(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。Int. Cl. [7]
C07F 13/00

(45) 공고일자 2001년11월22일
(11) 등록번호 10-0293777
(24) 등록일자 2001년04월06일

(21) 출원번호 10-1993-0007574
(22) 출원일자 1993년05월03일

(65) 공개번호 특1993-0023028
(43) 공개일자 1993년12월18일

(30) 우선권주장 92/09641.1 1992년05월02일 영국(GB)

(73) 특허권자
아노메드 인코포레이티드
위샤르트 아이 시
캐나다 브이2와이 1엔5 랭그리 비씨 64애비뉴 20353,200

(72) 발명자
게리제임스브릿져
미합중국19010펜실베니아브린모우르몽고메리애비뉴900아파트먼트602
페드로에밀리오헤르난데쯔
미합중국19356펜실베니아멜버른데이지레인3
존데이비드히긴스III
미합중국19380펜실베니아웨스트체스터노오쓰뉴스트리트10
스코트케니드라센
미합중국19380펜실베니아웨스트체스터이스트에반스스트리트300아파트먼트씨124

(74) 대리인
박종혁
장두현
장용식

심사관 : 조희원

(54) 방사성표지화에있어서의개선

요약

리간드 L, 예컨대 트리신은 단일클론성 항체 따위의 거대분자를 방사성 표지하기 위해^{99m} Tc와 유용한 착체를 형성한다.

$(R^3)(R^4)(R^5)$ C-N(R)-C$(R^1)(R^2)$ -$(CH_2)_n$-COOH L

여기서 R은 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬 또는 알킬카르복시이거나, 또는 R과 R^1은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라- 메틸렌기를 형성하거나, 또는 R과 R^3은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라- 메틸렌기를 형성하고, R^1과 R^2는 동일하거나 다르며, 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 알킬카르복시, 알킬아민, 알킬티올, 아릴로부터 선택되거나, 또는 R^1과 R^2는 함께 테트라- 또는 펜타- 메틸렌기를 형성하고, R^3 및 R^4 및 R^5는 동일하거나 다르며 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 알킬카르복시로부터 선택되고, 단 R^3, R^4 및 R^5 중 적어도 하나는 히드록시알킬이고, n은 0,1 또는 2이다.

대표도

도 1

명세서

[발명의 명칭]

방사성 표지화에 있어서의 개선 수용액에서 행해진다, 그러나 생성 학테의 순로 및 안정성에 중대한 부작용이 없으면 다른 환원시스템도 사용할 수 있으나 현재 주석이온 환원이 가장 실용적인 방법으로 여겨진다, 이 방법은 일반적으로 알려진 조건하에서 그리고 실온에서 잘 수행된다.

본 발명은 본 발명의 착체와 개질된 거대분자로부터 제조되는 표시된 거대분자도 제공한다. 리간드 L은 표지된 거대분자상에 공동리간드로 남아있을 수도 있지만 이것은 아직 입증되지 않았다.

여기에 개시된 리간드중 몇몇은 신규한 것이며 특히 이후에 디신(dicine)이라고 칭할 N-[비스(히드록시메틸)메틸]글리신은 신규한 것이다. 일반식 I

$(HOCH_2)_2CH-N(R)-C(R^1)(R^2)-(CH_2)_n-COOH$ I

의 리간드 계열은 신규한 것이며 따라서 본 발명의 일부를 구성한다고 여겨진다.

상기식에서, R,R^1,R^2 및 n은 앞에서 정의한 것과 같다.

식 I 의 리간드는 숙련된 합성화학자가 일반적으로 이용할 수 있는 방법, 적당하게는 비스 (히드록시메틸) 메틸아민을 일반식 II

$X-C(R^1)(R^2)-(CH_2)_n-COOH$ II

의 기능화된 산 유도체와 엽기존재하에 반응시켜 제조될 수 있다.

상기식에서 R,R^1,R^2 및 n은 앞에서 정의한 것과 같고 X는 반응성 기이며 예컨대 할로겐, 메틸-, 또는 톨루엔- 솔포네이트 또는 트리플루오토메틸-술포네이트이다.

본 발명은 첨부된 도면을 참고로 하여 이하 실시예에서 더욱 상세히 설명할 것이다.

이하의 본 발명의 설명은 실례가 되는 것이며 본 발명을 제한하는 것이 아니다.

[실시예 1]

a)트리신 /$SnCl_2$ 동결건조된 키트의 제조

아르곤하에서 냉각 및 비등시켜 탈산호화한 크로마토그래피급(유리주중류되고 여과됨)물 98ml를 측정하여 3,60g의 N-[트리스 (히드록시메틸) 메틸]글리신 (트리신)을 함유한, 산 세척하여 행군 다음 건조시킨 150ml 에를렌마이어 플라스크에 넣었다.

약 2,3ml의 1N NaOH 용액을 사용하여 용액의 pH를 7.1로 조절하였다.플라스크를 기밀 격막으로 밀봉하고 카눌라에 의해 아르곤으로 60분동안 더 피어징 하였다. 탈산소화된 0.1N NCl중의 $SnCl_2 \cdot 2H_2O$, 50mg/ml의 용액을 아르곤하에서 제조하고 80μℓ를 트러신용액에 첨가하였다. 트리신/$SnCl_2$ 용액 1밀리리터를 이르곤이 채워지고, 격막으로 뚜껑이 된 바이알에 주사기로 옮기고 냉동시킨 다음 계속해서 동결건조시켰다. 동결건조된 바이알을 아르곤하에서 뚜껑을 덮고 꽉 눌러 pH를 7.1에서 38mg의 트리신과 0.04mg의 $SnCl_2$ 최종 조성물을 얻었다.

b)트리신/$SnCl_2$ 동결건조된 키트의 복원

^{00m}Tc-트리신의 생성

동결건조된 트리신/$SnCl_2$ 조성물의 격막으로 뚜껑이 된 바이암에 $^{00m}TcO4^-$ (20mCl/ml)1ml를 주입하고 주입 즉시 동결건조된 물질이 모두 용해될때가지 격렬하게 흔들었다. 용해시 Te-브리신 샘플을 분석하기 전에 실온에 15 내지 30분동안 두었다. Te-트리신 선구물질 착체의 생성에 대한 분석은 TTLC-SG 크로마토그래피 플레이트에서 수행하였다. 8×1cm 플레이트를 사용하여 Te-콜로이드, 그리고 용매 앞부분에서 > 99% Te-트리신을 얻었다. 10×1cm 플레이트를 사용하여 Te-트리신 용액 2.5μℓ샘블을 1cm에 점을 찍고 2:1 아세톤:디클로로메탄 용액으로 용출하여 원점에서 > 99%00mTc-^{트리신} ,그리고 용매 앞부분에서 (1% TCO4-를 얻었다.)

면역 글로불린(IgG)(MV= 약 155,000)을 EPA 1384 769의 실시예 9에 따라 SHNH로 포합하여 하기 시험에 사용하였다.

[실시예 2]

SHNH 개질된 IgG를 방사성 표지화하는 속도를 3개의 Te- 선구물질 착체: Te-트리신,Te-글루코헵토네이드 및 Te-사카레이트에 관해 측정하였다.

15mCi/ml의 각 Te-선구굴정 100μℓ를 4.9㎎/ml의 IgG-SHNH 동부피와 혼합하고 실온에서 한시간동안 배양하였다. 각 용액을 1, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분에서 샘플링하고 표준기법으로 IgG-SHNH 크로마토그래피로 분석하였다. 또한 Te-트리신을 통부피의 개질되지 않은 IgG 와 혼합하여 단백질에 대한 그것의 비득이적 방사성 표지화를 측정하였다. 세 1도에 나타낸 결과는 수분애에 Te- 트리신을 동부피의 개질되지 않은 IgG 와 혼합하여 단백질에 대한 그것으리 비득이적 방사성 표지를 측정하였다. 제1도에 나타낸 결과는 수분내에 Te-트리신은 90%보다 많은 단백질을 방사성 표지화하는 반면 Te-트리신에 있어서는 30분내에 최대치에 이른다. Te-사카레이트는 IgG-SHNH에 대한 방사성 표지화 선구물질로서 가장 효과가 적다. 단백질상의 히드라지노-니코틴아미드 링커의 부재시 Te-브리신은 단지 개질되지 않은 IgG를 최대4%까지 방사성 표지화할 뿐이다. 따라서 Te-선구물질 착체 생성에 트리신을 이용하면 글루코헵토네이트를 이용하는 것에 비해 개질된 IgG의 표지화를 현저히 개선시킨다.

[실시예 3]

SHNH로 개질된 IgG를 방사성 표지화하는 퍼센트수몰은 2개의 Te-선구물질;상기 실시예 2에 따라 측정된 종래 선구물질중 더 나은 것인 Te-글루코헵토네이트와 Te-트리신에 관해 용액의 비활성 (단백질 mg당 ^{00m}Tc mCi)의 함수로서 측정하였다.

[도면의 간단한 설명]

제 1도는 IgG-SHNH와 3개의 다른 Tc- 선구물질 착체의 실온에서의 방사성 표지화 속도를 비교한 것이고,

제 2도는 다양한 비활성 수준에서 두개의 Tc- 선구물질 착체로 IgG 의 방사성 표지화를 비교한 것이고,

제 3도는 비활성의 함수로서 두개의 Tc- 선구물질 착체와 IgG 의 일련의 희석액의 방사성 표지화를 비교한 것이다.

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 방사성 표지화의 개선에 관한 것이며 더욱 특별하게는 개선된 방사성 동위원소 착체에 관한 것이다.

단일클론성 항체 따위의 몇몇 거대분자들의 높은 생물학적 특이성 때문에 그것들은 진단목적 또는 치료를 위한 영상화를 위해 특정 생체내 부위를 방사성 동위원소가 표적으로 삼도록하는데 이용되어왔다. 진단 핵약제에 테크네튬(technetium)의 준안정성 동위원소 ^{99m}Tc 를 사용하는 것은 정착되어 있으며 레늄의 베타-방출 동위원소 ^{186}Re, ^{188}Re 및 ^{189}Re 도 치료에 사용될 수 있다.

테크네튬을 거대분자에 부착시키는 여러 방법이 과학 및 특허 문헌에 기재되어 있다. 이 분야를 논의하고 있으며 방사성 동위원소 착체에 더욱 용이하게 결합하도록 거대분자를 개질시키는 방법을 교시하고 있는 본 발명자의 EPA 0 384 796 를 참조하기로 한다. 예컨대 방사성 표지된 거대분자를 제조하기 위해 본 분야에서 현재 선호하고 있는 방법은 킬레이트화 선구물질의 존재하에 퍼테크네테이트 이온 $Tc^{VII}O_4^-$ 를 환원시켜 불안정한 Tc- 선구물질 착체를 형성한 다음 개질된 단백질상의 금속 결합기와 반응시켜 Tc- 단백질 포합체를 형성하는 것이다.

이러한 유형의 킬레이트화 선구물질은 네크네튬에 대해 다수 기재되어 있는데 소디움 글루코헵토네이트, 소디움 타르트레이트, 소디움 글루코네이트, 소디움 사카레이트 및 소디움 1,1,3,3-프로필렌테트라포스포네이트가 있다.

현재 선호하고 있는 킬레이트화 선구물질은 소디움 글루코헵토네이트이다. 상기한 EPA 0384 769에 개시되어 있는 것처럼 히드라지노-니코틴아미드(SHNH)기로 기능적으로 개질된 단백질을 방사성 표지하는데 Tc- 글루코헵토네이트를 사용하는 것은 60분동안 배양하는 것을 필요로 하며 >95% 의 방사성 표지 수율이 달성된다 할지라도 이것은 <10mgCi/mg 단백질의 상당히 낮은 비활성(specific activity) 에 있는 것이다. 본 발명의 목적은 새로운 Tc- 착체를 제공함으로써 배양에 필요한 시간 및/또는 비활성을 개선시키는 것이다.

본 발명은 리간드 L을 가진 테크네튬 착체를 제공한다.

$(R^3)(R^4)(R^5)C-N(R)-C(R^1)(R^2)-(CH_2)_n-COOH$ L

여기서 R은 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬 또는 알킬카르복시이거나 또는 R과 R^1은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라메틸렌기를 형성할 수도 있거나, 또는 R과 R^2은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라메틸렌기를 형성할 수도 있고,

R^1과 R^2는 동일하거나 다르며, 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 알킬카르복시, 알킬아민, 알킬티올, 아릴로부터 선택되거나, 또는 R^1과 R^2는 함께 테트라- 또는 펜타- 메틸렌기를 형성하고,

R^3 및 R^4 및 R^5는 같거나 다르며 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 알킬카르복시로부터 선택되고, 단 R^3, R^4 및 R^5 중 적어도 하나는 히드록시알킬이고, n은 0,1 또는 2이다.

R에 대해 바람직한 알킬 및 치환알킬기는 탄소수가 1 내지 3인 알킬이다.

바람직하게는 R^1과 R^2가 알킬 또는 치환알킬일 경우 그것들을 탄소원자수가 1 내지 4 이다. 바람직한 아릴기는 페닐 및 벤질이다. 바람직하게는 R^3 및 R^4 및 R^5가 알킬 또는 치환알킬기일때 그것들은 탄소원자수가 1 내지 3이다.

바람직하게는 R, R^1 및 R^2 중 적어도 하나는 수소이고 R^3, R^4 및 R^5 중 적어도 하나는 히드록시메틸이다. 특히 바람직한 리간드는 N-[트리스 (히드록시메틸) 메틸] 글리신인데 이것은 트리신으로도 알려져 있으며 이후부터 이 명칭을 사용할 것이다. 다른 바람직한 리간드 L은 R, R^1 및 R^2 가 모두 수소이며 R^3 가 수소, 메틸 또는 에틸이고 R^4 와 R^5 가 히드록시메틸 또는 2-히드록시에틸인 것; R, R^1 및 R^2 가 모두 수소이고, R^3 와 R^4 가 수소 또는 메틸이며 R^5 가 히드록시메틸 또는 2-히드록시에틸인 것이다. 또한 바람직한 것은 R과 R^1 이 둘다 수소이고 R^2 가 메틸히드록시, 히드록시메틸, 카르복시, 카르복시메틸, 2-카르복시에틸, 페닐, 벤질, 1-히드록시에틸 또는 메르캅토메틸이고 R^3, R^4 및 R^5 가 모두 히드록시메틸인 리간드 L; R이 수소이고 R^1 와 R^2 가 둘다 메틸이고, R^3, R^4 와 R^5 가 모두 히드록시메틸인 리간드 L; R이 히드록시, 히드록시메틸 또는 카르복시메틸이고, R^1 와 R^2 가 둘다 수소이고, R^3, R^4 와 R^5 가 모두 히드록시메틸인 리간드 L이다.

본 발명은 또한 일반식 L의 리간드 존재하에 퍼테크네테이트 이온을 환원시키는 것으로 이루어지는, 본 발명의 착체 형성 방법을 제공한다.

본 발명의 방법은 바람직하게는 예컨대 염화제일주석으로서 주석이온을 사용하여

@(p 4, 5, 6 없음)

100, 50, 20, 10, 5 및 2μL의 IgG-SHNH 용액 (단백질중 4.9mg/ml) 을 함유한 두개의 바이알 시리즈를 제조하였다. 한개의 시리즈 바이알 각각에 Tc- 선구물질 각각 100 μL 를 첨가하고 이 바이알을 27℃에서 한시간동안 배양하였다.

시험용액을 표준기법으로 ITLC-SG 크로마토그래피로 분석하였다. 제 2도에 나타낸 결과는 비활성이 25mCi/mg을 넘어 증가할때 방사성 표지화 효율이 현저히 감소하는 Tc- 글루코헵토네이트에 비해 140mCi/mg 만큼 높은 Tc- 트리신 비활성에 대해 >90% 의 단백질 방사성 표지화를 나타낸다. 따라서 Tc- 트리신의 이용은 저농도의 단백질의 방사성 표지화 효율을 개선시킨다.

[실시예 4]

SHNH로 개질된 IgG 를 방사성 표지화하는 퍼센트 수율을 2개의 Tc- 선구물질:

Tc- 트리신과 Tc- 글루코헵토네이트에 관해 단백질의 희석용액에 있어서의 비활성 (단백질 mg당 ^{99m}Tc mCi)의 함수로서 측정하였다. 시트르산염 완충액(pH 5.2)중의 4.9mg/ml의 IgG-SHNH 저장용액으로부터 시트르산염 완충액에 의한 10배 희석용액 및 20배 희석용액을 제조하였다. 각 단백질용액(4.9, 0.49 및 0.25mg IgG-SHNH/ml) 100 μL 샘플을 동부피의 Tc- 선구물질 용액과 혼합하고 37℃에서 한시간동안 배양하였다.

시험용액을 표준기법으로 ITLC/SG 크로마토그래피로 분석하였다. 제 3도에 나타낸 결과는 완충조건하에서 Tc- 트리신은 Tc- 글루코헵토네이트보다 더 큰 비활성에서 90% 보다 더 큰 효율로 개질된 단백질을 계속해서 방사성 표지화함을 나타낸다.

[실시예 5]

N- [비스 (히드록시메틸) 메틸] 글리신 (디신) 의 합성

세리놀(2.5g, 26mMol), 클로로 아세트산(2.4g, 26mMol) 및 NaOH(3.2ml 10N, 52mMol) 을 25ml 물에 용해시키고 실온에서 16시간동안 교반하였다. 이 용액을 회전증발기로 농축시키고 결과의 유리질물질을 메탄올에 재용해시켰다. 아세톤을 첨가하여 백색고체(2g, 51%) 를 얻고 이것을 메탄올/ 에틸아세테이트로부터 재결정하였다.

$C_5H_{11}NO_4$ 에 대해 계산된 질량스펙트럼: 149; 실측치: 150(M+1); D_2O 중의 ^{1}H NMR(.75% TMS): 3.85(m, 4H), 3.80(s, 2H), 3.45(m, 1H)

[실시예 6]

N-히드록시에틸- 글리신 (모노신) 의 합성

글리옥실산 1.0g(10,85mmol), 에탄올아민 0.83ml(13.85mmol) 및 시아노붕소수소화나트륨 0.34g(5mmol)을 실온에 48시간동안 메탄올중에서 교반하였다.

12N HCl 1.0ml(10,85mmol)를 용액에 천천히 가한 다음 이것을 회전증발기에서 농축하였다. 무수에탄올을 신속하게 교반하면서 첨가하여 프릿상에 수집되는 백색고체를 얻고 진공에서 건조시켰다. $C_4H_9NO_3$에 대해 계산된 FAB 질량 스펙트럼: 119; 실측치: 142(m+Na), 164 (m+2Na); D_2O 중의 ^1H NMR:3.85(t, 5, 2H), 3.67(S, 2H), 3.23(t, 5, 2H)

[실시예 7]

N- [트리스 (히드록시메틸) 메틸] 알라닌, 메틸트리신의 합성

2-브로모프로피온산 2.5g(16.4mmol)과 10N NaOH 1.6ml(16.4mmol)을 물 25ml에 용해시키고 N- [트리스 (히드록시메틸) 메틸] 아민 1.98g(16.4mmol) 을 교반하면서 첨가하였다. 용액을 80℃에서 6시간동안 교반하면서 그 동안에 1N NaOH 16ml를 적가하였다. 용매를 회전증발시켜 제거하고 결과의 유리질 물질을 진공에서 하룻밤동안 건조시켰다. $C_7H_{15}NO_5$에 대해 계산된 질량 스펙트럼: 193; 실측치: 194(m+1), 216(m+Na); D_2O중의 ^1H NMR: 3.66(q, 7, 1H), 3.21(s, 6H), 1.13(d, 7, 3H)

[실시예 8]

N- [트리스 (히드록시메틸) 메틸]-β-알라닌 (β-메틸트리신) 의 합성

트리스 1.0g(8.26mMol)과 아크릴로니트릴 1.0ml(16mMol) 을 70℃에서 48시간동안 메탄올 중에서 교반하였다. 용매를 회전증발기에서 제거하고 무수에탄올을 결과의 유리질 물질을 가했다. 용액으로부터 침전된 미반응 트리스를 여과하고 모액을 실리카겔의 쇼트 플러그(short plug)를 통해 여과하였다. 용액을 농축하여 백색의 결정성 고체 A(0.86, 60%) 를 얻었다. ^1H NMR: 3.58(s, 6H), 2.96(t, 7, 2H), 2.65(t, 7, 2H)

0.25g (14mMol)의 A를 16시간동안 진한 HCl 에서 환류하였다. 용매를 회전증발기에서 제거하고 결과의 잔류물을 80℃ 진공하에서 하룻밤 건조시켰다. 용액을 회전증발기에서 증발시켜 회백색의 고체 N- [트리스 (히드록시메틸) 메틸]-β-알라닌 암모늄 클로라이드를 얻었다.

[실시예 9]

Tc-L 선구물질 용액의 제조

72mg/ml 농도의 리간드 L 예컨대 트리신의 선구물질 수용액을 탈산소화되고 금속이 없는 물에서 제조하였다. 1N NaOH 용액으로 선구물질 저장용액을 pH 7.1로 조절하였다. 0.1N HCl중의 $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (10mg/ml) 의 다른 저장용액을 제조하고 선구물질 저장용액에 가하여 그것을 $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ 중의 100μg/ml로 만들었다. 선구물질/ $SnCl_2$ 용액을 같은 비율로 $^{99m}TcO_4^-$ (30mCi/ml) 와 혼합하였다.

실온에서 수분후 Tc- 리간드 선구물질 착체의 형성에 대한 분석을 ITLC-SG 크로마토그래피 플레이트에서 수행하였다. 8 ×1cm 플레이트를 사용하여 Tc- 선구물질 용액의 2.5μL 샘플을 1cm 에 점을 찍고 식염수로 용출하여 원점에서는 Tc- 콜로이드를 그리고 용매 앞부분에서는 Tc- 선구물질 착체를 얻었다. 10 ×1cm 플레이트를 사용하여 Tc- 선구물질 용액의 2.5μL 샘플을 1cm 에 점을 찍고 메틸에틸케톤 또는 2:1 아세톤 : 디클로로메탄 용액으로 용출하여 원점에서는 Tc- 선구물질 그리고 용매 앞부분에서는 ^{99m} TcO_4^- 를 얻었다.

용액중의 테크네튬중의 % 수율로 표 1에 나타낸 결과는 이 방법이 실시예 1, 5, 6 및 7에 예시한 리간드 L의 테크네튬 착체에 공통적이라는 것을 분명히 나타낸다. 트리스 (히드록시메틸) 메틸기 또는 글리신상의 기능적 치환은 여전히 실온에서 수분내에 Tc- 선구물질 착체를 정량적으로 생성한다. 이들 용액은 더 개질할 필요없이 단백질 표지화에 적당하다.

[실시예10]

Tc-L 선구물질에 의한 SHNH로 개질된 IgG 의 방사성 표지화

SHNH (히드라지노- 니코틴아미드기, EPA 0384769 에 기재한 대로임) 로 개질된 IgG 의 방사성 표지화의 효능을 상기 실시예 9에서 생성된 Tc- 선구물질 착체에 대해 측정하였다. 15mCi/ml의 Tc- 선구물질 각각 100μL를 20mM 시트르산염 100mM NaCl 완충액 pH 5.2중의 동부피의 IgG-SHNH, 4.9mg/ml와 혼합하고 실온에서 1시간동안 배양하였다. 이 용액을 60분에서 샘플링하고 ITLC-SG 플레이트, 1×8cm 및 식염수 용리액을 사용하여 박층 크로마토그래피로 분석하였다. Tc- 표지된 IgG-SHNH는 플레이트의 원점에 부착하고 Tc- 선구물질과 ^{99m} TcO_4^- 는 용매 앞부분에 용출된다.

Tc-IgG-SHNH 의 % 수율로서 표 1에 나타낸 (그리고 Tc- 콜로이드에 대해 보정된) 결과는 리간드 L의 폴리히드록시 유사체로부터 배합된 Tc- 선구물질이 정량적으로 IgG-SHNH를 방사성 표지화함을 분명히 나타낸다. 또한 알라닌에 대한 리간드 L중의 글리신의 알킬 개질은 메틸트리신에서 예시된 것처럼 그 효율이 실온에서 감소되기는 하지만 여전히 IgG-SHNH를 정량적으로 방사성 표지화한다. 따라서 Tc- 선구물질 착체의 생성 및 SHNH로 개질된 단백질의 후속 방사성 표지화를 위한 리간드 L의 폴리히드록시 아미노산 유사체의 일반적인 사용이 확실하게 보여진다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

리간드 L을 가진 ^{99m} Tc의 착체

$(R^3)(R^4)(R^5)C-N(R)-C(R^1)(R^2)-(CH_2)_n-COOH$ L

여기서 R은 수소, 히드록시, 알킬, 히드록시알킬 또는 알킬카르복시이거나, 또는 R과 R^1은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라-메틸렌기를 형성하거나, 또는 R과 R^2은 함께 모노-, 디-, 트리-, 또는 테트라-메틸렌기를 형성하고,

R^1과 R^2는 동일하거나 다르며, 수소, 히드록시, 치환 또는 무치환의 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 카르복시알킬, 아미노알킬, 티오알킬, 아릴로부터 선택되거나, 또는 R^1과 R^2는 함께 테트라- 또는 펜타- 메틸렌기를 형성하고,

R^3 및 R^4 및 R^5는 동일하거나 다르며 수소, 히드록시, 치환 또는 무치환의 알킬, 히드록시알킬, 카르복시, 카르복시알킬로부터 선택되고, 단 R^3, R^4, R^5 중 적어도 하나는 히드록시알킬이고, n은 0,1 또는 2이다.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 리간드에서 R, R^1, R^2 중 적어도 하나는 수소인 착체.

청구항 3.

제 2항에 있어서, 리간드에서 R, R^1, R^2중 적어도 두개는 수소인 착체.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 리간드에서 R^3, R^4, R^5중 적어도 하나는 히드록시메틸인 착체.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 리간드 L이 트리신인 착체.

청구항 6.

제 1항에 있어서, 리간드 L이 모노신인 착체.

청구항 7.

제 1항에 있어서, 리간드 L이 디신인 착체.

청구항 8.

제 1항에 있어서, 리간드 L이 메틸트리신인 착체.

청구항 9.

일반식 L의 리간드 존재하에 퍼테크네테이트 이온을 환원시키는 것으로 이루어지는 제 1항의 착체의 제조방법.

청구항 10.

제 1항 내지 제 8항중 어느 한항에 따른 착체로 개질된 거대분자의 생성물로 이루어지는 방사성 표지된 거대분자.

청구항 11.

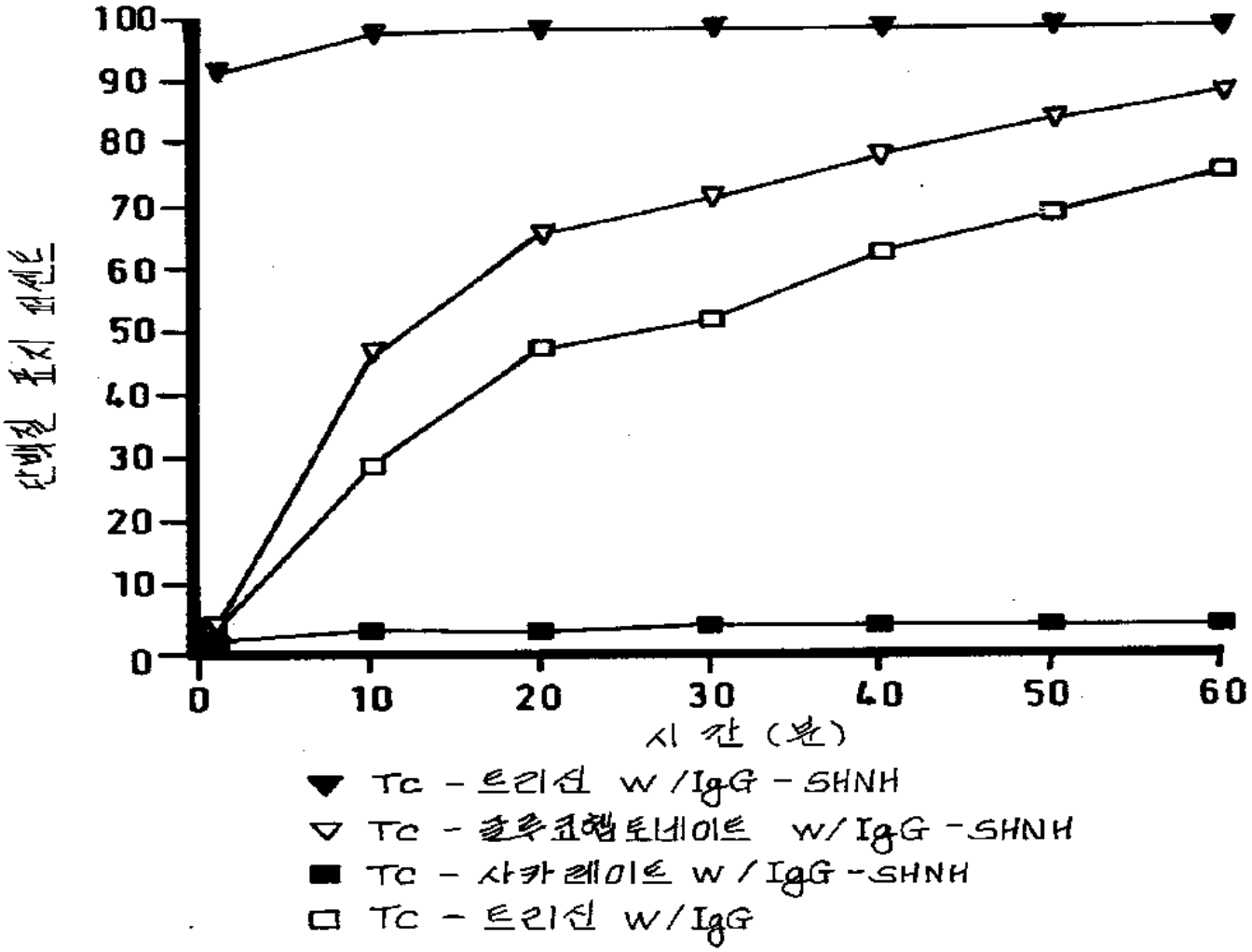
제 10항에 있어서, 개질된 거대분자는 거대분자의 포합체이고 적어도 하나의 유리 히드라진 또는 히드라지드기를 가진 화합물인 방사성 표지된 거대분자.

청구항 12.

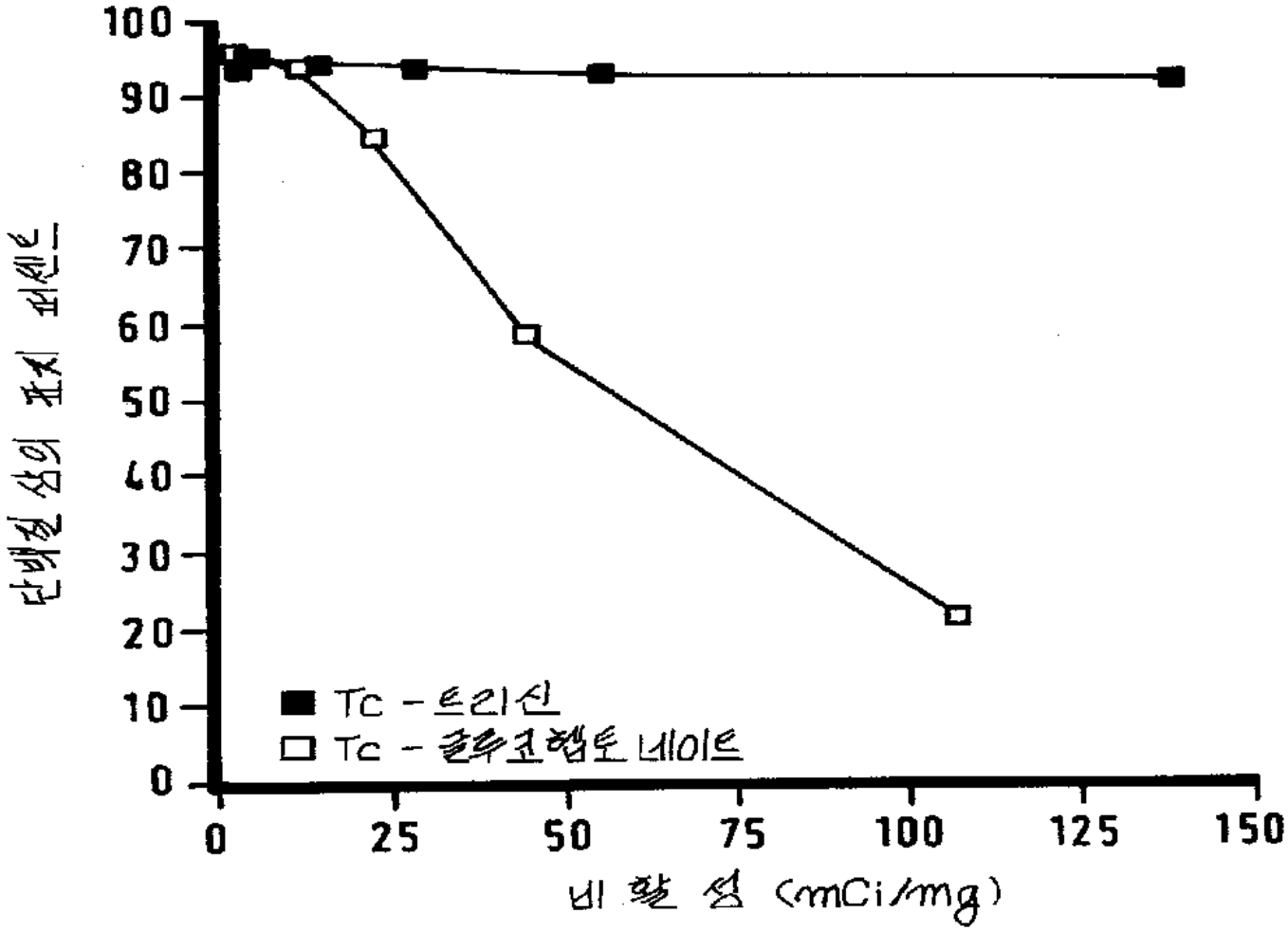
방사성 동위원소로 착체를 생성하기 위한 제 1항에서 정의한 식 L의 리간드의 이용.

도면

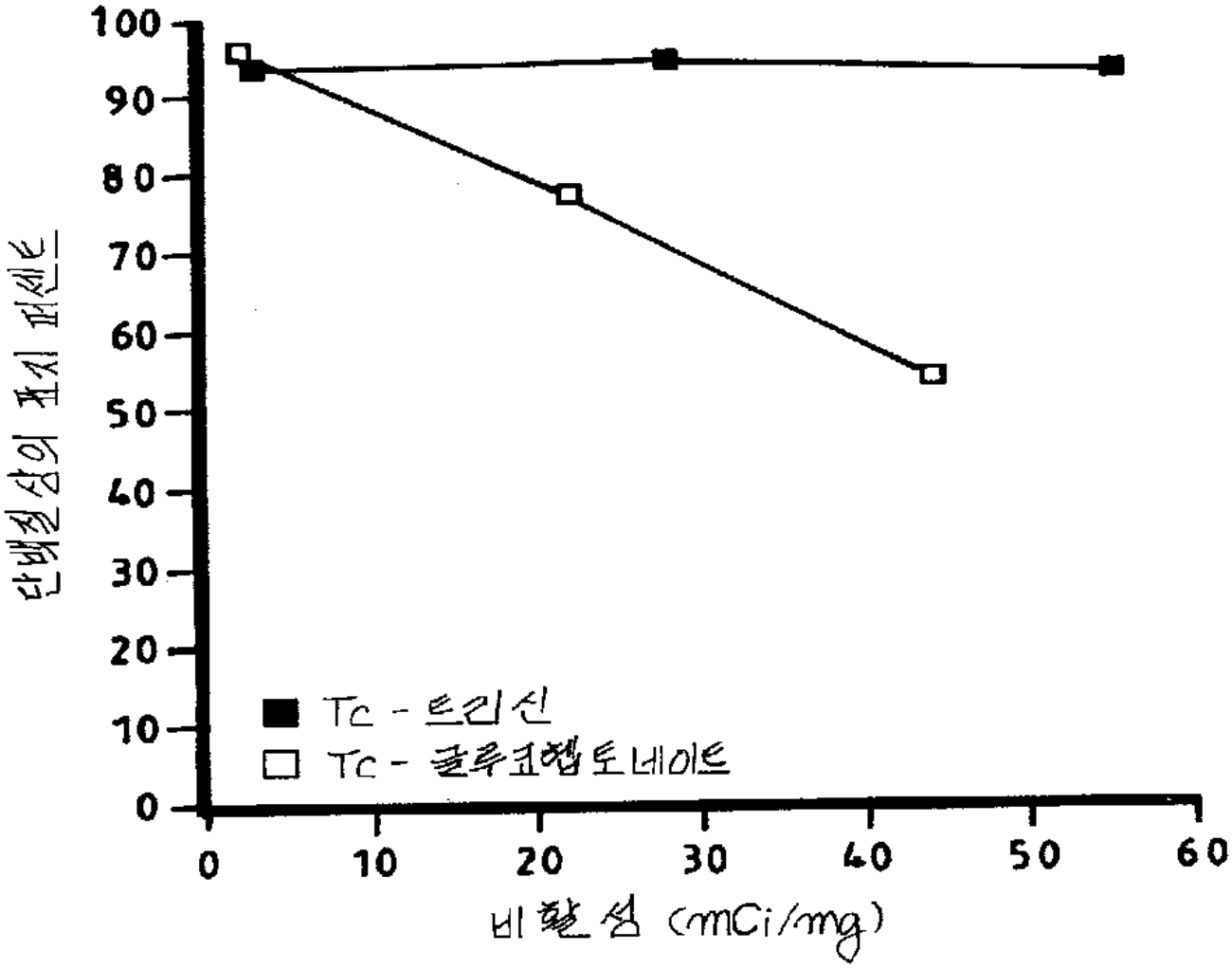
도면 1


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
시 간 (분)
Tc - 트리신 w/IgG - SHNH
Tc - 글루코헵토네이트 w/IgG - SHNH
Tc - 사카레이트 w/IgG - SHNH
Tc - 트리신 w/IgG

도면 2


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
단백질 상의 표지 퍼센트
Tc - 트리신
Tc - 글루코헵토네이트
0
25
50
75
100
125
150
비 활 성 (mCi/mg)

도면 3


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
단백질상의 표지 퍼센트
Tc - 트리신
Tc - 글루코헵토네이트
비활성 (mCi/mg)