



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

C07F 13/00 (2006.01)

A61K 51/08 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0034064

(43) 공개일자 2007년03월27일

(21) 출원번호 10-2007-7001298

(22) 출원일자 2007년01월18일

심사청구일자 없음

번역문 제출일자 2007년01월18일

(86) 국제출원번호 PCT/GB2005/002807

(87) 국제공개번호 WO 2006/008496

국제출원일자 2005년07월19일

국제공개일자 2006년01월26일

(30) 우선권주장 0416062.8 2004년07월19일 영국(GB)

(71) 출원인 지이 헬스케어 리미티드
영국 버킹엄셔어주 에이취피이7 9엔에이 리틀 첼폰트 아머삼 플레이스

(72) 발명자 스토리, 안쏘니 이몬
영국 에이치피7 9엘엘 애머삼 버킹엄셔 화이트 라이언 로트 더그로브 센
터 지이 헬스케어 리미티드
와드스워쓰, 해리
영국 에이치피7 9엘엘 애머삼 버킹엄셔 화이트 라이언 로트 더그로브 센
터 지이 헬스케어 리미티드
포웰, 나이젤 안쏘니
영국 에이치피7 9엘엘 애머삼 버킹엄셔 화이트 라이언 로트 더그로브 센
터 지이 헬스케어 리미티드
던켄슨, 필립
영국 이1 4엔에스 런던 마일 엔드 유니버시티 어브 런던 퀸 메리월터 베
산트 빌딩 스쿨 오브 바이올러지컬 앤드 케미컬 사이언스

(74) 대리인 장수길
김영

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 개선된 N4 킬레이트제 결합체

(57) 요약

본 발명은 링커 기를 통해 연결된, 생물학적 표적화 잔기와 테트라-아민 킬레이트제 결합체 및 방사성약품으로서 그의 테크네튬 착물을 제공한다. 링커 기는 킬레이트제가 교두(bridgehead) 위치에서 일관능화되게 하고, 가요성 및 아틸기 결여 양쪽 모두를 제공하여 친지성 및 입체 부피를 최소화하도록 한다. 테트라-아민 킬레이트제의 아민 질소와의 반응을 방해하지 않으면서 광범위한 표적화 분자를 사용하여 결합하는 보호된 형태의 킬레이트제가 제공된다. 관능화된 킬레이트제의 합성이 이관능 킬레이트 전구체와 함께 기재된다. 본 발명의 테크네튬 금속 착물을 포함하는 방사성제약 조성물이 이러한 방사성약품 제조용 비방사성 키트와 함께 기재된다.

대표도

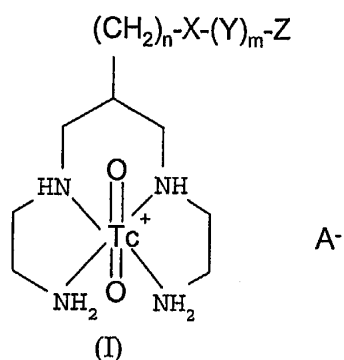
도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 I의 테크네튬 착물:

<화학식 I>



[상기 식 중,

X는 $-NR-$, $-CO_2-$, $-CO-$, $-NR(C=S)-$, $-NR(C=O)-$, $-CONR-$ 또는 Q기이고,

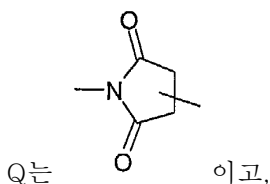
각각의 Y는 독립적으로 D- 또는 L-아미노산, $-CH_2-$, $-CH_2OCH_2-$ 또는 $-OCH_2CH_2O-$ 또는 X기이고,

Z는 합성 생물학적 표적화 잔기이고,

n은 1 내지 8의 정수이고,

m은 0 내지 30의 정수이고,

R은 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알콕시알킬, C_{1-4} 히드록시알킬 또는 C_{1-4} 플루오로알킬이고,



A는 반대이온이며,

단, $X^1-(Y)_m$ 원자쇄에는 한 헤테로원자가 다른 헤테로원자에 직접 연결된 결합은 없음].

청구항 2.

제1항에 있어서, 테크네튬 방사성 동위원소가 ^{99m}Tc 또는 ^{94m}Tc 인 테크네튬 착물.

청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, n 이 1 내지 6이고, X 가 $-\text{CONR}-$ 또는 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})-$ 인 테크네튬 착물.

청구항 4.

제3항에 있어서, X 가 $-\text{CONH}-$ 또는 $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})-$ 인 테크네튬 착물.

청구항 5.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, $-(Y)_m-$ 이 화학식 $(-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_w$ 의 PEG 기를 포함하며, w 는 값 3 내지 25의 정수인 테크네튬 착물.

청구항 6.

제5항에 있어서, w 가 6 내지 22인 테크네튬 착물.

청구항 7.

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, $-(Y)_m-$ 이 1 내지 10개의 아미노산을 포함하는 것인 테크네튬 착물.

청구항 8.

제7항에 있어서, 상기 아미노산이 독립적으로 글리신, 리신, 아스파르트산, 글루탐산 또는 세린으로부터 선택되는 것인 테크네튬 착물.

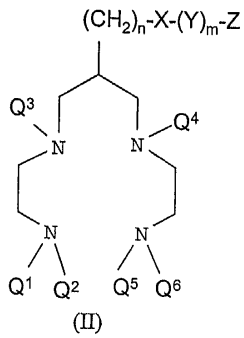
청구항 9.

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, Z 가 (i) 3-30 mer 펩티드, 및 (ii) 효소 기질, 효소 길항제 또는 효소 억제제로부터 선택되는 것인 테크네튬 착물.

청구항 10.

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 테크네튬 착물의 제조에 유용한 하기 화학식 II의 킬레이트제 결합체:

<화학식 II>



[상기 식 중, X, Y, Z, n 및 m은 청구항 1에 정의된 바와 같고, Q¹ 내지 Q⁶은 독립적으로 Q기이며, 여기서, Q는 H 또는 아민 보호기임].

청구항 11.

제10항에 있어서, 각각의 Q¹ 내지 Q⁶이 H인 킬레이트제 결합체.

청구항 12.

제10항에 있어서, Q¹ 및 Q⁶가 모두 H이고, Q², Q³, Q⁴ 및 Q⁵가 각각 tert-부톡시카르보닐인 킬레이트제 결합체.

청구항 13.

A가 제약상 허용되는 반대이온인 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 화학식 I의 테크네튬 착물을 생체적합성 담체와 함께 포함하는 인간 투여에 적합한 형태의 방사성약품.

청구항 14.

제13항에 있어서, 테크네튬 방사성 동위원소가 ^{99m}Tc 또는 ^{94m}Tc인 방사성약품.

청구항 15.

(i) 제10항 내지 제12항 중 어느 한 항의 킬레이트제 결합체, 및 (ii) 생체적합성 환원제를 포함하는 제13항 또는 제14항의 방사성약품 제조용 키트.

청구항 16.

제15항에 있어서, 상기 생체적합성 환원제가 주석 이온을 포함하는 것인 키트.

청구항 17.

제15항 또는 제16항에 있어서, 각각의 Q¹ 내지 Q⁶이 H인 키트.

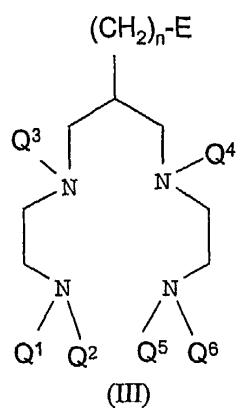
청구항 18.

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, Z가 제9항에 정의된 바와 같은 것인 키트.

청구항 19.

하기 화학식 III의 화합물:

<화학식 III>



[상기 식 중, Q¹ 내지 Q⁶ 및 n은 제10항에 정의된 바와 같고,

E는 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 생물학적 표적화 잔기(Z)에 대한 결합에 적합한 관능기이며,

단, n = 3인 경우, Q¹ 내지 Q⁶ 중 하나 이상은 아민 보호기이고,

n = 3 또는 5인 경우, E는 OH가 아님].

청구항 20.

제19항에 있어서, E가 $-NH_2$, $-CO_2M$, $-NCS$, $-NCO$, 말레이미드 또는 아크릴아미드이고, M이 H, 양이온, 보호기 또는 활성 에스테르인 화합물.

청구항 21.

제20항에 있어서, E가 $-NH_2$ 또는 $-CO_2M$ 인 화합물.

청구항 22.

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, n이 1 내지 6인 화합물.

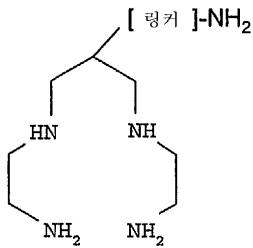
명세서

기술분야

본 발명은 방사성금속 ^{99m}Tc 와 금속 착물을 형성하는 데 적합한, 테트라-아민 킬레이트제와 생물학적 표적화 분자의 개선된 결합체에 관한 것이다. 방사성금속 착물은 ^{99m}Tc 방사성약품으로 유용하다. 또한, 키트 및 전구체도 제공된다.

배경기술

US 5489425(다우 케미칼(Dow Chemical))는 금속의 착화, 특히 방사성 및 비방사성 로듐 착물, 특히 ^{105}Rh 또는 ^{101m}Rh 방사성금속 착물에 유용한 다양한 개방 채 및 거대고리(macrocyclic) 관능화 테트라-아민 킬레이트제를 개시한다. 개시된 특정 테트라민은 다음을 포함한다.

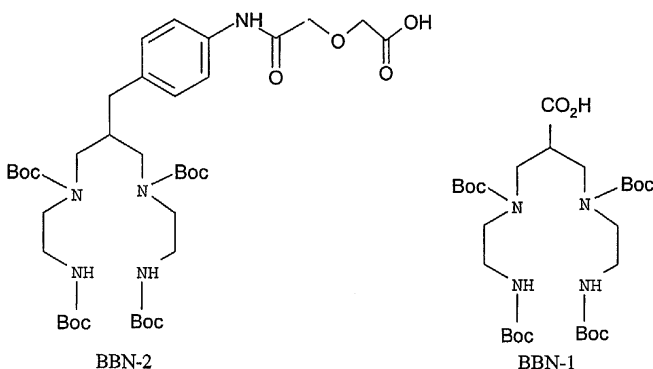


[링커]	화합물
$-\text{CH}_2[p\text{-페닐렌}]-$	BA-2,3,2-tet
$-[p\text{-페닐렌}]-$	AN-2,3,2-tet
$-(\text{CH}_2)_3-$	PA-2,3,2-tet

이관능 킬레이트제는 치료 또는 진단 목적으로 단일클론 항체 또는 그의 단편과 결합하는 데 유용한 것으로 기재되어 있다. US 5489425(실시예 21, 22a 및 23)는 항체-방사성금속 착물 킬레이트제 결합체를 먼저 ^{105}Rh 금속 착물을 형성한 다음 항체와 반응시킨 후 정제함으로써 제조한다고 개시하고 있다. US 5489425에는 비착화된, 즉 배위 결합된 방사성금속이 없는 항체-킬레이트제 결합체에 대한 언급이 없다. US 5489425에는 이러한 항체 결합 반응에서 킬레이트제 중 4개의 아민으로부터 어떻게 측쇄 아민을 식별하는지에 대한 교시가 없다. US 5489425는 이관능 킬레이트제가 "테크네튬 및 레늄을 착화시키는 데에도 유용할 것이다"라고 언급하지만, 이것이 어떻게 달성될 것인지 또는 임의의 실제 테크네튬 착물을 개시하지 않는다.

US 5650134는 광범위한 킬레이트제의 소마토스타틴(somatostatin) 펩티드-킬레이트제 결합체를 개시한다. 실시예 1은 옥트레오티드(octreotide) 펩티드에 대한 6-(p-이소티오시아나토벤질)-1,4,8,11-테트라아자운데칸의 결합을 기재한다.

EP 1181936 A1은 이관능 킬레이트제 BBN-1 및 BBN-2를 사용하여 제조된 테트라-아민 킬레이트제의 봄베신(bombesin)(즉, 테트라데카펩티드) 결합체, 및 그의 ^{99m}Tc 착물을 개시한다.



상기 식 중, Boc = tert-부톡시카르보닐 보호기.

상기 ^{99m}Tc 착물은 쥐의 신장 및 비뇨기계를 통한 신속한 청소율(clearance)을 나타내는 것으로 언급된다. 그러나, EP 1181936 A1은 오직 붐베신의 N-말단에 결합되는 단계만을 제공한 뿐이며, BBN-1 또는 BBN-2의 합성에 대해서는 어떠한 개시나 언급이 없다. 또한, 유력한 중앙 영상화 방사성약품을 제공하기 위한 BBN-2의 붐베신에 대한 결합 및 ^{99m}Tc 표지화(labelling)는 녹(Nock) 등의 문헌[Eur. J. Nucl. Med., 30(2), 247-258(2003)]에 기재되었다. 상기 ^{99m}Tc 착물은 선행 기술 붐베신-킬레이트 결합체에 비해 개선된 친수성을 제공하므로, 신장 및 비뇨기계를 통한 배설에 유리할 것으로 예상된다고 언급되었다.

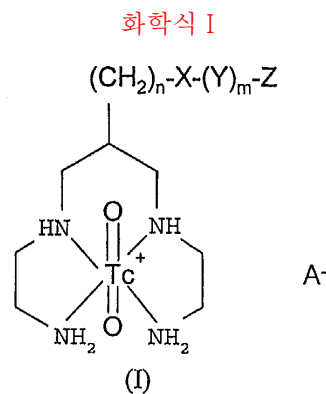
유력한 중앙 영상화 방사성약품을 제공하기 위해 옥트레오티드에 대한 BBN-1의 결합 및 ^{99m}Tc 표지화는 인간 환자에 대한 마이나(Maina) 등에 의한 문헌[Eur J. Nucl. Med., 30(9), 1211-1219(2003)]에 기재되었다. 상기 BBN-1 또는 BBN-2 관련 문헌들 중 어느 것도 BBN-1 또는 BBN-2의 합성을 제공하지 않는다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 링커 기를 통해 연결된, 테트라-아민 킬레이트제와 생물학적 표적화 잔기의 결합체 및 방사성약품으로서 그의 테크네튬 착물을 제공한다. 링커 기는 킬레이트제가 교두(bridgehead) 위치에서 일관능화되고, 가요성 및 아틸기 결여 양쪽 모두를 제공하여 친지성 및 입체 부피를 최소화하도록 한다. 테트라-아민 킬레이트제의 아민 질소와의 반응을 방해하지 않으면서 광범위한 표적화 분자와 결합하는 적합하게 보호된 형태의 킬레이트제가 제공된다. 관능화된 킬레이트제의 합성이 이관능 킬레이트 전구체와 함께 기재된다.

본 발명의 테크네튬 금속 착물을 포함하는 방사성제약 조성물이 이러한 방사성약품 제조용 비방사성 키트와 함께 기재된다.

제1 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 양이온성 ^{99m}Tc 테크네튬 착물을 제공한다.



상기 식 중,

X는 $-\text{NR}-$, $-\text{CO}_2-$, $-\text{CO}-$, $-\text{NR}(\text{C}=\text{S})-$, $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})-$, $-\text{CONR}-$ 또는 Q기이고,

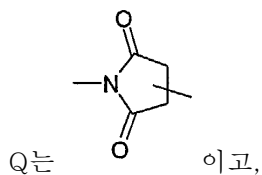
각각의 Y는 독립적으로 D- 또는 L-아미노산, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 또는 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 또는 X기이고,

Z는 합성 생물학적 표적화 잔기이고,

n은 1 내지 8의 정수이고,

m은 0 내지 30의 정수이고,

R은 H, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알콕시알킬, C₁₋₄ 히드록시알킬 또는 C₁₋₄ 플루오로알킬이고,



A는 반대이온이며,

단, X¹-(Y)_m 원자쇄에는 한 헤테로원자자 다른 헤테로원자에 직접 연결된 결합은 없다.

테크네튬 방사성 동위원소는 γ-방출제, 예를 들면 ^{99m}Tc 또는 PET 영상화에 적합한 양전자 방출제, 예를 들면 ^{94m}Tc일 수 있다. 테크네튬 방사성 동위원소는 바람직하게는 ^{99m}Tc 또는 ^{94m}Tc, 가장 바람직하게는 ^{99m}Tc이다.

X는 바람직하게 -CONR-, -NR(C=O)- 또는 Q기이다. X는 가장 바람직하게는 -CONR- 또는 -NR(C=O)-이며, -CONH- 및 -NH(C=O)-가 특히 바람직하다.

화학식 I 중 링커 기 -(CH₂)_n-X-(Y)_m-는 원자의 X¹-(Y)_m쇄에 한 헤테로원자자 다른 헤테로원자에 직접 연결된 결합이 없도록 선택되며, 여기서 용어 "헤테로원자"는 비-탄소 원자, 예를 들면 질소, 산소 또는 황을 의미한다. 이는 쇠에 O-O, N-N 또는 O-N과 같은 결합이 없는 것을 의미한다.

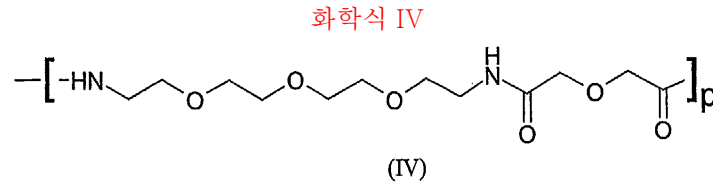
화학식 I 중 링커 기 -(CH₂)_n-X-(Y)_m-의 역할은 생체내 생물학적 표적화 잔기(Z)의 활성 결합 부위로부터 테크네튬 착물을 이격시키는 것으로 파악된다. 이는 비교적 부피가 큰 테크네튬 착물이 생체내 활성 부위에 대한 결합을 입체적으로 억제하지 않도록 돕는다. 알킬렌기 -(CH₂)_n-는 결합된 생물학적 표적화 잔기(Z)와 상당한 수소 결합 상호작용이 없어 링커가 Z 주위를 둘러싸지 않는다는 이점을 갖는다. 바람직한 알킬렌 기는 n = 1 내지 6, 가장 바람직하게는 2 내지 4를 가지며, 2가 특히 바람직하다.

본 발명의 링커 기에는 아릴 고리가 없다. 이는 결합체의 생물학적 표적화 잔기(Z)에 부착되는 테크네튬 착물과 링커 기의 친지성을 최소화시키는 것을 돕는다. 또한, 연결의 가요성을 유지하면서 링커 기(및 이에 따른 테크네튬 착물)의 입체 부피 및 분자량이 최소화된다.

또한, 링커 기의 특성을 사용하여 조영제의 생체분포를 변형시킬 수 있다. 따라서, 예를 들면, -(Y)_m-에 에테르 기를 도입시켜 혈장 단백질 결합을 최소화하는 것을 돕는다. -(Y)_m-가 폴리에틸렌글리콜(PEG) 구성 블록(building block) 또는 1 내지 10개의 아미노산 잔기로 된 펩티드 쇠를 포함하는 경우, 링커 기는 생체내 조영제의 약동학 및 혈액 청소율을 변형시키는 데 기능할 수 있다. 이러한 "생체변형제(biomodifier)" 링커 기는 배경 조직, 예를 들면 근육 또는 간, 및(또는) 혈액으로부터의 테크네튬 조영제 청소율을 가속화시켜, 적은 배경 간섭으로 인해 우수한 진단 영상을 제공할 수 있다. 또한, 생체 변형제 링커 기를 사용하여 간과는 달리 예를 들면, 신장을 통한 배설의 특정 경로에 유리할 수 있다. 별법으로, 이들은 혈액 체류 시간을 늘려 더 많은 약제가 생체내 표적 부위에 축적되게 할 수 있다.

(Y)_m-가 아미노산 잔기의 펩티드 쇠를 포함하는 경우, 바람직하게는 아미노산 잔기는 글리신, 리신, 아스파르트산, 글루탐산 또는 세린으로부터 선택된다. 펩티드 쇠 중 아미노산의 수는 바람직하게는 1 내지 10, 가장 바람직하게는 1 내지 3개이다.

(Y)_m-가 PEG 잔기를 포함하는 경우, 바람직하게는 화학식 (-OCH₂CH₂O-)_w(여기서, w는 값 3 내지 25의 정수임)의 기를 포함한다. 바람직하게는, 정수 w는 6 내지 22이다. 특히 바람직한 PEG 함유 -(Y)_m-기는 단분산 PEG형 구조인 하기 화학식 IV의 17-아미노-5-옥소-6-아자-3,9,12,15-테트라옥사헵타데칸산의 중합으로부터 유도된 단위이다.



상기 식 중, p는 1 내지 10의 정수이다.

용어 '플루오로알킬'은 하나 이상의 불소 치환체를 갖는 알킬기를 의미하며, 즉 이 용어는 모노플루오로알킬(예를 들면, $\text{--CH}_2\text{F}$)로부터 퍼플루오로알킬(예를 들면, CF_3)까지의 기를 포함한다.

$\text{--(Y)}_m\text{--}$ 기는 바람직하게 디글리콜산 잔기, 말레이미드 잔기, 글루타르산, 숙신산, 폴리에틸렌글리콜 기재 단위 또는 화학식 IV의 PEG형 단위를 포함한다.

용어 "합성"은 이 용어의 통상적인 의미, 즉 천연 공급원, 예를 들면 포유류로부터 단리된 것이 아닌 인조를 의미한다. 이러한 화합물은 그들의 제조 및 불순물 프로파일이 완전히 조절될 수 있다는 이점을 갖는다. 따라서, 단일클론 항체 및 그의 단편은 본 청구범위에서 벗어난다.

용어 "생물학적 표적화 잔기"는 선형 펩티드 또는 시클릭 펩티드 또는 이의 조합물일 수 있는 3-100 mer 펩티드 또는 펩티드 유사체, 또는 효소 기질, 길항제 또는 억제제, 합성 수용체 결합 화합물, 올리고뉴클레오타이드, 또는 올리고-DNA 또는 올리고-RNA 단편을 의미한다.

용어 "시클릭 펩티드"는 두개의 말단 아미노산이 펩티드 또는 이황화 결합 또는 합성 비펩티드 결합, 예를 들면 티오에테르, 포스포디에스테르, 디설푼산 또는 우레탄 결합일 수 있는 공유 결합에 의해 함께 결합된 5 내지 15개의 아미노산 서열을 의미한다. 용어 "아미노산"은 광학적으로 순수할 수 있는, 즉 단일 거울상이성체이고 이에 따라 키랄성이거나, 또는 거울상이성체의 혼합물일 수 있는 L- 또는 D-아미노산, 아미노산 유사체 또는 아미노산 모사체를 의미한다. 바람직하게는, 본 발명의 아미노산은 광학적으로 순수하다. 용어 "아미노산 모사체"는 동배체(isoster)인, 즉 천연 화합물의 입체 및 전자 구조를 모사하도록 디자인된 천연 발생 아미노산의 합성 유사체를 의미한다. 이러한 동배체는 당업자에게 공지되어 있고, 덤시펩티드(depsipeptide), 레트로-인버소(retro-inverso) 펩티드, 티오아미드, 시클로알칸 또는 1,5-이치환 테트라졸을 포함하며 이에 한정되지 않는다(문헌[M. Goodman, Biopolymers, 24, 137, (1985)] 참조).

본 발명에 사용하기 적합한 펩티드는 다음을 포함한다:

- 소마토스타틴, 옥트레오티드 및 유사체,
- ST 수용체(여기서, ST는 대장균 및 다른 미생물에 의해 생산되는 열 안정성 독소를 지칭함)에 결합하는 펩티드,
- 라미닌(laminin) 단편, 예를 들면 YIGSR, PDSGR, IKVAV, LRE 및 KCQAGTFALRGDPQG,
- 백혈구 축적 부위 표적화용 N-포르밀 펩티드,
- 혈소판 인자 4(PF4) 및 그의 단편,
- 예를 들면, 혈관신생(angiogenesis)을 표적화할 수 있는 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] 참조).
- α_2 -항플라스민(antiplasmin), 피브로넥틴(fibronectin) 또는 베타-카세인, 피브리노겐 또는 트롬보스폰딘(thrombospondin)의 펩티드 단편. α_2 -항플라스민, 피브로넥틴, 베타-카세인, 피브리노겐 및 트롬보스폰딘의 아미노산 서열은 다음의 문헌에서 찾을 수 있다: α_2 -항플라스민 전구체(문헌[M. Tone et al., J. Biochem, 102, 1033, (1987)]); 베타

-카세인(문헌[L. Hansson et al, Gene, 139, 193, (1994)]); 피브로넥틴(문헌[AGutman et al, FEBS Lett., 207, 145, (1996)]); 트롬보스폰딘-1 전구체(문헌[V. Dixit et al, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 83, 5449, (1986)]); (문헌[R. F. Doolittle, Ann. Rev. Biochem., 53, 195, (1984)] 참조);

- 안지오텐신, 예를 들면 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] 참조), [Sar, He] 안지오텐신 II: Sar-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Ile(문헌[R.K. Turker et al, Science, 1972, 177, 1203] 참조)의 기질 또는 억제제인 펩티드.

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

바람직하게는, 본 발명의 펩티드는 항플라스민 또는 안지오텐신 II 펩티드를 포함한다. 항플라스민 펩티드는 다음의 N-말단으로부터 취한 아미노산 서열을 포함한다:

(i) α_2 -항플라스민, 즉 $\text{NH}_2\text{-Asn-Gln-Glu-Gln-Val-Ser-Pro-Leu-Thr-Leu-Thr-Leu-Leu-Lys-OH}$ 또는 하나 이상의 아미노산이 교환, 첨가 또는 제거된 이의 변이체, 예를 들면: $\text{NH}_2\text{-Asn-Gln-Glu-Gln-Val-Ser-Pro-Leu-Thr-Leu-Thr-Leu-Leu-Lys-Gly-OH}$, $\text{NH}_2\text{-Asn-Gln-Glu-Ala-Val-Ser-Pro-Leu-Thr-Leu-Thr-Leu-Leu-Lys-Gly-OH}$, $\text{NH}_2\text{-Asn-Gln-Glu-Gln-Val-Gly-OH}$; 또는

(ii) 카세인 즉, $\text{Ac-Leu-Gly-Pro-Gly-Gln-Ser-Lys-Val-Ile-Gly}$.

본 발명의 합성 펩티드는 문헌[P. Lloyd-Williams, F. Albericio and E. Girald; Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, CRC Press, 1997]에 기재된 바와 같이 통상적인 고체상 합성에 의해 얻을 수 있다.

적합한 효소 기질, 길항제 또는 억제제는 글루코오스 및 글루코오스 유사체, 예를 들면 플루오로데옥시글루코오스, 지방산, 또는 엘라스타제(elastase), 안지오텐신 II 또는 금속단백질분해효소(metalloproteinase) 억제제를 포함한다. 바람직한 비펩티드 안지오텐신 II 길항제는 로사르탄(Losartan)이다.

적합한 합성 수용체 결합 화합물은 에스트라디올(estradiol), 에스트로겐, 프로게스틴, 프로게스테론 및 다른 스테로이드 호르몬, 도파민 D-1 또는 D-2 수용체, 또는 도파민 수송체, 예를 들면 트로판(tropane)에 대한 리간드, 및 세로토닌 수용체에 대한 리간드를 포함한다.

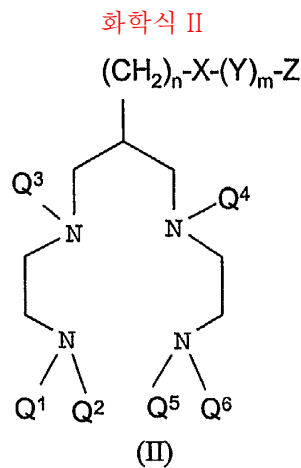
생물학적 표적화 잔기(Z)의 분자량은 바람직하게는 5000 미만, 가장 바람직하게는 4000 미만, 이상적으로 3000 미만이다. 이는 본 발명의 테크네튬 착물의 개선된 생물학적 특징이 전체적인 생체분포, 특히 화학식 I의 결합체의 테크네튬 착물의 청소율에 영향을 미칠 수 있다는 이점을 갖는다. n이 3이고, X가 $(\text{CH}_2)_n$ 기에 직접 연결된 질소 원자를 포함하는 경우, Z는 합성되고 4000 미만의 분자량을 갖는 것으로 선택된다. 바람직한 생물학적 표적화 잔기로는 3-20 mer 펩티드 또는 효소 기질, 효소 길항제 또는 효소 억제제가 있다.

반대이온(A^-)은 몰 등가량으로 존재하여 화학식 I의 Tc(V) 디옥소 테크네튬 착물에 대해 양전하 균형을 맞추는 음이온을 나타낸다. 음이온(A^-)은 전하-균형 양으로 존재하도록 적합하게 단하전 또는 다하전된다. 이 음이온은 무기산 또는 유기산으로부터 적합하게 유도된다. 적합한 음이온의 예는 할라이드 이온, 예를 들면 클로라이드 또는 브로마이드, 술페이트, 니트레이트, 시트레이트, 아세테이트, 포스페이트 및 보레이트를 포함한다. 바람직한 음이온은 클로라이드이다.

화학식 I의 테크네튬 착물은 착물 형성 후 안정하고, 테크네튬을 생물학적 표적화 잔기에 우선적으로 결합하는 활발한 킬란드(chelant)를 포함한다는 이점을 갖는다. 따라서, 테크네튬 착물은 생체내에서 생물학적 거대분자 또는 경쟁 리간드와 트랜스킬레이트화(transchelation) 반응을 하지 않는다. 테크네튬 착물은 작고 치밀하며, 이는 결합된 생물학적 표적화 잔기(Z)에 대한 입체적 영향을 최소화하는 데 유용하다. 영구적 양이온성 변화 및 Tc(V) 디옥소 코어는, 착물도 친수성이어서 다른 구획으로 세포내 분포되지 않으며, 이에 따라 생체내 배경 장기 및 조직, 예를 들면, 혈류로부터 보다 빨리 청소됨을 의미한다.

화학식 I의 테크네튬 착물은, 이하 제2 실시양태에 기재된 바와 같이 테크네튬의 적합한 공급원과 하기 화학식 II의 킬레이트제 결합체의 반응으로 제조될 수 있다.

제2 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 킬레이트제 결합체를 제공한다.



상기 식 중, X, Y, Z, n 및 m은 상기에 정의한 바와 같고,

Q^1 내지 Q^6 은 독립적으로 Q기이고, 여기서, Q는 H 또는 아민 보호기이다.

킬레이트제 결합체는 제1 실시양태의 화학식 I의 테크네튬 착물의 제조에 유용하다.

용어 "보호기"는 바람직하지 못한 화학 반응을 억제 또는 차단하지만, 분자의 나머지를 변형시키지 않는 충분한 온화한 조건 하에서 당해 관능기로부터 분절되도록 충분히 반응성을 갖도록 디자인된 기를 의미한다. 탈보호 후, 원하는 생성물을 수득한다. 아민 보호기는 당업자에게 공지되어 있고, 적합하게 Boc(여기서, Boc는 tert-부틸옥시카르보닐), Fmoc(여기서, Fmoc는 플루오레닐메톡시카르보닐), 트리플루오로아세틸, 알릴옥시카르보닐, Dde[즉, 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소시클로헥실리덴)에틸] 또는 Npys(즉, 3-니트로-2-피리딘 술페닐)로부터 선택된다. 일부 경우, 보호기의 특성은 Q^1/Q^2 또는 Q^5/Q^6 기 양쪽 모두가 존재할 수 있도록, 즉 회합된 아민 질소 원자에 NH 결합이 존재하지 않도록 한다. 추가 보호기의 사용은 문헌['Protective Groups in Organic Synthesis', Theodor W. Greene and Peter G. M. Wuts, (John Wiley & Sons, 1991)]에 기재되어 있다. 바람직한 아민 보호기는 Boc 및 Fmoc이고, 가장 바람직하게는 Boc이다. Boc를 사용한 경우, Q^1 및 Q^6 은 양쪽 모두 H이고, Q^2 , Q^3 , Q^4 및 Q^5 는 각각 tert-부톡시카르보닐이다.

화학식 II에서, 아민 보호기는 주로 테크네튬과의 착화 전 합성 동안 테트라-아민 킬레이트제의 아민 관능기를 보호하는데 사용된다. 그러나, 생물학적 표적화 기(Z)가 1차 및(또는) 2차 아민과의 반응을 하기 쉬운 경우, 이 보호기는 테크네튬과의 착화 전 킬레이트제 아민과 Z 간의 바람직하지 못한 화학 반응을 방지하는 데에도 유용할 수 있다.

화학식 II의 바람직한 결합체는 하나 이상의 비보호된(즉, Q^3 또는 Q^4 중 하나가 H이거나, 또는 Q^1/Q^2 또는 Q^5/Q^6 양쪽 모두 H임) 아민 질소를 갖는다. 하나 이상의 유리 아민기는 결합체가 화학식 I의 테크네튬 착물 제조에 바람직한 용매인 수성 매질에 더욱 용이하게 가용성임을 의미한다. 또한, 유리 아민 기는, 테크네튬과의 착화가 보호기의 이전 제거에 의존하지 않기 때문에 착화가 더욱 신속하며, 또한 금속 착화를 방지하는 것을 의미한다. 결합된 생물학적 표적화 기(Z)가 아민과의 추가 반응을 하지 않는 경우, 완전히 탈보호된 형태(즉, 각각의 Q^1 내지 Q^6 이 H)의 화학식 II의 결합체를 사용하는 것이 편리하고, 이것이 특히 바람직한 화학식 II의 킬레이트제 결합체이다. 완전히 탈보호된 형태가 화학식 I의 테크네튬 착물을 제공하는 착화 반응에 바람직하다.

본 발명의 화학식 I의 테크네튬 착물을 적합한 산화 상태의 방사성금속의 용액을 적합한 pH에서 화학식 II의 킬레이트제 결합체와 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 용액은 임의적으로 테크네튬(예를 들면, 글루코네이트 또는 시트레이트)에 약하게 착화하는 리간드를 함유할 수 있으며, 즉 테크네튬 착물은 리간드 교환 또는 트랜스킬레이트화에 의해 제조된다. 종종, 이러한 조건은 바람직하지 못한 부반응, 예를 들면 테크네튬 이온의 가수분해를 억제하는 데 유용하지만, 테크네튬과 빨리 착화하기 때문에 본 발명의 킬레이트제로는 그다지 중요치 않다. 방사성 동위원소가 ^{99m}Tc 인 경우, 통상의 출발 물질은 ^{99}Mo 생성제로부터의 과테크네튬산나트륨이다. 테크네튬은 비교적 비반응성인 Tc(VII) 산화 상태의 ^{99m}Tc -퍼테크네테

이트로 존재한다. 따라서, 낮은 산화 상태 Tc(I) 내지 Tc(V)의 테크네튬 착물의 제조는 통상 착화를 용이하게 하기 위해 적합한 제약상 허용되는 환원제, 예를 들면 디티온산나트륨, 아황산나트륨, 아스코르브산, 포름아미딘 술폰산, 주석 이온, Fe(E) 또는 Cu(I) 첨가를 필요로 한다. 제약상 허용되는 환원제는 바람직하게는 주석염, 가장 바람직하게는 염화제1주석, 불화제1주석 또는 타르타르산주석이다.

화학식 II의 킬레이트제 결합체는 이하 제5 실시양태에 기재된 바와 같이 생물학적 표적화 분자(Z)를 화학식 III의 이관능 킬레이트제와 결합시킴으로써 제조될 수 있다.

제3 실시양태에서, 본 발명은 A가 제약상 허용되는 반대이온인 제1 실시양태의 테크네튬 착물과 인간 투여에 적합한 형태의 생체적합성 담체를 함께 포함하는 방사성약품을 제공한다.

용어 "인간 투여에 적합한 형태"는 멸균되고, 발열성 물질을 함유하지 않고, 독성 또는 악영향을 미치는 화합물이 없고, 생체적합성 pH(대략 pH 4.0 내지 10.5)에서 제제화된 조성물을 의미한다. 이러한 조성물은 생체내 색전을 일으킬 위험이 있는 미립자가 없고, 생물학적 유체(예를 들면, 혈액)와 접촉시 침전을 일으키지 않도록 제제화된다. 또한, 이러한 조성물은 오직 생물학적으로 상용가능한 부형제만을 함유하고, 바람직하게는 등장성이다.

"생체적합성 담체"는 조성물이 생리학적으로 내성을 갖도록, 즉 독성 또는 과도한 곤란없이 포유류에 투여할 있도록 방사성약품이 현탁되거나 또는 바람직하게는 용해된 유체, 특히 액체이다. 생체적합성 담체로는 적합하게 주사가 가능한 담체 액체, 예를 들면 주사용 멸균 발열성 물질 비함유 물, 수용액, 예를 들면 식염수(주사용 최종 생성물이 등장성이거나 또는 저장성이 아니게 유리하게 균형을 맞출 수 있음); 하나 이상의 긴장성-조정 물질(예를 들면, 혈장 양이온과 생체적합성 반대이온의 염), 당(예를 들면, 글루코오스 또는 슈크로오스), 당 알코올(예를 들면, 소르비톨 또는 만니톨), 글리콜(예를 들면, 글리세롤), 또는 다른 비이온성 폴리올 물질(예를 들면, 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌 글리콜 등)로 된 수용액이 있다.

용어 "제약상 허용되는 반대이온"은 포유류에 생체내 투여된 경우 독성 또는 악영향을 미치지 않고, 제약 조성물의 다른 성분과 화학적으로 및(또는) 독성학적으로 상용가능한 음이온(즉, 음성 이온)을 의미한다. 본 발명의 테크네튬 방사성약품의 화학적 상용성은 음이온이 테크네튬에 대해 테트라-아민 킬레이트제와 유효하게 경쟁하지 않는 것을 의미한다. 적합한 이러한 음이온은 할라이드(예를 들면, 클로라이드, 요오다이드 및 브로마이드), C₁₋₂ 알킬술포네이트(예를 들면, 메실레이트 또는 에틸술포네이트), 아릴술포네이트(예를 들면, 페닐술포네이트 또는 토실레이트), C₁₋₂ 알킬포스포네이트, 디(C₁₋₂)알킬포스페이트(예를 들면, 디메틸포스페이트, 디에틸포스페이트, 또는 디글리세롤 포스페이트), 아릴포스포네이트, 아릴포스페이트, 알킬아릴포스포네이트, 알킬아릴포스페이트, C₁₋₂ 알킬카르복실레이트(예를 들면, 아세테이트, 프로피오네이트, 글루타메이트 또는 글리세레이트), 아릴카르복실레이트(예를 들면, 벤조에이트) 등을 포함하며 이에 한정되지 않는다. 바람직한 제약상 허용되는 반대이온으로는 클로라이드, 플루오라이드, 아세테이트, 타르트레이트, 히드록시드 및 포스페이트가 있다.

이러한 방사성약품은 멸균 완전성을 유지하면서 피하 주사침을 사용하여 단일 또는 다수 천자에 적합한 시일(seal)(예를 들면, 크립-온(crimped-on) 격벽 밀봉체)이 제공된 용기에서 적합하게 공급된다. 이러한 용기는 단일 또는 다회 환자 투여량을 함유할 수 있다. 바람직한 다회 투여량 용기는 다회 환자 투여량을 함유하는 단일 부피 바이알(예를 들면, 10 내지 30 cm³ 부피)를 포함하여 임상 상황에 맞춘 제제의 가능한 수명 동안 다양한 시간 간격으로 이로부터 단일 환자 투여량을 꺼내 임상 등급 주사기에 넣을 수 있다. 예비 충전된 주사기는 인간 단일 투여량을 함유하도록 디자인되므로 바람직하게는 임상적 용도에 적합한 일회용 또는 다른 주사기가 된다. 임의적으로, 방사성 용량으로부터 시술자를 보호하기 위해 주사기 쉴드(shield)를 예비 충전된 주사기에 제공할 수 있다. 적합한 이러한 방사성약품 주사기 쉴드는 당업계에 공지되어 있고, 바람직하게는 납 또는 텅스텐을 포함한다.

본 발명의 바람직한 방사성약품은 테크네튬 방사성 동위원소 ^{99m}Tc 또는 ^{94m}Tc, 가장 바람직하게는 ^{99m}Tc를 포함한다. 테크네튬 동위원소가 ^{99m}Tc인 경우, 진단 영상 방사성약품에 적합한 방사성 함량은 생체내 영상화될 부위, 흡수 및 표적 대 배경 비에 따라 180 내지 1500 MBq의 ^{99m}Tc 범위이다. 본 발명의 테크네튬 방사성약품을 다음과 같은 다양한 방법으로 의해 제조할 수 있다:

- (i) 앞서 제2 실시양태에 기재된 테크네튬 착물 형성을 청정실 환경에서 수행하는 무균 제조 기술,
- (ii) 테크네튬 착물 형성을 무균 제조를 사용하지 않고 수행한 다음, 마지막 단계에서 (예를 들면, 감마 방사 또는 오토클레이브에 의해) 멸균하는 최종 멸균법,

(iii) 화학식 II의 킬레이트제 결합체 및 제약상 허용되는 환원제를 포함하는 동결건조된 멸균된 비방사성 키트 제제가 다른 임의적 부형제와 반응하고, ^{99m}Tc 생성제로부터의 멸균 ^{99m}Tc -퍼테크네이트의 분획과 반응하는 키트 방법.

방법 (iii)이 바람직하며, 이 방법에 사용되는 키트는 제4 실시양태(하기 참조)에 기재되어 있다.

제4 실시양태에서, 본 발명은 화학식 II의 결합체와 생체적합성 환원제를 함께 포함하는 상기 방사성제약 조성물 제조용 비방사성 키트를 제공한다. 이러한 키트는 예를 들면, 혈류로의 직접 주사를 통해 인간 투여에 적합한 멸균 방사성약품 생성물을 제공하도록 디자인된다. 리간드 결합체 및 이의 바람직한 측면들은 제2 실시양태에 기재되어 있다.

^{99m}Tc 의 경우, 키트는 바람직하게는 동결건조되고, ^{99m}Tc 방사성 동위원소 생성제로부터 멸균 ^{99m}Tc -퍼테크네이트(TcO_4^-)로 재구성되도록 디자인되어 추가 조작 없이 인간 투여에 적합한 용액을 제공한다. 적합한 키트는 자유 염기 또는 산염 형태의 킬레이트제 결합체와 생체적합성 환원제, 예를 들면 디티온산나트륨, 아황산나트륨, 아스코르브산, 포름아미딘 술폰산, 주석 이온, Fe(II) 또는 Cu(I) 를 함께 함유하는 용기(예를 들면, 격벽-시일링된(sealed) 바이알)를 포함한다. 바람직하게는, 생체적합성 환원제는 주석염, 예를 들면 염화제1주석 또는 타르타르산주석이다. 별법으로, 키트는 임의적으로 테크네튬 첨가시, 원하는 생성물을 제공하는 금속교환 반응(transmetallation)(즉, 금속 교환)을 수행하는 비방사성 금속 착물을 함유할 수 있다.

비방사성 키트는 추가 성분, 예를 들면 트랜스킬레이트제(transchelator), 방사능보호제, 항균 방부제, pH 조정제 또는 충전제를 추가로 포함할 수 있다. "트랜스킬레이트제"는 신속하게 반응하여 테크네튬과 약한 착물을 형성한 다음, 킬레이트제에 의해 치환되는 화합물이다. 이는 테크네튬 착화와 경쟁하는 퍼테크네이트의 신속한 감소로 인해 감소된 가수분해된 테크네튬(RHT)의 형성 위험을 최소화한다. 이러한 적합한 트랜스킬레이트제는 약한 유기산, 즉 3 내지 7 범위의 pKa를 갖는 유기산과 생체적합성 양이온으로 된 염이다. 용어 "생체적합성 양이온"은 이온화된 음 하전된 음이온성기와 염을 형성하는 양 하전된 반대이온을 의미하며, 여기서 상기 양 하전된 반대이온은 또한 비독성이므로 포유류, 특히 인간에 투여하기에 적합하다. 적합한 생체적합성 양이온의 예는 알칼리 금속 나트륨 또는 칼륨, 알칼리 토금속 칼슘 및 마그네슘, 및 암모늄 이온을 포함한다. 바람직한 생체적합성 양이온으로는 나트륨 및 칼륨, 가장 바람직하게는 나트륨이 있다. 적합한 약한 유기산으로는 아세트산, 시트르산, 타르타르산, 글루콘산, 글루코헵톤산, 벤조산, 페놀 또는 포스포산이 있다. 따라서, 적합한 염은 아세테이트, 시트레이트, 타르트레이트, 글루코네이트, 글루코헵토네이트, 벤조에이트, 페놀레이트 또는 포스포네이트이다. 바람직한 염은 타르트레이트, 글루코네이트, 글루코헵토네이트, 벤조에이트, 또는 포스포네이트, 가장 바람직하게는 포스포네이트, 가장 특히 디포스포네이트이다. 바람직한 트랜스킬레이트제는 MDP, 즉 메틸렌디포스포산과 생체적합성 양이온의 염이다.

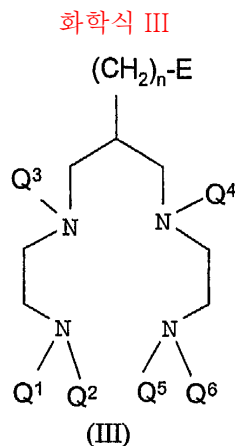
용어 "방사능보호제"는 높은 반응성 자유 라디칼, 예를 들면 물의 방사선분해로부터 발생하는 산소 함유 자유 라디칼을 포획함으로써 분해 반응, 예를 들면 산화환원 과정을 억제하는 화합물을 의미한다. 본 발명의 방사능보호제는 아스코르브산, 파라-아미노벤조산(즉, 4-아미노벤조산), 겐티스산(즉, 2,5-디히드록시벤조산), 및 그의 상기 생체적합성 양이온과의 염으로부터 적합하게 선택된다.

용어 "항균 방부제"는 잠재적으로 유해한 미생물, 예를 들면 세균, 효모 또는 곰팡이의 성장을 억제하는 약제를 의미한다. 또한, 항균 방부제는 투여량에 따라 약간의 살균 성질을 나타낼 수 있다. 본 발명의 항균 방부제(들)의 주된 역할은 재구성 후 방사성제약 조성물에서, 즉 방사성 진단용 제품 자체에서 임의의 미생물의 성장을 억제하는 것이다. 그러나, 임의적으로 항균 방부제를 사용하여 재구성 전 본 발명의 비방사성 키트 중 하나 이상의 성분에서 잠재적으로 유해한 미생물의 성장을 억제할 수도 있다. 적합한 항균 방부제(들)는 파라벤(paraben), 즉, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸 파라벤 또는 그의 혼합물, 벤질 알코올, 페놀, 크레졸, 세트리미드(cetrimide) 및 티오머살(thiomersal)을 포함한다. 바람직한 항균 방부제(들)는 파라벤이다.

용어 "pH 조정제"는 재구성된 키트의 pH가 인간 또는 포유류 투여에 허용되는 한계(대략 pH 4.0 내지 10.5) 내에 들도록 하는 데 유용한 화합물 또는 이 화합물의 혼합물을 의미한다. 적합한 pH 조정제는 제약상 허용되는 완충제, 예를 들면 트리신(tricine), 포스페이트 또는 TRIS[즉, 트리스(히드록시메틸)아미노메탄] 및 제약상 허용되는 염기, 예를 들면 탄산나트륨, 중탄산나트륨 또는 그의 혼합물을 포함한다. 결합체를 산염 형태로 사용하는 경우, 키트의 사용자가 다단계 절차의 일부로서 pH를 조정할 수 있도록 pH 조정제는 임의적으로 별개의 바이알 또는 용기에 제공될 수 있다.

용어 "충전제"는 생산 및 동결건조 동안 물질 취급을 용이하게 할 수 있는 제약상 허용되는 팽화제를 의미한다. 적합한 충전제는 무기 염, 예를 들면 염화나트륨, 및 수용성 당 또는 당 알코올, 예를 들면 슈크로오스, 말토오스, 만니톨 또는 트레할로스를 포함한다.

제5 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 III의 화합물을 제공한다.



상기 식 중, Q^1 내지 Q^6 및 n 은 상기 화학식 I 및 II에 정의된 바와 같고,

E 는 제1 실시양태의 생물학적 표적화 잔기(Z)에 대한 결합에 적합한 관능기이며, 단, (i) $n = 3$ 인 경우, Q^1 내지 Q^6 중 하나 이상은 아민 보호기이고, (ii) $n = 3$ 또는 5인 경우, E 는 OH 가 아니다.

화학식 III의 화합물은 "이관능 킬레이트제", 즉 하나 이상의 관능기(E)가 부착된 킬레이트제이다. 관능기 E 는 생물학적 표적화 잔기(Z)에 대한 결합에 적합하다. 적합한 이러한 관능기(E)는 아민, 티오시아네이트, 말레이미드 및 활성 에스테르를 포함한다. E 는 바람직하게 불활성화된 히드록실($-OH$) 기를 포함하지 않는다. 용어 "활성 에스테르"는 우수한 이탈기로 존재하도록 디자인되어 생물학적 표적화 잔기에 존재하는 친핵물질, 예를 들면 아민과의 반응을 보다 용이하게 하는 카르복실산의 에스테르 유도체를 의미한다. 적합한 활성 에스테르의 예로는 N -히드록시숙신이미드(NHS), 펜타플루오로페놀, 펜타플루오로티오펜올, 파라-니트로페놀, 히드록시벤조트리아졸 및 PyBOP(즉, 벤조트리아졸-1-일-옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트)가 있다. 바람직한 활성 에스테르는 N -히드록시숙신이미드 또는 펜타플루오로페놀 에스테르이다.

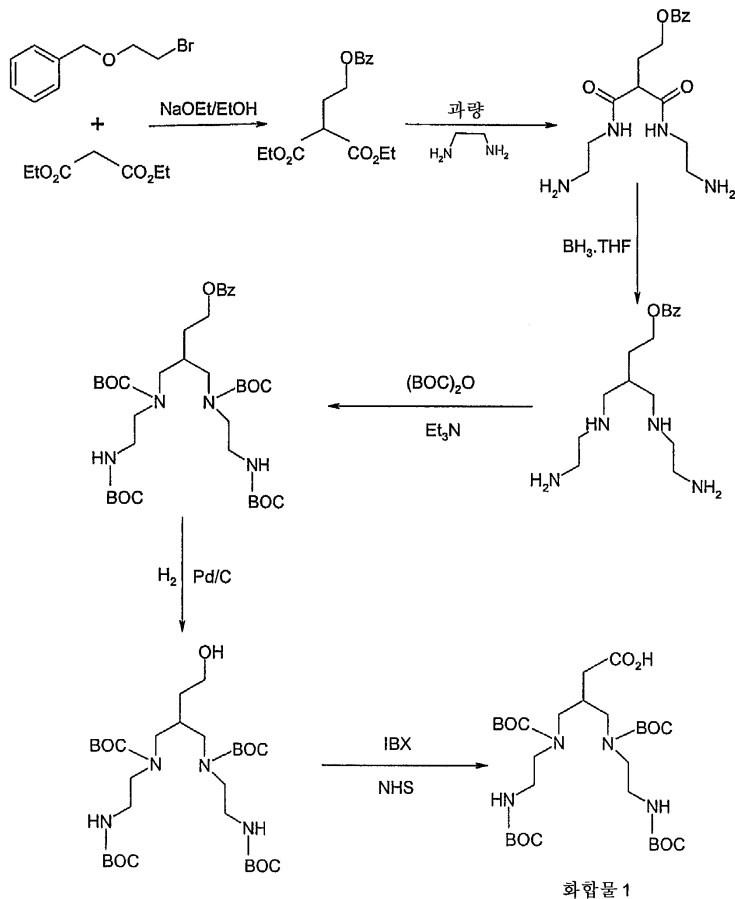
E 는 바람직하게 1차 아민($-NH_2$), $-CO_2M$, $-NCS$, $-NCO$, 말레이미드 또는 아크릴아미드이며, 여기서 M 은 H , 양이온, 보호기 또는 활성 에스테르이다. E 는 가장 바람직하게는 $-NH_2$, $-CO_2M$ 또는 말레이미드, 이상적으로 $-NH_2$ 또는 $-CO_2M$ 이다.

화학식 III의 화합물은 생물학적 표적화 분자(Z) 상의 적합한 상대 관능기와 반응하여 화학식 II의 원하는 결합체를 형성한다. 이러한 생물학적 표적화 분자 상의 적합한 관능기는 카르복실(아민-관능화 이관능 킬레이트제와의 아미드 결합 형성), 아민(카르복실- 또는 활성 에스테르-관능화 이관능 킬레이트제와 아미드 결합 형성), 할로젠, 메실레이트 및 토실레이트(아민-관능화 이관능 킬레이트제의 N -알킬화) 및 티올(말레이미드-관능화 이관능 킬레이트제와의 반응)을 포함한다.

E 가 생물학적 표적화 분자(Z)의 아민 기와 반응하는 것으로 디자인된 기(예를 들면, 활성 에스테르)인 경우, 분명히 킬레이트제의 아민과 바람직하지 못한 부반응을 일으킬 가능성이 있다. 이러한 E 기의 경우, 테트라-아민 킬레이트제의 각각의 4개의 아민 질소 원자가 보호되도록 화학식 III 중 Q^1 내지 Q^6 이 질소 보호기로 선택되는 것이 바람직하다. E 가 아민 기인 경우, 생물학적 표적화 분자(Z)와의 반응이 테트라-아민 킬레이트제의 아민 질소 원자에서가 아니라 E 아민에서만 발생하도록 하는 것이 특히 중요하다. 따라서, 이 경우, 또한, 화학식 III 중 Q^1 내지 Q^6 이 질소 보호기인 것이 바람직하다. 질소 보호기, 및 그의 바람직한 예는 제2 실시양태(상기 참조)에 기재되어 있다.

화학식 III의 화합물은 반응식 1 및 2에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 반응식 1은 화학식 III에서 다양한 값의 n으로 적합될 수 있는, 카르복시-관능화 N-보호 테트라-아민 킬레이트제에 대한 융통성 있는 합성 경로를 제공한다. $-(CH_2)_5OH$ 교두 치환체를 사용한 Boc-보호 테트라-아민 유사체의 합성은 터핀(Turpin) 등의 문헌[J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 379-393(2002)]에 기재되었다. 반응식 2는 다양한 값의 n으로 적합될 수 있는, 아민-관능화 N-보호 테트라-아민 킬레이트제에 대한 융통성 있는 합성 경로를 제공한다. 생물학적 표적화 펩티드의 결합은 녹 등의 문헌[Eur. J. Nucl. Med., 30 (2), 247-258(2003)], 및 메이나 등의 문헌[Eur. J. Nucl. Med., 30(9), 1211-1219(2003)]에 기재된 것과 유사한 방식으로 수행될 수 있다.

반응식 1
화합물 1의 합성.



상기 식 중,

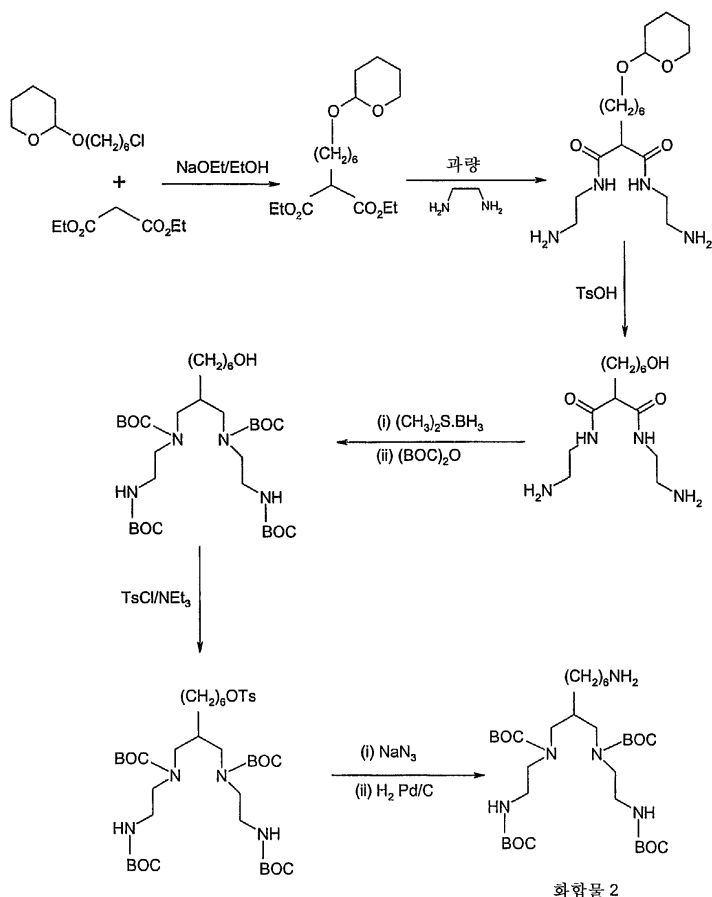
BOC = tert-부톡시카르보닐 보호기.

IBX = 1-히드록시-1,2-벤지오독솔-3(1H)-온-1-옥시드.

NHS = N-히드록시숙신이미드.

Bz = 벤질.

반응식 2
화합물 2의 합성.



상기 식 중,

Ts = p-톨루엔술포닐

실시예

본 발명을 다음의 비제한적인 실시예에 의해 설명한다. 실시예 1은 본 발명의 카르복시-관능화 N-보호 테트라아민 킬레이트제인 화합물 1의 합성을 제공한다. 실시예 2는 본 발명의 아민-관능화 N-보호 테트라아민 킬레이트제인 화합물 2의 합성을 제공한다. 실시예 3은 화합물 1과 아민(벤질아민)의 결합을 나타내는 화합물인 화합물 3의 합성을 제공한다. 실시예 4는 화합물 2와 카르복실산의 활성 에스테르의 결합을 나타내는 화합물 6의 합성을 설명한다. 실시예 5는 본 발명의 킬레이트제와 로사르탄 유도체의 결합체인 화합물 4의 합성을 설명한다. 실시예 6은 PEG 링커 기를 포함하는 로사르탄 킬레이트제 결합체의 합성을 제공한다. 실시예 7은 본 발명의 킬레이트제의 안지오텐신 펩티드 결합체인 화합물 8의 합성을 설명한다. 실시예 8은 몇몇 본 발명의 킬레이트제의 ^{99m}Tc -방사표지화를 설명한다. 실시예 9는 본 발명의 다양한 ^{99m}Tc 착물에 대한 친지성(logP) 값의 측정을 나타내고, 이 착물이 비교적 친수성임을 보여준다. 실시예 10은 본 발명의 몇몇 ^{99m}Tc 착물에 대한 생체분포 결과를 나타내며, 높지 않은 간 배경, 및 높은 비뇨기 청소율을 나타낸다. 실시예 11은 화합물 1의 고수율 합성을 제공한다. 실시예 12는 이에 결합된 활성화된 에스테르를 갖는 본 발명의 보호된 테트라아민 킬레이트제(화합물 9)의 합성을 제공한다.

실시예 1: 화합물 1의 합성

단계 (a): 디에틸 [2-(벤질옥시)에틸]말로네이트

화합물을 문헌[Ramalingam et al Tetrahedron, 51, 2875-2894(1995)]의 방법의 변형에 의해 제조하였다. 따라서, 나트륨(1.20 g)을 아르곤 하에서 무수 에탄올(25 mL) 중에 용해시켰다. 디에틸 말로네이트(14.00 g)를 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 환류시켰다. 벤질 브로모에틸 에테르(10 g)를 첨가하고, 혼합물을 환류 하에서 16시간 동안 교반하였다. 에탄올을 회전 증발에 의해 제거하고, 잔여물을 에테르(100 mL) 및 물(50 mL) 사이에 분배시켰다. 에테르계 층을 물(3×50 mL)

로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 에테르를 회전 증발에 의해 제거하고, 잔여물을 진공에서 증류시켰다. 40-55 °C에서 증류하는 분획을 버렸다(미반응 디에틸 말로네이트). 생성물을 140-150 °C(1 mm), [lit. bp 138-140 °C(1 mm)]에서 증류시켰다. 수득물은 12.60 g의 무색 오일이었다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 7.28 (m, 5H, C_6H_5), 4.47 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.16 (m, 4H, COOCH_2), 3.58 (t, 1H, CH), 3.50 (t, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.21 (t, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.20 (t, 6H, $\text{COOCH}_2\text{-CH}_3$). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 169.20 (CO), 138.10, 128.60, 127.80 (방향족), 73.00 (CH_2Ph), 67.30 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 61.70 (COOCH_2), 49.10 (CH), 28.90 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 14.10 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$).

단계 (b): N,N'-비스(2-아미노에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)말론아미드

디에틸 [2-(벤질옥시)에틸]말로네이트(4.00 g)를 에틸렌 디아민(30 mL)에 첨가하고, 용액을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 과량의 에틸렌 디아민을 회전 증발에 의해 제거하고, 잔여물을 고 진공 하에서 2일 동안 건조시켜 황색 오일(4.28 g)을 얻었고, 이는 정치시 결정화되었다. 생성물은 여전히 NMR 스펙트럼에서 검출되는 바와 같이 미량의 에틸렌디아민을 함유하였다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 7.74 (br t, 2H, CO-NH), 7.32 (m, 5H, C_6H_5), 4.46 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.50 (t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 3.33 (t, 1H, CH), 3.23 (m, 4H, CO-NH- CH_2), 2.74 (t, 4H, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$) 2.18 (q, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$) 1.55 (br s, 4H, NH_2). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 171.10 (CO), 138.20, 128.30, 127.70 (방향족), 73.00 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.80 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 51.40 (CH), 42.40 (CO-NH- CH_2), 41.20 ($\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 31.90 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$).

단계 (c): N,N'-비스(2-아미노-에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)-1,3-디아미노프로판

N,N'-비스(2-아미노에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)말론아미드(3.80 g)를 THF(20 mL)에 용해시키고, 플라스크를 얼음조에 침지시켰다. 플라스크를 아르곤으로 배수시키고, THF 유래 착물(80 mL, THF 중 1M)을 주사기를 통해 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온시킨 다음, 40 °C에서 2일 동안 교반하고, 1시간 동안 환류시켰다. 메탄올(50 mL)을 적가하고, 용액을 40 °C에서 밤새 교반하였다. 용매를 회전 증발기에 의해 제거하고, 잔여물을 메탄올(20 mL)에 용해시켰다. 수산화 나트륨(15 mL의 수중 10 g)을 첨가하고, 메탄올을 비등시켰다. 분리된 무색 오일을 CH_2Cl_2 (3×50 mL)로 추출하였다. 용액을 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 제거하여 3.40 g의 무색 오일을 얻었다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 7.34 (m, 5H, C_6H_5), 4.49 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.55 (t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 2.76 (t, 4H, N- CH_2), 2.63 (m, 8H, N- CH_2), 1.84 (m, 1H, CH), 1.58 (m, 2H, CH- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 1.41 (br s, 6H, NH). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 138.60, 128.30, 127.60 (방향족), 72.80 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 68.70 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 53.50 (N- CH_2), 52.80 (N- CH_2), 41.60 (N- CH_2) 36.40 (CH), 31.30 (CH- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$). MS-EI: 295 $[\text{M}+\text{H}]^+$, (calcd.: 295.2).

단계 (d): N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판

N,N'-비스(2-아미노에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)-1,3-디아미노프로판(3.30 g)을 CH_2Cl_2 (100 mL) 및 트리에틸아민(5.40 g)에 용해시키고, tert-부틸 디카르보네이트(10.30 g)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서, 2일 동안 교반하였다. 혼합물을 물(100 mL), 시트르산 용액(100 mL, 수중 10%) 및 물(2×100 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 로 건조시키고, 용매를 회전 증발에 의해 제거하여 황색 오일을 얻었고, 이를 일정한 질량이 되도록 고 진공 하에서 건조시켰다. 조 생성물(7.70 g)을 실리카겔 컬럼(250 g, 230-400 메쉬, CH_2Cl_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-Et}_2\text{O}$ 1:1)에서 정제하여 6.10 g(78.3%)의 투명한 오일을 얻었다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 7.32 (m, 5H, C_6H_5), 5.12 (br d, 2H, NH), 4.47 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.49 (t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 3.24 (br, 12H, N- CH_2), 2.14 (br, 1H, CH), 1.59 (m, 2H, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) 1.45 (s, 18H, t-Bu), 1.42 (s, 18H, t-Bu). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 155.90 (NH-CO), 138.20, 128.30 127.60, 127.50 (방향족), 79.90, 78.90 (CMe_3), 72.80 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 68.00 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 50.00 (br, N- CH_2), 46.90 (br, N- CH_2), 39.20 (N- CH_2), 34.40 (br, CH), 29.80 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.30 (t-Bu). MS-EI: 695 $[\text{M}+\text{H}]^+$, (calcd.: 695.5)

단계 (e): N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판

N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-벤질옥시-에틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판 (3.16 g)을 무수 에탄올(100 mL)에 용해시키고, 활성탄(1.00 g, 건조, 10%) 상의 Pd를 첨가하였다. 혼합물을 Parr 수소화 장치에서 35 psi에서 2일 동안 수소화하였다. 촉매를 여과하고, 에탄올(3×20 mL)로 세척하였다. 에탄올을 회전 증발에 의해 제거하여 무색 오일을 얻었고, 이를 고 진공 하에서 일정한 질량(2.67 g, 97.1%)이 되도록 건조시켰다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 5.25 (br d, 2H, NH), 3.69 (t, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 3.28 (br, 12H, N- CH_2), 2.71 (br, OH), 2.23 (br, 1H, CH), 1.56 (shoulder, m, 2H, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$) 1.48 (s, 18H, t-Bu), 1.44 (s, 18H, t-Bu). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 156.10 (NHCO), 80.00, 79.20 (CMe_3), 59.60 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 49.90 (br, N- CH_2), 47.00 (br, N- CH_2), 39.34 (N- CH_2), 33.80 (CH), 32.30 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.30 (t-Bu). MS-EI: 605 $[\text{M}+\text{H}]^+$, (calcd.: 605.4).

단계 (f): N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-카르복시메틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판(화합물 1)

마지첵(Mazitschek) 등의 문헌[Ang. Chem. Int. Ed., 41, 4059-4061(2002)]의 방법을 사용하였다. 따라서, N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-히드록시에틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판(2.60 g)을 DMSO(15 mL)에 용해시키고, 1-히드록시-1,2-벤지오독솔-3(1H)-온-1-옥시드(IBX, 3.50 g)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, N-히드록시숙신이미드(2.50 g)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 수산화나트륨 용액(2M, 40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 용액을 얼음조에 침지시키고, 2M 염산을 사용하여 pH 2로 산성화시켰다. 수층을 에테르(4×100 mL)로 추출하고, 합쳐진 에테르 추출물을 물(3×50 mL)로 세척하였다. 에테르계 층을 Na_2SO_4 로 건조시키고, 용매를 회전 증발에 의해 제거하여 생성물 및 2-요오도소벤조산을 함유하는 황색 고체 잔기를 얻었다. 요오도소벤조산(2.1 g)의 대부분을 클로로포름-헥산(1:3)(80 mL)으로부터 결정화함으로써 제거하였다. 클로로포름-헥산 모액을 증발시켜 실리카 컬럼(300 g, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-Et}_2\text{O}$, 1:1) 상에 충전된 황색 오일(3 g)을 제공하였다. 잔여 요오도소벤조산을 에테르로 용리시켰다. 생성물을 에테르-메탄올(9:1)로 용리시켰다. 생성물을 함유하는 분획을 합치고, 용매를 제거하여 1.5 g의 연한 황색 오일을 얻었다. 이를 실리카 컬럼(50 g, Et_2O) 상에서 재크로마토그래피하였다. 생성물을 에테르-아세트산(95:5)으로 용리시켰다. 생성물을 함유하는 분획을 합치고, 용매를 회전 증발에 의해 제거하여 오일을 얻고, 이를 고 진공 하에서 건조시켰다. 수득물은 1.10 g(41.3%)이었다.

^1H NMR (270 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 7.61 (br s, 1H, COOH), 5.19 (br d, 2H, NH), 3.22 (br, 12H, N- CH_2), 2.47 (br m, 1H, CH), 2.26 (br, 2H, $\text{CH-CH}_2\text{-COOH}$), 1.41 (s, 18H, t-Bu), 1.37 (s, 18H, t-Bu). ^{13}C NMR (67.5 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS) δ = 175.90 (COOH), 156.10 (NHCO), 80.40, 79.10 (CMe_3), 49.50 (N- CH_2), 46.80 (N- CH_2), 39.00 (N- CH_2), 34.70 ($\text{CH-CH}_2\text{-COOH}$), 34.20 ($\text{CH-CH}_2\text{-COOH}$), 28.30, 28.20(t-Bu). MS-EI: 619 $[\text{M}+\text{H}]^+$, (calcd.: 619.4).

실시예 2: (8-아미노-2-[[tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸]-옥틸)-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르(화합물 2)의 합성

단계 (a): 2-(6-클로로-헥실옥시)테트라히드로피란

6-클로로헥산올(6.85 g, 10 mmol) 및 p-톨루엔술폰산(500 mg)을 건조 에테르(75 mL)에 용해시키고, 얼음조에서 0-5 °C로 냉각시켰다. 건조 에테르(25 mL) 중의 디히드로피란(4.3 g, 10 mmol)을 30분 동안 일정하게 교반하면서 적가하였

다. 완전히 첨가한 후, 냉각조를 제거하고, 16시간 동안 계속 교반하였다. 용액을 물(50 ml×2)로 추출하고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 용매를 감압 하에서 증발시켜 연한 황색 오일을 얻었다. ^{13}C NMR 분광에 의해 이 오일은 후속 반응에서 정제 없이 사용하기에 충분히 순수한 것으로 밝혀졌다. 수득량 10.1 g(91 %).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 19.7 (CH_2), 25.5 (CH_2), 25.6 (CH_2), 26.7 (CH_2), 29.6 (CH_2), 30.8 (CH_2), 32.6 (CH_2), 45.0 (CH_2Cl), 62.3 (OCH_2), 67.4 (OCH_2), 98.8 (OCHO).
 ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.30 - 1.71 (14H, m, $\text{CH}_2 \times 7$), 3.24 - 3.32 (1H 3.41 - 3.48 (3H, m CH 및 CH_2), 3.60 - 3.67 (1H, m, CH), 3.72 - 3.82 (1H, bm, CH), 4.44 - 4.49 (1H, bm, OCHO).

단계 (b): 2-[6-(테트라히드로-피란-2-일옥시)-헥실]-말론산 디에틸 에스테르

건조 질소 블랭킷 하에서 일정하게 교반하면서 소량의 나트륨(1.13 g, 49 mmol)을 건조 에탄올(100 mL)에 용해시켰다. 디에틸 말로네이트(8.0 g, 50 mmol)를 한번에 첨가하고, 용액을 60 °C에서 1시간 동안 가열하였다. 2-(6-클로로-헥실옥시)-테트라히드로피란(9.3 g, 42.2 mmol)을 한번에 첨가하고, 온도를 75-80 °C로 올리고, 이 수준으로 24시간 동안 유지시켰다. 냉각 후, 무기 고체를 여과에 의해 제거하고, 용매를 여액으로부터 증발시켰다. 잔여물을 CH_2Cl_2 (50 mL)에 용해시키고, 물(30 ml×2)로 추출하고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 휘발물질을 제거하여 연한 황색 오일을 얻었다. 이 오일을, 용리제로서 석유 에테르 40:60/에테르(200:40)를 사용하여 실리카겔 상에서 크로마토그래피하였다. 필요로 하는 생성물을 $r_f = 0.15$ 로 용리시키고, 무색 오일로 단리시켰다. 수득량 8.7 g, (60 %).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 14.0 ($\text{CH}_3 \times 2$), 19.6 (CH_2), 25.5 (CH_2), 27.2 (CH_2), 28.6 (CH_2), 29.0 (CH_2), 29.6 (CH_2), 30.0 (CH_2), 30.8 (CH_2), 52.0 (CH), 61.2 ($\text{OCH}_2 \times 2$), 62.2 (OCH_2), 67.4 (OCH_2), 98.8 (OCHO), 169.4 ($\text{C=O} \times 2$).
 ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.10 - 1.25 (14H, m, $\text{CH}_3 \times 2$, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.36 - 1.50 (6H, bm, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.70 - 1.81 (2H, bm, CH_2), 3.17 - 3.28 (2H, m, CH_2), 3.56 - 3.66 (1H, m, CH), 3.70 - 3.80 (1H, m, OCH), 4.04 - 4.16 (4H, m, $\text{OCH}_2 \times 2$), 4.03 - 4.08 (1H, m, OCHO).

단계 (c): N,N'-비스-(2-아미노-에틸)-2-[6-(테트라히드로-피란-2-일옥시)-헥실]-말론아미드

2-[6-(테트라히드로-피란-2-일옥시)-헥실]-말론산 디에틸 에스테르(5.1 g, 14.8 mmol)를 1,2-디아미노에탄(10 g, 167 mmol)에 용해시키고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 휘발물질을 진공에서(40-50 °C, 0.01 mmHg) 제거하여 연한 녹색 점성질 잔여물을 얻고, 이에 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (50:50:5)로 용리되는 컬럼 크로마토그래피를 수행하였다. 표제의 화합물을 r_f 0.2로 용리시키고, 연한 녹색 점성질 오일로 수집하였으며, 이는 정치시 고형화되었다. (수득량 3.9 g, 71%).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 19.8 (CH_2), 25.5 (CH_2), 26.0 (CH_2), 27.5 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.7 (CH_2), 30.8 (CH_2), 31.9 (CH_2), 41.0 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 41.9 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 54.6 (CH), 62.5 (OCH_2), 67.5 (OCH_2), 98.9 (OCHO), 171.6 ($\text{C=O} \times 2$).
 ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.15 - 1.28 (6H, bs, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.39 - 1.44 (6H, bm, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.69 - 1.74 (4H, bm, $\text{CH}_2 \times 2$), 2.64 (4H, bs, $\text{NH}_2 \times 2$), 2.73 (4H, t, $J = 6$ Hz, $\text{CH}_2 \times 2$), 3.08 - 3.29 (6H, m, $\text{CH}_2 \times 3$), 3.35 - 3.41 (1H, m CH), 3.55 - 3.63 (1H, m, CH), 3.70 - 3.78 (1H, m, CH), 4.43 (1H, bt, $J = 4$ Hz, OCHO), 7.78 (2H, bt, $J = 5$ Hz, $\text{OCNH} \times 2$)
IR (박막) cm^{-1} : 3417, 3082, 2936, 2862, 1663, 1558, 1439, 1354, 1323, 1261, 1200, 1189, 1076, 1026, 956, 907, 867, 810.

단계 (d): N,N'-비스(2-아미노에틸)-2-(6-히드록시-헥실)-말론아미드

N,N'-비스(2-아미노에틸)-2-[6-(테트라히드로-피란-2-일옥시)-헥실]-말론아미드(3.9 g, 10.6 mmol), p-톨루엔술폰산 모노히드레이트(8.5 g, 3 mmol) 및 에탄올(50 mL)을 환류 하에서 70-75 °C에서 16시간 동안 가열하였다. 냉각 후, 영구 pH가 9가 될 때까지 진한 수산화암모늄(.880)을 적가하였다. 침전된 백색 고체를 셀라이트(Celite)를 통해 여과함으로써 제거하고, 필터 케이크를 에탄올(30 mL)로 세척하였다. 에탄올을 감압 하에서(15 mm Hg, 40 °C) 제거하여 반고체 왁스를 얻었다. 이 잔여물을 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (100:50:10)로 용리되는 실리카겔 상에서 크로마토그래피하고, 표제의 화합물은 $r_f = 0.2$ 를 갖는 것으로 발견되었다. 이 생성물을 수집하고, 에탄올(100 ml×3)로 공증발시켜 임의의 여수를 제거하였다. 연한 녹색 점성질 잔기를 얻었고, 이는 정치시 고형화되었다. (수득량 2.1 g, 69 %).

^{13}C NMR (CD_3OD): δ 25.4 (CH_2), 27.3 (CH_2), 28.9 (CH_2), 30.4 (CH_2), 32.2 (CH_2), 40.6 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 41.7 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 54.1 (CH), 61.6 (CH_2OH), 171.7 ($\text{C=O} \times 2$).

^1H NMR (CD_3OD): δ 1.28 - 1.38 (6H, bs, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.46 - 1.55 (2H, bm, CH_2), 1.79 - 1.87 (2H, bm, CH_2), 2.73 (4H, t, $J = 6$ Hz, $\text{H}_2\text{NCH}_2 \times 2$), 3.13 (1H t, $J = 7$ Hz, CH), 3.27 (4H, dt, $J = 6$ 및 2 Hz, $\text{HNCH}_2 \times 2$), 3.53 (2H t, $J = 7$ Hz OCH_2).

IR (박막) cm^{-1} : 3364, 2932, 2862, 2527, 1663, 1558, 1462, 1327, 1223, 1192, 1034.

Mass spec (Fabs) m/e : $\text{C}_{13}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_3$ 에 대한 계산치 (M+H) 289 실측치 289.

단계 (e): (2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸-2-{[(tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸}-8-히드록시-옥틸)-탄산 tert-부틸 에스테르

건조 질소 블랭킷 하에서, 본래 그대로의 보란-디메틸술포드 첨가생성물(15 ml, 150 mmol)을 디옥산(50 mL) 중의 N,N'-비스-(2-아미노에틸)-2-(6-히드록시헥실)말론아미드(2.1 g, 7.3 mmol)의 교반된 혼합물에 주사기를 통해 적가하였다. 완전히 첨가한 후, 혼합물을 환류 하에서 110 °C에서 5일 동안 온화하게 가열하였다. 이 기간 동안, 일부 백색 고체가 잔류하였다. 냉각 후, 휘발물질을 감압 하에서 제거하여 백색 고체를 얻고, 여기에 메탄올(50 mL)을 적가하여 무색 용액을 제공하였다. 이 용액을 환류 하에서 3시간 동안 가열하고, 냉각시키고, 진한 HCl(5 mL)을 첨가하고, 환류 하에서 70-75 °C에서 48시간 동안 계속 가열하였다. 용매를 제거하여 점성질 녹색 잔여물을 얻고, 이를 메탄올(100 mL×3)로 공증발시켜 연한 녹색 고체를 얻었다. 이 고체를 건조 메탄올에서 재용해시키고, 무수 탄산칼륨(4.0 g, 30 mmol)을 첨가한 후, 디-tert-부틸 디카르보네이트(7.0 g, 32 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반하였다. 무기 고체를 셀라이트를 통해 여과함으로써 제거하고, 용매를 여액으로부터 증발시켜 점성질 잔여물을 얻었다. 이 잔여물을 물(50 mL)과 혼합하고, CH_2Cl_2 (50 mL×3)로 추출하였다. 유기 분획을 합치고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 용매를 증발시켜 연한 황색 잔여물을 얻었다.

주의: 이때, 반응을 ^{13}C NMR에 의해 모니터링하는 것이 편리하다. 잔여물을 용리제로서 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(95:5)$ 를 사용하여 실리카겔 상에서 크로마토그래피하였다. 표제의 화합물을 $r_f = 0.41$ 로 용리시키고, 무색 점성질 오일로 단리시켰다(수득량 2.5 g, 52%).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 25.6 (CH_2), 26.4 (CH_2), 28.4 ($\text{CH}_3 \times 12$), 29.8 ($\text{CH}_2 \times 2$), 32.6 (CH_2), 36.5 (매우 넓은, CH), 39.2 ($\text{NCH}_2 \times 2$, 인접 CH), 46.9 (넓은 단일선, $\text{HNCH}_2 \times 2$), 50.0 (넓은 단일선, $\text{NCH}_2 \times 2$), 62.4 (HOCH_2), 79.0 ($\text{OC} \times 2$), 79.9 ($\text{OC} \times 2$), 156.4 (넓은 단일선 $\text{C=O} \times 4$)

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.05 - 1.18 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.27 (18h, s, $\text{CH}_3 \times 6$, t-부틸), 1.31 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$, t-부틸), 1.41 (2H, m, CH_2), 1.81 (1H bs, CH), 2.63 (1H, bs, OH), 2.98 (4H, bs, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.11 (8H, bs, $\text{NCH}_2 \times 4$), 3.44 (2H, t, $J = 8$ Hz, CH_2O), 5.2 (2H, bs, $\text{NH} \times 2$)
IR (박막) cm^{-1} : 3350, 2976, 2931, 2859, 1674, 1516, 1455, 1418, 1393, 1260, 1250, 1165, 1069, 965, 871, 775.

Mass Spec (Fabs) m/e : $\text{C}_{33}\text{H}_{65}\text{N}_4\text{O}_9$ 에 대한 계산치 (M+H) 661 실측치 661.

단계 (f): 톨루엔-4-술포산 8-[tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-7-{tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸}-옥틸 에스테르

(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸-2-{[(tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노에틸)아미노]-메틸}-8-히드록시옥틸)-탄산 tert-부틸 에스테르(2.52 g, 3.82 mmol), p-톨루엔술포닐 클로라이드(1.0 g, 5.2 mmol), 트리에틸아민(1.3 g, 12.8 mmol) 및 CH_2Cl_2 (30 mL)를 용매를 천천히 증발시키면서 실온에서 교반하였다. 반응을 탄소 NMR에 의해 모니터링하고, 3일 후 출발 물질이 거의 남지 않았다. 반응 부피는 CH_2Cl_2 를 갖는 30 ml 이하로 구성되었고, 이를 물(50 mL×3)로 추출하고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 용매를 증발시켜 갈색 잔여물을 얻었다. 이 잔여물을 용리제로서 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(100:5)$ 를 사용하여 실리카겔 상에서 크로마토그래피하였다. 용리시킬 제1 화합물은 $r_f = 0.95$ 를 갖는 미반응 토실 클로라이드였다. 표제의 화합물을 $r_f = 0.2$ 로 용리시키고, 연한 황색 점성질 오일로 단리시켰다. 수득량(1.20 g, 39%).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 21.7 (CH_3 tosyl), 25.3 (CH_2), 26.3 (CH_2), 28.5 ($\text{CH}_3 \times 12$), 28.8 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.9 (CH_2), 36.5 (CH 매우 넓음), 39.4 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 47.0 (넓음 $\text{NCH}_2 \times 2$), 50.5 (넓음, $\text{NCH}_2 \times 2$), 70.6 (TsOCH_2), 79.1 ($\text{OC} \times 2$), 80.0 ($\text{OC} \times 2$), 127.9 ($\text{CH} \times 2$), 129.9 ($\text{CH} \times 2$), 133.2 (C), 144.7 (C-S Ts), 156.1 (넓음, $\text{C=O} \times 4$).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.16 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.35 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.39 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.88 (1H, bs, CH), 2.38 (3H, s, CH_3 Tosyl), 3.10 - 3.12 (4H, bs, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.19 (8H, bs, $\text{NCH}_2 \times 4$), 3.93 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2OTs), 5.0 (1H, bs, NH), 5.08 (1H, bs, NH), 7.29 (2H, d, $J = 8$ Hz, $\text{CH} \times 2$, Ar), 7.72 (2H, d, $J = 8$ Hz $\text{CH} \times 2$, Ar)

IR (박막) cm^{-1} : - 3360, 2974, 2932, 2862, 1693, 1516, 1479, 1418, 1391, 1366, 1250, 1177, 1069, 959, 816, 775.

Mass Spec (Fabs) m/e : - $\text{C}_{40}\text{H}_{71}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ 에 대한 계산치 (M+H) 815 실측치 815

단계 (g): (8-아지도-2-([tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸)-옥틸)-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르

톨루엔-4-술폰산 8-[tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노에틸)-아미노]-7-([tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노에틸)아미노)메틸]-옥틸 에스테르(1.105 g, 1.36 mmol), 나트륨 아지드(350 mg, 5.4 mmol) 및 메탄올(10 mL)을 환류 하에서 70-75 $^{\circ}\text{C}$ 에서 16시간 동안 가열하였다. 냉각 후, 메탄올을 약 1-2 ml가 남을 때까지 실온에서 감압 하에서 제거하였다. 이 잔여물을 물(25 mL)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (25 ml $\times$ 4)로 추출하였다. 유기 추출물을 합치고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 휘발물질을 실온에서 증발시켜(주의: 아지드는 잠재적으로 폭발성이므로 이 단계는 안전 쉴드 뒤에서 수행해야 함) 순수 상태의 원하는 화합물인 연한 황색 점성질 잔여물을 얻었다. (수득량 820 mg, 88 %).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 26.3 (CH_2), 26.5 (CH_2), 28.3 ($\text{CH}_3 \times 12$), 28.7 (CH_2), 29.6 (CH_2), 29.8 (CH_2), 36.8 (넓음, CH), 39.3 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 46.9 (넓음, $\text{NCH}_2 \times 2$), 50.0 (넓음, $\text{NCH}_2 \times 2$), 51.3 (CH_2N_3), 79.0 ($\text{OC} \times 2$), 79.8 ($\text{OC} \times 2$), 156.0 ($\text{C=O} \times 4$).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.16 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.29 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.33 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.47 (2H, bt, $J = 6.5$ Hz CH_2 인접 CH), 1.86 (1H, bs, CH), 2.95 - 3.05 (4H, bs, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.05 - 3.20 (10H, bs, $\text{NCH}_2 \times 4$ 및 CH_2N_3), 5.09 (2H, bs, $\text{NH} \times 2$)
IR (박막) cm^{-1} : - 3350, 2974, 2932, 2860, 2097 (강한 밴드 N_3), 1694, 1520, 1470, 1418, 1391, 1366, 1250, 1167, 1069, 870, 777.

단계 (h): (8-아미노-2-([tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸)-옥틸)-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르(화합물 2)

(8-아지도-2-([tert-부톡시카르보닐-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸)-옥틸)-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르(820 mg, 1.20 mmol), 골탄 상의 10 % 팔라듐(100 mg) 및 메탄올(10 mL)을 30 대기압 하에서 실온에서 16시간 동안 수소 기체로 처리하였다. 고체를 셀라이트를 통해 여과함으로써 제거하고, 필터 케이크를 메탄올(50 mL)로 세척하였다. 휘발물질을 여액으로부터 제거하여 순수 상태의 원하는 물질인 점성질 오일을 얻었다. (수득량 700 mg, 89 %).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 26.4 (CH_2), 26.6 (CH_2), 28.4 ($\text{CH}_3 \times 12$), 32.9 ($\text{CH}_2 \times 2$), 36.8 (넓음, CH), 39.2 ($\text{NCH}_2 \times 2$), 41.8 (H_2NCH_2), 46.9 (넓음, $\text{NCH}_2 \times 2$), 49.8 (넓음, $\text{NCH}_2 \times 2$), 78.9 ($\text{OC} \times 2$), 79.7 ($\text{OC} \times 2$), 156.0 ($\text{C=O} \times 4$).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.08 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.23 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.27 (20H, bs, $\text{CH}_3 \times 6$ 및 CH_2), 1.77 (1H, bs, CH), 2.40 (2H, bs, NH_2), 2.50 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2NH_2), 2.97 (4H, bm, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.00 - 3.16 (8H, bm, $\text{NCH}_2 \times 4$), 5.21 (1H, bs, NH), 5.30 (1H, bs, NH).
IR (박막) cm^{-1} : - 3360, 1693, 1520, 1459, 1418, 1392, 1367, 1250, 1170, 1068, 964, 922, 871, 775, 733.

Mass Spec (Fabs) m/e : - $\text{C}_{33}\text{H}_{66}\text{N}_5\text{O}_8$ 에 대한 계산치 (M+H) 660 실측치 660.

실시예 3: 화합물 3의 합성

단계 (a): 벤질아민에 대한 화합물 1의 커플링

CH₂Cl₂(5 mL) 중 화합물 1(61.8mg, 0.1 mmol)을 (50 mL) 둥근 바닥 플라스크에서 20 °C에서 18h 동안 벤질아민(10.7 mmol) 디페닐포스핀산 클로라이드(25.9mg) 및 디이소프로필아미드(29 mg, 0.22 mmol)로 처리하였다. 그 다음, 반응물을 CH₂Cl₂(20 mL)로 희석시키고, 1N 염산(5 mL) 및 포화 탄산칼륨 수용액(5 mL)으로 세척하였다. CH₂Cl₂ 층을 분리시키고, 건조시키고(Na₂SO₄), 진공에서 농축시켜 겜(~ 50 mg)을 얻었다. 그 다음, 조 물질을 휘발유 중 에틸 아세테이트 (50%, 70%, 및 90% 각각 100 ml)의 구배로 실리카 상에서 크로마토그래피하였다. 소량의 빠르게 러닝(running)하는 불순물을 수집한 직후, 주 분획을 수집하였다.

¹H 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 CDCl₃ 중에서 러닝하였다. 이는 주 분획이, 필요로 하는 순수 화합물이었다는 점을 시사하였다.

단계 (b): Boc 보호기의 탈보호

CH₂Cl₂(0.5 mL) 중의 단계 (a)로부터의 생성물(27.8 mg, 0.039 mmol)을 트리플루오로아세트산(0.5 mL)으로 처리하고, 반응을 실온에서 3 시간 동안 정치시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 진공에서 검이 되게 농축시켜, 과량의 산을 제거하고, 중량을 잴(53 mg). ¹H 및 ¹³C NMR(CDCl₃)은 Boc 기가 완전히 제거되었음을 시사하였다. 중량을 잰 화합물 2의 샘플을 물에 용해시켜 TFA 염으로 된 10 mmolar 용액을 얻고, 이를 방사표지화 실험에 사용하였다.

실시예 4: 화합물 6의 합성

단계 (a): (8-벤조일아미노-2-{[tert-부톡시카르보닐-(2-tert-카르보닐아미노-에틸)-아미노]-메틸}-옥틸)-(2-tert-부틸옥시카르보닐아미노-에틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르

건조 CH₂Cl₂ 중의 벤조산 2,5-디옥소-피롤리딘-1-일 에스테르(20 mg, 0.091 mmol)를 CH₂Cl₂(1 mL) 중의 화합물 2 (50 mg, 0.08 mmol)의 용액에 한번에 첨가하고, 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(10 mL)로 희석시키고, 물(15 ml×2)로 추출하고, 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 용매를 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류하는 잔여물을 용리제로서 CH₂Cl₂/메탄올 94:6(t_f = 0.23)을 사용하여 실리카겔 상에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 점성질 오일을 얻었다. (수득량 25 mg, 41%).

¹³C NMR (CDCl₃): δ 26.4 (CH₂), 26.8 (CH₂), 28.5 (CH₃ x 12), 29.6 (CH₂ x 2), 29.7 (CH₂), 29.9 (CH₂), 36.6 (넓음, CH), 39.4 (NCH₂ x 2), 40.0 (O=CNCH₂ x 2), 47.0 (넓음, NCH₂ x 2), 49.8 (NCH₂ x 2), 79.7 (OC x 2), 80.0 (OC x 2), 127.0 (Ar CH x 2), 128.5 (Ar CH x 2), 131.3 (Ar CH), 134.9 (Ar C), 156.1 (C=O x 4), 167.6 (ArC=O).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.28 (8H, bs, CH₂ x 4), 1.38 (18H, s, CH₃ x 6), 1.42 (20H, bs, CH₃ x 6 및 CH₂), 1.95 (1H, bs, CH), 3.1 (4H, bs, NCH₂ x 2) 3.22 (8H, bs, NCH₂ x 4), 3.42 (2H, bq, J = 6Hz, CH₂N-벤조일), 5.08 (2H, bs, NH x 2), 6.18 (1H, bs, HN-벤조일), 7.38 - 7.45 (3H, m, Ar CH x 3), 7.74 (2H, bd, J = 7Hz, Ar CH x 2),

IR (박막) cm⁻¹ :- 3350, 2976, 2932, 2859, 1693 (넓음), 1652, 1520, 1419, 1391, 1367, 1251, 1166, 732

Mass Spec (Fabs) m/e :- C₄₀H₇₀N₅O₉에 대한 계산치(M+H) 764 실측치 764.

단계 (b): Boc 보호기의 탈보호

CH₂Cl₂(0.5 mL) 중의 단계 (a)(42 mg, 0.056 mmol)로부터의 Boc 테트라아민 벤즈아미드를 트리플루오로아세트산(0.5 mL)으로 처리하고, 반응을 실온에서 3h 동안 정치시켰다. 그 다음, 반응물을 진공에서 농축시켜 과량의 산을 제거하여 겜을 얻었다. 예측된 중량(45 mg), 실측 중량(45.7 mg). ¹H 및 ¹³C NMR(CD₃OD)은 Boc 기가 완전히 제거되고, 필요로 하는 화합물을 함유함을 시사하였다. 중량을 잰 화합물의 샘플을 물에 용해시켜 TFA 염 10 mM 용액(5.6 mL 중 56 μmol)을 얻었고, 이를 방사표지화에 사용하였다.

실시예 5: 화합물 4의 합성

THF(4 mL) 중 단계 (b)로부터의 수지의 현탁액에 염화주석(II)(아크로스(Acros), 0.141 g, 0.744 mmol), 티오페놀(플루카, 0.304 ml, 2.976 mmol) 및 트리에틸아민(플루카, 0.311 ml, 2.23 mmol)을 첨가하였다. 1.5시간 후, 수지의 한 엘리콧을 a) 하에 기재된 바와 같이 분절시켰다. LC-MS 분석(컬럼 페노메넥스 루나 C18(2) 3 μ m 50 $\times$ 4.60 mm, 용매: A = 물/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA; 10분간 구배 20-80% B; 유량 1 ml/min, 214 nm에서 UV 검출, ESI-MS)은 아민에 대해 예측되는 바와 같이 1.9분에서 m/z 422.2(MH⁺)를 갖는 피크를 제공하였다.

단계 (d): 로사르탄-Leu-테트라아민 킬레이트제(화합물 4)

Fmoc-Leu-OH(노바바이오켄, 0.030 g, 0.084 mmol)를 표준 커플링 시약(HATU 및 DIEA) 및 표준 Fmoc-분절 프로토콜(DMF 중 20% 피페리딘)을 사용하여 DMF 중의 단계 (c)(0.042 mmol)로부터의 수지 결합 아미노-로사르탄의 엘리콧에 커플링시켰다. 커플링의 완료를 표준 카이저(Kaiser) 시험에 의해 점검하였다. 그 다음, DMF 중의 동일한 커플링 시약(HATU 및 DIEA)을 사용하여 수지에 화합물 1(0.026 g, 0.042 mmol)을 커플링시켰다. 4시간 후, 생성물을 수지로부터 분절시키고, Boc 기를 동일한 단계(1 시간 동안 디클로로메탄/TFA/트라이소프로필실란, 47.5:50:2.5 용액)에서 제거하였다. 용액을 여과하고, 농축시키고, 제조용 HPLC(컬럼 페노메넥스 루나 C18(2) 5 μ m 21.2 $\times$ 250 mm, 용매: A = 물/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA; 60분간 구배 20-40% B; 유량 10.0 ml/min, 214 nm에서 UV 검출)에 의해 정제하여 동결건조 후 5 mg의 생성물을 얻었다. LC-MS 분석(컬럼 페노메넥스 루나 C18(2) 3 μ m 50 $\times$ 4.60 mm, 용매: A = 물/0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴/0.1% TFA; 10분간 구배 10-80% B; 유량 0.3 ml/min, 214 및 254 nm에서의 UV 검출, ESI-MS) t_R 5.1분, m/z 735.4(MH⁺))으로 구조를 확인하였다.

실시예 6: 화합물 5의 합성

화합물을 실시예 4에 기재된 바와 같이 고체 지지체 상에서 합성하였다. Fmoc-Leu-OH(노바바이오켄, 0.033 g, 0.092 mmol) 및 Fmoc-아미노 PEG 디글리콜산(폴리퓨어(Polypure), 0.049 mg, 0.092 mmol)을 표준 커플링 시약(HATU 및 DIEA) 및 표준 Fmoc-분절 프로토콜(DMF 중 20% 피페리딘)을 사용하여 DMF 중의 실시예 4(c)(0.046 mmol)로부터의 수지 결합 아미노-로사르탄의 엘리콧에 커플링시켰다. 커플링 완료를 표준 카이저 시험에 의해 점검하였다. 그 다음, DMF 중의 동일한 커플링 시약(HATU 및 DIEA)을 사용하여 수지에 화합물 1(0.029 g, 0.046 mmol)을 커플링시켰다. 반응물을 밤새 방치한 다음, 생성물을 수지로부터 분절시키고, Boc 기를 동일한 단계(1시간 동안 디클로로메탄/TFA/트라이소프로필실란, 47.5:50:2.5 용액)에서 제거하였다. 용액을 여과하고, 농축시키고, 제조용 HPLC(컬럼 페노메넥스 루나 C18(2) 5 μ m 21.2 $\times$ 250 mm, 용매: A = 물/0.1% HCOOH 및 B = 아세토니트릴/0.1% HCOOH; 60분간 구배 10-40% B; 유량 10.0 ml/min, 214 nm에서 UV 검출)에 의해 정제하여 동결건조 후 3.5 mg의 생성물을 얻었다. LC-MS 분석(컬럼 페노메넥스 루나 C18(2) 3 μ m 50 $\times$ 4.60 mm, 용매: A = 물/0.1% HCOOH 및 B = 아세토니트릴/0.1% HCOOH; 10분간 구배 10-40% B; 유량 0.3 ml/min, 214 및 254 nm에서의 UV 검출, ESI-MS) t_R 4.7분, m/z 1025.4(MH⁺))으로 구조를 확인하였다.

실시예 7: 화합물 8의 합성

단계 (a): N-Boc-N-[FmocNH-CH₂CH₂]-Gly-OH의 합성

1 g의 N-[FmocNH-CH₂CH₂]-Gly-OtBu.HCl(플루카 09660)을 60분 동안 0.5 mL의 트라이소프로필실란을 함유하는 디클로로메탄 중의 20 mL의 50 % 트리플루오로아세트산(TFA)으로 처리하였다. 혼합물을 진공에서 증발시키고, 잔여물을 수중 20 mL의 50 % 테트라히드로푸란에 재용해시켰다. 2.6 g의 tert-부틸옥시카르보닐 무수물 및 1.2 mL의 N-메틸모르폴린을 첨가하고, 혼합물을 4일 동안 교반하였다. 그 다음, 테트라히드로푸란을 진공에서 증발시키고, 잔여물을 디클로로메탄에 재용해시켰다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO₄로 건조시켰다. 디클로로메탄을 진공에서 증발시키고, 잔여물을 5 mL의 디메틸포름아미드에 재용해시켰다. 디메틸포름아미드 용액을 수중 400 mL의 60 % 아세토니트릴로 희석시키고, 정제를 위해 제조용 RP-HPLC 컬럼(40분간 30-80 % B, 여기서 A = H₂O/0.1 % TFA 및 B = CH₃CN/0.1 % TFA, 페노메넥스 루나 10 μ m C18(2) 250 $\times$ 50 mm 컬럼 상의 50 mL/min의 유량)에 펌핑하여 450 mg의 순수한 생성물을 얻었다. 생성물을 분석용 HPLC에 의해 분석하였다(10분간 구배, 20-70 % B, 여기서 A = H₂O/0.1 % TFA 및 B = CH₃CN/0.1 % TFA; 유량, 0.3 mL/min; 컬럼, 페노메넥스 루나 3 μ m C18(2) 50 $\times$ 2 mm; 검출, UV 214 nm; 생성물 체류 시간 8.66 min). 추가의 생성물 특성화를 전자분사 질량 분석을 사용하여 수행하였다(MH⁺ 이론치, 441.2; MH⁺ 실측치, 440.8).

단계 (b): N-((CH₂)₂-NHCOCH₂-테트라아민)-Gly-Are-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Ile-OH(화합물 8)의 합성

0.1 mmol Fmoc-Ile-Wang 수지로 출발하여 어플라이드 바이오시스템스(Applied Biosystems) 433A 펩티드 합성기 상에서 안지오텐신 II의 펩티드 유사체를 합성하였다. 과량의 1 mmol 예비 활성화된 아미노산을 (O-벤조트리아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(HBTU)를 사용하여) 아르기닌까지의 커플링 단계에 적용하였다. 123 mg의 N-Boc-N-[FmocNH-CH₂CH₂]-Gly-OH, 114 mg의 N-[(디메틸아미노)-1H-1,2,3트리아졸로-[4,5-b]피리딘-1-일메틸렌]-N-메틸 메탄아미늄 헥사플루오로포스페이트 TV-옥시드(HATU) 및 60 µL의 N-메틸모르폴린을 디메틸포름아미드에 용해시키고, 5분 동안 교반한 다음, 질소 기포생성기에서 수지에 첨가하였다. 2시간 후 반응물을 제거하고, 수지를 디메틸포름아미드 및 디클로로메탄으로 세척하였다. 수지를 디메틸포름아미드 중의 20 % 피페리딘으로 처리하고(3×10 mL), 디메틸포름아미드로 세척하였다. 23 mg의 화합물 1, 14 mg의 HATU 및 7.5 µL의 N-메틸모르폴린을 10분 동안 디메틸포름아미드에 용해시키고, 수지에 첨가하였다. 4시간 후 반응물을 제거하고, 수지를 디메틸포름아미드 및 디클로로메탄으로 세척하였다. 측쇄 보호기의 동시 제거 및 수지로부터의 펩티드 분리를 90분 동안 2.5 % 트라이소프로필살란 및 2.5 % 물을 함유하는 10 mL의 트리플루오로아세트산 중에서 수행하였다. 트리플루오로아세트산을 진공에서 제거하고, 디에틸 에테르를 잔여물에 첨가하고, 침전된 생성물을 디에틸 에테르로 세척하고, 공기 건조시켰다.

제조용 RP-HPLC(40분간 0-30 % B, 여기서 A = H₂O/0.1 % TFA 및 B = CH₃CN/0.1 % TFA, 페노메넥스 루나 10µ C18(2) 250×21.20 mm 컬럼 상에서 10 mL/min의 유량)에 의해 생성물을 정제하여 32 mg의 순수 킬레이트-펩티드 결합체를 얻었다. 생성물을 분석용 HPLC에 의해 분석하였다(20분간 구배, 5-50 % B, 여기서, A = H₂O/0.1 % TFA 및 B = CH₃CN/0.1 % TFA; 유량, 1 mL/min; 컬럼, 페노메넥스 루나 3µ C18(2) 50×2 mm; 검출, UV 214 nm; 생성물 체류 시간 5.22 min). 추가의 생성물 특성화를 전자분사 질량 분석을 사용하여 수행하였다(MH⁺ 이론치, 1197.8; MH⁺ 실측치, 1197.8).

실시예 8: 화합물 3 내지 7의 ^{99m}Tc 방사표지화

다음의 성분을 함유하는 동결건조된 키트("킬라키트 에이 플러스(Chelakit A plus)")를 제조하였다.

성분	M.Wt.	mg
SnCl ₂ ·2H ₂ O	225.63	0.016
MDP(H ₄)	176.00	0.025
NaHCO ₃	84.01	4.5
Na ₂ CO ₃	105.99	0.6
NaPABA	159.12	0.200

표지화될 25-50 µg의 화합물(25-50 µL 용매 중에 용해됨)을 킬라키트 에이 플러스에 첨가한 후, 생성제 용리액(식염수 중 ^{99m}TcO₄⁻, 1.0 mL)에 첨가하였다. 용액을 혼합하고, 실온에서 20-30분 동안 방치하였다. 화합물 3 및 6을 실온에서 pH 9에서 테크네튬 표지화하여 대응하는 양이온성 ^{99m}Tc 착물을 고수율(RCP > 90%)로 얻었다. 테트라아민 착물을 HPLC(이동상: 수중 0.1% TFA, 아세토니트릴 중 0.1% TFA; XTERRA RP₁₈ 3.5µm 4.6×150 mm 컬럼)에 의해 정제하였고, 이는 50 mM 포스페이트 완충제 중에서 37℃에서 2시간 동안 안정화시켰다(2시간 후 HPLC에 의한 RCP >95%).

실시예 9: ^{99m}Tc 착물의 친지성(LogP) 측정

실시예 8의 ^{99m}Tc 착물의 옥탄올-물 분배 계수(LogP)를 다음과 같이 결정하였다: 실시예 8로부터의 10 µL의 HPLC-정제된 ^{99m}Tc 착물을 원심분리 관에서 1-옥탄올(2 mL) 및 50 mM 포스페이트 완충제(pH=7.4, 2.0 mL)와 혼합시켰다. 이 관을 실온에서 1분 동안 볼텍스(vortex)한 다음, 고속에서 60분 동안 원심분리하였다. 양쪽 상의 0.1 ml의 샘플을, 상간의 상호오염에 대해 적절히 주의하면서 다른 시험관으로 피펫팅하고, 왈락 위저드(Wallac Wizzard) 감마-계수기에서 수를 세었다. 측정을 3회 반복하였다.

분배 계수 P를 다음과 같이 계산하였다: $P = (\text{옥탄올 중 cpm} - \text{배경 cpm}) / (\text{수중 cpm} - \text{배경 cpm})$. 통상 최종 분배 계수 값을 log P로 표현하였다. 그 결과를 하기 표 1에 제공한다.

[표 1]

테크네튬 착물 테트라-아민 화합물의 Log P 값

화합물 번호의 ^{99m} Tc 착물	Log P (옥탄올/50 mM 포스페이트 완충제)
3	<-2
4	+0.6
5	-0.1
6	-1.8
7	<-2

실시예 10: ^{99m}Tc 착물의 생체분포

화합물 4, 5 및 7의 ^{99m}Tc 착물을 실시예 8에 기재된 바와 같이 제조하였다. 실험을 정상 수컷 위스타(Wistar) 쥐(180 내지 220 g)에서 시험 대상(Test Item)의 주사 후(p.i.) 두 정해진 시점(2 및 120분)에서 수행하였다. 동물을 할로탄(Halothane)(산소 중 6 %)으로 마취시키고, 0.1 ml(500 MBq/ml) 시험 대상을 주사하고, 희생시키고, 절개하고, 샘플을 방사성에 대해 분석시험하였다. 그 결과를 하기 표 2에 제공한다.

[표 2]

^{99m}Tc 착물의 생체분포

%ID/G	화합물 4	화합물 5	화합물 7
혈액 5 분	3.26	1.5	0.84
혈액 120 분	0.91	0.26	0.05
근육 120 분	0.34	0.9	0.1
간 120 분	6.52	3.53	1.55
폐 120 분	1.84	0.6	0.4
심장 120 분	0.44	0.13	0.1
심장/혈액	0.49	0.5	2
심장/폐	0.24	0.21	0.25
심장/간	0.07	0.04	0.06
심장/근육	1.3	1.44	1
2시간 동안 보유 %			
청소율 (%ID)			
소변 (K,B,U) 120 분	21.13	14.45	64.26
HBS 120 분	74.65	54.21	19.63
Log P	0.6	-0.1	<-2

실시예 11: 화합물 1의 별법상 제조

실시예 1 단계 (e)로부터의 N,N'-비스(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸)-2-(2-히드록시에틸)-1,3-디(tert-부톡시카르보닐아미노)프로판을 사염화탄소(14 mL) 및 아세토니트릴(14 mL)에 용해시켰다. 물(21 mL)을 첨가하여 2상 혼합물을 제공한 후, 과요오드산나트륨(4.5 g, 21 mmol) 및 염화루테튬 수화물(35 mg, 0.026 mmol)을 첨가하였다. 생성되는 어두운 갈색 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, CH₂Cl₂(40 mL)로 희석하였다. 유기층을 분리시키고, 수상을 추가의 CH₂Cl₂(40 ml×3)로 추출하였다. 모든 유기 추출물을 합치고, 건조시키고(MgSO₄), 여과하고, 휘발물질을 감압 하에서 증발시켜 화합물 1의 나트륨염을 어두운 점성질 잔여물로 얻었고, 이를 추가 정제 없이 사용하였다(4.15 g, 96 %).

^{13}C NMR (CDCl_3) : δ_{C} 28.2 (x12)(CH_3), 34.1 (CH_2), 34.4 (CH), 38.6 (x2)(NCH_2), 46.8 (x2)(NCH_2), 49.3 (x2)(NCH_2), 79.0 (x2)(OC), 80.2 (x2)(OC), 155.9 (x4)(C=O), 175.4 (COOH).

^1H NMR (CDCl_3) : δ_{H} 1.29 (18H, s, CH_3 x 6), 1.35 (18H, s, CH_3 x 6), 2.19 (1H, br, CH), 2.40 (2H, br, CH_2), 3.05 – 3.23 (12H, br, NCH_2 x 6), 5.10 – 5.24 (2H, br, NH x 2)

Mass Spec (ESI) m/e : $\text{C}_{29}\text{H}_{54}\text{O}_{10}\text{N}_4\text{Na}$ 에 대한 계산치(M+Na) 641.3738, 실측치 641.3787

실시예 12: 화합물 9의 제조

1,3-디시클로헥실카르보다이미드(DCC; 2.16 g, 10.5 mmol)를 건조 THF(30 mL) 중 화합물 1(4.15 g, 6.90 mmol) 및 N-히드록시숙신이미드(1.81 g, 15.7 mmol)의 교반된 용액에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, 침전된 DCU(1,3-디시클로헥실우레아)를 여과에 의해 제거하였다. 여액으로부터 휘발물질을 증발시켜 왁스형 잔여물을 얻고, 여기에 건조 에테르(50 mL)를 첨가하여 더 많은 DCU를 침전시키고, 이를 여과에 의해 제거하였다. 에테르계 용액을 물(25 ml x 2)로 세척하고, 건조시키고(MgSO_4), 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여 왁스형 고체를 얻었다. 이 고체를 미반응 DCC가 제거될 때까지 CH_2Cl_2 /에테르 혼합물(1:1)로 용리되는 실리카겔 상에서 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 용리제를 에테르로 바꾸고, 필요로 하는 생성물($r_f = 0.4$, $\text{DCM}/\text{Et}_2\text{O}$ 1:1)을 무색 고체 (2.7 g, 57 %)로서 단리하였다(m p 66–68 °C).

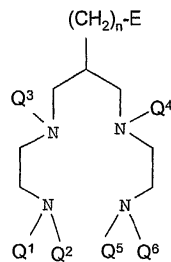
^{13}C NMR (CDCl_3) : δ_{C} 25.6 (x2)(CH_2), 28.4 (x 12)(CH_3), 31.8 (CH_2), 35.2 (CH), 39.3 (x2)(NCH_2), 47.1 (x2)(NCH_2), 49.1 (x2)(NCH_2), 79.9 (x2)(OC), 80.5 (x2)(OC), 156.1 (x4)(C=O), 167.7 (C=O), 169.1 (x2)(C=O).

^1H NMR (CDCl_3) : δ_{H} 1.35 (18H, s, CH_3 x 6), 1.41 (18H, s, CH_3 x 6), 2.52 (3H, brs, CH & CH_2), 2.77 (4H, s, CH_2 x 2), 3.10 – 3.35 (12H, brs, NCH_2 x 6), 5.08 (2H, brsNH x 2)

Mass Spec (ESI) m/e : $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{N}_5\text{O}_{12}\text{Na}$ 에 대한 계산치 (M+Na) 738.3896, 실측치 738.3893

도면

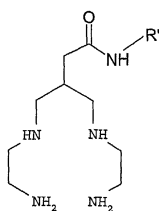
도면1

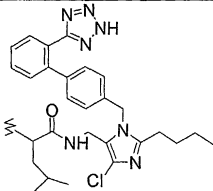
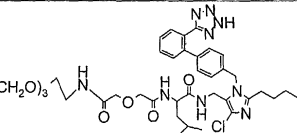
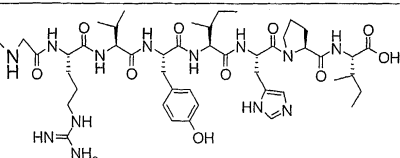


Q^1 내지 Q^6	n	E	화합물 번호
$\text{Q}^1 = \text{Q}^3 = \text{Q}^4 = \text{Q}^5 = -\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ $\text{Q}^2 = \text{Q}^6 = \text{H}$	1	$-\text{CO}_2\text{H}$	1
$\text{Q}^1 = \text{Q}^3 = \text{Q}^4 = \text{Q}^5 = -\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ $\text{Q}^2 = \text{Q}^6 = \text{H}$	6	$-\text{NH}_2$	2
$\text{Q}^1 = \text{Q}^3 = \text{Q}^4 = \text{Q}^5 = -\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ $\text{Q}^2 = \text{Q}^6 = \text{H}$	1	$-\text{CO}_2(\text{NHS})$	9

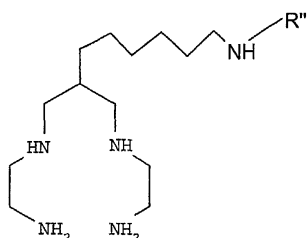
NHS = N-히드록시숙신이미드 활성 에스테르

도면2



R'	화합물
$-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	3
	4
	5
	8

도면3



R"	화합물 번호
-COC ₆ H ₅	6
	7