

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7340459号

(P7340459)

(45)発行日 令和5年9月7日(2023.9.7)

(24)登録日 令和5年8月30日(2023.8.30)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K 5/02 (2006.01)

C 0 7 K 5/02

A 6 1 K 51/04 (2006.01)

A 6 1 K 51/04 1 0 0

A 6 1 K 47/64 (2017.01)

A 6 1 K 51/04 2 0 0

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/64

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 51 (全148頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-562312(P2019-562312)

(86)(22)出願日 平成30年5月24日(2018.5.24)

(65)公表番号 特表2020-520902(P2020-520902
A)

(43)公表日 令和2年7月16日(2020.7.16)

(86)国際出願番号 PCT/EP2018/063734

(87)国際公開番号 WO2018/215627

(87)国際公開日 平成30年11月29日(2018.11.29)

審査請求日 令和3年5月21日(2021.5.21)

(31)優先権主張番号 17000891.6

(32)優先日 平成29年5月24日(2017.5.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

(31)優先権主張番号 PCT/EP2017/000717

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

最終頁に続く

(73)特許権者 521489207

アイティーエム アイソトープ テクノロ

ジーズ ミューニック エスイー

ドイツ連邦共和国, 8 5 7 4 8 ガルヒ

ング バイ ミュンヘン, リヒテンベルク

シュトラッセ 1

(73)特許権者 501494414

パウル・シェラー・インスティトゥート

スイス国, 5 2 3 2 ヴィリゲン・ペー

エスイー

(74)代理人 100107766

弁理士 伊東 忠重

(74)代理人 100070150

弁理士 伊東 忠彦

(74)代理人 100107515

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規 P S M A 結合剤及びその使用

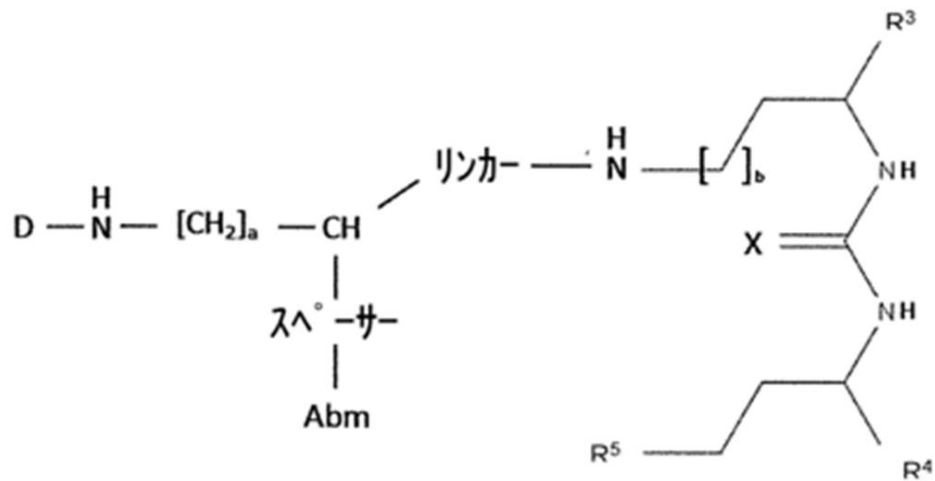
(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

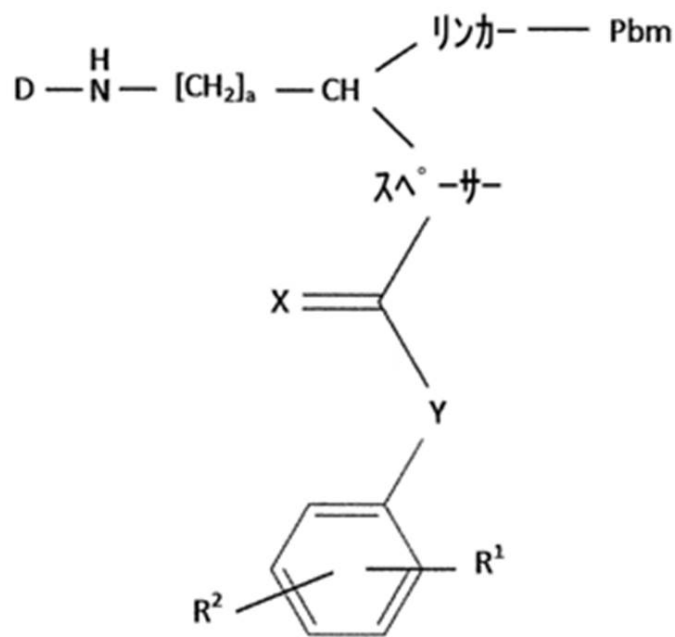
一般式(1)(i)又は(1)(ii):

【化 1】

(1)(i)



10



20

30

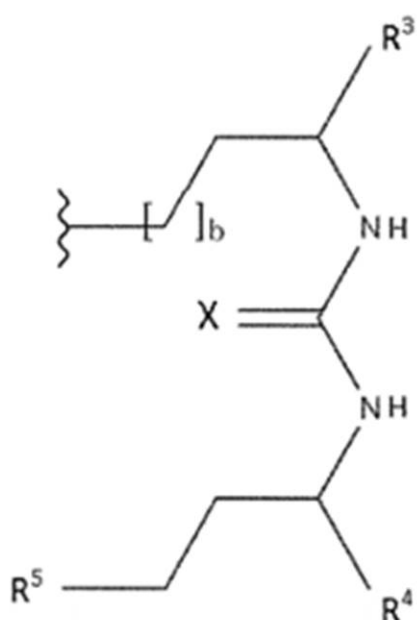
(1)(ii)

(一般式(1)(i)中、Abmは、アルブミン結合体であり、

一般式(1)(ii)中、Pbmは、下記一般式(5)で特徴付けられるPSMA結合体であり、

40

【化 2】



10

20

(5)

一般式(1)(i)又は(1)(ii)中、Dは、キレーターであり、
 一般式(1)(ii)中、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、
 分岐状、非分岐状、又は環状の任意に置換されていてもよい $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビル、
 $C_2 - C_{12}$ アルケニル、 $C_2 - C_{12}$ アルキニル、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 CHO 、 CO
 R^6 、 CH_2OR^6 、 NR^6R^7 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、又は SR^6
 R^6 から選択される、又は R^1 と R^2 が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{10}$
 ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘ
 テロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、
 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 NR^6R^7 、 $CH_2NR^6R^7$ 、及び SR^7 、 $=O$ 、 $=$
 S 、及び $=NH$ から独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、

30

一般式(1)(ii)中、Yは、単結合、又は $-(CH_2)_e-$ (e は、1~12から
 選択される整数である。)、 NR^6R^7 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ から選択され、前記 $-(CH_2)_e-$
 における非隣接 CH_2 基の1以上は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO$
 $-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-C$
 $OO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C-C-$
 $-O-CO-O-$ で置き換えられていてもよく、

R^1 、 R^2 、及びYにおける R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐
 状、又は環状の $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビルから選択され、

40

一般式(1)(i)又は(5)中、 R^3 、 R^4 、及び R^5 は、それぞれ独立して、 $-CO$
 H 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO$
 $4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1 - C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-O(C_1 - C_{10})$ アルキ
 ル、 $-C(O)-NHR^8$ 、又は $-C(O)-NR^8R^9$ から選択され、 R^8 及び R^9 は、
 それぞれ独立して、H、結合、 $(C_1 - C_{10})$ アルキレン、F、Cl、Br、I、 $C(O)$
 (S) 、 $-C(S)-NH$ -ベンジル、 $-C(O)-NH$ -ベンジル、 $-C(O)$
 $(C_1 - C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1 - C_{10})$
 アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-$
 $(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-$

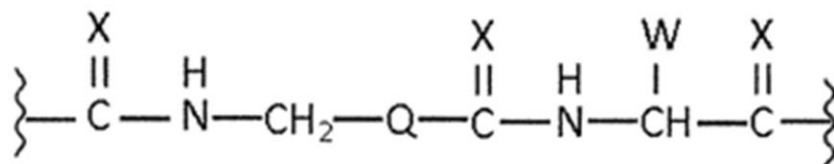
50

CO_2H 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{C}[(\text{CH}_2)_q-\text{COH}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p-\text{COH}]_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{C}[(\text{CH}_2)_q-\text{CO}_2\text{H}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p-\text{CO}_2\text{H}]_3$ 、又は $-(\text{CH}_2)_p-(\text{C}_5-\text{C}_{14})$ ヘテロアリアルから選択され、

一般式(1)(i)又は(1)(ii)中、スペーサーは、少なくとも1つのC-N結合を含み、

一般式(1)(i)又は(1)(ii)中、リンカーは、下記一般式(6)：

【化3】



10

(6)

20

(一般式(6)中、

Qは、置換又は非置換のシクロアルキルから選択され、

Wは、 $-(\text{CH}_2)_c$ -アリアル又は $-(\text{CH}_2)_c$ -ヘテロアリアルから選択され、

cは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。)で特徴付けられ、

一般式(1)(i)、(1)(ii)、(5)又は(6)中、Xは、それぞれ独立して、O又はSから選択され、

一般式(1)(i)、(1)(ii)、(5)、 R^8 、及び R^9 におけるa、b、p、q、r、tは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。) 30

で表されることを特徴とする化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

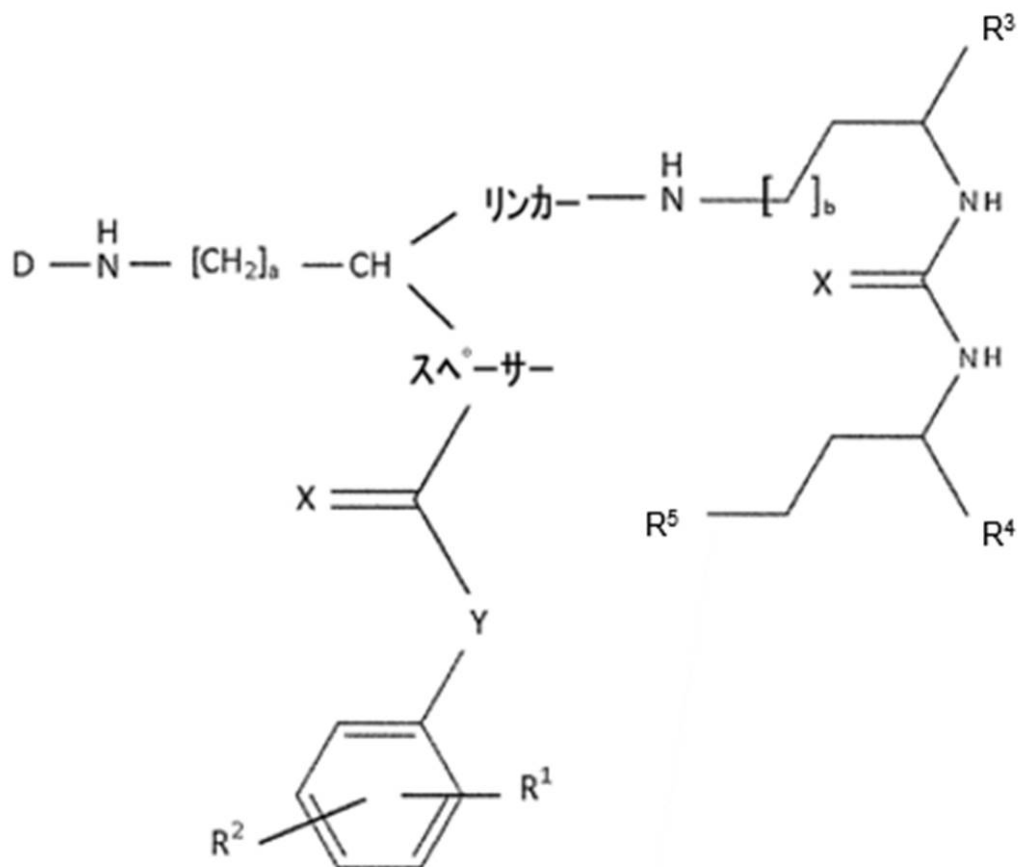
【請求項2】

一般式(1a)：

40

50

【化 4】



(式中、

Dは、キレーターであり、

Xは、それぞれ独立して、O又はSから選択され、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状の任意に置換されていてもよいC₁-C₁₂ヒドロカルビル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、又はSR⁶から選択される、又はR¹とR²が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₀ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及びSR⁷、=O、=S、及び=NHから独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、

Yは、単結合、又は-(CH₂)_e- (eは、1~12から選択される整数である。) NR⁶R⁷、=O、=S、又は=NHから選択され、前記-(CH₂)_e-における非隣接CH₂基の1以上は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR⁶-、-NR⁶-CO-、-CO-NR⁶-、-NR⁶-COO-、-O-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-NR⁶-、-CH=CH-、-C=C-、-O-CO-O-で置き換えられていてもよく、

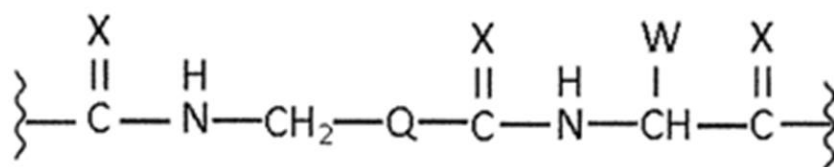
R⁶及びR⁷は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、

R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は-C(O)-NR⁸R⁹から選択され、R⁸及びR⁹は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁

- C₁₀) アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、- C(S) - NH -
 ベンジル -、- C(O) - NH - ベンジル、- C(O) - (C₁ - C₁₀) アルキレン、-
 (CH₂)_p - NH、- (CH₂)_p - (C₁ - C₁₀) アルキレン、- (CH₂)_p - N
 H - C(O) - (CH₂)_q、- (CH₂)_p - C(O) - CO₂H、- (CH₂)_p - C(O)
 NH - C[(CH₂)_q - CO₂H]₃、- C[(CH₂)_p - CO₂H]₃、- (CH₂)
 p - C(O)NH - C[(CH₂)_q - CO₂H]₃、- C[(CH₂)_p - CO₂H]₃
 、又は - (CH₂)_p - (C₅ - C₁₄) ヘテロアリールから選択され、
 スペースは、少なくとも 1 つの C - N 結合を含み、
 リンカーは、一般式 (6) :

10

【化 5】



20

(6)

(式中、

X は、それぞれ独立して、O 又は S から選択され、

Q は、置換又は非置換のシクロアルキルから選択され、

W は、- (CH₂)_c - アリール又は - (CH₂)_c - ヘテロアリールから選択され、

c は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。) で特徴付けられ、

a、b、p、q、r、t は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。)

30

で特徴付けられる請求項 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

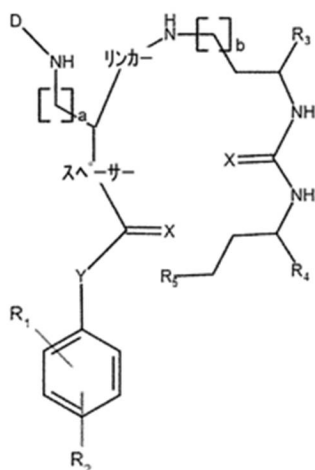
【請求項 3】

一般式 (11) :

40

50

【化 6】



(11)

(式中、

Dは、キレーターであり、

Xは、それぞれ独立して、O又はSから選択され、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状の任意に置換されていてもよいC₁-C₁₂ヒドロカルビル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、又はSR⁶から選択される、又はR¹とR²が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₀ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及びSR⁷、=O、=S、及び=NHから独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、

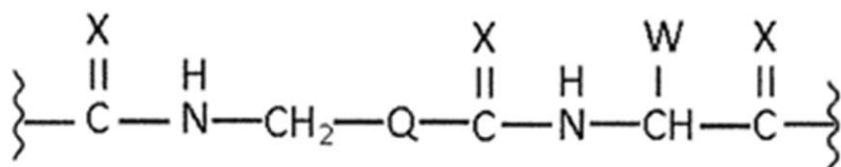
Yは、単結合、又は-(CH₂)_e- (eは、1~12から選択される整数である。) NR⁶R⁷、=O、=S、又は=NHから選択され、前記-(CH₂)_e-における非隣接CH₂基の1以上は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR⁶-、-NR⁶-CO-、-CO-NR⁶-、-NR⁶-COO-、-O-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-NR⁶-、-CH=CH-、-C=C-、-O-CO-O-で置き換えられていてもよく、

R⁶及びR⁷は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、

R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は-C(O)-NR⁸R⁹から選択され、R⁸及びR⁹は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁-C₁₀)アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、-C(S)-NH-ベンジル-、-C(O)-NH-ベンジル、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH、-(CH₂)_p-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH-C(O)-(CH₂)_q、-(CH₂)_p-CO-COH、-(CH₂)_p-CO-CO₂H、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-COH]₃、-C[(CH₂)_p-COH]₃、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-CO₂H]₃、-C[(CH₂)_p-CO₂H]₃、又は-(CH₂)_p-(C₅-C₁₄)ヘテロアリールから選択され、

スペーサーは、少なくとも1つのC-N結合を含み、

リンカーは、一般式 (6) :
【化 7】



10

(6)

(式中、

X は、それぞれ独立して、O 又は S から選択され、

Q は、置換又は非置換のシクロアルキルから選択され、

W は、- (CH₂)_c - アリール又は - (CH₂)_c - ヘテロアリールから選択され、

c は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。) で特徴付けられ、

20

a、b、p、q、r、t は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。) で特徴付けられる請求項1から2のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項4】

前記Dが、1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOT A)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED - CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOT A)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザビシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15)、11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - { 5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル } - N - [5 - ({ 4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル } アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択される請求項1から3のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

30

40

【請求項5】

前記Qが、置換又は非置換のC₅ - C₁₄シクロアルキルから選択される請求項1から4のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項6】

前記Dが、DOTA、HBED - CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA、又はそれらの誘導体から選択される請求項1から5のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

50

【請求項 7】

前記 D が、DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP^{PrA}、又は DO3AP^{AB} から選択される請求項 1 から 5 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 8】

各 X が、O である請求項 1 から 7 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 9】

R¹ 及び R² は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、臭素、及び C₁-6 アルキルから選択される請求項 1 から 8 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

10

【請求項 10】

前記 C₁-6 アルキルが、C₁-3 アルキルから選択される請求項 9 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 11】

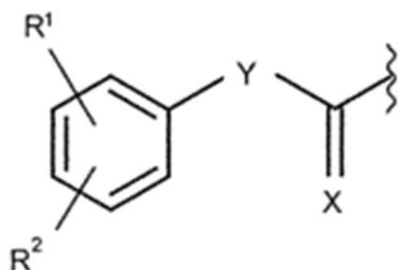
前記 C₁-6 アルキルが、メチルである請求項 9 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 12】

一般式 (1) (ii)、一般式 (1a)、又は一般式 (11) において、以下の基：

【化 8】

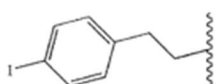
20



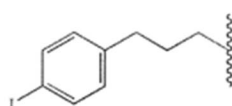
が、構造式 (2a)、(2b)、又は (2c)：

30

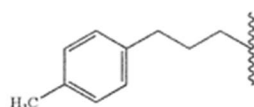
【化 9】



(2a)



(2b)



(2c)

40

のいずれかで特徴付けられる請求項 9 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 13】

R³、R⁴、及び R⁵ が、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO

50

3H 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_2\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_4\text{H}_2$ から選択される請求項 1 から 12 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

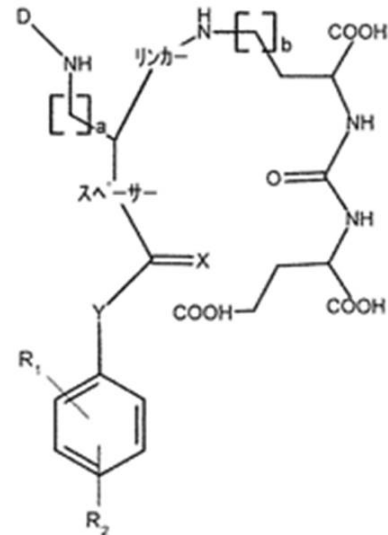
【請求項 14】

前記 R^3 、 R^4 、及び R^5 が、それぞれ $-\text{CO}_2\text{H}$ から選択される請求項 13 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

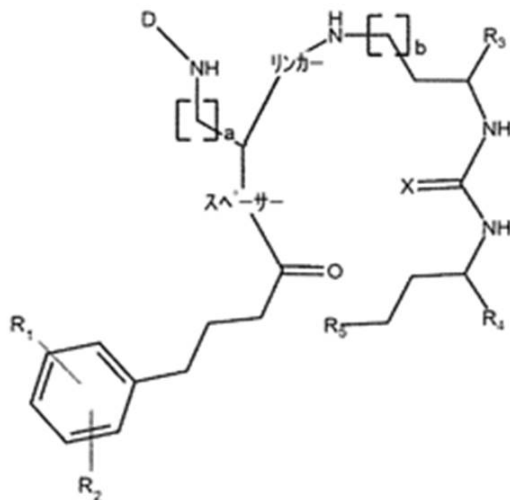
【請求項 15】

一般式 (11.1) ~ (11.3) :

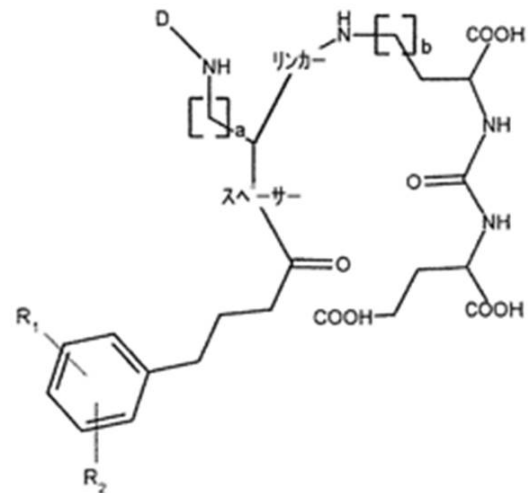
【化 10】



(11.1)



(11.2)



(11.3)

のいずれかで特徴付けられる請求項 3 から 14 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 16】

前記スペーサーが、線状又は分岐状の任意に置換されていてもよい C_{10} - C_{20} ヒドロカルビルを含む請求項 1 から 15 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩

、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 17】

前記スペーサーが、線状又は分岐状の任意に置換されていてもよい C_{1-12} ヒドロカルビルを含む請求項 16 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 18】

前記スペーサーが、線状又は分岐状の任意に置換されていてもよい C_{2-6} ヒドロカルビルを含む請求項 16 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 19】

前記スペーサーが、線状又は分岐状の任意に置換されていてもよい C_{2-4} ヒドロカルビルを含む請求項 16 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 20】

前記ヒドロカルビルが、N から選択される少なくとも 1 個のヘテロ原子を含む請求項 16 から 19 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 21】

前記ヒドロカルビルが、最大 4 個のヘテロ原子を含む請求項 20 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

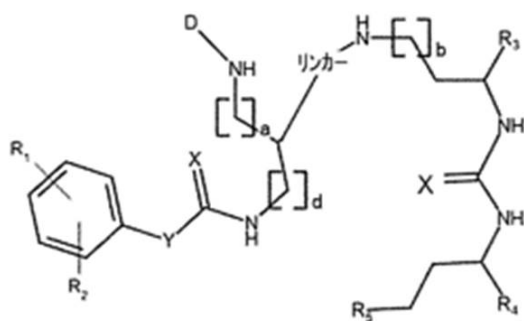
【請求項 22】

前記スペーサーが、 $-[CHR^{10}]_u-NR^{11}-$ (式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立して、H 及び分岐状、非分岐状、又は環状 C_{1-12} ヒドロカルビルから選択され、 u は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。) を含む請求項 1 から 15 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

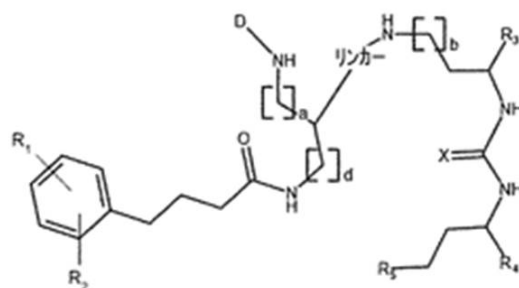
【請求項 23】

一般式 (12.1) ~ (12.4) 又は (13.1) ~ (13.4) :

【化 11】



(12.1)



(12.2)

10

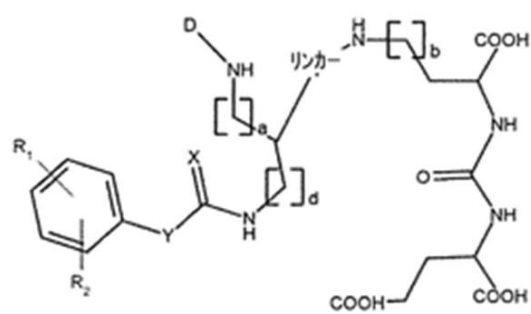
20

30

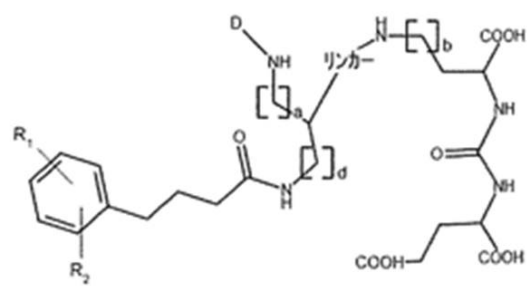
40

50

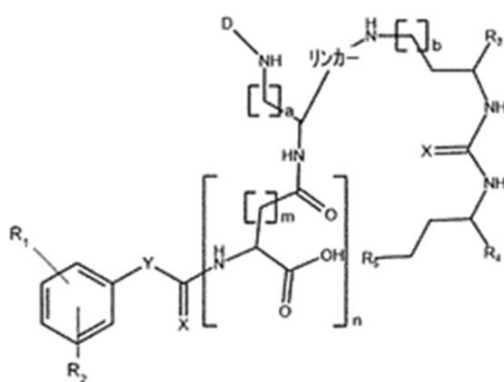
【化 1 2】



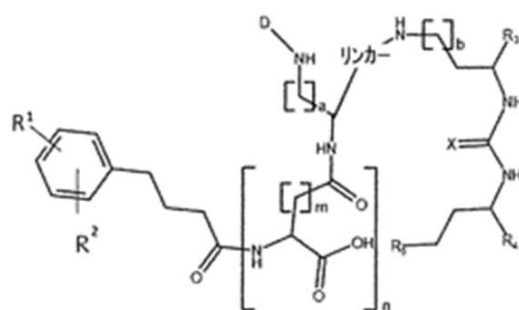
(12.3)



(12.4)



(13.1)



(13.2)

10

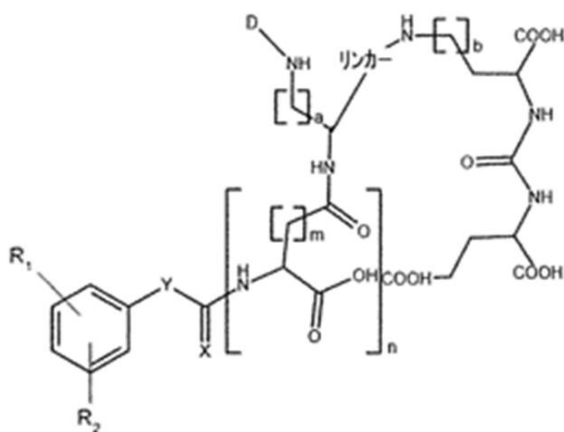
20

30

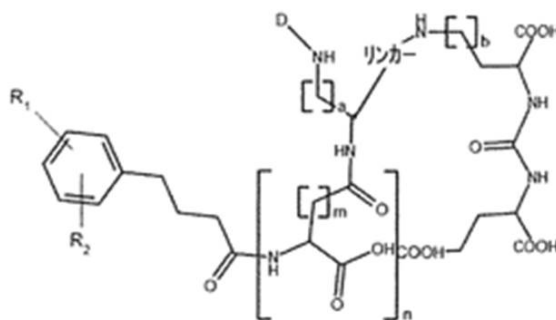
40

50

【化 1 3】



(13.3)



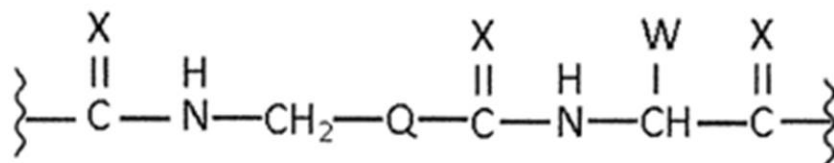
(13.4)

(式中、D、スペーサー、リンカー、X、 $R^1 \sim R^5$ 、a、bは、請求項3で定義した通りであり、m、nは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であり、dは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であり、

R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、臭素、及び C_{1-6} アルキルから選択され、

リンカーは、下記一般式(6)：

【化 1 4】



(6)

(式中、

Xは、それぞれ独立して、O又はSから選択され、

Qは、置換又は非置換のシクロアルキルから選択され、

Wは、 $-(CH_2)_c-$ アリール又は $-(CH_2)_c-$ ヘテロアリールから選択され、cは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。)で特徴付けられ、

a、b、d、m、nは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。)のいずれかで特徴付けられる請求項3から22のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 2 4】

前記Qが、置換又は非置換のC₅-C₁₄シクロアルキルから選択される請求項23に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項25】

前記Qが、C₅-C₇シクロアルキルから選択される請求項1から24のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項26】

前記Qが、シクロヘキシルである請求項25に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項27】

前記Wが、-(CH₂)_c-ナフチル、-(CH₂)_c-フェニル、-(CH₂)_c-ビフェニル、-(CH₂)_c-インドリル、-(CH₂)_c-ベンゾチアゾリルから選択され、cは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である請求項1から26のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

10

【請求項28】

前記Wが、-(CH₂)-ナフチルである請求項27に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項29】

前記Dが、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、N,N"-ビス[2-ヒドロキシ-5-(カルボキシエチル)-ベンジル]エチレンジアミン-N,N"-二酢酸(HBED-CC)、1,4,7-トリアザシクロノナン-1,4,7-三酢酸(NTA)、2-(4,7-ビス(カルボキシメチル)-1,4,7-トリアゾナン-1-イル)ペンタン二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-ペンタン二酸(DOTAGA)、1,4,7-トリアザシクロノナンホスフィン酸(TRAP)、1,4,7-トリアザシクロノナン-1-[メチル(2-カルボキシエチル)-ホスフィン酸]-4,7-ビス[メチル(2-ヒドロキシメチル)ホスフィン酸](NOPO)、3,6,9,15-テトラアザビシクロ[9,3,1]ペンタデカ-1(15),11,13-トリエン-3,6,9-三酢酸(PCTA)、N'-{5-[アセチル(ヒドロキシ)アミノ]ペンチル}-N-[5-(4-(5-アミノペンチル)(ヒドロキシ)アミノ)-4-オキソブタノイル}アミノ]ペンチル]-N-ヒドロキシスクシンアミド(DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、又はそれらの誘導体から選択される請求項23から28のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

20

【請求項30】

前記C₁₋₆アルキルが、C₁₋₃アルキルから選択される請求項23から29のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項31】

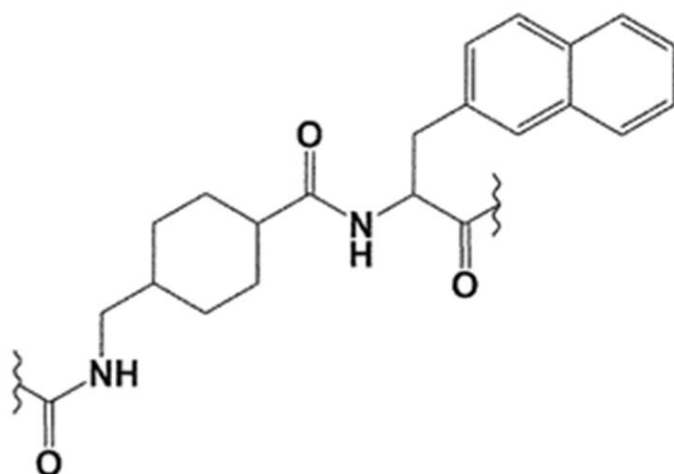
前記C₁₋₆アルキルが、メチルである請求項23から29のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

40

【請求項32】

前記リンカーは、下記一般式(6a)：

【化 1 5】



10

(6a)

20

で特徴付けられる請求項 2 3 から 3 1 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 3 3】

前記 a 及び b は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、又は 6 から選択される整数である請求項 2 3 から 3 2 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 3 4】

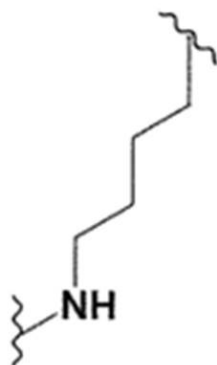
前記 b、d、及び m は、それぞれ独立して、1、2、3、4、5、又は 6 から選択される整数である請求項 2 3 から 3 2 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

30

【請求項 3 5】

前記スペーサーが、式 (3 a)、式 (3 b)、又は式 (3 c)：

【化 1 6】

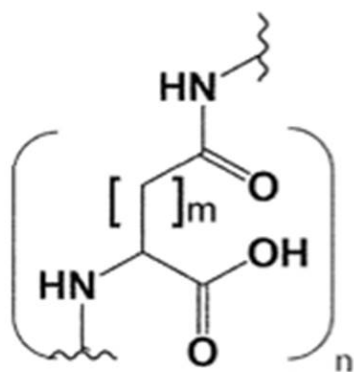


40

(3a)

50

【化 1 7】

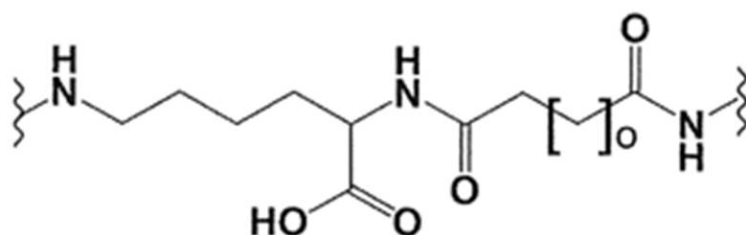


10

(3b)

(式中、mは、1又は2から選択される整数であり、nは、1、2、3、4、又は5から選択される整数である。);

【化 1 8】



20

(3c)

(式中、oは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。)で特徴付けられる請求項1から34のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

30

【請求項 3 6】

前記nは、1、2、又は3から選択される整数である請求項35に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

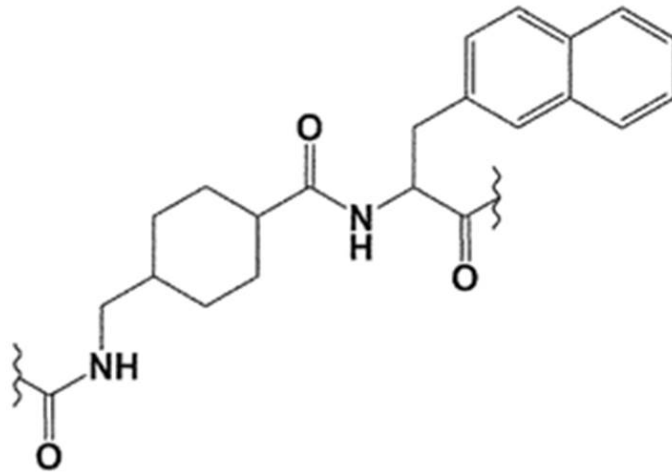
【請求項 3 7】

前記リンカーが、一般式(6a)；

40

50

【化 1 9】



10

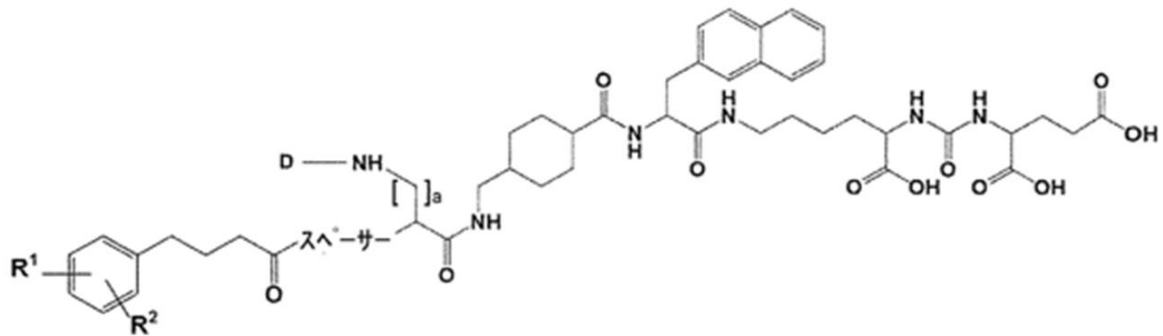
(6a)

20

で特徴付けられ、

前記化合物は、一般式 (1 c) :

【化 2 0】



30

(1c)

で特徴付けられる請求項 1 から 3 6 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

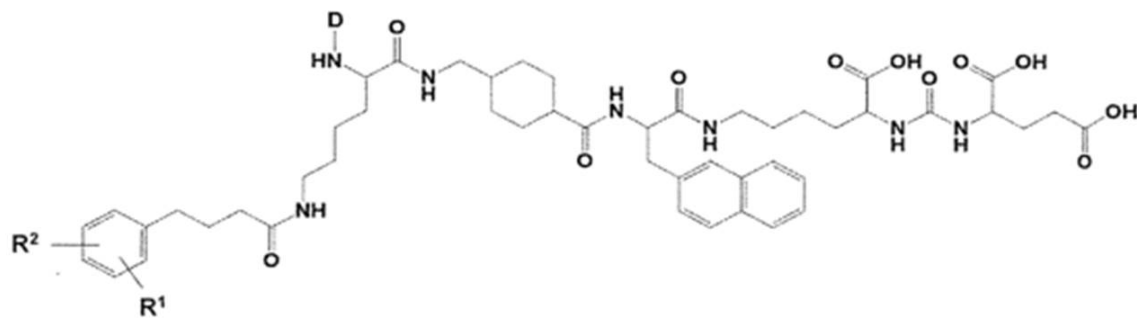
【請求項 3 8】

前記化合物は、一般式 (7 a) :

40

50

【化 2 1】



10

(7a)

で特徴付けられる請求項 3 7 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 3 9】

前記化合物は、構造式 (7 a) (i)、(7 a) (i i)、又は (7 a) (i i i)：

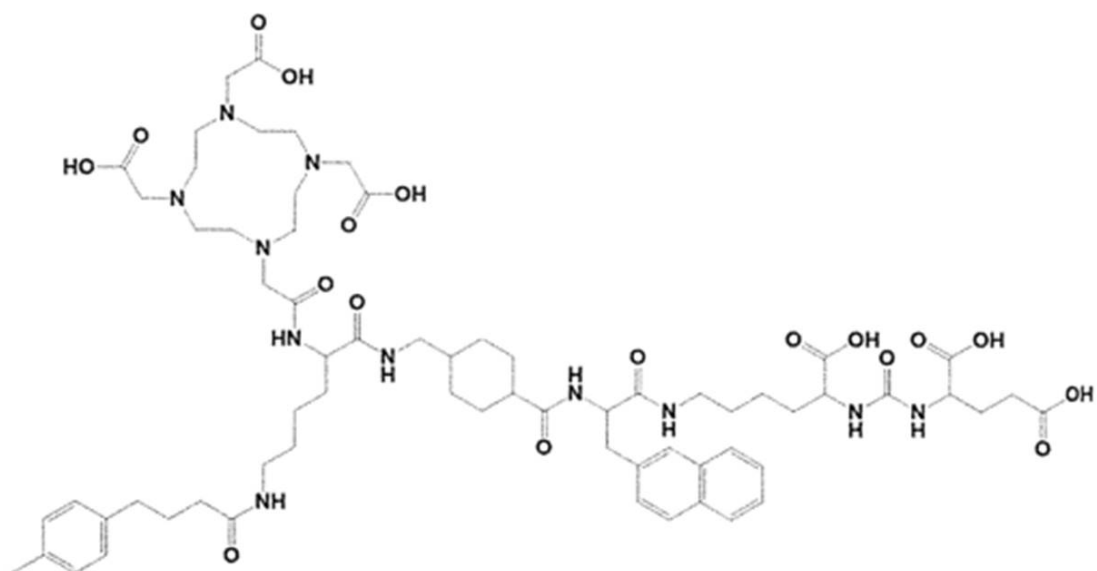
20

30

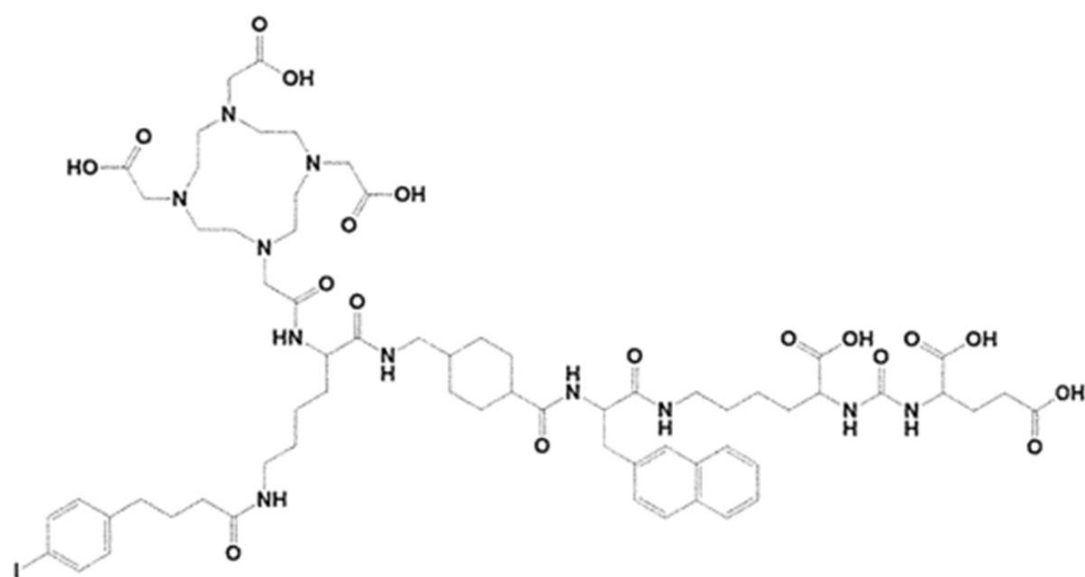
40

50

【化 2 2】

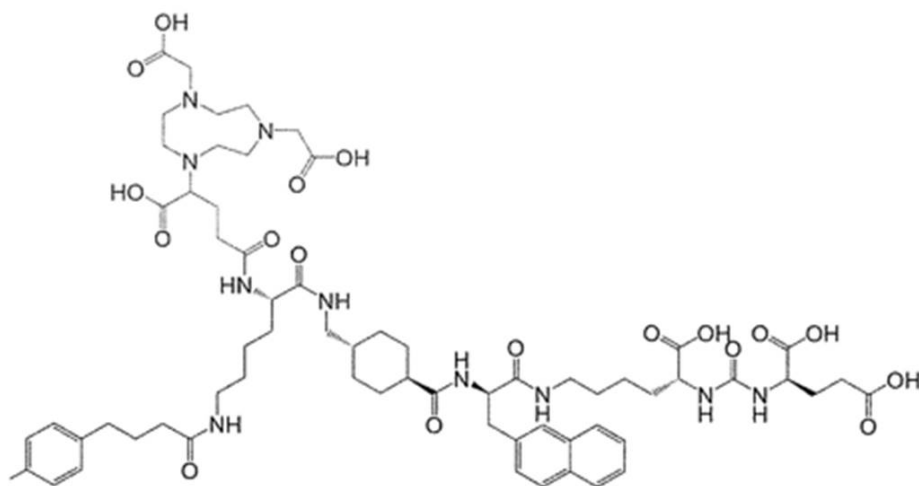


(7a)(i)



(7a)(ii)

【化 2 3】



(7a)(iii)

で特徴付けられる請求項 3 8 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

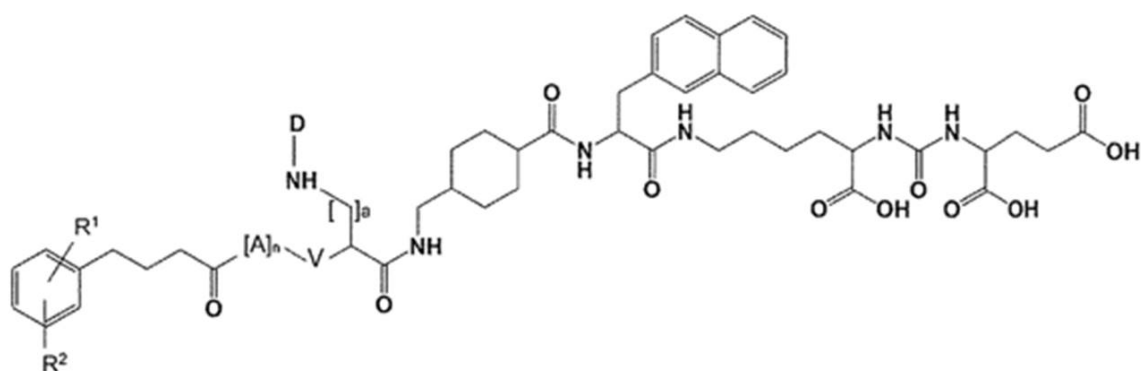
【請求項 4 0】

前記スペーサーが、少なくとも 1 つのアミノ酸残基を含む請求項 1 から 3 6 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 4 1】

前記化合物が、一般式 (7 b) :

【化 2 4】



(7b)

(式中、

A は、アミノ酸残基であり、

V は、単結合、N、又は最大 3 個のヘテロ原子を含む任意に置換されていてもよい C₁ - C₁₂ ヒドロカルビルから選択され、

n は、1、2、3、4、又は 5 から選択される整数である。)

で特徴付けられる請求項 4 0 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 4 2】

前記 V におけるヘテロ原子は、N から選択される請求項 4 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

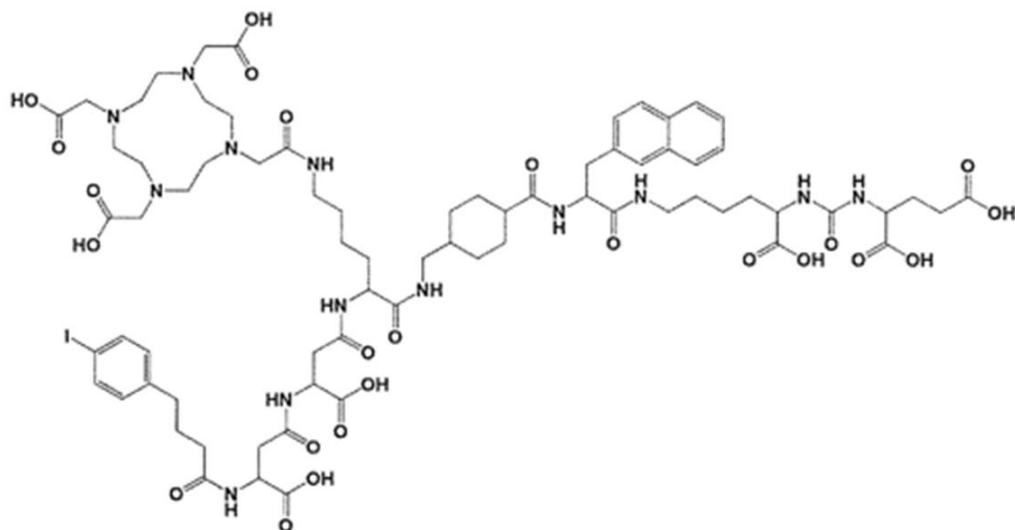
【請求項 4 3】

前記アミノ酸残基が、(D - / L -) アスパラギン酸、グルタミン酸、又はリジンから選択される請求項 4 0 から 4 2 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 4 4】

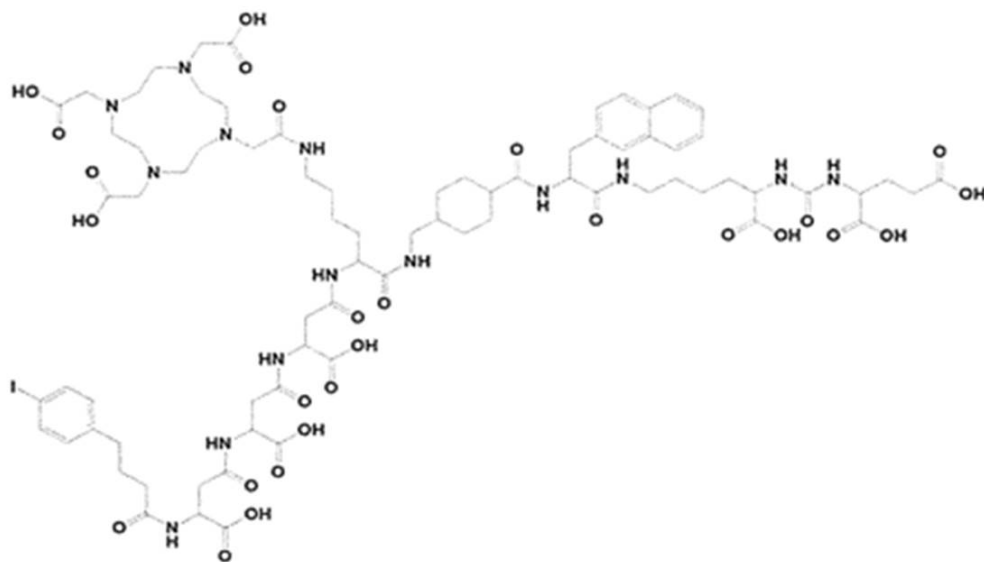
前記化合物が、構造式 (7 b) (i)、(7 b) (i i)、(7 b) (i i i)、又は (7 b) (i v) :

【化 2 5】

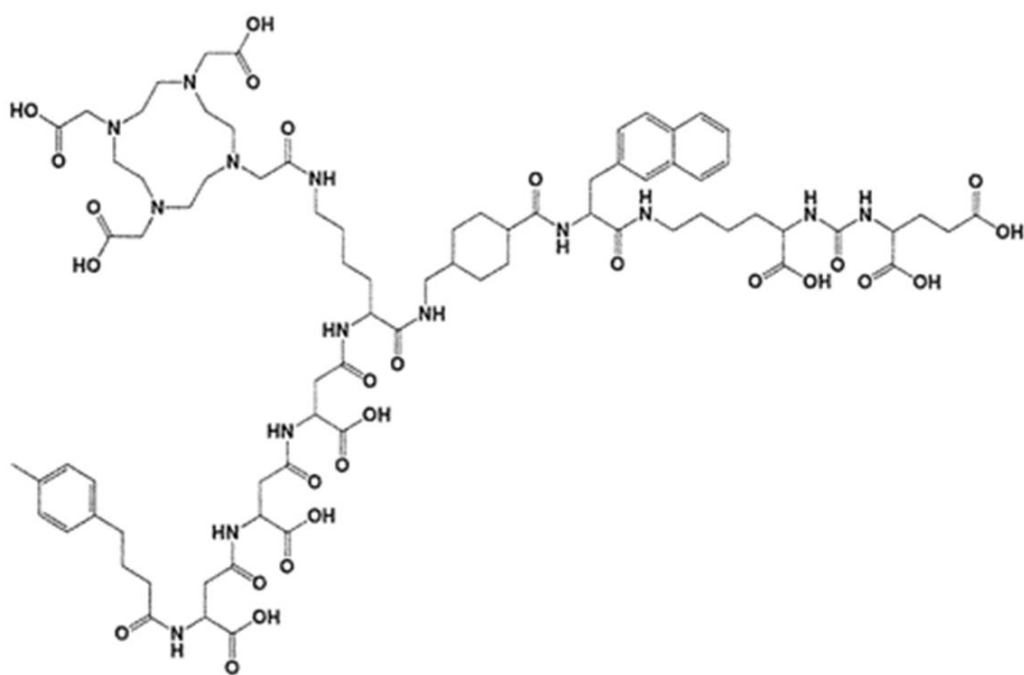


(7b)(i)

【化 2 6】

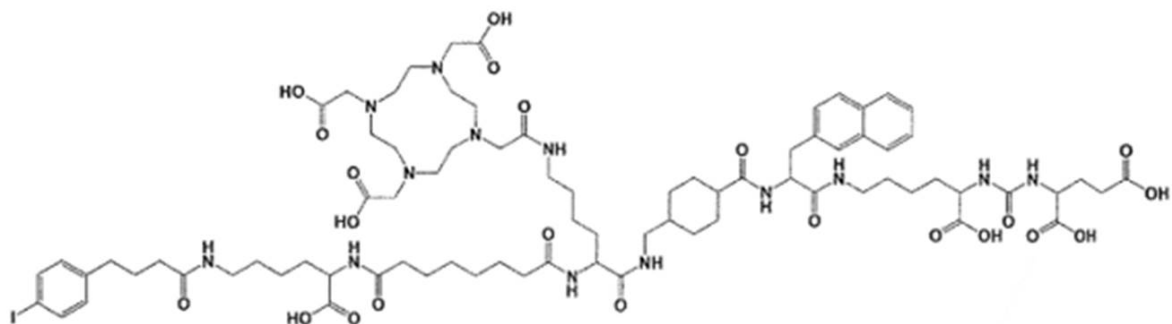


(7b)(ii)



(7b)(iii)

【化 2 7】



10

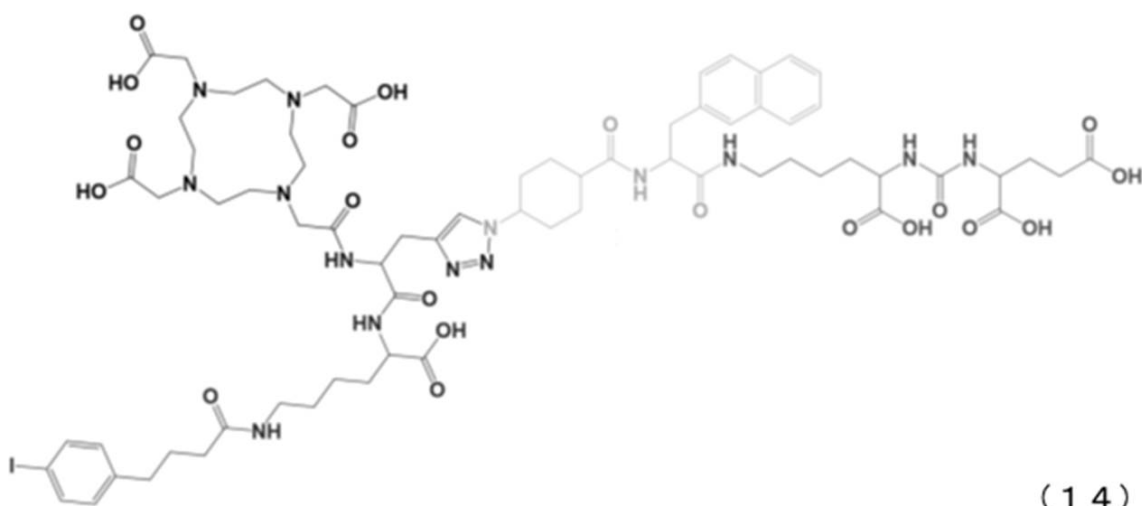
(7b)(iv)

で特徴付けられる、又は

前記化合物が、構造式(14)、(15)、又は(16)：

20

【化 2 8】



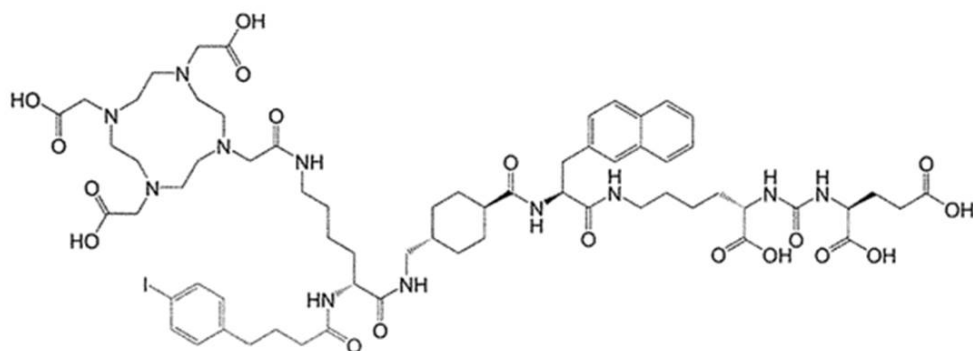
30

(14)

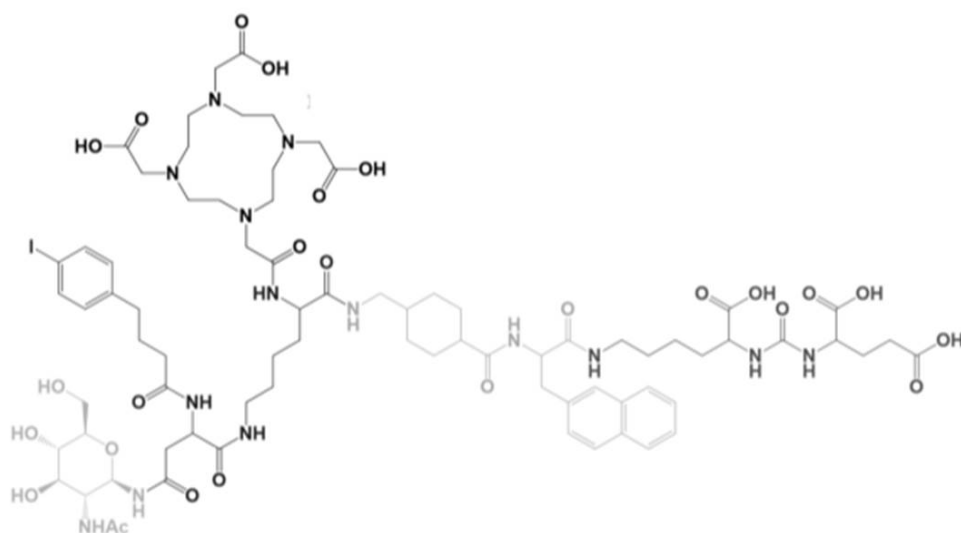
40

50

【化 2 9】



(15)



(16)

で特徴付けられる請求項 4 0 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【請求項 4 5】

放射標識錯体の調製のための、請求項 1 から 4 4 のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項 4 6】

放射性核種と、請求項 1 から 4 4 のいずれかに記載の化合物とを含み、金属が、 ^{94}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{90}In 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{151}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{55}Co 、 ^{57}Co 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{227}Th 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{152}Gd 、 ^{153}Gd 、 ^{157}Gd 、又は ^{166}Dy からなる群から選択されることを特徴とする放射標識錯体。

【請求項 4 7】

請求項 1 から 4 4 のいずれかに記載の化合物又は請求項 4 6 に記載の放射標識錯体と、薬学的に許容される担体及び / 又は賦形剤とを含むことを特徴とする医薬組成物、又は請求項 1 から 4 4 のいずれかに記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、溶媒和物、若しくは放射標識錯体、請求項 4 6 に記載の放射標識錯体、又はここで定義される医薬組成物を含むことを特徴とするキット。

【請求項 4 8】

医薬及び / 又は診断薬における使用のための、請求項 1 から 4 4 のいずれかに記載の化合物、請求項 4 6 に記載の放射標識錯体、請求項 4 7 に記載の医薬組成物、又は請求項 4 7 に記載のキット。

【請求項 49】

前立腺癌、膵臓癌、腎癌、又は膀胱癌を診断、治療、及び／又は予防する方法における使用のための、又は陽電子放出断層撮影（PET）又は単一光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）を含む放射線イメージングのためのものである、請求項 48 に記載の使用のための化合物、放射標識錯体、医薬組成物、又はキット。

【請求項 50】

前立腺特異的膜抗原（PSMA）を発現する細胞及び／又は組織の存在を検出する方法における使用のための、請求項 1 から 44 のいずれかに記載の化合物、請求項 46 に記載の放射標識錯体、請求項 47 に記載の医薬組成物、又は請求項 47 に記載のキット。

【請求項 51】

請求項 48 から 50 のいずれかに記載の使用のための化合物、放射標識錯体、医薬組成物、又はキットにおいて、前記使用が、

（a）前記化合物、放射標識錯体、又は医薬組成物を患者に投与することと、

（b）前記患者から放射線画像を取得することを含む、化合物、放射標識錯体、医薬組成物、又はキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、診断用及び／又は治療用の放射性医薬としての使用が想定される、適切なリンカー及びスパーサーを介して結合されたキレーター、PSMA 結合体、及びアルブミン結合体を含む新規化合物及び放射標識錯体（radio labeled complexes）に関する。具体的には、本発明の化合物及び錯体は、PSMA 発現標的細胞及び組織を検出し、癌を治療及び診断するための（治療用）トレーサー、造影剤、及び治療剤として役立つ。

【0002】

前立腺癌（PCa）は、欧米人にとって主要な癌である。西半球の少なくとも 100 ～ 200 万人の男性が前立腺癌に罹患し、55 ～ 85 歳までの男性の 6 人に 1 人がこの病気に罹患すると推定されている。米国癌協会によれば、米国では毎年約 161,000 もの前立腺癌の新たな症例が診断されている。ステージ IV の転移性前立腺癌患者の 5 年生存率は、僅か約 29% である。

【0003】

転移性 PCa がホルモン不応性になると、残された治療オプションはごく僅かであり、臨床的成功がやや劣る場合が多い。現在の医療ガイドラインによれば、通常、ドセタキセルによる有糸分裂阻害化学療法が推奨されている。しかし、治療はしばしば重篤な副作用を伴い、生存率は、ごく僅かに改善されるに留まる。したがって、潜在的な再発の早期診断と綿密なモニタリングが重要である。前立腺癌の診断は、前立腺からの組織病理学的又は細胞学的試料の検査に基づく。進行性又は再発性前立腺癌の治療モニタリングのための既存のイメージング技術としては、コンピュータ断層撮影（CT）、磁気共鳴（MR）イメージング、及び超音波が挙げられるが、疾患の効果的なモニタリングと管理には不十分な場合が多い。その結果、PCa の早期診断と治療の両方のためのより効果的なツールに対する臨床的需要が高い。

【0004】

腫瘍細胞は、変異により改変された構造を示す独特なタンパク質を発現する可能性があること、又は、非悪性細胞で通常ごく少量産生される正常な（即ち、変異していない）タンパク質を過剰発現する可能性があることがよく知られている。腫瘍抗原は、その発現パターンに基づいて、2つのカテゴリーに大きく分類することができる。即ち、腫瘍細胞にのみ存在し、非悪性細胞には存在しない腫瘍特異的抗原（TSA）と、一部の腫瘍細胞及び非悪性細胞にも存在する腫瘍関連抗原（TAA）に分類できる。TSA は、通常、プロトオンコジーンと腫瘍抑制因子の変異の結果として出現し、異常なタンパク質産生を引き起こし、一方、TAA 発現は、一般に、腫瘍形成に関係のない他の遺伝子の変異によって

10

20

30

40

50

引き起こさる。

【 0 0 0 5 】

腫瘍細胞の表面でのそのようなタンパク質の発現は、そのような腫瘍マーカーを検出することにより、疾患を診断及び特徴付ける機会を提供する。可視化可能なラベルを担持し且つそのような腫瘍マーカーを特異的に認識する低分子薬又はタンパク質性結合剤は、非侵襲的条件下で癌を診断及びイメージングするために通常使用される。

【 0 0 0 6 】

有望な新たなシリーズの低分子量イメージング剤は、前立腺特異的膜抗原 (P S M A) を標的とする。P S M A は、葉酸ヒドロラーゼ I (F O L H 1) としても知られ、膜貫通型の 7 5 0 アミノ酸の I I 型糖タンパク質である。P S M A 遺伝子は、11番染色体の短腕に位置し、葉酸ヒドロラーゼとニューロペプチダーゼの両方として機能する。これは、「脳 P S M A」と呼ばれるグルタミン酸カルボキシペプチダーゼ I I (G C P I I) と等価なニューロペプチダーゼ機能を有し、N - アセチル - アスパルチル - グルタミン (N A A G) を N - アセチルアスパルタート (N A A) とグルタミン酸に切断することにより、グルタミン酸作動性伝達を調節することができる (非特許文献 1) 。

D F

【 0 0 0 7 】

P S M A は、(i) 主に前立腺に限定される (ただし、膀胱、膵臓、肺、腎臓の癌など他の多くの固形腫瘍の新生血管系でも少量検出されるが、正常な血管系では検出されない) 、(i i) 前立腺癌の全てステージでタンパク質として大量に発現する (癌細胞当たり最大 10^6 個の P S M A 分子で) 、(i i i) 細胞表面に提示されるが循環には流入しない、及び (i v) 酵素活性又はシグナル伝達活性に関連する。更に、P S M A の発現は、低分化性且つアンドロゲン非感受性又は転移性の癌で更にアップレギュレートされ、その発現は、通常疾患の進行と相関する。

【 0 0 0 8 】

P S M A の特徴的な発現により、P S M A は、前立腺癌 (及び他の幾つかの癌においても) の重要なマーカーとなる。更に、P S M A はイメージング剤の大きな細胞外標的となる。P S M A はリガンド結合後に内在化されるので、(粒子放出放射性核種を使用する) 標的放射性核種治療だけでなく、免疫毒素の腫瘍細胞特異的送達、免疫細胞の再標的化、プロドラッグの活性化、P S M A ワクチン、プラスミド D N A 、及びアデノウイルス免疫感作などの他の治療戦略の優れた標的である。健常組織では発現レベルが低いので、P S M A は、副作用が最小限に抑えられた高用量療法の可能性も有する。

【 0 0 0 9 】

これまでに、治療用又は診断用の部分を運ぶ幾つかの P S M A 標的化剤が開発された。P R O S T A S C I N T (登録商標) として知られる、F D A が承認した抗 P S M A モノクローナル抗体 (m A b) 7 E 1 1 の放射性免疫コンジュゲートが、前立腺癌の転移と再発の診断に使用されている。この放射性医薬品の成功は、この抗体が P S M A の細胞内ドメインに結合する、したがって、死細胞のみを標的とすることができるという事実ために制限される。更に、モノクローナル抗体及び抗体断片のイメージング剤としての使用は、それらの緩慢な腎クリアランス、不均一な分布、低い腫瘍浸透性及び免疫原性の可能性のためにしばしば制限される。これらの問題を克服するために、P S M A の細胞外ドメインに結合できる様々な低分子 P S M A 標的化剤が P E T / C T 及び S P E C T / C T イメージング用に開発され、例えば、放射標識 N - [N - [(S) - 1 , 3 ジカルボキシプロピル] カルバモイル] - S - [1 1 C] メチル - 1 - システイン (D C F B C) 及び幾つかのウレアベースのペプチド模倣 P S M A 阻害剤 (非特許文献 2) 、例えば、M I P - 1 0 9 5 (非特許文献 3) 、現在臨床評価段階にある P S M A リガンド、及び B e n e s o v a らによって開発された D O T A コンジュゲート P S M A 阻害剤 P S M A - 6 1 7 (非特許文献 4 及び特許文献 1) (これは、全身に分布し、血液から急速に排出される (非特許文献 5)) 。しかし、迅速且つ全身的なアクセスが腫瘍の標的化及び浸透を有利に促進するものの、現在利用可能な P S M A 標的化剤は、標的を発現する正常組織における非特異的な

10

20

30

40

50

「オフターゲット」相互作用を媒介するリスク、及び排泄器官（腎臓など）における放射性医薬の蓄積のリスクを伴う。それにより、非腫瘍組織は、最終的に不可逆的な組織損傷につながる放射線量に曝露される可能性がある。特にアルファ線放射性核種と組み合わせると、異なる放射標識低分子 P S M A 標的化剤（P S M A - 6 1 7 など）が患者の涙腺及び唾液腺に蓄積し、腺組織に損傷を引き起こす可能性があることが実証された（非特許文献 6 及び非特許文献 7）。その問題に対する 1 つの可能な解決策は、P S M A に対して高い親和性を有する P S M A 結合剤の使用を伴う（非特許文献 8 及び非特許文献 9）。

【 0 0 1 0 】

近年、K e l l y ら（非特許文献 1 0）は、P S M A 及びヒト血清アルブミン（H S A）の両方に対して親和性を示す剤を評価した。K e l l y らによって開発されたりガンドは、H S A 結合のための p - （ヨードフェニル）酪酸物及びウレアベースの P S M A 結合体を含む。K e l l y らによって開発された化合物では、放射線治療用ヨウ素（ ^{131}I ）が H S A 結合部分に共有結合し、これがヒドロカルビル鎖を介して P S M A 結合体に直接結合される。しかし、評価された化合物は、適用された放射性核種（ヨウ素に限定）に関してかなり限定されている。更に、評価された化合物について、標的細胞における内在化 / 取り込みの改善は示されなかった。

【 0 0 1 1 】

別のアプローチが、C h o y ら（非特許文献 1 1）によって行われ、C h o y らは、アルブミン結合体を有する ^{177}Lu 標識ホスホロアミデートベースの P S M A 阻害剤を評価した。 ^{177}Lu 放射性核種と錯体を形成する D O T A キレーターを、不可逆的 P S M A 阻害剤 C T T 1 2 9 8（特許文献 2）にエーテル結合させた。しかし、ホスホロアミデートベース P S M A 結合モチーフ（m o t i v e）は、特に高温で安定性が低い（高酸性条件下での高温は、ホスホロアミデート P - N 結合の加水分解につながる）。高温は、D O T A などのキレーターを介した配位放射標識反応に必要な。したがって、直接放射標識反応を適用することができず、多段階のプレ標識化アプローチを使用する必要がある。そのため、前駆体としての ^{177}Lu - D O T A - アジドを調製する必要があり、その後、前駆体をジベンゾシクロオクチン誘導体化 P S M A モチーフに結合させる必要がある。最後に、結合させた化合物の入念な H P L C 精製を行う必要があり、H P L C 溶離液の蒸発（ N_2 雰囲気下）による再製剤化及び生理学的媒体への溶解を行う必要がある。この手続は、生成されている活性が高いときは、臨床用途では実施できない可能性がある。前臨床体内分布データによれば、特に 1 を大きく超えなかった腫瘍対腎臓比に関し、放射標識剤の性能が低いことを示す。

【 0 0 1 2 】

長年に亘る進歩にもかかわらず、前立腺癌の診断と管理は依然として困難なままである。P C a の早期発見と処置を可能にするために、P C a 腫瘍細胞を高度に選択的に標的可能とし且つ迅速で非侵襲的な腫瘍の可視化と治療に有利な薬物動態特性を示すことができる新しい診断薬又はイメージング剤が必要とされている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 1 3 】

【文献】E P 2 8 6 2 8 5 7 A 1

E P 2 9 7 0 3 4 5 A 1

【非特許文献】

【 0 0 1 4 】

【文献】N a n , F . ; e t a l . J M e d C h e m 2 0 0 0 , 4 3 , 7 7 2 - 7 7 4
B o u c h e l o u c h e e t a l . D i s c o v M e d . 2 0 1 0 J a n ;
9 (4 4) : 5 5 - 6 1

H i l l i e r e t a l . C a n c e r R e s . 2 0 0 9 S e p 1 ; 6 9 (1 7) : 6 9 3 2 - 4 0

10

20

30

40

50

JNM 2015, 56:914-920

J Nucl Med. 2015; 56(11):1697-705

Zechmann et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2014; 41(7):1280-92

Kratochwil et al. J Nucl Med. 2017 Apr 13. pii: jnumed.117.191395. doi: 10.2967/jnumed.117.191395 [Epub]

Kratochwil et al. J Nucl Med. 2015; 293-298
Chatalic et al. Theragnostics. 2016; 6: 849-861

J Nucl Med. 2017 pii: jnumed.116.188722. doi: 10.2967/jnumed.116.188722. [Epub ahead of print]

Choy et al. Theragnostics 2017; 7(7):1928-1939

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

したがって、本発明の目的は、先行技術の欠点を克服し、当該技術分野における必要を満たすことである。

【0016】

この目的は、本明細書に開示される主題、より具体的には特許請求の範囲に示される主題によって解決される。

【0017】

概論

以下、本発明を詳細に説明するが、本発明は、本明細書に記載の特定の方法、プロトコル、及び試薬に、これらは変わる可能性があるので、限定されないことを理解されたい。また、本明細書で使用する用語は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲を限定するものではないことを理解されたい。特段の断りがない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。

【0018】

以下に、本発明の要素について説明する。これら要素は、具体的な実施形態と共に列挙されるが、これらを任意の方式で任意の数組み合わせることで更なる実施形態を生み出すことができることを理解すべきである。様々に記載される実施例及び好ましい実施形態は、本発明を明示的に記載される実施形態に限定することを意図するものではない。この記載は、明示的に記載された実施形態を任意の数の開示された及び/又は好ましい要素と組み合わせる実施形態をサポート及び包含すると理解すべきである。更に、特に指定しない限り、本願における全ての記載された要素の任意の入れ換え及び組合せが本願の記載によって開示されるとみなすべきである。

【0019】

本明細書及びその後続く特許請求の範囲全体を通して、特に必要としない限り、用語「含む」並びに「含み」及び「含んでいる」等の変形は、指定されている部材、整数、又は工程を含むが、任意の他の指定されていない部材、整数、又は工程を除外するものではないことを意味すると理解される。用語「からなる」は、任意の他の指定されていない部材、整数、又は工程が除外される、用語「含む」の具体的な実施形態である。本発明において、用語「含む」は、用語「からなる」を包含する。したがって、用語「含む (comprising)」は、「含む (including)」及び「からなる (consisting)」を包含し、例えば、Xを「含む」組成物は、Xのみからなってもよく、追加の何かを含んでもよい (例えば、X + Y)。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 0 】

用語「a」及び「an」及び「the」、並びに本発明の説明（特に、特許請求の範囲）において使用される同様の参照は、本明細書に指定されているか又は文脈上明示的に否定されていない限り、単数及び複数の両方を網羅すると解釈すべきである。本明細書における値の範囲の列挙は、単に、範囲内の各別個の値を個別に参照する簡易的な方法として機能することを意図する。本明細書において特に指定しない限り、各個別の値は、本明細書に個々に列挙されているかのように明細書に組み込まれる。明細書中のいずれの言語も、本発明の実施に必須の任意の請求されていない要素を示すと解釈されるべきではない。

【 0 0 2 1 】

用語「実質的に」は、「完全に」を除外するものではなく、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含んでいなくてもよい。必要な場合、用語「実質的に」は、本発明の定義から省略されることもある。

10

【 0 0 2 2 】

数値xに関連する用語「約」は、 $x \pm 10\%$ を意味する。

【 0 0 2 3 】

本発明では、特段の断りがない限り、代替物及び実施形態の各種特徴を互いに組み合わせてもよい。

【 0 0 2 4 】

明確さ及び読み易さのために、以下の定義を提供する。これらの定義について言及された技術的特徴は、本発明の全ての実施形態について読むことができる。追加の定義及び説明は、これらの実施形態の文脈で具体的に提供され得る。

20

【 0 0 2 5 】

定義

用語「ヒドロカルビル」は、炭化水素基の残基、即ち、炭化水素鎖基を意味し、好ましくは、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、及びアラルキルの群から独立して選択される。

【 0 0 2 6 】

用語「アルキル」は、1～30個の炭素原子、好ましくは1～20個、1～15個、1～10個、1～8個、1～6個、1～4個、1～3個、又は1～2個の炭素原子を有する線状（「直鎖」）、分岐状、及び環状鎖基を含む。例えば、用語「C₁₋₁₂アルキル」は、その炭素鎖が直鎖又は分岐状又は環状であり、1～12個の炭素原子を含む炭化水素基を意味する。アルキル残基の具体例は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、オクチル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、ヘキサデシル、ヘプタデシル、オクタデシル、ノナデシル、イコシル、ヘニコシル、ドコシル、トリコシル、テトラコシル、ペンタコシル、ヘキサコシル、ヘプタコシル、オクタコシル、ノナコシル、又はトリアコシルであり、それらの様々な分岐鎖及び/又は環状異性体、例えば、tert-ブチル又はイソペンチルなどを含む。環状アルキル異性体は、本明細書では「シクロアルキル」とも呼ばれ、3個の環炭素原子を含む飽和脂環式炭化水素を意味する。「置換された」線状、分岐状、及び環状アルキル基も、一般にこの用語に含まれる。この用語は、炭素鎖の1以上のC原子がヘテロ原子（例えば、N、O、及びSが挙げられるが、これらに限定されない）で置き換えられたアルキル基を意味する「ヘテロアルキル」を更に含む。したがって、この用語は、3個以上の環員を含む非芳香族環化合物であって、その1個以上の環炭素原子がヘテロ原子（例えば、N、O、及びSが挙げられるが、これらに限定されない）で置き換えられたものを意味する「ヘテロシクリル」又は「ヘテロシクロアルキル」を更に含む。ヘテロシクリル基は、例えば、イミダゾリル、イミダゾリニル、及びイミダゾリジニル基などの不飽和、部分飽和、及び飽和環系を包含する。ヘテロシクリル基としては、限定するものではないが、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロフラニル、ジオキソリル、フラニル、チオフェニル、ピロリル、ピロリニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、ピラゾ

30

40

50

リル、ピラゾリニル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、
 チアゾリル、チアゾリニル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピペ
 リジル、ピペラジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、テトラヒドロピラニル、テト
 ラヒドロチオピラニル、オキサチアン、ジオキシル、ジチアニル、ピラニル、ピリジル、
 ピリミジニル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、ジヒドロピリジル、ジヒドロ
 ジチイニル (dihydrodithiiny l)、ジヒドロジチオニル (dihydro
 dithionyl)、ホモピペラジニル、キヌクリジル、インドリル、インドリニル
 、イソインドリル、アザインドリル (ピロロピリジル)、インダゾリル、インドリジニル
 、ベンゾトリアゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフエニル、ベ
 ンゾチアゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾオキサジニル、ベンゾジチイニル (b
 enzodithiiny l)、ベンゾキサチイニル (benzoxathiiny l)
 、ベンゾチアジニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、
 ベンゾ [1 , 3] ジオキソリル、ピラゾロピリジル、イミダゾピリジル (アザベンズイミ
 ダゾリル)、トリアゾロピリジル、イソオキサゾロピリジル、プリニル、キサンチニル、
 アデニニル、グアニニル、キノリニル、イソキノリニル、キノリジニル、キノキサリニル
 、キナゾリニル、シンノリニル、フタラジニル、ナフチリジニル、プテリジニル、チアナ
 フタレニル、ジヒドロベンゾチアジニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロインドリル
 、ジヒドロベンゾジオキシニル、テトラヒドロインドリル、テトラヒドロイミダゾリル、
 テトラヒドロベンズイミダゾリル、テトラヒドロベンゾトリアゾリル、テトラヒドロピロ
 ロピリジル、テトラヒドロピラゾロピリジル、テトラヒドロイミダゾピリジル、テトラヒ
 ドロトリアゾロピリジル、及びテトラヒドロキノリニル基が挙げられる。ヘテロシクリル
 基は、置換又は非置換のいずれであってもよい。代表的な置換ヘテロシクリル基は、一置
 換又は複数置換されていてもよく、例えば、限定するものではないが、2 -、3 -、4 -
 、5 -、又は6 - 置換された、又は上に列挙した置換基などの様々な置換基で二置換され
 たピリジル又はモルホリニル基などが挙げられる。

【 0 0 2 7 】

用語「環状」は、複数の環構造を有する構造を意味する用語「多環式」を含む。特に、
 用語「環状」は、2 つ以上の環が1 つの原子を共有するスピロ環構造、及び2 つ以上の環
 が少なくとも2 つの原子を共有する5 縮合多環構造 (5 fused polycycli
 c structures) も意味する。

【 0 0 2 8 】

本明細書で使用される用語「アルケニル」は、2 ~ 3 0 個の炭素原子、好ましくは2 ~
 2 0 個、2 ~ 1 5 個、2 ~ 1 0 個、2 ~ 8 個、2 ~ 6 個、2 ~ 4 個、又は2 ~ 3 個の炭素
 原子を有する、少なくとも1 つの炭素 - 炭素二重結合を含む線状、分岐状、及び環状鎖1
 0 基を含む。「アルケニル」基の具体例は、アルキル基に関して例示したものの各種アル
 ケン性不飽和等価物であり、炭素 - 炭素二重結合の数及び位置に応じて、当業者に知られ
 た慣習により命名される (例えば、ブタンジイリデン、1 - プロパニル - 3 - イリデンな
 ど)。「アルケニル」基は、好ましくは少なくとも1 個、より好ましくは少なくとも2、
 3、4、6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、又は1 6 個の二重結合
 を含み、二重結合は、ヒドロカルビル鎖の位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、1
 0、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4
 、2 5、2 6、2 7、2 8、又は2 9 に位置することが好ましい。アルケニル基は、置換
 又は非置換のいずれであってもよい。

【 0 0 2 9 】

本明細書で使用される用語「アルキニル」は、2 ~ 3 0 個の炭素原子、好ましくは2 ~
 2 0 個、2 ~ 1 5 個、2 ~ 1 0 個、2 ~ 8 個、2 ~ 6 個、2 ~ 4 個、又は2 ~ 3 個の炭素
 原子を有する、少なくとも1 つの炭素 - 炭素三重結合を含む直鎖、分岐状、及び環状鎖基
 を含む。「アルキニル」基の具体例は、アルキル及びアルケニル基に関して例示したもの
 の各種アルキン性不飽和等価物であり、炭素 - 炭素三重結合の数及び位置に応じて、当業
 者に知られた慣習により命名される。「アルキニル」基は、好ましくは少なくとも1 個、

より好ましくは少なくとも2、3、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、又は16個の三重結合を含み、二重三重結合は、ヒドロカルビル鎖の位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、30、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、又は29に位置することが好ましい。アルキニル基は、置換又は非置換のいずれであってもよい。

【0030】

用語「アリール」は、単環式若しくは多環式又は縮合多環式芳香族環系を意味する。この用語は、環系の少なくとも1つの炭素原子がヘテロ原子で置換された単環式若しくは多環式又は縮合多環式芳香族「ヘテロアリール」環系を含む。通常、用語「アリール」及び「ヘテロアリール」は、3～30個の炭素原子、例えば、3～10個、特に2～6個の炭素原子を有する基を意味する。

10

【0031】

用語「アリールアルキル」又は「アラルキル」は、本明細書中で相互変換可能に使用され、本明細書で定義される少なくとも1つのアルキル基及び少なくとも1つのアリール基を含む基を意味する。本明細書で定義されるアラルキル基では、アラルキル基は、ベンジル基で例示されるアルキル基を介して、本発明の化合物又はコンジュゲートの別の部分に結合される。

【0032】

本明細書に使用される用語「ハロゲン」又は「ハロ」は、フルオロ(F)、クロロ(Cl)、ブromo(Br)、ヨード(I)を含む。

20

【0033】

用語「ヘテロ原子」は、N、O、S、及びP、好ましくはN及びOを含む。

【0034】

用語「置換された」は、本明細書に定義されるヒドロカルビル基(例えば、アルキル又はアルケニル基)であって、そこに含まれる水素原子に対する1以上の結合が非水素又は非炭素原子に対する結合で置き換えられたものを意味する。置換された基は、炭素又は水素原子に対する1以上の結合が、ヘテロ原子に対する1以上の結合(二重結合又は三重結合を含む)で置き換えられた基も含む。したがって、「置換された」基は、特段の断りがない限り、1以上の置換基で置換される。幾つかの実施形態では、置換された基は、1、2、3、4、5、又は6個の置換基で置換されている。置換基の例としては、ハロゲン(即ち、F、Cl、Br、及びI)；ヒドロキシ；アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アリーロキシ、アラルキルオキシ、ヘテロシクリルオキシ、及びヘテロシクリルアルコキシ；カルボニル(オキシ)；カルボキシ；エステル；ウレタン；オキシム；ヒドロキシルアミン；アルコキシアミン；アラルコキシアミン；チオール；硫化物；スルホキシド；スルホン；スルホニル；スルホンアミド；アミン；N-オキシド；ヒドラジン；ヒドラジド；ヒドラゾン；アジド；アミド；ウレア；アミジン；グアニジン；エナミン；イミド；イソシアネート；イソチオシアネート；シアネート；チオシアネート；イミン；ニトロ基；ニトリル(即ち、CN)、ハロアルキル、アミノアルキル、ヒドロキシアアルキル、シクロアルキルなどが挙げられる。

30

【0035】

コンジュゲート

本発明は、改善された腫瘍標的特性及び好ましい薬物動態プロファイルを有する新規な血漿タンパク質結合PSMAリガンドを提供する。本明細書で使用するとき、用語「薬物動態」は、好ましくは、被験体における治療薬又は診断薬の安定性、バイオアベイラビリティ、吸収、体内分布、生物学的半減期、及び/又はクリアランスを含む。本発明者らは、一方で治療/診断放射性核種と、他方でヒト血清アルブミン(HSA)結合体と複合化することができるキレーターに、PSMAペプチド模倣ウレアベース結合体を、適切なスペーサー及びリンカーを介して共有結合させることにより、新規コンジュゲートを提供した。結合体とキレーターとを結合するスペーサー及びリンカー基は、得られるコンジュゲートの標的及び薬物動態特性に重要であることが分かった。新規コンジュゲートは、優

40

50

れた特異的な細胞取り込み及び内在化特性を示すことが好ましい。本発明者らは、H S A 結合体が、(1) 血中のコンジュゲートの区画化 (c o m p a r t m e n t a l i z a t i o n) (腫瘍血管系へのアクセスを損なうことなしに、健常組織でのオフターゲット効果が制限される)、(2) 血液クリアランスの延長、及び(3) 腫瘍の取り込みと保持の増大 (腫瘍床を通過する回数を増やすことによる) を有利にもたらしめたことを示した。H S A 結合体の導入により、本発明の化合物の体内分布、及び最終的には治療効果が有利に改善される。

【 0 0 3 6 】

特に、本明細書で提供されるコンジュゲートは、有利なことに、当技術分野で知られた他の P S M A リガンドと比較して腫瘍取り込みの増加を示す。コンジュゲートの好ましい腫瘍取り込み特性により、特に、治療効果又はイメージング (診断) を可能にする十分な取り込みのための望ましい用量を達成するための被投与活性を低下させることができる。そのため、コンジュゲートは、通常、治療用及び / 又は診断用放射性核種 (多くの場合、金属同位体) と錯体化するキレーターを有する放射標識錯体の形態で提供される。新規コンジュゲート (及び特にそれらの放射標識 (金属) 錯体) の必要量の低下は、特に以下の利点を有する：(1) 必要な放射性核種 (放射能) がより少量で済む (製造コストがより低くなり、利用性がより良好となり (これらはいずれも、製造困難で高コストの ^{225}Ac などのアルファ放射体の場合に特に重要である))、好ましくは、一般に放射標識錯体の分解 (即ち、放射線分解) をもたらす自己照射の減少により、貯蔵寿命がより長くなる)；(2) 患者が受ける総吸収照射線量がより低くなる (好ましくは、通院治療が可能となり、環境負荷がより低くなる)。

【 0 0 3 7 】

したがって、本発明のコンジュゲートは、核イメージング及び放射線治療の両方にとって最適な特性を備えた有望な治療診断剤である。

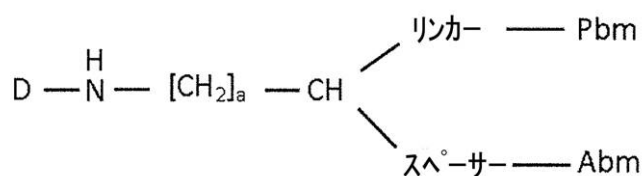
【 0 0 3 8 】

一般に、本発明に係る新規 P S M A リガンド (本明細書では「コンジュゲート」又は「化合物」とも呼ばれる) は、適切なリンカー又はスペーサーを介して互いに共有結合 (c o v a l e n t l y c o n n e c t e d o r l i n k e d) された第 1 末端基 (キレーター)、第 2 末端基 (アルブミン結合体)、及び第 3 末端基 (P S M A 結合体) を含む。

【 0 0 3 9 】

第 1 の態様では、本発明は、一般式 (1)：

【 化 1 】



(1)

(式中、

D は、キレーターであり、好ましくは本明細書に定義され、

A b m は、アルブミン結合体であり、好ましくは本明細書に定義され、

P b m は、P S M A 結合体であり、好ましくは本明細書に定義され、

スペーサーは、少なくとも 1 つの C - N 結合を含み、

リンカーは、本明細書に定義される一般式 (6) で特徴付けられ、

a は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数であり、一般式 (1) の - C H - 基は、P S M A 結合体 (P b m) とアルブミン結合体 (A b m) を接続する「分岐点」である。)

の化合物、又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体に関する。

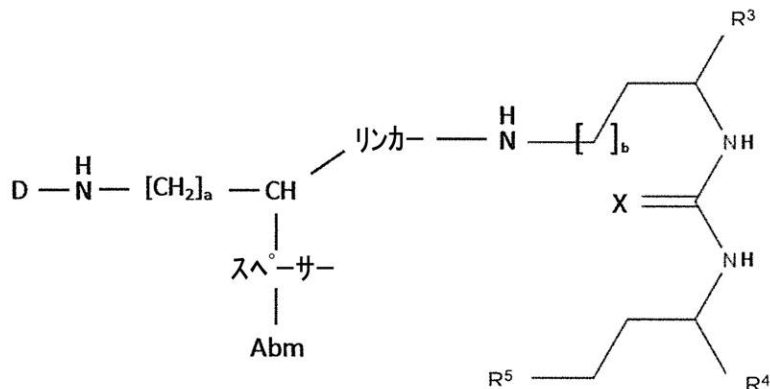
【 0 0 4 0 】

D、Abm、Pbm、リンカー、及びスペーサーは、好ましくは、本明細書に記載されるように定義される。

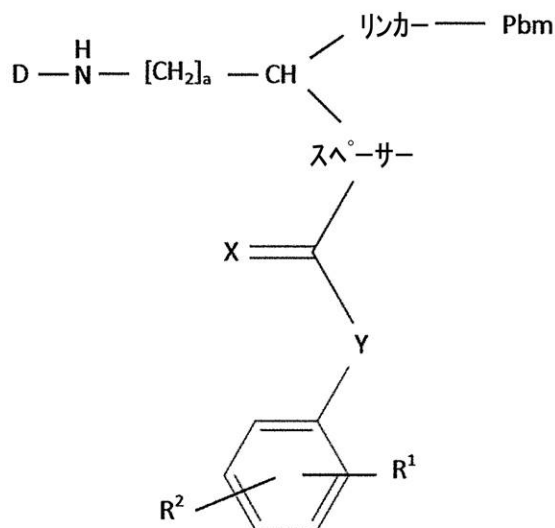
【 0 0 4 1 】

具体的には、本発明は、一般式 (1) (i) 又は (1) (i i) :

【 化 2 】



(1)(i)



(1)(ii)

(式中、

Abmは、アルブミン結合体であり、好ましくは本明細書に定義され、

Pbmは、PSMA結合体であり、好ましくは本明細書に定義され、

Dは、キレーターであり、好ましくは1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [

メチル(2-カルボキシエチル)-ホスフィン酸]-4,7-ビス[メチル(2-ヒドロキシメチル)ホスフィン酸](NOPO)、3,6,9,15-テトラアザピシクロ[9,3,1]ペンタデカ-1(15),11,13-トリエン-3,6,9-三酢酸(PCTA)、N'-{5-[アセチル(ヒドロキシ)アミノ]ペンチル}-N-[5-(4-[(5-アミノペンチル)(ヒドロキシ)アミノ]-4-オキソブタノイル)アミノ]ペンチル]-N-ヒドロキシスクシンアミド(DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

Xは、それぞれ独立して、O、N、S、又はPから選択され、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は=NHから選択される、又はR¹とR²が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₀ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及びSR⁷、=O、=S、及び=NHから独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、

Yは、単結合、又は線状、分岐状、又は環状の任意に置換された、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよいC₁-C₁₂アルキル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は=NHから選択され、非隣接CH₂基の1以上は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR⁶-、-NR⁶-CO-、-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-O-、-O-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-NR⁶-、-CH=CH-、-C=C-、-O-CO-O-、SR⁶-、SO₃R⁶-で置き換えられていてもよく、

R⁶及びR⁷は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、

R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は-C(O)-NR⁸R⁹から選択され、R⁸及びR⁹は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁-C₁₀)アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、-C(S)-NH-ベンジル-、-C(O)-NH-ベンジル-、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH、-(CH₂)_p-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH-C(O)-(CH₂)_q、-(CH_rCH₂)_t-NH-C(O)-(CH₂)_p、-(CH₂)_p-CO-COH、-(CH₂)_p-CO-CO₂H、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-COH]₃、-C[(CH₂)_p-COH]₃、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-CO₂H]₃、-C[(CH₂)_p-CO₂H]₃、又は-(CH₂)_p-(C₅-C₁₄)ヘテロアリールから選択され、

スペーサーは、少なくとも1つのC-N結合を含み、

リンカーは、本明細書で定義される一般式(6)で特徴付けられ、

a、b、p、q、r、tは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。))

で表される化合物、又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体を提供する。

【0042】

以下の式(1)において強調されている構造は、少なくとも1つのペプチド結合を含むことが特に想定される。

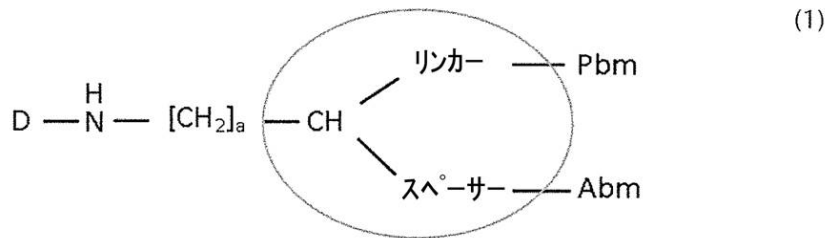
10

20

30

40

【化 3】



【 0 0 4 3 】

10

本発明のコンジュゲートは、P S M A 及び H S A の両方に対する親和性を示すリガンドである。本明細書で使用される用語「リガンド」は、標的（ここでは P S M A 又は H S A ）と相互作用（標的化、結合）することができる化合物を意味する。本発明のコンジュゲートはまた、「P S M A 標的化剤」として機能的に定義され得る。好ましくは、「リガンド」は、それらの標的に選択的に結合することができる。用語「選択的に結合する」は、化合物が、その意図された標的に、別の非標的体に結合するよりも、高い親和性で結合することを意味する。

【 0 0 4 4 】

「結合親和性」は、リガンド（例えば、有機低分子、タンパク質、又は核酸）とその標的 / 結合パートナーとの間の結合相互作用の強度である。結合親和性は、通常、平衡解離定数（ K_D ）、「オフレート」（ k_{off} ）及び「オンレート」（ k_{on} ）の比で測定及び報告され、これは、生体分子相互作用の次元強度を評価及びランク付けするために使用される。「オンレート」（ k_{on} ）は、リガンドがその標的に結合する速さを特徴付け、「オフレート」（ k_{off} ）は、リガンドがその標的から解離する速さを特徴付ける。 K_D （ k_{off} / k_{on} ）と結合親和性は反比例する。したがって、用語「選択的に結合する」は、好ましくは、リガンドが、その意図された標的に、別の非標的体に対する結合の K_D よりも低い K_D で結合することを意味する。E L I S A、ゲルシフトアッセイ、プルダウンアッセイ、平衡透析、分析的超遠心分離、表面プラズモン共鳴、分光分析など、結合親和性と解離定数を測定する多くの方法がある。

20

【 0 0 4 5 】

30

本発明の文脈において、P S M A 結合体（H S A 結合体）の非標的体に対する結合の K_D は、ヒト P S M A（H S A）に対する前記コンジュゲート又は部分の結合の K_D の少なくとも 1.5 倍、好ましくは少なくとも 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、750、又は 1000 倍であり得る。

【 0 0 4 6 】

本発明の文脈において、コンジュゲートは、ナノモル（nM）範囲の K_D 値の高結合親和性で P S M A に結合し、且つマイクロモル範囲（ μM （マイクロモル））の中程度の親和性で H S A に結合することが更に好ましい場合がある。

【 0 0 4 7 】

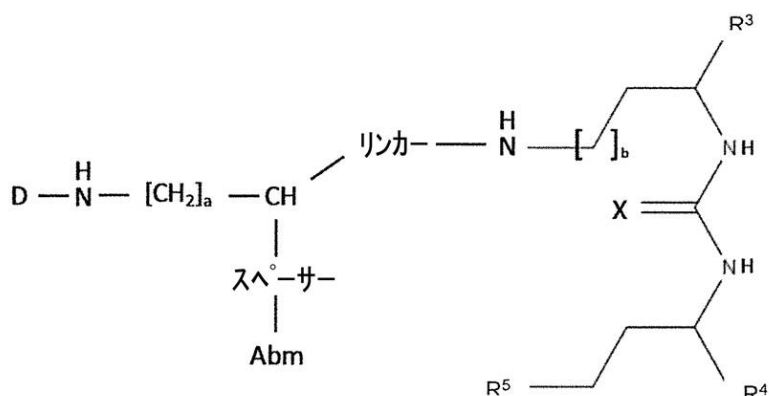
40

具体的には、P S M A と H S A の結合親和性のバランスを取り、腫瘍の取り込みと保持を上昇させ、血液クリアランスを延長すると同時に、潜在的に有害なオフターゲット効果を低減することが好ましい場合がある。特に、本発明のコンジュゲートは、H S A に対するよりも P S M A に対してより高い結合親和性を示し得る。

【 0 0 4 8 】

特に、本発明は、一般式（1）（i）：

【化 4】



(1)(i)

(式中、

A b m は、アルブミン結合体であり、

D は、キレーターであり、好ましくは 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザビシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - {5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル} - N - [5 - ({4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル} アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

X は、O、N、S、又は P から選択され、

R^3 、 R^4 、及び R^5 は、それぞれ独立して、 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-NHR^8$ 、又は $-C(O)-NR^8R^9$ から選択され、 R^8 及び R^9 は、それぞれ独立して、H、結合、 (C_1-C_{10}) アルキレン、F、Cl、Br、I、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH$ - ベンジル -、 $-C(O)-NH$ - ベンジル、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 、又は $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ ヘテロアリールから選択され、

スパーサーは、少なくとも 1 つの C - N 結合を含み、

リンカーは、本明細書で定義される一般式 (6) で特徴付けられ、

a、b、p、q、r、t は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。))

で表される化合物、又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射

10

20

30

40

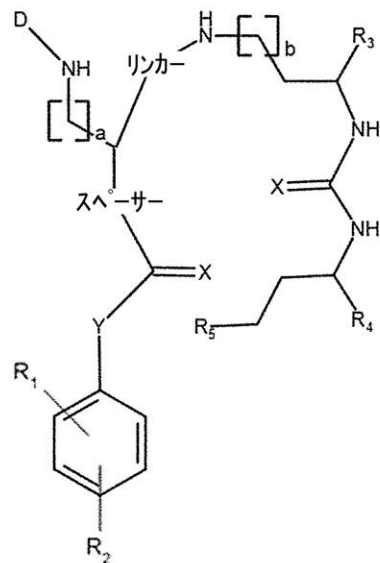
50

標識錯体を提供する。

【 0 0 4 9 】

より具体的には、本発明は、一般式 (1 1) :

【 化 5 】



(11)

(式中、

D は、キレーターであり、好ましくは 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザビシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - { 5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル } - N - [5 - ({ 4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル } アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

X は、それぞれ独立して、O、N、S、又は P から選択され、

R¹ 及び R² は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状の任意に置換された C₁ - C₁₂ ヒドロカルビル、C₂ - C₁₂ アルケニル、C₂ - C₁₂ アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、= O、= S、又は = NH から選択される、又は R¹ と R² が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状の C₁ - C₁₀ ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大 2 個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及び SR⁷、= O、= S、及び = NH から独立して選択される最大 3 個の基で置換されていてもよく、

Y は、単結合、又は線状、分岐状、又は環状の任意に置換された、最大 2 個のヘテロ原

子が介在していてもよい $C_1 - C_{12}$ アルキル、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 NR^6R^7 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 SR^6 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ から選択され、非隣接 CH_2 基の 1 以上は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 SR^6- 、 SO_3R^6- で置き換えられていてもよく、

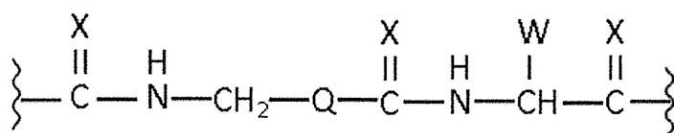
R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、 H 又は分岐状、非分岐状、又は環状の C_{1-12} ヒドロカルビルから選択され、

R^3 、 R^4 、及び R^5 は、それぞれ独立して、 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-NHR^8$ 、又は $-C(O)-NR^8R^9$ から選択され、 R^8 及び R^9 は、それぞれ独立して、 H 、結合、 (C_1-C_{10}) アルキレン、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH-$ ベンジル、 $-C(O)-NH-$ ベンジル、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 、又は $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ ヘテロアリールから選択され、

スペーサーは、少なくとも 1 つの $C-N$ 結合を含み、

リンカーは、一般式 (6) :

【化 6】



30

(6)

(式中、

X は、それぞれ独立して、 O 、 N 、 S 、又は P から選択され、

Q は、置換又は非置換のアルキル、アルキルアリール、及びシクロアルキルから選択され、好ましくは置換又は非置換の $C_5 - C_{14}$ アリール、 $C_5 - C_{14}$ アルキルアリール、又は $C_5 - C_{14}$ シクロアルキルから選択され、

W は、 $-(CH_2)_c-$ アリール又は $-(CH_2)_c-$ ヘテロアリールから選択され、 c は、 0 、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、又は 1 から選択される整数である。) で特徴付けられ、

40

a 、 b 、 p 、 q 、 r 、 t は、それぞれ独立して、 0 、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、又は 10 から選択される整数である。) で

特徴付けられる特に好ましいコンジュゲート、又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体を提供する。

【0050】

アルブミン結合体

本発明のコンジュゲートは、本明細書に記載の (知られた $PSMA$ リガンドと比較して追加の) アルブミン結合体 (「アルブミン結合部分」とも呼ぶ) を含み、好ましくはヒト血清アルブミン ($HS A$) に選択的に結合することができる。用語「選択的に結合する」

50

は、上に定義されている。

【0051】

アルブミン結合体 (Abm) は、任意のアルブミン結合体であり得る。特に好ましいアルブミン結合体は、本明細書中、以下に記載される。好ましくは、アルブミン結合体は、血清アルブミン、好ましくはHSAに、典型的には約100 μM (マイクロモル) 未満の結合親和性、例えば、約3 μM (マイクロモル) ~ 50 μM (マイクロモル) で非共有結合し得る。

【0052】

ヒト血清アルブミン (HSA) は、ヒト血漿中の最も豊富なタンパク質であり、血清タンパク質の約半分を構成する。本明細書で使用される用語「ヒト血清アルブミン」又は「HSA」は、好ましくは、ヒトALB遺伝子によってコードされる血清アルブミンタンパク質を意味する。より好ましくは、この用語は、UniProt Acc. No. P02768 (エントリバージョン240、最終変更日: 2017年5月10日)、又はその機能的変異体、アイソフォーム、断片、若しくは(翻訳後又は他の修飾をされた)誘導体を意味する。

【0053】

特定の理論に拘束されることを望むものではないが、本発明コンジュゲートのアルブミン結合体 (Abm) は、好ましくは、コンジュゲートの循環半減期を延ばし、血液中の本発明コンジュゲートの区画化をもたらし、PSMA-発現 (腫瘍) 標的細胞又は組織への送達を改善し、PSMAを発現する正常な (非腫瘍性) 臓器 (腎臓、涙腺、唾液腺など) での非標的の腫瘍に対する比を上昇させると仮定される。したがって、アルブミン結合体は、好ましくはキレーター及びPSMA結合体の所望の機能を妨害 (低減又は停止) することなしに、改善された薬物動態特性を本発明コンジュゲートに付与すると想定される。

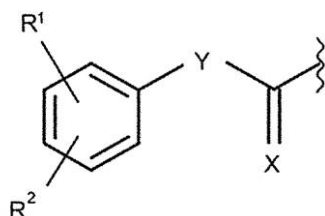
【0054】

構造に関しては、本発明にしたがう典型的なアルブミン結合体は、好ましくは、1~40個の炭素原子を含む線状及び分岐状親油性基と、遠位酸性基とを含むことができる。適切なアルブミン結合体は、特に、US2010/172844 A1、WO2013/024035 A1、及びWO2008/053360 A2に記載されており、これらの全体を参照により本明細書に援用する。

【0055】

前記によれば、本発明のコンジュゲートにおいて、アルブミン結合体は、好ましくは、一般式 (2) で特徴付けられる。

【化7】



(2)

(式中、

R¹ 及び R² は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビル、C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は=NHから選択される、又はR¹とR²が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₀ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂O

R^6 、 NR^6R^7 、 $CH_2NR^6R^7$ 、及び SR^7 、 $=O$ 、 $=S$ 、及び $=NH$ から独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよい。

Yは、単結合、又は線状、分岐状、又は環状の任意に置換された、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよい $C_1 - C_{12}$ アルキル、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 NR^6R^7 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 SR^6 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ から選択され、非隣接 CH_2 基の1以上は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 SR^6- 、 SO_3R^6- で置き換えられていてもよく、

R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビルから選択され、

Xは、O、N、S、又はPから選択され、

R^1 及び R^2 は、オルト、メタ、又はパラ位であり得る。)

【0056】

R^1 及び R^2 が互いに結合して環状構造を形成する場合、前記環状構造は、好ましくは、フェニル環に対して2つの位置で結合される(即ち、前記フェニル環に対して2つの結合を形成する、例えば、前記フェニル環に縮合した環状構造を形成する)3~12個、より好ましくは3~10個、更により好ましくは3~9個、3~8個、3~7個、3~6個、3~5個、3~4個、又は4個の炭素原子の線状又は分岐状ヒドロカルビル鎖である。具体的には、前記環状構造は、(置換又は非置換)アダマンチルから選択することができる。好ましくは、前記2つの結合は、前記フェニル環のメタ(3-)及びパラ(4-)位、オルト(2-)及びメタ位、又はオルト及びパラ位に位置することが好ましい。前記環状構造には、任意に、最大2個、好ましくは1個又は0個のヘテロ原子が介在する。好ましくは、前記環状構造は、その1-及び4-原子により前記フェニル環に結合して、好ましくは前記フェニル環のメタ及びパラ位で縮合した6員環を形成する(即ち、好ましくはメタ及びパラ縮合6員環を形成する) C_4 鎖断片(1,4-ジラジカル)であり得る。

【0057】

好ましくは、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、好ましくはヨウ素又は臭素、及び $C_1 - C_6$ アルキル、好ましくは $C_1 - C_3$ アルキル、更により好ましくはメチルから選択され得る。より好ましくは、 R^1 はHであり、 R^2 は、ハロゲン、好ましくはヨウ素又は臭素、及び $C_1 - C_6$ アルキル、好ましくは $C_1 - C_3$ アルキル、更により好ましくはメチルから選択される。更により好ましくは、 R^1 はHであり、 R^2 はHである、又はパラ位にあり、ヨウ素、臭素、及びメチルから選択される。

【0058】

好ましくは、Yは、線状又は分岐状の任意に置換された $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビル、より好ましくは線状又は分岐状の任意に置換された $C_1 - C_{10}$ ヒドロカルビル、更により好ましくは線状又は分岐状の任意に置換された $C_1 - C_6$ ヒドロカルビル、更により好ましくは線状又は分岐状の任意に置換された $C_1 - C_3$ ヒドロカルビルであり得る。

【0059】

最も好ましくは、Yは、 $-(CH_2)_3-$ であり得る。

【0060】

好ましくは、Xは、Oであり得る。

【0061】

したがって、式(2)で表されるアルブミン結合体は、好ましくは、式(2a)~(2c)のいずれかを含む又はからなることができる。

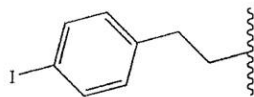
10

20

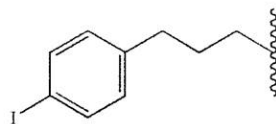
30

40

【化 8】

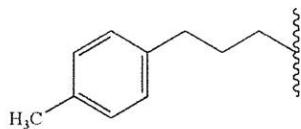


(2a)



(2b)

10



(2c)

【 0 0 6 2 】

20

他の可能な（より好ましくない可能性がある）アルブミン結合体は、特に、US 2010 / 0172844 A1に開示されている。

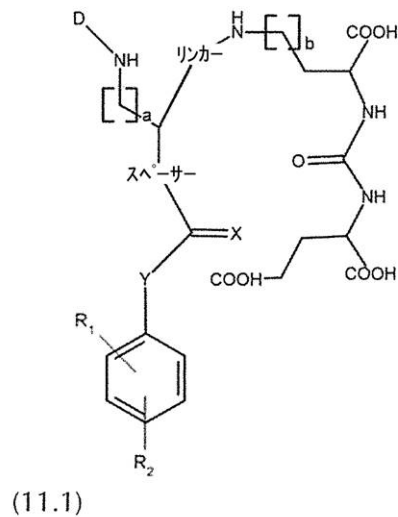
【 0 0 6 3 】

好ましい実施形態においては、本発明に係る化合物は、一般式（11.1）～（11.3）のいずれかにより特徴付けられ得る。

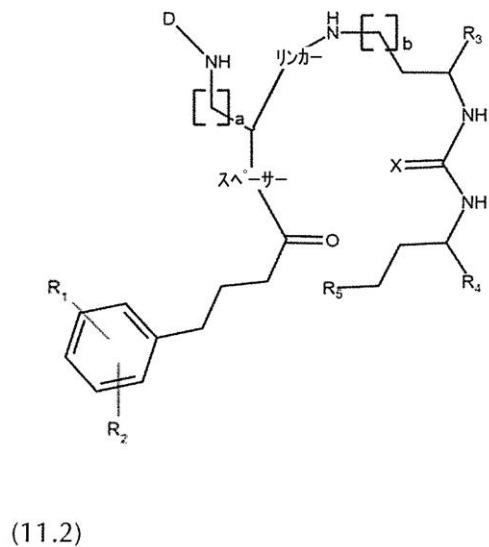
30

40

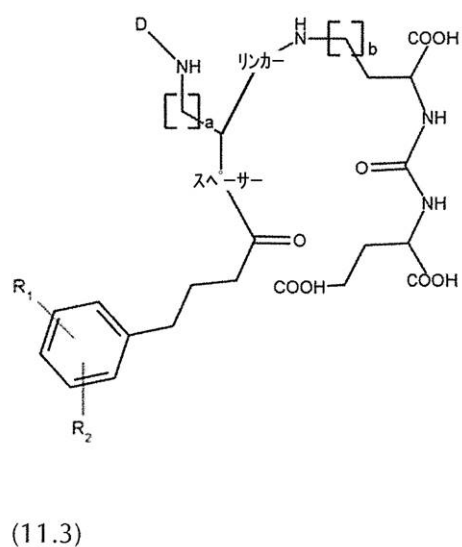
50



10



20



30

(式中、D、スペーサー、リンカー、X、 $R_1 \sim R_5$ 、a、及びbは、一般式(11)について定義された通りである。)

【0064】

スペーサー

本発明コンジュゲートにおいて、アルブミン結合体は、「スペーサー」を介して -CH-「分岐点」にコンジュゲート(即ち、共有結合又は連結)される。本明細書において、用語「スペーサー」は、具体的には、アルブミン結合体と -CH-「分岐点」とを接続して、その距離に亘る、及び/又はこれらの基をコンジュゲートの残りの基/エンティティから「離間」する基を意味するために使用される。

40

【0065】

スペーサーは、好ましくは、アルブミン結合体と本発明コンジュゲートの他の基又はエンティティとの間の立体障害を避け、十分な可動性及び柔軟性を確保することができる。更に、スペーサーは、好ましくは、十分なHSA結合、高親和性PSMA結合、及びPSMAコンジュゲート複合体の内在化によるPSMA陽性細胞の迅速かつ任意に選択的な浸透をもたらす、支持する、及び/又は可能にするように設計され得る。

【0066】

50

本発明者らは、スペーサーが少なくとも１つのC - N結合を含むことが好ましいと判断した。適切なスペーサーは、*in vivo*で安定なことが好ましい。スペーサーの設計は、通常、コンジュゲート全体に依存する場合があります、残りのコンジュゲートの機能性（例えば、PSMA結合、HSA結合、内在化など）を促進するように選択されることが好ましい。したがって、スペーサーは、例えば、剛性又は可撓性であることができ、コンジュゲート全体の親油性又は親水性などに影響を及ぼす。

【0067】

好ましくは、スペーサーは、最大５個のヘテロ原子を含む線状又は分岐状の任意に置換されたC₁ - C₂₀ヒドロカルビル、より好ましくはC₁ - C₁₂ヒドロカルビル、更により好ましくはC₂ - C₆ヒドロカルビル、更により好ましくはC₂ - C₄ヒドロカルビルを含み得る。ヒドロカルビルは、好ましくはNから選択される少なくとも１個、任意に最大４個のヘテロ原子を好ましくは含み得る。

10

【0068】

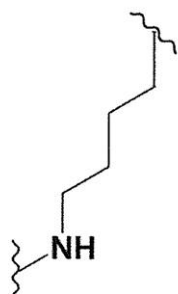
好ましくは、スペーサーは、 $-[CHR^{10}]_u-NR^{11}-$ であることができ、式中、R¹⁰及びR¹¹は、それぞれ独立して、H及び分岐状、非分岐状、又は環状C₁ - C₁₂ヒドロカルビルから選択することができ、uは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０から選択される整数であることができる。より好ましくは、R¹⁰及びR¹¹がHであり、uが２、３、又は４から選択される整数であることができる。最も好ましくは、R¹⁰及びR¹¹がHであり、uが４であることができる。

20

【0069】

したがって、本発明コンジュゲートは、好ましくは、式(3a)のスペーサーを含むことができる。

【化9】



30

(3a)

【0070】

したがって、本発明に係る好ましいコンジュゲート（例えば、実施例において評価されるPSMA-ALB-03及びPSMA-ALB-06）は、式(3a)のスペーサーを介して「分岐点」に接続された式(2a)～(2c)のアルブミン結合体を含む。

【0071】

40

これに代えて又はこれに加えて、スペーサーは、少なくとも１つのアミノ酸残基を含むことができる。本明細書に使用される用語「アミノ酸残基」は、スペーサー内の部分としての特定のアミノ酸モノマーを意味する。

【0072】

「アミノ酸」は、酸性（通常は、カルボキシ（-COOH））及びアミン（-NH₂）官能基の両方を含む有機分子である。前記基の一方又は両方は、誘導体化されていてもよい。アミノ基及び酸性基は、互いに対して任意の位置にあることができるが、アミノ酸は、通常、２-アミノカルボン酸、３-アミノカルボン酸、４-アミノカルボン酸などを含む。アミン基は、アミノ酸の１番目、２番目、３番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目（など）から最大２０番目の炭素原子に結合することができ

50

る。換言すれば、アミノ酸は、アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、イプシロン（など）からオメガアミノ酸までであり得る。好ましくは、酸性基は、カルボキシ（ $-COOH$ ）基である。ただし、 $-OPO_3H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-OSO_3H$ 、又は $-SO_3H$ から選択される他の酸性基も考えられる。

【0073】

好ましくは、アミノ酸残基は、天然に存在するアミノ酸又はそれらの誘導体に由来する。アミノ酸残基は、アルファ（ α ）アミノ酸に由来することが更に好ましく、アミノ酸は、（ α ）D - 又は L - アミノ酸であり得る。

【0074】

より好ましくは、前記アミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、及び/又はバリンの群から選択されるアミノ酸の D - 又は L - エナンチオマーである。

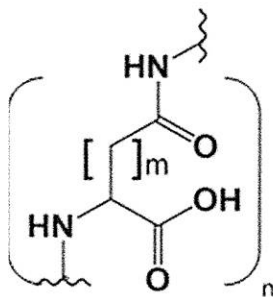
【0075】

最も好ましくは、前記アミノ酸は、（D - / L - ）アスパラギン酸、グルタミン酸、又はリジンである。スペーサーは、1、2、3、4、又は5個のアミノ酸残基、特に D - アスパラギン酸、D - グルタミン酸、又は L - リジン残基を含んでもよい。D - エナンチオマーを含むコンジュゲートでは、D - エナンチオマーの使用が、代謝の速度の更なる低減、したがって血流からのクリアランスを更に低減するという有益な効果をもたらし得る。好ましくは、スペーサーは、2 ~ 3 個のそのようなアミノ酸残基、特に D - アスパラギン酸又は D - グルタミン酸残基を含み得る。換言すれば、スペーサーは、好ましくは 2 ~ 5 個のアミノ酸、より好ましくは 2 ~ 3 個のアミノ酸からなるペプチドを含んでもよい。或いは、スペーサーは、L - リジンから選択される 1 ~ 2 個のアミノ酸を含んでもよい。

【0076】

したがって、本発明コンジュゲートは、式（3b）のスペーサーを含むことができる。

【化10】



(3b)

（式中、

m は、1 又は 2 から選択される整数であり、

n は、1、2、3、4、又は 5、好ましくは 2 又は 3 から選択される整数である。）

【0077】

或いは、スペーサーは、少なくとも 1 つの N ヘテロ原子を含む線状又は分岐状の任意に置換された C_{1-C20} ヒドロカルビル基を介して「分岐点」に接続されたアミノ酸残基を含むことができる。

【0078】

したがって、本発明コンジュゲートは、式（3c）のスペーサーを含むことができる。

10

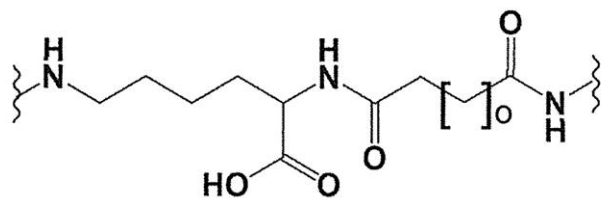
20

30

40

50

【化 1 1】



(3c)

10

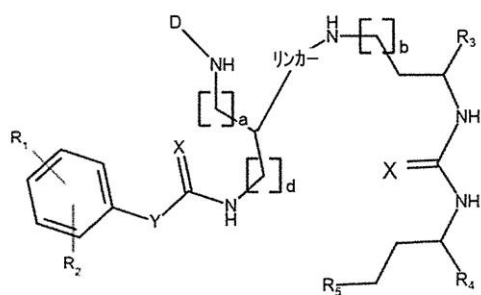
(式中、

o は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。
好ましくは、o は、5であることができる。)

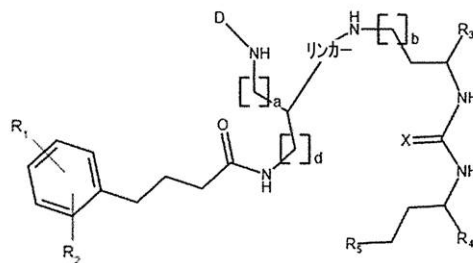
【0079】

したがって、好ましい実施形態においては、本発明コンジュゲートは、一般式(12.1)~(12.4)又は(13.1)~(13.4)のいずれかで特徴付けることができる。

【化 1 2】



(12.1)



(12.2)

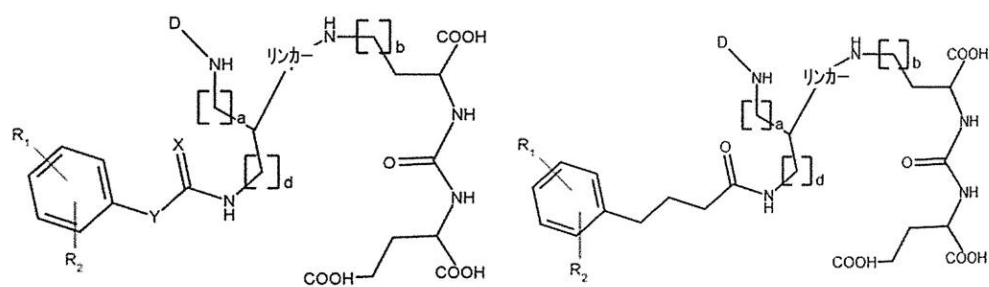
20

30

40

50

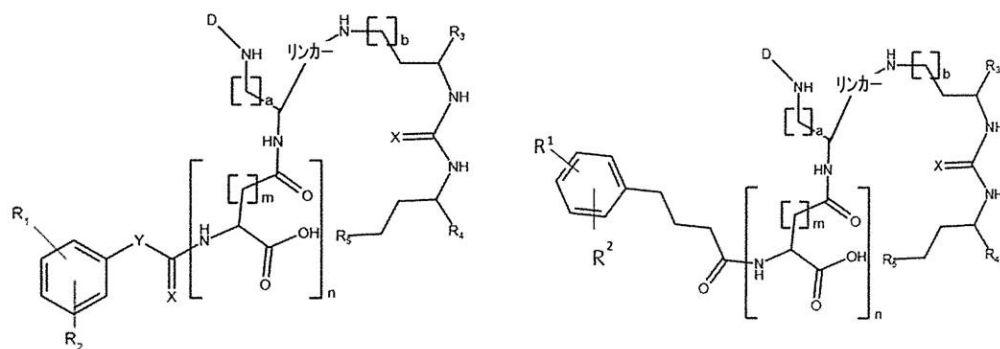
【化 1 3】



10

(12.3)

(12.4)



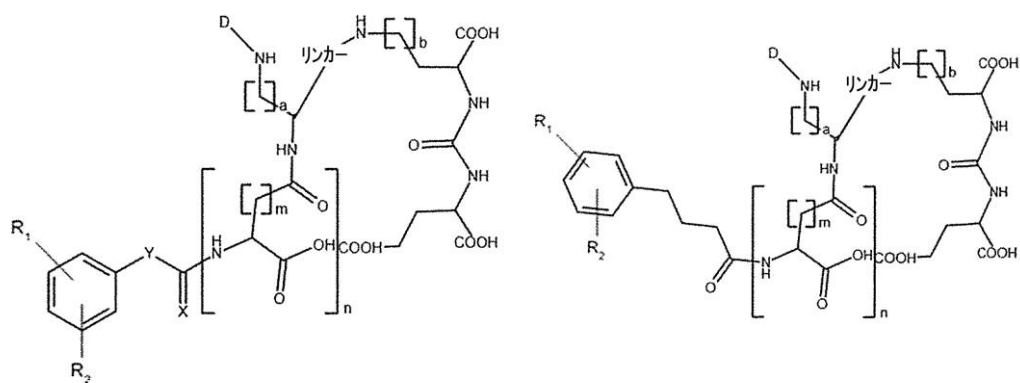
20

(13.1)

(13.2)

30

【化 1 4】



40

(13.3)

(13.4)

一般式 (12.1) ~ (12.4) 及び (13.1) ~ (13.4) において、D、ス

50

ペーサー、リンカー、 X 、 $R^1 \sim R^5$ 、 a 、 b 、 m 、 n は、一般式(1)及び(11)で定義した通りであり、 d は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10、より好ましくは1、2、3、4、5、又は6から選択される整数である。

【0080】

キレーター

本発明コンジュゲートは、キレーターを更に含む。

【0081】

用語「キレーター」又は「キレート部分」は、本明細書において相互変換可能に使用され、2つ以上の別々の配位結合を中心(金属)イオンと形成(配位)できる多座(多重結合)リガンドを意味する。具体的には、そのような分子又は1つの電子対を共有する分子は、「ルイス塩基」とも呼ばれる。中心(金属)イオンは、通常、2つ以上の電子対によってキレーターに配位される。用語「二座キレーター」、「三座キレーター」、及び「四座キレーター」は、当技術分野で認識されており、キレーターによって配位される金属イオンへの同時供与のために容易に利用可能な、それぞれ2、3、及び4電子対を有するキレーターを意味する。通常、キレーターの電子対は、単一の中心(金属)イオンと配位結合を形成するが、特定の例では、キレーターは複数の金属イオンと配位結合を形成し、様々な結合様式が可能である。

10

【0082】

用語「配位する」及び「配位」は、1つの多電子対ドナーが1つの中心(金属)イオンと配位結合する、即ち、2つ以上の非共有電子対を共有する(「配位される」)相互作用を意味する。

20

【0083】

キレート剤は、好ましくは、所望の中心(金属)イオン、通常は本明細書に記載される放射性核種と配位する能力に基づき選択される。

【0084】

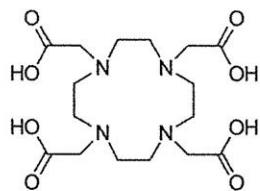
したがって、キレーターDは、以下の式(4a)~(4jj)のうちの1つで特徴付けられ得る。

30

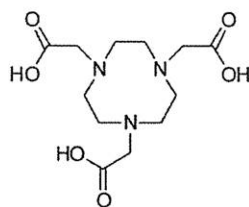
40

50

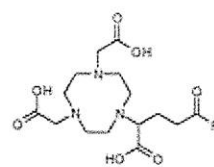
【化 1 5】



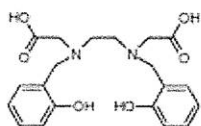
DOTA (4a)



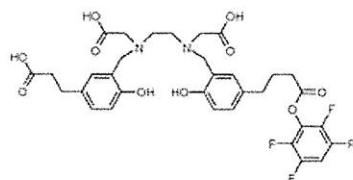
NOTA (4b)



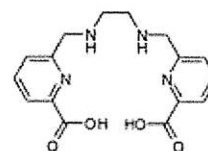
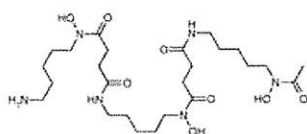
NODAGA (4c)



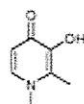
HBED (4d)



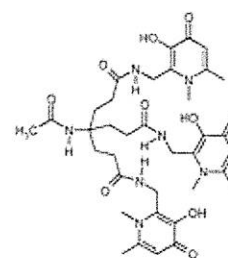
HBED-CC TFP (4e)

H₂DEPDPA (4f)

DFO-B (4g)



テーフェリフロン (4h)



CP256 (4i)

10

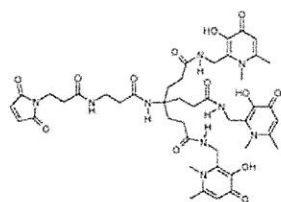
20

30

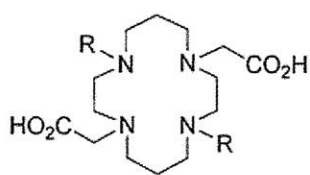
40

50

【化 1 6】

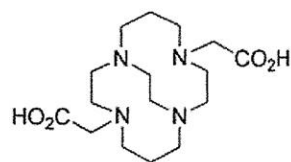


YM103 (4j)

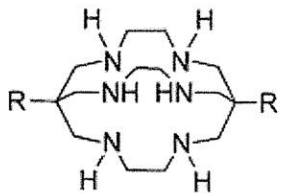


R = H
R = CH₂CO₂H

TETA
(4k)
TE2A (4l)

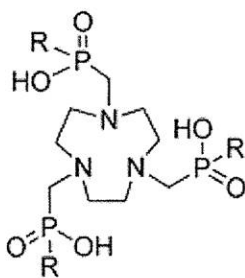


CB-TE2A (4m)



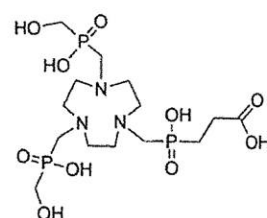
R = H
R = NH₂

Sar (4n)
DiAmSar (4o)

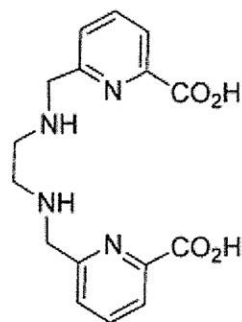


R = H
R = (CH₂)₂CO₂H
R = CH₂OH
R = 7-IC₆H₄

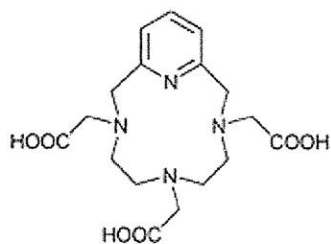
TRAPH (4p)
TRAP-Pr
(4q)
TRAP-OH
(4r)
TRAP-Ph
(4s)



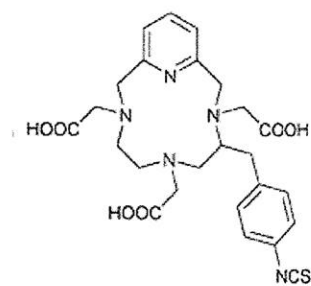
NOPO (4t)



DEDPA (BCPE) (4u)



PCTA (4v)



177 (4w)

10

20

30

40

50

有利なことに、DOTAは、診断用（例えば、 ^{68}Ga ）及び治療用（例えば、 ^{90}Y 又は ^{177}Lu ）放射性核種と効果的に錯体を形成するので、イメージングと治療の両方の目的で、即ち、治療診断剤として同一コンジュゲートの使用を可能にする。DO3AP（式（4hh）で特徴付けられ得る）、DO3AP^{PrA}（式（4ii）で特徴付けられ得る）、又はDO3AP^{ABn}（式（4jj）で特徴付けられ得る）などの、スカンジウム放射性核種（ ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc ）を錯化できるDOTA誘導体が好ましい場合もあり、Kerdjoudj et al. Dalton Trans., 2016, 45, 1398-1409に記載されている。

【0088】

本発明の文脈における他の好ましいキレーターとしては、N,N"-ビス[2-ヒドロキシ-5-(カルボキシエチル)ベンジル]エチレンジアミン-N,N"-二酢酸(HBED-CC)、1,4,7-トリアザシクロノナン-1,4,7-三酢酸(NOTA)、2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラ-アザシクロドデカン-1-イル)-ペンタン二酸(DOTAGA)、1,4,7-トリアザシクロノナンホスフィン酸(TRAP)、1,4,7-トリアザシド-ノナン-1-[メチル(2-カルボキシエチル)-ホスフィン酸]-4,7-ビス-[メチル(2-ヒドロキシメチル)-ホスフィン酸](NOPQ)、3,6,9,15-テトラ-アザビシクロ[9,3,1]-ペンタデカ-1(15)、11,13-トリエン-3,6,9-三酢酸(PCTA)、N'-{5-[アセチル(ヒドロキシ)アミノ]-ペンチル}-N-[5-(4-(5-アミノペンチル)(ヒドロキシ)アミノ)-4-オキソブタノイル]-アミノ)ペンチル]-N-ヒドロキシスクシンアミド(DFO)、及びジエチレン-トリアミン五酢酸(DTPA)が挙げられる。

【0089】

キレーター基、例えば、DOTA基は、中心(金属)イオン、特に本明細書に定義される放射性核種と錯体化され得る。或いは、キレーター基、例えばDOTAは、中心(金属)イオン、特に本明細書に定義される放射性核種と錯体を形成しなくてもよく、非錯体の形態で存在してもよい。キレーター(例えば、DOTA)が前記金属イオンと錯体を形成しない場合、キレーターのカルボン酸基は遊離酸の形態又は塩の形態であり得る。

【0090】

P S M A 結合体

本発明コンジュゲートは、本明細書のP S M A 結合体(「P S M A 結合部分」とも呼ばれる)を含み、これは好ましくはヒトP S M Aに選択的に結合することができる。用語「選択的に結合する」は、上に定義される。

【0091】

特に、本発明は、一般式(1)(ii)：

10

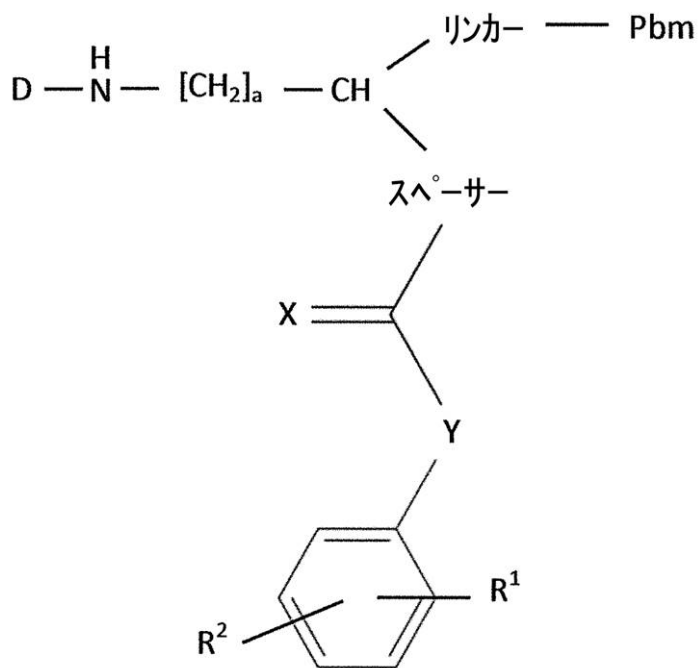
20

30

40

50

【化 18】



10

20

(1)(ii)

(式中、

Pbmは、PSMA結合体であり、

Dは、キレーターであり、好ましくは1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザピシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - {5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル} - N - [5 - ({4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル} アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

30

40

Xは、O、N、S、又はPから選択され、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁ - C₁₂ヒドロカルビル、C₂ - C₁₂アルケニル、C₂ - C₁₂アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は=NHから選択される、又はR¹とR²が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁ - C₁₀ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及びSR⁷、=O、=S、及び=NHから独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、

50

Y は、単結合、又は線状、分岐状、又は環状の任意に置換された、最大 2 個のヘテロ原子が介在していてもよい $C_1 - C_{12}$ アルキル、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 NR^6R^7 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 SR^6 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ から選択され、非隣接 CH_2 基の 1 以上は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 SR^6- 、 SO_3R^6- で置き換えられていてもよく、

R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、H 又は分岐状、非分岐状、又は環状の C_{1-12} ヒドロカルビルから選択され、

スペーサーは、少なくとも 1 つの $C-N$ 結合を含み、

リンカーは、本明細書で定義される一般式 (6) で特徴付けられ、

a、b、p、q、r、t は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。）

で表される化合物、又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体を提供する。

【0092】

PSMA 結合体は、典型的には約 $100 \mu M$ (マイクロモル) 未満の結合親和性で、PSMA に可逆的又は不可逆的に結合し得る。

【0093】

ヒト前立腺特異的膜抗原 (PSMA) (グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ II (GCP II)、葉酸ヒドロラーゼ 1、フォリポリ - ガンマ - グルタミン酸カルボキシペプチダーゼ (FGCP)、及び N - アセチル化アルファ結合酸性ジペプチダーゼ I (NAALADase I) とも呼ばれる) は、神経系、前立腺、腎臓、及び小腸で最も高度に発現される II 型膜貫通型亜鉛メタロペプチダーゼである。これは、前立腺癌の腫瘍マーカーと考えられている。本明細書に使用される用語「ヒト前立腺特異的膜抗原」又は「PSMA」は、好ましくは、ヒト FOLH1 遺伝子によってコードされるタンパク質を意味する。より好ましくは、この用語は、UniProt Acc. Q04609 (エントリーバージョン 186、最終変更日 2017 年 5 月 10 日)、又はその機能的変異体、アイソフォーム、断片、若しくは (翻訳後又は他の修飾をされた) 誘導体として特徴付けられるタンパク質を意味する。

【0094】

PSMA 結合体は、一般に、(ヒト) 前立腺特異的膜抗原に選択的に (及び任意に不可逆的に) 結合することができる結合体であり得る (Chang Rev Urol. 2004; 6 (Suppl 10): S13 - S18 参照)。

【0095】

PSMA 結合体は、好ましくは、PSMA に対する選択的親和性を付与する能力により選択される。好ましい PSMA 結合部分は、WO2013/022797 A1、WO2015/055318 A1、及び EP2862857 A1 に記載されており、これらの全体を参照により本明細書に援用する。

【0096】

したがって、本発明のコンジュゲートにおいて、好ましくは、PSMA 結合体は、一般式 (5) で特徴付けることができる。

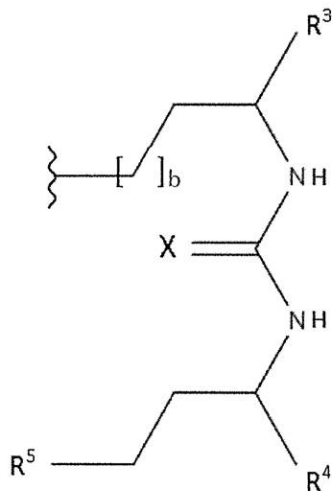
10

20

30

40

【化 19】



(5)

(式中、

Xは、O、N、S、又はPから選択され、

R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は-C(O)-NR⁸R⁹から選択され、R⁸及びR⁹は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁-C₁₀)アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、-C(S)-NH-ベンジル-、-C(O)-NH-ベンジル、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH、-(CH₂)_p-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH-C(O)-(CH₂)_q、-(CH₂)_p-CO-CO₂H、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-CO₂H]₃、-C[(CH₂)_p-CO₂H]₃、又は-(CH₂)_p-(C₅-C₁₄)ヘテロアリアルから選択され、

b、p、q、r、tは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数である。))

好ましいPSMA結合体では、bは、1、2、3、4、又は5から選択される整数であることができ、R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれCO₂Hであることができ、Xは、Oであることができる。

【0097】

リンカー

本発明コンジュゲートにおいて、PSMA結合体は、適切なリンカーを介して-CH-「分岐点」に結合/接続される。本明細書で使用する用語「リンカー」は、具体的には、PSMA結合体と-CH-「分岐点」とを接続又は結合して、その距離に亘る、及び/又はPSMA結合体を残りのコンジュゲートから「離間」する基を意味するために使用される。

【0098】

リンカーは、好ましくは、PSMA結合体と本発明コンジュゲートの他の基又はエンティティとの間の立体障害を避け、十分な可動性及び柔軟性を確保することができる。更に、リンカーは、好ましくは、十分なHSA結合、高親和性PSMA結合、及びPSMAコンジュゲート複合体の内在化によるPSMA陽性細胞の迅速かつ任意に選択的な浸透をもたらす、支持する、及び/又は可能にするように設計され得る。

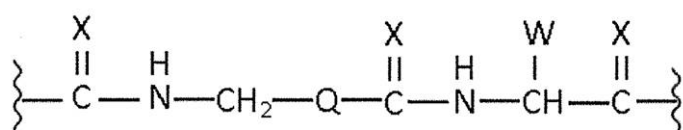
【 0 0 9 9 】

P S M A 結合体、特に一般式 (5) の特に好ましい P S M A 結合体は、好ましくは、例えば E P 2 8 6 2 8 5 7 A 1 に記載される適切なリンカーを介して本発明コンジュゲートに連結され得る。前記リンカーは、好ましくは、最適化された親油性を本発明コンジュゲートに付与して、P S M A 結合並びに細胞取り込み及び内在化を増加させ得る。リンカーは、好ましくは、少なくとも 1 つの環状基及び少なくとも 1 つの芳香族基 (特に、基 Q 及び W) を含むことができる。

【 0 1 0 0 】

したがって、本発明コンジュゲートにおいて、好ましいリンカーは、一般式 (6) で特徴付けられ得る。

【 化 2 0 】



(6)

(式中、

X は、それぞれ独立して、O、N、S、又は P から選択され、

Q は、置換又は非置換のアリール、アルキルアリール、及びシクロアルキルから選択され、好ましくは置換又は非置換の C₅ - C₁₄ アリール、C₅ - C₁₄ アルキルアリール、又は C₅ - C₁₄ シクロアルキルから選択され、

W は、- (C H₂)_c - アリール又は - (C H₂)_c - ヘテロアリールから選択され、c は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 1 から選択される整数である。)

【 0 1 0 1 】

特定の理論に拘束されることを望むものではないが、リンカー (特に、Q、W) 内の親水性又は極性官能基又はリンカーからのペンダントが、本発明コンジュゲートの P S M A 結合特性を有利に向上させ得ると考えられる。

【 0 1 0 2 】

Q が、置換されたアリール、アルキルアリール、又はシクロアルキルである場合、例示的な置換基は、前記「定義」セクションに列挙されており、限定するものではないが、ハロゲン (即ち、F、Cl、Br、及び I) ; ヒドロキシル ; アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アリールオキシ、アラルキルオキシ、ヘテロシクリルオキシ、及びヘテロシクリルアルコキシ基 ; カルボニル (オキシ) ; カルボキシル ; エステル ; ウレタン ; オキシム ; ヒドロキシルアミン ; アルコキシアミン ; アラルコキシアミン ; チオール ; 硫化物 ; スルホキシド ; スルホン ; スルホニル ; スルホンアミド ; アミン ; N - オキシド ; ヒドラジン ; ヒドラジド ; ヒドラゾン ; アジド ; アミド ; 尿素 ; アミジン ; グアニジン ; エナミン ; イミド ; イソシアナート ; イソチオシアナート ; シアン酸塩 ; チオシアン酸塩 ; イミン ; ニトロ基 ; ニトリル (即ち、C N) 、ハロアルキル、アミノアルキル、ヒドロキシアアルキル、シクロアルキルが挙げられる。

【 0 1 0 3 】

好ましくは、Q は、置換又は非置換の C₅ - C₇ シクロアルキルから選択され得る。

【 0 1 0 4 】

好ましくは、W は、- (C H₂)_c - ナフチル、- (C H₂)_c - フェニル、- (C H₂)_c - ビフェニル、- (C H₂)_c - インドリル、- (C H₂)_c - ベンゾチアゾリルから選択され、c は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。より好ましくは、W は、- (C H₂) - ナフチル、- (C H₂) - フェニル、

10

20

30

40

50

- (CH₂) - ビフェニル、- (CH₂) - インドリル、又は - (CH₂) - ベンゾチアゾリルから選択することができる。

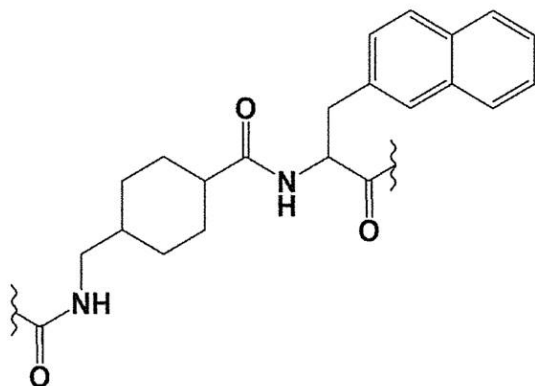
【0105】

好ましくは、各 X は、O であり得る。

【0106】

したがって、PSMA 結合体を本発明コンジュゲートに接続する特に好ましいリンカーは、以下の構造式 (6a) で特徴付けられ得る。

【化21】



10

20

(6a)

【0107】

本明細書に示される構造式のいずれかで特徴付けられる本発明に係るコンジュゲートにおいて、プレースホルダーによって特定される置換基又は基は、(該当する場合) 以下のよう定義され得る。

【0108】

D は、好ましくは、1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス [2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル] エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザピシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - {5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル} - N - [5 - ({4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル} アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され得る。より好ましくは、D は、DOTA、NODAGA、又はそれらの誘導体から選択され得る。

30

40

【0109】

X は、好ましくは、それぞれ独立して、O、N、S、又は P から選択され得る。より好ましくは、各 X が O であり得る。

【0110】

R¹ 及び R² は、好ましくは、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状の C₁ - C₁₂ ヒドロカルビル、C₂ - C₁₂ アルケニル、C₂ - C₁₂ アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CON

50

$R^6 R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6 R^7$ 、 SR^6 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ から選択され得る、又は R^1 と R^2 が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{10}$ ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 $NR^6 R^7$ 、 $CH_2NR^6 R^7$ 、及び SR^7 、 $=O$ 、 $=S$ 、及び $=NH$ から独立して選択される最大3個の基で置換されていてもよく、 R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、 H 又は分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビルから選択される。より好ましくは、 R^1 は、 H であることができ、 R^2 は、ハロゲン（好ましくは、ヨウ素又は臭素）、及び $C_1 - C_6$ アルキル、好ましくは $C_1 - C_3$ アルキル、更により好ましくはメチルから選択され得る。更により好ましくは、 R^1 は、 H であることができ、 R^2 は、 H であることができる、又はパラ位にあることができ、ヨウ素、臭素、及びメチルから選択され得る。

10

【0111】

Y は、好ましくは、単結合又は線状、分岐状、又は環状の、任意に最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、且つ少なくとも1つのハロゲン、分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{10}$ ヒドロカルビル、 OR^6 、 $OCOR^6$ 、 CHO 、 COR^6 、 CH_2OR^6 、 $NR^6 R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6 R^7$ 、 SR^6 、 $=O$ 、 $=S$ 、又は $=NH$ によって置換されていてもよい $C_1 - C_{12}$ アルキルから選択することができ、ここで、非隣接 CH_2 基の1以上は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 SR^6- 、 SO_3R^6- （ R^6 及び R^7 は、それぞれ独立して、 H 又は分岐状、非分岐状、又は環状の $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビルから選択される）で置き換えられることができる。より好ましくは、 Y は、線状又は分岐状の任意に置換された $C_1 - C_{12}$ ヒドロカルビル、より好ましくは線状又は分岐状、任意に置換された $C_1 - C_{10}$ ヒドロカルビル、更により好ましくは線状又は分岐状、任意に置換された $C_1 - C_6$ ヒドロカルビル、更により好ましくは、線状又は分岐状、任意に置換された $C_1 - C_3$ ヒドロカルビルであることができる。最も好ましくは、 Y は、 $-(CH_2)_3-$ であることができる。

20

【0112】

R^3 、 R^4 、及び R^5 は、好ましくは、それぞれ独立して、 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1 - C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-O(C_1 - C_{10})$ アルキル、 $-C(O)-NHR^8$ 、又は $-C(O)-NR^8 R^9$ から選択することができ、 R^8 及び R^9 は、それぞれ独立して、 H 、結合、 $(C_1 - C_{10})$ アルキレン、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH$ -ベンジル、 $-C(O)-NH$ -ベンジル、 $-C(O)-(C_1 - C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1 - C_{10})$ アルキレン、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 、又は $-(CH_2)_p-(C_5 - C_{14})$ ヘテロアリールから選択される。より好ましくは、 R^3 、 R^4 、及び R^5 は、 $-CO_2H$ であることができる。

30

40

【0113】

スペーサーは、好ましくは、少なくとも1つの $C-N$ 結合を含むことができる。より好ましくは、スペーサーは、本明細書に定義される式(3a)、(3b)、又は(3c)で特徴付けられ得る。

【0114】

リンカーは、好ましくは、本明細書に定義される一般式(6)で特徴付けられ得る。より好ましくは、リンカーは、本明細書に定義される一般式(6a)で特徴付けられ得る。

【0115】

50

Qは、好ましくは、置換又は非置換のアリール、アルキルアリール、又はシクロアルキルから選択することができ、好ましくは、置換又は非置換のC₅ - C₁₄アリール、C₅ - C₁₄アルキルアリール、又はC₅ - C₁₄シクロアルキルから選択することができる。

【0116】

Wは、好ましくは、-(CH₂)_c-アリール又は-(CH₂)_c-ヘテロアリールから選択することができ、cは、好ましくは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は1から選択される整数である。

【0117】

Aは、好ましくは、アミノ酸残基であり得る。より好ましくは、Aは、(D-)アスパラギン酸、(D-)グルタミン酸、又は(L-リジン)から選択され得る。

10

【0118】

Vは、好ましくは、単結合、N、又は最大3個のヘテロ原子を含む任意に置換されたC₁ - C₁₂ヒドロカルビルから選択することができ、前記ヘテロ原子は、好ましくはNから選択される。

【0119】

nは、好ましくは、1、2、3、4、又は5、好ましくは1、2、又は3から選択される整数であることができる。

mは、好ましくは、0又は1であることができる。

【0120】

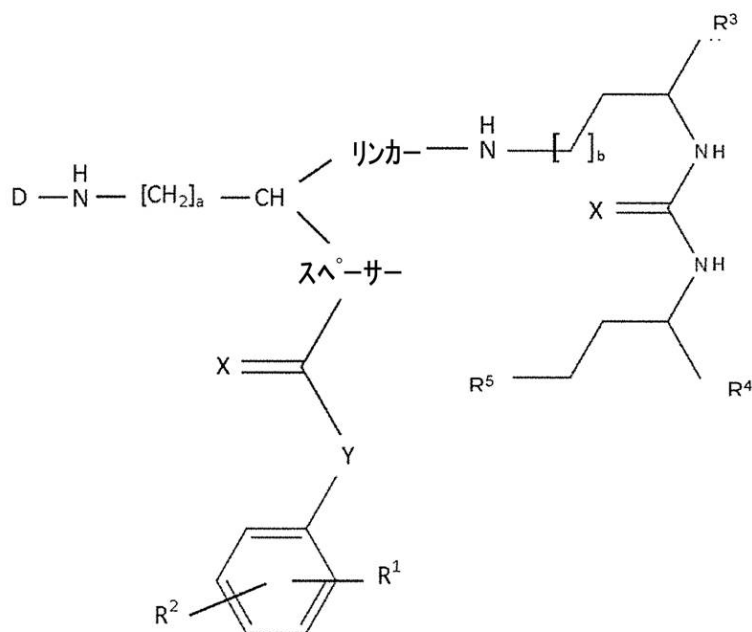
a、b、p、q、r、tは、好ましくは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であることができる。

20

【0121】

前記にしたがって、本発明に係る好ましいコンジュゲートは、一般式(1a)で特徴付けることができる。

【化22】



30

40

(1a)

(式中、

Dは、キレーターであり、好ましくは1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、N,N'-ビス[2-ヒドロキシ-5-(カルボキシエチル)-ベンジル]エチレンジアミン-N,N'-二酢酸(HBED-CC)、1,

50

4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル) ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス (カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル (2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス [メチル (2 - ヒドロキシメチル) ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザピシクロ [9, 3, 1] ペンタデカ - 1 (15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - { 5 - [アセチル (ヒドロキシ) アミノ] ペンチル } - N - [5 - ({ 4 - [(5 - アミノペンチル) (ヒドロキシ) アミノ] - 4 - オキソブタノイル } アミノ) ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

X は、それぞれ独立して、O、N、S、又は P から選択され、

R¹ 及び R² は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状の C₁ - C₁₂ ヒドロカルビル、C₂ - C₁₂ アルケニル、C₂ - C₁₂ アルキニル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CONR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は =NH から選択される、又は R¹ と R² が結合して、分岐状、非分岐状、又は環状の C₁ - C₁₀ ヒドロカルビル基を含む環状構造を形成し、前記ヒドロカルビル基は、最大 2 個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、OR⁶、OCOR⁶、COOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、CH₂NR⁶R⁷、及び SR⁷、=O、=S、及び =NH から独立して選択される最大 3 個の基で置換されていてもよく、

Y は、単結合、又は線状、分岐状、又は環状の任意に置換された、最大 2 個のヘテロ原子が介在していてもよい C₁ - C₁₂ アルキル、OR⁶、OCOR⁶、CHO、COR⁶、CH₂OR⁶、NR⁶R⁷、COOR⁶、CH₂NR⁶R⁷、SR⁶、=O、=S、又は =NH から選択され、非隣接 CH₂ 基の 1 以上は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR⁶-、-NR⁶-CO-、-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-O-、-O-CO-NR⁶-、-NR⁶-CO-NR⁶-、-CH=CH-、-C=C-、-O-CO-O-、SR⁶-、SO₃R⁶- で置き換えられていてもよく、

R⁶ 及び R⁷ は、それぞれ独立して、H 又は分岐状、非分岐状、又は環状の C₁ - C₁₂ ヒドロカルビルから選択され、

R³、R⁴、及び R⁵ は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀) アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀) アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は -C(O)-NR⁸R⁹ から選択され、R⁸ 及び R⁹ は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁-C₁₀) アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、-C(S)-NH-ベンジル-、-C(O)-NH-ベンジル、-C(O)-(C₁-C₁₀) アルキレン、-(CH₂)_p-NH、-(CH₂)_p-(C₁-C₁₀) アルキレン、-(CH₂)_p-NH-C(O)-(CH₂)_q、-(CH₂)_rCH₂-NH-C(O)-(CH₂)_p、-(CH₂)_p-CO-COH、-(CH₂)_p-CO-CO₂H、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-COH]₃、-C[(CH₂)_p-COH]₃、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-CO₂H]₃、-C[(CH₂)_p-CO₂H]₃、又は -(CH₂)_p-(C₅-C₁₄) ヘテロアリールから選択され、

スペーサーは、少なくとも 1 つの C - N 結合を含み、

リンカーは、本明細書に定義される一般式 (6) で特徴付けられ、

a、b、p、q、r、t は、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 から選択される整数である。))

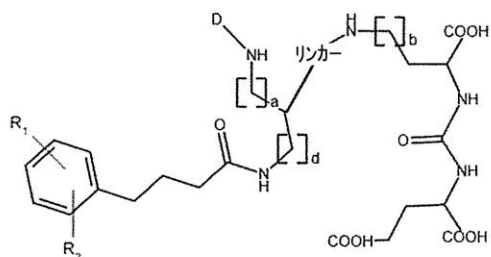
又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0122】

より好ましくは、本発明コンジュゲートは、一般式 (12.4) 又は (13.4) で特

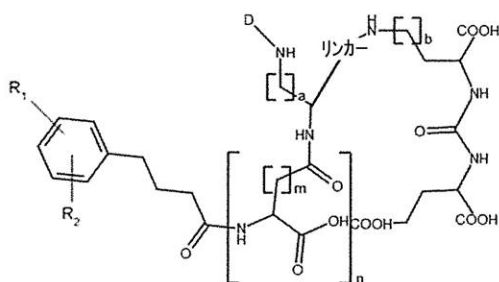
徴付けることができる。

【化 2 3】



10

(12.4)



20

(13.4)

(式中、

30

Dは、キレーターであり、好ましくは1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 4, 7, 10 - 四酢酸 (DOTA)、N, N'' - ビス[2 - ヒドロキシ - 5 - (カルボキシエチル) - ベンジル]エチレンジアミン - N, N'' - 二酢酸 (HBED-CC)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1, 4, 7 - 三酢酸 (NOTA)、2 - (4, 7 - ビス(カルボキシメチル) - 1, 4, 7 - トリアゾナン - 1 - イル)ペンタン二酸 (NODAGA)、2 - (4, 7, 10 - トリス(カルボキシメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) - ペンタン二酸 (DOTAGA)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナンホスフィン酸 (TRAP)、1, 4, 7 - トリアザシクロノナン - 1 - [メチル(2 - カルボキシエチル) - ホスフィン酸] - 4, 7 - ビス[メチル(2 - ヒドロキシメチル)ホスフィン酸] (NOPO)、3, 6, 9, 15 - テトラアザピシクロ[9, 3, 1]ペンタデカ - 1(15), 11, 13 - トリエン - 3, 6, 9 - 三酢酸 (PCTA)、N' - {5 - [アセチル(ヒドロキシ)アミノ]ペンチル} - N - [5 - ({4 - [(5 - アミノペンチル)(ヒドロキシ)アミノ] - 4 - オキソブタノイル}アミノ)ペンチル] - N - ヒドロキシスクシンアミド (DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

40

R¹及びR²は、好ましくは、それぞれ独立して、ハロゲン(好ましくは、ヨウ素又は臭素)、及びC₁ - 6アルキル、好ましくはC₁ - 3アルキル、更により好ましくはメチルから選択され、

リンカーは、上に定義される一般式(6)で特徴付けられ、より好ましくは、上に定義される一般式(6a)で特徴付けられ、

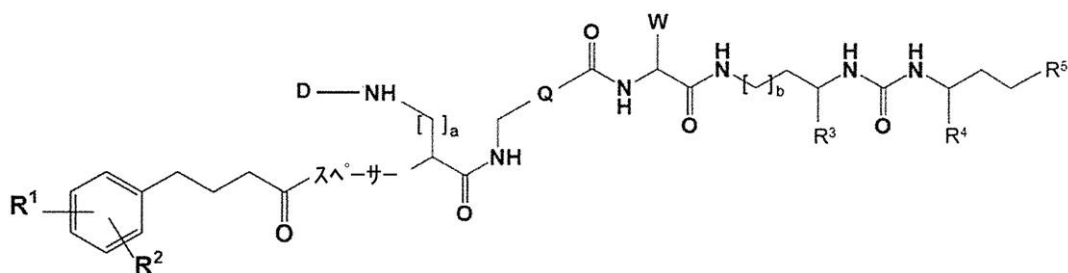
50

a、b、d、m、nは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であり、より好ましくは、a及びbは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、又は6から選択される整数であり、b、d、及びmは、1、2、3、4、5、又は6から選択される整数である。)

【0123】

より好ましくは、本発明コンジュゲートは、一般式(1b)で特徴付けることができる。

【化24】



(1b)

(式中、

Dは、キレーターであり、好ましくは1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、N,N''-ビス[2-ヒドロキシ-5-(カルボキシエチル)-ベンジル]エチレンジアミン-N,N''-二酢酸(HBED-CC)、1,4,7-トリアザシクロノナン-1,4,7-三酢酸(NOTA)、2-(4,7-ビス(カルボキシメチル)-1,4,7-トリアゾナン-1-イル)ペンタン二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-トリス(カルボキシメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1-イル)-ペンタン二酸(DOTAGA)、1,4,7-トリアザシクロノナンホスフィン酸(TRAP)、1,4,7-トリアザシクロノナン-1-[メチル(2-カルボキシエチル)-ホスフィン酸]-4,7-ビス[メチル(2-ヒドロキシメチル)ホスフィン酸](NOPO)、3,6,9,15-テトラアザビシクロ[9,3,1]ペンタデカ-1(15),11,13-トリエン-3,6,9-三酢酸(PECTA)、N'-{5-[アセチル(ヒドロキシ)アミノ]ペンチル}-N-[5-(4-[(5-アミノペンチル)(ヒドロキシ)アミノ]-4-オキソブタノイル)アミノ]ペンチル}-N-ヒドロキシスクシンアミド(DFO)、及びジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、又はそれらの誘導体から選択され、

Qは、置換又は非置換のアリール、アルキルアリール、及びシクロアルキルから選択され、

Wは、-(CH₂)_d-アリール又は-(CH₂)_d-ヘテロアリールから選択され、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、F、Cl、Br、I、分岐状、線状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、前記ヒドロカルビルは、最大2個のヘテロ原子が介在していてもよく、F、Cl、Br、I、分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビル、OR⁷、OCOR⁷、COOR⁷、CHO、COR⁷、CH₂OR⁷、NR⁷R⁸、CH₂NR⁷R⁸、及びSR⁸、=O、=S、及び=NHから独立して選択される最大3個の基で置換されていてよく、R⁷及びR⁸は、それぞれ独立して、H又は分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、好ましくは、R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、Br、I、及び線状C₁-C₁₂アルキルから選択され、

R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれ独立して、-COH、-CO₂H、-SO₂H、-SO₃H、-SO₄H、-PO₂H、-PO₃H、-PO₄H₂、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-O(C₁-C₁₀)アルキル、-C(O)-NHR⁸、又は-C

(O) - NR⁸R⁹から選択され、R⁸及びR⁹は、それぞれ独立して、H、結合、(C₁ - C₁₀)アルキレン、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、-C(S)-NH-ベンジル-、-C(O)-NH-ベンジル、-C(O)-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH、-(CH₂)_p-(C₁-C₁₀)アルキレン、-(CH₂)_p-NH-C(O)-(CH₂)_q、-(CH_rCH₂)_t-NH-C(O)-(CH₂)_p、-(CH₂)_p-CO-COH、-(CH₂)_p-CO-CO₂H、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-COH]₃、-C[(CH₂)_p-COH]₃、-(CH₂)_p-C(O)NH-C[(CH₂)_q-CO₂H]₃、-C[(CH₂)_p-CO₂H]₃、又は-(CH₂)_p-(C₅-C₁₄)ヘテロアリールから選択され、

a、b、d、p、q、r、s、及びtは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であり、

スペーサーは、少なくとも1つのC-N結合を含む。))

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0124】

一般式(1b)で表される本発明の好ましいコンジュゲートにおいては、以下の定義のいずれか1つ、好ましくは以下の定義の少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ、より好ましくは少なくとも4つ、又は最も好ましくは全てが、「D」、「Q」、「W」、「a」、「b」、「R¹」、「R²」、「R³」、「R⁴」、及び/又は「R⁵」に適用され得る。

【0125】

Dは、任意のキレーター(例えば、本明細書に定義されるもの)から選択することができ、より好ましくは、Dは、DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA、又はそれらの誘導体から選択することができ、最も好ましくは、Dは、DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP^{PrA}、又はDO3AP^{ABn}から選択することができる。

【0126】

Qは、置換又は非置換のC₅-C₇シクロアルキルから選択することができる。Wは、-(CH₂)-ナフチル、-(CH₂)-フェニル、-(CH₂)-ビフェニル、-(CH₂)-インドリル、又は-(CH₂)-ベンゾチアゾリルから選択でき、より好ましくは、Wは、-(CH₂)-ナフチルであることができる。

【0127】

a、bは、それぞれ独立して、0、1、2、3、4、5、又は6から選択される整数であることができる。

【0128】

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、及びC₁-C₃アルキルから選択することができ、R³、R⁴、及びR⁵は、それぞれCO₂Hであることができる。

【0129】

そのような好ましいコンジュゲートは、一般式(1c)で特徴付けることができる。

10

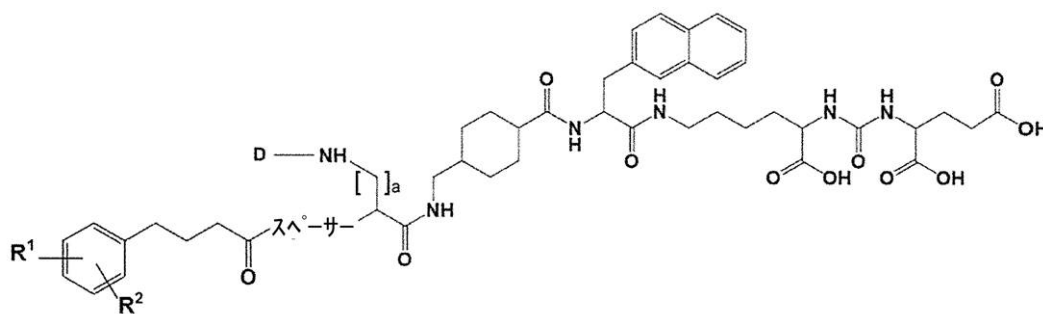
20

30

40

50

【化 2 5】



10

(1c)

(式中、

以下の定義のいずれか1つ、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ、又は最も好ましくは全てが、「D」、「a」、「R¹」、及び/又は「R²」に適用することができ、

Dは、DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA、又はそれらの誘導体から選択することができる。最も好ましくは、Dは、DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP^{PrA}、又はDO3AP^{ABn}から選択することができる、

20

aは、0、1、2、3、4、5、又は6から選択される整数であることができる。

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、又はC₁-C₃アルキルから選択され、

、
 スペーサーは、少なくとも1つのC-N結合を含む。))

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0130】

一般式(1c)の好ましいコンジュゲートにおいては、

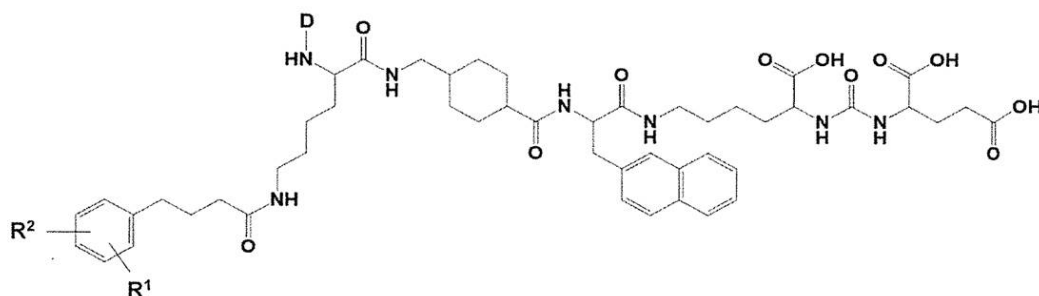
aは、0であることができ、

スペーサーは、-[CHR¹⁰]_u-NR¹¹-であることができ、

30

ここで、R¹⁰とR¹¹は、それぞれ独立して、H及び分岐状、非分岐状、又は環状のC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択でき、uは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10から選択される整数であることができる。一般式(1a)の好ましいコンジュゲートにおいては、スペーサーは、式(3a)で特徴付けられる。したがって、そのような好ましいコンジュゲートは、一般式(7a)で特徴付けることができる。

【化 2 6】



40

(7a)

(式中、

Dは、DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA、又はそれらの誘導体から選択するこ

50

とができ、最も好ましくは、Dは、DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP^P_{rA}、又はDO3AP^{ABn}から選択することができ、

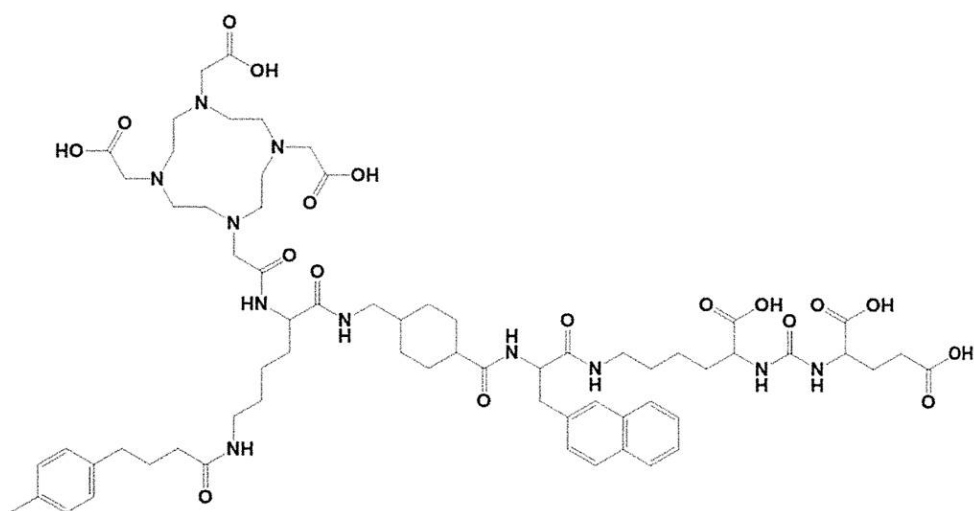
R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、又はC₁-C₃アルキルから選択することができる。）

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

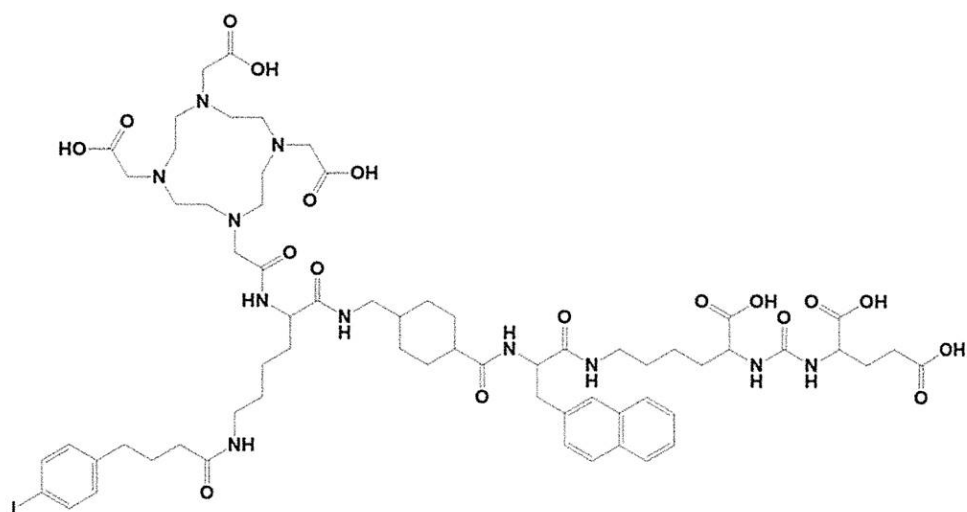
【0131】

具体的には、本発明に係る好ましいコンジュゲートは、式(7a)(i)、(7a)(ii)、又は(7a)(iii)で特徴付けることができる。

【化27】



(7a)(i)



(7a)(ii)

10

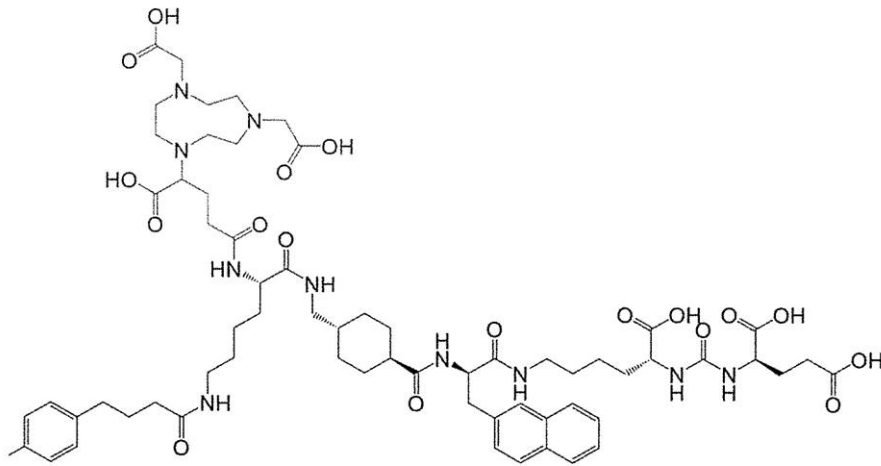
20

30

40

50

【化 2 8】



10

(7a)(iii)

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0132】

式(7a)(i)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「PSMA-06」又は「PSMA-ALB-06」とも呼ばれる。

20

【0133】

式(7a)(ii)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「PSMA-03」又は「PSMA-ALB-03」とも呼ばれる。式(7a)(iii)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「PSMA-89」又は「PSMA-ALB-89」とも呼ばれる。

【0134】

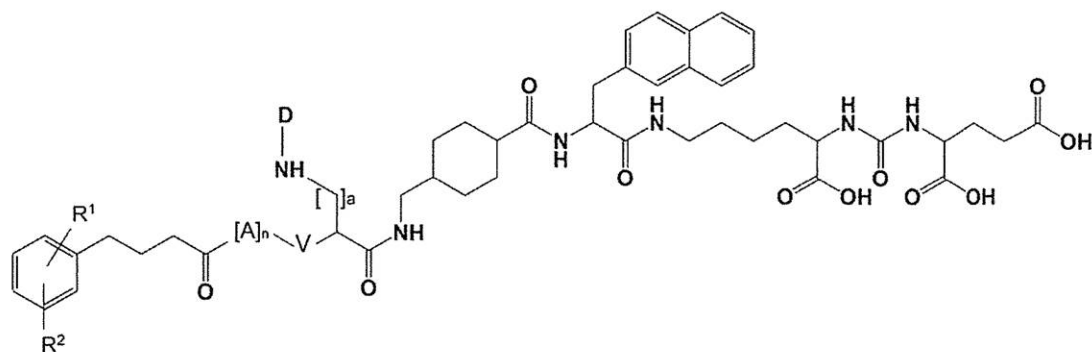
一般式(1c)の代替の好ましいコンジュゲートにおいては、スペーサーは、好ましくは(D-/L-)アスパラギン酸、グルタミン酸、又はリジンから選択される少なくとも1つのアミノ酸残基を含む。好ましくは、スペーサーは、好ましくは(D-/L-)アスパラギン酸、グルタミン酸、又はリジンアミノ酸残基から独立して選択される、少なくとも1、2、3、4、又は最大5つのアミノ酸残基を含むことができる。

30

【0135】

そのようなコンジュゲートは、好ましくは、一般式(3b)又は(3c)で表されるスペーサーを含むことができる。したがって、そのような好ましいコンジュゲートは、一般式(7b)で特徴付けることができる。

【化 2 9】



40

(7b)

50

(式中、

Dは、DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA、又はそれらの誘導体から選択することができ、最も好ましくは、Dは、DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP^{PrA}、又はDO3AP^{ABⁿ}から選択することができ、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、H、ヨウ素、及びC₁-C₃アルキルから選択され、

Aは、好ましくは(D-)アスパラギン酸、(D-)グルタミン酸、又は(L-リジン)から選択されるアミノ酸残基であり、

Vは、単結合、N、又は最大3個のヘテロ原子を含む任意に置換されたC₁-C₁₂ヒドロカルビルから選択され、前記ヘテロ原子は、好ましくはNから選択され、

nは、1、2、3、4、又は5、好ましくは1、2、又は3から選択される整数であり、

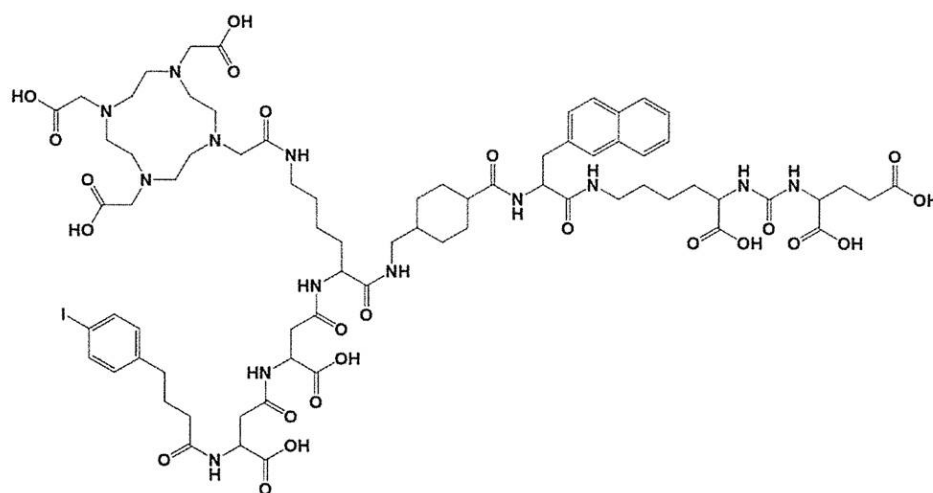
aは、1、2、3、4、5、又は6から選択される整数である。))

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0136】

具体的には、そのようなコンジュゲートは、式(7b)(i)、(7b)(ii)、又は(7b)(iii)で特徴付けることができる。

【化30】



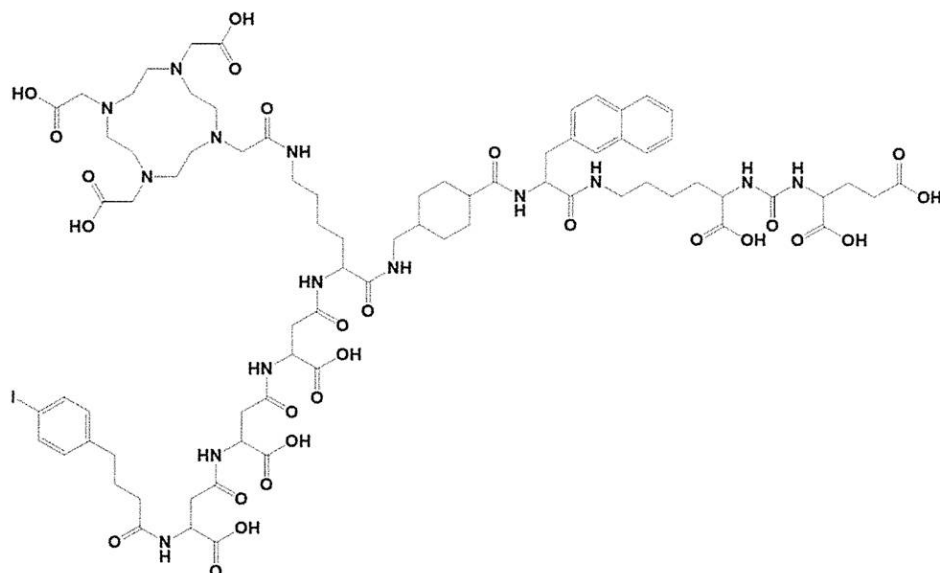
(7b)(i)

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【0137】

式(7b)(i)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書ではPSMA-05又は「PSMA-ALB-05」とも呼ばれる。

【化 3 1】



10

(7b)(ii)

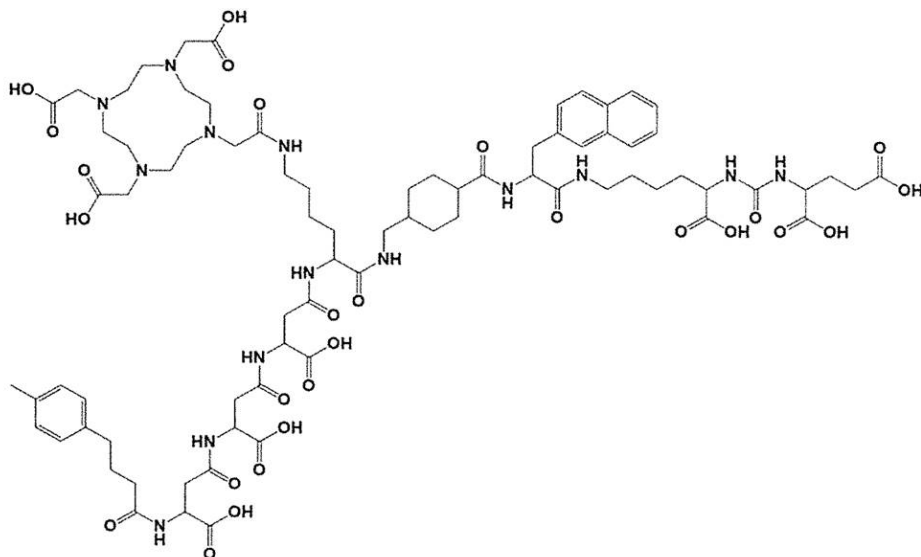
20

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【 0 1 3 8】

式(7b)(ii)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「PSMA-07」又は「PSMA-ALB-07」とも呼ばれる。

【化 3 2】



30

40

(7b)(iii)

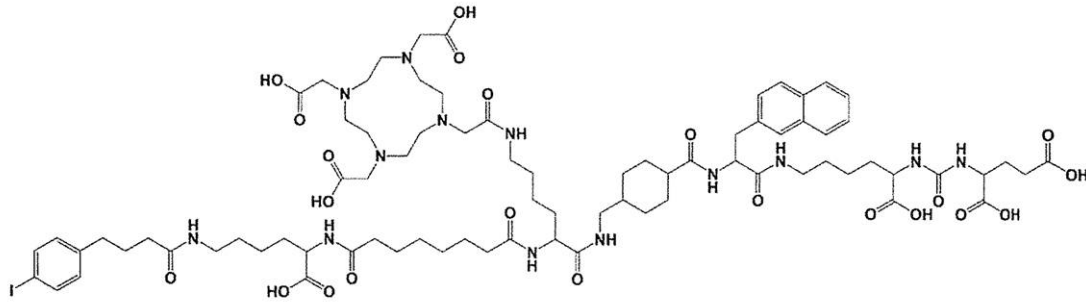
又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【 0 1 3 9】

式(7b)(iii)で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「PSMA-08」又は「PSMA-ALB-08」とも呼ばれる。

50

【化 3 3】



10

(7b)(iv)

又はその薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、若しくは放射標識錯体。

【 0 1 4 0 】

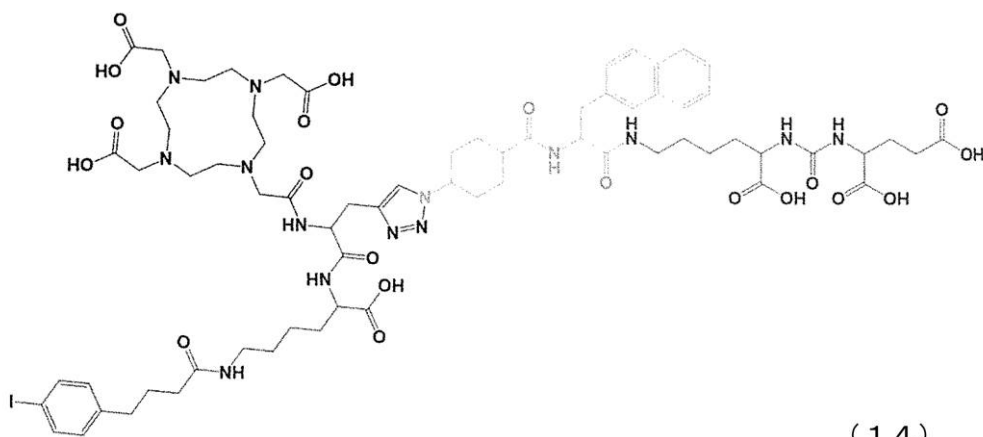
式 (7 b) (i v) で特徴付けられるコンジュゲートは、本明細書では「 P S M A - 0 4 」又は「 P S M A - A L B - 0 4 」とも呼ばれる。

20

【 0 1 4 1 】

本発明は、更に、構造式 (1 4) 、 (1 5) 、及び (1 6) で特徴付けられるコンジュゲートを提供する。

【化 3 4】



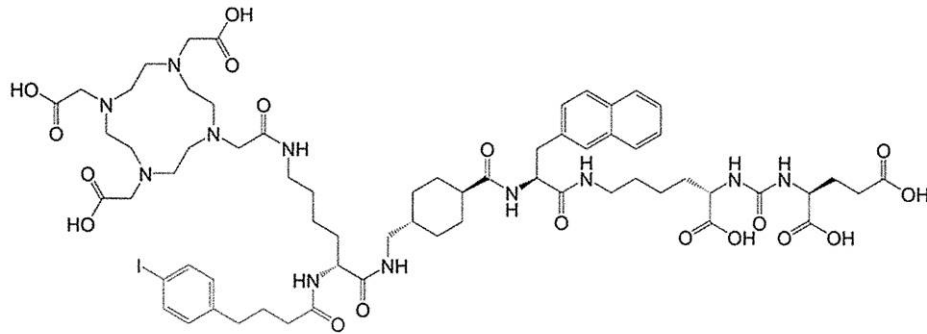
(1 4)

30

40

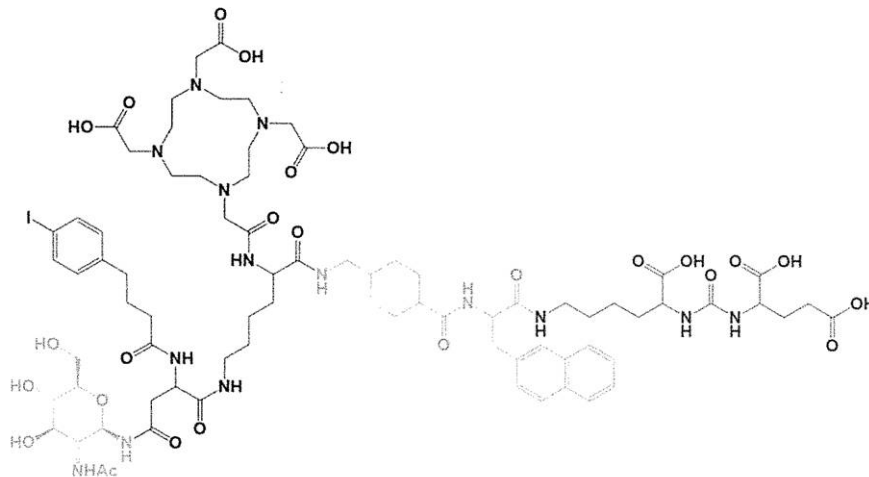
50

【化 3 5】



10

(15)



20

(16)

【 0 1 4 2】

薬学的に許容される塩

本発明は、更に、本明細書に記載されるコンジュゲートの薬学的に許容される塩を包含する。

30

【 0 1 4 3】

医薬組成物の調製は、当業者によく知られている。本発明のコンジュゲートの薬学的に許容される塩は、本発明に係るコンジュゲートの任意の遊離塩基及び／又は酸を少なくとも化学量論量の所望の塩形成酸又は塩基とそれぞれ反応させるなどの従来の手続によって調製することができる。

【 0 1 4 4】

本発明の薬学的に許容される塩としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、及びアンモニウムなどの無機カチオンとの塩、及び有機塩基との塩が挙げられる。適切な有機塩基としては、N - メチル - D - グルカミン、アルギン (a r g m m e)、ベンザチン、ジオールアミン、オラミン、プロカム、及びトロメタミンが挙げられる。本発明に係る薬学的に許容される塩としては、また、有機酸又は無機酸に由来する塩が挙げられる。適切なアニオンとしては、酢酸塩、アジピン酸塩、ベシラート、臭化物、カムシラート、塩化物、クエン酸塩、エジシラート、エストラート、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、馬尿酸塩、ヒクラート、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化物、イセチオナート、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、マレイン酸塩、メシラート、臭化メチル、硫酸メチル、ナプシル酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩、ポリガラクトロン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、スルホサリチル酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、テレフタラート、トシラート、及びトリエチオダイドが挙げられる。

40

50

【 0 1 4 5 】

錯体化 / 非錯体化形態

本発明は、更に、キレーターDが金属イオン（放射性核種など）と錯体化されていても錯体化されていなくてもよい、本明細書に記載のコンジュゲートを包含する。

【 0 1 4 6 】

用語「放射性核種」（又は「放射性同位体」）は、粒子（corpuscular）（即ち、陽子（アルファ線）又は電子（ベータ線）又は電磁気放射（ガンマ線）の放出を伴って崩壊する不安定な中性子対陽子比を有する天然又は人工の同位体を意味する。換言すれば、放射性核種は放射性崩壊を受ける。キレーターDは、知られた放射性核種と錯体を形成することができる。好ましくは癌のイメージング又は治療に有用な放射性核種が好適である。そのような放射性核種としては、限定するものではないが、 ^{94}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{90}In 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{151}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{55}Co 、 ^{57}Co 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{227}Th 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{152}Gd 、 ^{153}Gd 、 ^{157}Gd 、又は ^{166}Dy が挙げられる。適切な放射性核種の選択は、特に、キレーターDの化学構造とキレート化能力、及び結果として得られる（錯体化）コンジュゲートの用途（診断対治療など）に依存する。例えば、 ^{90}Y 、 ^{131}I 、 ^{161}Tb 、 ^{177}Lu などのベータ放射体は、同時全身放射性核種治療に使用できる。キレーターとしてDOTAを用いると、放射性核種として ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{177}Lu 、 ^{161}Tb 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb のいずれかの使用が有利に可能にすることができる。

10

20

【 0 1 4 7 】

幾つかの好ましい実施形態では、放射性核種は、 ^{177}Lu であることができる。幾つかの好ましい実施形態では、放射性核種は、 ^{44}Sc であることができる。幾つかの好ましい実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu であることができる。幾つかの好ましい実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga であることができる。

【 0 1 4 8 】

コンジュゲートと放射性核種の適切な組合せを選択することは、当業者の技能と知識の範囲内である。例えば、幾つかの好ましい実施形態では、キレーターはDOTAであることができ、放射性核種は ^{177}Lu であることができる。他の好ましい実施形態では、キレーターはDOTAであることができ、放射性核種は ^{68}Ga であることができる。他の好ましい実施形態では、キレーターはDOTAであることができ、放射性核種は ^{44}Sc であることができる。更に好ましい実施形態では、キレーターはDOTAであることができ、放射性核種は ^{64}Cu であることができる。他の好ましい実施形態では、キレーターはNODAGAであることができ、放射性核種は ^{64}Cu であることができる。

30

【 0 1 4 9 】

エステルとプロドラッグ

本発明は、更に、特に遊離カルボン酸基がエステル化されている、それらのエステル化形態の本発明コンジュゲートを包含する。そのようなエステル化化合物は、本発明コンジュゲートの製品形態であり得る。適切なエステルプロドラッグは、飽和及び不飽和 $\text{C}_8 - \text{C}_{18}$ 脂肪酸を含む様々なアルキルエステルを含む。

40

【 0 1 5 0 】

エナンチオマー

本明細書に開示されるコンジュゲートは、特定の幾何学的形態又は立体異性形態で存在し得る。更に、化合物は光学的に活性であってもよい。本発明コンジュゲートは、シス及びトランス異性体、R-及びS-エナンチオマー、ジアステレオマー、(D)-異性体、(L)-異性体、それらのラセミ混合物、及びそれらの他の混合物も含み得る。更なる不斉炭素原子が、アルキル基などの置換基に存在していてもよい。例えば、基又はコンジュゲートの特定のエナンチオマーが望ましい場合、不斉合成によって、又はキラル助剤による誘導体化によって調製することができ、得られるジアステレオマー混合物を分離し、補

50

助基を切断して純粋な所望のエナンチオマーがもたらされる。或いは、基又はコンジュゲートがアミノなどの塩基性官能基、又はカルボキシルなどの酸性官能基を含む場合、適切な光学活性酸又は塩基でジアステレオマー塩を形成した後、形成されたジアステレオマーを、当技術分野でよく知られた分別結晶化又はクロマトグラフィー手段により分割し、続いて純粋なエナンチオマーを回収する。

【0151】

「立体異性体」は、その化合物の他の立体異性体を実質的に含まない化合物の1つの立体異性体である。したがって、1つのキラル中心を有する立体異性的に純粋な化合物は、その化合物の反対のエナンチオマーを実質的に含まない。2つのキラル中心を有する立体異性的に純粋な化合物は、その化合物の他のジアステレオマーを実質的に含まない。典型的な立体異性的に純粋な化合物は、約80重量%を超えるその化合物の1つの立体異性体及び約20重量%未満のその化合物の他の立体異性体を含み、例えば、約90重量%を超えるその化合物の1つの立体異性体及び約10重量%未満のその化合物の他の立体異性体を含む、又は約95重量%を超えるその化合物の1つの立体異性体及び約5重量%未満のその化合物の他の立体異性体を含む、又は約97重量%を超えるその化合物の1つの立体異性体及び約3重量%未満のその化合物の他の立体異性体を含む。

【0152】

したがって、本明細書に開示される式はいずれも、そのエナンチオマー及び/又は立体異性体を含む。

【0153】

放射標識錯体

更なる態様によれば、本発明は、放射標識錯体の調製のための本発明コンジュゲートの使用に関する。そのような放射標識錯体は、好ましくは、本発明に係るコンジュゲートと放射性核種を含む。キレーターDは、好ましくは、放射性核種に配位し、放射標識錯体を形成する。適切な放射性核種は、治療診断用金属同位体から選択でき、限定するものではないが、 ^{94}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{90}In 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{151}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{55}Co 、 ^{57}Co 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{227}Th 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{152}Gd 、 ^{153}Gd 、 ^{157}Gd 、又は ^{166}Dy を含む。

【0154】

更なる態様によれば、本発明は、更に、放射性核種（好ましくは上記の群から選択される）及び本発明に係るコンジュゲートを含む錯体を提供する。

【0155】

医薬組成物

更なる態様によれば、本発明は、更に、本発明コンジュゲート（本明細書に記載の薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、又は放射標識錯体を含む）、及び薬学的に許容される担体及び/又は賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【0156】

用語「薬学的に許容される」は、本発明コンジュゲートと適合性があり、その診断又は治療活性を妨害及び/又は実質的に低下させない化合物又は剤を意味する。薬学的に許容される担体は、治療される被験体への投与に適したものとするために、十分に高い純度と十分に低い毒性を有することが好ましい。

【0157】

配合物、担体、及び賦形剤

薬学的に許容される賦形剤は、様々な機能的役割を發揮することができ、限定するものではないが、希釈剤、充填剤、増量剤、担体、崩壊剤、結合剤、潤滑剤、流動促進剤、コーティング、溶媒及び共溶媒、緩衝剤、防腐剤、アジュバント、抗酸化剤、湿潤剤、消泡剤、増粘剤、甘味剤、香料、及び保湿剤を含む。

【0158】

適切な薬学的に許容される賦形剤は、典型的には、（医薬）組成物の配合に基づき選択される。

【0159】

液体形態の（医薬）組成物の場合、一般に、有用な薬学的に許容される賦形剤としては、溶媒、（パイロジェンフリー）水などの希釈剤又は担体、リン酸又はクエン酸緩衝食塩水などの（等張）食塩水、固定油、植物油（例えば、落花生油、綿実油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）；レシチン；界面活性剤；ベンジルアルコール、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどの保存剤；糖、マンニトール、ソルビトールなどの多価アルコール、又は塩化ナトリウムなどの等張剤；モノステアリン酸アルミニウム又はゼラチン；アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムなどの酸化防止剤；エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩、又はリン酸塩などの緩衝剤、及び塩化ナトリウム又はデキストロースなどの張度調整剤が挙げられる。pHは、塩酸又は水酸化ナトリウムなどの酸又は塩基で調整することができる。緩衝剤は、特定の参照媒体に関して高張性、等張性、又は低張性であり得る、即ち、緩衝剤は、特定の参照媒体に関してより高い、同一、又はより低い塩含量を有することができ、前記塩を、浸透又は他の濃度の影響による細胞の損傷をもたらさないそのような濃度で使用するることができることが好ましい。参照媒体は、例えば、血液、リンパ液、サイトゾル液、又は他の体液などの *in vivo* 法で生じる液体、又は一般的な緩衝液又は液体などの *in vitro* 法で参照媒体として使用され得る液体である。そのような一般的な緩衝液又は液体は当業者に知られている。

10

20

【0160】

注射（特に、*i.v.* 注射）により投与される液体（医薬）組成物は、好ましくは、製造及び保存の条件下で無菌且つ安定であるべきである。そのような組成物は、典型的には、パイロジェンフリーであり、適切なpHを有し、等張性であり、活性成分の安定性を維持する、非経口的に許容される水溶液として処方される。

【0161】

液体医薬組成物の場合、適切な薬学的に許容される賦形剤及び担体としては、水、典型的にはパイロジェンフリー水；等張食塩水又は緩衝（水）溶液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩などの緩衝溶液が挙げられる。特に、本発明の（医薬）組成物の注射のためには、水又は好ましくは緩衝液、より好ましくは水性緩衝液を使用することができ、これは、ナトリウム塩、例えば少なくとも50mMのナトリウム塩、カルシウム塩、例えば少なくとも0.01mMのカルシウム塩、及び任意にカリウム塩、例えば少なくとも3mMのカリウム塩を含有し得る。

30

【0162】

ナトリウム塩、カルシウム塩、及び任意にカリウム塩は、それらのハロゲン化物の形態（例えば、塩化物、ヨウ化物、又は臭化物）、それらの水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩、又は硫酸塩などで存在してもよい。限定するものではないが、ナトリウム塩の例としては、例えば、NaCl、NaI、NaBr、Na₂CO₃、NaHCO₃、Na₂SO₄が挙げられ、任意のカリウム塩の例としては、例えば、KCl、KI、KBr、K₂CO₃、KHCO₃、K₂SO₄が挙げられ、カルシウム塩の例としては、例えば、CaCl₂、CaI₂、CaBr₂、CaCO₃、CaSO₄、Ca(OH)₂が挙げられる。更に、前記カチオンの有機アニオンも緩衝剤中に含有されてもよい。

40

【0163】

上に定義される注射目的に適した緩衝剤は、塩化ナトリウム（NaCl）、塩化カルシウム（CaCl₂）、及び任意に塩化カリウム（KCl）から選択される塩を含むことができ、前記塩化物に加えて更なるアニオンが存在してもよい。CaCl₂はまた、KClのような他の塩で置き換えることができる。典型的には、注射緩衝液中の塩は、少なくとも50mMの塩化ナトリウム（NaCl）、少なくとも3mMの塩化カリウム（KCl）、及び少なくとも0.01mMの塩化カルシウム（CaCl₂）の濃度で存在する。注射

50

緩衝液は、特定の参照媒体に関して高張性、等張性、又は低張性であり得る、即ち、緩衝剤は、特定の参照媒体に関してより高い、同一、又はより低い塩含量を有し得る。前記塩を、浸透又は他の濃度の影響による細胞の損傷をもたらさないそのような濃度で 사용할ことができることが好ましい。

【0164】

(半)固体形態の(医薬)組成物の場合、適切な薬学的に許容される賦形剤及び担体としては、微結晶セルロース、トラガカントガム、又はゼラチンなどの結合剤；デンプン又はラクトース；例えば、ラクトース、グルコース、及びスクロースなどの糖；例えば、コーンスターチ又はポテトスターチなどのデンプン；セルロース及びその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、酢酸セルロースなど；アルギン酸などの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤；ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムなどの滑剤；硫酸カルシウム、コロイド状二酸化ケイ素など；スクロース又はサッカリンなどの甘味剤；ペパーミント、サリチル酸メチル、又はオレンジ香料などの香味剤などが挙げられる。

10

【0165】

一般に、局所投与用の(医薬)組成物は、クリーム、軟膏、ゲル、ペースト、又は散剤として処方することができる。経口投与用の(医薬)組成物は、錠剤、カプセル剤、液剤、散剤として、又は持続放出形式で処方することができる。しかし、好ましい実施形態によれば、本発明の(医薬)組成物は、特に静脈内又は腫瘍内注射を介して非経口的に投与され、したがって、本明細書の他の箇所で記載されるように非経口投与用に液体形態又は凍結乾燥形態で処方される。非経口製剤は、典型的にはバイアル、ＩＶバッグ、アンプル、カートリッジ、又はプレフィルドシリンジに保管され、注射剤、吸入剤、又はエアロゾルとして投与することができるが、注射剤が好ましい。

20

【0166】

(医薬)組成物は、凍結乾燥形態で提供することができる。凍結乾燥(医薬)組成物は、投与前に、有利には水性担体に基づく、適切な緩衝液中で再構成される。

【0167】

(医薬)組成物は、好ましくは、安全かつ有効な量の本発明コンジュゲート又は放射標識錯体を含む。

【0168】

本明細書に使用される場合、「安全かつ有効な量」は、治療されるべき疾患の診断を可能にする及び/又は積極的な変化を有意に誘発するのに十分な活性剤の量を意味する。しかし、同時に、「安全かつ有効な量」は、深刻な副作用を回避するのに十分、即ち、利益とリスクの間に良好な関係をもたらすのに十分小さい。「安全かつ有効な量」は更に、診断又は治療されるべき特定の状態に関連して、また、治療対象患者の年齢及び体調、状態の重症度、治療期間、付随する治療の性質、使用される特定の薬学的に許容される賦形剤又は担体の性質、及び類似の要因にも関連して変化する。

30

【0169】

本発明コンジュゲートはまた、好ましくは癌の治療、特に前立腺癌、膵臓癌、腎癌、又は膀胱癌の治療及び/又は予防のための医薬の調製における使用のために提供される。

40

【0170】

キット

更なる態様によれば、本発明は、本発明コンジュゲート(その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、又は放射標識錯体を含む)及び/又は本発明の医薬組成物を含むキットに関する。

【0171】

任意に、キットは、放射性核種、抗菌剤、可溶化剤などの、医薬組成物の文脈において本明細書に定義される少なくとも1つの更なる剤を含み得る。

【0172】

キットは、上に例示した成分を適切な容器中に含む2つ以上のパーツを含むキットであ

50

ることができる。例えば、容器が成分の適時前の混合を好ましくは防止する限り、各容器は、バイアル、ボトル、スクイーズボトル、ジャー、密封スリーブ、エンベロープ若しくはポーチ、チューブ若しくはプリスターパッケージ、又は他の好適な形態であり得る。異なる成分はそれぞれ、別々に提供されてもよく、又は異なる構成要素の幾つかは、一緒に（即ち同じ容器内に）提供されてもよい。

【0173】

薬剤師又は医師による意図的な混合の前に、1つの区画の内容物が別の区画の内容物と物理的に関連することができないという限り、容器は、バイアル、チューブ、ジャー、又はエンベロープ、又はスリーブ、又はプリスターパッケージ、又はボトル内の区画又はチャンバーでもあり得る。

【0174】

キット又はキットオブパーツは、その成分のいずれかの投与及び投与量に関する情報を含む技術的な説明書を更に含み得る。

【0175】

治療及び診断方法並びに使用

更なる態様によれば、本発明は、医薬及び/又は診断薬における使用のための本発明コンジュゲート（その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、及び放射標識錯体を含む）、医薬組成物、又はキットに関する。好ましくは、前記本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットは、ヒトの医療目的に使用される。したがって、本発明は、更に、医薬として使用するための、これらの本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットを包

【0176】

本発明コンジュゲートは、好ましくは、選択的に前立腺特異的膜抗原（PSMA）を標的とすることができる。したがって、特定の態様によれば、本発明は、前立腺特異的膜抗原（PSMA）を発現する細胞及び/又は組織の存在を検出する方法における使用のための本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットを提供する。

【0177】

PSMAは、特に、悪性癌細胞上で発現する。本明細書で使用される用語「癌」は、周囲組織に浸潤し且つ遠位の身体部位に転移する傾向がある細胞の制御されていない通常速い増殖を特徴とする新生物を意味する。この用語は、良性及び悪性の新生を含む。癌の悪性度は、通常、退形成、浸潤性、及び転移性で特徴付けられる一方、良性の悪性度は、通常、これらの特性は有しない。この用語は、腫瘍の成長を特徴とする新生物と血液及びリンパ系の癌を含む。

【0178】

具体的には、PSMAは、前立腺癌細胞、膵臓癌細胞、腎癌細胞、又は膀胱癌細胞において、任意に多量に発現され得る。

【0179】

更なる特定の態様によれば、本発明は、前立腺癌、膵臓癌、腎癌、又は膀胱癌を診断、治療、及び/又は予防する方法における使用のための、本発明コンジュゲート（その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、及び放射標識錯体を含む）、医薬組成物、又はキットを提供する。

【0180】

用語「診断」又は「診断する」は、その徴候及び症状から疾患を識別する行為、及び/又は本件の場合、疾患を示す生物学的マーカー（例えば、遺伝子又はタンパク質）の分析を意味する。

【0181】

疾患の「治療」又は「治療すること」という用語は、その疾患を予防又はそれに対し防御すること（即ち、臨床症状が発症しないようにすること）；疾患を阻害すること（即ち、臨床症状の発症を阻止又は抑制すること、及び/又は疾患を軽減すること（即ち、臨床症状の後退を引き起こすこと）を含む。理解されるように、最終的な1つ又は複数の誘発

10

20

30

40

50

事象は未知又は潜在的であり得るので、疾患又は障害を「予防する」と「抑制すること」とを区別することは常に可能という訳ではない。したがって、用語「予防」は、「予防すること」及び「抑制すること」の両方を包含する一種の「治療」を構成すると理解される。したがって、用語「治療」は「予防」を含む。

【0182】

本明細書で使用される「被験体」、「患者」、又は「個体」という用語は、一般に、ヒト及び非ヒト動物、好ましくは哺乳動物（例えば、マーモセット、タマリン、クモザル、フクロウザル、ベルベットサル、リスザル、ヒヒ、マカク、チンパンジー、オランウータン、ゴリラ；ウシ；ウマ；ヒツジ；ブタ；トリ；ネコ；イヌ；マウス；ラット；ウサギ；モルモットなどの非ヒト霊長類）、例えば、キメラ及びトランスジェニック動物並びに疾患モデルを含む。本発明の文脈において、「被験体」という用語は、好ましくは非ヒト霊長類又はヒト、最も好ましくはヒトを意味する。

10

【0183】

本明細書に記載され、癌、特に前立腺癌、膵臓癌、腎癌、又は膀胱癌の診断、治療、又は予防に関する使用及び方法は、好ましくは、(a) 本発明コンジュゲート（その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、及び放射標識錯体を含む）、医薬組成物、又はキットを患者に投与する工程と、(b) 前記患者から放射線画像を取得する工程を含むことができる。

【0184】

本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットは、典型的には、非経口投与される。投与は、好ましくは全身的に、例えば静脈内(i.v.)、皮下、筋肉内、又は皮内注射により達成することができる。或いは、投与は、例えば腫瘍内注射により局所的に達成することができる。

20

【0185】

本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットは、それを必要とする被験体に1日数回、1日間に1回ずつ、1日間おきに1回ずつ、1週間に1回ずつ、又は1ヶ月間に1回ずつ投与することができる。好ましくは、治療、診断、又は予防は、本発明コンジュゲート、医薬組成物、又はキットの有効用量で行われる。

【0186】

本発明コンジュゲートの有効用量は、通常の実験、例えば、動物モデルを使用して決定することができる。そのようなモデルとしては、限定するものではないが、ウサギ、ヒツジ、マウス、ラット、イヌ、及び非ヒト霊長類モデルが挙げられる。本発明コンジュゲート又は放射標識錯体の治療効果及び毒性は、例えば、LD50（集団の50%致死量）及びED50（集団の50%に治療的に有効な用量）を決定するための、細胞培養又は実験動物における標準的な医薬手続によって決定できる。毒性効果と治療効果との間の用量比が治療指数であり、比LD50/ED50として表すことができる。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータは、ヒトにおける使用のための用量範囲を決定するのに使用することができる。前記コンジュゲートの用量は、好ましくは、毒性が殆どない又は全くないED50を含む血中濃度の範囲内にある。

30

【0187】

例えば、本発明コンジュゲートの治療又は診断有効用量は、投与単位当たり約0.001mg~10mg、好ましくは約0.01mg~5mg、より好ましくは約0.1mg~2mg、又は投与単位当たり約0.01nmol~1mmol、特に、投与単位当たり1nmol~1mmol、好ましくは投与単位当たり1µmol~1mmolである。本発明コンジュゲートの治療又は診断有効用量は、(体重1kg当たり)約0.01mg/kg~10g/kg、好ましくは約0.05mg/kg~5g/kg、より好ましくは約0.1mg/kg~2.5g/kgの範囲であり得ることもまた想定される。有利なことに、それらの好ましい薬物動態特性のために、本発明コンジュゲートは、好ましくは、他のPSMAリガンドよりも低用量で投与することができる。

40

【0188】

50

上で確立したように、本発明コンジュゲートは、特に、P S M A 発現細胞の標的化を含む治療診断用途に役立つ。本明細書で使用される用語「治療診断薬」は、「治療のみ」、「診断のみ」、及び「治療及び診断」の用途を含む。更なる態様において、本発明は、前立腺特異的膜抗原 (P S M A) を発現する細胞及び/又は組織の存在を検出する *in vitro* 法であって、(a) 前記 P S M A 発現細胞及び/又は組織を本発明コンジュゲート (その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、及び放射標識錯体を含む)、医薬組成物、又はキットと接触させることと、(b) 検出手段、任意に放射線イメージングを適用し、前記細胞及び/又は組織を検出することを含む *in vitro* 法に関する。

【 0 1 8 9 】

本発明の *in vivo* 及び *in vitro* での使用及び方法において、放射線イメージングは、当技術分野で知られた任意の手段及び方法を使用して達成することができる。好ましくは、放射線イメージングは、陽電子放出断層撮影 (P E T) 又は単一光子放出コンピュータ断層撮影 (S P E C T) を含み得る。本発明コンジュゲートの放射線イメージングによって検出される標的細胞又は組織は、好ましくは (任意に癌性の) 前立腺細胞又は組織、(任意に癌性の) 脾臓細胞又は組織、又は (任意に癌性の) 腎臓細胞又は組織を含み得る。

【 0 1 9 0 】

本発明の *in vivo* 及び *in vitro* での使用及び方法において、P S M A 発現細胞又は組織の存在は、前立腺腫瘍 (細胞)、転移した前立腺腫瘍 (細胞)、腎腫瘍 (細胞)、脾臓腫瘍 (細胞)、膀胱腫瘍 (細胞)、及びそれらの組合せの指標となり得る。したがって、本発明コンジュゲート (その薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和物、及び放射標識錯体を含む)、医薬組成物、及びキットは、前立腺癌、腎癌、脾臓癌、又は膀胱癌の診断 (及び任意で治療) に特に使用することができる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 9 1 】

【 図 1 - 1 】 図 1 - 1 は、5 0 M B q / n m o l で標識された (A) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1、(B) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 3、(C) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 4、及び (D) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 5 の H P L C ベースの品質管理のクロマトグラムを示す。

【 図 1 - 2 】 図 1 - 2 は、5 0 M B q / n m o l で標識された (E) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 6、(F) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 7、及び (G) ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 8 の H P L C ベースの品質管理のクロマトグラムを示す。

【 図 2 】 図 2 は、参照化合物 ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 ($n = 3$) と比較した ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1 ($n = 3$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 3 ($n = 3$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 4 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 5 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 6 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 7 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 8 ($n = 1$) の n - オクタノール / P B S 分配係数を示す。

【 図 3 】 図 3 は、参照化合物 ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 ($n = 2$) と比較した ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 3 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 4 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 5 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 6 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 7 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 8 ($n = 2$) の限外ろ過アッセイのデータを示す。

【 図 4 】 図 4 は、参照化合物 ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 ($n = 3$) と比較した ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 3 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 4 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 5 ($n = 1$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 6 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 7 ($n = 2$)、 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 8 ($n = 2$) の取り込みと内在化を示す。A と C は、P S M A p o s P C - 3 P I P 細胞で得られたデータを示し、B

10

20

30

40

50

とDは、PSMA^{neg} PC-3 flu細胞で得られたデータを示す。

【図5-1】図5-1は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01及び¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-03(A)で処理したPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの体内分布データを示す。

【図5-2】図5-2は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-04及び¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-05(B)で処理したPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの体内分布データを示す。

【図5-3】図5-3は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-06、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-07、及び¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-08(C)で処理したPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの体内分布データを示す。

【図6-1】図6-1は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01~08の(A)腫瘍の取り込みの最終的な選定(conclusive selection)を示す。

【図6-2】図6-2は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01~08の(B)腫瘍/血液比の最終的な選定を示す。

【図6-3】図6-3は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01~08の(C)腫瘍/腎臓比の最終的な選定を示す。

【図6-4】図6-4は、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01~08の(D)腫瘍/肝臓比の最終的な選定を示す。

【図7】図7は、様々な時点(p.i.)でのシンチグラフィ画像を示す。

【図8】図8は、様々な領域でのSPECT-CT融合スキャンを示す。

【図9】図9は、ガリウム68放射標識PSMA-ALB-06化合物によるp.i.後1時間及び3時間のPET画像を示す。

【図10】図10は、(A)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後1時間、4時間、及び6時間(!)で、PC-3 PIP/flu担腫瘍マウスで得られた体内分布データを示す。(B)¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-06の注射後1時間、4時間、及び24時間で、PC-3 PIP/flu担腫瘍マウスで得られた体内分布データを示す。

【図11】図11は、全ての時点で同じスケールで最大値投影(MIP)として示されたPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスのPET/CT画像を示す。(A)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後1時間で得られたPET/CTスキャン。(B)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後4時間で得られたPET/CTスキャン。(C)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後20時間で得られたPET/CTスキャン。

【図12】図12は、同一時点で異なるスケールで最大値投影(MIP)として示されたPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスのPET/CT画像を示す。(A/B)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後1時間で得られたPET/CTスキャン。

【図13】図13は、同一時点で異なるスケールで最大値投影(MIP)として示されたPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスのPET/CT画像を示す。(A/B)⁴⁴Sc-PSMA-ALB-06の注射後20時間で得られたPET/CTスキャン。

【図14】図14は、各種濃度のヒト血漿でインキュベーションした後の⁶⁴Cu-PSMA-ALB-06(B₅₀=770)及び⁶⁴Cu-PSMA-ALB-89(B₅₀=454)のB₅₀値を計算するための限外ろ過データの片対数プロット(平均±SD、n=3)。

【図15】図15は、(A)PSMA陽性PC-3 PIP細胞及び(B)PSMA陰性PC-3 flu細胞における⁶⁴Cu-PSMA-ALB-89及び⁶⁴Cu-PSMA-ALB-06の細胞取り込み及び内在化(平均±SD、n=3)を示す。

【図16】図16は、1h、4h、及び24hp.i.でのPC-3 PIP及びPC-3 flu腫瘍異種移植片を有するBalb/cヌードマウスで得られた⁶⁴Cu-PSMA-ALB-89の組織分布プロファイルを示す。値は、n=3~6マウスから得られた値の平均±SDを表す。

【図17】図17は、最大値投影として示されたPET/CT画像を示す。(A~D)⁶⁴Cu-PSMA-ALB-89の注射後1時間、4時間、16時間、及び24時間のマウ

10

20

30

40

50

スのPET/CT画像。スケールは、腫瘍、腎臓、及び肝臓をより見やすくするために、バックグラウンドの2%をカットすることにより調整されている。(PSMA+ = PC-3 PIP腫瘍異種移植片; PSMA- = PC-3 flu腫瘍異種移植片; Ki = 腎臓; Li = 肝臓; Bl = 膀胱)。

【図18】図18は、PSMA-ALB-02/-05/-07の合成に使用されるPSMA標的前駆体を示す。

【図19】図19は、(A)PSMA-ALB-02、(B)pPSMA-ALB-05、及び(C)PSMA-ALB-07の化学構造を示す。

【図20】図20は、L-アスコルビン酸の(A)不存在下及び(B)存在下での ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-07、及び ^{177}Lu -PSMA-617の24時間に亘る安定性を表すグラフを示す。3つの独立した実験の平均値 \pm SDを表す。

10

【図21】図21は、 ^{177}Lu -PSMA-617と比較した ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-07の取り込みと内在化を示す。(A)PSMA陽性PC-3 PIP細胞で得られたデータ。バーは、3連で行った3つの独立した実験の平均値 \pm SDを表す。(B)PSMA陰性PC-3 flu細胞で得られたデータ。バーは、3連で行った1つの実験の平均値 \pm SDを表す。

【図22】図22は、3つの全てのアルブミン結合 ^{177}Lu -PSMAリガンド及び ^{177}Lu -PSMA-617で得られた192h p.i.までの生体分布データ(減衰補正済み)を示す。(A) ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、(B) ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、(C) ^{177}Lu -PSMA-ALB-07、及び(D) ^{177}Lu -PSMA-617の体内分布データ。マウスの各群(n=3~6)から得られた平均値 \pm SD。

20

【図23】図23は、(A) ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、(B) ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び(C) ^{177}Lu -PSMA-ALB-07の192h p.i.までの減衰補正されていない生体分布データを表すグラフを示す。各データポイントは、マウスの群の平均 \pm SD(n=3~6)を表す。

【図24】図24は、(A) ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、(B) ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び(C) ^{177}Lu -PSMA-ALB-07の注射後24時間のPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの最大値投影(MIP)としてのSPECT/CT画像を示す。PSMA+ = PSMA陽性PC-3 PIP腫瘍; PSMA- = PSMA陰性PC-3 flu腫瘍; Ki = 腎臓; Bl = 膀胱; Li = 肝臓。

30

【図25】図25は、(A/B/C) ^{177}Lu -PSMA-ALB-02の注射後4時間(A)、24時間(B)、及び72時間(C)のPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの最大値投影(MIP)としてのSPECT/CT画像を示す。(D/E/F) ^{177}Lu -PSMA-617の注射後4時間(D)、24時間(E)、及び72時間(F)のPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの最大値投影(MIP)としてのSPECT/CT画像を示す。PSMA+ = PSMA陽性PC-3 PIP腫瘍; PSMA- = PSMA陰性PC-3 flu腫瘍; Ki = 腎臓; Bl = 膀胱; Li = 肝臓。

40

【図26】図26は、 ^{177}Lu -ALB-03及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-06の注射後の様々な時点でのPC-3 PIP/flu担腫瘍マウスの最大値投影(MIP)としてのSPECT/CT画像を示す(A~C)。 ^{177}Lu -ALB-03(25MBq、1nmol)の注射後(A)4時間、(B)24時間、及び(C)72時間のマウスのMIP。(D~F) ^{177}Lu -PSMA-ALB-06(25MBq、1nmol)の注射後(D)24時間、(E)24時間、及び(F)72時間のマウスのMIP。PSMA+ = PSMA陽性PC-3 PIP腫瘍; PSMA- = PSMA陰性PC-3 flu腫瘍; Ki = 腎臓; Bl = 膀胱。

【図27】図27は、PC-3 PIP担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-06及び ^{177}Lu -PSMA-617による治療試験。(A)生理食塩水を投与した

50

マウス（群A）、2MBqの¹⁷⁷Lu-PSMA-617（群B）、5MBqの¹⁷⁷Lu-PSMA-617（群C）、2MBqの¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-06（群D）、及び5MBqの¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-06（群E）で処理したマウスの、0日目（1に設定）の腫瘍体積に対する腫瘍成長曲線を示す。各群の最初のマウスがエンドポイントに達するまでデータが示される。（B）群A～Eのカプラン・マイヤープロット。（C）群A～Eの相対体重。

【0192】

実施例

実施例1：DOTA官能化アルブミン結合PSMAリガンドの設計及びin vitro 評価

1.1 材料及び方法

1.1.1 新規PSMAリガンド（概要）：

ポータブルアルブミン結合部分を有する7種の提案されたPSMAリガンドはいずれも、固相プラットフォームにより合成した。固相プラットフォームは、前記したアルブミン-アフィンPSMAリガンドの開発に非常に有用であることが示された。

【0193】

マルチステップ合成（PSMA-ALB-01では19ステップ、PSMA-ALB-03では17ステップ、PSMA-ALB-04及びPSMA-ALB-05では20ステップ、PSMA-ALB-06では17ステップ、PSMA-ALB-07及びPSMA-ALB-08では23ステップ）により、これらの化合物を26～49%の単離後全体収率で得た。粗生成物をセミ分取RP-HPLCで精製し、純度>98%の最終生成物とした。前記化合物の特性評価は、それぞれ分析RP-HPLC及びMALDI-MS又はESI-MSで行った。分析データを表1.1に示す。

【表1.1】

表1.1：PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08の分析データ

化合物コード	化学式	MW	<i>m/z</i> ^a	<i>t</i> ^b
		[g/mol]		[min]
PSMA-ALB-01	C ₆₉ H ₉₅ IN ₁₄ O ₂₀	1567.50	1568.59	8.15
PSMA-ALB-03	C ₆₅ H ₉₂ IN ₁₁ O ₁₈	1442.41	1443.57	7.57
PSMA-ALB-04	C ₇₉ H ₁₁₆ IN ₁₃ O ₂₂	1726.77	1727.42	8.17
PSMA-ALB-05	C ₇₃ H ₁₀₂ IN ₁₃ O ₂₄	1672.59	1673.41	8.09
PSMA-ALB-06	C ₆₆ H ₉₅ N ₁₁ O ₁₈	1330.55	1331.47	7.24
PSMA-ALB-07	C ₇₇ H ₁₀₇ IN ₁₄ O ₂₇	1787.68	1788.63	7.89
PSMA-ALB-08	C ₇₈ H ₁₁₀ N ₁₄ O ₂₇	1675.81	1676.79	7.13

^a [M+H]⁺として検出された非標識リガンドの質量分析；^b 分析的RP-HPLCでの非標識リガンドの保持時間。分析カラム（100×4.6mm）は、水（A）およびACN（B）中の0.1%TFAからなる移動相を備えたChromolith RP-18e固定相を使用した。分析には、1mL/minの流速で溶媒B中の溶媒Aの線形勾配（10分間で90～10%）を使用した。

【0194】

PSMAのペプチド模倣ファーマコフォア（L-Glu-NH-CO-NH-L-Lys結合体；ステップ1～6）を、Eder et al. Bioconjug. Chem. 2012, 23: 688-697に記載と同様にして合成した。リンカー部分（2-ナフチル-L-Ala-NH-CO-トランス-CHX-N3又は2-ナフチル-L-Ala-NH-CO-トランス-CHX-Me-NH₂；ステップ7～10）は、Beneso

va et al. JNM 2015, 56:914-920によって以前に提案された標準的なFmoc(9-フルオレニルメチルオキシカルボニル)プロトコルにしたがって調整した。PSMAリガンド前駆体を提供するこれらの2つの合成中間段階は、4つの化合物全てに同様に適用した(ステップ1~8)。ただし、PSMA-ALB-03/04/05/06/07/08の場合は、PSMA-ALB-01のリンカー領域のビルディングブロック[トランス-4-アジドシクロヘキサンカルボン酸;ステップ9~10]を、トランス-4-(Fmoc-アミノメチル)シクロヘキサン-カルボン酸(ステップ9~10)に変更した。

【0195】

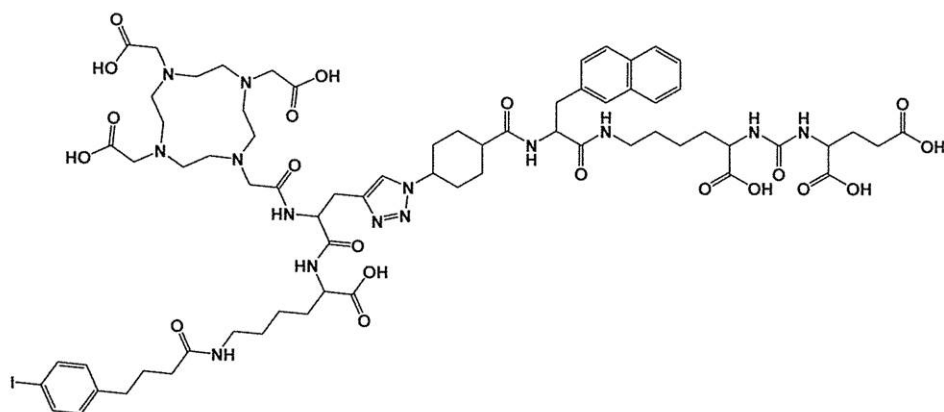
PSMA-ALB-01

PSMA-ALB-01の合成では、遊離アジド基を有する精製済みPSMA前駆体とプロパルギル-Glyを有する精製済みアルブミン結合部分[4-(p-ヨードフェニル)酪酸-L-Lys]との高時間効率「ヘッド-ツー-テール」クリックカップリング(“head-to-tail” click coupling)(ステップ11~17)を用いた。トリアゾール環を介したこれら2つの前駆体の効率的なカップリング(ステップ18)の後、更なる精製を行って過剰の $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ を除去した。最後に、DOTAキレーターをその活性エステルの形態でコンジュゲートすること(DOTA-NHSエステル;ステップ19)によりPSMA-ALB-01を得た。

【0196】

PSMA-ALB-01の構造式を以下に示す。

【化36】



(PSMA-ALB-01)

(8)

【0197】

PSMA-ALB-03

PSMA-ALB-03の調製では、樹脂支持体上でのストレートワンウェイ合成(straight one-way synthesis)を用いた。PSMA前駆体へのFmoc-L-Lys(Alloc)-OHカップリングの後、Fmoc脱保護、DOTAトリス(tBu)-エステルコンジュゲーション、Alloc脱保護、及び4-(p-ヨードフェニル)酪酸コンジュゲーションを行った(ステップ11~16)。最後に、TFA:TIPS:H₂O混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA-ALB-03を得た(ステップ17)。

【0198】

PSMA-ALB-03の構造式を以下に示す。

10

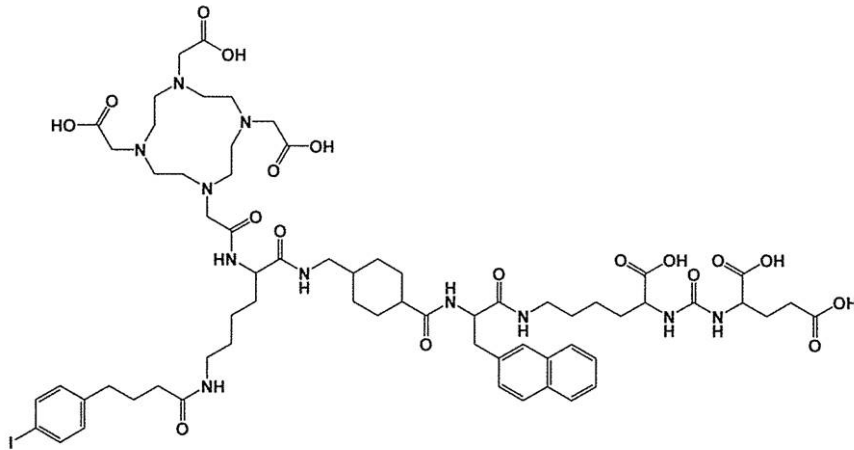
20

30

40

50

【化 3 7】



(PSMA-ALB-03)

10

【 0 1 9 9】

PSMA - ALB - 0 4

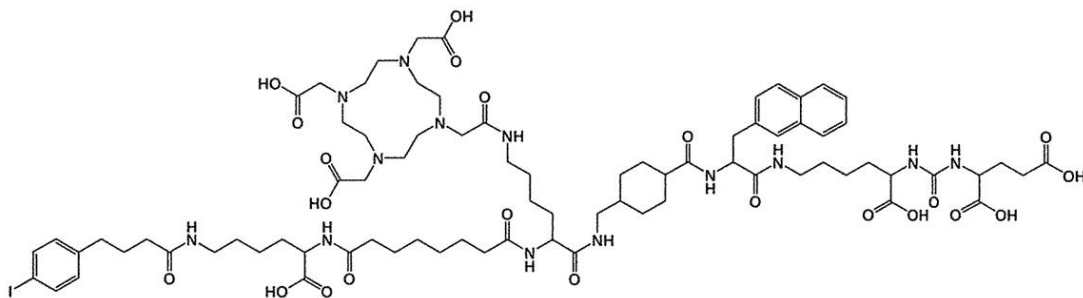
PSMA - ALB - 0 4 の合成では、DOTA コンジュゲート L - L y s を有する樹脂被覆 PSMA 前駆体と精製済みアルブミン結合部分 [4 - (p - ヨードフェニル) 酪酸 - L - L y s] との、2 つの第二級アミンの直接コンジュゲーションによる高時間効率「ヘッド - ツー - テール」カップリング (ステップ 1 1 ~ 1 8) を用いた。スベリン酸ビス (N - ヒドロキシスクシンイミド) エステルを使用したこれらの 2 つの前駆体の効率的なカップリング (ステップ 1 9) の後、T F A : T I P S : H ₂ O 混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA - ALB - 0 4 を得た (ステップ 2 0) 。

20

【 0 2 0 0】

PSMA - ALB - 0 4 の構造式を以下に示す。

【化 3 8】



(PSMA-ALB-04)

30

【 0 2 0 1】

PSMA - ALB - 0 5

PSMA - ALB - 0 5 の調製では、樹脂支持体上でのストレートワンウェイ合成を用いた。PSMA 前駆体への F m o c - L - L y s (A l l o c) - O H のカップリングの後、F m o c 脱保護、F m o c - D - A s p - O t B u コンジュゲーション、F m o c 脱保護、第 2 の F m o c - D - A s p - O t B u コンジュゲーション、F m o c 脱保護、4 - (p - ヨードフェニル) 酪酸コンジュゲーション、A l l o c 脱保護、DOTA トリス (t B u) - エステルコンジュゲーションを行った (ステップ 1 1 ~ 1 9) 。T F A : T I P S : H ₂ O 混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA - ALB - 0 5 を得た (ステップ 2 0) 。

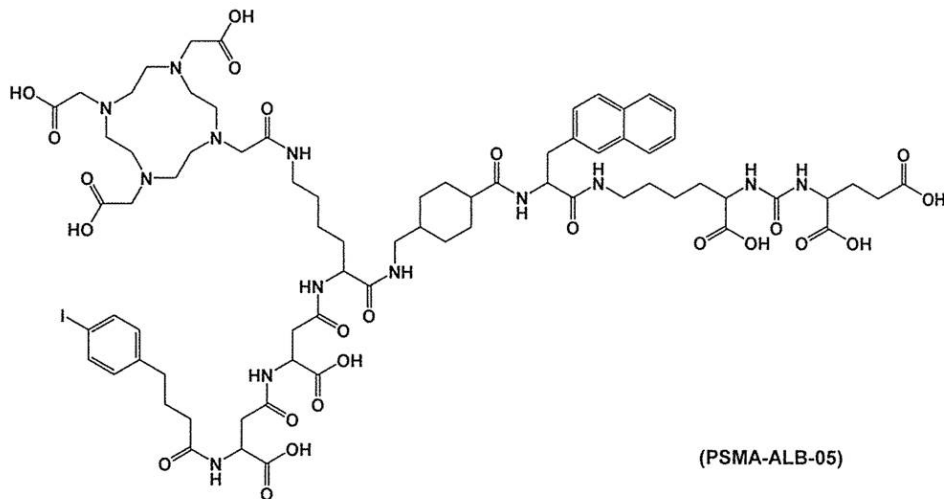
40

【 0 2 0 2】

50

PSMA-ALB-05の構造式を以下に示す。

【化39】



10

【0203】

PSMA-ALB-06

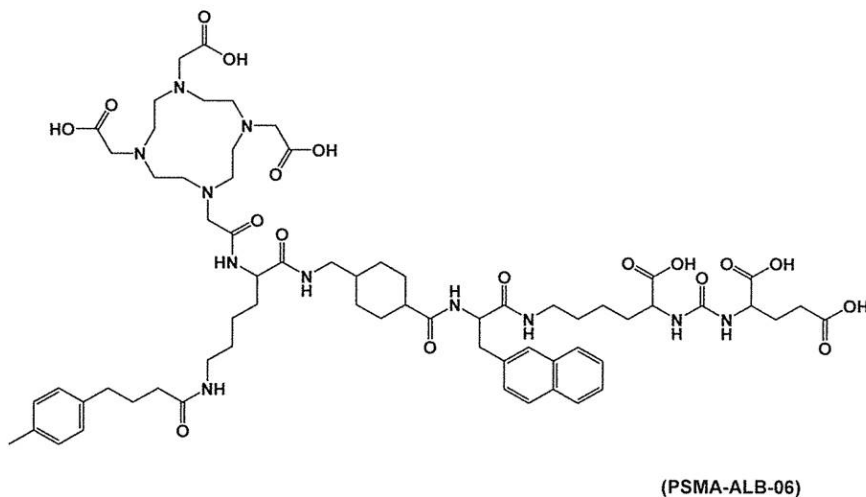
PSMA-ALB-06の合成では、樹脂支持体上でのストレートワンウェイ合成を用いた。PSMA前駆体へのFmoc-L-Lys(Alloc)-OHのカップリングの後、Fmoc脱保護、DOTAトリス(tBu)-エステルコンジュゲーション、Alloc脱保護、及びp-(トリル)酪酸コンジュゲーションを行った(ステップ11~16)。最後に、TFA:TIPS:H₂O混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA-ALB-06を得た(ステップ17)。

20

【0204】

PSMA-ALB-06の構造式を以下に示す。

【化40】



30

40

【0205】

PSMA-ALB-07

PSMA-ALB-07の調製では、樹脂支持体上でのストレートワンウェイ合成を用いた。PSMA前駆体へのFmoc-L-Lys(Alloc)-OHのカップリングの後、Fmoc脱保護、Fmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、第2のFmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、第3のFmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、4-(p-ヨードフェニル)酪酸コンジュゲーション、Alloc脱保護、DOTAトリス(tBu

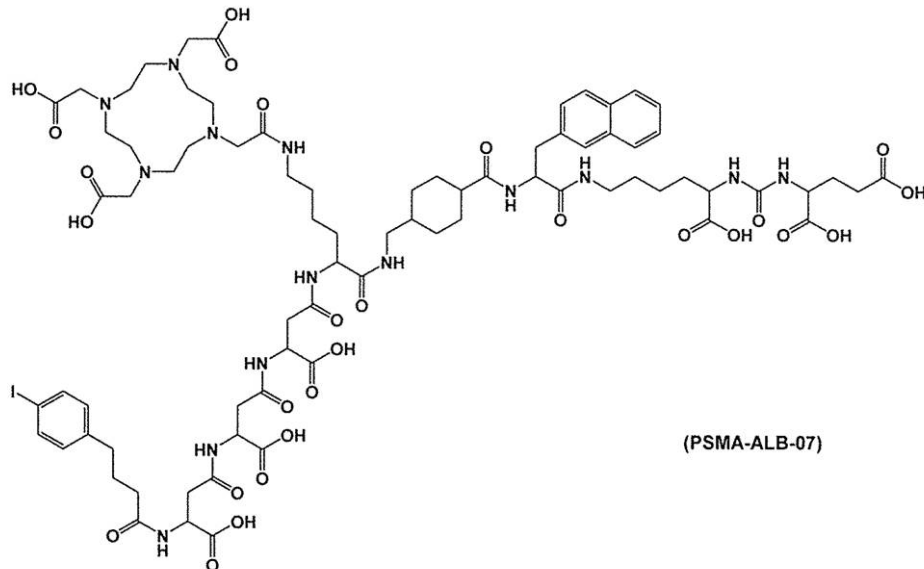
50

)- エステルコンジュゲーションを行った(ステップ11~22)。TFA:TI PS:H₂O混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA-ALB-07を得た(ステップ23)。

【0206】

PSMA-ALB-07の構造式を以下に示す。

【化41】



【0207】

PSMA-ALB-08

PSMA-ALB-08の調製では、樹脂支持体上でのストレートワンウェイ合成を用いた。PSMA前駆体へのFmoc-L-Lys(Alloc)-OHのカップリングの後、Fmoc脱保護、Fmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、第2のFmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、第3のFmoc-D-Asp-OtBuコンジュゲーション、Fmoc脱保護、p-(トリル)酪酸コンジュゲーション、Alloc脱保護、DOTAトリス(tBu)-エステルコンジュゲーションを行った(ステップ11~22)。TFA:TI PS:H₂O混合物と攪拌し、樹脂から切断することにより、PSMA-ALB-08を得た(ステップ23)。

【0208】

PSMA-ALB-08の構造式を以下に示す。

10

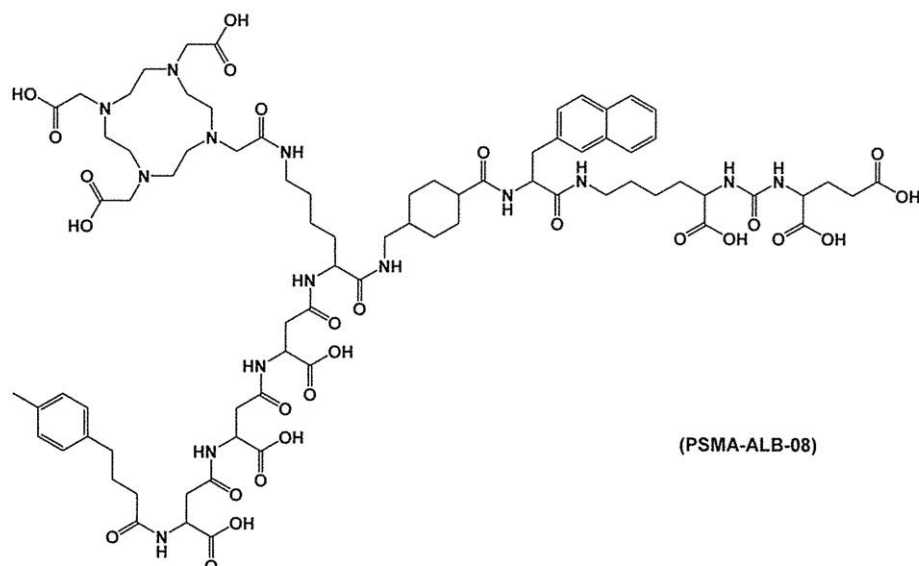
20

30

40

50

【化 4 2】



10

【 0 2 0 9 】

1 . 1 . 2 P S M A - A L B - 0 3 - 0 8 の合成 (詳細)

a) グルタミン酸 - ウレア - リジン結合体の合成

20

フィルターとコンビストッパー (c o m b i s t o p p e r) を備えた 5 m L シリンジ中の 2 - クロロトリチルクロリド樹脂 { (2 - C T - R e s i n ; M e r c k ; カタログ番号 8 5 5 0 1 7 0 0 0 5) 、 0 . 3 0 m m o l 、 置換容量 1 . 6 3 m m o l / g 、 1 0 0 ~ 2 0 0 M E S H 、 1 % D V B 、 C H ₂ C l ₂ での合計膨潤体積 > 4 . 2 m L / g 、 [1 8 4 m g] } を、まず、無水ジクロロメタン (D C M) 中で 4 5 分間攪拌した。

【 0 2 1 0 】

次に、2 - C T - 樹脂を無水 D C M で 3 回洗浄した後、3 m L の無水 D C M 中の 1 . 2 当量の A l l o c (N - アリルオキシカルボニル) 及び F m o c (N - フルオレニルメトキシカルボニル) 保護 L - リジン { (F m o c - L y s (A l l o c) - O H ; M e r c k ; カタログ番号 8 5 2 1 2 4 0 0 0 5) 、 0 . 3 6 m m o l 、 4 5 2 . 5 0 g / m o l 、 [1 6 3 m g] 、 (1) } 及び 4 . 8 当量の N , N - ジイソプロピルエチルアミン { (D I P E A) 、 1 . 4 4 m m o l 、 1 2 9 . 2 4 g / m o l 、 0 . 7 4 2 g / m l 、 [2 5 1 μ L] } と反応させた。樹脂 (2) 上の最初の保護されたアミノ酸のカップリングは、穏やかに攪拌しながら 1 6 時間に亘って進行した。L - リジン固定化樹脂 (2) を D C M 1 で 3 回、D C M 2 で 3 回洗浄した。樹脂に残っている未反応のクロロトリチル基を、D C M 、メタノール (M e O H) 、及び D I P E A の 1 7 : 2 : 1 の混合物 (2 0 m L) で 5 回洗浄した。

30

【 0 2 1 1 】

その後、A l l o c 及び F m o c 保護 L - リジンを含む樹脂を D C M 1 で 3 回、D C M 2 で 3 回、N , N - ジメチルホルムアミド (D M F 1) で 3 回、最後に D M F 2 で 3 回洗浄した。F m o c 保護基の選択的除去は、D M F とピペリジンの 1 : 1 混合物で 2 分間 1 回洗浄後、5 分間、更に 1 回洗浄することによって行い、生成物 (3) を得た。次いで、A l l o c 保護 L - リジンを D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回、D C M 1 で 3 回、最後に D C M 2 で 3 回洗浄した。

40

【 0 2 1 2 】

次のステップでは、1 0 当量の t B u 保護 L - グルタマート塩酸塩 { (H - G l u (O t B u) - O t B u · H C l ; M e r c k ; カタログ番号 8 5 4 0 9 6 0 0 0 5) 、 3 . 0 m m o l 、 2 9 5 . 8 g / m o l 、 [8 8 7 m g] 、 i } を、グルタミル部分 i i i のイソシアナートの生成に使用した。適切な量の t B u 保護 L - グルタミン酸を 1 5 0 m L の D C M 2 に溶解し、その後、直ちに、3 m L の D I P E A を添加した。

50

【0213】

この溶液を、乾燥DCM 5 mL中の、1 mmolの氷冷したビス(トリクロロメチル)炭酸塩{(BTC; Sigma; カタログ番号15217-10G)、296.75 g/mol、[297 mg]、ii}を含むフラスコに4時間かけて滴下した。

【0214】

1つの遊離NH₂基を有するL-リジン固定化樹脂(3)を、その後、グルタミル部分iiiのイソシアナートの溶液に一度に添加し、16時間攪拌し、樹脂固定化ビス(tBu)-Glu-ウレア-Lys(Alloc)(4)を得た。

【0215】

樹脂上に被覆された得られた生成物(4)を濾別し、DCM 1で3回、DCM 2で3回洗淨した。Alloc-保護基の切断は、無水DCM 3 mL中、15当量のモルホリン{4.5 mmol、87.12 g/mol、0.999 g/mL、[392 µL]}の存在下で、0.15当量のTPP Pd{[テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0); Sigma; カタログ番号216666-1G]、0.045 mmol、1155.56 g/mol、[105 mg]}との反応により行った。Pd及びモルホリンの量を2つの部分に分け、それぞれ1時間振とうすることにより連続的に反応させた。アルミニウム箔を使用して、暗所で反応を行った。

10

【0216】

次いで、樹脂をDCM 1で3回、DCM 2で3回、DMF 1で3回、最後にDMF 2で3回洗淨した。パラジウムの残留物を除去するために、樹脂を更に、DMF中の1% DIPEA(30 mLのDMF 2中の300 µLのDIPEA)で10回洗淨し、続いて、濃度15 mg/mLでDMF 2中のキューブラル溶液({ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム三水和物; Sigma; カタログ番号D3506-100G)、225.31 g/mol}(30 mLのDMF 2中の450 mgのキューブラル)で5分間10回洗淨した。

20

【0217】

次いで、樹脂固定化及びビス(tBu)保護Glu-ウレア-Lys(5)をDMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、DCM 2で3回、最後にジエチルエーテル(Et₂O)で3回洗淨し、真空下で乾燥させた。

【0218】

そのような調製した前立腺特異的膜抗原(PSMA)結合体(5)を、7種の化合物全て(PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08)を合成するために次反応に使用した。

30

【0219】

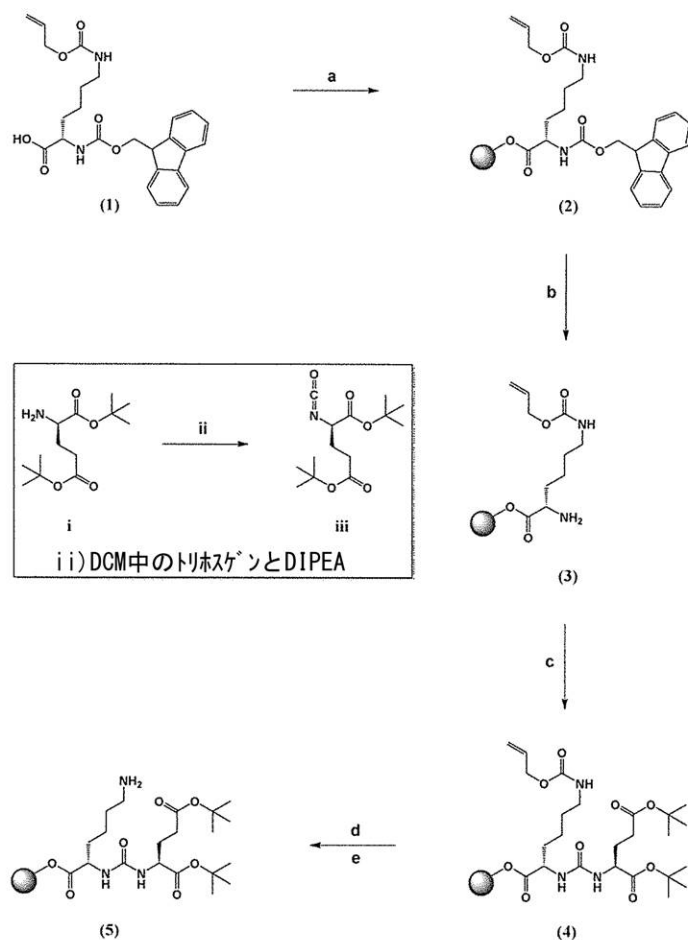
ビス(tBu)保護Glu-ウレア-Lysファーマコフォアのこれまでの合成全体の概要を、スキーム1.1にまとめる。

40

50

【化 4 3】

スキーム1.1:PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08のγ-グルタミン酸-ウレア-リジン結合体の合成



a) DCM中の2-CT-Resin及びDIPEA; b) DMF中の50%ペリジン; c) DCM中のiii;
d) DCM中のTPP、ラジウム及びホルリン; e) DMF中の1%DIPEA、DMF中のジエチルジフルオロホスファート

【0220】

樹脂固定化及びビス(tBu)保護結合体(5)を、まず、無水DCM中で45分間撹拌した。予め膨潤させたファーマコフォアをDCM2で3回、DMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。

【0221】

b) リンカー領域の合成

樹脂に対して(0.1mmol)、リンカー領域の第1のビルディングブロックに対応する4当量のFmoc保護2-ナフチル-L-アラニン{(Fmoc-2Na1-OH; Bachem; カタログ番号B-2100)、0.40mmol、437.50g/mol、[175.0mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[71μL]}の存在下にて、3.96当量のHBTU{(O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルホスファート; Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.39mmol、379.24g/mol、[147.9mg]}で活性化させた。

【0222】

DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護ファーマコフォア(5)に添加し、1時間撹拌した。

【0223】

続いて、ビス(tBu)保護Glu-ウレア-Lys及びFmoc保護2-ナフチル-L-アラニン(6)を含む樹脂をDMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。化合物(6)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(7)を得た。

【0224】

次のステップにおいて、PSMA-ALB-01の場合には、アジドシクロヘキサンカルボン酸{(N3-1, 4-トランス-CHC-OH; Iris Biotech; カタログ番号HAA2235.0001)、0.40mmol、169.18g/mol、[67.7mg]}に対応する4当量の第2のビルディングブロック、又はPSMA-ALB-03/04/05/06/07/08の場合には、Fmoc保護トラネキサム酸{(トランス-4-(Fmoc-アミノメチル)シクロヘキサン-カルボン酸; Sigma; カタログ番号58446-5G-F)、0.40mmol、379.45g/mol [151.8mg]}を、無水DMF中、4当量のDIEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[71μL]}存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.39mmol、379.24g/mol、[147.9mg]}で活性化させた。DIEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた化合物(7)に添加し、1時間撹拌した。

10

【0225】

続いて、ビス(tBu)保護Glu-ウレア-Lys-2-ナフチル-L-アラニン及びアジドシクロヘキサンカルボン酸(8A)を含む樹脂を、DMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、DCM 2で3回、最後にEt₂Oで3回洗浄し、真空下で乾燥させた。最終のPSMA前駆体(9A)を、95:2.5:2.5の比のトリフルオロ酢酸(TFA)、トリイソプロピルシラン(TIPS)、及びH₂Oからなる混合物と共に、2時間以下撹拌して、樹脂から切断することにより得た。TFAを蒸発させ、粗生成物を1:1の比のアセトニトリル(ACN)と水に溶解させ、RP-HPLCで精製した。

20

【0226】

更に、ビス(tBu)保護Glu-ウレア-Lys-2-ナフチル-L-アラニン及びFmoc保護トラネキサム酸(8B)を含む樹脂を、DMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。化合物(8B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で1回2分間洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(9B)を得た。

30

【0227】

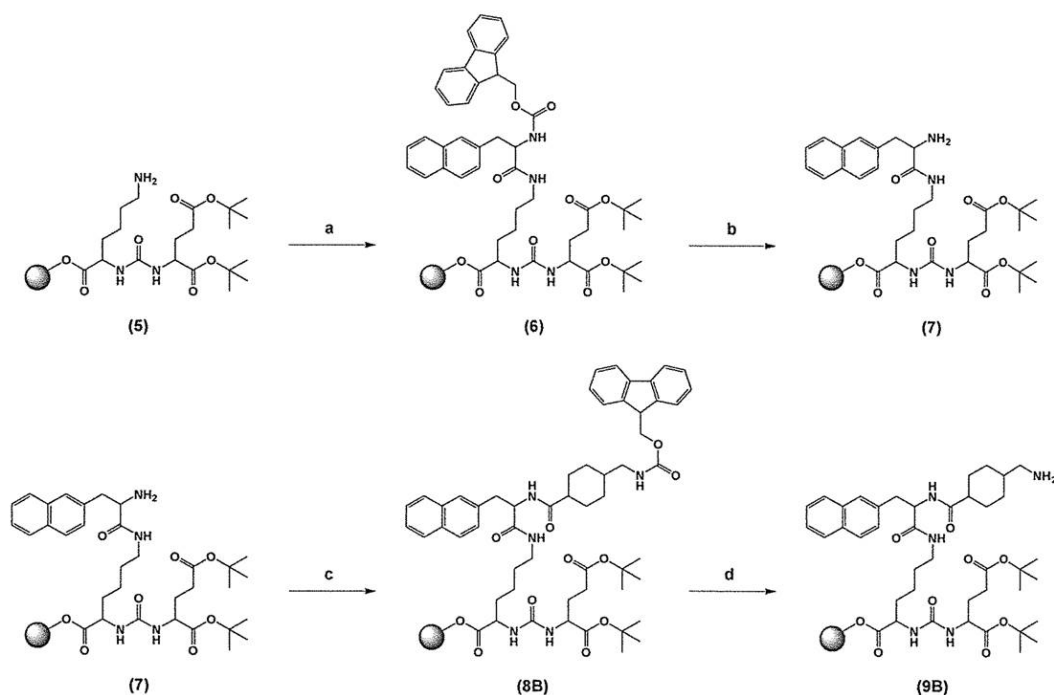
リンカー領域のこれまでの合成全体の概要を、スキーム1.2にまとめる。

40

50

【化 4 4】

スキーム1. 2: PSMA-ALB-03/04/05/06/07/08のリンカー領域, 前駆体の合成



a) Fmoc-2-Nal-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% ピペリジン, DMF; c) Fmoc-AMCH, DMF中のHBTU, DIPEA; d) 50% ピペリジン, DMF

【 0 2 2 8】

c) PSMA-ALB-03の合成

リジン被覆PSMA前駆体(9B)に対して、4当量のFmoc及びAlloc保護L-リジン{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH; Merck; カタログ番号8521240005)、0.40mmol、452.50g/mol、[181mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9B)に添加し、1時間攪拌した。

【 0 2 2 9】

得られた化合物(10B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(11B)を得た。

【 0 2 3 0】

キレーターと樹脂固定化合物(11B)のコンジュゲーションを、2当量のDOTA-トリス(t-Bu)エステル{(2-(4,7,10-トリス(2-(t-ブトキシ)-2-オキソエチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)酢酸]; Chematech; カタログ番号137076-54-1)、0.20mmol、572.73g/mol [115mg]}で行った。キレーターのビルディングブロックは、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、1.98当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.198mmol、379.24g/mol、[75mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化され且つDMFで予め膨潤させた化合物(11B)に添加した。DOTAキレーターの

カップリングは、穏やかに攪拌しながら 2 時間に亘って進行した。次に、得られた化合物 (1 2 B) を、DMF 1 で 3 回、DMF 2 で 3 回、DCM 1 で 3 回、最後に DCM 2 で 3 回洗浄した。

【 0 2 3 1 】

化合物 (1 2 B) からの A l l o c 保護基の切断は、3 mL の無水 DCM 中、30 当量のモルホリン { 3 . 0 mmol 、 8 7 . 1 2 g / mol 、 0 . 9 9 9 g / mL 、 [2 6 2 μ L] } の存在下で、0 . 0 3 当量の TPP Pd { (Sigma ; カタログ番号 2 1 6 6 6 6 - 1 G) 、 0 . 0 3 mmol 、 1 1 5 5 . 5 6 g / mol 、 [3 5 mg] } と反応させることにより行った。反応は、アルミホイル箔を使用して、暗所で 2 時間行った。

【 0 2 3 2 】

次いで、樹脂を、DCM 1 で 3 回、DCM 2 で 3 回、DMF 1 で 3 回、最後に DMF 2 で 3 回洗浄した。パラジウムの残留物を除去するために、DMF 中の 1 % DIPEA (3 0 mL の DMF 2 中の 3 0 0 μ L の DIPEA) で、樹脂を更に 1 0 回洗浄し、続いて、濃度 1 5 mg / mL で DMF 2 中のキュープラル溶液 (Sigma ; カタログ番号 D 3 5 0 6 - 1 0 0 G) 、 2 2 5 . 3 1 g / mol } (3 0 mL の DMF 2 中の 4 5 0 mg のキュープラル) で 5 分間 1 0 回洗浄した。次に、得られた化合物 (1 3 B) を、DMF 1 で 3 回、DMF 2 で 3 回洗浄した。

【 0 2 3 3 】

最後に、アルブミン結合部分のカップリングのために、4 当量のヨードフェニル酪酸 { ([4 - (p - ヨードフェニル) 酪酸] ; Sigma ; I 5 6 3 4 - 5 G) 、 0 . 4 0 mmol 、 2 9 0 . 1 0 g / mol 、 [1 1 6 mg] } を、無水 DMF 中、4 当量の DIPEA { 0 . 4 0 mmol 、 1 2 9 . 2 4 g / mol 、 0 . 7 4 2 g / mL 、 [7 0 μ L] } の存在下で、3 . 9 6 当量の HBTU { (Sigma ; カタログ番号 1 2 8 0 4 - 2 5 G - F) 、 0 . 3 9 6 mmol 、 3 7 9 . 2 4 g / mol 、 [1 4 9 mg] } で活性化させた。DIPEA 添加 2 分間後、溶液を、樹脂固定化され且つ DMF で予め膨潤させた生成物 (1 3 B) に添加し、1 時間攪拌した。

【 0 2 3 4 】

次に、得られた化合物 (1 4 B) を、DMF 1 で 3 回、DMF 2 で 3 回、DCM 1 で 3 回、DCM 2 で 3 回、最後に Et₂O で 3 回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【 0 2 3 5 】

最終化合物 PSMA - ALB - 0 3 は、9 5 : 2 . 5 : 2 . 5 の比の TFA 、 TIPS 、及び H₂O からなる混合物と共に 2 時間以下攪拌して、樹脂から切断することによって得た。TFA を蒸発させ、粗生成物を 1 : 1 の比の ACN と水に溶解させ、RP - HPLC で精製した。

【 0 2 3 6 】

前記した合成の概要を、スキーム 1 . 3 にまとめる。

10

20

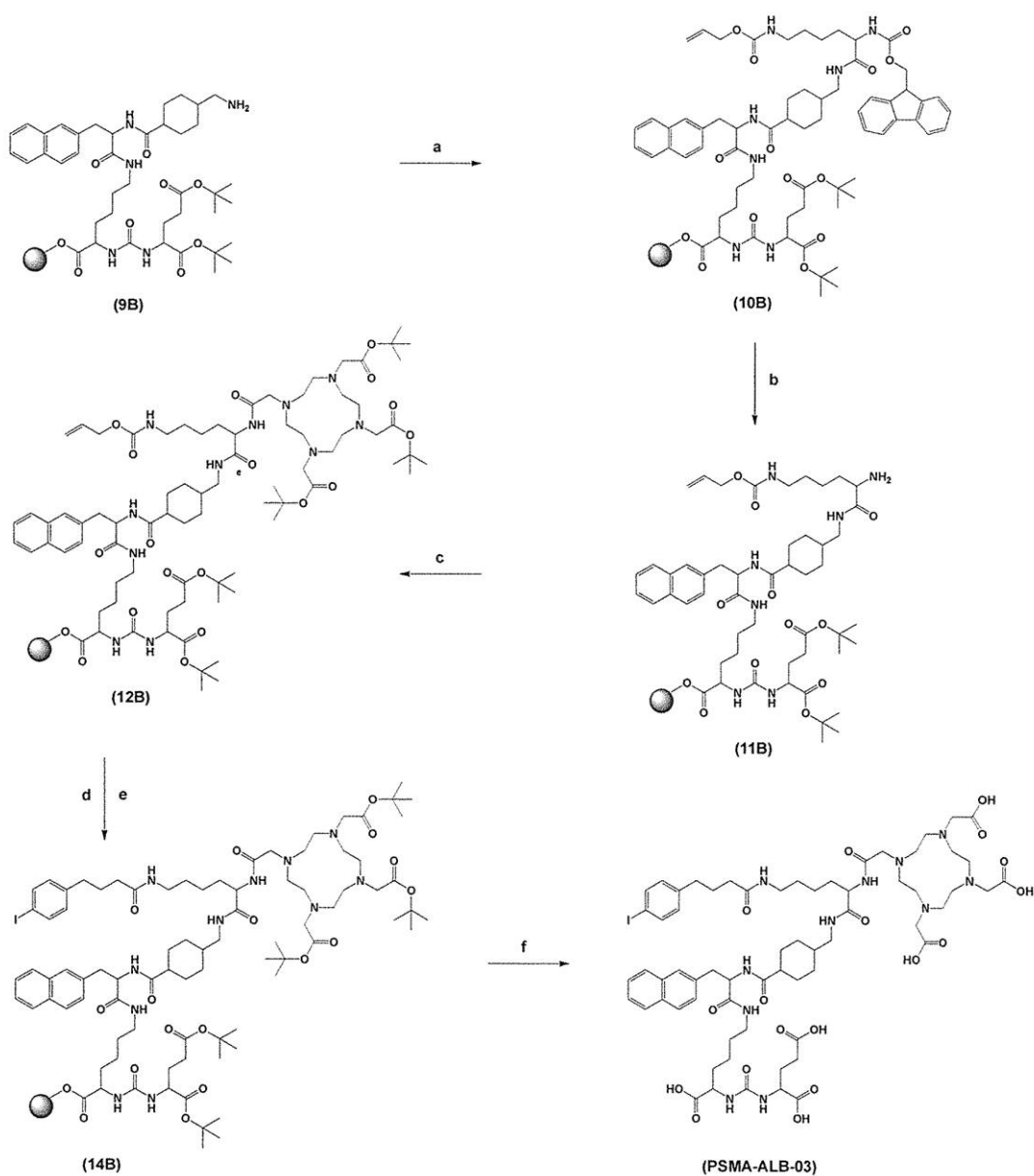
30

40

50

【化 4 5】

スキーム1. 3: PSMA-ALB-03のアルブミン結合部位、DOTAキレーター、及びPSMA前駆体のカップリング



a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% Dde-Lysine, DMF; c) DOTA tris(tBu) ester, HBTU, DIPEA, DMF; d) Pd 触媒, モノリン, DCM; e) ヨードフェニル酪酸, HBTU, DMF, DIPEA; f) TFA, TIPS, H₂O 95:2.5:2.5;

【 0 2 3 7 】

d) PSMA-ALB-04の合成

リジン被覆PSMA前駆体(9B)に対して、4当量のDde及びFmoc保護L-リジン{(Dde-Lys(Fmoc)-OH; Merck; カタログ番号8540000001)、0.40mmol、532.63g/mol、[213mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで事前に膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9B)に添加し、1時間攪拌した。

【0238】

次に、得られた化合物(10B)をDMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。得られた化合物(10B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(11B)を得た。

【0239】

キレーターと樹脂固定化合物(11B)のコンジュゲーションは、3当量のDOTA-トリス(t-Bu)エステル{([2-(4,7,10-トリス(2-(t-ブトキシ)-2-オキソエチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)酢酸]; ChemMatech; カタログ番号137076-54-1)、0.30mmol、572.73g/mol [171mg]}で行った。キレータービルディングブロックは、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化され且つDMFで予め膨潤させた化合物(11B)に添加した。DOTAキレーターのカップリングは、穏やかに攪拌しながら2時間に亘って進行した。

10

【0240】

次に、得られた化合物(12B)をDMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。得られた化合物(12B)からのDde保護基の選択的除去は、DMF中の2%ヒドラジンの混合物で5分間2回、次いで、10分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(13B)を得た。

20

【0241】

樹脂被覆生成物(13B)に対して、2当量のスベリン酸ジスクシンイミジル{([スベリン酸ビス(N-ヒドロキシスクシンイミドエステル)]; Sigma; 68528-80-3)、0.20mmol、368.34g/mol、[74mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、1.98当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.198mmol、379.24g/mol、[73mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化され且つDMFで予め膨潤させた生成物(13B)に添加し、1時間攪拌した。

30

【0242】

次に、得られた化合物(14B)をDMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。

【0243】

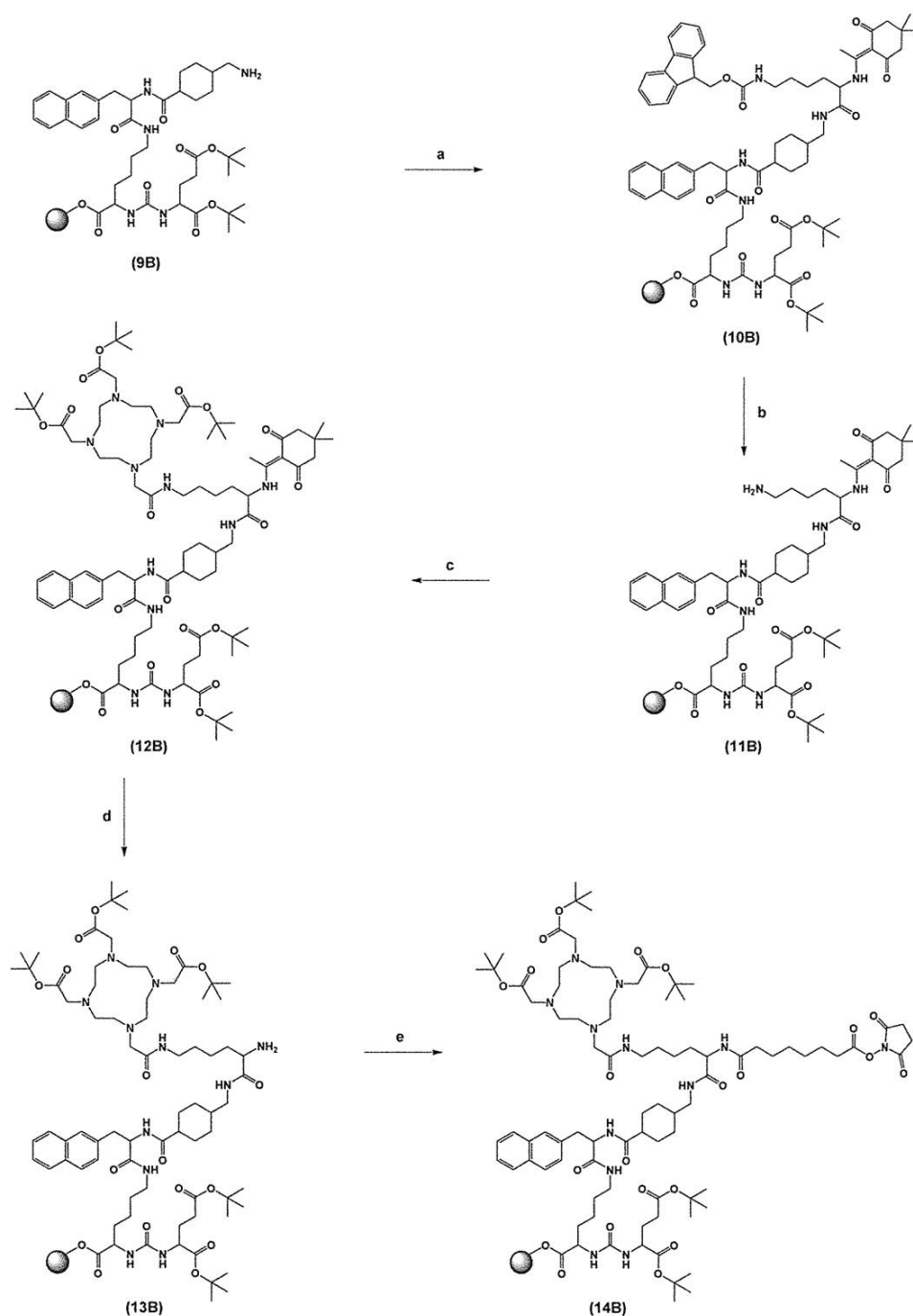
前記した合成の概要を、スキーム1.4にまとめる。

40

50

【化 4 6】

スキーム1. 4: PSMA-ALB-04のDOTAキレーター, PSMA前駆体, 及び活性エステルのカップリング



a) Dde-Lys(Fmoc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% ピペラジン, DMF; c) DOTA-トリス(tBu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; d) 2% ピペラジン, DMF; e) スベリン酸ジスチルベンジル, DMF, DIPEA;

【0244】

合成は、まず、無水ジクロロメタン (DCM) 中で45分間攪拌される、フィルターとコンビストッパーを備えた5 mL シリンジ中の2-クロトリチルクロリド樹脂{(2-CT-Resin; Merck; カタログ番号8550170005)、0.20 mmol、置換容量1.63 mmol/g、100~200 MESH、1% DVB、CH₂Cl₂での合計膨潤体積>4.2 mL/g、[123 mg]}をから出発するアルブミン結合前駆体を並行して調製しながら行った。

【0245】

次に、2-CT樹脂を無水DCMで3回洗浄し、続いて、3 mLの無水DCM中、1 .

10

20

30

40

50

2当量のDde及びFmoc保護L-リジン{(Dde-Lys(Fmoc)-OH; Bachem; カタログ番号E-3385.0001)、0.24mmol、532.64g/mol、[128mg](15B)}及び4.8当量のDIPEA{0.96mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[167μL]}と反応させた。

【0246】

樹脂(16B)上の最初に保護したアミノ酸のカップリングは、穏やかに攪拌しながら16時間に亘って進行した。

【0247】

L-リジン固定化樹脂(16B)をDCM1で3回、DCM2で3回洗浄した。樹脂上に残っている未反応のクロトリチル基を、17:2:1の比のDCM、MeOH、及びDIPEAの混合物(20mL)で5回洗浄した。

10

【0248】

続いて、Dde及びFmoc保護L-リジンを含む樹脂をDCM1で3回、DCM2で3回、DMF1で3回、最後にDMF2で3回洗浄した。Fmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって、生成物(17B)を得た。

【0249】

次に、Dde保護L-リジンをDMF1で3回、DMF2で3回、DCM1で3回、DCM2で3回、最後にEt₂Oで3回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0250】

20

そのように調製した樹脂被覆Dde保護L-リジン(17B)を2つの部分に分け、そのうちの1つを次の反応に使用した。この樹脂被覆生成物を無水DCM中で45分間攪拌し、続いてDMFで3回、DMF2で3回洗浄した。

【0251】

リジン被覆樹脂に対して、4当量のヨードフェニル酪酸{([4-(p-ヨードフェニル)酪酸]; Sigma; I5634-5G)、0.40mmol、290.10g/mol、[116mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化されDMFで予め膨潤させた生成物(17B)に添加し、1時間攪拌した。

30

【0252】

Dde保護L-リジンとヨードフェニル酪酸(18B)を含む樹脂をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(18B)からのDde保護基の選択的除去は、DMF中の2%ヒドラジンの混合物で5分間2回、次いで、10分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(19B)を得た。

【0253】

アルブミン標的化部分(20B)は、DCM中の5%TFAからなる混合物を用いて2時間以下攪拌し、樹脂から切断することにより得た。生成物からの溶媒混合物を蒸発させ、粗生成物を、1:1の比のACNと水に溶解させ、RP-HPLCで精製した。

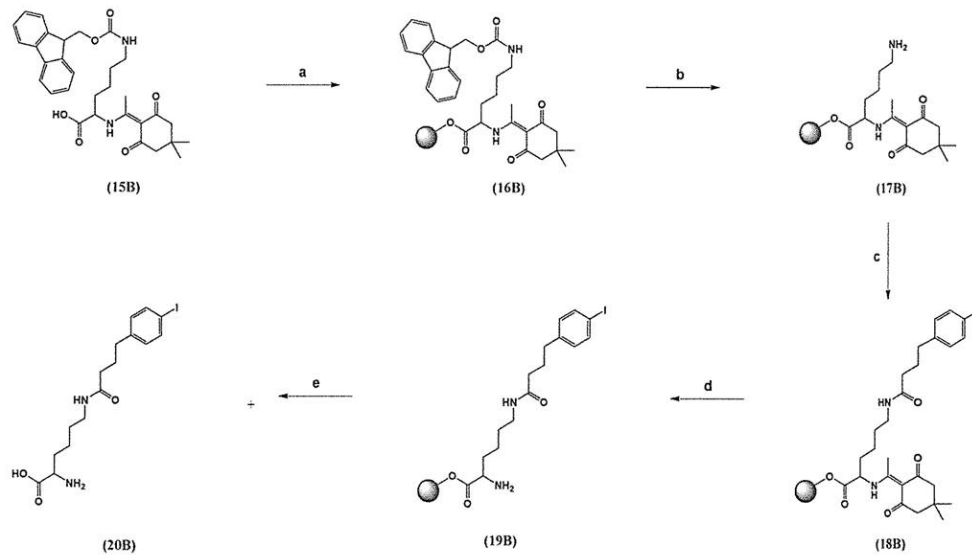
40

【0254】

前記した合成の概要を、スキーム1.5にまとめる。

【化 4 7】

スキーム1.5: PSMA-ALB-04のアルブミンインターのカップリング



a) DCM中の2-CT-Resin及びDIPEA; b) DMF中の50%ピペリジン; c) ヨードフェニル酪酸, DMF中のHBTU及びDIPEA;
d) 2%ピトラジン; e) DCM中の5%TFA

【0255】

最後に、3当量の精製済みアルブミン標的化部分(20B)の樹脂固定化生成物(14B)へのコンジュゲーションを行った。生成物(20B)を乾燥DMFに溶解させ、100 μ LのDIPEAを添加した。DIPEAの添加2分間後、溶液(20B)を、樹脂固定化され且つDMFで予め膨潤させた生成物(14B)に添加し、1時間撹拌した。

【0256】

次に、得られた化合物(21B)をDMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、DCM 2で3回、最後にEt₂Oで3回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0257】

最終化合物PSMA-ALB-04は、95:2.5:2.5の比のTFA、TIPS、及びH₂Oからなる混合物を用いて2時間以下撹拌し、樹脂から切断することによって得た。TFAを蒸発させ、粗生成物を、1:1の比のACNと水に溶解させ、RP-HPLCで精製した。

【0258】

前記した合成の概要を、スキーム1.6にまとめる。

10

20

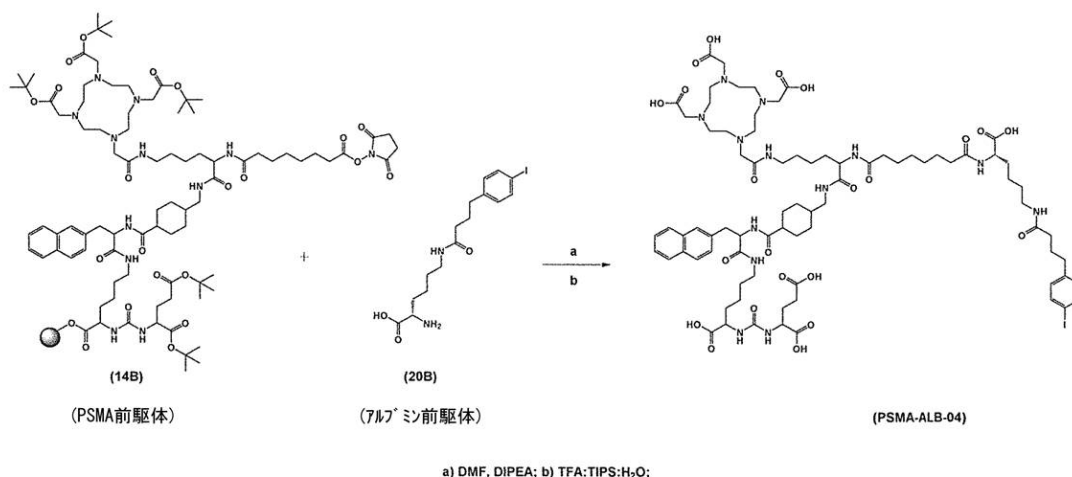
30

40

50

【化 4 8】

スキーム1.6: PSMA-ALB-04のアルブミンハブインターとDOTAコンジュゲートPSMA前駆体のカップリング



10

【0259】

e) PSMA-ALB-05の合成

リジン被覆PSMA前駆体(9B)に対して、4当量のFmoc及びAlloc保護L-リジン{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH; Merck; カタログ番号8521240005)、0.40mmol、452.50g/mol、[181mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化された。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9B)に添加し、1時間撹拌した。

【0260】

次に、得られた化合物(10B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(10B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で、2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって、生成物(11B)を得た。

【0261】

リジン被覆PSMA前駆体(11B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu; Merck; カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(11B)に添加し、1時間撹拌した。

【0262】

次に、得られた化合物(12B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(12B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(13B)を得た。

【0263】

リジン及びアスパラギン酸塩被覆PSMA前駆体(13B)に対して、3当量のFmo

20

30

40

50

c 及び t B u 保護 D - アスパラギン酸塩 { (F m o c - D - A s p - O t B u ; M e r c k ; カタログ番号 8 5 2 1 4 4 0 0 0 1) 、 0 . 3 0 m m o l 、 4 1 1 . 4 5 g / m o l 、 [1 2 3 m g] } を、無水 D M F 中、4 当量の D I P E A { 0 . 4 0 m m o l 、 1 2 9 . 2 4 g / m o l 、 0 . 7 4 2 g / m L 、 [7 0 μ L] } の存在下で、2 . 9 7 当量の H B T U { (S i g m a ; カタログ番号 1 2 8 0 4 - 2 5 G - F) 、 0 . 2 9 7 m m o l 、 3 7 9 . 2 4 g / m o l 、 [1 1 2 m g] } で活性化させた。D I P E A の添加 2 分間後、溶液を、DMF で予め膨潤させた固定化ビス (t B u) 保護 P S M A 前駆体 (1 3 B) に添加し、1 時間撹拌した。

【 0 2 6 4 】

次に、得られた化合物 (1 4 B) を D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回洗浄した。得られた化合物 (1 4 B) からの F m o c 保護基の選択的除去は、DMF とピペリジンの 1 : 1 混合物で 2 分間 1 回洗浄後、5 分間、更に 1 回洗浄することによって行い、生成物 (1 5 B) を得た。

10

【 0 2 6 5 】

樹脂被覆生成物 (1 5 B) に対して、4 当量のヨードフェニル酪酸 { ([4 - (p - ヨードフェニル) 酪酸] ; S i g m a ; I 5 6 3 4 - 5 G) 、 0 . 4 0 m m o l 、 2 9 0 . 1 0 g / m o l 、 [1 1 6 m g] } を、無水 D M F 中、4 当量の D I P E A { 0 . 4 0 m m o l 、 1 2 9 . 2 4 g / m o l 、 0 . 7 4 2 g / m L 、 [7 0 μ L] } の存在下で、3 . 9 6 当量の H B T U { (S i g m a ; カタログ番号 1 2 8 0 4 - 2 5 G - F) 、 0 . 3 9 6 m m o l 、 3 7 9 . 2 4 g / m o l 、 [1 4 9 m g] } で活性化させた。D I P E A の添加 2 分間後、溶液を、樹脂固定化され DMF で予め膨潤させた生成物 (1 5 B) に添加し、1 時間撹拌した。

20

【 0 2 6 6 】

次に、得られた化合物 (1 6 B) を D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回、D C M 1 で 3 回、最後に D C M 2 で 3 回洗浄した。

【 0 2 6 7 】

化合物 (1 6 B) からの A l l o c 保護基の切断は、3 m L の無水 D C M 中、3 0 当量のモルホリン { 3 . 0 m m o l 、 8 7 . 1 2 g / m o l 、 0 . 9 9 9 g / m L 、 [2 6 2 μ L] } の存在下で、0 . 0 3 当量の T P P P d { (S i g m a ; カタログ番号 2 1 6 6 6 6 - 1 G) 、 0 . 0 3 m m o l 、 1 1 5 5 . 5 6 g / m o l 、 [3 5 m g] } と反応させることによって行った。アルミホイルを使用して、暗所で 2 時間反応を行った。

30

【 0 2 6 8 】

次いで、樹脂を D C M 1 で 3 回、D C M 2 で 3 回、D M F 1 で 3 回、最後に D M F 2 で 3 回洗浄した。パラジウムの残留物を除去するために、DMF 中の 1 % D I P E A (3 0 m L の D M F 2 中の 3 0 0 μ L の D I P E A) で樹脂を更に 1 0 回洗浄し、続いて、濃度 1 5 m g / m L で D M F 2 中のキュープラル溶液 ({ (S i g m a ; カタログ番号 D 3 5 0 6 - 1 0 0 G) 、 2 2 5 . 3 1 g / m o l } (3 0 m L の D M F 2 中の 4 5 0 m g のキュープラル) で 5 分間 1 0 回洗浄した。次に、得られた化合物 (1 7 B) を D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回洗浄した。

【 0 2 6 9 】

40

キレーターと樹脂固定化化合物 (1 7 B) のコンジュゲーションは、3 当量の D O T A - トリス (t - B u) エステル { ([2 - (4 , 7 , 1 0 - トリス (2 - (t - ブトキシ) - 2 - オキソエチル) - 1 , 4 , 7 , 1 0 - テトラアザシクロデカン - 1 - イル) 酢酸] ; C h e M a t e c h ; カタログ番号 1 3 7 0 7 6 - 5 4 - 1) 、 0 . 3 0 m m o l 、 5 7 2 . 7 3 g / m o l [1 7 1 m g] } で行った。キレータービルディングブロックは、無水 D M F 中、4 当量の D I P E A { 0 . 4 0 m m o l 、 1 2 9 . 2 4 g / m o l 、 0 . 7 4 2 g / m L 、 [7 0 μ L] } の存在下で、2 . 9 7 当量の H B T U { (S i g m a ; カタログ番号 1 2 8 0 4 - 2 5 G - F) 、 0 . 2 9 7 m m o l 、 3 7 9 . 2 4 g / m o l 、 [1 1 2 m g] } で活性化させた。D I P E A の添加 2 分間後、溶液を、樹脂固定化され DMF で予め膨潤させた化合物 (1 7 B) に添加した。D O T A キレーターのカッ

50

プリングは、穏やかに攪拌しながら 2 時間に亘って進行した。

【 0 2 7 0 】

そのような生成物 (1 8 B) を、DMF 1 で 3 回、DMF 2 で 3 回、DCM 1 で 3 回、DCM 2 で 3 回、最後に Et₂O で 3 回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【 0 2 7 1 】

最終化合物 PSMA - ALB - 0 5 は、9 5 : 2 . 5 : 2 . 5 の比の TFA、TIPS、及び H₂O からなる混合物と 2 時間以下攪拌し、樹脂から切断することによって得た。TFA を蒸発させ、粗生成物を、1 : 1 の比の ACN と水に溶解させ、RP - HPLC で精製した。

【 0 2 7 2 】

前記した合成の概要を、スキーム 1 . 7 にまとめる。

10

20

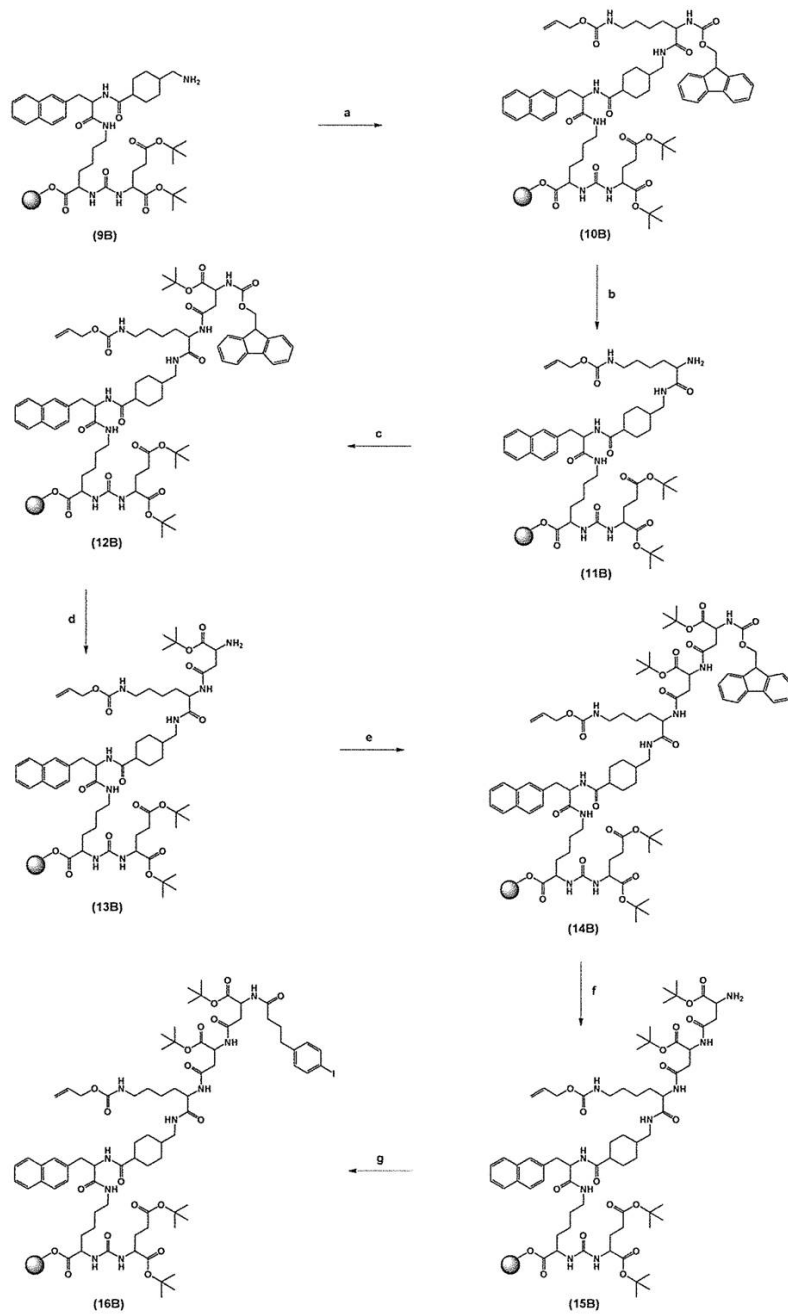
30

40

50

【化 4 9】

スキーム1. 7: PSMA-ALB-05のアルブミン結合部分, DOTAキレーター, 及びPSMA前駆体のカップリング



a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% ϵ -リジン, DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% ϵ -リジン, DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% ϵ -リジン, DMF; g) 3-ドフェニルプロピオン酸, HBTU, DMF, DIPEA;

10

20

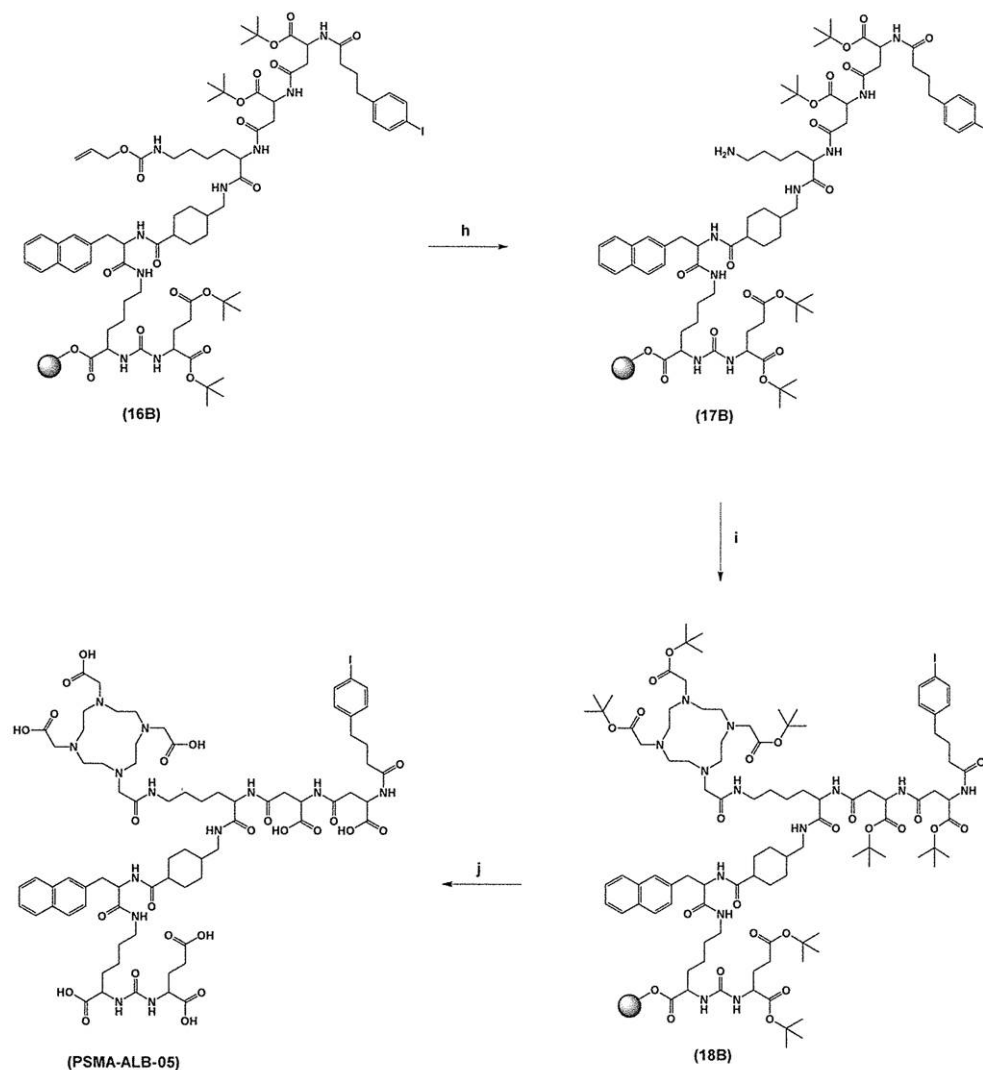
30

40

50

【化 5 0】

スキーム1.7(続き):PSMA-ALB-05のアルブミン結合部分, DOTAキレーター, 及びPSMA前駆体のカップリング
... 続き



h) Pd触媒, モルホリン, DCM; i) DOTAトリス(tBu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; j) TFA:TIPS:H₂O

【 0 2 7 3】

リジン被覆PSMA前駆体(9)に対して、4当量のFmoc及びAlloc保護L-リジン{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH; Merck; カタログ番号8521240005)、0.40mmol、452.50g/mol、[181mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9)に添加し、1時間攪拌した。

【 0 2 7 4】

得られた化合物(10)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(11)を得た。

【 0 2 7 5】

キレーターと樹脂固定化化合物(11)のコンジュゲーションは、2当量のDOTA-トリス(t-Bu)エステル{([2 - (4 , 7 , 10 - トリス(2 - (t - ブトキシ))

)-2-オキソエチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)酢酸]; Chematech; カタログ番号 137076-54-1)、0.20 mmol、572.73 g/mol [115 mg]} で行った。キレータービルディングブロックを、無水DMF中、4当量のDIP EA {0.40 mmol、129.24 g/mol、0.742 g/mL、[70 μ L]} の存在下で、1.98当量のHBTU {(Sigma; カタログ番号 12804-25G-F)、0.198 mmol、379.24 g/mol、[75 mg]} で活性化させた。DIP EAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化されDMFで予め膨潤させた化合物(11)に添加した。DOTAキレーターのカップリングは、穏やかに攪拌しながら2時間に亘って進行した。次に、得られた化合物(12)をDMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、最後にDCM 2で3回洗浄した。

10

【0276】

化合物(12)からのAlloc保護基の切断は、3 mLの無水DCM中、30当量のモルホリン {3.0 mmol、87.12 g/mol、0.999 g/mL、[262 μ L]} の存在下で、0.03当量のTPP Pd {(Sigma; カタログ番号 216666-1G)、0.03 mmol、1155.56 g/mol、[35 mg]} との反応によって行った。アルミホイルを使用して、暗所で2時間反応を行った。

【0277】

次いで、樹脂を、DCM 1で3回、DCM 2で3回、DMF 1で3回、最後にDMF 2で3回洗浄した。パラジウムの残留物を除去するために、DMF中の1% DIP EA (30 mLのDMF 2中の300 μ LのDIP EA) で、樹脂を更に10回洗浄し、続いて、濃度15 mg/mLでDMF 2中のキューブラル溶液 (Sigma; カタログ番号 D3506-100G)、225.31 g/mol} (30 mLのDMF 2中の450 mgのキューブラル) で5分間10回洗浄した。次に、得られた化合物(13)を、DMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。

20

【0278】

最後に、アルブミン結合部分のカップリングのために、4当量のトリル酪酸 {([4-(p-トリル)酪酸]; ABCR; AB119212)、0.40 mmol、178.23 g/mol、[71 mg]} を、無水DMF中、4当量のDIP EA {0.40 mmol、129.24 g/mol、0.742 g/mL、[70 μ L]} の存在下で、3.96当量のHBTU {(Sigma; カタログ番号 12804-25G-F)、0.396 mmol、379.24 g/mol、[149 mg]} で活性化させた。DIP EAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化されDMFで予め膨潤させた生成物(13)に添加し、1時間攪拌した。

30

【0279】

次に、得られた化合物(14)をDMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、DCM 2で3回、最後にEt₂Oで3回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0280】

最終化合物PSMA-ALB-06は、95:2.5:2.5の比のTFA、TIPS、及びH₂Oからなる混合物と共に2時間以下攪拌し、続いて樹脂から切断することにより得た。TFAを蒸発させ、粗生成物を、1:1の比のACNと水に溶解させ、RP-HPLCで精製した。

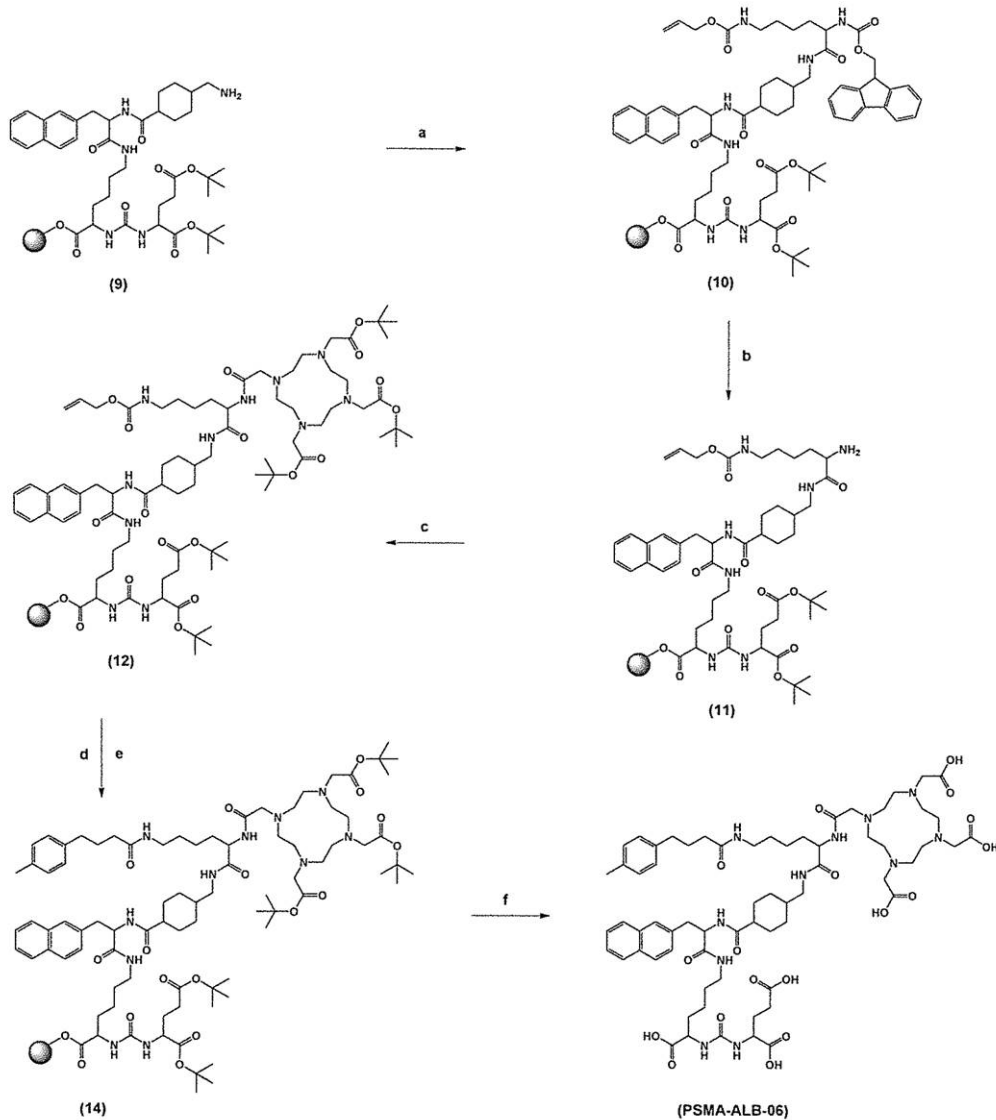
40

【0281】

前記した合成の概要を、スキーム1.8にまとめる。

【化 5 1】

スキーム1. 8: PSMA-ALB-06のアルブミン結合剤、DOTAキレート剤、及びPSMA前駆体のカップリング



【 0 2 8 2】

f) PSMA-ALB-07の合成

リジン被覆PSMA前駆体(9B)に対して、4当量のFmoc及びAlloc保護L-リジン{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH; Merck; カタログ番号8521240005)、0.40mmol、452.50g/mol、[181mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9B)に添加し、1時間攪拌した。

【 0 2 8 3】

次に、得られた化合物(10B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(10B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(11

B)を得た。

【0284】

リジン被覆PSMA前駆体(11B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma;カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(11B)に添加し、1時間攪拌した。

10

【0285】

次に、得られた化合物(12B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(12B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(13B)を得た。

【0286】

リジン及びアスパラギン酸塩被覆PSMA前駆体(13B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma;カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(13B)に添加し、1時間攪拌した。

20

【0287】

次に、得られた化合物(14B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(14B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(15B)を得た。

30

【0288】

リジン及び2種のアスパラギン酸塩被覆PSMA前駆体(15B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma;カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(15B)に添加し、1時間攪拌した。

40

【0289】

次に、得られた化合物(16B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(14B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(17B)を得た。

【0290】

樹脂被覆生成物(17B)に対して、4当量のヨードフェニル酪酸{([4-(p-ヨードフェニル)酪酸];Sigma;I5634-5G)、0.40mmol、290.10g/mol、[116mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40m

50

mol、129.24 g/mol、0.742 g/mL、[70 µL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396 mmol、379.24 g/mol、[149 mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(17B)に添加し、1時間撹拌した。

【0291】

次に、得られた化合物(18B)をDMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、最後にDCM 2で3回洗浄した。

【0292】

化合物(18B)からのAlloc保護基の切断は、3 mLの無水DCM中、30当量のモルホリン{3.0 mmol、87.12 g/mol、0.999 g/mL、[262 µL]}の存在下で、0.03当量のTPP Pd{(Sigma; カタログ番号216666-1G)、0.03 mmol、1155.56 g/mol、[35 mg]}との反応により行った。アルミホイルを使用して、暗所で2時間反応を行った。

【0293】

次いで、樹脂を、DCM 1で3回、DCM 2で3回、DMF 1で3回、最後にDMF 2で3回洗浄した。パラジウムの残留物を除去するために、DMF中の1% DIPEA(30 mLのDMF 2中の300 µLのDIPEA)で、樹脂を更に10回洗浄し、続いて、濃度15 mg/mLでDMF 2中のキュープラル溶液(Sigma; カタログ番号D3506-100G)、225.31 g/mol}(30 mLのDMF 2中の450 mgのキュープラル)で5分間10回洗浄した。次に、得られた化合物(19B)を、DMF 1で3回、DMF 2で3回洗浄した。

【0294】

キレーターと樹脂固定化化合物(19B)のコンジュゲーションは、3当量のDOTA-トリス(t-Bu)エステル{([2-(4,7,10-トリス(2-(t-ブトキシ)-2-オキソエチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1-イル)酢酸]; ChemMatech; カタログ番号137076-54-1)、0.30 mmol、572.73 g/mol [171 mg]}で行った。キレータービルディングブロックは、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40 mmol、129.24 g/mol、0.742 g/mL、[70 µL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297 mmol、379.24 g/mol、[112 mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、樹脂固定化されDMFで予め膨潤させた化合物(17B)に添加した。DOTAキレーターのカップリングは、穏やかに撹拌しながら2時間に亘って進行した。

【0295】

そのような生成物(20B)を、DMF 1で3回、DMF 2で3回、DCM 1で3回、DCM 2で3回、最後にEt₂Oで3回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0296】

最終化合物PSMA-ALB-07は、95:2.5:2.5の比のTFA、TIPS、及びH₂Oからなる混合物と共に2時間以下撹拌し、続いて樹脂から切断することにより得た。TFAを蒸発させ、粗生成物を、1:1の比のACNと水に溶解させ、RP-HPLCで精製した。前記した合成の概要を、スキーム1.9の2つの部分にまとめる。

10

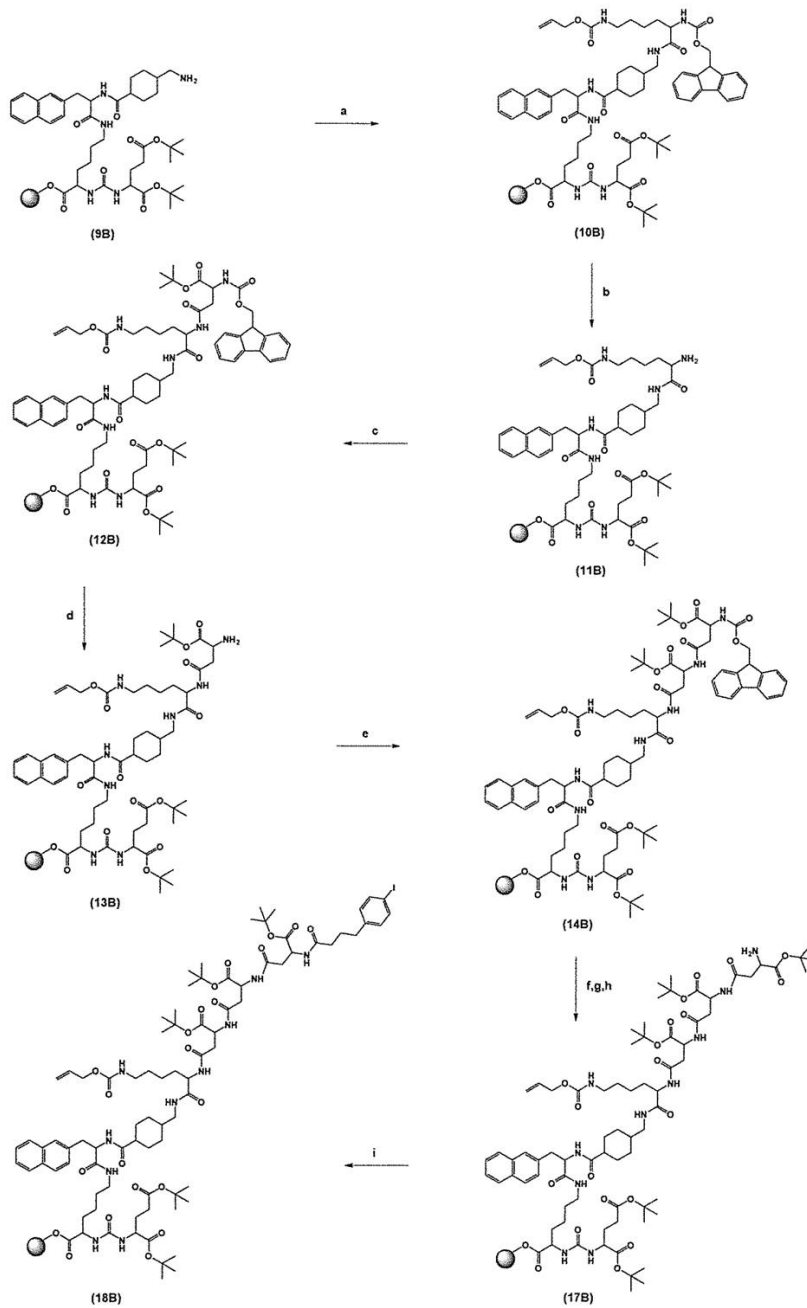
20

30

40

【化 5 2】

スキーム1. 9: PSMA-ALB-07のアルブミン結合部分, DOTAキレーター, 及びPSMA前駆体のカップリング



a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% TBA in DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% TBA in DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% TBA in DMF; g) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; h) 50% TBA in DMF; i) 3-oxo-2-oxopropionic acid, HBTU, DMF, DIPEA;

10

20

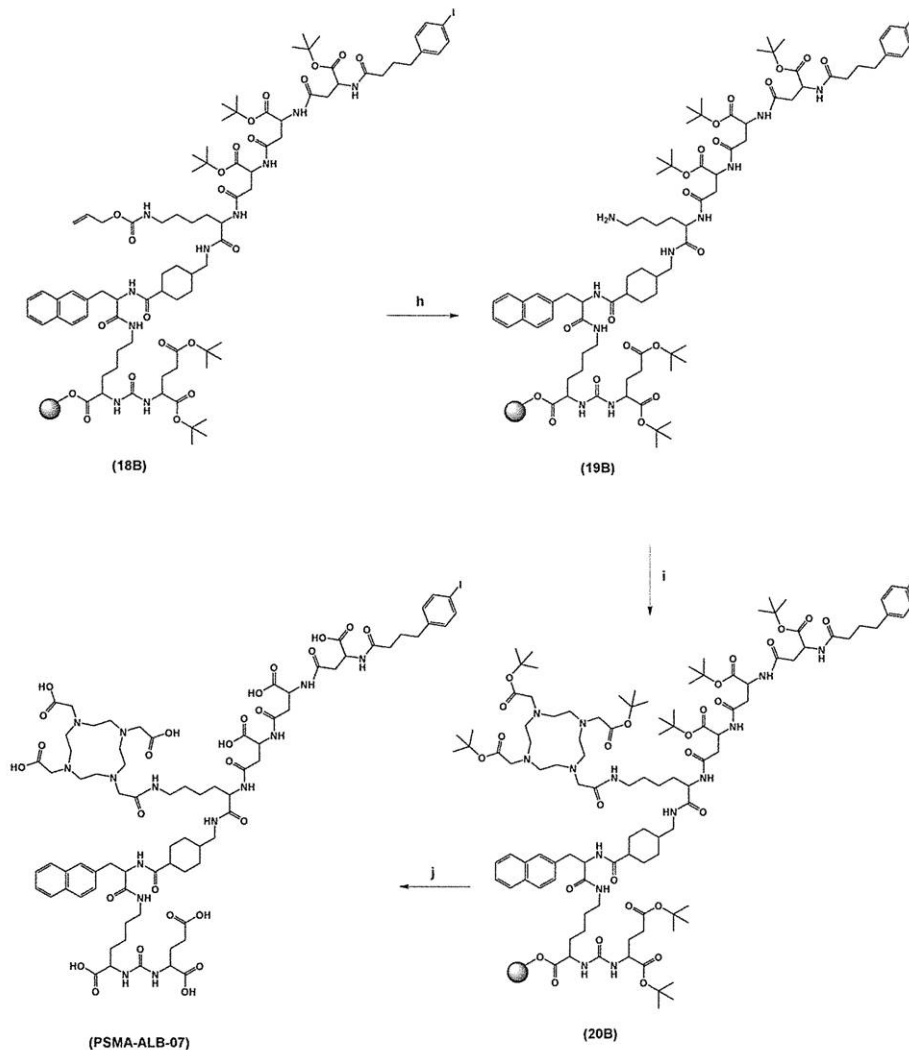
30

40

50

【化 5 3】

スキーム1.9(続き):PSMA-ALB-07のアル³⁺ミン結合部分, DOTAキレート, 及びPSMA前駆体のカップ[®]リンク[®]



h) Pd触媒, モルホリン, DCM; i) DOTA-トリス(tBu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; j) TFA:TIPS:H₂O

【 0 2 9 7】

g) PSMA-ALB-08の合成

リジン被覆PSMA前駆体(9B)に対して、4当量のFmoc及びAlloc保護L-リジン{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH; Merck; カタログ番号8521240005)、0.40mmol、452.50g/mol、[181mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[149mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(9B)に添加し、1時間攪拌した。

【 0 2 9 8】

次に、得られた化合物(10B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(10B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(11B)を得た。

【0299】

リジン被覆PSMA前駆体(11B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu; Merck; カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(11B)に添加し、1時間攪拌した。

10

【0300】

次に、得られた化合物(12B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(12B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(13B)を得た。

【0301】

リジン及びアスパラギン酸塩被覆PSMA前駆体(13B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu; Merck; カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(13B)に添加し、1時間攪拌した。

20

【0302】

次に、得られた化合物(14B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(14B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回洗浄することによって行い、生成物(15B)を得た。

30

【0303】

リジン及び2種のアスパラギン酸塩被覆PSMA前駆体(15B)に対して、3当量のFmoc及びtBu保護D-アスパラギン酸塩{(Fmoc-D-Asp-OtBu; Merck; カタログ番号8521440001)、0.30mmol、411.45g/mol、[123mg]}を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、2.97当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.297mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(15B)に添加し、1時間攪拌した。

40

【0304】

次に、得られた化合物(16B)をDMF1で3回、DMF2で3回洗浄した。得られた化合物(14B)からのFmoc保護基の選択的除去は、DMFとピペリジンの1:1混合物で2分間1回洗浄後、5分間、更に1回度洗浄することによって行い、生成物(17B)を得た。

【0305】

樹脂被覆生成物(17B)に対して、4当量のトリル酪酸(0.40mmol)を、無水DMF中、4当量のDIPEA{0.40mmol、129.24g/mol、0.742g/mL、[70μL]}の存在下で、3.96当量のHBTU{(Sigma; カタログ番号12804-25G-F)、0.396mmol、379.24g/mol、[112mg]}で活性化させた。DIPEAの添加2分間後、溶液を、DMFで予め膨潤させた固定化ビス(tBu)保護PSMA前駆体(17B)に添加し、1時間攪拌した。

50

149 mg] } で活性化させた。D I P E A の添加 2 分間後、溶液を、樹脂固定化され D M F で予め膨潤させた生成物 (1 7 B) に添加し、1 時間撈拌した。

【 0 3 0 6 】

次に、得られた化合物 (1 8 B) を D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回、D C M 1 で 3 回、最後に D C M 2 で 3 回洗浄した。

【 0 3 0 7 】

化合物 (1 8 B) からの A l l o c 保護基の切断は、3 m L の無水 D C M 中、3 0 当量のモルホリン { 3 . 0 m m o l 、 8 7 . 1 2 g / m o l 、 0 . 9 9 9 g / m L 、 [2 6 2 μ L] } の存在下で、0 . 0 3 当量の T P P P d { (S i g m a ; カタログ番号 2 1 6 6 6 6 - 1 G) 、 0 . 0 3 m m o l 、 1 1 5 5 . 5 6 g / m o l 、 [3 5 m g] } との反応により行った。アルミホイルを使用して、暗所で 2 時間反応を行った。

10

【 0 3 0 8 】

次いで、樹脂を、D C M 1 で 3 回、D C M 2 で 3 回、D M F 1 で 3 回、最後に D M F 2 で 3 回洗浄した。パラジウムの残留物を除去するために、D M F 中の 1 % D I P E A (3 0 m L の D M F 2 中の 3 0 0 μ L の D I P E A) で、樹脂を更に 1 0 回洗浄し、続いて、濃度 1 5 m g / m L で D M F 2 中のキュープラル溶液 (S i g m a ; カタログ番号 D 3 5 0 6 - 1 0 0 G) 、 2 2 5 . 3 1 g / m o l } (3 0 m L の D M F 2 中の 4 5 0 m g のキュープラル) で 5 分間 1 0 回洗浄した。次に、得られた化合物 (1 9 B) を、D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回洗浄した。

【 0 3 0 9 】

20

キレーターと樹脂固定化化合物 (1 9 B) のコンジュゲーションは、3 当量の D O T A - トリス (t - B u) エステル { ([2 - (4 , 7 , 1 0 - トリス (2 - (t - ブトキシ) - 2 - オキソエチル) - 1 , 4 , 7 , 1 0 - テトラアザシクロドデカン - 1 - イル) 酢酸] ; C h e M a t e c h ; カタログ番号 1 3 7 0 7 6 - 5 4 - 1) 、 0 . 3 0 m m o l 、 5 7 2 . 7 3 g / m o l [1 7 1 m g] } で行った。キレータービルディングブロックは、無水 D M F 中、4 当量の D I P E A { 0 . 4 0 m m o l 、 1 2 9 . 2 4 g / m o l 、 0 . 7 4 2 g / m L 、 [7 0 μ L] } の存在下で、2 . 9 7 当量の H B T U { (S i g m a ; カタログ番号 1 2 8 0 4 - 2 5 G - F) 、 0 . 2 9 7 m m o l 、 3 7 9 . 2 4 g / m o l 、 [1 1 2 m g] } で活性化させた。D I P E A の添加 2 分間後、溶液を、樹脂固定化され D M F で予め膨潤させた化合物 (1 7 B) に添加した。D O T A キレーターのカップリングは、穏やかに撈拌しながら 2 時間に亘って進行した。

30

【 0 3 1 0 】

そのような生成物 (2 0 B) を、D M F 1 で 3 回、D M F 2 で 3 回、D C M 1 で 3 回、D C M 2 で 3 回、最後に E t ₂ O で 3 回洗浄し、真空下で乾燥させた。

【 0 3 1 1 】

最終化合物 P S M A - A L B - 0 7 は、9 5 : 2 . 5 : 2 . 5 の比の T F A 、 T I P S 、及び H ₂ O からなる混合物と 2 時間以下撈拌し、続いて樹脂から切断することによって得た。T F A を蒸発させ、粗生成物を、1 : 1 の比の A C N と水に溶解させ、R P - H P L C で精製した。

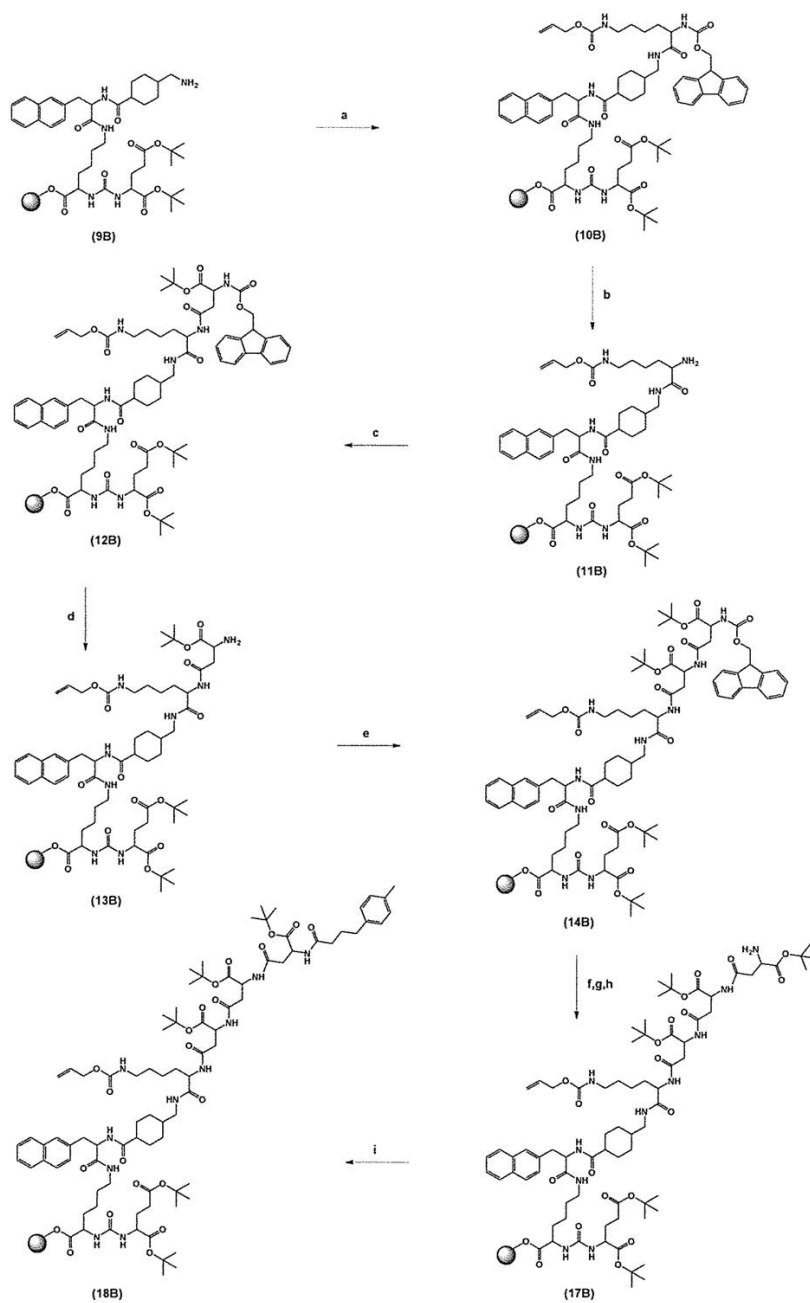
【 0 3 1 2 】

40

前記した合成の概要を、スキーム 1 . 1 0 の 2 つの部分にまとめる。

【化 5 4】

スキーム1. 10: PSMA-ALB-08のアルブミン結合部分, DOTAキレート, 及びPSMA前駆体のカップリング



a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% ピペリジン, DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% ピペリジン, DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% ピペリジン, DMF; g) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; h) 50% ピペリジン, DMF; i) トリル酸, HBTU, DMF, DIPEA;

10

20

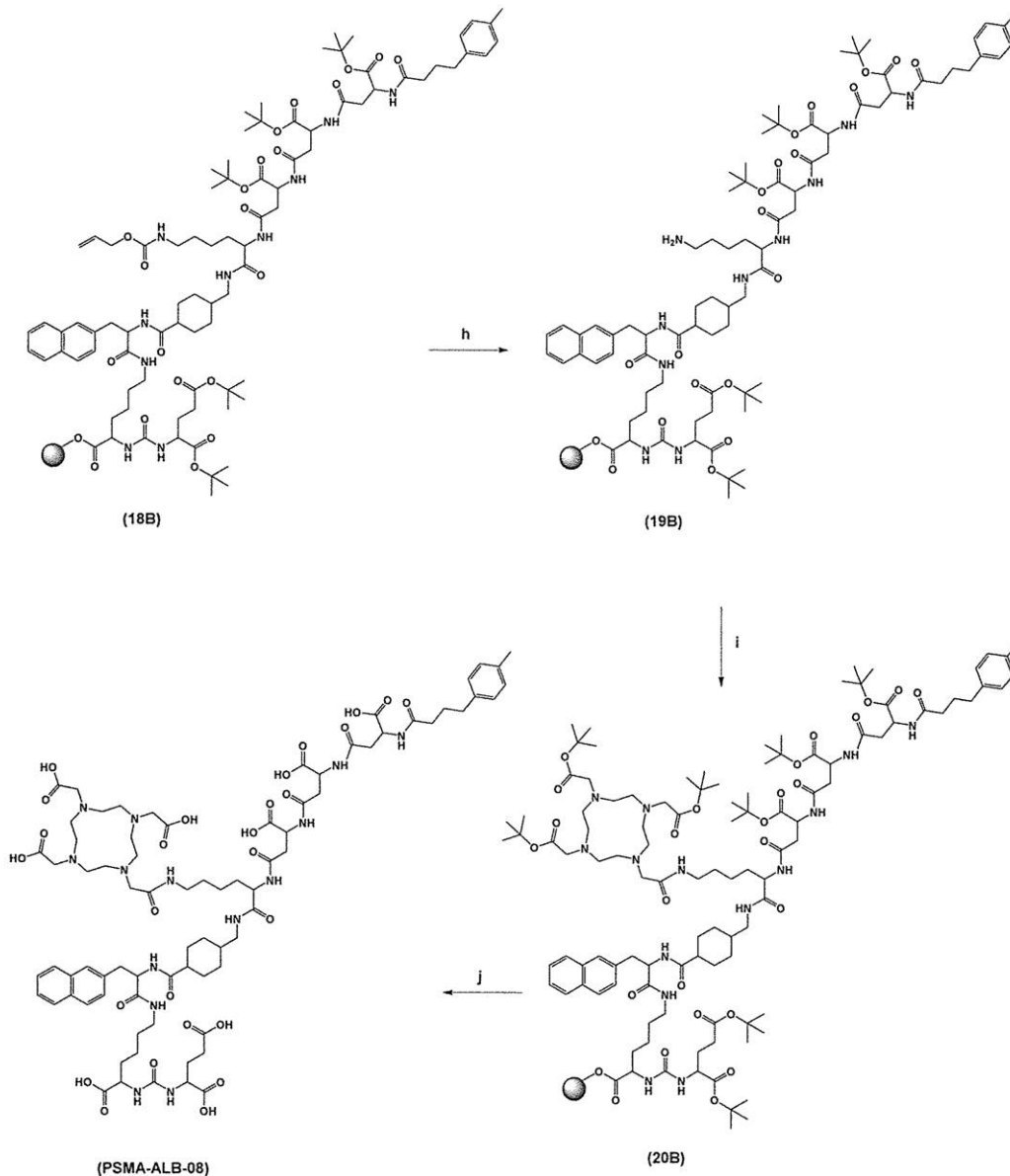
30

40

50

【化 5 5】

スキム1. 10 (続き) : PSMA-ALB-08のアルブミン結合部分, DOTAキレーター, 及びPSMA前駆体のカップリング



h) Pd触媒, モルホリン, DCM; i) DOTA-トリス(tBu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; j) TFA:TIPS:H₂O

【 0 3 1 3】

1. 1. 3 : PSMAリガンドの¹⁷⁷Lu標識及び*in vitro*評価

¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08を使用して、*in vitro*試験を行った。これは、標識効率、n-オクタノール/PBS分配係数、及び血清タンパク質結合試験の予備的評価を含んだ。更に、取り込み及び内在化実験を、PSMAをトランスフェクトしたPSMApos PC-3 PIP細胞株（ポジティブコントロール）及びモックをトランスフェクトしたPSMAneg PC-3 fl u細胞株（ネガティブコントロール）を使用して行った。

【 0 3 1 4】

a) PSMAリガンド及び放射性核種

10

20

30

40

50

PSMAリガンド¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08は、前記したように合成した。参照化合物(PSMA-617)は、Advanced Biochemical Compound (ABX GmbH、Radeberg、ドイツ)から購入した。0.05 M HCl中の担体無添加(No-carrier added)¹⁷⁷Luは、Isotope Technologies Garching (ITG GmbH、ドイツ)から得た。

【0315】

b) 放射標識

PSMA-617のストック溶液は、MilliQ水に最終濃度1 mMに希釈することにより調製した。¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08を、MilliQ水/DMSOに希釈して、最終濃度1 mMにした。いずれの化合物も、pH 3.5~4.5の酢酸ナトリウム(0.5 M、pH 8)とHCl(0.05 M、pH ~ 1)の1:5混合物中にて¹⁷⁷Luで標識した。実験条件に応じて、化合物を、5~50 MBq/nmolの比放射能にて¹⁷⁷Luで標識した。反応混合物を95 で15分間インキュベートした後、C-18逆相カラム(Xterra™ MS、C18、5 μm、150×4.6 mm; Waters)を用いる高速液体クロマトグラフィーを使用した品質管理を行った。移動相は、0.1%トリフルオロ酢酸(A)及びアセトニトリル(B)を含むMilliQ水からなり、95%A及び5%B~20%A及び80%Bの勾配で、1.0 mL/分の流量で15分間行った。HPLCに注入する前に、放射性リガンドをNa-DTPA(50 μM(マイクロモル))を含むMilliQ水に希釈した。

【0316】

c) n-オクタノール/PBS分配係数の決定

¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08及びPSMA-617を、50 MBq/nmolの比活性にて¹⁷⁷Luで標識した。次に、放射性リガンド(0.5 MBq; 10 pmol、25 μL)を、1475 μLのPBS(pH 7.4)と1500 μLのn-オクタノールを含む試薬チューブに添加した。バイアルを激しくボルテックスした後、相分離のための遠心分離ステップを行った。最後に、規定量のPBSとn-オクタノールの放射能をガンマカウンター(Perkin Elmer、Wallac Wizard 1480)で測定し、n-オクタノール相中で測定された1分間当たりのカウント(cpm)のPBS相中のcpm測定値に対する比の対数として表される分布係数を計算した。

【0317】

d) フィルターアッセイ

¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08及び¹⁷⁷Lu-PSMA-617の血漿結合を、限外ろ過アッセイを使用して決定した。

【0318】

したがって、化合物を、50 MBq/nmolの比活性にて¹⁷⁷Luで標識し、ヒト血漿サンプル又はPBS中で室温にてインキュベートした。遊離及び血漿結合画分を、遠心分離限外ろ過装置(4104遠心分離フィルターユニット[Millipore]; 30000 Da公称分子量限界、メチルセルロースマイクロパーティションメンブレン)を使用して分離した。インキュベートした溶液を限外濾過装置に充填し、20 で40分間2500 rpmにて遠心分離しました。ろ液からサンプルを採取し、ガンマカウンターで放射能を分析した。血漿結合化合物の量は、対応する充填溶液(100%に設定)に対するろ液で測定された放射能の割合として計算した。

【0319】

e) 細胞内在化アッセイ

PSMAをトランスフェクトしたPSMA^{POS} PC-3 PIP細胞及びモックをトランスフェクトしたPSMA^{NEG} PC-3 fl細胞を用いて、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08及び参照化合物¹

^{177}Lu -PSMA-617で、細胞取り込み及び内在化実験を行い、新規化合物の特異性を調べた。

【0320】

10%ウシ胎児血清、L-グルタミン、抗生物質、ピューロマイシン ($2\mu\text{g}/\text{mL}$) を添加したRPMI細胞培養培地で、37℃、5%CO₂ (標準条件) で細胞を増殖させた。細胞を洗うためのPBS/EDTA (2mM) 及び細胞を剥離するためのトリプシンを使用して、常法による細胞培養を1週間に2回行った。細胞を12ウェルプレートに播種し (1ウェル当たり、RPMI培地2mL中 $\sim 3 \times 10^5$ 個の細胞)、標準的な条件で一晩接着及び増殖させた。上清を除去し、細胞をPBS (pH 7.4) で洗ってから、添加剤を含有しないRPMI培地 ($975\mu\text{L}/\text{ウェル}$) を添加した。化合物を、5MBq / nmolの比活性にて ^{177}Lu で標識し、0.05%ウシ血清アルブミン (BSA) / 0.9%NaCl溶液中に1.5MBq/mLに希釈して、プラスチック容器への接着を防止した。細胞を、 $25\mu\text{L}$ ($\sim 37.5\text{kBq}$) / ウェルの放射標識PSMAリガンドと共に、それぞれ標準的な条件で2時間及び4時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を氷冷PBSで3回洗浄し、放射性リガンドの合計取り込み量を決定した (表面上のPSMA結合画分及び内在化画分)。内在化放射性リガンドの画分を、氷冷PBSで洗浄した細胞で評価し、続いてストリッピングバッファー (100mM のNaCl中0.05Mグリシンストリッピングバッファー、pH 2.8) で10分間インキュベートし、氷冷PBSで更なる洗浄ステップを行った。NaOH (1M、1mL) を各ウェルに添加することにより、細胞サンプルを溶解させた。細胞懸濁液のサンプルは、カウンター (Perkin Elmer、Wallac Wizard 1480) で測定した。細胞懸濁液をホモジナイズした後、Micro BCA Protein Assayキット (Pierce、Thermo Scientific) を使用して、各サンプルのタンパク質濃度を決定した。結果を、 $150\mu\text{g}/\text{mL}$ タンパク質当たりの合計付加放射能の割合として表した。

【0321】

1.2 結果

1.2.1 標識化効率

PSMA-ALB-01及び-03は、最大100MBq/nmolの比活性で、>98%の優れた放射化学収率にて ^{177}Lu で成功裏に標識化された。PSMA-ALB-04、-05、-06、-07、及び-08は、予備試験において、最大50MBq/nmolの比活性で、>97%の優れた放射化学収率にて ^{177}Lu で標識化された。実験に使用した比活性は (特段の断りがない限り) 50MBq/nmolであった。in vitro及びin vivoの試験に使用される化合物の放射化学的純度は、常に>97%であった (図1)。

【0322】

1.2.2 n-オクタノール/PBS分配係数

^{177}Lu -PSMA-ALB-01、-03、-04、及び-06は、同様のn-オクタノール/PBS分配係数 (Log D値) を示したが、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、-07、及び-08の係数は、僅かにより親水性の化合物であることを示した。一般に、データは、アルブミン結合体の導入により、参照化合物 ^{177}Lu -PSMA-617と比較して親水性を低下させることを示したが、化合物はいずれも依然として親水性であり、Log D値は>2.7である (図2)。

【0323】

1.2.3 アルブミン結合特性

^{177}Lu -PSMA-ALB-01、-03、-04、-05、-06、-07の限外ろ過実験では、ヒト血漿中でインキュベートしたときに94%を超える化合物がフィルターを浸透せず、高い血清タンパク質結合能が明らかとなった。タンパク質が存在しないPBSで化合物をインキュベートすると、化合物をろ過し易い可能性が示された (図3)。新たに設計された化合物はいずれも、アルブミン結合画分が僅か約44%であった ^{177}Lu

- P S M A - 6 1 7 と比較して血清タンパク質結合能の増加を示した (図 3) 。

【 0 3 2 4 】

1 . 2 . 4 内在化

P S M A リガンド ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1、- 0 3、- 0 4、- 0 5、- 0 6、- 0 7、及び - 0 8 の細胞取り込みと内在化を調べ、P C - 3 P I P / f l u 細胞を使用して参照化合物 ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 と比較した (図 4) 。P C - 3 P I P 細胞 (P S M A ^{p o s}) への化合物の取り込みはいずれも、それぞれ 2 時間又は 4 時間で ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 に同等であった。興味深いことに、P S M A リガンドの内在化された割合は、2 時間及び 4 時間の時点で ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 の場合よりも高かった。 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 6 と ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 8 の内在化率は、 ^{177}Lu - P S M A - 6 1 7 と同等であった。P C - 3 f l u 細胞 (P S M A ^{n e g}) 中における放射性リガンドの取り込みはいずれも、 $< 0.5\%$ であり、全ての化合物において P S M A 特異的な取り込み / 内在化が高いことが示された。

10

【 0 3 2 5 】

実施例 2 : 腫瘍マウスモデルにおける P S M A リガンドの *in vivo* 評価

^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1、- 0 3、- 0 4、- 0 5、- 0 6、- 0 7、及び - 0 8 を、*in vivo* で特性評価した。そのため、免疫不全 B a l b / c ノードマウスに P S M A ^{p o s} P C - 3 P I P 細胞及び P S M A ^{n e g} P C - 3 f l u 細胞を接種した。リガンドの静脈内 (i . v .) 適用後、広範な体内分布及び S P E C T / C T 試験を行った。 ^{177}Lu - P S M A - A L B - 0 1 - 0 8 の腫瘍の取り込み、腫瘍 / 血液比、腫瘍 / 腎臓比、及び腫瘍 / 肝臓比を、図 5 及び図 6 にまとめる。

20

【 0 3 2 6 】

2 . 1 材料及び方法

2 . 1 . 1 腫瘍マウスモデル

マウスは、Charles River Laboratories (ズルツフェルト、ドイツ) から 5 ~ 6 週齢で入手した。雌の無胸腺ノード B a l b / c マウスの右肩部に P C - 3 P I P 細胞 (Ca^{2+} / Mg^{2+} を含む $100\mu\text{L}$ ハンクス平衡塩溶液 (H B S S) 中の 6×10^6 個の細胞) を、左肩部に P C - 3 f l u 細胞 (Ca^{2+} / Mg^{2+} を含む $100\mu\text{L}$ の H B S S 中の 5×10^6 個の細胞) に皮下接種した。2 週間後、腫瘍は、体内分布とイメージング試験の実施に適した約 $200 \sim 300\text{mm}^3$ のサイズに達した。

30

【 0 3 2 7 】

2 . 1 . 2 生体分布試験

P S M A リガンドの注射の 2 週間前に腫瘍細胞を接種した P C - 3 P I P / f l u 担腫瘍マウスを使用して、体内分布試験を行った。放射性リガンドを 0.9% N a C l に希釈し、 $100 \sim 200\mu\text{L}$ の容量で i . v . 注射した。マウスを、放射性リガンドの注射後 (p . i .) の様々な時点で安楽死させた。選択した組織と臓器を収集し、重量を測定し、ガンマカウンターを使用して測定を行った。結果を減衰補正し、組織質量 1g 当たりの注入された活性の割合 (% I A / g) として記載した。

【 0 3 2 8 】

2 . 1 . 3 S P E C T / C T イメージング試験

S P E C T / C T 実験は、専用の小型動物 S P E C T / C T カメラ (N a n o S P E C T / C T T M、Mediso Medical Imaging Systems、ブダペスト、ハンガリー) を使用して行った。P S M A リガンドは、 $25\text{MBq}/\text{nmol}$ の比活性で標識し、 0.05% B S A を含む生理食塩水で希釈した。スキャンは、放射性リガンド (25MBq 、 1nmol 、 $100\mu\text{L}$) の注射後 4 時間、24 時間、及び 72 時間 に取得した。N a n o S P E C T / C T T M ソフトウェアを使用してデータを再構成し、V i v o Q u a n t (バージョン 3.0、i n v i C R O Imaging Services and Software、ボストン、米国) を使用して後処理した。ガウスポスト再構成フィルター (F W H M = 1mm) を適用し、放射能のスケールが画像上に表示されるように設定した (最小値 = $0.095\text{Bq}/\text{ボクセル}$ (v o x e l) ~ 最大値 = 95B

40

50

q / ボクセル)。

【0329】

2.1.4 マウスモデルの治療

統計的に類似した体重と腫瘍体積を有するマウスの5つの群(群A~E、 $n=6$)に、
 ビヒクルのみ(BSA 0.05%を含む生理食塩水、群A)、 ^{177}Lu -PSMA-617(群B及びC)、及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-06(群D及びE)を、治療試験の0日目にそれぞれ注射した(表2.1)。群B及びDのマウスには、2 MBqの放射性リガンド(1 nmol / マウス)を投与し、群C及びEのマウスには、5 MBqの放射性リガンド(1 nmol / マウス)を投与した。体重と腫瘍サイズを12週間に亘って1日間おきに測定することにより、マウスをモニターした。定義したエンドポイント基準に達したとき、又は84日目に試験が終了したときに、マウスを安楽死させた。相対体重(RBW)を $[BW_x / BW_0]$ と定義し、ここで、 BW_x は、 x 日目の体重(グラム)であり、 BW_0 は、0日目の体重(グラム)である。腫瘍の大きさは、デジタルノギスで最長の腫瘍軸(L)とその垂直軸(W)を測定することにより決定した。腫瘍体積(V)は、式 $[V = 0.5 * (L * W^2)]$ にしたがって計算した。相対腫瘍体積(RTV)は、 $[TV_x / TV_0]$ と定義し、ここで、 TV_x は、所定の x 日目の腫瘍体積(mm^3)であり、 TV_0 は、0日目の腫瘍体積(mm^3)である。

【表2.1】

表2.1: 治療試験の設計

群	処理 (<i>n</i> = 6)	注射された放射能 [Mbq]		腫瘍体積 ^b [mm ³](平均±SD)	体重 ^b [g](平均±SD)
		理論値	測定値 ^a (平均±SD)	0日目	0日目
A	生理食塩水			88 ± 21	16 ± 1.6
B	¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	2	2.2 ± 0.1	103 ± 24	16 ± 1.2
C	¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	5	5.7 ± 0.4	104 ± 25	17 ± 0.9
D	¹⁷⁷ Lu-PSMA-ALB-56	2	2.1 ± 0.3	81 ± 25	15 ± 1.3
E	¹⁷⁷ Lu-PSMA-ALB-56	5	5.4 ± 0.5	92 ± 34	15 ± 1.3

^a各マウスへの注射前後に測定したシリンジ中の放射能

^b各群の値に有意差はなかった($p>0.05$)

【0330】

放射性核種療法の有効性は、腫瘍成長遅延(TGD_x)として表した。これは、腫瘍体積が0日目の初期体積の x 倍に増大するのに必要な時間として計算した。腫瘍成長遅延指数 $[TGD I_x = TGD_x(T) / TGD_x(C)]$ は、初期腫瘍体積の2倍($x=2$ 、 TGD_2)及び5倍($x=5$ 、 TGD_5)の増大における、コントロールマウス(C)に対する処理マウス(T)の TGD_x 比として計算した。望ましくない副作用を同定するための手段として、最初のコントロールマウスを安楽死させる必要があった日に体重を比較した。安楽死後、腎臓、肝臓、及び脳を回収し、計量した。臓器の比率(腎臓対脳、肝臓対脳)を、安楽死させた日に得られた臓器質量を使用して計算した。

【0331】

GraphPad Prismソフトウェア（バージョン7）を使用したTukeyの多重比較ポストテストで一元配置ANOVAを使用して、結果の部に示されているように、データの有意性を分析した。 $p < 0.05$ の値は、統計的に有意とみなした。生存分析は、 Kaplan-Meier 曲線とログランク検定 (Mantel-Cox) を使用して行った。

【0332】

2.2 結果

2.2.1 ^{177}Lu -PSMA-ALB-01、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-03の体内分布

^{177}Lu -PSMA-ALB-01及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-03の組織分布を8日間に亘って調べた。化合物 ^{177}Lu -PSMA-ALB-01及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-03は、非常に類似した組織分布プロファイルを示した(図5A)。

10

【0333】

高い放射能レベルが、初期の時点で既に血液プールで観察することができ、ゆっくりとではあるが着実に経時で除去された。PSMA pos PC-3 PIP腫瘍におけるいずれの放射性リガンドの取り込みも、プラトーに達するまで増加し続け、試験終了まで実質的に低下しなかった。PC-3 flu腫瘍における取り込みは、明らかに血中レベルを下回っており、*in vivo*における高度なPSMA特異的結合と取り込みを示す(図5A)。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-01及び-03の体内分布データを、以下の表2.2及び表2.3に示す。

20

30

40

50

【表 2 . 2】

表 2.2: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-01 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	96 h p.i.
血液	29.7 ± 4.49	25.6 ± 1.53	21.0 ± 2.86	14.2 ± 1.40	12.0 ± 2.18	6.68 ± 0.85
心臓	10.1 ± 1.10	8.71 ± 0.50	7.16 ± 1.23	5.93 ± 0.65	4.42 ± 0.81	2.70 ± 0.37
肺	16.6 ± 2.78	14.1 ± 0.99	11.6 ± 0.83	8.62 ± 1.47	7.67 ± 0.83	5.07 ± 0.66
脾臓	5.27 ± 1.64	5.34 ± 0.90	4.05 ± 0.69	3.60 ± 0.43	4.62 ± 1.12	3.12 ± .015
腎臓	19.4 ± 4.82	24.6 ± 0.38	22.6 ± 2.38	22.7 ± 2.18	25.2 ± 4.15	13.0 ± 1.30
胃	3.29 ± 1.75	3.30 ± 0.05	2.45 ± 0.43	1.39 ± 0.07	1.49 ± 0.47	0.81 ± 0.04
小腸	4.15 ± 1.40	4.17 ± 0.70	2.44 ± 0.17	2.12 ± 0.20	1.84 ± 0.54	1.05 ± 0.17
肝臓	5.76 ± 1.21	5.92 ± 0.07	5.31 ± 1.23	2.92 ± 0.67	3.03 ± 0.63	1.88 ± 0.36
唾液腺	5.52 ± 1.08	5.20 ± 0.73	4.45 ± 0.56	3.38 ± 0.32	3.96 ± 0.98	2.22 ± 0.38
筋肉	2.22 ± 0.88	2.06 ± 0.80	1.63 ± 0.27	1.34 ± 0.14	1.35 ± 0.46	0.82 ± 0.12
骨	3.15 ± 0.47	3.01 ± 0.09	2.54 ± 0.26	1.58 ± 0.06	1.64 ± 0.34	1.07 ± 0.22
PC-3 PIP 腫瘍	8.98 ± 2.77	20.4 ± 0.39	25.5 ± 2.02	38.2 ± 2.59	65.6 ± 1.84	62.3 ± 3.56
PC-3 flu 腫瘍	3.64 ± 2.30	5.03 ± 1.61	4.01 ± 0.79	3.95 ± 0.82	4.64 ± 1.84	2.76 ± 0.23
腫瘍対血液	0.30 ± 0.06	0.80 ± 0.03	1.22 ± 0.08	2.71 ± 0.39	5.54 ± 0.76	9.39 ± 0.65
腫瘍対肝臓	1.56 ± 0.30	3.45 ± 0.03	4.97 ± 1.21	13.5 ± 2.79	22.2 ± 4.11	33.7 ± 4.33
腫瘍対腎臓	0.46 ± 0.04	0.83 ± 0.03	1.13 ± 0.07	1.69 ± 0.07	2.64 ± 0.40	4.80 ± 0.20

10

20

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	5.78 ± 0.90	5.21 ± 1.37
心臓	2.23 ± 0.29	2.12 ± 0.68
肺	4.90 ± 0.58	4.12 ± 0.96
脾臓	4.32 ± 0.57	4.09 ± 1.12
腎臓	10.2 ± 3.41	7.56 ± 1.44
胃	0.84 ± 0.13	0.73 ± 0.12
小腸	1.07 ± 0.13	1.02 ± 0.25
肝臓	1.56 ± 0.16	1.51 ± 0.37
唾液腺	1.68 ± 0.53	1.78 ± 0.34
筋肉	0.66 ± 0.15	0.64 ± 0.13
骨	0.99 ± 0.20	0.86 ± 0.17
PC-3 PIP 腫瘍	78.4 ± 8.57	75.6 ± 22.0
PC-3 flu 腫瘍	2.82 ± 0.24	2.73 ± 0.84
腫瘍対血液	13.8 ± 2.38	14.5 ± 1.84
腫瘍対肝臓	50.5 ± 6.28	50.2 ± 7.38
腫瘍対腎臓	8.05 ± 1.77	9.87 ± 1.05

30

40

50

【表 2 . 3】

表 2.3: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-03 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h.p.i.	24 h.p.i.	48 h.p.i.	96 h.p.i.
血液	27.4 ± 3.04	24.3 ± 3.60	23.5 ± 0.74	17.3 ± 1.38	12.5 ± 3.78	7.37 ± 0.64
心臓	9.64 ± 1.21	8.54 ± 1.18	8.12 ± 0.46	6.60 ± 1.01	4.40 ± 1.18	3.15 ± 0.28
肺	16.6 ± 3.29	14.21 ± 3.49	12.21 ± 1.32	9.86 ± 0.57	7.45 ± 2.06	5.56 ± 0.54
脾臓	4.63 ± 0.56	4.76 ± 1.12	4.10 ± 0.14	3.75 ± 0.21	3.79 ± 0.89	3.23 ± 0.53
腎臓	17.8 ± 2.49	24.5 ± 4.38	28.8 ± 1.49	24.7 ± 1.85	22.6 ± 2.69	16.1 ± 1.69
胃	3.19 ± 0.95	2.86 ± 1.03	2.92 ± 0.17	1.39 ± 0.27	1.49 ± 0.48	0.91 ± .010
小腸	3.70 ± 0.73	3.71 ± 1.09	3.70 ± 0.40	2.19 ± 0.23	1.73 ± 0.50	1.21 ± 0.26
肝臓	5.81 ± 2.65	4.56 ± 1.18	4.87 ± 0.42	3.35 ± 0.26	2.53 ± 0.77	1.78 ± 0.03
唾液腺	5.60 ± 0.70	5.02 ± 1.17	5.49 ± 0.59	4.69 ± 0.33	3.45 ± 1.09	2.19 ± 0.1
筋肉	1.91 ± 0.16	2.04 ± 0.37	2.01 ± 0.10	1.61 ± 0.18	1.32 ± 0.41	0.91 ± 0.15
骨	2.82 ± 0.41	2.47 ± 0.39	2.71 ± 0.21	2.02 ± 0.31	1.63 ± 0.56	1.07 ± 0.27
PC-3 PIP 腫瘍	8.49 ± 0.62	19.9 ± 0.79	31.0 ± 5.79	53.8 ± 5.61	72.3 ± 24.7	75.7 ± 2.46
PC-3 flu 腫瘍	3.84 ± 1.10	5.32 ± 1.06	5.98 ± 0.91	5.47 ± 0.67	5.69 ± 3.65	3.52 ± 0.54
腫瘍対血液	0.31 ± 0.04	0.83 ± 0.10	1.32 ± 0.29	3.13 ± 0.35	5.94 ± 1.53	10.3 ± 0.57
腫瘍対肝臓	1.64 ± 0.61	4.60 ± 1.34	6.38 ± 1.28	16.1 ± 1.75	29.0 ± 5.26	42.6 ± 1.90
腫瘍対腎臓	0.48 ± 0.07	0.83 ± 0.14	1.07 ± 0.18	2.17 ± 0.06	3.17 ± 0.84	4.7 ± 0.38

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	6.02 ± 0.60	5.29 ± 0.18
心臓	2.55 ± 0.25	2.08 ± 0.14
肺	4.99 ± 1.00	4.17 ± 0.68
脾臓	2.94 ± 0.39	3.13 ± 0.90
腎臓	11.2 ± 3.82	7.35 ± 0.92
胃	0.73 ± 0.10	0.78 ± 0.07
小腸	0.88 ± 0.18	0.96 ± 0.03
肝臓	1.50 ± 0.14	1.25 ± 0.20
唾液腺	1.67 ± 0.27	1.55 ± 0.06
筋肉	0.54 ± 0.07	0.62 ± 0.04
骨	1.14 ± 0.23	0.83 ± 0.22
PC-3 PIP 腫瘍	68.9 ± 8.80	58.9 ± 12.4
PC-3 flu 腫瘍	2.77 ± 0.41	2.42 ± 0.23
腫瘍対血液	11.4 ± 0.47	11.1 ± 1.97
腫瘍対肝臓	46.0 ± 2.53	47.1 ± 2.44
腫瘍対腎臓	6.44 ± 1.27	7.97 ± 0.70

【0 3 3 4】

2 . 2 . 2 ^{177}Lu -PSMA-ALB-04 及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-05 の体内分布

^{177}Lu -PSMA-ALB-04 及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-05 の組織分布を 8 日間に亘って調べた (図 5 B)。

【0 3 3 5】

^{177}Lu -PSMA-ALB-04 を注射した動物の血液活性レベルは、初期の時点で非常に高く、最も高いレベルを維持した。高い PSMA^{pos} PC-3 PIP 腫瘍蓄積が観察され、試験終了に向けて僅かに減少した。PSMA^{neg} PC-3 flu 腫瘍及びその他の非標的臓器に蓄積された活性は明らかに血中レベルを下回っており、in vivo での高度な PSMA 特異的結合と取り込みを示す。

【0 3 3 6】

^{177}Lu -PSMA-ALB-05を注射した動物の血液プールの高レベルは急速に減少し、試験終了まで低レベルで安定した状態であった。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05を注射したマウスのPSMA^{pos} PC-3 PIP腫瘍では、放射能の取り込みが最大であることが観察され、その後、腫瘍組織からの安定したウォッシュアウトが続いた。PC-3 flu腫瘍及びその他の組織への取り込みは明らかに血中レベルを下回っており、*in vivo*でのPSMA特異的結合と取り込みを示す。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-04及び-05の体内分布データを、以下の表2.4及び表2.5に示す。

【表2.4】

表 2.4: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-04 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h.p.i.	24 h.p.i.	48 h.p.i.	96 h.p.i.
血液	46.7 ± 9.64	n/d	n/d	55.3 ± 3.10	38.2 ± 1.48	11.65 ± 1.22
心臓	16.4 ± 5.71	n/d	n/d	22.1 ± 3.70	13.6 ± 0.36	4.81 ± 0.29
肺	25.6 ± 4.59	n/d	n/d	40.1 ± 7.77	24.6 ± 2.02	9.96 ± 1.44
脾臓	11.0 ± 3.56	n/d	n/d	13.6 ± 1.90	14.0 ± 1.70	6.76 ± 0.59
腎臓	17.8 ± 4.49	n/d	n/d	41.5 ± 1.44	38.2 ± 4.10	15.3 ± 1.49
胃	4.01 ± 0.62	n/d	n/d	6.18 ± 0.95	5.04 ± 0.35	1.74 ± 0.11
小腸	6.22 ± 1.11	n/d	n/d	8.13 ± 1.31	7.27 ± 0.82	2.36 ± 0.17
肝臓	29.3 ± 9.10	n/d	n/d	17.6 ± 2.04	13.1 ± 0.67	4.67 ± 0.82
唾液腺	9.93 ± 2.33	n/d	n/d	12.5 ± 0.42	10.6 ± 0.42	4.08 ± 0.44
筋肉	1.96 ± 0.40	n/d	n/d	5.82 ± 1.62	4.62 ± 0.38	1.56 ± 0.56
骨	4.74 ± 1.31	n/d	n/d	8.88 ± 0.19	6.80 ± 0.67	2.54 ± 0.31
PC-3 PIP 腫瘍	9.56 ± 2.71	n/d	n/d	82.8 ± 6.84	93.2 ± 12.4	61.4 ± 7.68
PC-3 flu 腫瘍	3.46 ± 2.66	n/d	n/d	14.0 ± 0.60	12.6 ± 0.82	5.63 ± 0.37
腫瘍対血液	0.20 ± 0.02	n/d	n/d	1.50 ± 0.11	2.45 ± 0.41	5.29 ± 0.74
腫瘍対肝臓	0.33 ± 0.06	n/d	n/d	4.76 ± 0.67	7.16 ± 1.16	13.4 ± 2.88
腫瘍対腎臓	0.54 ± 0.09	n/d	n/d	2.00 ± 0.11	2.47 ± 0.50	4.03 ± 0.56

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	n/d	3.75 ± 1.49
心臓	n/d	1.73 ± 0.70
肺	n/d	4.10 ± 1.77
脾臓	n/d	5.22 ± 3.17
腎臓	n/d	8.82 ± 3.83
胃	n/d	0.56 ± 0.19
小腸	n/d	0.67 ± 0.15
肝臓	n/d	2.45 ± 0.81
唾液腺	n/d	1.96 ± 0.73
筋肉	n/d	0.71 ± 0.54
骨	n/d	1.17 ± 0.61
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	57.6 ± 17.3
PC-3 flu 腫瘍	n/d	3.31 ± 1.43
腫瘍対血液	n/d	15.8 ± 3.55
腫瘍対肝臓	n/d	23.9 ± 5.12
腫瘍対腎臓	n/d	6.91 ± 2.24

【表 2 . 5】

表 2.5: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-05 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h.p.i.	24 h.p.i.	48 h.p.i.	96 h.p.i.
血液	21.3 ± 6.06	10.2 ± 1.98	n/d	1.67 ± 0.29	1.66 ± 0.37	1.79 ± 0.57
心臓	7.56 ± 1.89	3.82 ± 0.63	n/d	0.65 ± 0.11	0.54 ± 0.15	0.70 ± 0.21
肺	15.0 ± 1.24	7.07 ± 1.44	n/d	1.80 ± 0.78	1.48 ± 0.62	1.36 ± 0.29
脾臓	5.78 ± 1.40	3.29 ± 0.74	n/d	1.13 ± 0.23	0.71 ± 0.23	0.64 ± 0.29
腎臓	59.3 ± 1.38	52.8 ± 7.17	n/d	23.9 ± 4.02	12.8 ± 2.62	6.89 ± 0.31
胃	2.04 ± 0.43	1.15 ± 0.17	n/d	0.28 ± 0.06	0.29 ± 0.08	0.24 ± 0.07
小腸	2.71 ± 0.40	1.33 ± 0.25	n/d	0.28 ± 0.05	0.28 ± 0.10	0.30 ± 0.11
肝臓	5.69 ± 1.59	2.96 ± 0.50	n/d	0.82 ± 0.35	0.56 ± 0.16	0.74 ± 0.14
唾液腺	6.17 ± 2.12	2.75 ± 0.72	n/d	0.49 ± 0.10	0.45 ± 0.10	0.46 ± 0.10
筋肉	2.36 ± 1.01	1.30 ± 0.23	n/d	0.19 ± 0.06	0.20 ± 0.08	0.15 ± 0.06
骨	3.03 ± 0.52	1.67 ± 0.27	n/d	0.31 ± 0.08	0.28 ± 0.05	0.28 ± 0.04
PC-3 PIP 腫瘍	46.9 ± 0.43	75.3 ± 15.3	n/d	79.4 ± 11.1	60.3 ± 10.7	45.0 ± 7.94
PC-3 flu 腫瘍	3.72 ± 0.83	2.10 ± 0.20	n/d	0.59 ± 0.10	0.57 ± 0.09	0.49 ± 0.11
腫瘍対血液	2.31 ± 0.58	7.43 ± 1.43	n/d	48.2 ± 7.04	36.7 ± 1.81	27.1 ± 10.0
腫瘍対肝臓	8.65 ± 2.21	25.6 ± 4.58	n/d	106 ± 28.6	110 ± 12.2	62.8 ± 18.8
腫瘍対腎臓	0.79 ± 0.02	1.42 ± 0.19	n/d	3.38 ± 0.58	4.72 ± 0.18	6.51 ± 0.98

10

20

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	1.75 ± 0.35	1.48 ± 0.13
心臓	0.65 ± 0.17	0.59 ± 0.05
肺	1.25 ± 0.18	1.22 ± 0.26
脾臓	0.56 ± 0.08	0.55 ± 0.10
腎臓	4.28 ± 0.26	2.70 ± 0.36
胃	0.23 ± 0.04	0.16 ± 0.04
小腸	0.27 ± 0.05	0.24 ± 0.04
肝臓	0.72 ± 0.13	0.84 ± 0.06
唾液腺	0.46 ± 0.09	0.37 ± 0.04
筋肉	0.17 ± 0.04	0.14 ± 0.01
骨	0.25 ± 0.05	0.26 ± 0.04
PC-3 PIP 腫瘍	33.9 ± 0.80	27.9 ± 3.24
PC-3 flu 腫瘍	0.52 ± 0.13	0.45 ± 0.06
腫瘍対血液	19.9 ± 3.88	19.0 ± 2.97
腫瘍対肝臓	47.9 ± 8.28	33.4 ± 1.64
腫瘍対腎臓	7.93 ± 0.30	10.4 ± 0.25

30

【0 3 3 7】

2 . 2 . 3 ^{177}Lu -PSMA-ALB-06、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-07、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-08 の体内分布

40

^{177}Lu -PSMA-ALB-06、-07、及び-08 の組織分布を、注射後 3 日間まで調べた (図 5 C)。

【0 3 3 8】

いずれの化合物の血中活性レベルも急速に低下し、試験全体を通して同等であった。最も高い PSMA pos PC-3 PIP 腫瘍の蓄積は、化合物 ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 で観察され、試験終了に向かって僅かに減少した。PSMA neg PC-3 flu 腫瘍及びその他の非標的臓器に蓄積された活性は、血中濃度を下回り、被験化合物のいずれについても、in vivo での PSMA 特異的結合及び取り込みが示された。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-06、-07、及び-08 の体内分布データを、以下の表

50

2 . 6、表 2 . 7、及び表 2 . 8 に示す。

【表 2 . 6】

表 2.6: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	72 h p.i.
血液	n/d	16.2 ± 1.40	n/d	1.49 ± 0.50	n/d	0.62 ± 0.06
心臓	n/d	5.41 ± 0.82	n/d	0.68 ± 0.18	n/d	0.26 ± 0.02
肺	n/d	9.40 ± 1.55	n/d	2.48 ± 2.68	n/d	0.67 ± 0.05
脾臓	n/d	3.14 ± 0.29	n/d	0.76 ± 0.18	n/d	0.53 ± 0.02
腎臓	n/d	18.9 ± 0.77	n/d	10.5 ± 2.13	n/d	5.58 ± 0.62
胃	n/d	1.89 ± 0.19	n/d	0.28 ± 0.07	n/d	0.13 ± 0.02
小腸	n/d	2.64 ± 0.27	n/d	0.30 ± 0.06	n/d	0.15 ± 0.00
肝臓	n/d	3.45 ± 1.50	n/d	0.50 ± 0.11	n/d	0.28 ± 0.02
唾液腺	n/d	3.26 ± 0.16	n/d	0.52 ± 0.11	n/d	0.24 ± 0.03
筋肉	n/d	1.60 ± 0.38	n/d	0.21 ± 0.04	n/d	0.07 ± 0.02
骨	n/d	2.23 ± 0.08	n/d	0.41 ± 0.15	n/d	0.18 ± 0.01
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	76.08 ± 7.67	n/d	108 ± 11.6	n/d	77.9 ± 7.52
PC-3 flu 腫瘍	n/d	3.16 ± 0.39	n/d	0.79 ± 0.23	n/d	0.43 ± 0.03
腫瘍対血液	n/d	4.72 ± 0.51	n/d	77.6 ± 21.8	n/d	127 ± 24.9
腫瘍対肝臓	n/d	24.29 ± 8.27	n/d	222 ± 49.5	n/d	277 ± 19.3
腫瘍対腎臓	n/d	4.02 ± 0.25	n/d	10.4 ± 1.16	n/d	14.1 ± 2.02

	96 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	n/d	n/d
心臓	n/d	n/d
肺	n/d	n/d
脾臓	n/d	n/d
腎臓	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
小腸	n/d	n/d
肝臓	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
筋肉	n/d	n/d
骨	n/d	n/d
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	n/d
PC-3 flu 腫瘍	n/d	n/d
腫瘍対血液	n/d	n/d
腫瘍対肝臓	n/d	n/d
腫瘍対腎臓	n/d	n/d

(n/d = 決定されず)

10

20

30

40

50

【表 2 . 7】

表 2.7: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-07 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h p.i.	24 h p.i.	72 h p.i.	96 h p.i.
血液	n/d	6.67 ± 2.04	n/d	0.79 ± 0.08	0.40 ± 0.06	n/d
心臓	n/d	2.43 ± 0.78	n/d	0.40 ± 0.00	0.21 ± 0.01	n/d
肺	n/d	4.67 ± 0.92	n/d	0.73 ± 0.06	0.43 ± 0.02	n/d
脾臓	n/d	3.41 ± 1.46	n/d	1.14 ± 0.04	0.49 ± 0.03	n/d
腎臓	n/d	67.0 ± 9.50	n/d	51.9 ± 6.34	26.0 ± 1.58	n/d
胃	n/d	1.09 ± 0.30	n/d	0.18 ± 0.06	0.10 ± 0.01	n/d
小腸	n/d	1.27 ± 0.45	n/d	0.20 ± 0.03	0.10 ± 0.01	n/d
肝臓	n/d	1.94 ± 1.02	n/d	0.52 ± 0.04	0.44 ± 0.08	n/d
唾液腺	n/d	2.09 ± 0.50	n/d	0.43 ± 0.04	0.21 ± 0.01	n/d
筋肉	n/d	0.78 ± 0.22	n/d	0.13 ± 0.01	0.08 ± 0.01	n/d
骨	n/d	1.30 ± 0.27	n/d	0.31 ± 0.10	0.31 ± 0.06	n/d
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	63.5 ± 27.4	n/d	84.6 ± 14.2	62.6 ± 6.35	n/d
PC-3 flu 腫瘍	n/d	1.80 ± 0.27	n/d	0.80 ± 0.17	0.43 ± 0.04	n/d
腫瘍対血液	n/d	9327 ± 1.75	n/d	107 ± 12.2	160 ± 37.0	n/d
腫瘍対肝臓	n/d	33.6 ± 6.56	n/d	162 ± 17.3	147 ± 38.4	n/d
腫瘍対腎臓	n/d	0.88 ± 0.28	n/d	1.64 ± 0.29	2.41 ± 0.18	n/d

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	n/d	n/d
心臓	n/d	n/d
肺	n/d	n/d
脾臓	n/d	n/d
腎臓	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
小腸	n/d	n/d
肝臓	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
筋肉	n/d	n/d
骨	n/d	n/d
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	n/d
PC-3 flu 腫瘍	n/d	n/d
腫瘍対血液	n/d	n/d
腫瘍対肝臓	n/d	n/d
腫瘍対腎臓	n/d	n/d

(n/d = 決定されず)

10

20

30

40

50

【表 2 . 8】

表 2.8: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{177}Lu -PSMA-ALB-08 の体内分布

	1 h.p.i.	4 h.p.i.	8 h p.i.	24 h p.i.	72 h p.i.	96 h p.i.
血液	n/d	0.41 ± 0.18	n/d	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.02	n/d
心臓	n/d	0.19 ± 0.07	n/d	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	n/d
肺	n/d	0.48 ± 0.21	n/d	0.09 ± 0.02	1.28 ± 2.02	n/d
脾臓	n/d	0.53 ± 0.10	n/d	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.05	n/d
腎臓	n/d	27.2 ± 5.93	n/d	13.9 ± 2.32	7.98 ± 0.62	n/d
胃	n/d	0.40 ± 0.25	n/d	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	n/d
小腸	n/d	0.20 ± 0.09	n/d	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	n/d
肝臓	n/d	0.27 ± 0.10	n/d	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.01	n/d
唾液腺	n/d	0.19 ± 0.06	n/d	0.07 ± 0.05	0.03 ± 0.02	n/d
筋肉	n/d	0.06 ± 0.03	n/d	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	n/d
骨	n/d	0.16 ± 0.03	n/d	0.07 ± 0.02	0.09 ± 0.05	n/d
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	46.9 ± 16.7	n/d	33.0 ± 5.04	24.1 ± 5.37	n/d
PC-3 flu 腫瘍	n/d	0.25 ± 0.19	n/d	0.09 ± 0.05	0.09 ± 0.07	n/d
腫瘍対血液	n/d	116 ± 9.46	n/d	421 ± 45.7	416 ± 89.5	n/d
腫瘍対肝臓	n/d	177 ± 2.72	n/d	295 ± 40.1	207 ± 47.1	n/d
腫瘍対腎臓	n/d	1.70 ± 0.22	n/d	2.39 ± 0.24	3.02 ± 0.68	n/d

	144 h.p.i.	192 h.p.i.
血液	n/d	n/d
心臓	n/d	n/d
肺	n/d	n/d
脾臓	n/d	n/d
腎臓	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
小腸	n/d	n/d
肝臓	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
筋肉	n/d	n/d
骨	n/d	n/d
PC-3 PIP 腫瘍	n/d	n/d
PC-3 flu 腫瘍	n/d	n/d
腫瘍対血液	n/d	n/d
腫瘍対肝臓	n/d	n/d
腫瘍対腎臓	n/d	n/d

(n/d = 決定されず)

【0339】

2.2.4 SPECT/CTイメージング試験

PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスの SPECT/CT 画像を、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-03 及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 の注入後の様々な時点で行った。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-03 及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 の正確な注入活性は、それぞれ 25 MBq 及び 23 MBq であった。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-03 及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 の好ましい *in vivo* 挙動を図 26 に示す。

【0340】

2.2.5 マウスモデルでの治療

コントロールマウス (群 A) は、経時で一定の腫瘍成長を示した。これは、低活性の ^{177}Lu -PSMA-617 で処理したマウス (群 B: 2 MBq / マウス) の腫瘍成長と

同等であった。したがって、群Bのマウスの腫瘍成長遅延指数 ($TGDI_2 = 0.8$ 、 $TGDI_5 = 1.4$ 、表2.9)は、 $TGDI$ を1と定義したコントロール動物の値と同様であった。最初のコントロールマウスが16日目にエンドポイントに達した一方で、群Bでは、12日目に既に1頭のマウスを安楽死させる必要があった(表2.9)。より高活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-617$ (群C: 5 MBq/マウス)又はより低活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ (群D: 2 MBq/マウス)を使用したときに、マウスは効果的に治療された。 $TGDI_2$ と $TGDI_5$ は、両群(群CとD)のマウスで類似しており、その結果、同じ時間範囲でマウスを安楽死させる必要があった(群C: 26日目~40日目、群D: 28日目~44日目、データは示さず)。より高活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ (群E: 5 MBq/マウス)で処理したマウスでは、腫瘍の成長が効果的に阻害された。群Eの4頭のマウスでは、腫瘍が完全に消失し、84日目の試験終了まで再成長が観察されなかった。

【表2.9】

表2.9: $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ 及び $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-617$ の腫瘍増殖阻害(TGI)及び腫瘍サイズのx倍増加を伴う腫瘍増殖遅延指数(TGDIx)

群	処理群	安楽死させた 第1のマウス群 [d]	メジアン 生存率 [d]	$TGDI_2$	$TGDI_5$
A	生理食塩水	16	18	1.0 ± 0.8	1.0 ± 0.1
B	$^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-617$	12	19	0.8 ± 0.3	1.4 ± 0.1
C	$^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-617$	26	32	2.1 ± 0.3	2.5 ± 0.3
D	$^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-56$	28	36	1.8 ± 0.5	2.3 ± 0.6
E	$^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-56$	58	n.d. ^a	n.d. ^a	n.d. ^a

^an.d. = 試験終了時点で、依然としてマウスが生存していたので定義されず

【0341】

より高活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-617$ 又はより低活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ を投与したマウスは、生存率のメジアンの有意な上昇を示した(群C: 32日目、群D: 36日目、表2.9、図27)。84日目の試験終了時に、より高活性の $^{177}\text{Lu}-\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ で処理された4頭のマウス(群E)は依然として生存していたので、この群の生存時間のメジアンは未定義とした。

【0342】

実施例3: PSMAリガンドの臨床評価

3.1: ケース1

治療用放射性核種であるルテチウム177で放射標識した化合物 $\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ は、広範な両葉肝転移、播種性骨芽細胞転移(骨盤領域)、及び多発性の膨大なリンパ節転移を伴う軽度に分化した前立腺癌患者の個々の治療試験の範囲で使用した。放射能標識化合物 $\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ の体内分布と生体内挙動の評価は、SPECT-CT測定によって行った。

【0343】

SPECT-CT視覚化を、注射(p.i.)後46時間までの様々な時点で行った。放射標識化合物 $\text{PSMA}-\text{ALB}-06$ は、血液循環の延長とバイオアベイラビリティの

向上を示した（図 7）。血液クリアランスは、最初の数時間以内に完了する一方で、健常な臓器（特に、肝臓、唾液腺、腎臓）の非特異的取り込みは、経時で中程度に留まる。SPECT-CTは、悪性組織における放射標識化合物の実質的な特異的取り込みを示す（図 8）。

【 0 3 4 4 】

これらの最初の非ヒトでの結果は、PSMA陽性腫瘍の治療の可能性を示す、化合物の薬物動態特性の改善に関する前臨床的所見を裏付ける。

【 0 3 4 5 】

3.2 ケース 2 :

ポジトロン放出放射性核種ガリウム 68 で放射標識された化合物 PSMA - ALB - 06 を、PET - CT の診断薬として、転移性去勢抵抗性前立腺癌患者の個々の治療試験で使

10

【 0 3 4 6 】

実施例 4 : PET イメージングのための ^{44}Sc と組み合わせた PSMA リガンドの試験

4.1 ^{44}Sc - PSMA - ALB の体内分布データ

^{44}Sc は、以前に報告されたように²、PSI のインジェクター 2 施設で製造した。PSMA - ALB - 06 の放射標識は、臨床的に確立された PSMA - 617 リガンドを使用して、本発明者らのグループが以前報告したように行った⁵。PSMA 陽性 PC - 3 PIP 腫瘍細胞（右肩部）と PSMA 陰性 PC - 3 flu 腫瘍（左肩部）を有する雌 Balb / c ノードマウスで体内分布試験を行った。この目的のために、放射性リガンドの注射の 12 ~ 14 日間前にマウスに腫瘍細胞を接種した。マウスを安楽死させ、注射後（p.i.）1 時間、4 時間、及び 6 時間で解剖した（図 10 A、表 4.1）。Cave : ^{44}Sc - PSMA - ALB - 06 を 6 時間に亘って調べ、データは、 ^{177}Lu - PSMA - ALB - 06 について 24 h p.i. の期間に亘って利用可能である（図 10 B）。

20

30

40

50

【表 4 . 1】

表 4.1: PC-3 PIP/flu 担腫瘍マウスにおける ^{44}Sc -PSMA-ALB-06 の体内分布データ

^{44}Sc -PSMA-ALB-06			
	1 h p.i.	4 h p.i.	6 h p.i.
血液	26.6 ± 2.82	18.4 ± 1.00	15.6 ± 0.75
心臓	8.91 ± 0.22	6.48 ± 0.50	5.17 ± 0.17
肺	14.8 ± 2.41	11.17 ± 0.66	9.44 ± 0.86
脾臓	4.86 ± 0.76	4.10 ± 0.54	3.67 ± 0.37
腎臓	32.9 ± 4.35	28.8 ± 2.46	21.7 ± 0.42
胃	2.68 ± 0.34	1.91 ± 0.16	1.98 ± 0.26
小腸	3.30 ± 0.59	2.50 ± 0.13	2.07 ± 0.34
肝臓	5.86 ± 0.67	3.51 ± 0.44	3.67 ± 0.68
筋肉	3.06 ± 0.34	2.24 ± 0.10	1.83 ± 0.07
骨	3.59 ± 0.91	2.50 ± 0.35	2.54 ± 0.27
唾液腺	5.83 ± 0.28	4.55 ± 0.41	4.03 ± 0.22
PC-3 PIP 腫瘍	25.3 ± 5.91	61.7 ± 7.32	72.9 ± 11.1
PC-3 flu 腫瘍	5.02 ± 1.23	4.37 ± 0.43	3.87 ± 0.45
腫瘍対血液	0.94 ± 0.11	3.35 ± 0.20	4.69 ± 0.67
腫瘍対肝臓	4.28 ± 0.52	17.93 ± 3.32	20.2 ± 3.43
腫瘍対腎臓	0.77 ± 0.12	2.14 ± 0.15	3.35 ± 0.42

【 0 3 4 7】

4 . 2 3 . ^{44}Sc -PSMA-ALB-06 を注射したマウスの PET / CT イメージング

PET / CT 実験を、小型動物 PET / CT カメラ (G 8、Perkin Elmer、US) を使用して、本発明者らのグループが以前報告したように行った⁵。画像は、5 MBq の ^{44}Sc -PSMA-ALB-06 の注射後 1 時間、4 時間、及び 20 時間に撮影した。図 1 1 は、同スケールで得たスキャンを示す。更なる画像を、臓器と組織ができるだけ見えるように調整したスケールで作成した。図 1 2 は、放射能が主に血中を循環しており、PSMA 陽性腫瘍に特異的に蓄積していない 1 時間後のスキャンを示す。

【 0 3 4 8】

図 1 3 は、スケールを調整した 20 h p . i . スキャンを示す。したがって、バックグラウンド活性が主に排出されている間、腫瘍をよく見えるようにすることが可能である。

【 0 3 4 9】

4 . 3 結論

PSMA-ALB-06 の標識化は、少なくとも 5 MBq / nmol の比活性にて ^{44}Sc で成功裏に行った。得られた体内分布試験と PET イメージング結果は、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-06 で以前に決定されたように、 ^{44}Sc -PSMA-ALB-06 の類似の特性を示す。 ^{44}Sc -PSMA-ALB-06 の高い腫瘍取り込みのため、この放射性リガンドは、バックグラウンド活性が排出された後期の時点 (> 4 h p . i .)

で、小さな病変でもイメージングするのに役立つツールであると考えられる。このアプローチの臨床的トランスレーションは最も有望であり、提案されたコンセプトの可能性を確認するための次のステップの1つとなろう。

【0350】

実施例5：NODAGA官能化アルブミン結合PSMAリガンドの設計及び前臨床評価

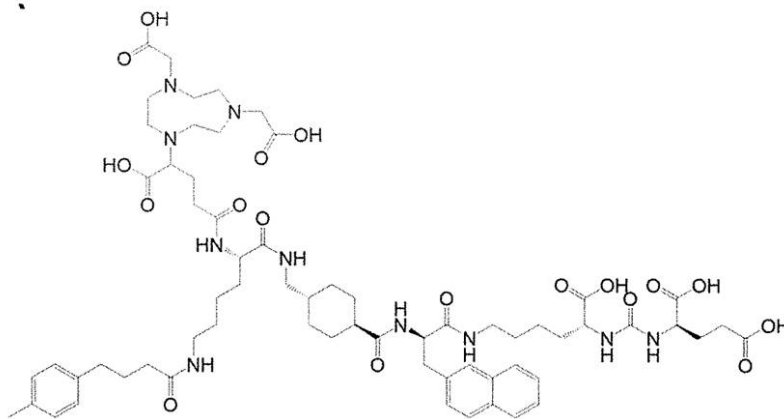
銅の安定した錯体形成に適した長期循環PSMA標的化剤を設計した。これは、延長された時点での前立腺癌のPETイメージングを可能にする。したがって、PSMA-ALB-06のDOTAキレーターに代えて、NODAGAキレーターを用いPSMA-ALB-89を得た。PSMA-ALB-89及びPSMA-ALB-06を ^{64}Cu で標識し、放射線分解安定性、血清アルブミンへの結合、及びPSMA陽性PC-3 PIP腫瘍細胞及びPSMA陰性PC-3 f1u腫瘍細胞への取り込みについて試験した。体内分布及びPET/CTイメージング試験を、PC-3 PIP/f1u担腫瘍マウスで行った。

10

【0351】

PSMA-ALB-89の構造式を以下に示す。

【化56】



20

【0352】

5.1 材料及び方法

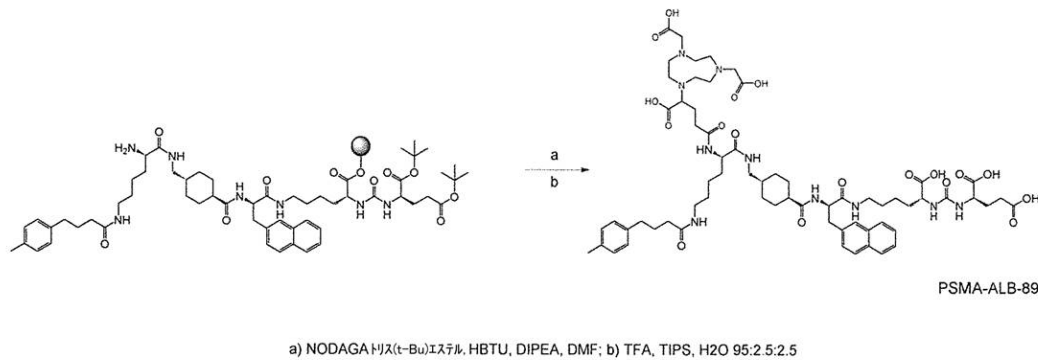
PSMAリガンドの固相合成。PSMA-ALB-89と呼ばれるNODAGA官能化PSMAリガンドを、PSMA-ALB-06について報告された固相プラットフォームを使用して合成した（実施例1を参照）。唯一の相違点は、合成の最終ステップでのキレーターのコンジュゲーションに関連した（スキーム5.1）。コンジュゲーションは、無水N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）中、4当量のN,N-ジイソプロピルエチルアミン（DIEA）の存在下で、2.97当量のO-（ベンゾトリアゾール-1-イル）-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（HBTU）で活性化した3当量のNODAGA-トリス（t-Bu）エステル[4-（4,7-ビス（2-（tert-ブトキシ）-2-オキソエチル）-1,4,7-トリアザシクロノナン-1-イル）-5（tert-ブトキシ）-5-オキソペンタン酸]で行った。NODAGAキレーターのカップリングは、穏やかに攪拌しながら3時間に亘って進行した。最終生成物を樹脂から切断し、続いて、95：2.5：2.5（v/v/v）の比のトリフルオロ酢酸（TFA）、トリイソプロピルシラン（TIPS）、及びH₂Oからなる混合物を使用して2時間以内脱保護した。

40

スキーム5.1：NODAGA官能化PSMAリガンドの合成

50

【化 5 7】



10

【 0 3 5 3 】

放射標識及び安定性。 ^{64}Cu を、PSIの研究用サイクロトロンインジェクター2施設で、 $^{64}\text{Ni}(p, n)^{64}\text{Cu}$ 核反応によって製造した²⁸。PSMA-ALB-89及びPSMA-ALB-06を、最大5.5%の酢酸ナトリウム(0.5M、pH8)を含むMilliQ水に溶解させ、1mMストック溶液を調製した。PSMAリガンドを、5~50MBq/nmolの比活性にて、pH5で酢酸ナトリウム(0.5M)とHCl(0.05M)の混合物中にて ^{64}Cu で標識した。反応混合物を95で15分間インキュベートした。RP-HPLCを使用して放射性リガンドの品質管理を行った。放射性リガンドは、更なる精製ステップを行うことなしに、*in vitro*及び*in vivo*実験に使用した。

20

【 0 3 5 4 】

^{64}Cu 標識PSMAリガンド(120μL中で250MBq; 50MBq/nmol)の品質管理を、RP-HPLCを使用して調製直後($t=0$ h)に決定した。反応混合物を生理食塩水で250MBq/500μLの活性濃度に希釈し、室温でインキュベートした。化合物の完全性を1日間に亘って調べた(それぞれ、 $t=1$ 時間、4時間、及び24時間)。インタクトな放射性リガンドの量は、未知の構造の分解生成物及び放出された微量の ^{64}Cu 全ての放射性ピークの合計(これを100%に設定した)に対するHPLCクロマトグラムの生成物ピークの積分によって定量化した。

30

【 0 3 5 5 】

n-オクタノール/PBS分配係数(LogD値)の決定。 ^{64}Cu 標識放射性リガンド(50MBq/nmol)の分配係数(LogD値)を、以前に報告したように、液液抽出とそれに続く相分離を使用する振とうフラスコ法で決定した。これらの実験を、放射性リガンドごとに5回繰り返した。データの統計的有意性($p<0.05$)は、対応のない t 検定(GraphPad Prismソフトウェア、バージョン7)を使用して評価した。

【 0 3 5 6 】

アルブミン結合特性の決定。放射性リガンドのヒト血漿タンパク質への結合は、限外ろ過アッセイにより決定した。 ^{64}Cu 標識PSMAリガンド(5~50MBq、0.01nmol)を、以前に報告した通り、ヒト血漿(Stiftung Blutspende SRK Aargau-Solothurn、スイス)の異なる希釈液又は対照実験としてのPBSで希釈した。3つの独立した実験を、両方の放射性リガンドを使用して二連で行い、データを半対数プロット(非線形回帰、1サイト、特異的結合)に適合させ、GraphPad Prismソフトウェア(バージョン7)で最大結合半量(half maximum binding)(B₅₀)を得た。

40

【 0 3 5 7 】

細胞の取り込みと内在化。PSMA陽性PC-3PIP細胞及びPSMA陰性PC-3fluc細胞を使用して、細胞取り込み(表面結合及び内在化画分の合計)及び放射性リガンドの内在化(5MBq/nmol)を決定した。

50

【0358】

*in vivo*試験。*in vivo*試験が、地元の獣医部門によって承認され、動物保護のスイス国法にしたがって行った。マウスはいずれも、Charles River Laboratories (ズルツフェルト、ドイツ) から5～6週齢で入手した。雌の無胸腺Balb/cヌードマウスの右肩部にPC-3 PIP細胞($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ を含む100 μL ハンクス平衡塩溶液(HBSS)中の 6×10^6 個の細胞)を、左肩部にPC-3 flu細胞($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ を含む100 μL のHBSS中の 5×10^6 個の細胞)を、実験開始の12～14日間前に皮下接種した。

【0359】

体内分布試験。0.05%BSAを含む生理食塩水で希釈した各放射性リガンド(5 MBq、1 nmol、100 μL)をマウスの外側尾静脈に注射した。マウスを注射後(p.i.)1時間、4時間、及び24時間に殺し、選択した組織及び臓器を回収し、重量を測定し、カウンターを使用して測定した。各時点で、4～6頭のマウスの群を使用した。結果を減衰補正し、組織質量1グラム当たりの注入された活性の割合(%IA/g)として記載した。データは、平均±標準偏差(SD)として提示した。Graph Pad Prismソフトウェア(バージョン7)を使用したBonferroniの多重比較ポストテストで一元ANOVAを使用して、データセットの有意性を分析した。 < 0.05 のp値は、統計的に有意とみなした。

【0360】

PET/CTイメージング試験。PET/CT実験を、放射性リガンド(5 MBq/1 nmol)の注射後1時間、4時間、及び24時間で行った。0.05%BSAを含む生理食塩水で希釈した各放射性リガンド(5 MBq、1 nmol、100 μL)をマウスの外側尾静脈に注射した。以前に報告されているように、小型動物のPET/CTスキャナー(G8、パーキンエルマー、マサチューセッツ、米国)を使用して、PET/CTスキャンを行った。PETスキャンを10分間継続させた後、1.5分間のCTスキャンを行った。*in vivo*スキャン中、マウスは、イソフルランと酸素の混合物で麻酔した。取得したデータの再構成は、G8スキャナーのプロバイダーのソフトウェアを使用して行った。画像はいずれも、VivoQuant後処理ソフトウェア(バージョン3.0、invivoCRO Imaging Services and Software、ボストン、米国)を使用して得た。画像は、腫瘍、肝臓、腎臓が最もよく見えるように、下側のスケールの2%を切って作成した。

【0361】

5.2 結果

PSMAリガンドの合成。PSMA-ALB-89を、PSMA-ALB-06の合成(実施例1)と同様に、固相支持体を使用して合成した。DOTAキレーターをコンジュゲートする代わりに、NODAGAキレーターを使用した(スキーム5.1)。このマルチステップ合成(17ステップ)により、セミ分取HPLC精製後に、8.7%の全体収率で高純度化合物($> 98\%$)を得た。

【0362】

^{64}Cu 標識PSMAリガンドの放射標識、安定性、及び*in vitro*特性。PSMA-ALB-89及びPSMA-ALB-06は、最大50 MBq/nmolの比活性にて ^{64}Cu で標識した。放射性リガンドは、高い放射化学的純度($> 98\%$)及び同様の保持時間(～11分間)を示した。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89及び ^{64}Cu -PSMA-ALB-06は、少なくとも4時間に亘って安定($> 92\%$)であった。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89のn-オクタノール/PBS分配係数(log D値)(-2.3 ± 0.7)は、 ^{64}Cu -PSMA-ALB-06のlog D値(-3.1 ± 0.1)よりも僅かに高かったが、有意ではなかった($p > 0.05$)。

【0363】

アルブミン結合特性。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89及び ^{64}Cu -PSMA-ALB-06は、ヒト血漿でインキュベートすると、血漿タンパク質に対して同様の結合($>$

92%)を示した。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の最大結合半量(B_{50})は、[HSA]対[放射性リガンド]比が454のときに到達した。これは、 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89と比較したときに、僅かに上昇した結合を示し、[HSA]対[放射性リガンド]比が770のときに最大結合半量に到達した(図14)。

【0364】

細胞取り込みと内在化。PC-3 PIP細胞への ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の細胞取り込みは~46%であり、内在化画分は、37で2時間のインキュベーション後に~14%であった。細胞内取り込みは、4時間のインキュベーション後に僅かに増加し(~52%)、内在化画分は変化しなかった(~14%)。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-06についても同様の値が決定された(図15A)。PC-3 flu細胞における取り込みは、両方の放射性リガンドで0.5%未満であり、PSMA特異的な細胞取り込みを示した(図15B)。

【0365】

体内分布試験。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の組織分布プロファイルを、担腫瘍マウスで24時間に亘って評価した(図16、表5.1)。血液プール活性の急速な減少が経時で観察された(24 h p.i.でそれぞれ<3.2%IA/g及び<1.4%IA/g)。PC-3 PIP腫瘍における ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の蓄積は、注射直後に既に高く(1 h p.i.で 25.9 ± 3.4 %IA/g)、試験終了に向かって上昇した(24 h p.i.で 97.1 ± 7.0 %IA/g)。PSMAを発現しないPC-3 flu腫瘍における放射能の蓄積は、概ね血中濃度を下回った。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の肝臓取り込みパターンは、血液活性レベル以下の範囲の放射能レベルであることが分かった(図17)。

【0366】

腫瘍対腎臓比は経時で増加したが、 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の注射後、値は、幾分低かった。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89の腫瘍対肝臓比は高かった。腫瘍対筋肉比は、24 h p.i.で 200 ± 38.2 まで経時で増加した。

【表5.1】

表 5.1: ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 及び ^{64}Cu -PSMA-ALB-06 の腫瘍対バックグラウンド比

^{64}Cu -PSMA-ALB-89			
	1 h p.i.	4 h p.i.	24 h p.i.
Tu対血液*	0.91 ± 0.02	3.61 ± 0.30	31.3 ± 3.82
Tu対筋肉	9.0 ± 1.13	36.3 ± 2.25	200 ± 38.2
Tu対腎臓	0.40 ± 0.02	0.70 ± 0.04	2.68 ± 0.36
Tu対肝臓	3.37 ± 0.31	13.3 ± 1.20	23.6 ± 3.37

*Tu 対臓器比においてはいずれも、Tu=PSMA-陽性 PC-3 PIP 腫瘍

【0367】

PET/CTイメージング試験。 ^{64}Cu 標識放射性リガンドの注射後の様々な時点で、PC-3 PIP/flu担腫瘍マウスで、PET/CTスキャンを24時間に亘って行った(図17)。 ^{64}Cu -PSMA-ALB-89は、PSMA陽性腫瘍異種移植片(PC-3 PIP腫瘍)にかなりの程度蓄積したが、PSMA陰性腫瘍(PC-3 flu腫瘍)では取り込みは観察されなかった。目視検査により、注射の16時間後、蓄積された放射性リガンドの腫瘍対腎臓比が明らかに1を超え、経時で更に増加したことが示された。血液中の放射能に起因する臓器及び組織のバックグラウンドシグナルは、1 h p

． i ． で撮影した画像で十分に見ることができた。

【 0 3 6 8 】

5 . 3 議論

ここでは、放射性リガンドの適用後 1 日間後でも P E T を可能とするために、 ^{64}Cu で標識化した長期循環 P S M A リガンドを合成した。P S M A - A L B - 8 9 は、P S M A - A L B - 0 6 について前述したように合成したが、D O T A キレーターを結合させることに代えて、他の標的剤について本発明者らのグループにおいて行ったように N O D A G A キレーターを使用した。

【 0 3 6 9 】

P S M A - A L B - 8 9 は、高い比活性と放射化学的純度 (50MBq/nmol ; $>95\%$) にて ^{64}Cu で再現可能に放射標識され、合成リガンドの高品質と、P S I にて内部で製造した ^{64}Cu の優れた放射化学的純度が示唆された。in vitro において、 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 及び ^{64}Cu - P S M A - A L B - 0 6 は、いずれも室温で数時間のインキュベーション後に安定であり、24 時間後に検出可能な分解は、ごく限定的であった。これらの結果は、N O D A G A 及び D O T A キレーターがいずれも、in vitro で ^{64}Cu と安定した錯体を形成していることを示唆する。

【 0 3 7 0 】

^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 のアルブミン結合特性は、in vitro で試験したときの ^{64}Cu - P S M A - A L B - 0 6 と同じ範囲であった。P S M A への結合特異性は、 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 及び ^{64}Cu - P S M A - A L B - 0 6 で in vitro で観察された類似の細胞結合及び内在化画分によって証明されるように、キレーターの相違に影響されなかった。

【 0 3 7 1 】

P S M A 陽性及び P S M A 陰性腫瘍を使用して、十分に確立された異種移植マウスモデルで得られた体内分布データは、 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 の腫瘍取り込みが、試験した全ての時点で、恐らく、より長い血液循環時間の結果として、有意に増加したことを示した。 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 の最大腫瘍取り込みは、試験終了時点 (24h p.i.) で初めて到達した。P E T / C T 画像は、肝臓での高い腫瘍取り込みと蓄積の減少に関して、 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 の好ましい組織分布プロファイルを裏付けた。前立腺癌は肝臓転移を引き起こす可能性があり、非特異的な放射能蓄積によって隠蔽され得るので、肝臓への取り込みが低いことが重要である。

【 0 3 7 2 】

5 . 4 結論

この実施例では、P E T イメージングのための ^{64}Cu の安定した配位を可能にするために、P S M A - A L B - 0 6 の D O T A キレーターに代えて、N O D A G A キレーターを用いた。 ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 は、in vivo での安定性向上を示し、これは、腫瘍蓄積の増加と ^{64}Cu - P S M A - A L B - 8 9 の肝臓保持の低下とによって明らかとされた。

【 0 3 7 3 】

実施例 6：更なる D O T A 官能化 P S M A 結合リガンドの設計及び評価

6 . 1 材料及び方法

アルブミン結合 P S M A リガンドの固相合成。それぞれ P S M A - A L B - 0 2、P S M A - A L B - 0 5、及び P S M A - A L B - 0 7 と呼ばれる P S M A リガンドを、固相プラットフォームを使用して設計、合成した。P S M A 標的ウレアベースファーマコフォア ($\text{L-Glu-NH-CO-NH-L-Lys}$) を、E d e r ら (2012) によって記載された方法と同様に、塩化 2 - クロロトリチル (2 - C T) 樹脂上で調製した。2 - ナフチル - L - A l a とトランス - シクロヘキシル部分からなるリンカー領域を、実施例 1 に記載したように合成した。そのような樹脂固定化及びビス (t - B u) 保護前駆体 ($\text{L-Glu-NH-CO-NH-L-Lys-2-Nal-L-Ala-NH}_2\text{-Me-1,4-トランス-CHX}$) (化合物 1 と呼ばれる) を、3 種類全てのアルブミン結合 P

SMAリガンドの合成の基礎として使用した(図18)。

【0374】

リジンベースのビルディングブロックのコンジュゲーション及びN - Fmoc保護基の選択的切断を含む合成の次のステップを、3種類全ての化合物に対して同様に行った。樹脂固定化及びビス(t-Bu)保護前駆体(0.3 mmol; 化合物(1))に対して、4当量のN - Fmoc-及びN - Alloc保護L-リジン(Fmoc-Lys(Alloc)-OH)を、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)中の4当量のN,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)の存在下で、3.96当量のO-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート(HBTU)で活性化させ、1時間攪拌した。続いて、N - Fmoc保護基の選択的除去を、DMFとピペリジンの1:1(v/v)混合物で行った。次に、得られた前駆体(2)を、各具体化合物固有の後続の合成に使用した。

10

【0375】

PSMA-ALB-02。PSMA-ALB-02の合成は、DMF中、4当量のDIPEAの存在下で、穏やかに攪拌しながら1時間に亘って、3.96当量のHBTUで活性化させた4当量の4-(p-ヨードフェニル)酪酸を使用して、アルブミン結合部分を樹脂固定化前駆体(0.1 mmol; 化合物(2))にカップリングさせることによって行った。その後、化合物(3)からのN - Alloc保護基の切断を、ジクロロメタン(DCM)中、30当量のモルホリンの存在下で、暗所にて2時間以下、0.03当量のテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(TPP-Pd)で行った。パラジウムの残留物を除去するために、DMF中の1%DIPEAで樹脂を更に洗浄し、その後、DMF中のジエチルジチオカルバミン酸ナトリウムの溶液(c = 15 mg/mL)で洗浄した。最後に、キレーターと樹脂固定化化合物のコンジュゲートを、DMF中の4当量のDIPEAの存在下で、1.98当量のHBTUで活性化させた2当量のDOTA-トリス(t-Bu)エステル[2-(4,7,10-トリス(2-(t-ブトキシ)-2-オキソエチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロ-ドデカン-1-イル)酢酸]で行った。DOTAキレーターのカップリングは、穏やかに攪拌しながら2時間に亘って進行した。得られた化合物(4)をDMF、DCMで洗浄し、最後にEt₂Oで洗浄した後、真空下で乾燥させた。生成物を樹脂から切断し、続いて、95:2.5:2.5(v/v)の比のトリフルオロ酢酸(TFA)、トリイソプロピルシラン(TIPS)、及びH₂Oからなる混合物を用いて2時間以下脱保護した。TFAを蒸発させ、粗化合物を1:1(v/v)の比のACNとH₂Oに溶解させ、セミ分取カラム(サポート情報)を使用して逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)で精製した。PSMA-ALB-02の特性評価は、それぞれ分析RP-HPLC(サポート情報)とマトリックス支援レーザー脱離/イオン化質量分析(MALDI-MS)又はエレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)によって行った。上で概説した合成をスキーム6.1にまとめる。

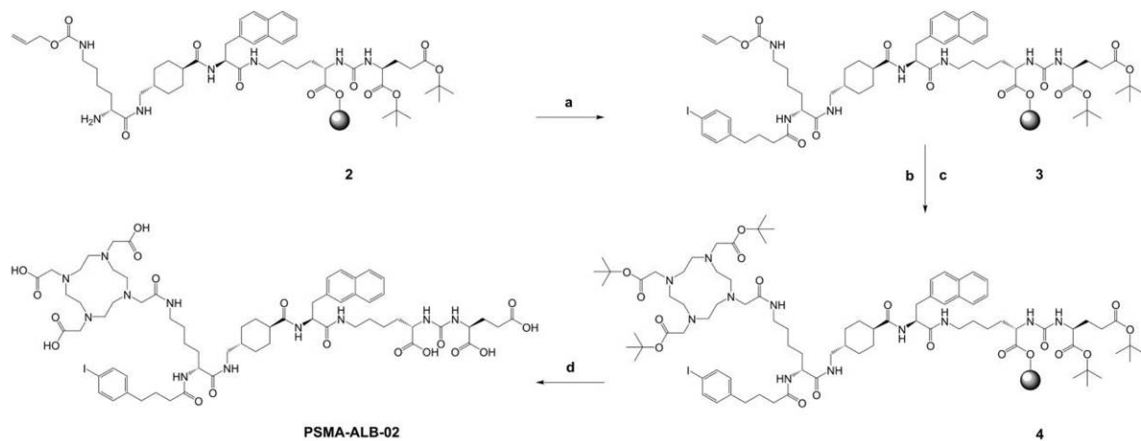
20

30

40

50

【化 5 8】

スキーム 6.1: PSMA-ALB-02 の PSMA 前駆体, アルブミン結合部分, DOTA キレーター のコンジュゲーション^a

^a(a) 4-(p-ヨードフェニル)酪酸, HBTU, DIPEA, DMF; (b) TTP Pd(0), モルホリン, DCM; (c) DOTA トリス(t-Bu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; (d) TFA, TIPS, H₂O 95:2.5:2.5

【 0 3 7 6】

PSMA-ALB-05 及び PSMA-ALB-07。PSMA-ALB-05 の合成は、DMF 中、4 当量の DIPEA の存在下で、穏やかに撹拌しながら 1 時間に亘って、2.97 当量の HBTU で活性化させた 3 当量の N-Fmoc-及び O-t-Bu 保護 D アスパラギン酸 (Fmoc-D-Asp-Ot-Bu) を使用して、D アスパラギン酸ベースのビルディングブロックを樹脂固定化前駆体 (0.1 mmol; 化合物 (2)) にカップリングすることによって行った。得られた化合物からの N-Fmoc 保護基の選択的除去は、前記したように行った。1 回の更なる Fmoc-D-Asp-Ot-Bu の類似のカップリング及びその後の N-Fmoc 切断を繰り返して、化合物 (5) を生成した。次のステップで、4 当量の 4-(p-ヨードフェニル)酪酸を、DMF 中の 4 当量の DIPEA の存在下で 3.96 当量の HBTU で活性化させ、1 時間撹拌した。生成物 (6) からの N-Allo 保護基の選択的除去は、前記したように行った。キレーターの樹脂固定化化合物へのコンジュゲーションは、DMF 中の 4 当量 DIPEA の存在下で、穏やかに撹拌しながら 2 時間に亘って、1.98 当量の HBTU で活性化させた 2 当量の DOTA-トリス(t-Bu)エステルで行った。得られた化合物 (7) を、DMF、DCM で洗浄し、最後に Et₂O で洗浄した後、真空下で乾燥させた。生成物を樹脂から切断し、続いて、95:2.5:2.5 (v/v) の比の TFA、TIPS、及び H₂O の混合物を使用して 2 時間以下脱保護した。TFA を蒸発させ、粗化合物を、1:1 (v/v) の比の ACN と H₂O に溶解させ、RP-HPLC (サポート情報) で精製した。PSMA-ALB-05 の特性評価は、それぞれ分析 RP-HPLC (サポート情報) 及び MALDI-MS 又は ESI-MS によって行った。

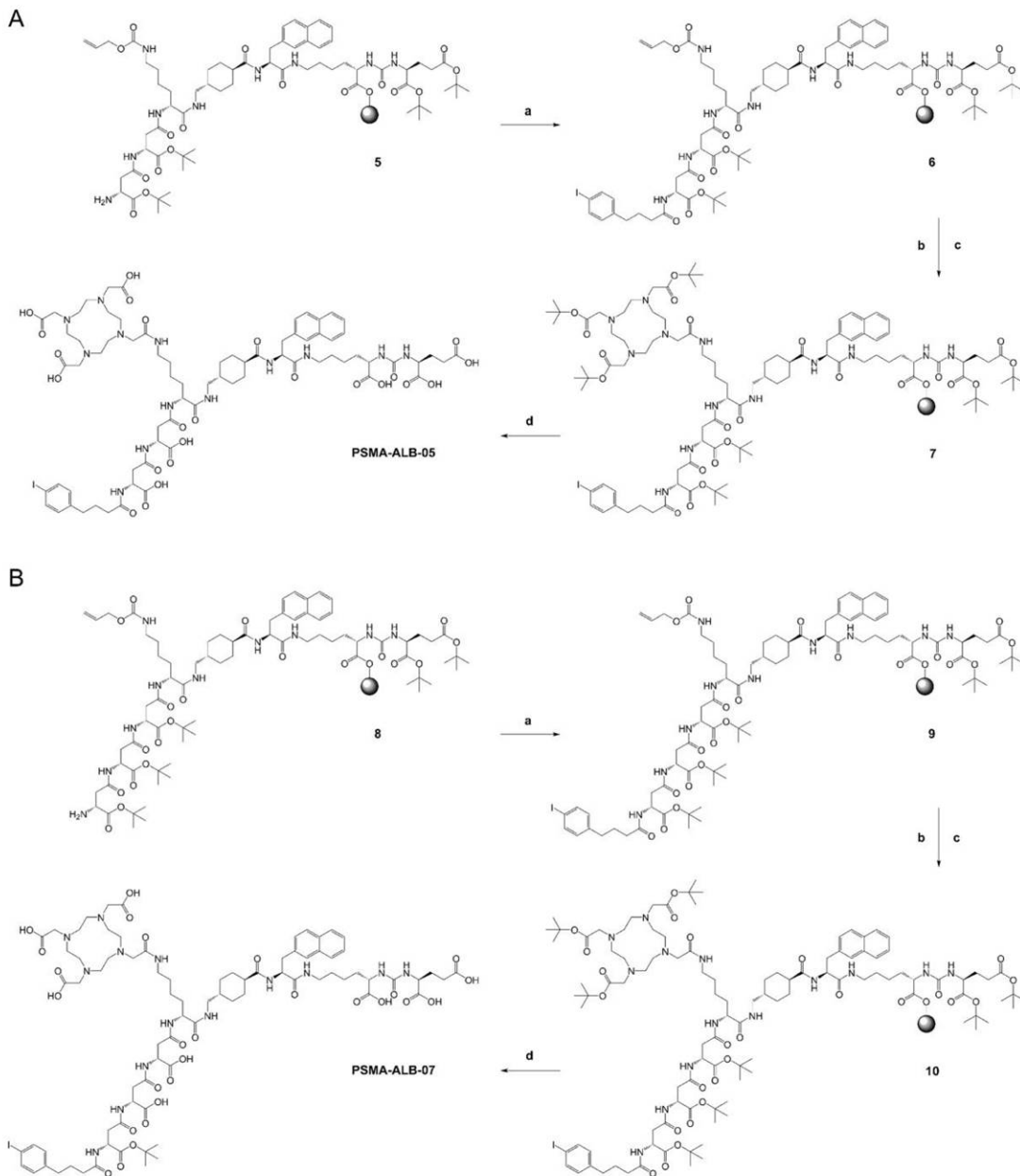
【 0 3 7 7】

PSMA-ALB-07 の合成及び精製は、第 3 の Fmoc-D-Asp-Ot-Bu の更なるカップリング及びその後の N-Fmoc の切断により、PSMA-ALB-05 と同様に行った (8)。次のステップは、4-(p-ヨードフェニル)酪酸のコンジュゲーション (9) と、それに続く N-Allo 保護基の選択的除去と DOTA-トリス(t-Bu)エステルのコンジュゲーション (10) を含んだ。樹脂からの切断後、化合物を脱保護し、PSMA-ALB-05 (サポート情報) に記載されているように精製/特性評価した。PSMA-ALB-05 及び PSMA-ALB-07 の合成をスキーム 2 にまとめる。凍結乾燥粉末の形態の各 PSMA リガンドの安定性は、冷凍庫 (-18) での長期保存 (それぞれ 2 ヶ月間及び 4 ヶ月間) 後、分析 RP-HPLC 及び MALD

I - M S を用いて試験した。

【化 5 9】

スキーム 6.2: (A) PSMA-ALB-05 及び (B) PSMA-ALB-07 の PSMA 前駆体、アルブミン結合部分、DOTA キレーター
のコンジュゲーション^a



^a(a) 4-(p-ヨードフェニル)酪酸, HBTU, DIPEA, DMF; (b) TTP Pd(0), モルホリン, DCM; (c) DOTA トリス(t-Bu)エステル, HBTU, DIPEA, DMF; (d) TFA, TIPS, H₂O 95:2.5:2.5

【 0 3 7 8】

放射標識と安定性。新たな PSMA リガンド (それぞれ PSMA - ALB - 02、PSMA - ALB - 05、及び PSMA - ALB - 07) と PSMA - 617 (Advanced Biochemical Compounds、ABX GmbH、Radeberg、ドイツ) を、10 ~ 15 % 酢酸ナトリウム溶液 (0.5 M、pH 8) を含む Milli Q 水に溶解させ、放射標識用の 1 mM ストック溶液を調製した。PSMA リガンドを、pH 4 にて、5 ~ 50 MBq / nmol の比活性で酢酸ナトリウム (0.5 M、pH 8) と HCl (0.05 M) の混合物中、¹⁷⁷Lu (0.04 M HCl 中の担体無添加 ¹⁷⁷LuCl₃、Isotope Technologies Garching (ITG

G m b H、ドイツ)より提供)で標識した。反応混合物を95℃で10分間インキュベートした。放射性リガンドの品質管理は、RP-HPLC(サポート情報)を使用して行った。放射性リガンド溶液は、更なる精製ステップなしで、*in vitro*及び*in vivo*実験に使用した。

【0379】

放射性リガンドの安定性は、RP-HPLCを使用して経時で決定した。PSMAリガンドは、L-アスコルビン酸(0.5M、3mg)の添加あり及び添加なしで、50MBq/nmolの比活性にて ^{177}Lu (250MBq)で放射標識し、その後、生理食塩水で250MBq/500μLの活性濃度に希釈した。リガンドの放射標識効率は、調製直後($t=0\text{h}$)に決定し、室温で様々な期間(それぞれ $t=1$ 時間、4時間、及び24時間)のインキュベーションの後に、化合物の完全性を調べた。インタクトな化合物の量は、未知の構造の分解生成物及び微量の遊離 ^{177}Lu 全ての放射性ピークの合計(これを100%に設定した)に対するHPLCクロマトグラムの生成物ピークの積分によって定量化した。

【0380】

n-オクタノール/PBS分配係数(LogD値)の決定。 ^{177}Lu 標識放射性リガンドの分配係数(LogD値)は、以前に報告されたように、液液抽出とそれに続く相分離を使用する振とうフラスコ法によって決定した。簡単に説明すると、PSMAリガンドを、50MBq/nmolの比活性にて ^{177}Lu で放射標識した。放射性リガンドのサンプルをリン酸緩衝生理食塩水(PBS)及びn-オクタノールと混合した後、激しくボルテックスした。相分離のための遠心分離後、各層の活性濃度をカウンター(Perkin Elmer、Wallac Wizard 1480)で測定した。3つの実験を、各化合物について5回繰り返して行った。

【0381】

フィルターアッセイ。マウス及びヒト血漿タンパク質への放射性リガンドの結合能力は、以前に記載したように(実施例1)、限外ろ過アッセイにより決定した。 ^{177}Lu 標識PSMAリガンド(50MBq/nmol)を、それぞれマウス血漿(ロックランド、米国)及びヒト血漿(Stiftung Blutspende SRK Aargau-Solothurn、スイス)で希釈し、室温で15分間インキュベートした。更に、対照実験として放射性リガンドをPBS(タンパク質を含まない緩衝溶液)で希釈した。溶液のアリコートに限外ろ過装置に充填し、遠心分離した。濾過後の活性を、カウンターで測定し、血漿タンパク質結合活性(フィルター膜に保持されている)を総付加活性の割合として計算するために使用した。3つの独立した実験を、各放射性リガンドを用いて2連で行った(それぞれ ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-07)。2つの更なる実験を、 ^{177}Lu -PSMA-617を用いて2連で行った。GraphPad Prismソフトウェア、バージョン7を使用して、統計分析(Bonferroniの多重比較ポストテストによる一元ANOVA)を行った。 <0.05 のp値を、統計的に有意であるとみなした。

【0382】

細胞取り込みと内在化。細胞表面上のPSMA結合画分と内在化画分(細胞取り込みと呼ぶ)の合計及び放射性リガンドの内在化画分を、以前に記載したように(実施例1)、PSMA陽性PC-3PIP細胞とPSMA陰性PC-3flu細胞を用いて、5MBq/nmolの比活性で決定した。放射標識溶液は、0.05%(w/v)ウシ血清アルブミン(BSA)を含む生理食塩水で希釈して、実験室バイアル及びチューブへの付着を防止した。放射性リガンド溶液を細胞培養培地で更に希釈し、最終BSA濃度(0.00125%)とし、これは、放射性リガンドの細胞取り込みと内在化に関して無視できる程度であり、何ら影響を及ぼさなかった。新規放射性リガンドを用いた各実験と並行して、 ^{177}Lu -PSMA-617を用いた対照実験も行った。実験は3連で行い、各放射性リガンドについて3回繰り返した。

【0383】

10

20

30

40

50

*in vivo*試験。*in vivo*実験を行った。5～6週齢の雌の無胸腺Balb/cヌードマウス(Charles River Laboratories、ズルツフェルト、ドイツ)をこれらの試験に用いた。マウスの右肩部にPC-3 PIP細胞(Ca^{2+} / Mg^{2+} を含む100 μL ハンクス平衡塩溶液(HBSS)中の 6×10^6 個の細胞)を、左肩部にPC-3 flu細胞(100 μL のHBSS中の 5×10^6 個の細胞)を、実験開始の12～14日間前に皮下接種した。

【0384】

体内分布試験。体内分布実験は、5 MBq/nmolの比活性で標識された放射性リガンドの注射後、1時間、4時間、24時間、48時間、96時間、及び192時間で行った。放射性リガンド注入時の腫瘍質量は、 $150 \pm 40 \text{ mg}$ であり、これは約150 mm³の平均腫瘍体積に相当する。マウスの外側尾静脈に、生理食塩水で希釈したそれぞれの放射性リガンド(5 MBq、1 nmol、100 μL)を注射した。バイアル及びシリンジへの放射性リガンドの吸着を防ぐために、BSA(0.05%)を生理食塩水に添加した。注射後(p.i.)の様々な時点でマウスを殺し、選択した組織及び臓器を回収し、重量を測定し、カウンターを使用して測定した。各時点で3～6頭のマウスの群を使用した。更に、生理食塩水で希釈した2-(ホスホノメチル)-ペンタン二酸(2-PMPA、500 nmol、100 μL)の注射によりブロッキング試験を行った。2-PMPA溶液を¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-02の投与の15分前に注射し、マウスをそれぞれ1 h p.i.と4 h p.i.で殺した。結果を減衰補正し、組織質量1グラム当たりの注入された活性の割合(%IA/g)として記載した。GraphPad Prismソフトウェア、バージョン7を使用して、腫瘍、腎臓、及び血液の生体分布データから取得した非崩壊補正データから、3種類全てのアルブミン結合PSMAリガンド及び¹⁷⁷Lu-PSMA-617について曲線下面積(AUC)を決定した。

【0385】

GraphPad Prismソフトウェア(バージョン7)を使用したBonferroniの多重比較ポストテストで一元ANOVAを使用して、体内分布データセットから取得した曲線下面積(AUC)を比較する統計分析を行った。 < 0.05 のp値を統計的に有意とみなした。

【0386】

SPECT/CTイメージング試験。SPECT/CT実験を、放射性リガンドの注入後4時間、24時間、及び72時間に行った。マウスの外側尾静脈に、0.05%BSAを含む生理食塩水で希釈したそれぞれの放射性リガンド(25 MBq、1 nmol、100 μL)を注射した。更に、PSMAをブロックするために放射性リガンド注入の15分間前に非放射性PSMA-ALB-02(100 nmol、100 μL)又は2-PMPA(500 nmol、100 μL)を投与したマウスに¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-02を注射し、その後1時間、4時間、及び24時間でSPECT/CTスキャンを行った。SPECT/CTスキャンは、小型動物SPECT/CTスキャナー(NanoSPECT/CTTM、Mediso Medical Imaging Systems、ブダペスト、ハンガリー)を使用して行った。SPECTスキャンを45分間継続させ、7.5分間のCTスキャンを行った。*in vivo*スキャン中、マウスを、イソフルランと酸素の混合物で麻酔した。取得したデータの再構成は、NanoSPECT/CTTMのソフトウェアを使用して行った。画像はいずれも、VivoQuant後処理ソフトウェア(バージョン3.0、invivoCRO Imaging Services and Software、ボストン、米国)を使用して作成した。ガウスポスト再構成フィルター(FWHM=1 mm)をSPECT画像に適用し、放射能のスケールを、画像に示されるように設定した(最小値=0.95 Bq/ボクセル～最大値=95 Bq/ボクセル)。

【0387】

6.2 結果

PSMAリガンドの合成。アルブミン結合部分を有するPSMAリガンドは、標準的なFmoc(9-フルオレニルメチルオキシカルボニル)プロトコルを使用した固相プラッ

トフォームを介して合成した（図 19）。合成は、最初のアミノ酸の C 末端から 2 - C T 樹脂への固定化から始め、C N 方向に組み立てた。最後のステップとして、化合物を樹脂から切断した後、完全に脱保護した。これらはいずれも酸性条件下で行った。この PSMA-ALB-02（17 ステップ）、PSMA-ALB-05（20 ステップ）、及び PSMA-ALB-07（22 ステップ）のマルステップ合成により、セミ分取 HPLC 精製後に 12.9 ~ 21.2 % の総収率で高純度（> 98 %）の化合物を得た（表 6.1）。3 種類全て PSMA リガンドを、凍結乾燥粉末として - 18 で少なくとも 4 ヶ月間安定であることが分かった。

【表 6.1】

表 6.1: PSMA-ALB-02, PSMA-ALB-05, 及び PSMA-ALB-07 の分析データ

化合物コード	化学式	MW [g/mol]	m/z ^a	t _r ^b [min]	化学純度 [%]	logD
PSMA-ALB-02	C ₆₅ H ₉₂ IN ₁₁ O ₁₈	1442.41	1443.53	6.2	99.5	-2.8 ± 0.09
PSMA-ALB-05	C ₇₃ H ₁₀₂ IN ₁₃ O ₂₄	1672.59	1673.41	6.1	99.2	-3.5 ± 0.08
PSMA-ALB-07	C ₇₇ H ₁₀₇ IN ₁₄ O ₂₇	1787.68	1788.63	5.9	98.5	-3.9 ± 0.25
PSMA-617	C ₄₉ H ₇₁ N ₉ O ₁₆	1042.15	1043.32	4.8	98.4 ^c	-4.4 ± 0.15

^a[M+H]⁺として検出した非標識リガンドの質量分析。^b分析 RP-HPLC での非標識リガンドの保持時間。分析カラム(100 × 4.6mm)は、Chromolith RP-18e 固定相を用い、移動相は、水(A)及び ACN(B)中の 0.1%TFA からなる。分析では、1mL/分の流量で、溶媒 B 中の溶媒 A (10 分間 90-10%)の線形勾配を用いた。^cPSMA-617 の純度は、この化合物の ABX GmbH 社の証明書から取得した。

^{177}Lu -PSMAリガンドの放射標識、安定性、及び*in vitro*特性。PSMA-ALB-02、PSMA-ALB-05、及びPSMA-ALB-07は、最大50 MBq/nmolの比活性にて ^{177}Lu で容易に標識された。放射性リガンドは、>98%の高い放射化学的純度を示した。L-アスコルビン酸の添加により、24時間後に~97%のインタクトな ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、~96%のインタクトな ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び~89%のインタクトな ^{177}Lu -PSMA-ALB-07が得られた(図20B)。 ^{177}Lu -PSMA-617は安定性が低く、4時間後に~86%のインタクトな化合物が得られたが、24時間後に完全な分解(<2%のインタクトな化合物)が観察された(図20A)。L-アスコルビン酸の存在が放射線分解を完全に防ぎ、24時間後でも98%を超えるインタクトな ^{177}Lu -PSMA-617をもたらした(図20B)。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02の*n*-オクタノール/PBS分配係数(log D値)(-2.8 ± 0.09)が最高であった。 ^{177}Lu -PSMA-617の場合に、最も低いlog D値が得られた(-4.4 ± 0.15)。

【0389】

細胞取り込み及びアルブミンへの結合の*in vitro*試験。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-07のPC-3PIP細胞への取り込みは52~57%の範囲であったが、37°Cで2時間のインキュベーション後の内在化画分は18~24%であった(図21A)。4時間のインキュベーション後、細胞取り込みと内在化は、それぞれ60~63%と20~26%に僅かに増加した。 ^{177}Lu -PSMA-617は、細胞取り込みについて同様の値(58%)を示したが、4時間のインキュベーション後、放射性リガンドの内在化は僅か12%であった。PC-3flu細胞における取り込みは、全てのアルブミン結合放射性リガンド及び ^{177}Lu -PSMA-617の場合で0.5%未満であった(図21B)。

【0390】

限外ろ過アッセイの結果は、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-07の有意な血漿タンパク質結合能を示し、マウス血漿とインキュベートした場合、それぞれ $87 \pm 1.0\%$ 、 $77 \pm 2.1\%$ 、及び $64 \pm 2.1\%$ であり、ヒト血漿では、それぞれ $95 \pm 1.2\%$ 、 $95 \pm 0.6\%$ 、及び $95 \pm 0.1\%$ であった。これらの値は、 ^{177}Lu -PSMA-617の場合よりも有意に高く($p < 0.05$)、マウス血漿タンパク質への非常に低い結合($9.3 \pm 1.1\%$)を示し、ヒト血漿タンパク質への結合($57 \pm 2.3\%$)を示した。PBSで行った対照実験では、恐らくフィルターデバイスへの非特異的吸着により、フィルター上の放射性リガンドの保持が5%未満であることが分かった(データは示さず)。

【0391】

体内分布試験。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-05、及び ^{177}Lu -PSMA-ALB-07の組織分布は、それぞれ右肩部と左肩部にPC-3PIP腫瘍及びPC-3flu腫瘍を有するマウスで192時間に亘って評価した(図22)。

【0392】

いずれのPSMA放射性リガンドのPC-3PIP腫瘍への取り込みも、同様の動態プロファイルを示した。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02は、4h p.i.で既に $78.4 \pm 12.8\% \text{ IA/g}$ に達した速い腫瘍蓄積を示し、このレベルで24h p.i.を超維持された($76.4 \pm 2.49\% \text{ IA/g}$)。いずれの新規化合物も、特に ^{177}Lu -PSMA-ALB-02で高い血液活性レベル($18 \sim 21\% \text{ IA/g}$)、血液からの放射能の速いクリアランス、及び速い腎クリアランスを示した。 ^{177}Lu -PSMA-617は、4h p.i.で既に最大腫瘍取り込み量が $\sim 56\% \text{ IA/g}$ に達し、これは192時間後に $\sim 20\% \text{ IA/g}$ に減少した。これは、血液から迅速に除去され、1時間後に<1% IA/gとなり、腎臓からの着実なウォッシュアウトを示し、1h p.i.の $\sim 10\% \text{ IA/g}$ から24h p.i.に<1% IA/gになった。他のいずれの組織の放射能レベル

も血中レベルを下回り、経時で持続的に減少した。

【 0 3 9 3 】

腫瘍対血液、腫瘍対腎臓、及び腫瘍対肝臓の比は、いずれの新規化合物においても、特に¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-02で高かった。早い腎クリアランスのため、¹⁷⁷Lu-PSMA-617は腫瘍対バックグラウンド比の増加を示した。

【表 6 . 2】

表 6.2: 注射後 24 及び 48 時間での腫瘍対バックグラウンド比

	¹⁷⁷ Lu-PSMA-ALB-02		¹⁷⁷ Lu-PSMA-ALB-05		¹⁷⁷ Lu-PSMA-ALB-07		¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	
	24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.
腫瘍対血液	176 ± 27	191 ± 37	48 ± 6.4	38 ± 2.5	107 ± 10	154 ± 7	2730 ± 195	3776 ± 585
腫瘍対腎臓	7.2 ± 0.3	8.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	5.0 ± 0.7	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.1	49 ± 3.7	81 ± 11
腫瘍対肝臓	164 ± 20	163 ± 32	106 ± 26	100 ± 32	162 ± 14	131 ± 13	528 ± 51	710 ± 97

【 0 3 9 4 】

PSMAをブロックするために、¹⁷⁷Lu-PSMA-ALB-02を注射する前に2-PMPAを投与することにより更なる試験を行った。PC-3 PIP腫瘍では、1 h p.i. 及び 4 h p.i. でのそれぞれの取り込みが、同じ時点でのブロックされてい

い取り込みと比較したときに、64% ($17.6 \pm 3.24\% \text{ IA/g}$) 及び41% ($6.0 \pm 7.29\% \text{ IA/g}$) 減少した。腎臓に蓄積された放射能は、放射性リガンド注入後1時間と4時間でそれぞれ81%と59%減少した。他のいずれの臓器及び組織においても、顕著ではないが僅かな放射能蓄積の減少が観察された(データは示さず)。

【0395】

体内分布試験の非減衰補正データを使用して、血液プール、腫瘍、腎臓、肝臓における放射性リガンドの蓄積の曲線下面積(AUC)を計算した(図23、表6.3)。

【表6.3】

表 6.3: ^{177}Lu -PSMA-ALB-02, -05, 及び-07 の非崩壊補正時間依存体内分布データに基づく曲線下面積(AUC),及び AUC の比

	^{177}Lu -PSMA- ALB-02	^{177}Lu -PSMA- ALB-05	^{177}Lu -PSMA- ALB-07	^{177}Lu -PSMA- 617
AUC [% IA/g·h]				
PC-3 PIP 腫瘍	6688 ± 485	6741 ± 421	7007 ± 459	3691 ± 156
血液	145 ± 6.3	387 ± 32	180 ± 7.2	52 ± 1.5
腎臓	1130 ± 62	1837 ± 112	3395 ± 201	99 ± 11
肝臓	57 ± 5.3	131 ± 11	72 ± 3.6	6.2 ± 1.6
AUCの比				
AUC _{Tu} 対-AUC _{Bl}	46	17	39	71
AUC _{Tu} 対-AUC _{Ki}	5.9	3.7	2.1	37
AUC _{Tu} 対-AUC _{Li}	117	52	97	592

【0396】

いずれの新規放射性リガンドも、PC-3 PIP 腫瘍取り込みについて同等のAUCを示し、これは、 ^{177}Lu -PSMA-617で得られたAUC ($p < 0.05$) のほぼ2倍であった。いずれの放射性リガンドも、AUCの高い腫瘍対血液、腫瘍対腎臓、及び腫瘍対肝臓比を示した。AUCの高い腫瘍対バックグラウンド値が ^{177}Lu -PSMA-617で得られたが、これは、この放射性リガンドの速い血液及び腎臓クリアランスによるものである(表6.2)。

【0397】

SPECT/CTイメージング試験。SPECT/CTスキャンは、新たな放射性リガンド及び ^{177}Lu -PSMA-617の注入後4時間、24時間、及び72時間でPC-3 PIP腫瘍異種移植片におけるアルブミン結合放射性リガンドの蓄積はいずれも、24 h p.i. で類似していた。腎取り込みは、特に ^{177}Lu -PSMA-ALB-02では低かった。 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02で得られた時間依存性SPECT/CT画像は、経時で腫瘍対バックグラウンドコントラストの上昇を示した。 ^{177}Lu -PSMA-617と比較して、 ^{177}Lu -PSMA-ALB-02の腫瘍内取り込みは、試験期間全体で有意に上昇し、腎臓への蓄積についても同様であった(図25)。PSMA陰性のPC-3 f1u腫瘍では、活性の蓄積は検出されなかった。

10

20

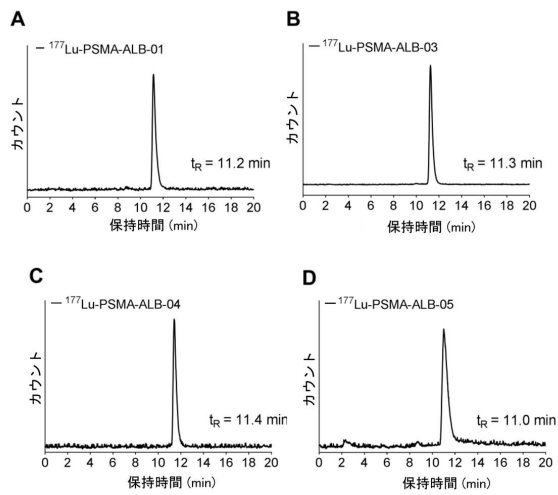
30

40

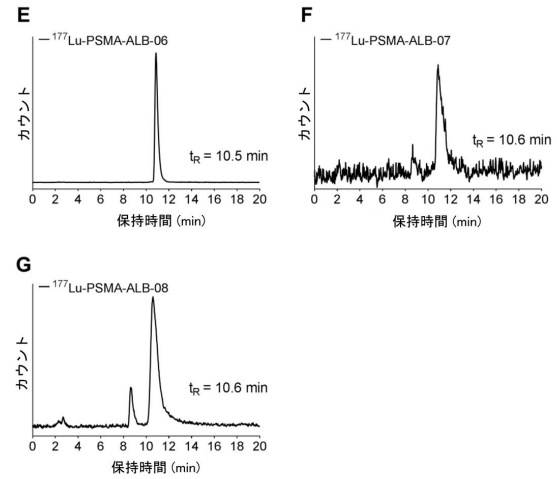
50

【図面】

【図 1 - 1】

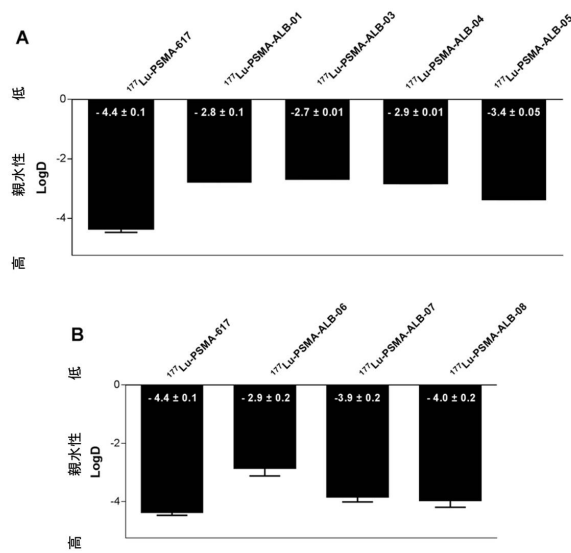


【図 1 - 2】

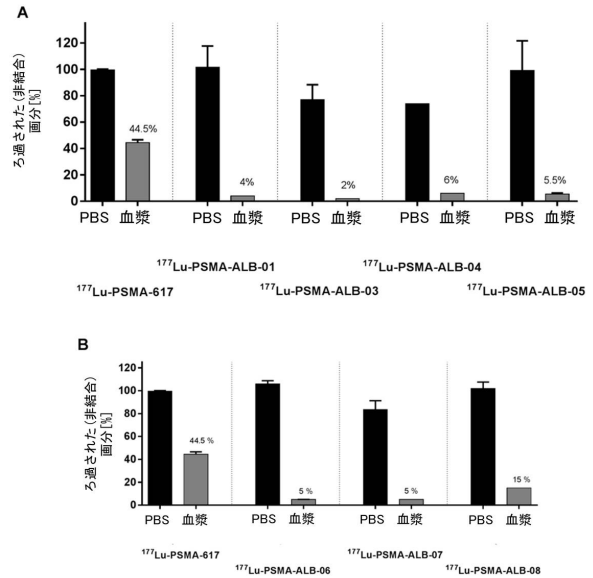


10

【図 2】



【図 3】



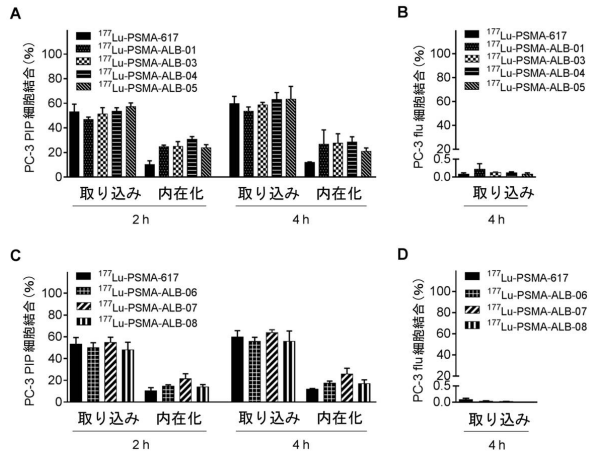
20

30

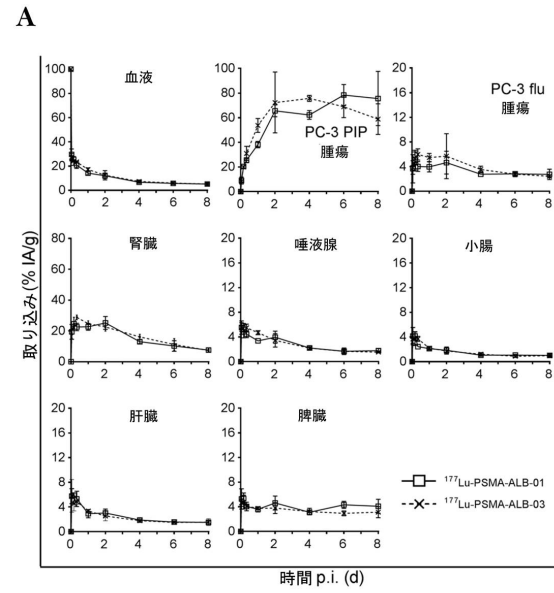
40

50

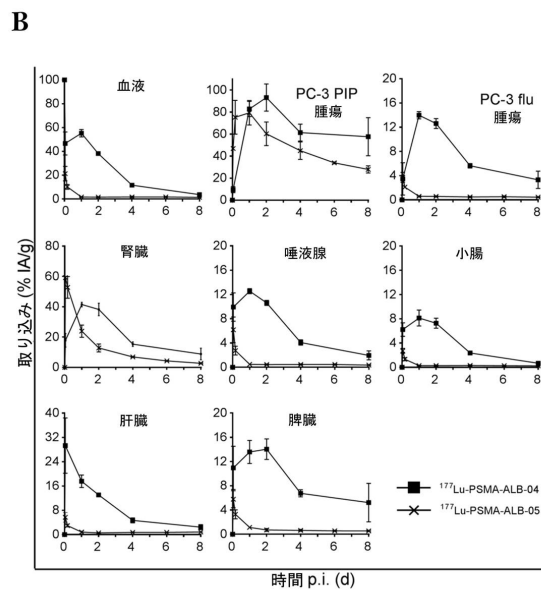
【図 4】



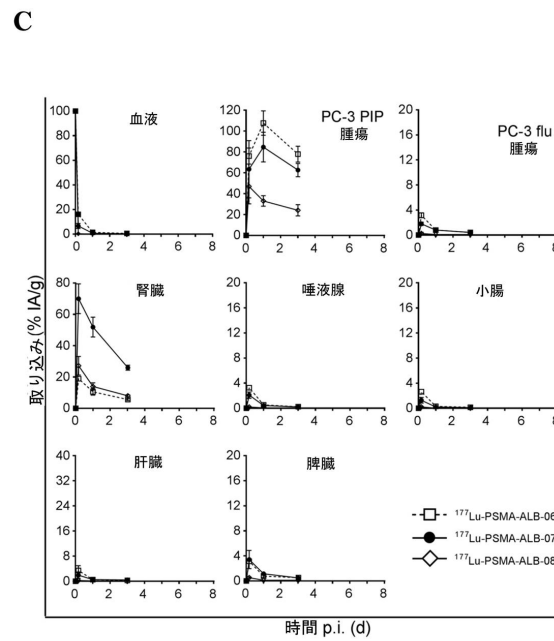
【図 5 - 1】



【図 5 - 2】



【図 5 - 3】



10

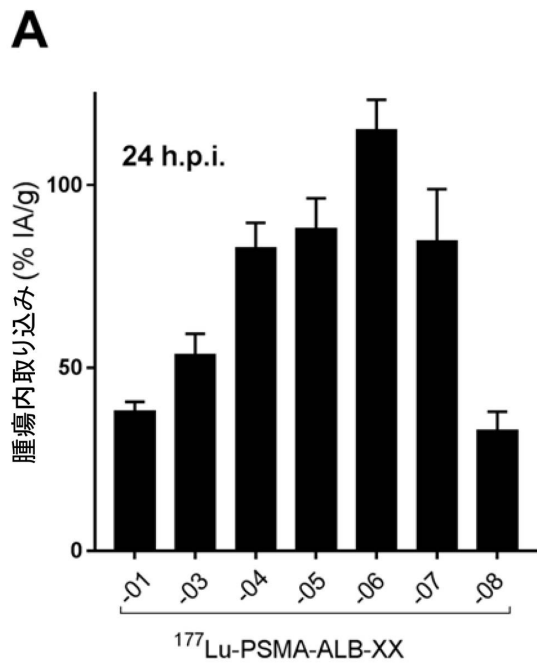
20

30

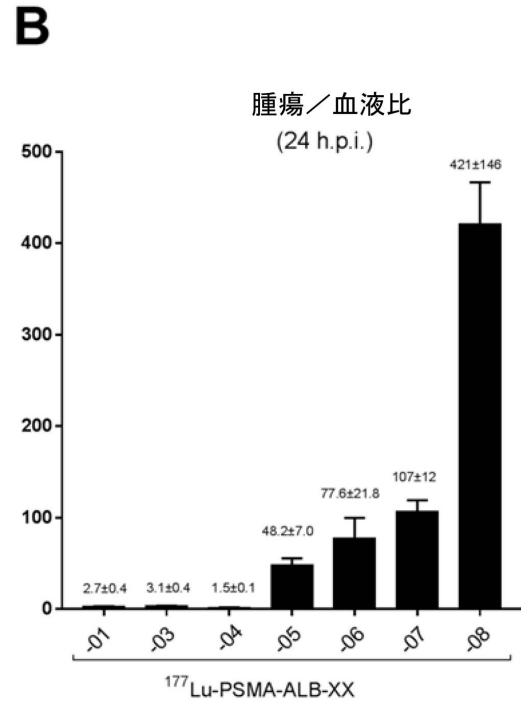
40

50

【図 6 - 1】



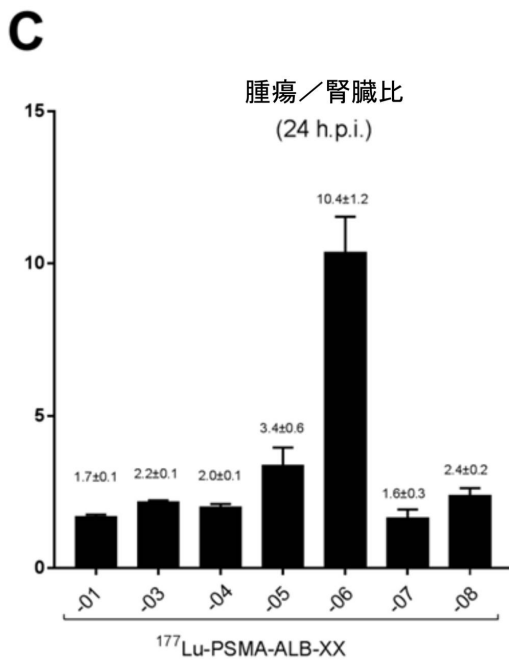
【図 6 - 2】



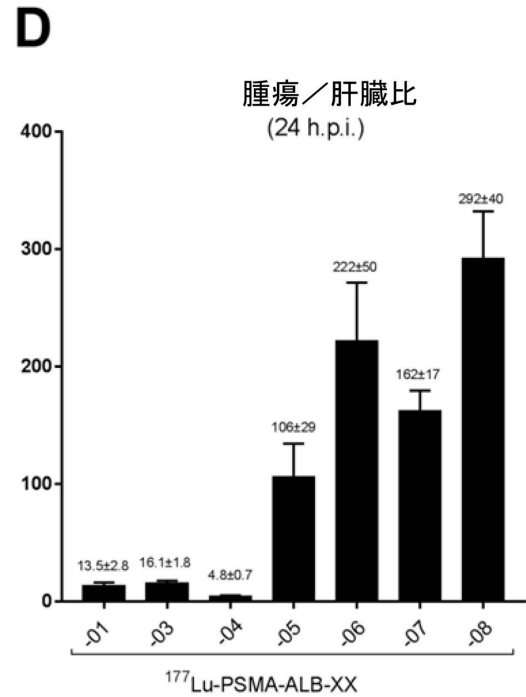
10

20

【図 6 - 3】



【図 6 - 4】

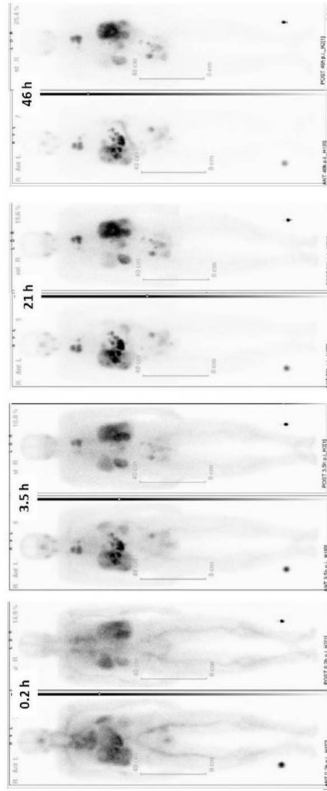


30

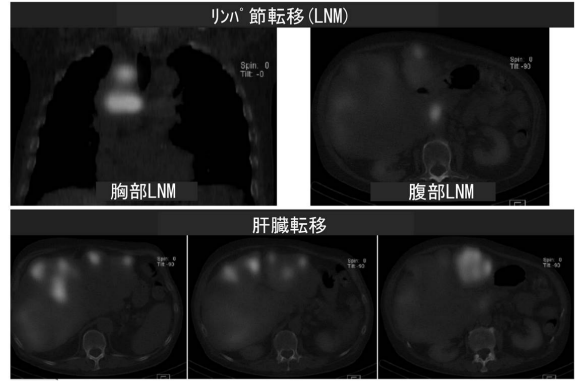
40

50

【図 7】



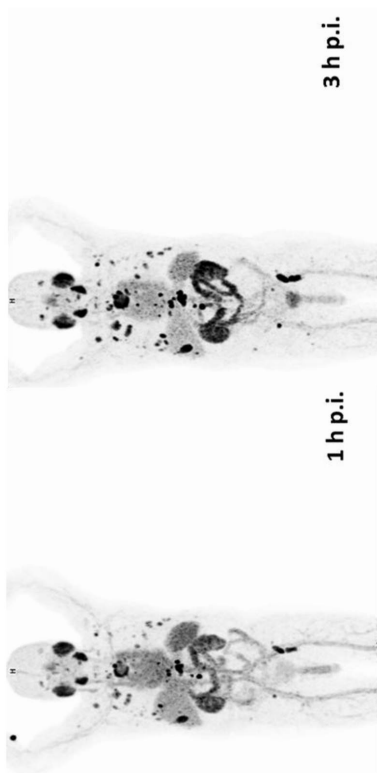
【図 8】



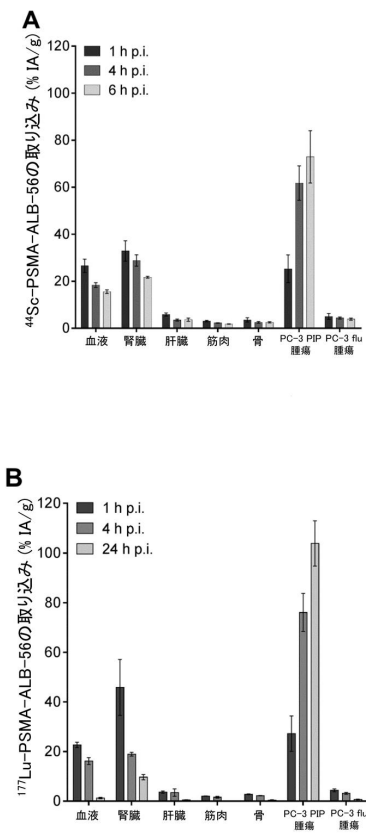
10

20

【図 9】



【図 10】

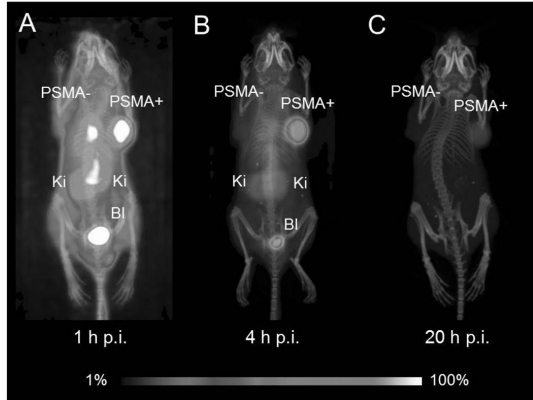


30

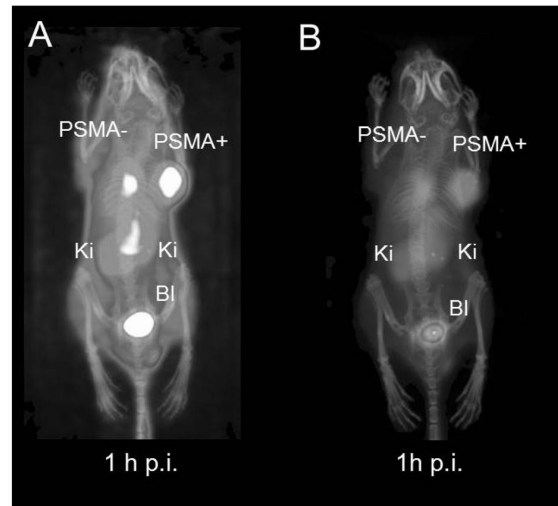
40

50

【図 1 1】

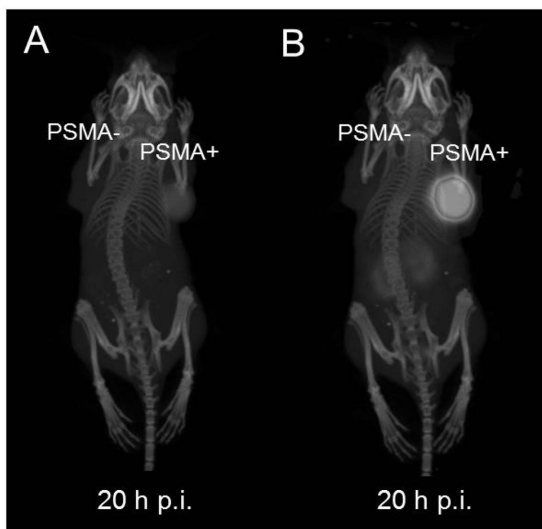


【図 1 2】

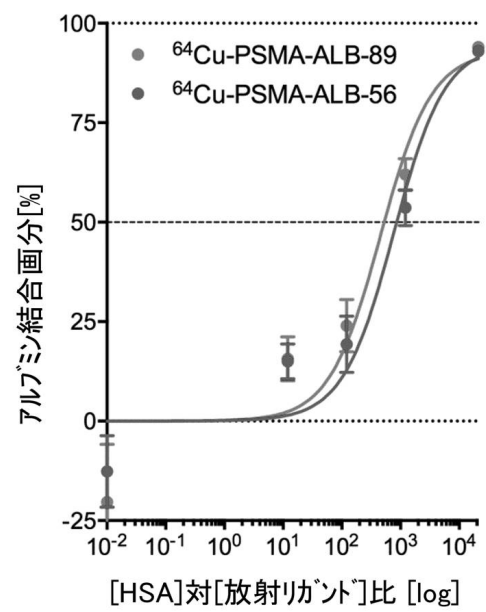


10

【図 1 3】



【図 1 4】



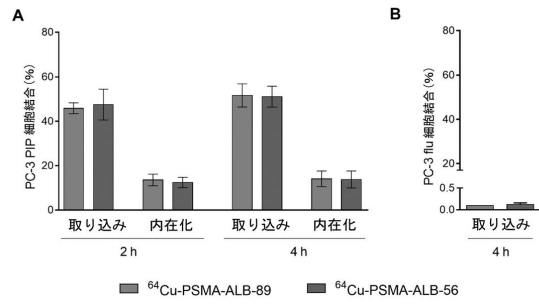
20

30

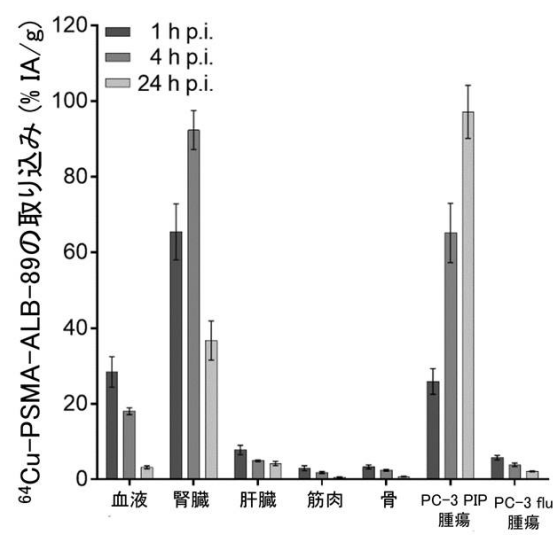
40

50

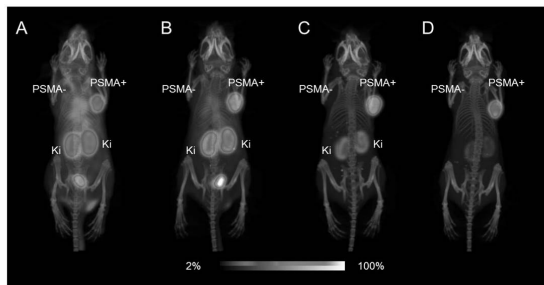
【図 15】



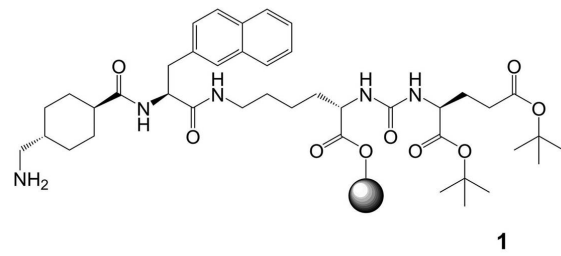
【図 16】



【図 17】



【図 18】



10

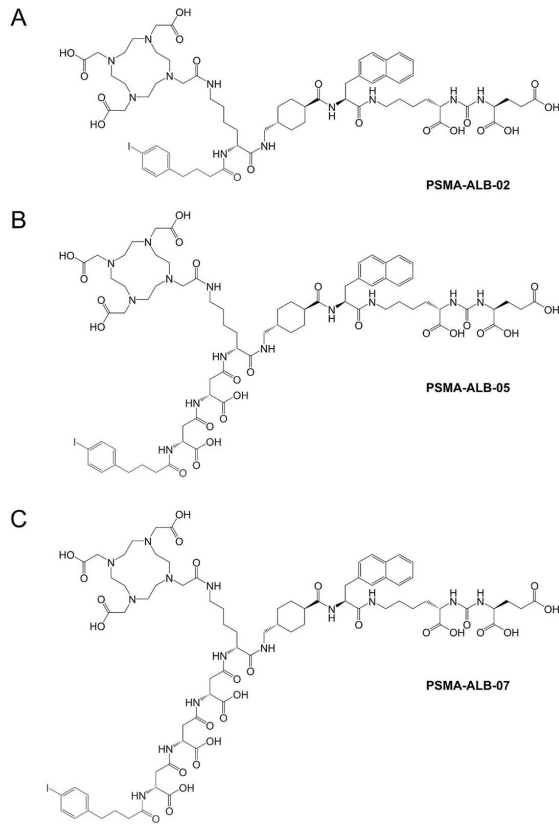
20

30

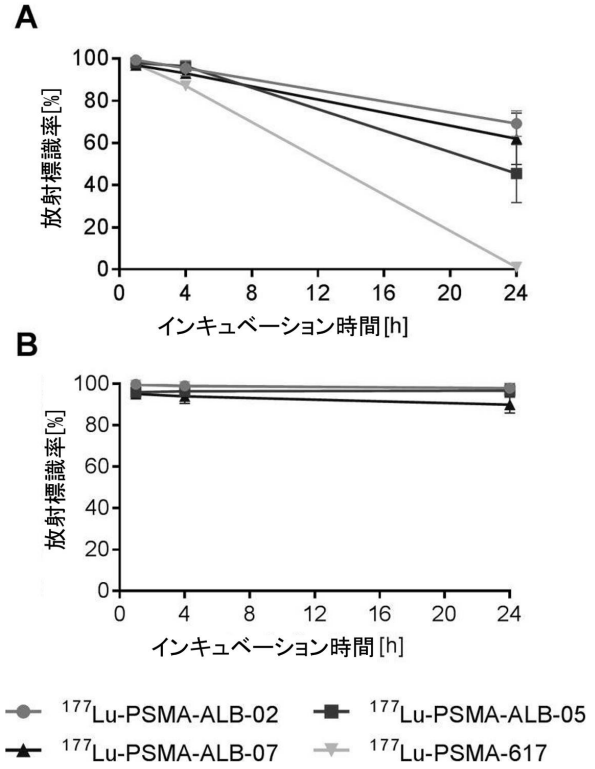
40

50

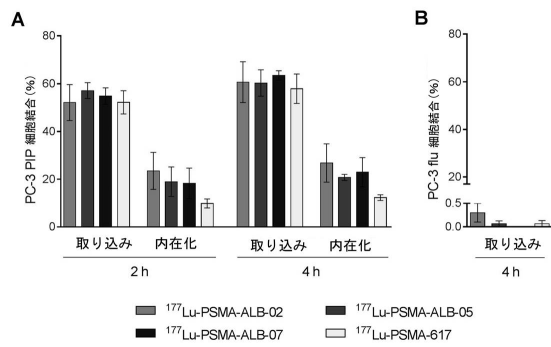
【図 19】



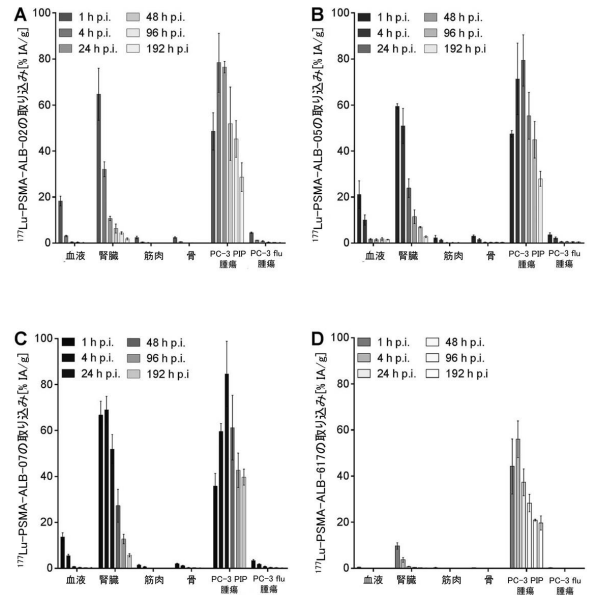
【図 20】



【図 21】



【図 22】



10

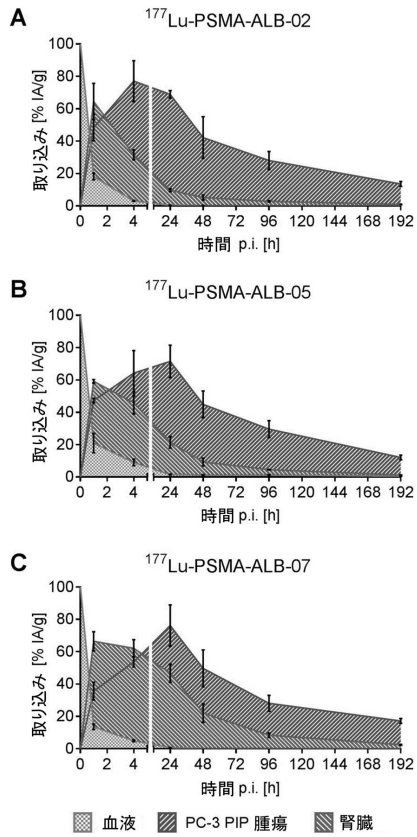
20

30

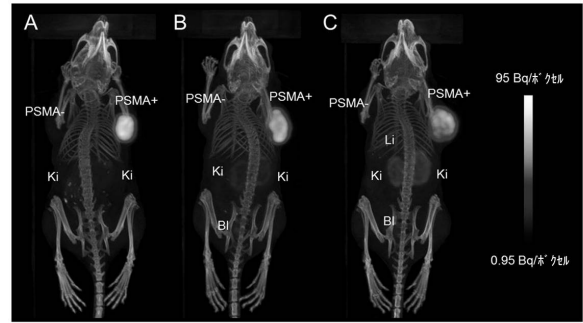
40

50

【図 2 3】



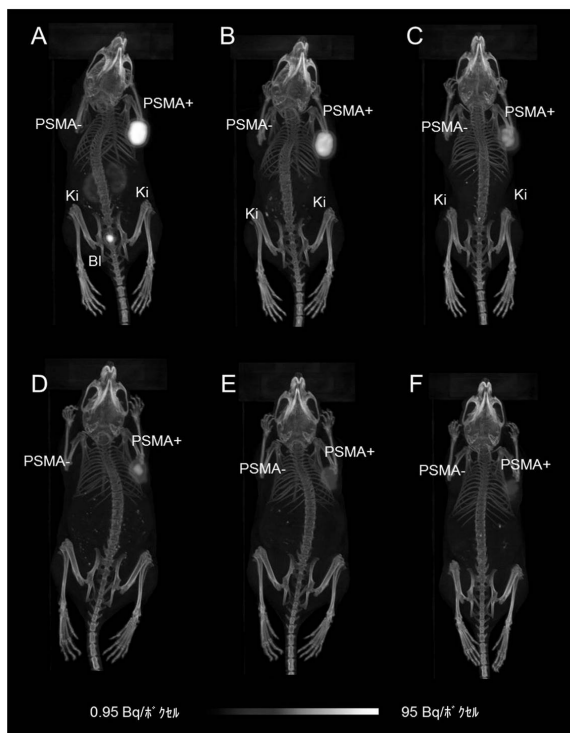
【図 2 4】



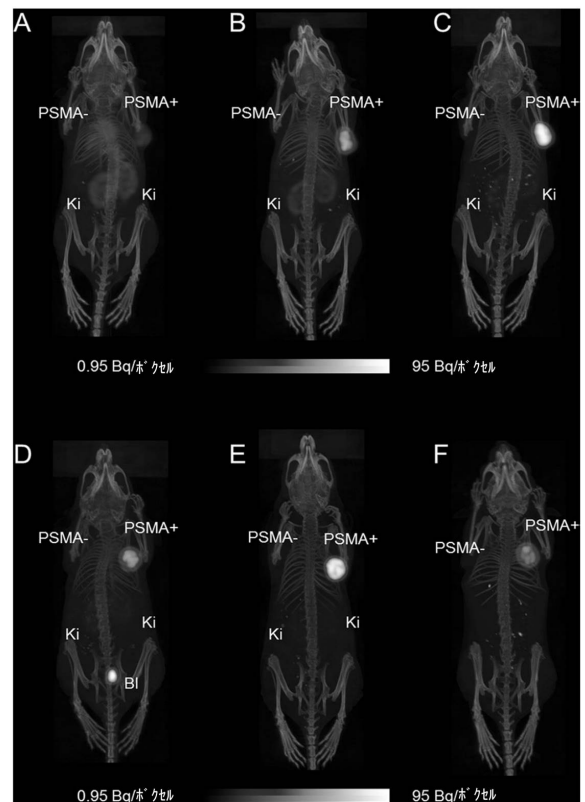
10

20

【図 2 5】



【図 2 6】

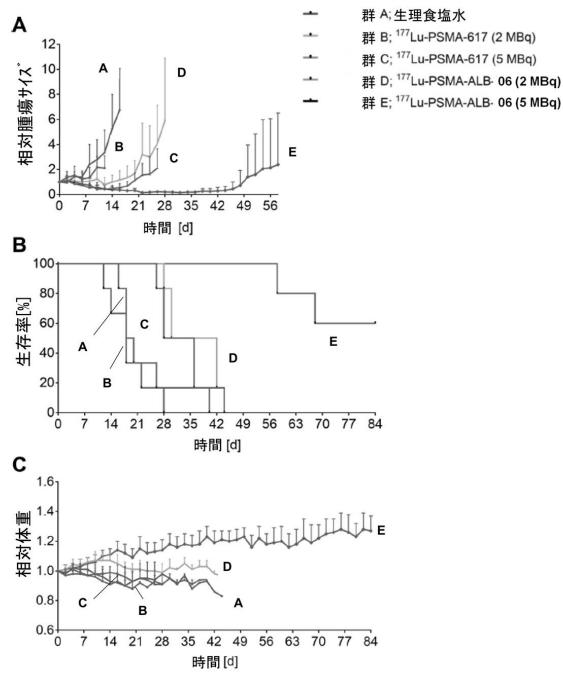


30

40

50

【図 27】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I
A 6 1 P 35/04

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

弁理士 廣田 浩一

(74)代理人 100107733

弁理士 流 良広

(74)代理人 100115347

弁理士 松田 奈緒子

(72)発明者 マルティナ・ベネソヴァ

スイス連邦 5 3 0 0 トウルギ アウシュトラーク 1 2

(72)発明者 クリスティーナ・ミュラー

スイス連邦 5 4 1 5 ヌスバウメン ハルデンシュトラーク 2 4

(72)発明者 クリストフ・アンブリット

スイス連邦 5 4 0 0 バーデン ヴァイテ ガッセ 1 2

(72)発明者 ロジャー・シプリ

スイス連邦 5 4 0 0 バーデン シャルテンラインシュトラーク 4 2

(72)発明者 コンスタンティン・ツェルノゼコフ

ドイツ連邦共和国 8 0 9 3 5 ミュンヘン ラインファルンシュトラーク 1 7

審査官 西村 亜希子

(56)参考文献 特表 2 0 1 9 - 5 3 4 8 4 6 (J P , A)

The Journal of Nuclear Medicine , 2017年09月 , vol.58, no.9 , p.1442-1449

Theranostics , 2017年 , vol.7, issue 7 , p.1928-1939

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 K 5 / 0 2

A 6 1 K 5 1 / 0 4

A 6 1 K 4 7 / 6 4

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 4

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)