



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0124522
 (43) 공개일자 2013년11월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 51/08 (2006.01) *A61K 51/04* (2006.01)
C07B 63/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2013-7017594
 (22) 출원일자(국제) 2011년12월09일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2013년07월05일
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2011/072352
 (87) 국제공개번호 WO 2012/076697
 국제공개일자 2012년06월14일
 (30) 우선권주장
 61/421,390 2010년12월09일 미국(US)

(71) 출원인
지이 헬스케어 리미티드
 영국 버킹엄셔어주 에이취피이7 9엔에이 리틀 켈
 폰트 아머삼 플레이스
 (72) 발명자
엔겔 토르그림
 노르웨이 엔-0401 오슬로 니달렌 포스트박스 4220
 니코비엔 2 지이 헬스케어 에이에스
그리그 줄리안
 영국 에이치피7 피엘엘 버킹엄셔어 아머삼 화이트
 라이온 로드 지이 헬스케어 리미티드 더 그로브
 센터
만칠라스 디미트리오스
 노르웨이 엔-0401 오슬로 니달렌 포스트박스 4220
 니코비엔 2 지이 헬스케어 에이에스
 (74) 대리인
장수길, 양영준

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **방사성 추적자 조성물**

(57) 요약

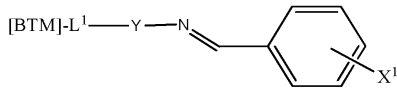
본 발명은, ¹⁸F-표지화된 생물학적 표적화 잔기를 포함하는 것으로서, 생체내 영상화에 영향을 주는 불순물이 확인되고 억제되는, 개선된 방사성 추적자 영상화제 조성물에 관한 것이다. 또한, 상기 방사성 추적자 조성물을 제조하는 데 유용한 방사성 불소화된 알데히드 조성물과 함께, 상기 개선된 조성물을 포함하는 방사성 제약 또한 제공한다. 본 발명은 또한 기술된 방사성 제약 조성물을 사용하여 영상화 및/또는 진단하는 방법을 포함한다.

특허청구의 범위

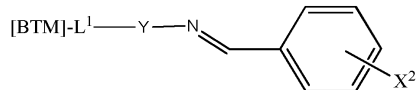
청구항 1

하기 화학식 II의 하나 이상의 비-방사성 아릴 유도체와 함께, 하기 화학식 I의 영상화제를 포함하는 조성물이며, 조성물 중에 존재하는 화학식 II의 유도체의 전체 농도는 150 µg/mL 미만인, 조성물:

<화학식 I>



<화학식 II>



상기 식에서,

BTM은 생물학적 표적화 잔기이고;

L¹은 화학식 -(A)_m-의 합성 링커기이며, 각각의 A는 독립적으로 -CR₂-, -CR=CR-, -C≡C-, -CR₂CO₂-, -CO₂CR₂-, -NRCO-, -CONR-, -CR=N-O-, -NR(C=O)NR-, -NR(C=S)NR-, -SO₂NR-, -NRSO₂-, -CR₂OCR₂-, -CR₂SCR₂-, -CR₂NR₂CR₂-, C₄₋₈ 시클로헥테로알킬렌기, C₄₋₈ 시클로알킬렌기, -Ar-, -NR-Ar-, -O-Ar-, -Ar-(CO)-, 아미노산, 당 또는 단분산 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 빌딩 블록이고, 각각의 Ar은 독립적으로 C₅₋₁₂ 아릴렌기, 또는 C₃₋₁₂ 헤테로아릴렌기이고;

각각의 R은 독립적으로 H, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시알킬 또는 C₁₋₄ 히드록시알킬로부터 선택되고;

m은 1 내지 20의 정수값이고;

Y는 -O- 또는 -NH-이고;

X¹은 ¹⁸F, -O(CH₂)_q¹⁸F 또는 -OCH₂-CH(OH)-CH₂¹⁸F이고 (여기서, q는 2, 3 또는 4이다);

X²는 -N⁺(CH₃)₃, -N(CH₃)₂, -OCH₃, H, -CH₃, -OH, -SCH₃, -OC₆H₄CHO 또는 ¹⁹F이고;

여기서, BTM, L¹ 및 Y는 화학식 I 및 II에서 동일한 것이다.

청구항 2

제1항에 있어서, Y가 -O-인 조성물.

청구항 3

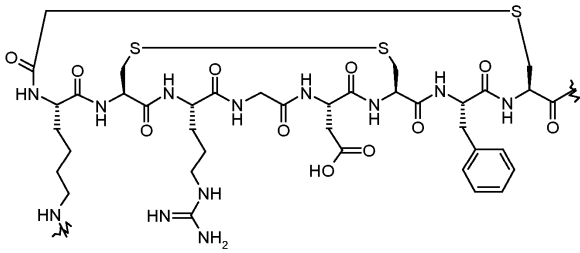
제1항 또는 제2항에 있어서, BTM이 단일 아미노산, 3 내지 100 량체 펩티드, 효소 기질, 효소 길항제, 효소 효능제, 효소 억제제 또는 수용체-결합 화합물을 포함하는, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, BTM이 RGD 펩티드를 포함하는, 조성물.

청구항 5

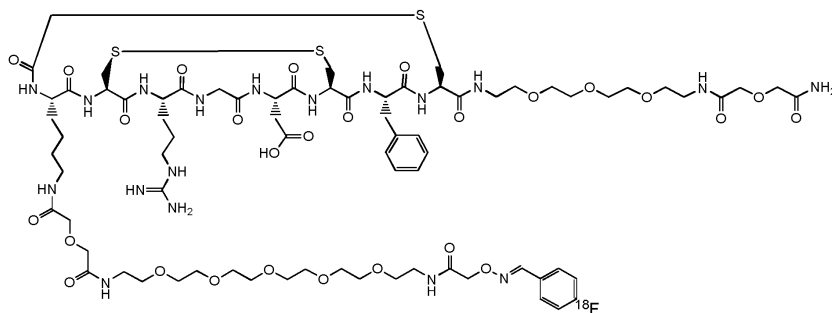
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, BTM이 하기 단편을 포함하는 펩티드인 조성물:



청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 영상화제가 하기 화학식 IA의 화합물인 조성물:

<화학식 IA>



청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, X¹이 ¹⁸F이고, X²가 -N⁺(CH₃)₃, -N(CH₃)₂ 또는 -OH인 조성물.

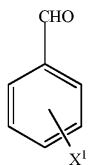
청구항 8

생체적합성 담체와 함께, 포유동물 투여에 적합한 형태의, 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 방사성 제약 조성물.

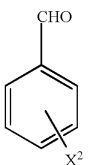
청구항 9

하기 화학식 B의 하나 이상의 비-방사성 알데히드와 함께, 하기 화학식 A의 방사성 알데히드를 포함하는 조성물이며, 조성물 중에 존재하는 화학식 B의 유도체의 전체 농도는 150 μg/mL 미만인 조성물:

<화학식 A>



<화학식 B>



상기 식에서, X^1 및 X^2 는 제1항에서 정의된 바와 같다.

청구항 10

제9항에 있어서, X^1 이 ^{18}F 이고, X^2 가 $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 또는 $-\text{OH}$ 인 조성물.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 용액으로서 제공되는 조성물.

청구항 12

(i) 아미노옥시기 또는 히드라진기로 관능화된 생물학적 표적화 잔기를 제공하는 단계;

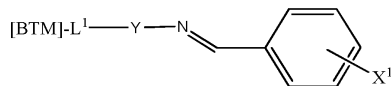
(ii) 단계 (i)로부터의 관능화된-생물학적 표적화 잔기를 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항의 방사성 알데히드 조성물과 반응시켜 화학식 A의 방사성 알데히드가 상기 아미노옥시기 또는 히드라진기와 축합되도록 하여 방사성 표지화된 생물학적 표적화 잔기를 획득하는 단계

를 포함하는, 생물학적 표적화 잔기를 방사성 표지화하는 방법.

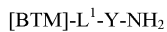
청구항 13

제12항에 있어서, 관능화된 생물학적 표적화 잔기가 하기 화학식 IV의 화합물이고, 방사성 표지화된 생성물이 하기 화학식 I의 화합물인 방법:

<화학식 I>



<화학식 IV>



상기 식에서,

BTM, L^1 , Y 및 X^1 은 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같다.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 자동 합성기 장치를 사용하여 수행되는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 멸균 방식으로 수행하여 제8항의 방사성 제약 조성물을 획득하는 방법.

청구항 16

제8항의 방사성 제약 조성물이 분포되어 있는 인간 또는 동물 신체의 적어도 일부의 PET 영상을 생성하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물 신체를 영상화하는 방법.

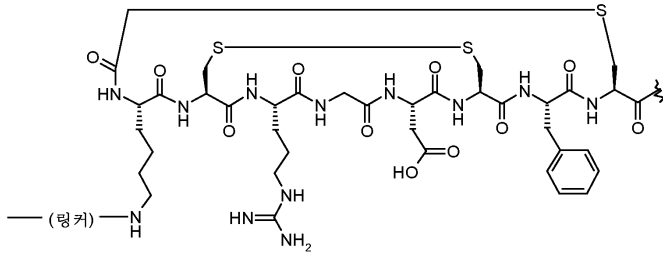
청구항 17

제16항에 있어서, 약물로 인간 또는 동물 신체를 처리하였을 때의 효과를 반복적으로 모니터링함으로써 수행되고, 상기 영상화는 상기 약물 처리 전 및 처리 후, 및 임의적으로 상기 약물로 처리하는 동안에도 또한 영향을 받는, 방법.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, 상기 조성물이 상기 신체에 사전에 투여되는, 방법.

[0033] 화학식 I의 백터는 하기 단편을 포함하고:



[0034]

[0035] 화학식 II에서,

[0036] n은 0 내지 20의 정수이고;

[0037] m은 0 내지 10의 정수이고;

[0038] Y는 수소, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고;

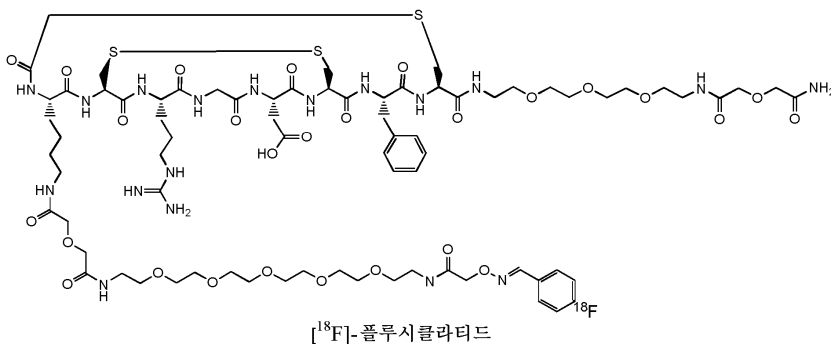
[0039] 화학식 III에서,

[0040] m, n, 및 Y는 화학식 II의 화합물에 대해 정의된 바와 같고, 백터는 화학식 I의 화합물에 대해 정의된 바와 같다.

[0041] 글레이저(Glaser) 등의 문헌 [Bioconj.Chem., 19(4), 951-957 (2008)]에는 ¹⁸F-플루오로벤즈알데히드를 비롯한 ¹⁸F-표지화된 알데히드의 합성, 및 아미노옥시 관능화된 시클릭 RGD 펩티드로의 그의 접합이 기술되어 있다.

[0042] 스페란자(Speranza) 등의 문헌 [Appl.Rad.Isotop., 67, 1664-1669 (2009)]에는 트레이서랩(TRACERlab)TM 장치를 사용하는 [¹⁸F]-플루오로벤즈알데히드 ([¹⁸F]-FBA)의 자동 합성법이 기술되어 있다. 수제식 정제 장치를 사용하여 [¹⁸F]-FBA를 정제한다. 자동 합성기 장치 합성법에는 카트리지 정제가 HPLC 정제보다 선호된다는 사실이 스페란자 등에 의해 기술되었다. 그러나, 그의 카트리지 방법은 디클로로메탄 또는 클로로포름이 [¹⁸F]-FBA 정제를 위한 최상의 용매임을 제안한다. 상기 두 용매 모두 생체내 사용을 위해서는 부적합한 독성인 특성을 가지고 있으며, 수불혼화성이다. 따라서, 상기 방법은 방사성 제약 제조에는 부적합하다.

[0043] 배틀(Battle) 등의 문헌 [J.Nucl.Med., 52(3), 424-430 (2011)]에는 하기 [¹⁸F]-플루시클라티드를 사용하여 항혈관신생 요법을 모니터링하는 것이 개시되어 있다:



[0044]

[0045] 배틀 등은, 사용된 [¹⁸F]-FBA를 물로 희석하고, 고체상 추출 (SPE) 카트리지 상에서 포획함으로써 정제하였다고 언급하였다. 불순물, 예컨대 전구체, DMSO, 크립토픽스(Kryptofix)-222 및 친수성 부산물을 용리시켜 폐기한 후, 에탄올을 이용하여 [¹⁸F]-FBA를 용리시킨 것으로 언급되었다. 그러나, 본 발명자들은 C18 SPE 카트리지를 사용할 경우, 전구체 중 일부만이 용리되어 폐기되고, 나머지는 에탄올을 이용하여 [¹⁸F]-FBA를 용리시킬 때에 함께 공용리된다는 것을 발견하게 되었다.

[0046] 따라서, ¹⁸F로 생물학적 표적화 잔기를 표지화하는 대체 방법이 여전히 요구되고 있다.

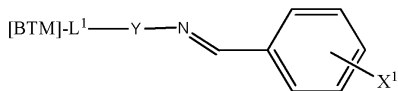
발명의 내용

- [0047] 본 발명.
- [0048] 본 발명은 아미노옥시- 또는 히드라진-관능화된 BTM으로의 ¹⁸F-표지화된 알데히드의 접합으로부터 유도된, 개선된 ¹⁸F-방사성 표지화된 생물학적 표적화 잔기 (BTM) 조성물을 제공한다. 본 발명은 상기 알데히드에 존재하는 불순물에 관한 상세한 분석과, 이들이 어떻게 방사성 표지화된 BTM 생성물로 완성될 수 있는지, 그리고 원치않는 불순물 중 모두를 억제시키는 최선의 방법이 무엇인지에 관한 이해를 기반으로 한다. 이러한 불순물들 다수는 선행 기술에서는 인지되지 못했고, 따라서 그러한 선행 기술의 체계는 영상화 특징에 악영향을 줄 수 있는 바람직하지 못한 중을 함유하였다.
- [0049] 추가로, 본 발명의 개선된 조성물을 단축된 제조 시간에 얻을 수 있고, 이로써 사용 이전의 제조 및 정제 동안 ¹⁸F (반감기 109분) 방사성 함량의 임의 손실은 최소화된다. 본 발명의 조성물은 시판용 자동 합성기 장치에서 쉽게 자동화될 수 있는 방법을 사용함으로써 수득될 수 있는데-이는 (상기 방식으로는 자동화될 수 없는 것인) 선행 기술의 HPLC 방법에 비해 이점이 된다. 자동화는 재현성 개선 뿐만 아니라, 작업자의 방사선량 감소를 부여한다.
- [0050] 추가로, 생성물의 방사 화학 수율 및 순도가 더 높다는 것은 동량의 방사성 생성물을 수득할 때, 사용되어야 하는 관능화된 BTM의 양은 더 적다는 것을 의미하는 것이다. 표지화되지 않은 BTM이 생체내에서 같은 생물학적 부위에 대해 경쟁할 수 있으므로, 관능화된 BTM의 존재량을 저하시키는 것이 방사성 표지화된 생성물의 효능을 보존시키는 데 도움이 된다. 추가로, BTM은 예컨대, 수득하는 데 많은 시간이 소요되고 비용이 고가인 복합 폴리펩티드 또는 단백질일 수 있으므로, 이는 시간/물질의 효율면에서 중요한 것이다.
- [0051] 본 발명은, 원하는 ¹⁸F-방사성 불소화된 BTM의 농도는 약 40배만큼 증진된 반면, 화학적 불순물은 약 99%만큼 (즉, 약 100배만큼) 감소된 조성물을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

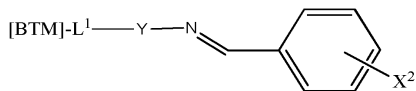
- [0052] 본 발명의 상세한 설명
- [0053] 제1 측면에서, 본 발명은, 하기 화학식 II의 하나 이상의 비-방사성 아릴 유도체와 함께, 하기 화학식 I의 영상 화제를 포함하는 조성물이며, 조성물 중에 존재하는 화학식 II의 유도체의 전체 농도는 150 µg/mL 미만인, 조성 물을 제공한다:

[0054] <화학식 I>



[0055]

[0056] <화학식 II>



[0057]

[0058] 상기 식에서,

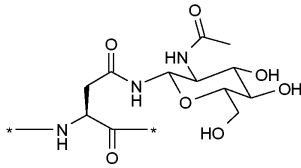
[0059] BTM은 생물학적 표적화 분자이고;

[0060] L¹은 화학식 -(A)_m-의 합성 링커기이며, 각각의 A는 독립적으로 -CR₂-, -CR=CR-, -C≡C-, -CR₂CO₂-, -CO₂CR₂-, -NRCO-, -CONR-, -CR=N-O-, -NR(C=O)NR-, -NR(C=S)NR-, -SO₂NR-, -NRSO₂-, -CR₂OCR₂-, -CR₂SCR₂-, -CR₂NR₂CR₂-, C₄₋₈ 시클로헥테로알킬렌기, C₄₋₈ 시클로알킬렌기, -Ar-, -NR-Ar-, -O-Ar-, -Ar-(CO)-, 아미노산, 당 또는 단분산 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 빌딩 블록이고, 각각의 Ar은 독립적으로 C₅₋₁₂ 아릴렌기, 또는 C₃₋₁₂ 헤테로아릴렌기이고;

- [0061] 각각의 R은 독립적으로 H, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시알킬 또는 C₁₋₄ 히드록시알킬로부터 선택되고;
- [0062] m은 1 내지 20의 정수값이고;
- [0063] Y는 -O- 또는 -NH-이고;
- [0064] X¹은 ¹⁸F, -O(CH₂)_qF 또는 -OCH₂-CH(OH)-CH₂¹⁸F이고 (여기서, q는 2, 3 또는 4이다);
- [0065] X²는 -N⁺(CH₃)₃, -N(CH₃)₂, -OCH₃, H, -CH₃, -OH, -SCH₃, -OC₆H₄CHO 또는 ¹⁹F이고;
- [0066] 여기서, BTM, L¹ 및 Y는 화학식 I 및 II에서 동일한 것이다.
- [0067] "조성물"이라는 용어는 그의 통상의 의미를 가지며, 이는 화학식 I의 방사성 표지화된 BTM과 화학식 II의 하나 이상의 비-방사성 아릴 유도체와의 혼합물을 의미한다. 화학식 II의 다중 유도체가 조성물 중에 존재할 수 있지만-화학식 I 및 II에서, BTM, L¹ 및 Y는 조성물의 모든 구성 성분에 대하여 동일하고, X¹ 및 X²는 -C=N 기에 대하여 페닐 환 상에서 같은 오르토, 메타, 또는 파라-위치에 위치한다. 따라서, 제1 측면의 조성물의 구성 성분은 오직 X¹ 및 X²의 아이덴티티에서만 차이를 보인다.
- [0068] "존재하는 화학식 II의 유도체의 농도"라는 용어는, 비록 X²는 다를 수 있지만, 존재하는 화학식 II의 화합물 모두의 전체 농도를 의미한다. 일례로서, 본 실시예 2에서는 1.1 mL의 부피 중 3.3 mg의 트리메틸암모늄 벤즈알데히드 전구체 (3.0 mg/mL 또는 3,000 µg/mL)가 사용된다. 77 GBq의 [¹⁸F]-플루오로벤즈알데히드는 대략 0.072 µg이다. 따라서, 화학적 측면에서, [¹⁸F]-플루오라이드는 상대적으로 소량의 전구체를 소비하고, 본 발명의 방법을 사용하지 않을 경우, 화학식 II 불순물 수준은 유의적으로 더 커질 것이다. 수준이 150 µg/mL 미만 일 경우, 90% 이상, 바람직하게 95% 이상의 상기 존재하는 불순물이 제거되어야 한다. 바람직하게, 존재하는 화학식 II의 유도체의 농도는 100 µg/mL 미만, 더욱 바람직하게 45 µg/mL 미만이다. 정량화는 HPLC-MS에 의해, 공지된 불순물의 실제(authentic) 샘플에 기초한 검정 곡선 참조에 의해 이루어진다. 정량화를 돕기 위해서 실제 샘플의 흡광 계수 또한 측정하였다. X²가 ¹⁹F일 경우, 이는 사용되는 ¹⁸F 방사성 동위원소 중에 존재한 임의의 ¹⁹F 캐리어에 상응한다. 상기 종은 화학식 II의 비-방사성 불순물의 원인이 된다.
- [0069] "포함하는," 또는 "포함하다"라는 용어는 본 출원 전역에서 그의 통상의 의미를 가지며, 이는 조성물이 열거된 구성 성분들을 가져야 하지만, 언급되지 않은 다른 화합물 또는 종도 추가로 존재할 수 있다는 것을 암시한다. 따라서, 상기 용어는 바람직한 서브셋으로서, 조성물이 다른 화합물 또는 종이 존재하지 않는 상태에서 열거된 구성 성분을 갖는다는 것을 의미하는, "~으로 본질적으로 이루어진"이라는 것을 포함한다.
- [0070] 화학식 I의 영상화제는 방사성 불소화된 생물학적 표적화 잔기 (BTM)를 포함한다. "영상화제"라는 용어는 포유동물 신체를 영상화하는 데 적합한 화합물을 의미한다. 바람직하게, 포유동물은 생체내 온전한 포유동물 신체이고, 더욱 바람직하게는 인간 대상체이다. 바람직하게, 영상화제는 최소한도의 침습적인 방식으로, 즉 의학 전문 기술자에 수행될 때, 포유동물 대상체에게 실질적으로 건강상의 위험을 일으키지 않으면서, 포유동물 신체에 투여될 수 있다. 상기와 같은 최소한도의 침습적인 투여는 바람직하게는 국소 또는 전신 마취제를 필요로 하지 않으면서, 상기 대상체의 말초 정맥내로 수행되는 정맥내 투여이다.
- [0071] 본원에서 사용되는 바, "생체내 영상화"라는 용어는 포유동물 대상체의 내측면 모두 또는 그 일부의 영상을 비 침습적인 방식으로 생성하는 기법을 의미한다. 본 발명의 바람직한 영상화 기법은 양전자 방출 단층촬영 (PET)이다.
- [0072] "생물학적 표적화 잔기" (BTM)라는 용어는 투여 후, 생체내에서 포유동물 신체의 특정 부위에 선택적으로 흡수되거나, 또는 국부화하는 화합물을 의미한다. 상기 부위는 특정 질환 상태에 연루되어 있는 것일 수 있거나, 또는 기관 또는 대사 과정이 어떻게 작용하는지를 나타내는 것일 수 있다.
- [0073] "아미노산"이라는 용어는 천연적으로 발생할 수 있거나, 또는 순수하게 합성 기원의 것일 수 있고, 광학적으로 순수할 수 있는 것, 즉 단일 거울상 이성질체 및 따라서, 키랄, 또는 거울상 이성질체의 혼합물일 수 있는 것인 L- 또는 D-아미노산, 아미노산 유사체 (예컨대, 나프틸알라닌)를 의미한다. 본원에서는 아미노산에 대한 통상

의 3문자 또는 1문자 약어가 사용된다. 바람직하게, 본 발명의 아미노산은 광학적으로 순수한 것이다.

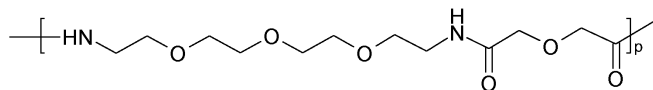
[0074] "당"이라는 용어는 단당류, 이당류, 또는 삼당류를 의미한다. 적합한 당으로는 글루코스, 갈락토스, 말토스, 만노스, 및 락토스를 포함한다. 임의적으로, 당은 아미노산에 쉽게 커플링될 수 있도록 하기 위해 관능화될 수 있다. 따라서, 예컨대 아미노산의 글루코사민 유도체는 펩티드 결합을 통해 다른 아미노산에 접합될 수 있다. (노바바이오켄(NovaBiochem)으로부터 상업적으로 이용가능한) 아스파라긴의 글루코사민 유도체가 상기의 일례이다:



[0075]

[0076] "폴리에틸렌글리콜 중합체" 또는 "PEG"라는 용어는, 예컨대 문헌 ["The Merck Index", 14th Edition entry 7568]에 기술되어 있는 바와 같은, 그의 통상의 의미를 가지며, 즉 화학식 $H(OCH_2CH_2)_nOH$ (여기서, n은 4 이상인 정수이다)의 액체 또는 고체 중합체이다. 본 발명의 폴리에틸렌글리콜 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있지만, 선형인 것이 바람직하다. 중합체는 또한 바람직하게 비-텐드리머이다. 바람직한 PEG 함유 링커기는 하기 화학식 Bio1 또는 Bio2의 단분산 PEG-유사 구조의 올리고머화로부터 유도되는 단위를 포함한다:

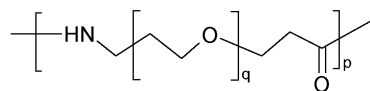
[0077] <화학식 Bio1>



[0078]

[0079] 상기 화학식 Bio1의 17-아미노-5-옥소-6-아자-3,9,12,15-테트라옥사헵타데칸산에서, p는 1 내지 10의 정수이다. 별법으로, 화학식 Bio2의 프로피온산 유도체 기반의 PEG-유사 구조가 사용될 수 있다:

[0080] <화학식 Bio2>



[0081]

[0082] 상기 식에서,

[0083] p는 화학식 Bio1에 대해 정의된 것과 같고, q는 3 내지 15의 정수이다.

[0084] 화학식 Bio2에서, p는 바람직하게 1 또는 2이고, q는 바람직하게 5 내지 12이다.

[0085] 화학식 I 및 II에서, C=N 결합에서 이성질 현상은 E- 또는 Z-부분입체 이성질체가 존재할 수 있다는 것을 의미한다. 비록 단일 이성질체로만 도시되지만, 화학식 I 및 II는 상기 이성질체의 혼합물 뿐만 아니라, 상기의 한 부분입체 이성질체가 풍부한 혼합물 뿐만 아니라, 순수한 부분입체 이성질체를 포함하고자 한다.

[0086] 바람직한 실시양태.

[0087] 제1 측면의 화학식 I에서, X^1 은 바람직하게 ^{18}F , 또는 $-O(CH_2)_q^{18}F$ (여기서, q는 2 또는 3이다)이고; 더욱 바람직하게는 ^{18}F 또는 $-O(CH_2)_3^{18}F$, 가장 바람직하게는 ^{18}F 이다.

[0088] 제1 측면의 화학식 I 및 II에서, X^1 및 X^2 는 바람직하게 오르토 또는 파라-위치 중 어느 하나에 위치하고, 더욱 바람직하게는 파라-위치에 위치한다.

[0089] 화학식 I 및 II에서, Y는 바람직하게 -O-이다. 더욱 바람직하게, Y는 -O-이고, X^1 및 X^2 는 바람직하게 파라-위치에 위치한다. 상기와 같이 각각이 조합되는 경우, 바람직한 BTM 기는 하기 기술되는 바와 같다.

[0090] BTM은 합성 또는 천연 기원의 것일 수 있지만, 합성인 것이 바람직하다. "합성"이라는 용어는 그의 통상의 의미를 가지며, 즉 천연 공급원으로부터, 예컨대 포유동물 신체로부터 단리되는 것과는 대조적인 의미로, 인공의

것이라는 것이다. 상기와 같은 화합물은 그의 제조 및 불순물 프로파일의 완전하게 조절될 수 있다는 이점을 가진다. 따라서, 천연 기원의 모노클로날 항체 및 그의 단편은 본원에서 사용되는 '합성'이라는 용어의 범주를 벗어난다. BTM은 바람직하게 비-단백질성이고, 즉 단백질을 포함하지 않는 것이다.

- [0091] BTM의 분자량은 바람직하게 최대 10,000 달톤이다. 더욱 바람직하게, 분자량 범위는 200 내지 9,000 달톤, 가장 바람직하게 300 내지 8,000 달톤이고, 400 내지 6,000 달톤인 것이 특히 바람직하다. BTM이 비-펩티드일 경우, BTM의 분자량은 바람직하게 최대 3,000 달톤, 더욱 바람직하게 200 내지 2,500 달톤, 가장 바람직하게 300 내지 2,000 달톤이고, 400 내지 1,500 달톤인 것이 특히 바람직하다.
- [0092] 생물학적 표적화 잔기로는 바람직하게 3 내지 80 량체 펩티드, 펩티드 유사체, 펩토이드 또는 펩티드 모방체 (이는 선형 또는 시클릭 펩티드일 수 있다) 또는 그의 조합; 단일 아미노산; 효소 기질, 효소 길항제, 효소 효능제 (부분 효능제 포함) 또는 효소 억제제; 수용체-결합 화합물 (수용체 기질, 길항제, 효능제 또는 기질 포함); 올리고뉴클레오티드, 또는 올리고-DNA 또는 올리고-RNA 단편을 포함한다.
- [0093] "펩티드"라는 용어는 펩티드 결합 (즉, 한 아미노산의 아민을 또 다른 것의 카르복실에 결합하는 아미드 결합)에 의해 연결된, 하기 정의되는 바와 같은, 2개 이상의 아미노산을 포함하는 화합물을 의미한다. "펩티드 모방체" 또는 "모방체"라는 용어는 화학적 성질은 더 이상 펩티드성을 가지지 않지만, 즉, 임의의 펩티드 결합 (즉, 아미노산 사이의 아미드 결합)을 더 이상 함유하지 않지만, 펩티드 또는 단백질의 생물학적 활성을 모방하는 생물학적 활성인 화합물을 의미한다. 여기서, 펩티드 모방체라는 용어는 보다 광범위한 의미로 사용되며, 이는 사실상 더 이상은 완전한 펩티드성을 가지지 않는 분자, 예컨대 슈도(pseudo)-펩티드, 세미-펩티드 및 펩토이드를 포함한다. "펩티드 유사체"라는 용어는 하기 기술하는 바와 같이, 하나 이상의 아미노산 유사체를 포함하는 펩티드를 의미한다. 문헌 [*Synthesis of Peptides and Peptidomimetics*, M. Goodman et al., Houben-Weyl Vol E22c of *Methods in Organic Chemistry*, Thieme (2004)] 또한 참조할 수 있다.
- [0094] BTM이 효소 기질, 효소 길항제, 효소 효능제, 효소 억제제 또는 수용체-결합 화합물일 경우, 이는 비-펩티드인 것이 바람직하고, 합성인 것이 더욱 바람직하다. "비-펩티드"라는 용어는 임의의 펩티드 결합, 즉 두 아미노산 잔기 사이의 아미드 결합을 포함하지 않는 화합물을 의미한다. 적합한 효소 기질, 길항제, 효능제 또는 억제제로는 글루코스 및 글루코스 유사체, 예컨대 플루오로데옥시글루코스; 지방산, 또는 엘라스타제, 안지오텐신 II 또는 메탈로프로테이나제 억제제를 포함한다. 바람직한 비-펩티드 안지오텐신 II 길항제는 로사르탄이다. 적합한 합성 수용체-결합 화합물로는 에스트라디올, 에스트로젠, 프로게스틴, 프로게스테론 및 다른 스테로이드 호르몬; 도파민 D-1 또는 D-2 수용체에 대한 리간드, 또는 도파민 수용체, 예컨대 트로판; 및 세로토닌 수용체에 대한 리간드를 포함한다.
- [0095] BTM은 가장 바람직하게 3 내지 100 량체 펩티드 또는 펩티드 유사체이다. BTM이 펩티드일 경우, 바람직하게 4 내지 30 량체 펩티드, 및 가장 바람직하게 5 내지 28-량체 펩티드이다. BTM이 펩티드일 경우, 바람직한 상기와 같은 펩티드로는 하기의 것을 포함한다:
- [0096] - 소마토스타틴, 옥트레오티드 및 유사체,
- [0097] - ST 수용체에 결합하는 펩티드 (여기서, ST는 이.콜라이(*E.coli*) 및 다른 미생물에 의해 생산된 내열성 독소를 의미한다);
- [0098] - 붐베신;
- [0099] - 혈관작용성 장 펩티드;
- [0100] - 뉴로텐신;
- [0101] - 라미닌 단편, 예컨대 YIGSR, PDSGR, IKVAV, LRE 및 KCQAGTFALRGDPQG,
- [0102] - 백혈구 축적의 표적화 부위에 대한 *N*-포르밀 주화성(chemotactic) 펩티드,
- [0103] - 혈소판 인자 4 (PF4) 및 그의 단편,
- [0104] - 예컨대, 혈관신생을 표적화할 수 있는 것인, RGD (Arg-Gly-Asp) 함유 펩티드 (문헌 [R.Pasqualini et al., *Nat Biotechnol.* 1997 Jun; 15(6):542-6]; [E. Ruoslahti, *Kidney Int.* 1997 May;51(5):1413-7]),
- [0105] - α_2 -항플라스민, 피브로넥틴 또는 베타-카제인, 피브리노젠 또는 트롬보스폰딘의 펩티드 단편. α_2 -항플라스민, 피브로넥틴, 베타-카제인, 피브리노젠 및 트롬보스폰딘의 아미노산 서열은 하기 참조 문헌에서 살펴볼 수

있다: α_2 -항플라스민 전구체 (문헌 [M.Tone et al., J.Biochem, 102, 1033, (1987)]); 베타-카제인 (문헌 [L.Hansson et al, Gene, 139, 193, (1994)]); 피브로넥틴 (문헌 [A.Gutman et al, FEBS Lett., 207, 145, (1996)]); 트롬보스폰딘-1 전구체 (문헌 [V.Dixit et al, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 83, 5449, (1986)]; [R.F.Doolittle, Ann. Rev. Biochem., 53, 195, (1984)]);

[0106]

- 안지오텐신의 기질 또는 억제제인 펩티드, 예컨대

[0107]

안지오텐신 II Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe (문헌 [E. C. Jorgensen et al, J. Med. Chem., 1979, Vol 22, 9, 1038-1044])

[0108]

[Sar, II] 안지오텐신 II: Sar-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Ile (문헌 [R.K. Turker et al., Science, 1972, 177, 1203]),

[0109]

- 안지오텐신 I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu.

[0110]

BTM이 펩티드일 경우, 펩티드의 한쪽 말단 또는 양 말단, 바람직하게는 양 말단 모두 대사 억제기 (M^{IG})에 접합되어 있다. 펩티드의 양 말단 모두가 상기 방식으로 보호된다는 것은 생체내 영상화 적용을 위해 중요한데, 그 이유는 만약 그렇지 않았다면, 빠른 대사가 일어났을 것이고, 그 결과 BTM 펩티드에 대한 선택적 결합 친화도는 상실될 수 있기 때문이다. "대사 억제기" (M^{IG})"라는 용어는 아미노 말단 또는 카르복시 말단에서 BTM 펩티드에 대한 효소, 특히 펩티다제, 예컨대 카르복시펩티다제의 대사를 억제시키거나, 저해시키는 생체적합성 기를 의미한다. 상기와 같은 기는 생체내 적용을 위해 특히 중요하고, 이는 당업자에게 주지되어 있으며, 적합하게는 펩티드 아민 말단일 경우:

[0111]

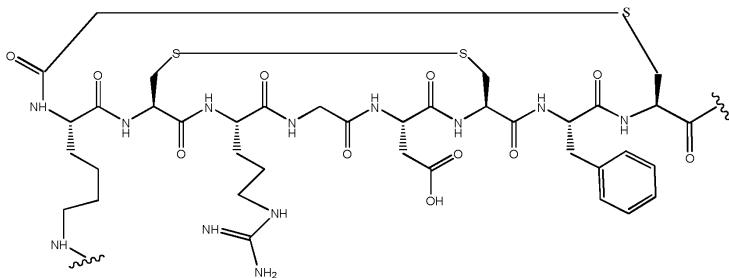
N -아실화된 기 $-NH(C=O)R^G$ (여기서, 아실기 $-(C=O)R^G$ 는 C_{1-6} 알킬기, C_{3-10} 아릴기로부터 선택되는 R^G 를 가지거나, 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 빌딩 블록을 포함한다)로부터 선택된다. 적합한 PEG 기는 상기 링커기 (L^1)에 대해 기술되어 있다. 바람직한 상기와 같은 PEG 기는 (상기) 화학식 Bio1 또는 Bio2의 생조절제이다. 바람직한 상기와 같은 아미노 말단 M^{IG} 기는 아세틸, 벤질옥시카르보닐 또는 트리플루오로아세틸, 가장 바람직하게 아세틸이다.

[0112]

펩티드 카르복실 말단에 적합한 대사 억제기로는 카르복스아미드, *tert*-부틸 에스테르, 벤질 에스테르, 시클로헥실 에스테르, 아미노 알콜 또는 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 빌딩 블록을 포함한다. BTM 펩티드의 카르복시 말단 아미노산 잔기에 적합한 M^{IG} 기는, 아미노산 잔기의 말단 아민이 C_{1-4} 알킬기, 바람직하게 메틸기로 N -알킬화되어 있는 것이다. 바람직한 상기와 같은 M^{IG} 기는 카르복스아미드 또는 PEG이고, 가장 바람직한 상기와 같은 기는 카르복스아미드이다.

[0113]

바람직한 BTM 펩티드는 RGD 펩티드이다. 더욱 바람직한 상기와 같은 RGD 펩티드는 하기 단편을 포함한다:

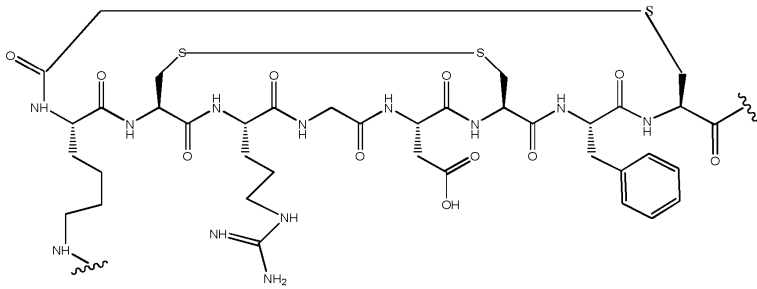


[0114]

가장 바람직한 상기와 같은 RGD 펩티드는 BTM이 하기 화학식 BTM1의 펩티드일 때이다:

[0115]

[0116] <화학식 BTM1>

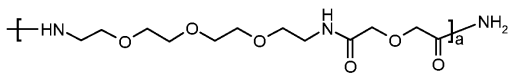


BTM1

[0117]

[0118] 상기 식에서,

[0119] X⁷은 -NH₂ 또는 PEG1이고, 여기서, PEG1은



PEG1

이고,

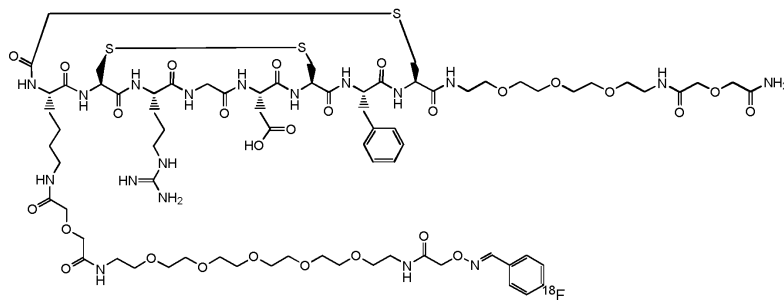
[0120]

[0121] 여기서, a는 1 내지 10의 정수이다.

[0122] 화학식 BTM1에서, X⁷은 바람직하게 PEG1이고, 여기서 'a'는 바람직하게 1이다.

[0123] 화학식 I의 바람직한 영상화제는 하기 화학식 IA의 [¹⁸F]-플루시클라티드이다:

[0124] <화학식 IA>



[0125]

[0126] 제1 측면의 조성물에서, X¹이 ¹⁸F일 경우, X²는 바람직하게 -N⁺(CH₃)₃, -N(CH₃)₂ 또는 -OH이고, 더욱 바람직하게는 X²가 상기 3개의 기 모두가 동일하도록 화학식 II의 다가 유도체가 존재한다. 이는 (하기) 제3 측면에서 더욱 상세하게 기술된다.

[0127] 바람직하게, 영상화제 조성물은 멸균 형태로, 즉 (하기) 제2 측면에 기술되는 바와 같이, 포유동물 투여에 적합한 형태로 제공한다.

[0128] 제1 측면의 영상화제 조성물은 (하기) 제4 측면에 기술되는 바와 같이 수득될 수 있다.

[0129] 제2 측면에서, 본 발명은 생체적합성 담체와 함께, 포유동물 투여에 적합한 형태의, 제1 측면의 영상화제 조성물을 포함하는 방사성 제약 조성물을 제공한다.

[0130] 제2 측면에서 영상화제 조성물의 바람직한 측면은 (상기) 제1 측면에서 정의된 바와 같다.

[0131] "포유동물 투여에 적합한 형태의"라는 어구는, 조성물이 멸균성이고, 발열원 무함유이며, 독성이거나 유해한 효과를 초래하는 화합물은 포함하지 않으며, 생체적합성인 pH (대략 pH 4.0 내지 10.5)에서 제제화되었다는 것을 의미하는 것이다. 상기 조성물은 생체내에서 색전증을 유발할 수 있는 위험 요소가 될 수 있는 미립자는 포함하지 않으며, 생물학적 유체 (예컨대, 혈액)와의 접촉시 침전이 일어나지 않도록 제제화된다. 상기 조성물은

또한 생물학적으로 적합성인 부형제만을 함유하고, 바람직하게는 등장성을 띤다.

- [0132] "생체적합성 담체"란, 유체, 특히 액체이고, 여기서 영상화제는 조성물이 생리학적으로 허용가능하도록, 즉 독성 없이 또는 과도한 불편함 없이 포유동물 신체로 투여될 수 있도록 그 중에 현탁되거나 바람직하게는 용해될 수 있다. 생체적합성 담체는 적합하게는 주사용 담체 액체, 예컨대 멸균성 발열원 무함유 주사용수; 수용액, 예컨대 염수 (이렇게는 주사용 최종 생성물이 등장성이 되도록 균형을 맞출 수 있음); 생체적합성 완충제를 포함하는 완충제 수용액 (예컨대, 포스페이트 완충제); 1종 이상의 장성(tonicity)-조절 물질 (예컨대, 생체적합성 반대이온과의 혈장 양이온의 염), 당류 (예컨대, 글루코스 또는 수크로스), 당 알콜류 (예컨대, 소르비톨 또는 만니톨), 글리콜류 (예컨대, 글리세롤), 또는 다른 비-이온성 폴리올 물질 (예컨대, 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 등)의 수용액이다. 바람직하게, 생체적합성 담체는 발열원 무함유 주사용수, 등장성 염수 또는 포스페이트 완충제이다.
- [0133] 영상화제 및 생체적합성 담체는 각각 멸균 완전성 및/또는 방사성 안전성을 유지할 수 있게 하는 밀봉된 용기 및 임의적으로는 불활성 헤드스페이스 기체 (예컨대, 질소 또는 아르곤)를 포함하는 적합한 바이알 또는 용기로 공급되는데, 이와 동시에 주사기 또는 캐뉼러에 의해 용액의 첨가 및 배출이 가능하다. 바람직한 상기와 같은 용기에는 격막-밀봉된 바이알이 있으며, 여기서 기밀 폐쇄부는 오버실 (overseal; 전형적으로는 알루미늄 재질)을 사용하여 크립핑된다(crimped). 상기 폐쇄부 (예컨대, 크립핑된 격막 밀봉 폐쇄부)는 멸균 완전성을 유지하면서 피하 주사침을 사용한 하나 또는 다수개의 편칭에 적합하다. 상기 용기는, 상기 폐쇄부가 필요한 경우에 (예컨대, 헤드스페이스 기체를 교환하거나 용액을 탈기시키기 위해) 진공을 견뎌낼 수 있고, 외부 대기 기체, 예컨대 산소 또는 수증기의 유입을 허용하지 않으면서, 압력 감소와 같은 압력 변화를 견뎌낼 수 있다는 추가의 이점을 가진다.
- [0134] 바람직한 다수 투여 (multiple dose) 용기는 다수개의 환자 투여량을 함유하는 단일의 벌크 바이알 (예컨대, 부피 10 내지 50 ml)을 포함하고, 이에 의해 1회 환자 투여량이 임상적 상황에 적합하도록 제조물의 생존가능한 수명 동안에 다양한 시간 간격을 두고 임상 등급의 주사기 내로 배출될 수 있다. 사전 충전된 주사기는 1회 인건 투여량, 또는 "단위 투여량 (unit dose)"을 함유하도록 설계되며, 따라서 이는 바람직하게는 일회용 또는 임상적 사용에 적합한 다른 주사기이다. 본 발명의 제약 조성물은 바람직하게 단일 환자에 적합한 투여량을 가지며, 상기 기술된 바와 같이, 적합한 주사기 또는 용기에 제공된다.
- [0135] 제약 조성물은 추가의 임의적 부형제, 예컨대 항균 보존제, pH 조정제, 충전제, 방사성 보호제, 가용화제 또는 삼투압 조정제를 함유할 수 있다. "방사성 보호제"라는 용어는 고도로 반응성인 자유 라디칼, 예컨대 물의 방사선 분해로부터 생성되는 산소-함유 자유 라디칼을 포획하여 분해 반응, 예컨대 산화환원 과정을 억제시키는 화합물을 의미한다. 본 발명의 방사성 보호제는 아스코르브산, 파라-아미노벤조산 (즉, 4-아미노벤조산), 겐티스산 (즉, 2,5-디히드록시벤조산) 및 그의 생체적합성 양이온과의 염으로부터 적합하게 선택된다. "생체적합성 양이온" (B^c)이라는 용어는 이온화된, 음으로 하전된 기와 염을 형성하는 양으로 하전된 반대이온을 의미하는데, 여기서 상기 양으로 하전된 반대이온은 또한 비독성이고, 따라서 포유동물 신체, 특히 인간 신체에 투여하기에 적합하다. 적합한 생체적합성 양이온의 예로는 알칼리 금속 나트륨 또는 칼륨; 알칼리 토금속 칼슘 및 마그네슘; 및 암모늄 이온을 포함한다. 바람직한 생체적합성 양이온은 나트륨 및 칼륨이고, 가장 바람직한 것은 나트륨이다.
- [0136] 방사성 제약 조성물이 화학식 IA의 플루시클라티드를 포함할 경우, 조성물은 바람직하게 방사성 보호제를 포함한다. 바람직하게, 방사성 보호제는 나트륨 4-아미노벤조에이트 (Na-pABA)이다. 사용하기에 바람직한 Na-pABA의 농도는 1 내지 3 mg/mL이고, 바람직하게는 1.5 내지 2.5 mg/mL, 가장 바람직하게는 약 2.0 mg/mL이다.
- [0137] "가용화제"라는 용어는 용매 중에서의 영상화제의 용해도를 증가시키는, 조성물 중에 존재하는 첨가제를 의미한다. 바람직한 상기와 같은 용매는 수성 매질이고, 따라서 상기 가용화제는 바람직하게 수용해도를 개선시킨다. 적합한 상기와 같은 가용화제로는 C₁₋₄ 알콜; 글리세린; 폴리에틸렌 글리콜 (PEG); 프로필렌 글리콜; 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트; 소르비탄 모노올레이트; 폴리소르베이트; 폴리(옥시에틸렌)폴리(옥시프로필렌)폴리(옥시에틸렌) 블록 공중합체 (플루로닉스(Pluronic)TM); 시클로텍스트린 (예컨대, 알파, 베타 또는 감마 시클로텍스트린, 히드록시프로필-β-시클로텍스트린 또는 히드록시프로필-γ-시클로텍스트린) 및 레시틴을 포함한다.
- [0138] "항균 보존제"라는 용어는 잠재적으로 유해한 미생물, 예컨대 세균, 효모 또는 곰팡이의 성장을 억제하는 제제를 의미한다. 항균 보존제는 또한 사용되는 투여량에 따라 약간의 항균 특성을 나타낼 수 있다. 본 발명의 항

균 보존제(들)의 주된 역할은 제약 조성물 중 임의의 상기 미생물의 성장을 억제시키는 것이다. 그러나, 항균 보존제는 또한 투여 이전에 상기 조성물의 제조에 사용되는 키트의 1종 이상의 구성 성분 중에서 잠재적으로 유해한 미생물의 성장을 억제시키기 위해 임의적으로 사용될 수 있다. 적합한 항균 보존제(들)로는 파라벤, 즉 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸 파라벤 또는 그의 혼합물; 벤질 알콜; 페놀; 크레졸; 세트리미드 및 티오머살을 포함한다. 바람직한 항균 보존제(들)는 파라벤이다.

[0139] "pH 조정제"라는 용어는 조성물의 pH가 인간 또는 포유동물에게로의 투여에 대한 허용 한계값 (대략 pH 4.0 내지 10.5) 내에 있도록 하는 유용한 화합물 또는 화합물의 혼합물을 의미한다. 적합한 상기 pH 조정제로는 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 트리신, 포스페이트 또는 TRIS [즉, 트리스(히드록시메틸)아미노메탄], 및 제약상 허용되는 염기, 예컨대 탄산나트륨, 중탄산나트륨 또는 그의 혼합물을 포함한다. 조성물이 키트 형태로 사용될 때, pH 조정제는 임의적으로 개별 바이알 또는 용기에 제공되어, 상기 키트의 사용자가 다단계 과정의 일부로서 pH를 조정할 수 있다.

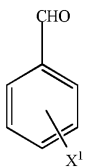
[0140] "충진제"라는 용어는 제조 및 동결건조 동안 물질의 취급을 용이하게 할 수 있는 제약상 허용되는 벌크화제 (bulking agent)를 의미한다. 적합한 충진제로는 무기 염, 예컨대 염화나트륨, 및 수용성 당 또는 당 알콜, 예컨대 수크로스, 말토스, 만니톨 또는 트레할로스를 포함한다.

[0141] 제4 측면의 방사성 제약 조성물은 무균 제조 조건하에서 (즉, 클린룸에서) 제조하여 원하는 멸균성의 발열원 무함유 생성물을 수득할 수 있다. 영상화제와 접촉하는 장치의 일부인 것 (예컨대, 바이알)과 함께, 중요한 구성 성분, 특히 관련 시약이 멸균성인 것이 바람직하다. 구성 성분 및 시약은, 예컨대 감마선 조사, 오토클레이빙, 건조 가열 또는 화학적 처리 (예컨대, 에틸렌 옥시드를 사용함)를 사용하는 최종 멸균화, 멸균 여과를 비롯한, 당업계에 공지되어 있는 방법에 의해 멸균화될 수 있다. 사전에 미리 일부 구성 성분을 멸균화시킴으로써, 이를 통해 수행되어야 할 조작 개수를 최소화시키는 것이 바람직하다. 그러나, 예방 조치로, 제약 조성물 제조에서 최종 단계로서 적어도 1회의 멸균 여과 단계를 포함하는 것이 바람직하다.

[0142] 본 발명의 방사성 제약 조성물은 (하기) 제4 측면에서 기술되는 바와 같이 제조될 수 있다.

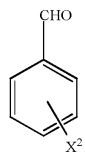
[0143] 제3 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 B의 하나 이상의 비-방사성 알데히드와 함께, 하기 화학식 A의 방사성 알데히드를 포함하는 조성물이며, 조성물 중에 존재하는 화학식 B의 유도체의 전체 농도는 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 미만인, 조성물을 제공한다:

[0144] <화학식 A>



[0145]

[0146] <화학식 B>



[0147]

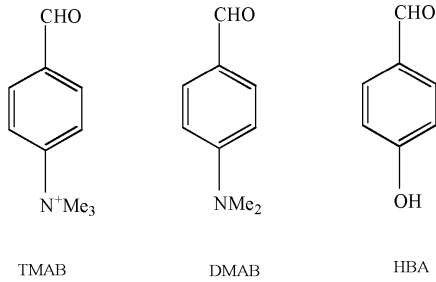
[0148] 상기 식에서, X^1 및 X^2 는 제1 측면에서 정의된 바와 같다.

[0149] 제3 측면에서 X^1 및 X^2 의 바람직한 측면은 (상기) 제1 측면에서 정의된 바와 같다. 바람직하게, 존재하는 화학식 B의 유도체의 농도는 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 미만, 더욱 바람직하게는, 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 미만이다.

[0150] 제3 측면의 조성물에서, X^1 은 바람직하게 ^{18}F 이고, X^2 는 $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 또는 $-\text{OH}$ 또는 그의 조합이다.

[0151] 따라서, 본 발명자들은 [^{18}F]-플루오로벤즈알데히드 ([^{18}F]-FBA)가 TMAB로부터 통상의 방사성 합성법에 의해 제조될 때, 존재하는 화학적 불순물 중 95% 초과인 것이 하기 TMAB, DMAB 및 HBA로부터 유도된다는 것을 발견하게

되었다:



[0152]

[0153]

추가로, 화학식 II의 불순물은 $X^2 = -SCH_3$ 또는 $-OC_6H_4CHO$ 인 경우에 생길 수 있다. $X^2 = -SCH_3$ 종은 DMSO가 용매로서 사용되는 경우에 생길 수 있다. 이러한 불순물은 LC-MS 연구에서 확인되었다.

[0154]

상기 불순물들은 사실상 모두 알데히드이기 때문에, 관심의 대상이 되는 관능화된 BTM을 가진 [^{18}F]-FBA와 경쟁한다. 상기의 것은

[0155]

(i) 방사성 수율 감소;

[0156]

(ii) 전체 화학적 순도 감소;

[0157]

(iii) 그로부터 생성된 영상화제 조성물은 [화학식 II의] 다중 BTM-관능화된 불순물을 함유할 수 있고, 이로써 생체내 원하는 생물학적 부위에 대하여 ^{18}F -표지화된 영상화제와 경쟁할 수 있다는 점

[0158]

과 같은, 3가지 중요한 효과를 나타낸다.

[0159]

따라서, (iii)의 이슈는 생체내 영상화제의 유효성에 영향을 줄 수 있다. 추가로, 화학식 I 및 II의 BTM 접합체는 유사한 구조를 가지고 있기 때문에, 일단 형성되어 조성물 중에 존재하고 나면, 분리하기가 어려울 수 있다. 방사성 동위원소 ^{18}F 의 반감기는 109분이고, 그 결과 조성물을 정제하는 데 소요되는 시간 또한 (i)의 이슈에 영향을 준다. 그러므로, 제3 측면의 개선된 조성물이 제1 측면의 영상화제 조성물을 얻는 데 중요한 기여자이다.

[0160]

제3 측면의 조성물은 바람직하게 용액으로서 제공된다. 상기 용액에 적합한 용매는 에탄올, 수성 에탄올, 아세토니트릴 또는 수성 아세토니트릴이다. 바람직한 용매는 에탄올 또는 수성 에탄올이고, 더욱 바람직하게는 에탄올이다.

[0161]

제3 측면의 조성물은 하기와 같이 수득될 수 있다. ^{18}F -알데히드를 수산화암모늄 용액으로 희석한 후, MCX 혼합 모드 고체상 추출 (SPE) 카트리지가 (워터스(Waters)로부터 상업적으로 입수가 가능, 파트 #186003516) 상에서 정제한다. 혼합 모드 카트리지는 양이온 교환 크로마토그래피 및 역상 (C18) 크로마토그래피 특징, 둘 모두를 가진다. 조 혼합물의 알칼리성 조건을 통해 HBA, 크립토폭스 222 및 탄산칼륨은 임의의 반응하지 않는 [^{18}F]-플루오라이드 이온과 함께 확실하게 이온화된 형태로 존재하게 된다. 그 결과, 이들은 카트리지에 결합하지 않고, 따라서 세척됨으로써 폐기된다. 이어서, [^{18}F]-알데히드를 에탄올을 이용하여 MCX 카트리지에서 용리시킨다. 양이온성 중, 예컨대 TMAB는 카트리지에 보유되지만, FBA가 유기 용매로 용리될 경우에는 용리되지 않는다.

[0162]

제4 측면에서, 본 발명은

[0163]

(i) 아미노옥시기 또는 히드라진기로 관능화된 생물학적 표적화 잔기를 제공하는 단계;

[0164]

(ii) 단계 (i)로부터의 관능화된-생물학적 표적화 잔기를 제3 측면의 방사성 알데히드 조성물과 반응시켜 화학식 A의 방사성 알데히드가 상기 아미노옥시기 또는 히드라진기와 축합되도록 하여 방사성 표지화된 생물학적 표적화 분자를 수득하는 단계

[0165]

를 포함하는, 생물학적 표적화 분자를 방사성 표지화하는 방법을 제공한다.

[0166]

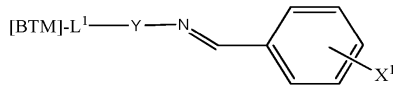
제4 측면의 생물학적 표적화 잔기 (BTM), 및 그의 바람직한 실시양태는 (상기) 제1 측면에 기술되어 있는 바와 같다.

[0167] "아미노옥시기"라는 용어는 BTM이 그에 공유결합으로 접합된 아미노옥시 작용기를 가진다는 것을 의미한다. 상기 기는 화학식 -O-NH₂, 바람직하게 -CH₂O-NH₂의 것이고, 아미노옥시기의 아민이 옥심 에테르를 형성하는 알데히드와의 축합 반응에서 Lys 아민기보다 반응성이 더 크다는 이점을 가진다.

[0168] "히드라진기"는 화학식 -NH-NH₂의 작용기이다.

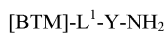
[0169] 제4 측면의 방법에서, 관능화된 생물학적 표적화 잔기는 바람직하게 하기 화학식 IV의 화합물이고, 방사성 표지화된 생성물은 하기 화학식 I의 화합물이다:

[0170] <화학식 I>



[0171]

[0172] <화학식 IV>



[0173]

[0174] 상기 식에서,

[0175] BTM, L¹, Y 및 X¹ 및 그의 바람직한 측면은 (상기) 제1 측면에 기술되어 있다.

[0176] 제4 측면의 방법은 바람직하게 자동 합성기 장치를 사용하여 수행된다. "자동 합성기"라는 용어는 사티아머티 (Satyamurthy) 등의 문헌 [Clin.Positr.Imag., 2(5), 233-253 (1999)]에 기술된 바와 같이, 유닛 작동의 원리에 기초한 자동 모듈을 의미한다. '유닛 작동'이라는 용어는 복잡한 공정들이 다수의 물질에 적용될 수 있는 일련의 간단한 작동 또는 반응으로 축소된 것을 의미한다. 상기 자동 합성기는 본 발명의 방법에 대해, 특히 방사성 제약 조성물이 요구되는 경우에 바람직하다. 자동 합성기는 GE 헬스케어(GE Healthcare); CTI 인코퍼레이티드(CTI Inc.); 이온 빔 어플리케이션즈 S.A.(Ion Beam Applications S.A.: 벨기에 베-1348 루바인-라-누베 체민 두 시클로트론 3 소재); 레이테스트(Raytest: 독일), 및 바이오스캔(Bioscan: 미국)을 비롯한 다수의 공급업체로부터 상업적으로 이용가능하다 (문헌 [Satyamurthy et al, 상기]).

[0177] 시판용 자동 합성기는 또한 방사성 제약 제조의 결과물로서 생성된 액체 방사성 폐기물에 대해 적합한 용기를 제공한다. 자동 합성기는 적합하게 구성된 방사성 작업 셀에서 사용되도록 설계되었기 때문에, 전형적으로 방사선 차폐물이 장착되어 있지 않다. 잠재적인 방사선량으로부터 작업자를 보호하기 위해 적합한 방사선 차폐물 뿐만 아니라, 화학적 및/또는 방사성 증기를 제거하기 위해 환기 장치가 방사성 작업 셀에 장착되어 있다. 자동 합성기는 바람직하게 카세트를 포함한다. "카세트"라는 용어는 합성기의 이동식 부품의 기계식 구동이 카세트 외부로부터, 즉 외부에서 카세트가 작동하도록 조절하는 방식으로, 자동 합성기 장치 (상기 정의된 바와 같음)에 제거가능하고 상호교환가능하게 장착되도록 설계된 장치의 부품을 의미한다. 적합한 카세트는, 역 격막-밀봉된 바이알의 주사침 펀칭에 의해, 또는 기밀 결합 조인트에 의해, 시약 또는 바이알이 부착될 수 있는 포트에 각각 연결되어 있는 선형 배열의 밸브를 포함한다. 각 밸브는 자동 합성기의 대응 이동식 아암과 접속하는 암-수(male-female) 조인트를 가진다. 따라서, 카세트가 자동 합성기에 부착될 때, 아암의 외부 회전이 밸브의 개폐를 조절한다. 자동 합성기의 추가의 이동식 부품은 주사기 플런저 팁에 클립고정되도록 하여, 이에 따라 주사기 배럴을 상승시키거나 하강시키도록 설계한다.

[0178] 카세트는 전형적으로 몇몇 위치에는 시약이 부착될 수 있고, 몇몇은 시약 바이알 또는 크로마토그래피 카트리지 (예컨대, 고체상 추출 또는 SPE)의 주사기 부착에 적합한 것인, 다용도의 것이다. 카세트는 항상 반응 용기를 포함한다. 상기 반응 용기의 부피는 바람직하게 0.5 내지 10 mL, 더욱 바람직하게는 0.5 내지 5 mL, 가장 바람직하게는 0.5 내지 4 mL이고, 카세트의 3개 이상의 포트가 이에 연결되도록 구성되어 시약 또는 용매가 카세트 상의 다양한 포트로부터 이송될 수 있도록 한다. 바람직하게, 카세트는 선형 배열로 15 내지 40개, 가장 바람직하게는 20 내지 30개의 밸브를 가지며, 25개의 밸브를 가지는 것이 특히 바람직하다. 카세트 밸브는 각각 동일한 것이 바람직하고, 3-방향 밸브가 가장 바람직하다. 카세트는 방사성 제약 제조에 적합하도록 설계되고, 따라서 제약 등급의 물질로부터, 및 이상적으로는 또한 방사선 분해에 대하여 내성을 띠는 물질로부터 제작된다.

[0179] 본 발명의 바람직한 자동 합성기는 주어진 배치의 방사성 불소화된 방사성 제약의 제조를 수행하는 데 필요한

시약, 반응 용기 및 장치 모두를 포함하는 1회용 또는 단일 사용용 카세트를 포함한다. 상기 카세트는, 간단하게 카세트를 교체하는 것만으로 교차 오염의 위험을 최소화하면서, 자동 합성기가 각종 상이한 방사성 제약물 제조할 수 있는 유연성을 가진다는 것을 의미한다. 카세트 접근법은 또한 셋업의 간소화에 기인한 작업자 오류의 위험 감소; GMP (우수 의약품 제조 관리 기준) 준수 개선; 다중-추적자 수행능; 생산 가동 사이의 신속한 교환; 카세트 및 시약에 관한 사전 가동되는 자동 진단 검사; 수행하고자 하는 합성법에 대한 화학적 시약의 자동 바코드 상호 체크; 시약 추적성; 단일 사용, 및 그에 따른 교차-오염의 위험 부재, 내변조성 및 남용 방지라는 이점을 가진다.

[0180] 제2 측면의 방사성 제약 조성물을 제조하기 위한 자동 합성기 장치의 용도가 본 발명의 상기 측면에 포함된다.

[0181] 제4 측면의 방법은 바람직하게 멸균 방식으로 수행되고, 이로써 제2 측면의 제약 조성물이 수득된다. 본 발명의 방사성 제약 조성물은 하기와 같은 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다:

[0182] (i) ^{18}F -방사성 표지화 단계를 클린룸 환경에서 수행하는 것인 무균 제조 기법;

[0183] (ii) 무균 제조법을 사용하지 않고 ^{18}F -방사성 표지화를 수행한 후, 이어서 최종 단계에서 멸균화시키는[예컨대, 감마선 조사, 오토클레이빙, 건조 가열 또는 화학적 처리(예컨대, 에틸렌 옥시드를 사용함)에 의해] 것인 최종 멸균화;

[0184] (iii) 적합한 전구체 및 임의적 부형제를 포함하는 멸균성의 비-방사성 키트 체제를 적합한 ^{18}F 공급물과 반응시키는 것인 키트 방법;

[0185] (iv) ^{18}F -방사성 표지화 단계를 자동 합성기 장치를 사용하여 수행하는 것인 무균 제조 기법.

[0186] 방법 (iv)가 바람직하다.

[0187] 아미노옥시 관능화된 펩티드는 포에트코(Poethko) 등 (문헌 [J.Nucl.Med., 45, 892-902 (2004)]), 슈르마허 (Schirmacher) 등 (문헌 [Bioconj.Chem., 18, 2085-2089 (2007)]), 솔바켄(Solbakken) 등 (문헌 [Bioorg.Med.Chem.Lett, 16, 6190-6193 (2006)] 또는 글레이저 등 (문헌 [Bioconj. Chem., 19, 951-957 (2008)])의 방법에 의해 제조될 수 있다. 아미노옥시기는 임의적으로 2단계로 접합될 수 있다. 먼저, 상응하는 *N*-보호된 아미노옥시 카르복실산 또는 *N*-보호된 아미노옥시 활성화된 에스테르를 펩티드에 접합시킨다. 두 번째로, 중간체 *N*-보호된 아미노옥시 관능화된 펩티드를 탈보호화시켜 원하는 생성물을 수득한다 (상기 인용된 솔바켄 및 글레이저의 논문 참조). *N*-보호된 아미노옥시 카르복실산, 예컨대 Boc-NH-O-CH₂(C=O)OH 및 Eei-N-O-CH₂(C=O)OH는, 예컨대 노바바이오캡 및 아이리스(IRIS)로부터 상업적으로 이용가능하다.

[0188] 히드라진 작용기를 폴리펩티드에 접합시킨 후, 방사성 표지화된 알데히드와 축합시켜 히드라진-연결된 접합체를 형성하는 방법은 Y. 왕(Y.Wang) 등 (문헌 [Nucl.Med.Biol., (2011) "Synthesis and evaluation of [^{18}F]exendin (9-39)..." epublished before print]) 뿐만 아니라, 메스자로스(Meszaros) 등 (문헌 [Inorg.Chim.Acta, 363(6), 1059-1069 (2010)])에 의해 기술된 바 있다.

[0189] "보호된"이라는 용어는 보호기가 사용된 것을 의미한다. "보호기"라는 용어는 바람직하지 못한 화학 반응을 억제시키거나 저해시키지만, 분자의 나머지 부분은 변형시키지 않는 충분히 온화한 조건하에서 해당 작용기로부터 절단될 수 있게 충분한 반응성을 띠도록 설계된 기를 의미한다. 탈보호화 후, 원하는 생성물이 수득된다. 아민 보호기는 당업자에게 주지되어 있고, 이는 Boc (여기서, Boc는 *tert*-부틸옥시카르보닐이다); Eei (여기서, Eei는 에톡시에틸리딘이다); Fmoc (여기서, Fmoc는 플루오레닐메톡시카르보닐이다); 트리플루오로아세틸; 알릴 옥시카르보닐; Dde [즉, 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소시클로헥실리덴)에틸] 또는 Npys (즉, 3-니트로-2-피리딘 술페닐)로부터 적합하게 선택된다. 추가의 보호기 사용에 관해서는 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Edition, Theodorora W. Greene and Peter G. M. Wuts, [Wiley Blackwell, (2006)]]에 기술되어 있다. 바람직한 아민 보호기는 Boc 및 Eei이고, 가장 바람직한 것은 Eei이다.

[0190] 화학식 $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_2\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_q\text{CH}_2\text{CHO}$ (여기서, q 는 3이다)의 ^{18}F -표지화된 지방족 알데히드는 글레이저 등의 방법 (문헌 [Bioconj.Chem., 19(4), 951-957 (2008)])에 의해 수득될 수 있다. [^{18}F]-플루오로벤즈알데히드는 글레

이저 등의 방법 (문헌 [J.Lab.Comp.Radiopharm., 52, 327-330 (2009)])에 의해 수득될 수 있다. ^{18}F -플루오로 벤즈알데히드에 대한 전구체, 즉 $\text{Me}_3\text{N}^+-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CHO}.\text{CF}_3\text{SO}_3^-$ 은 하카(Haka) 등의 방법 (문헌 [J.Lab.Comp.Radiopharm., 27, 823-833 (1989)])에 의해 수득될 수 있다.

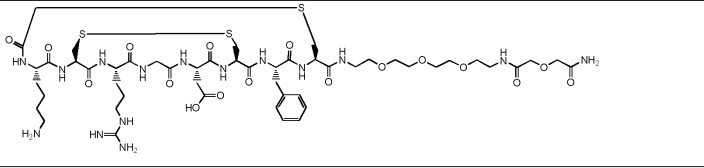
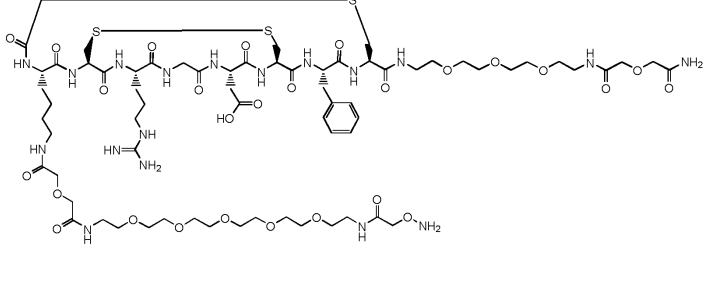
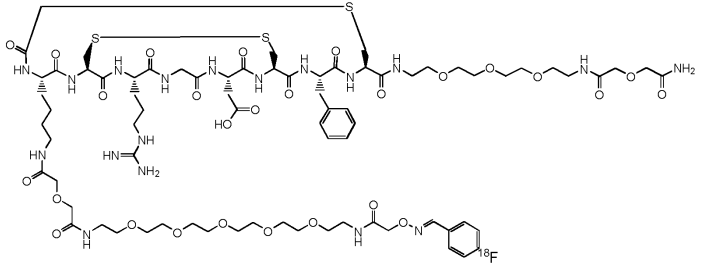
- [0191] 다른 펩티드는 문헌 [P. Lloyd-Williams, F. Albericio and E. Girald; *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*, CRC Press, 1997]에 기술되어 있는 바와 같은, 고체상 펩티드 합성법에 의해 수득될 수 있다.
- [0192] 제5 측면에서, 본 발명은, 제2 측면의 방사성 제약 조성물이 분포되어 있는 인간 또는 동물 신체의 적어도 일부의 PET 영상을 생성하는 단계를 포함하는, 인간 또는 동물 신체를 영상화하는 방법을 제공한다.
- [0193] 제5 측면에서 방사성 제약 조성물 및 그 안의 영상화제의 바람직한 측면은 각각 본 발명의 제2 및 제1 측면에 기술되어 있다 (상기 참조).
- [0194] 제5 측면의 방법은 바람직하게는 신체 일부가 인테그린 $\alpha_v\beta_3$ 수용체의 비정상적인 발현이 관여하는, 특히 혈관 신생이 관여하는 질환 상태에 있는 경우에 수행된다. 상기 질환 상태로는 류마티스 관절염, 건선, 재협착, 망막병증 및 종양 성장을 포함한다. 제5 측면의 바람직한 상기와 같은 질환 상태는 종양 성장이다. 인테그린 $\alpha_v\beta_3$ 발현의 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화는 비어(Beer) 등 (문헌 [Theranostics, 1, 48-57 (2011)])에 의해 기술된 바 있다.
- [0195] 제5 측면의 영상화 방법은 임의적으로 약물로 인간 또는 동물 신체를 처리하였을 때의 효과를 반복적으로 모니터링함으로써 수행될 수 있는데, 상기 영상화는 상기 약물 처리 전 및 처리 후, 및 임의적으로 상기 약물로 처리하는 동안에도 또한 영향을 받을 수 있다. 질환이 말기에 도달하기 이전에 악성 성장이 확실하게 조절될 수 있도록 항혈관신생 압 요법의 효능을 조기에 모니터링하는 것이 특히 관심의 대상이 된다. 상기의 요법 모니터링 영상화는 베틀 등 (문헌 [J.Nucl.Med., 52(3), 424-430 (2011)]) 및 모리슨(Morrison) 등 (문헌 [J.Nucl.Med., 50(1), 116-122 (2009)] 및 [Theranostics, 1, 149-153 (2011)])에 의해 기술된 바 있다.
- [0196] 제5 측면의 방법은 바람직하게 방사성 제약 조성물이 포유동물 신체에 사전에 투여됨으로써 수행된다. "사전에 투여된다"는 것은, 영상화제가, 예컨대 정맥내 주사로서 환자에게 제공되는, 임상가가 관여하는 단계가 영상화 이전에 이미 수행되었다는 것을 의미하는 것이다.
- [0197] 제6 측면에서, 본 발명은 제5 측면의 영상화 방법을 포함하는, 인간 또는 동물 신체를 진단하는 방법을 제공한다.
- [0198] 제6 측면의 영상화제, 조성물 및 영상화 방법의 바람직한 측면은 (상기) 제1, 제2, 및 제5 측면에 기술되어 있는 바와 같다.
- [0199] 본 발명은 하기 상세히 설명되는 비-제한적인 실시예에 의해 예시된다. 실시예 1은 본 발명의 전구체 1의 합성을 제공한다. 실시예 2는 [^{18}F]-FBA의 합성을 제공하고, 실시예 3은 [^{18}F]-FBA의 정제를 통해 본 발명의 조성물을 수득하는 것을 제공한다. 실시예 4는 본 발명의 정제된 [^{18}F]-FBA 조성물을 사용하는 본 발명의 화합물 1의 합성을 제공한다. 실시예 5는 본 발명의 방법을 사용하여 불순물 종을 제거하는 방법을 보여주는 불순물 분석법을 제공한다.
- [0200] 약어.
- [0201] 통상의 1문자 또는 3문자 아미노산 약어가 사용된다.
- [0202] Ac: 아세틸.
- [0203] ACN: 아세토니트릴.
- [0204] Boc: *tert*-부틸옥시카르보닐 .
- [0205] DIPEA: *N,N*-디이소프로필에틸아민.
- [0206] DMAB: 4-(디메틸아미노)벤즈알데히드.
- [0207] DMSO: 디메틸설폭사이드.

- [0208] EOS: 합성 종결.
- [0209] FBA: 4-플루오로벤즈알데히드.
- [0210] Fmoc: 9-플루오레닐메톡시카르보닐.
- [0211] HATU: *O*-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-*N,N,N',N'*-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트.
- [0212] HBA: 4-히드록시벤즈알데히드.
- [0213] HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피.
- [0214] MCX: 혼합 모드 양이온 교환 카트리지.
- [0215] NMM: *N*-메틸모르폴린.
- [0216] NMP: 1-메틸-2-피롤리디논.
- [0217] PBS: 포스페이트 완충처리된 염수.
- [0218] PyBOP: 벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트.
- [0219] RAC: 방사성 농도.
- [0220] RCP: 방사 화학적 순도.
- [0221] RT: 실온.
- [0222] SPE: 고체상 추출.
- [0223] *t*Bu: *tert*-부틸.
- [0224] TFA: 트리플루오로아세트산.
- [0225] TFP: 테트라플루오로페닐.
- [0226] TMAB: 4-(트리메틸암모늄)벤즈알데히드.
- [0227] T_R : 체류 시간.

[0228]

표 1

본 발명의 화합물

명칭	구조
펩티드 1	
전구체 1	
화합물 1	

[0229]

실시예 1: 전구체 1의 합성

[0230]

표준 펩티드 합성법을 사용하여 펩티드 1을 합성하였다.

[0231]

(a) 1,17-디아지도-3,6,9,12,15-펜타옥사헵타데칸.

[0232]

[0233] 건식 THF (125 mL) 중의 건식 헥사에틸렌 글리콜 (25 g, 88 mmol) 및 메탄술폰닐 클로라이드 (22.3 g, 195 mmol)의 용액을 아르곤하에 유지시키고, 얼음/물 배쓰 중에서 0°C로 냉각시켰다. 건식 THF (25 mL) 중의 트리 에틸아민 (19.7 g, 195 mmol)의 용액을 45분 동안에 걸쳐 적가하였다. 1시간 후, 냉각 배쓰를 제거하고, 추가의 4시간 동안 반응물을 교반하였다. 이어서, 물 (55 mL)을 혼합물에 첨가한 후, 탄산수소나트륨 (5.3 g, pH 8 이 될 때까지) 및 아지드화나트륨 (12.7 g, 195 mmol)을 첨가하였다. 증류에 의해 THF를 제거하고, 24시간 동안 수용액을 환류시켰다 (2개의 층이 형성되었다). 혼합물을 냉각시키고, 에테르 (100 mL)를 첨가하고, 수성상을 염화나트륨으로 포화시켰다. 상기 상을 분리하고, 수성상을 에테르 (4 x 50 mL)로 추출하였다. 조합된 유기상을 염수 (2 x 50 mL)로 세척하고, 건조시켰다 (MgSO₄). 여과하고, 용매를 증발시켜 황색 오일 26 g (89%)을 수득하였다. 생성물을 추가의 정제없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0234]

(b) 17-아지도-3,6,9,12,15-펜타옥사헵타데칸아민.

[0235]

5% HCl (200 mL) 중의 1,17-디아지도-3,6,9,12,15-펜타옥사헵타데칸 (25 g, 75 mmol)의 왕성하게 교반된 현탁액에 에테르 (150 mL) 중의 트리페닐포스핀 (19.2 g, 73 mmol)의 용액을 실온에서 3시간 동안에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 추가의 24시간 동안 교반하였다. 상기 상을 분리하고, 수성상을 디클로로메탄 (3 x 40 mL)으로 추출하였다. 수성상을 얼음/물 배쓰에서 냉각시키고, 고체 수산화칼륨을 첨가함으로써 pH를 pH 12로 조정하였다. 수성상을 농축시키고, 생성물을 디클로로메탄 (150 mL) 중에 용해시켰다. 유기상을 건조시키고 (Na₂SO₄), 농축시켜 황색 오일 22 g (95%)을 수득하였다. 전기분무 질량 분석법 (ESI-MS)에 의해 생성물을 확인하였다 (MH⁺ 계산치: 307.19; 관측치 307.4). 조 오일을 추가의 정제없이 다음 단계에서 사용하였다.

[0236]

(c) 23-아지도-5-옥소-6-아자-3,9,12,15,18,21-헥사옥사트리코산산.

- [0237] 디글로로메탄 (100 mL) 중의 17-아지도-3,6,9,12,15-펜타옥사헵타데칸아민 (15 g, 50 mmol)의 용액에 디글리콜산 무수물 (아크로스(Acros), 6.4 g, 55 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새도록 교반하였다. ESI-MS 분석법에 의해 반응을 모니터링하고, 추가의 시약을 첨가하여 반응이 완료되도록 유도하였다. 용액을 농축시켜 황색 잔류물을 수득하고, 이를 물 (250 mL) 중에 용해시켰다. 디글로로메탄을 사용하여 밤새도록 연속 추출함으로써 수성상으로부터 생성물을 단리시켰다. 건조시키고 용매를 증발시켜 18 g (85%)의 수율을 수득하였다. ESI-MS 분석법에 의해 생성물의 특징을 규명하였다 (MH⁺ 계산치: 423.20; 관측치 423.4). 생성물을 추가의 정제없이 다음 단계에서 사용하였다.
- [0238] (d) 23-아미노-5-옥소-6-아자-3,9,12,15,18,21-헥사옥사트리코산산.
- [0239] 23-아지도-5-옥소-6-아자-3,9,12,15,18,21-헥사옥사트리코산산 (9.0 g, 21 mmol)을 물 (50 mL) 중에 용해시키고, H₂(g)-Pd/C (10%)를 사용하여 환원시켰다. ESI-MS 분석을 통해 원하는 생성물로 완전하게 전환된 것으로 나타날 때까지 반응을 진행시켰다 (MH⁺ 계산치: 397.2; 관측치 397.6). 조 생성물을 추가의 정제없이 다음 단계에서 사용하였다.
- [0240] (e) (Boc-아미노옥시)아세틸-PEG(6)-디글리콜산.
- [0241] 디옥산 (2.5 mL) 중 디시클로헥시카르보디이미드 (515 mg, 2.50 mmol)의 용액을 디옥산 (2.5 mL) 중 (Boc-아미노옥시)아세트산 (477 mg, 2.50 mmol) 및 N-히드록시숙신이미드 (287 mg, 2.50 mmol)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 1시간 동안 RT에서 교반하고, 여과하였다. 물 (5 mL) 중 23-아미노-5-옥소-6-아자-3,9,12,15,18,21-헥사옥사트리코산산 (1.0 g, 2.5 mmol) 및 NMM (278 μ l, 2.50 mmol)의 용액을 함유하는 반응 용기로 여액을 옮겨 놓았다. 혼합물을 RT에서 30분 동안 교반하였다. ESI-MS 분석을 통해 원하는 생성물로 완전하게 전환된 것으로 나타났다 (MH⁺ 계산치: 570.28; 관측치 570.6). 조 생성물을 분취용 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 (Phenomenex Luna) 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 검출: 214 nm, 구배: 60분 동안에 걸쳐 0-50% B, 여기서 A = H₂O/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA, 유속: 10 mL/분)에 의해 정제하여 500 mg (38%)의 순수한 생성물을 수득하였다. 생성물을 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 3 μ C18 (2), 50 x 2.00 mm, 검출: 214 nm, 구배: 10분 동안에 걸쳐 0-50% B, 여기서 A = H₂O/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA, 유속: 0.75 mL/분, Rt = 5.52분)에 의해 분석하였다. NMR 분석법에 의해 추가로 확인하였다.
- [0242] (f) (Boc-아미노옥시)아세틸-PEG(6)-디글리콜산의 펩티드 1로의 접합
- [0243] (Boc-아미노옥시)아세틸-PEG(6)-디글리콜산 (0.15 mmol, 85 mg) 및 PyAOP (0.13 mmol, 68 mg)를 DMF (2 mL) 중에 용해시켰다. NMM (0.20 mmol, 20 μ l)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. DMF (4 mL) 중의 펩티드 1 (0.100 mmol, 126 mg) 및 NMM (0.20 mmol, 20 μ l)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 25분 동안 교반하였다. 추가의 NMM (0.20 mmol, 20 μ l)을 첨가하고, 혼합물을 추가의 15분 동안 교반하였다. DMF를 진공에서 증발시키고, 생성물을 10% 아세토니트릴-물에 용해시키고, 분취용 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 검출: UV 214 nm, 구배: 40분 동안에 걸쳐 5-50% B, 여기서 A = H₂O/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA, 유속: 10 mL/분)에 의해 정제하여 100 mg의 반순수한 생성물을 수득하였다. TFA 대신 HCOOH를 이용하는 2차 정제 단계 (구배: 0-30% B, 그 외의 조건은 상기와 동일)를 수행하여 89 mg (50%)을 수득하였다. 생성물을 HPLC (칼럼: 페노메넥스 루나 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 검출: UV 214 nm, 구배: 10분 동안에 걸쳐 0-30% B, 여기서 A = H₂O/0.1% HCOOH 및 B = 아세토니트릴/0.1% HCOOH, 유속: 0.3 mL/분, Rt: 10.21분)에 의해 분석하였다. ESI-MS를 사용하여 추가의 생성물에 대한 특징을 규명하였다 (MH₂²⁺ 계산치: 905.4, 관측치: 906.0).
- [0244] (g) 탈보호화
- [0245] 5% 물을 함유하는 TFA를 10 mg의 펩티드에 첨가함으로써 탈보호화를 수행하였다.
- [0246] **실시예 2: ¹⁸F-벤즈알데히드 (¹⁸F-FBA)의 방사성 합성**
- [0247] 은 표적과 함께 GEMS PET트레이스(GEMS PETtrace) 사이클로트론을 사용하여 [¹⁸O](p,n) [¹⁸F] 핵 반응을 통해 [¹⁸F]-플루오라이드를 제조하였다. 사용된 표적의 전체 부피는 1.5 내지 3.5 mL였다. 방사성 플루오라이드는 워터스 QMA 카트리지(카보네이트로 사전에 조절됨) 상에 포획되었고, 물 (80 μ l) 및 아세토니트릴 (320 μ l) 중의 크립토폭스_{2.2.2} (4 mg, 10.7 μ M) 및 탄산칼륨 (0.56 mg, 4.1 μ M)의 용액을 이용하여 플루오라이드를 용리

시켰다. 질소를 사용하여 용액을 QMA 카트리지로부터 반응 용기로 구동시켰다. [¹⁸F]-플루오라이드를 안정한 질소 스트림 및 진공하에 120°C에서 9분 동안 건조시켰다. DMSO (1.1 mL) 중의 트리메틸암모늄 벤즈알데히드 트리플레이트 (문헌 [Haka et al, J.Lab.Comp.Radiopharm., 27, 823-833 (1989)]) (3.3 mg, 10.5 μM)를 건조된 [¹⁸F]-플루오라이드에 첨가하고, 혼합물을 105°C에서 7분 동안 가열하여 4-[¹⁸F]-플루오로벤즈알데히드를 제조하였다.

[0248] **실시예 3: ¹⁸F-플루오로벤즈알데히드 (¹⁸F-FBA)의 정제**

[0249] 실시예 2로부터 얻은 조 표지 혼합물을 수산화암모늄 용액으로 희석시키고, MCX+ SPE 카트리지 (FAST랩 (FASTlab) 순서의 일부로서 물로 사전에 조절됨) 상에 로딩하였다. 카트리지를 물로 세척하고, 질소 기체로 건조시킨 후, 에탄올 (1.8 mL) 중에서 반응 용기로 다시 4-[¹⁸F]-플루오로벤즈알데히드의 용리를 수행하였다. 용리를 위해 에탄올 총 부피를 2.2 mL로 하여 사용하였지만, 초기 부분 (0.4 mL)은 [¹⁸F]-FBA를 함유하지 않았는 바, 이를 폐기하였다. 4 내지 7% (봉피 보정됨)의 [¹⁸F] 방사성이 카트리지 상에 포획된 상태 그대로 유지되었다.

[0250] **실시예 4: [¹⁸F]-플루시클라티드 (화합물 1)의 제조.**

[0251] 아닐린 히드로클로라이드의 존재하에 에탄올 (1.8 mL) 및 물 (1.8 mL)의 용액 중에서 전구체 1 (5 mg)과 [¹⁸F]-FBA의 접합을 수행하였다. 반응 혼합물을 60°C에서 5분 동안 유지시켰다.

[0252] **실시예 5: 불순물 분석.**

[0253] SPE 정제 전후로 벤즈알데히드 유형의 불순물의 수준은 하기 표 1에 제시된 바와 같이 측정되었다 (5,250 μg의 TMAB 트리플레이트 염; mol. wt 313에 기초함).

[0254] **표 1**

화합물	μmol
TMAB (초기)	16.7
SPE (MCX) 정제 후 회수된 벤즈알데히드	1.5
SPE (MCX) 정제에 의해 제거된 벤즈알데히드	15.2

[0255] 따라서, SPE 방법을 통해 불순물 벤즈알데히드가 91% 제거되었다.

서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> GE Healthcare Limited
- <120> Radiotracer Compositions
- <130> PZ10109 WO
- <140> PCT/EP2011/072352
- <141> 2011-09-12
- <160> 10
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 1

Tyr Ile Gly Ser Arg

1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 2

Pro Asp Ser Gly Arg

1 5

<

210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 3

Ile Lys Val Ala Val

1 5

<210> 4

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 4

Leu Arg Glu

1

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<400> 5
 Lys Cys Gln Ala Gly Thr Phe Ala Leu Arg Gly Asp Pro Gln Gly
 1 5 10 15

<210> 6
 <211> 3

<212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> synthetic peptide

<400> 6
 Arg Gly Asp

1
 <210> 7
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> synthetic peptide

<400> 7
 Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe

1 5
 <210> 8
 <211> 8

<212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)

<223> Sar
 <400> 8

Xaa Arg Val Tyr Ile His Pro Ile
 1 5

<210> 9
 <211>
 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> THIOETH

<222> (1)..(8)

<220><221> DISULFID

<222> (2)..(6)

<400> 9

Lys Cys Arg Gly Asp Cys Phe Cys

1 5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> synthetic peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> -COCH2OCH2CONHCH2[CH2OCH2]5-CH2NH(CO)CH2-O-N=C-C6H4-18F

substituent on the Lys epsilon amine group

<220><221> THIOETH

<222> (1)..(8)

<220><221> DISULFID

<222> (2)..(6)

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> -CH2[CH2OCH2]3-CH2NH(CO)-CH2OCH2CONH2 substituent on the

N-terminus

<400> 10

Lys Cys Arg Gly Asp Cys Phe Cys

1 5