放射性標識 t E B - F A P I 複合体の応用を提供する。

【 0 0 4 0】

本発明の好ましい応用では、上記複合体は注射剤として調製され、F A P タンパク質の高発現を伴う腫瘍を有する患者に対して静脈内注射により投与される。

【 0 0 4 1】

本発明の好ましい応用では、F A P タンパク質の高発現を伴う腫瘍には、乳癌、卵巣癌、肺癌、結腸直腸癌、胃癌又は膵臓癌が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 4 2】

本発明は切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤 t E B - F A P I 及びその放射性核種標識複合体を提供し、また、この種類の化合物の調製方法及び標識方法を提供する。生物学的試験の結果、阻害剤が血液循環半減期を有意に延長し、腫瘍での取り込みと蓄積及び保持時間を増加させるという特性を有することが示されている。この新規性は、現時点では他の F A P I 造影剤には見られず、F A P タンパク質の高発現を伴う腫瘍の放射性核種治療及びイメージングに適している。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】本発明の実施例1における化合物2のマススペクトルである。

【図2】本発明の実施例1における化合物2の水素核磁気共鳴スペクトルである。

【図3】本発明の実施例1における化合物2の炭素核磁気共鳴スペクトルである。

【図4】本発明の実施例1における化合物3のマススペクトルである。

【図5】本発明の実施例1における化合物3の水素核磁気共鳴スペクトルである。

【図6】本発明の実施例1における化合物4のマススペクトルである。

【図7】本発明の実施例1における化合物4の水素核磁気共鳴スペクトルである。

【図8】本発明の実施例1における化合物4の炭素核磁気共鳴スペクトルである。

10

【図9】本発明の実施例1における化合物7のマススペクトルである。

【図10】本発明の実施例1における化合物7の水素核磁気共鳴スペクトルである。

【図11】本発明の実施例1における化合物7の炭素核磁気共鳴スペクトルである。

【図12】本発明の実施例1における化合物10のマススペクトルである。

【図13】本発明の実施例1における化合物20のマススペクトルである。

【図14】本発明の実施例10における化合物のマススペクトルである。

【図15】本発明の実施例11における化合物のマススペクトルである。

【図16】本発明の実施例1における化合物10のHPLCクロマトグラムである。

【図17】本発明の実施例1における化合物17のHPLCクロマトグラムである。

【図18】本発明の実施例1における化合物17と化合物10の反応系のHPLCクロマトグラムである。

20

【図19】本発明の実施例1における化合物19のHPLCクロマトグラムである。

【図20】本発明の実施例1における化合物19とDOTA-NHSの反応系のHPLCクロマトグラムである。

【図21A-21B】正常マウスにおける本発明の68Ga標識tEB-FAPI複合体及び68Ga標識FAPI-02のMicroPETイメージングを示す図である。

【図22】正常マウスにおける、本発明の実施例40で調製した177Lu-tEB-FAPIの異なる時点でのSPECTイメージングを示す図である。

【図23】ヒト由来膵臓癌異種移植モデルマウスにおける、本発明の実施例40で調製した177Lu-tEB-FAPIの異なる時点でのSPECTイメージングを示す図である。

30

【発明を実施するための形態】

【0044】

以下、添付の図面と併せて具体的な実施形態を通じて本発明の技術的解決策を更に例示及び説明する。

実施例1：tEB-FAPIリンカー（化合物20）の調製

【0045】

化合物2の合成：

化合物1（6-ヒドロキシ-4-キノリンカルボン酸、1.89g、10.0mmol）、グリシンtert-ブチルエステル（1.89g、10.0mmol）、HATU（3.8g、10.0mmol）及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン（2.6g、20.0mmol）をそれぞれ順に100mLフラスコ中のN,N-ジメチルホルムアミド30mLに入れた。反応混合物を一晩攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム（ジクロロメタン/メタノール=30：1）で精製して、白色固体化合物2を87%の収率で得た。図1は化合物2のマススペクトルであり、図2は化合物2の水素核磁気共鳴スペクトルを示し、図3は、化合物2の炭素核磁気共鳴スペクトルを示す。

40

【0046】

化合物3の合成：

化合物2（1.51g、5.0mmol）、1-ブromo-3-クロロプロパン（1.5

50

5 g、10.0 mmol)、及び炭酸カリウム(1.38 g、10.0 mmol)をそれぞれ順に100 mL フラスコ中のN,N-ジメチルホルムアミド50 mLに入れた。系の温度を60 に上げ、60 に維持して一晩攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=50:1)で精製して、白色固体化合物3を63%の収率で得た。図4は化合物3のマスペクトルであり、図5は化合物3の水素核磁気共鳴スペクトルを示す。

【0047】

化合物4の合成:

化合物3(0.76 g、2.0 mmol)、1-tert-ブトキシカルボニルピペラジン(0.55 g、3.0 mmol)、及びヨウ化カリウム(0.49 g、3.0 mmol)をそれぞれ順に100 mL フラスコ中のアセトニトリル30 mLに入れた。系の温度を60 に上げ、60 に維持して一晩攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=30:1)で精製して、白色固体化合物4を58%の収率で得た。MS(ESI)m/z calculated for [C₂₈H₄₀N₄O₆]: 528.29; found: 529.10 [M+H]⁺。図6は化合物4のマスペクトルであり、図7は化合物4の水素核磁気共鳴スペクトルを示し、図8は化合物4の炭素核磁気共鳴スペクトルを示す。

10

【0048】

化合物5の合成:

氷浴条件下で化合物4(0.52 g、1.0 mmol)をジクロロメタンとトリフルオロ酢酸の混合溶液10 mL(体積比9:1)に溶解し、系の温度を室温に上げて2時間反応させ、反応終了後、溶媒を減圧蒸留により除去し、N,N-ジメチルホルムアミド10 mLに溶解して次の反応に備えた。

20

【0049】

化合物6の合成:

化合物5のN,N-ジメチルホルムアミドに二炭酸ジ-tert-ブチル(0.22 g、1.0 mmol)とN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.39 g、3.0 mmol)をそれぞれ加え、室温で一晩攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=10:1)で精製して、白色固体化合物6を72%の収率で得た。

30

【0050】

化合物7の合成:

化合物6(0.47 g、1.0 mmol)、(S)-ピロリジン-2-カルボニトリル塩酸塩(0.13 g、10.0 mmol)、HATU(0.38 g、1.0 mmol)、及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.26 g、2.0 mmol)をそれぞれ順に100 mL フラスコ中のN,N-ジメチルホルムアミド10 mLに入れた。反応混合物を室温で反応終了まで攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=50:1)で精製して、白色固体化合物7を85%の収率で得た。図9は化合物7のマスペクトルであり、図10は化合物7の水素核磁気共鳴スペクトルを示し、図11は化合物7の炭素核磁気共鳴スペクトルを示す。

40

【0051】

化合物8の合成:

化合物7(0.55 g、1.0 mmol)とp-トルエンスルホン酸一水和物(0.27 g、1.5 mmol)をそれぞれ順に100 mL フラスコ中のアセトニトリル10 mLに入れた。反応系の温度を60 に上げ、反応終了まで攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。

【0052】

化合物9の合成:

5,8,11,14-テトラオキサ-2-アザヘプタデカン二酸-1-tert-ブチルエステル(0.19 g、1.0 mmol)、HATU(0.38 g、1.0 mmol)

50

、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.26g、2.0mmol)及びN,N-ジメチルホルムアミド10mLをそれぞれ上記化合物8の反応フラスコに入れた。反応混合物を一晩攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=50:1)で精製して、白色固体化合物9を64%の収率で得た。

【0053】

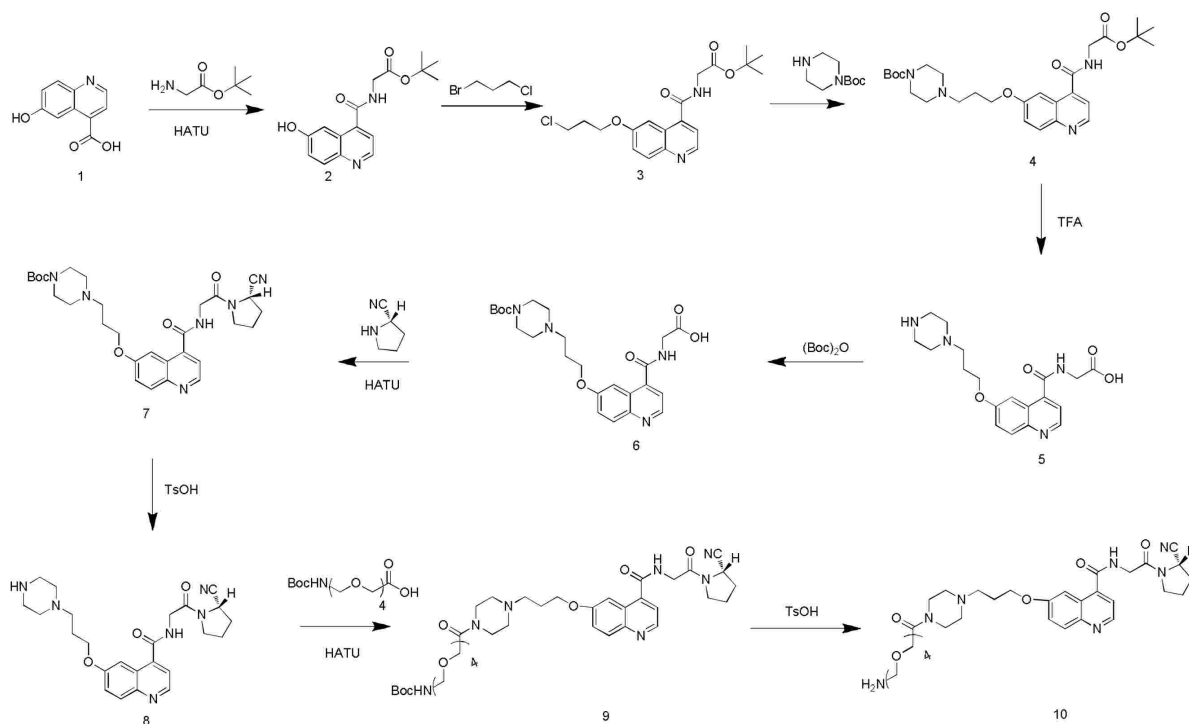
化合物10の合成:

化合物9(0.61g、1.0mmol)とp-トルエンスルホン酸一水和物(0.27g、1.5mmol)をそれぞれ順に100mLフラスコ中のアセトニトリル10mLに入れた。反応系の温度を60℃に上げ、反応終了まで攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。シリカゲルカラム(ジクロロメタン/メタノール=10:1)で精製して、白色固体化合物10を59%の収率で得た。MS(EI) m/z calculated for $[C_{35}H_{51}N_7O_8]$: 697.38; found: 698.43 $[M+H]^+$ 。図12は化合物10のマススペクトルである。

【0054】

上記ステップの合成ルートは以下のとおりである。

【化11】



【0055】

化合物12の合成:

4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルピフェニル(化合物11)(2.12g、10.0mmol)、二炭酸ジ-tert-ブチル(2.2g、10.0mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(1.3g、10.0mmol)、及びジクロロメタン20mLをそれぞれ100mLフラスコに入れ、室温で一晩攪拌し、反応の終了をHPLCでモニタリングし(r.t.は10.13分)、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得て、シリカゲルカラム(石油エーテル/酢酸エチル=5:1)で精製して白色固体化合物12を59%の収率で得た。

【0056】

化合物13の合成:

化合物12(0.31g、1.0mmol)とアセトニトリル4mLをそれぞれ50mLフラスコに入れ、氷浴中で反応フラスコに2M塩酸1.5mLを滴下し、15分間反応

させ、亜硝酸ナトリウム (0.068 g、1.0 mmol) を加えて水 2 mL に溶解し、再度反応フラスコに滴下し、30 分間反応させ、A 液とした。もう一つの 50 mL 反応フラスコを用意し、1-アミノ-8-ナフトール-2,4-ジスルホン酸ナトリウム塩 (0.33 g、1.0 mmol)、炭酸ナトリウム (0.105 g、1.0 mmol) 及び水 5 mL を加え、氷浴中で A 液を B 液にゆっくりと滴下し、氷浴中で攪拌して 2 時間反応させた。逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 13 を 47% の収率で得た。

【0057】

化合物 14 の合成：

氷浴条件下で化合物 13 (0.52 g、1.0 mmol) をトリフルオロ酢酸に溶解し、系の温度を室温に上げて 2 時間反応させ、反応終了後、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 14 を 73% の収率で得た。

10

【0058】

化合物 15 の合成：

化合物 14 (0.54 g、1.0 mmol)、N-tert-ブトキシカルボニル-L-グルタミン酸-1-tert-ブチルエステル (0.30 g、1.0 mmol)、HATU (0.38 g、1.0 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (0.26 g、2.0 mmol) 及び N,N-ジメチルホルムアミド 10 mL をそれぞれ 100 mL フラスコに入れた。反応混合物を反応終了まで攪拌し、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 15 を 52% の収率で得た。

20

【0059】

化合物 16 の合成：

チオアニソール：1,2-エタンジチオール：アニソール：TFA (5:3:2:90) を使用して室温で tert-ブチルエステル及び Boc 保護を除去した。反応終了後、TFA をアルゴン流により除去し、次に N,N-ジメチルホルムアミド 10 mL に溶解して次の反応に備えた。

【0060】

化合物 17 の合成：

化合物 16 の N,N-ジメチルホルムアミドに二炭酸ジ-tert-ブチル (0.22 g、1.0 mmol) 及び N,N-ジイソプロピルエチルアミン (0.39 g、3.0 mmol) をそれぞれ加え、室温で一晩攪拌し、反応の終了を HPLC でモニタリングした (r.t. は 10.84 分)。溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 17 を 43% の 2 段階収率で得た。

30

【0061】

化合物 18 の合成：

化合物 17 (0.77 g、1.0 mmol)、化合物 10 (0.51 g、1.0 mmol)、HATU (0.38 g、1.0 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (0.26 g、2.0 mmol) 及び N,N-ジメチルホルムアミド 10 mL をそれぞれ 50 mL フラスコに入れた。反応混合物を攪拌して反応させ、反応の終了を HPLC でモニタリングした (r.t. は 12.16 分)。溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 18 を 55% の収率で得た。

40

【0062】

化合物 19 の合成：

化合物 15 (0.13 g、0.1 mmol) と p-トルエンスルホン酸一水和物 (0.05 g、0.3 mmol) をそれぞれ順に 25 mL フラスコ中のアセトニトリル 5 mL に入れた。反応系の温度を 60 に上げ、攪拌して反応させ、反応終了まで脱保護過程を HPLC でモニタリングし (r.t. は 10.47 分)、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物 19 を 61% の収率で得た。

50

の収率で得た。

【0063】

化合物20の合成：

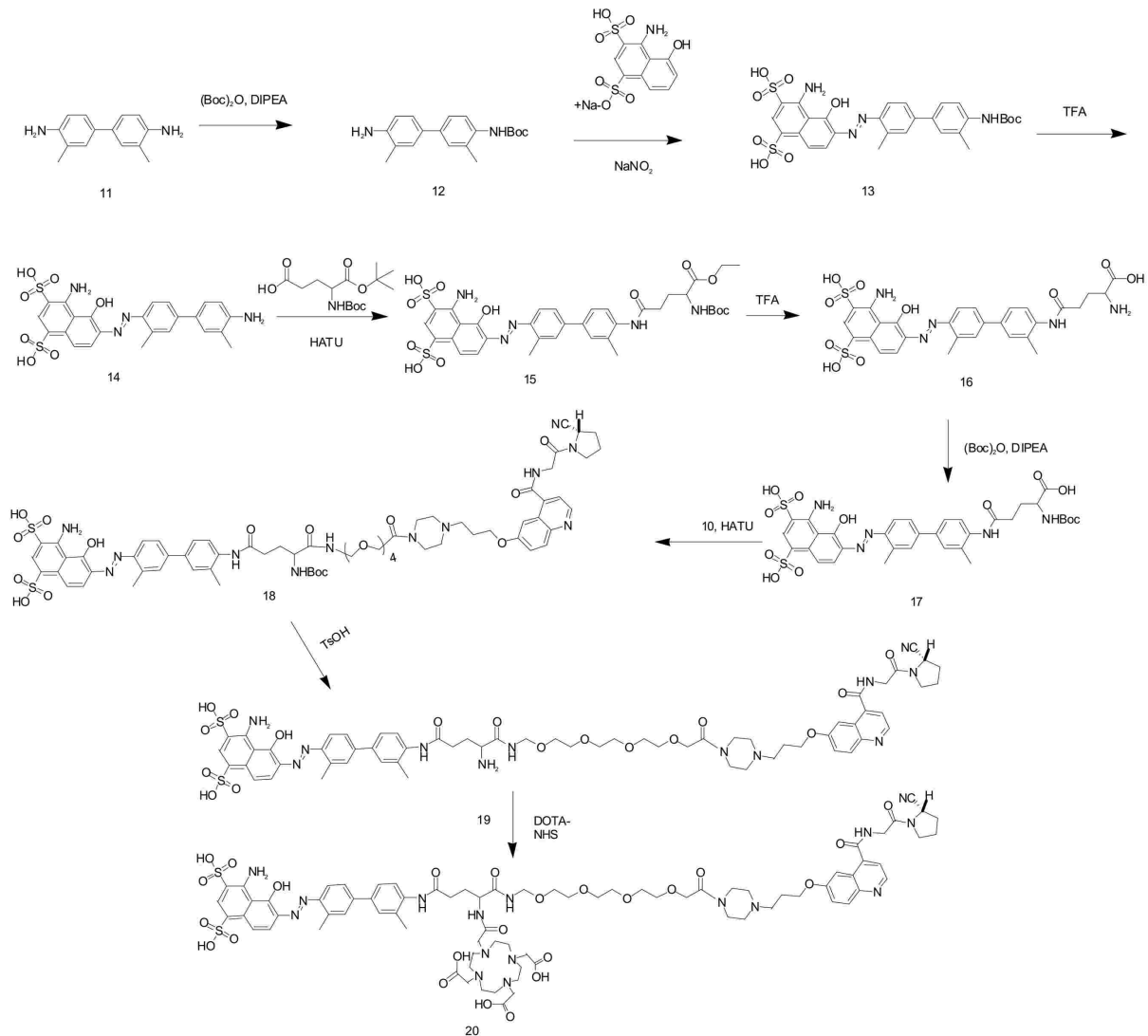
化合物19 (0.12 g、0.1 mmol)、DOTA-NHS (0.05 g、0.1 mmol)、及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン (0.04 g、0.3 mmol) をそれぞれ順に25 mLフラスコ中のN,N-ジメチルホルムアミド5 mLに入れた。反応系を室温で攪拌して反応させ、反応終了までHPLCでモニタリングし (r.t. は11.35分)、溶媒を減圧蒸留により除去して粗生成物を得た。粗生成物を逆相カラムで精製し、凍結乾燥して純粋な化合物20を53%の収率で得た。MS (ESI) m/z calculated for $[C_{80}H_{104}N_{16}O_{24}S_2]$: 1736.69; found: 1737.743 $[M+H]^+$ 。図13は化合物20のマスペクトルである。

10

【0064】

上記ステップの合成ルートは以下のとおりである。

【化12】



20

30

40

実施例2 ~ 16

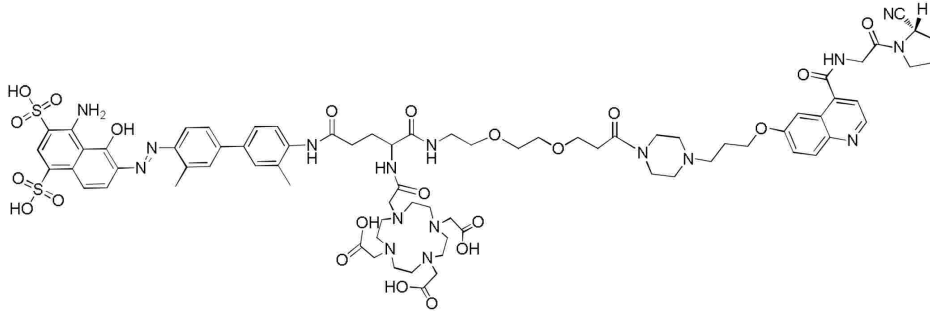
【0065】

実施例2 ~ 16の化合物の構造は、それぞれ式(II-2) ~ 式(II-16)に示すとおりであり、それらの調製方法はすべて、実施例1を参照することができる。化合物14と反応するグルタミン酸構造をリジン構造に置き換えるか、又は化合物8と反応する5

50

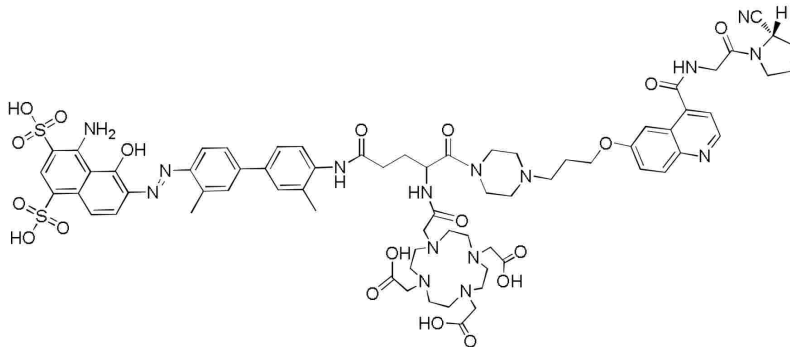
, 8, 11, 14 - テトラオキサ - 2 - アザヘプタデカン二酸 - 1 - tert - ブチルエステルを 5, 8, 11 - トリオキサ - 2 - アザトリデカン二酸 - 1 - tert - ブチルエステル、9 - アミノ - 4, 7 - ジオキサノナン酸 tert - ブチルエステル、グリシン tert - ブチルエステル又は他の適切な化合物に置き換えるか、又は化合物 6 と反応する (S) - ピロリジン - 2 - カルボニトリル塩酸塩を 3, 3 - ジフルオロピロリジン塩酸塩に置き換えるか、又は同時に置き換えることにより、対応する以下の構造を得た。

【化 1 3】



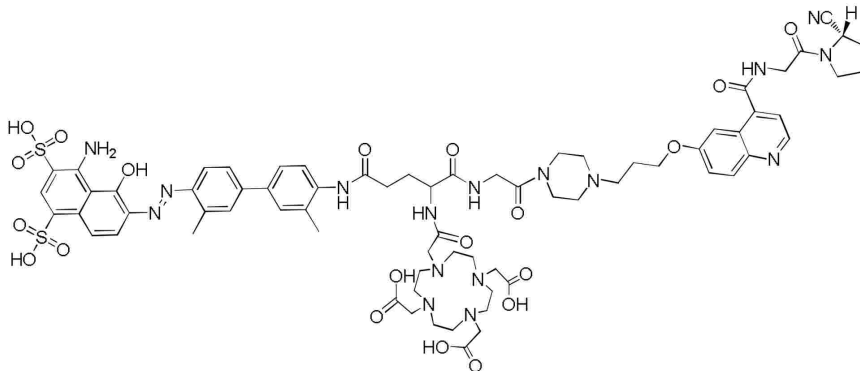
10

式 (I I - 2)



20

式 (I I - 3)

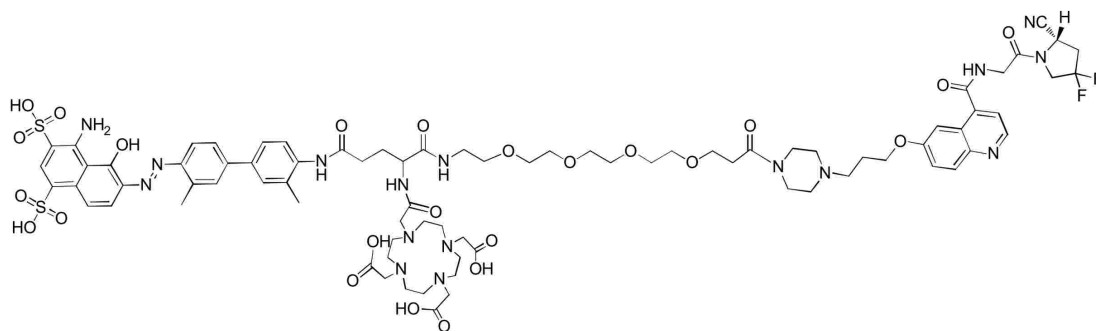


30

式 (I I - 4)

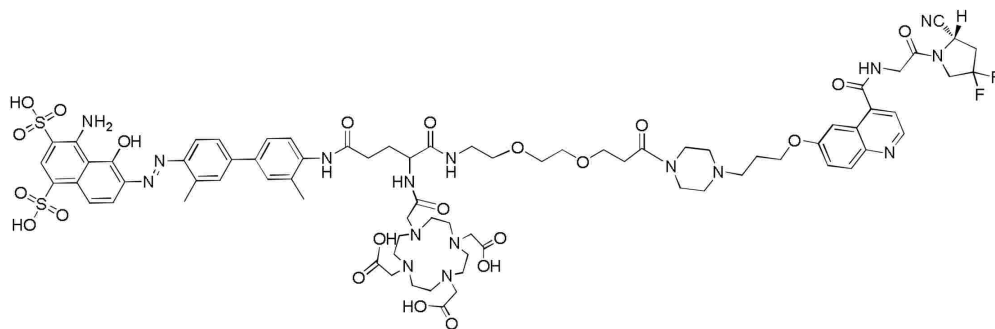
40

50



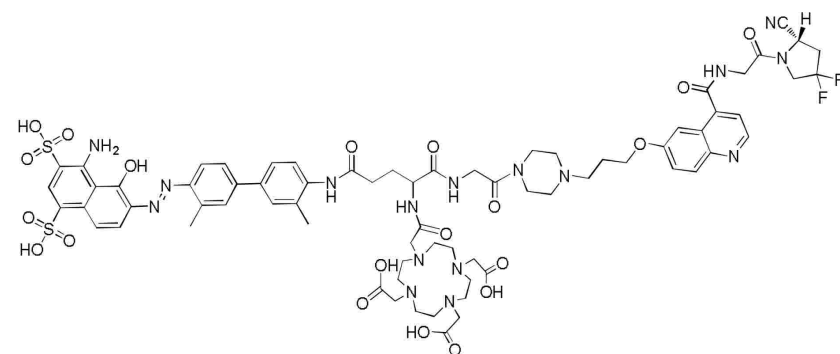
10

式 (I I - 5)



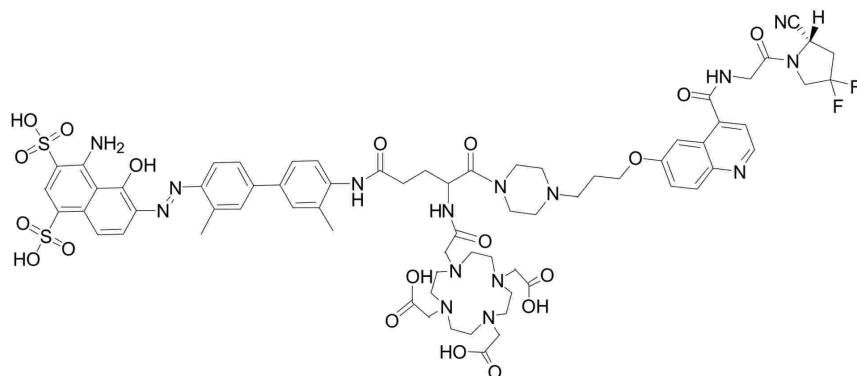
20

式 (I I - 6)



30

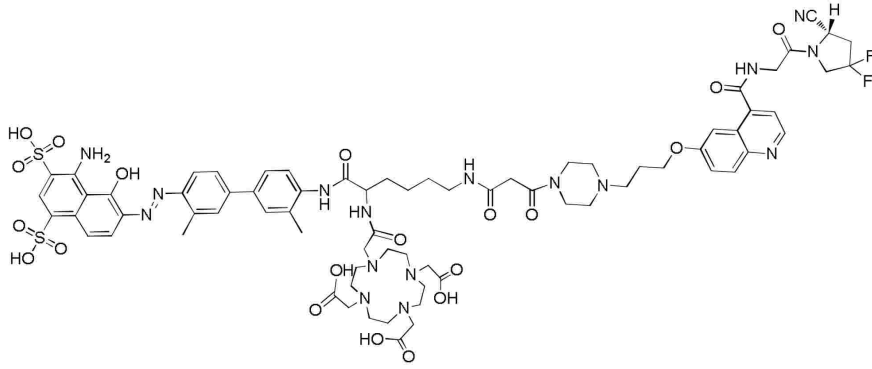
式 (I I - 7)



40

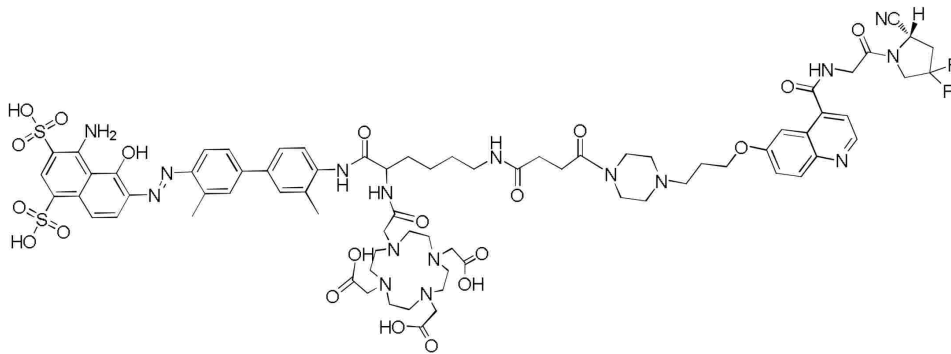
式 (I I - 8)

50



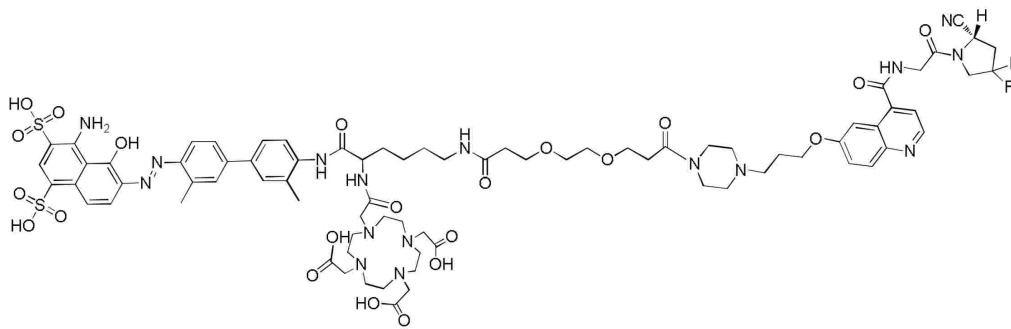
10

式 (II - 13)



20

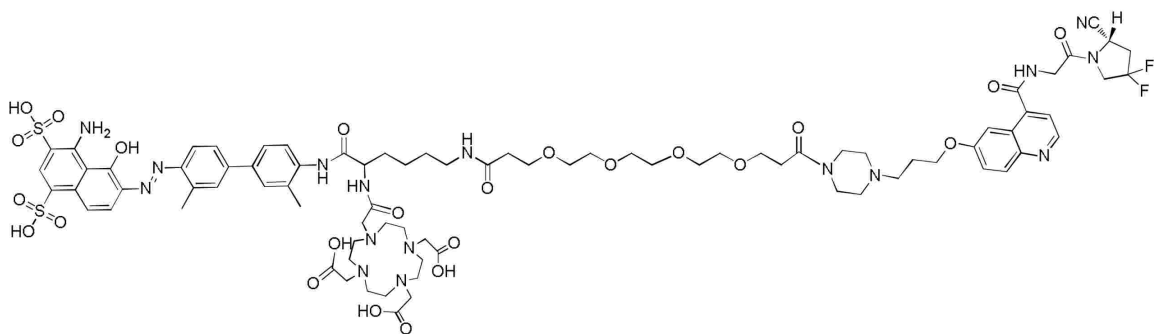
式 (II - 14)



30

式 (II - 15)

又は



40

式 (II - 16)

【 0 0 6 6 】

ここで、実施例 10 の化合物 (II - 10) のマススペクトルを図 14 に、実施例 11

50

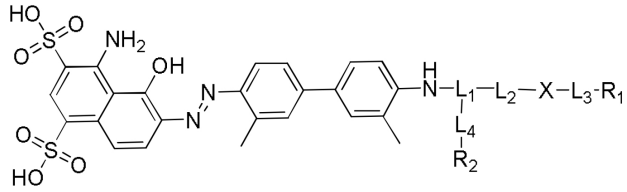
の化合物 (I I - 1 1) のマススペクトルを図 1 5 に示す。

実施例 1 7 ~ 3 8 :

【 0 0 6 7 】

実施例 1 ~ 1 6 の調製方法を参照して、以下の式 (I) で表される t E B - F A P I 化合物を調製した。

【 化 1 4 】



式 (I)

【 表 1 】

実施例	X	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	R ₁	R ₂
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							

10

20

30

40

50

26							
27							
28							
29	N		—	—	—		
30	S						
31	O						
32	C						
33			—		—		
34					—		
35					—		
36			—		—		
37					—		
38					—		

10

20

30

40

実施例 39：放射性 Ga - 68 標識 tEB - FAPI 複合体の調製

【0068】

湿式法：実施例 1 で調製した化合物 20 の酢酸 - 酢酸塩溶液 (1.0 g / L) 0.5 mL の入った遠心管に、約 18.5 ~ 1850 メガベクレル (MBq) の $^{68}\text{GaCl}_3$ 塩酸溶液 (ゲルマニウムガリウム発生器から溶出) を加え、37 で 20 分間反応させた。C18 分離カートリッジを取り、まず無水エタノール 10 mL でゆっくりとすすぎ、次に水 10 mL ですすいだ。標識溶液を水 10 mL で希釈した後、分離カラムにロードし、まず水 10 mL で標識されていない ^{68}Ga イオンを除去し、次に、10 mM HCl エタノール溶液 0.3 mL ですすいで ^{68}Ga 標識 tEB - FAPI 複合体を得た。溶出液を生理

50

食塩水で希釈し、無菌濾過して⁶⁸Ga標識tEB-FAPI複合体の注射液を得た。

【0069】

凍結乾燥法：化合物20を含む凍結乾燥キットに、約18.5～1850メガベクレル(MBq)の⁶⁸GaCl₃塩酸溶液(ゲルマニウムガリウム発生装置から溶出)を加え、均一に混合し、37°Cで20分間反応させた。C18分離カートリッジを取り、まず無水エタノール10mLでゆっくりとすすぎ、次に水10mLですすいだ。標識溶液を水10mLで希釈した後、分離カラムにロードし、まず水10mLで標識されていない⁶⁸Gaイオンを除去し、次に、10mM HClエタノール溶液0.3mLですすいで複合体溶出液を得た。溶出液を生理食塩水で希釈し、無菌濾過して⁶⁸Ga標識tEB-FAPI複合体の注射液を得た。

10

【0070】

実施例40：Lu-177標識tEB-FAPI複合体の調製

【0071】

湿式法：約18.5～1850MBqの¹⁷⁷LuCl₃酢酸ナトリウム溶液をそれぞれ、実施例1の化合物20、実施例2の化合物(式II-2の化合物)及び実施例3の化合物(式II-3の化合物)の酢酸-酢酸塩溶液(1.0g/L)0.5mLを含む3本の遠心管に加え、90°Cで20分間反応させた。C18分離カートリッジを取り、まず無水エタノール10mLでゆっくりとすすぎ、次に水10mLですすいだ。標識溶液を水10mLで希釈した後、分離カラムにロードし、まず水10mLで標識されていない¹⁷⁷Luイオンを除去し、次に、10mM HClエタノール溶液0.3mLですすいで3つの¹⁷⁷Lu標識tEB-FAPI複合体を得た。溶出液を生理食塩水で希釈し、無菌濾過して3つの¹⁷⁷Lu標識tEB-FAPI複合体の注射液を得た。

20

【0072】

凍結乾燥法：約18.5～1850MBqの¹⁷⁷LuCl₃酢酸ナトリウム溶液をそれぞれ、実施例1の化合物20、実施例2の化合物(式II-2の化合物)及び実施例3の化合物(式II-3の化合物)を含む3つの凍結乾燥キットに加え、均一に混合し、90°Cで20分間反応させた。C18分離カートリッジを取り、まず無水エタノール10mLでゆっくりとすすぎ、次に水10mLですすいだ。標識溶液を水10mLで希釈した後、分離カラムにロードし、まず水10mLで標識されていない¹⁷⁷Luイオンを除去し、次に、10mM HClエタノール溶液0.3mLですすいで3つの¹⁷⁷Lu標識tEB-FAPI複合体溶出液を得た。溶出液を生理食塩水で希釈し、無菌濾過して3つの¹⁷⁷Lu標識tEB-FAPI複合体の注射液を得た。

30

【0073】

実施例：分析及び適用効果

【0074】

1、HPLC分析及び同定

【0075】

HPLCシステム：SHIMADZULC-20A、分析用のC18クロマトグラフィーカラム(YMC、3μm、4.6×150mm)。検出波長254nm、流速1mL/分、溶出勾配：0～3分：10%アセトニトリル及び90%水(50mM酢酸アンモニウム)を維持した。3～16分：90%アセトニトリル及び10%水(50mM酢酸アンモニウム)に増加した。16～18分：90%アセトニトリル及び10%水(50mM酢酸アンモニウム)を維持した。18～20分：10%アセトニトリル及び90%水(50mM酢酸アンモニウム)に減らした。20～22分：10%アセトニトリル及び90%水(50mM酢酸アンモニウム)を維持した。

40

【0076】

実施例1の化合物10、化合物17、化合物10と化合物17の反応系、化合物19、及び化合物19とDOTA-NHSの反応系を上記のシステムに従って同定及び分析し、得られた結果を図16～図20に示す。

【0077】

50

以下、実施例 39 及び実施例 40 で調製した 2 つの放射性標識プローブを実験用薬剤として使用し、それらの性能測定を以下のように説明する。

【0078】

2、正常マウスにおける ^{68}Ga 標識 tEB - FAPI 複合体の MicroPET イメージング

【0079】

実施例 39 の方法に従って純度が 95% を超える ^{68}Ga - tEB - FAPI を調製し、正常な FVB マウスに、3.7 MBq の ^{68}Ga - tEB - FAPI 又は ^{68}Ga - FAPI - 02 (対照として) を尾静脈から注射し、次にイソフルラン麻酔下で、投与から 0 ~ 120 分後にそれぞれ MicroPET イメージングを行った。結果を図 21A 及び図 21B に示す。結果は、実施例 39 の複合体 ^{68}Ga - tEB - FAPI がマウスの心血液プールで高い取り込みを示したのに対し(図 21A)、 ^{68}Ga - FAPI - 02 が試験時間内にほぼ完全に除去された(図 21B)ことを示した。これは、切断型エバンスブルーの導入が血液循環半減期を有意に延長できることを示している。

10

【0080】

3、ヒト由来膵臓癌異種移植モデルマウスにおける ^{177}Lu 標識 tEB - FAPI 複合体の腫瘍取り込み実験

【0081】

実施例 40 の方法に従って純度が 95% を超える ^{177}Lu - tEB - FAPI を調製し、1.3 MBq の ^{177}Lu - tEB - FAPI を正常マウス及びヒト由来膵臓癌異種移植モデルマウスにそれぞれ尾静脈から注射した。注入後の異なる時点で SPECT イメージングを実施し、結果を図 22 及び図 23 に示す。結果は、 ^{177}Lu - tEB - FAPI が正常マウスにおいて良好な薬物動態を有し、ヒト膵臓癌異種移植モデルマウスにおいて腫瘍組織に継続的に取り込まれ、48 時間以上維持され得ることを示した。これは、tEB - FAPI が、腫瘍取り込み及び保持時間が有意に増加され、腫瘍治療薬及び造影剤として使用できることを示している。

20

【0082】

要約すると、本発明が提供する切断型エバンスブルー修飾線維芽細胞活性化タンパク質阻害剤は、その血液循環半減期を有意に延長することができ、腫瘍での取り込みと蓄積及び保持時間を増加させることができ、このような新規性は、現時点では他の FAPI 造影剤には見られない。更なる前臨床動物レベル及び臨床研究により、この阻害剤は、FAP タンパク質の高発現を伴う腫瘍の放射性核種治療及びイメージングへの応用が期待されることが確認された。

30

【0083】

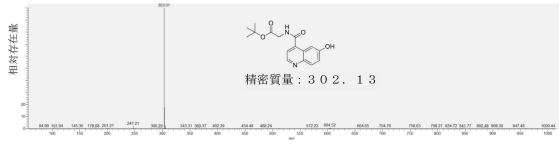
以上、本発明を一般的な説明、具体的な実施形態及び試験により詳細に説明したが、本発明に基づいていくつかの変更又は改良を行うことができることは当業者には明らかである。したがって、本発明の精神から逸脱しない範囲で行われるこれらの変更又は改良は、すべて本発明の保護範囲に属する。

40

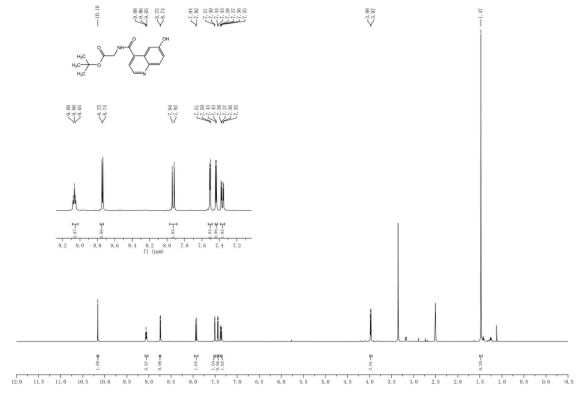
50

【圖面】

【圖 1】

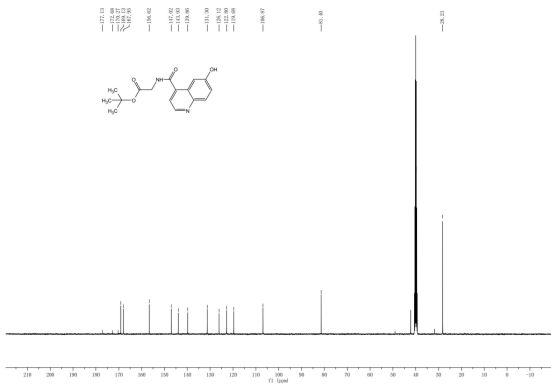


【圖 2】

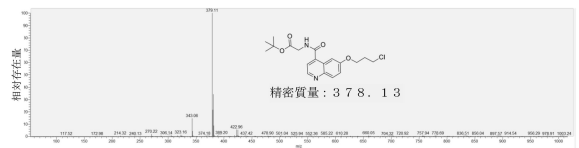


10

【圖 3】



【圖 4】



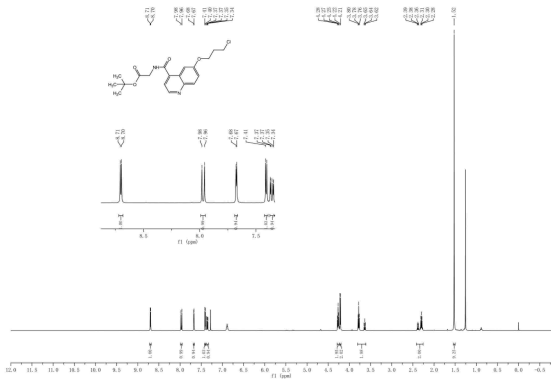
20

30

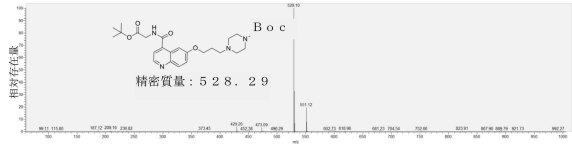
40

50

【 図 5 】

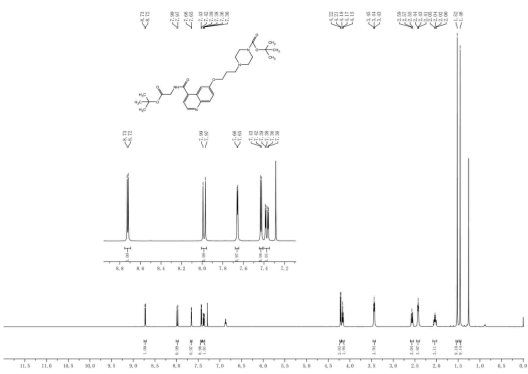


【 図 6 】

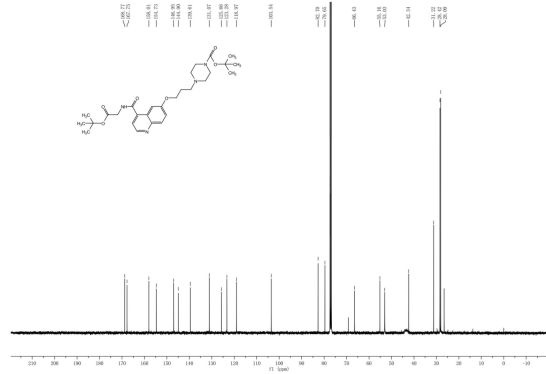


10

【 図 7 】

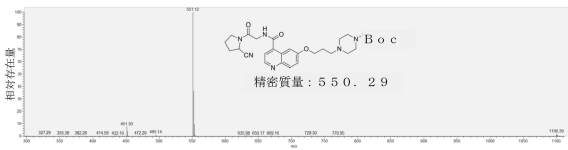


【 図 8 】

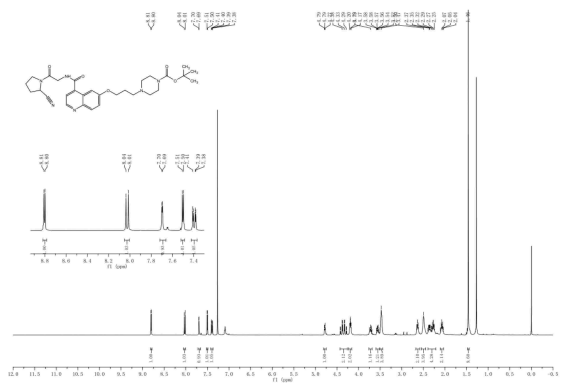


20

【 図 9 】




【 図 10 】

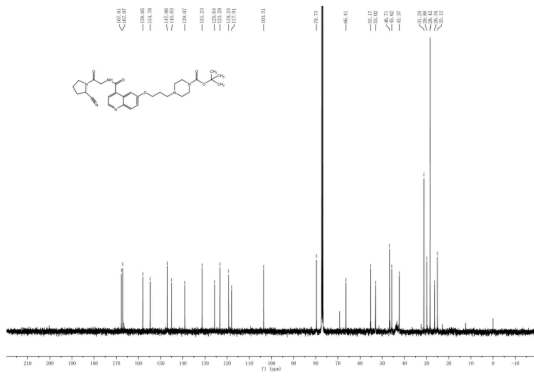



30

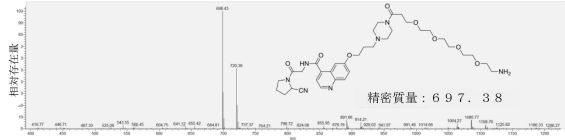
40

50


【 1 1】

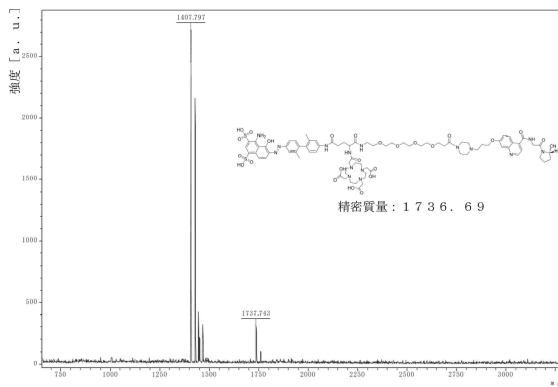



【 1 2】

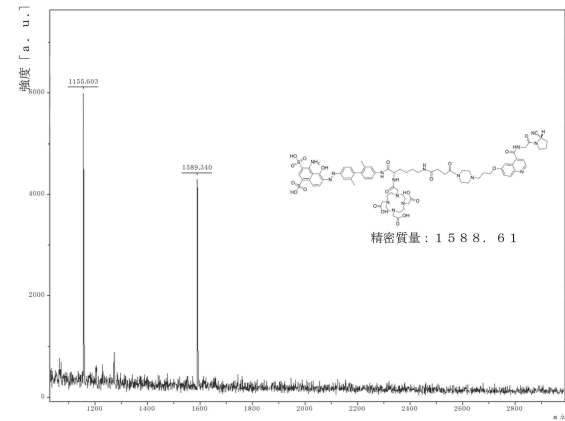


10


【 1 3】

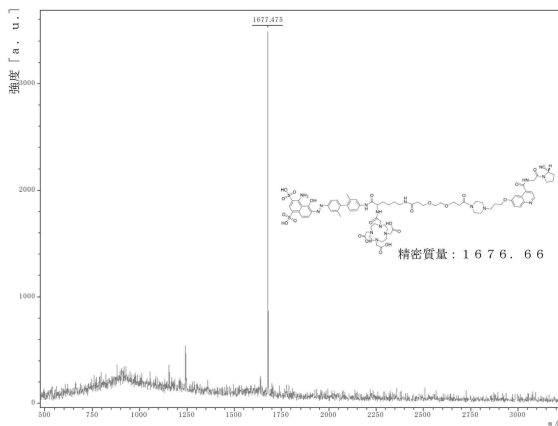



【 1 4】

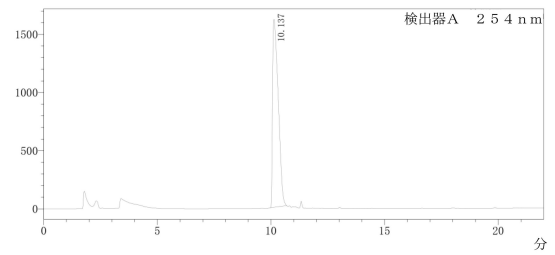


20

【 1 5】



【 1 6】

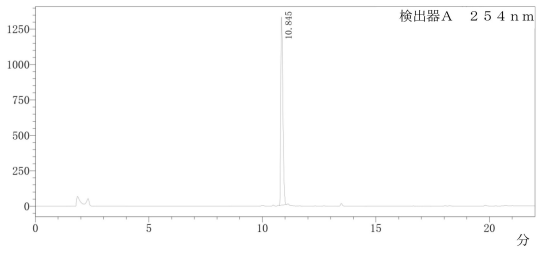


30

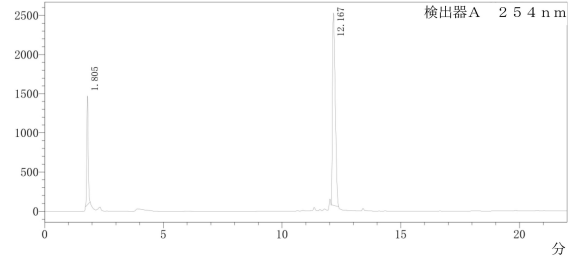
40

50

【図 17】

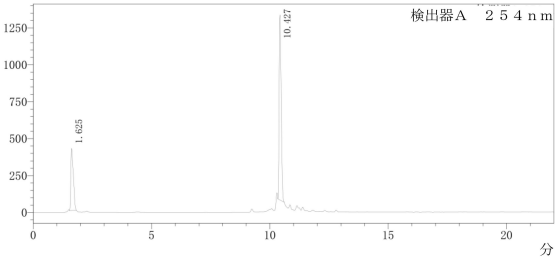


【図 18】

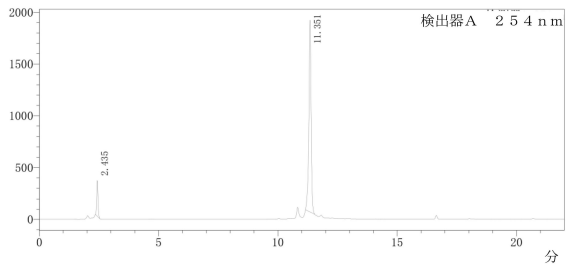


10

【図 19】

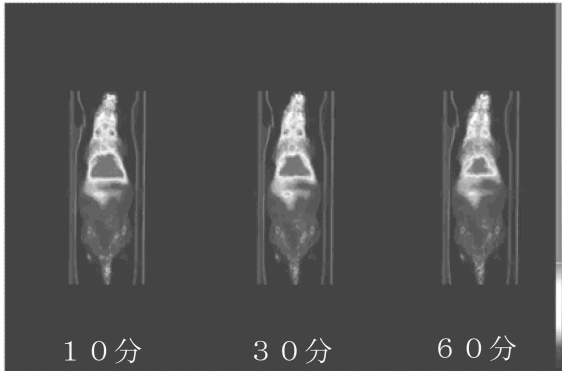


【図 20】

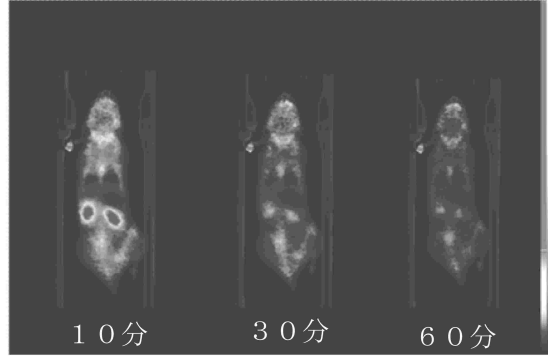


20

【図 21 A】



【図 21 B】

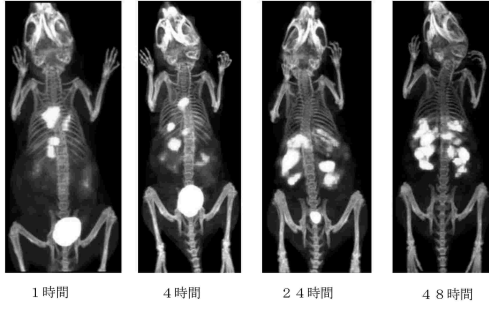


30

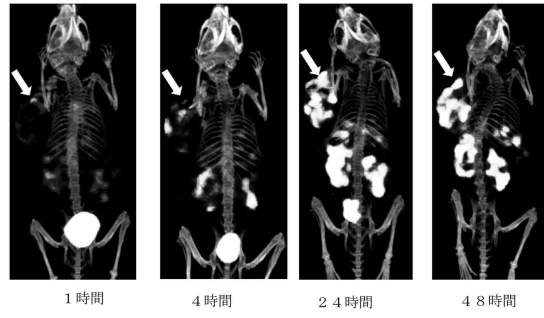
40

50

【 図 2 2 】



【 図 2 3 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

早期審査対象出願

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

(72)発明者 徐 鵬飛

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

(72)発明者 郭 志徳

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

(72)発明者 吳 暁明

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

(72)発明者 楊 清宝

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

(72)発明者 何 田

中国山東省烟台市牟平区濱海東路500号52号楼101号

審査官 阿久津 江梨子

(56)参考文献 国際公開第2019/154886(WO, A1)

特表2021-500373(JP, A)

中国特許出願公開第112194651(CN, A)

国際公開第2021/016392(WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07D 401/14

A61K 51/04

Caplus/REGISTRY(STN)