(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0130610
(43) 공개일자 2023년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 51/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 51/0497 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2023-7015744
(22) 출원일자(국제) 2021년10월14일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월09일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2021/051203
(87) 국제공개번호 WO 2022/077068
국제공개일자 2022년04월21일
(30) 우선권주장
2020903727 2020년10월14일 오스트레일리아(AU)

(71) 출원인
센테너리 인스티튜트 오브 캔서 메디신 앤드 셀 바이올로지
오스트레일리아 2050 뉴 사우스 웨일스 캠퍼다운 미센덴 로드 로얄 프린스 알프레드 호스피탈 빌딩 93
더 유니버시티 오브 시드니
오스트레일리아, 뉴 사우스 웨일스 2006, 시드니, 파라마타 로드
(72) 발명자
호그 필립
오스트레일리아, 뉴 사우스 웨일즈 2036, 말라바, 160 프린스 에드워드 스트리트
호 숀 이반
오스트레일리아, 뉴 사우스 웨일즈 2135, 스트라스필드, 76 찰머스 로드
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 56 항

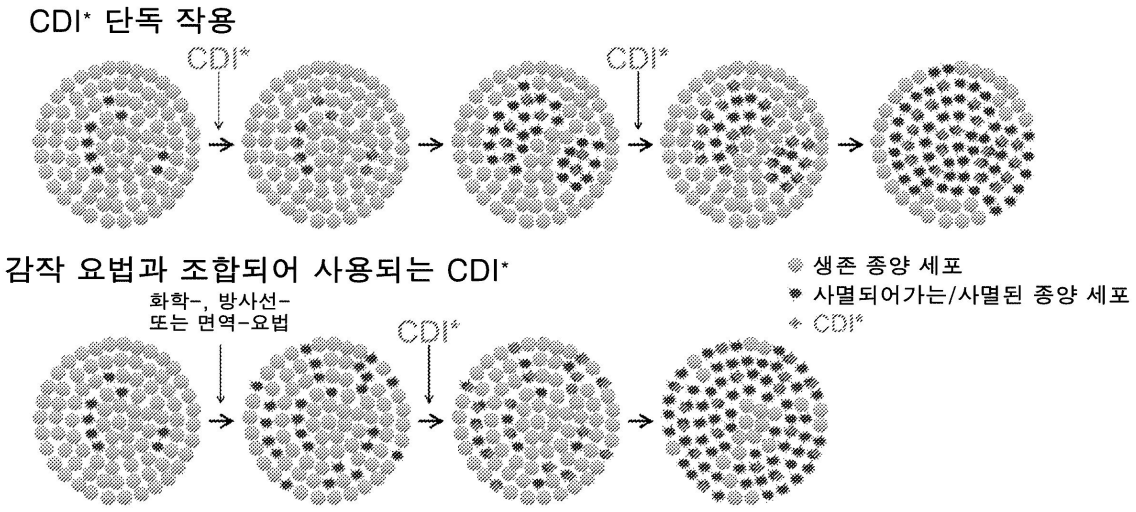
(54) 발명의 명칭 **치료적 방사성 표지된 접합체 및 요법에서의 이의 용도**

(57) 요 약

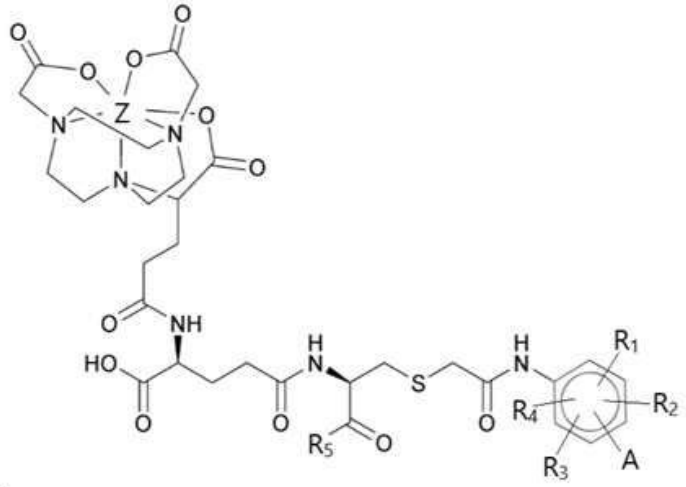
본 발명은 식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물, 상기

(뒷면에 계속)

대 표 도



화합물의 용도, 및 상기 화합물의 제조 방법에 관한 것이며,



(I),

여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고; Z는 치료적 방사성 동위원소이다. 본 발명은 또한 상기 화합물을 이용하는 치료적 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 Z가 방사성 동위원소인 식 (I)에 따른 화합물의 제조 공정에 관한 것이다.

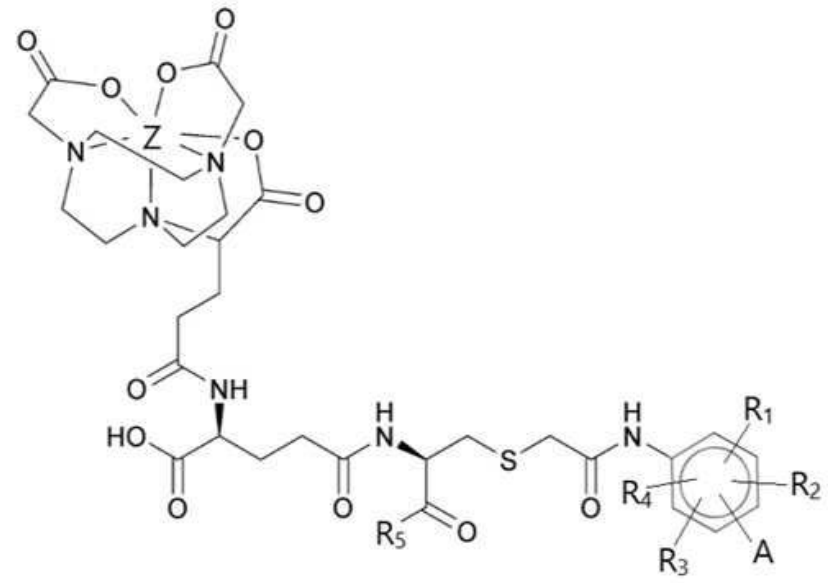
(52) CPC특허분류
C07B 59/008 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물로서,



식 (I),

여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고;

Z는 치료적 방사성 동위원소인, 화합물.

청구항 2

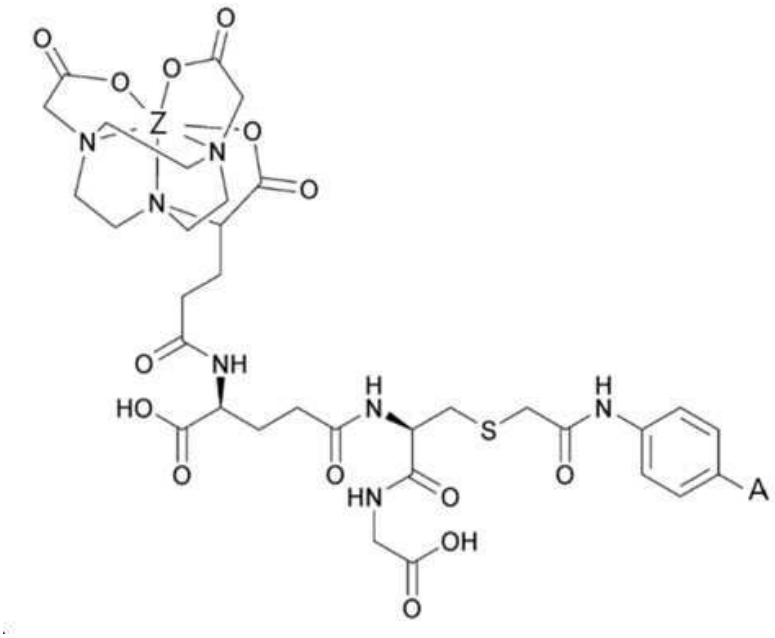
제1항에 있어서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H인, 화합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, R_5는 $-NHCH_2COOH$인, 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (Ia)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이며,



식 (Ia),

여기서 A 및 Z는 제1항에서 정의된 바와 같은, 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 ^{177}Lu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re인, 화합물.

청구항 6

제5항에 있어서, Z는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu인, 화합물.

청구항 7

요법에 사용하기 위한 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물.

청구항 8

제7항에 있어서, 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 치료적 효과를 발휘하는, 화합물.

청구항 9

제8항에 있어서, 신생물성 병태의 치료에 사용하기 위한, 화합물.

청구항 10

제9항에 있어서, 신생물성 병태는 종양인, 화합물.

청구항 11

제10항에 있어서, 종양은 고형 종양인, 화합물.

청구항 12

제9항에 있어서, 신생물성 병태는 암인, 화합물.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료하는, 화합물.

청구항 14

약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제, 비히클 및/또는 보조제와 함께 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 15

대상체에서 신생물성 병태를 치료하는 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 신생물성 병태는 종양인, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 종양은 고형 종양인, 방법.

청구항 18

제15항에 있어서, 신생물성 병태는 암인, 방법.

청구항 19

제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물이 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 20

제17항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 2회 이상의 주기로 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 신생물성 병태에 대한 투여의 효능은 2회 이상의 주기에 걸쳐 증가하는, 방법.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

a) 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계 이외에 상기 대상체에서 상기 신생물성 병태에 대한 치료를 수행하는 단계; 및

b) 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 단계 a)에서 수행되는 치료는 화학 요법, 면역 요법, 방사선 요법 및/또는 표적 요법인, 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 단계 a)는 단계 b)와 동시에 수행되거나, 단계 b)는 단계 a) 이후에 수행되는, 방법.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 b)는 2회 이상의 주기 동안 수행되는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 신생물성 병태에 대한 단계 b)의 효능은 2회 이상의 주기에 걸쳐 증가하는, 방법.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 단계 a) 및 b) 둘 모두는 2회 이상의 주기 동안 수행되는, 방법.

청구항 27

제15항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료하는, 방법.

청구항 28

대상체에서 세포 사멸을 유도하는 방법으로서, 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 제14항에 따른 약제학적 조성물은 대상체에게 다중 주기로 투여되며, 여기서 유도된 세포 사멸의 양은 다중 주기에 걸쳐 증가하는, 방법.

청구항 30

신생물성 병태의 치료를 위한 약제의 제조에서의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 용도.

청구항 31

제30항에 있어서, 신생물성 병태는 종양인, 용도.

청구항 32

제31항에 있어서, 종양은 고형 종양인, 용도.

청구항 33

제30항에 있어서, 신생물성 병태는 암인, 용도.

청구항 34

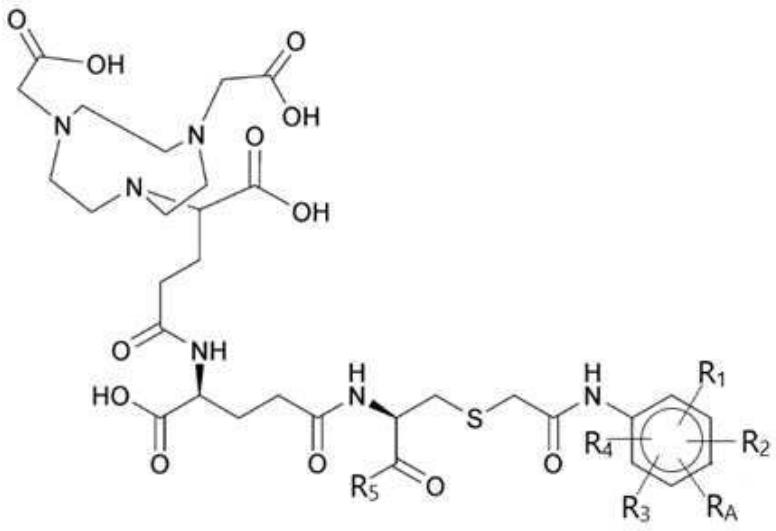
제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 치료는 제15항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 방법을 포함하는, 용도.

청구항 35

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 약제는 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료하는, 용도.

청구항 36

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 제조 공정으로서, 식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물에 치료적 방사성 동위원소를 첨가하는 단계를 포함하며,



식 (II),

여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는

분지형 알킬기인, 공정.

청구항 37

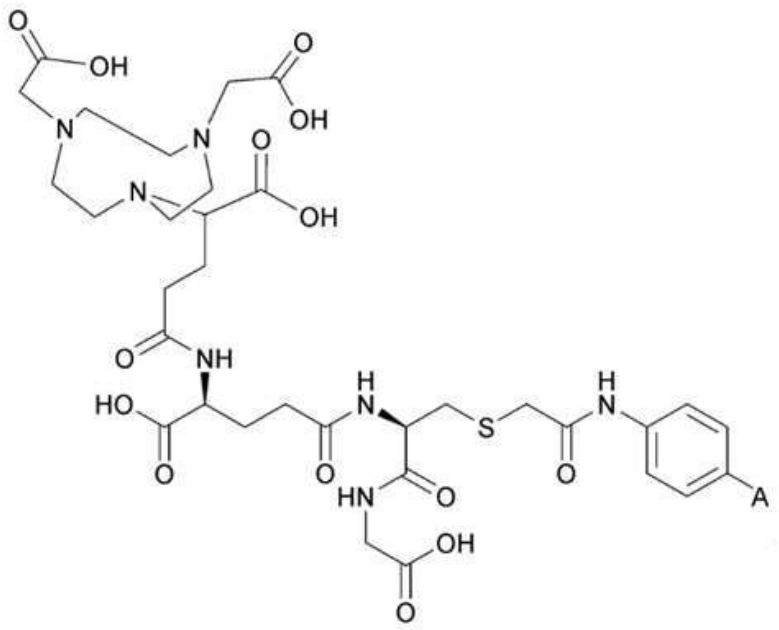
제36항에 있어서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H인, 공정.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, R_5는 $-NHCH_2COOH$인, 공정.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (II)에 따른 화합물은 식 (IIa)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이며,



식 (IIa),

여기서 A는 제36항에서 정의된 바와 같은, 공정.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 방사성 동위원소는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re인, 공정.

청구항 41

제40항에 있어서, 치료적 방사성 동위원소는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu인, 공정.

청구항 42

제36항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 식 (II)에 따른 화합물은 완충액에 제공되며, 여기서 완충액은 약 5.0의 pH를 갖는, 공정.

청구항 43

제36항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 공정은 치료적 방사성 동위원소를 강한 양이온 교환 컬럼으로 용출하는 단계 및 강한 양이온 교환 컬럼을 식 (II)에 따른 화합물로 용출하는 단계를 포함하는, 공정.

청구항 44

제36항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제의 존재 하에 식 (II)에 따른 화합물에 첨가되는, 공정.

청구항 45

제44항에 있어서, 하나 이상의 항산화제는 아스코르브산을 포함하는, 공정.

청구항 46

제45항에 있어서, 반응 혼합물 중 아스코르브산의 농도는 약 0.01 M 이상인, 공정.

청구항 47

제36항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 방사성 동위원소는 글루타티온의 존재 하에 식 (II)에 따

른 화합물에 첨가되는, 공정.

청구항 48

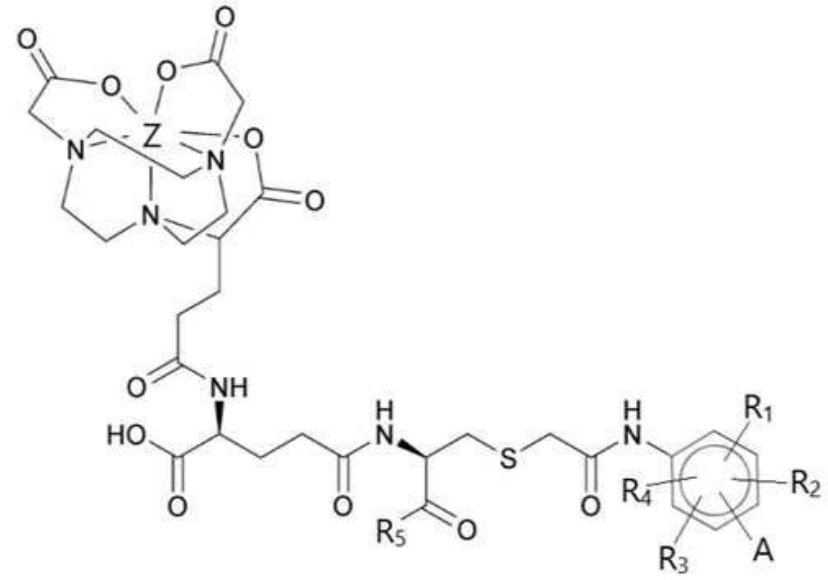
제47항에 있어서, 치료적 방사성 동위원소는 글루타티온 및 아스코르브산 둘 모두의 존재 하에 식 (II)에 따른 화합물에 첨가되는, 공정.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 반응 혼합물 중 글루타티온의 농도는 약 0.01 M 이상인, 공정.

청구항 50

식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물의 제조 공정으로서,



식 (I),

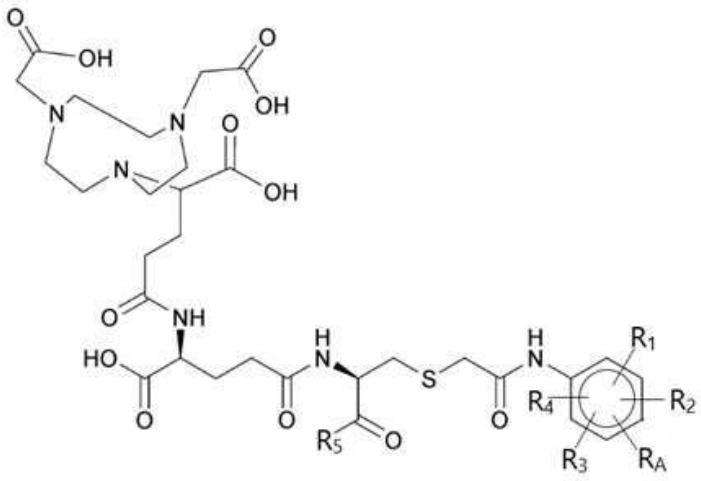
여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고;

Z는 방사성 동위원소이고,

상기 공정은 식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물에 방사성 동위원소를 첨가하는 단계를 포함하며,



식 (II),

여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이며;

여기서 방사성 동위원소는 글루타티온의 존재 하에 식 (II)의 화합물에 첨가되는, 공정.

청구항 51

제50항에 있어서, 반응 혼합물 중 글루타티온의 농도는 약 0.01 M 이상인, 공정.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제의 존재 하에 식 (II)의 화합물에 첨가되는, 공정.

청구항 53

제52항에 있어서, 하나 이상의 항산화제는 아스코르브산을 포함하는, 공정.

청구항 54

제53항에 있어서, 반응 혼합물 중 아스코르브산의 농도는 약 0.01 M 이상인, 공정.

청구항 55

제50항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성 동위원소는 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 정의된 치료적 방사성 동위원소 및/또는 4일 미만의 반감기를 갖는 방사성 동위원소인, 공정.

청구항 56

제55항에 있어서, 4일 미만의 반감기를 갖는 방사성 동위원소는 ^{68}Ga인, 공정.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **분야**

[0002] 본 발명은 광범위하게 본원에 정의된 식 (I)에 따른 방사성 표지된 접합체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 신생물성 병태의 치료에서 이러한 방사성 표지된 접합체의 용도 및 이러한 방사성 표지된 접합체의 생산 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] **배경**

[0004] 암은 전 세계적으로 6명 중 1명의 사망 원인이며 경제적 비용은 연간 수조 달러에 이른다. 종양은 조직내 세포 증식율과 생존율 사이의 불균형으로 인해 발생하며, 성공적인 치료는 종양 세포 증식을 억제하고/하거나 종양 세포 사멸을 촉진하여 종양 성장을 제어하는 것이다.

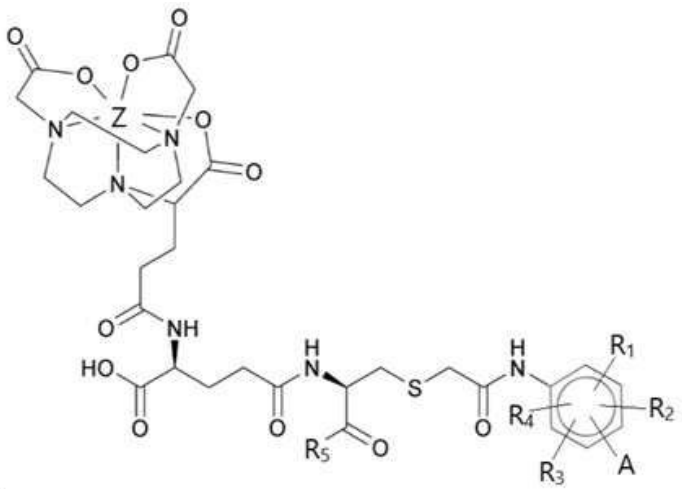
[0005] 화학 요법, 방사선 요법 및 면역 요법은 암 요법의 주축이며 다수의 경우에 효과적이다. 암이 국소화되는 경우, 수술과 같은 잠재적인 치유적 치료 또는 화학-방사선 요법과 같은 시너지 조합으로 치료가능(amenable)하다. 그러나, 일단 질환이 파종되면, 화학 요법, 표적 요법 또는 면역 요법과 같은 전신 요법이 필요하다. 체외 방사선 요법을 추가하는 것은 파종성 질환을 갖는 환자에게 시너지 효과가 있을 수 있지만 독성으로 인해 질환의 모든 부위를 치료할 수 없는 경우가 많으므로, 방사선 요법은 증상이 있는 질환 부위의 완화 치료에 사용된다. 치유적 치료는 대부분의 암 유형에 대해 소수로 남아 있다. 또한, 이러한 치료 전략의 효능은 종양의 이질성에 의해 제한되는데, 이는 특정 암세포 집단이 요법에 내성이 생기기 때문이다.

[0006] 고형 종양에 대한 치유율을 개선하기 위한 테라노스틱(theranostic)에 대한 관심이 다시 높아지고 있다. 테라노스틱은 치료적 동위원소를 종양에 전달하기 위해 종양 마커를 사용한다. 테라노스틱 접근법은 신경내분비 종양(Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, 등. Phase 3 Trial of (177)Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med*. 2017;376(2):125-135) 및 전립선 암종(von Eyben FE, Roviello G, Kiljunen T, 등. Third-line treatment and (177)Lu-PSMA radioligand therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer: a systematic review. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018;45(3):496-508)과 같은 니치 적용 분야에서 성공적인 것으로 입증되었으며, 여기서 종양 마커는 각각 소마토스타틴 수용체 및 전립선 특이적 막 항원이다. 그러나, 테라노스틱 접근법은 전통적으로 니치 적용 분야 및 특정 종양 그룹으로 제한되었다.

[0007] 암에 대한 효과적인 표적 치료를 제공하는 것이 여전히 바람직하다.

발명의 내용

[0008] 제1 양태에 따르면, 본 개시내용은 식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물을 제공하며,



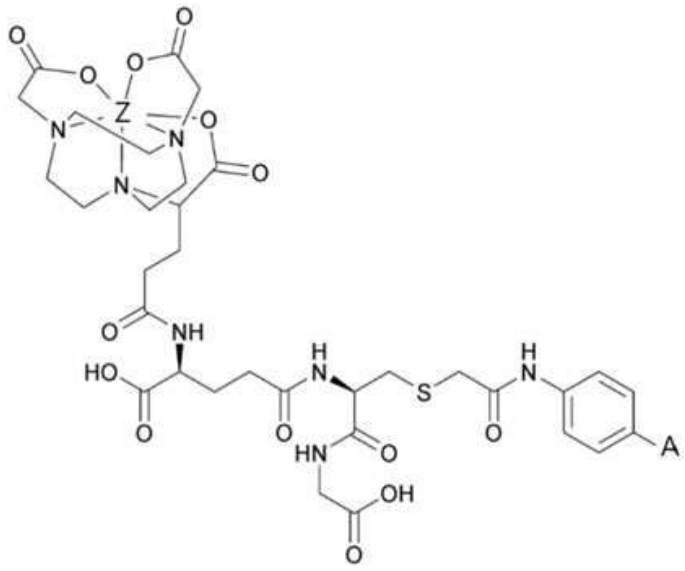
[0009]

[0010] **식 (I),**

[0011] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고; Z는 치료적 방사성 동위원소이다.

[0012] 본 개시내용에 따른 화합물은 치료적 방사성 동위원소를 종양과 같은 높은 세포 사멸 영역에 선택적으로 전달하여 세포 사멸을 추가로 향상시킴으로써 암 및 종양에 대해 효과적이고 표적화된 치료를 제공하는 데 유용하며; 방사성 동위원소의 방사선은 생존 인접 종양 세포에서 세포 사멸을 유발한다. 그런 다음 이렇게 유도된 세포 사멸은 본 개시내용의 화합물의 추가 결합을 유인하여 치료의 효능에 대한 증폭 효과를 야기할 수 있다. 본 개시내용의 화합물은 이러한 증폭 효과의 장점을 취하기 위해 선택적으로 다중회 투여될 수 있다. 또한, 화학 요법과 같은 기존 암 요법과의 조합은 암 치료에 대한 매우 효과적인 양성-피드백 메커니즘을 제공하며; 화학 요법과 같은 치료는 종양에서 세포 사멸을 유도하고, 이는 더 많은 본 개시내용의 화합물을 유인하며, 이는 인접 세포에서 추가 세포 사멸을 유도하고, 이는 본 개시내용의 추가 화합물을 유인할 수 있다.

[0013] 일부 구현예에서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4은 H이다. 일부 구현예에서, R_5는 $-NHCH_2COOH$이다. 일부 구현예에서, 화합물은 식 (Ia)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이며,



[0014]

[0015] 식 (Ia),

[0016] 여기서 A 및 Z는 상기 정의된 바와 같다.

[0017] 일부 구현예에서, 여기서 Z는 ^{177}Lu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re이다. 일부 특정 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu 또는 ^{90}Y이다. 일부 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu 또는 ^{64}Cu이다. 일부 특정 구현예에서, Z는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu이다. 이러한 동위원소는 세포 사멸을 유도함으로써 암 및/또는 종양 요법에 유용한 것으로 알려져 있고, Lu 및 Cu는 화합물의 높은 효율 및 생성된 안정성으로 본 출원의 화합물에 쉽게 혼입되는 것으로 본원에서 입증되었다. 앞서 언급된 동위원소는 또한 영상화할 수 있는 방출물을 방출함에 따라 대상체 내에서 치료적 방사선이 전달된 위치 및 양을 결정하기 위한 영상화 동위원소로도 유용하다. 이러한 영상화는 예를 들어 양전자 방출 단층 촬영을 통해 발생할 수 있다. 따라서 이러한 동위원소의 사용은 세포 사멸의 영역에 대한 치료제의 전달을 영상화하기 위해 요법 및 영상화 둘 모두에 사용될 수 있는 테라노스틱 화합물을 제공한다.

[0018] 일부 구현예에서, Z는 ^{64}Cu가 아니다.

[0019] 특히 바람직한 화합물은 식 (I)에 따른 화합물이며, 여기서 Z는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu이고, R_1- R_4는 H이고, R_5는 $-NHCH_2COOH$이고, A는 $As(OH)_2$이다. 이러한 구현예는 쉽게 합성되고, 쉽게 이용가능하고 저렴한 출발 물질로부터 합성되고, 암 및/또는 종양 치료에 유용한 치료적 동위원소를 포함한다.

[0020] 본 개시내용은 요법에 사용하기 위한 제1 양태에 따른 화합물을 제공한다. 특히, 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 치료적 효과를 발휘한다. 일부 구현예에서, 화합물은 신생물성 병태의 치료에 사용하기 위한 것이다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 종양이다. 일부 구현예에서, 종양은 고형 종양이다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 암이다. 특정 구현예에서, 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료한다.

[0021] 제2 양태에 따르면, 본 개시내용은 약제학적 조성물을 제공하며, 이는 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희

석제, 비히클 및/또는 보조제와 함께 제1 양태에 따른 화합물을 포함한다.

[0022] 제3 양태에 따르면, 본 개시내용은 대상체에서 신생물성 병태를 치료하는 방법을 제공하며, 이는 유효량의 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 종양이다. 일부 구현예에서, 종양은 고형 종양이다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 암이다.

[0023] 일부 구현예에서, 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물은 정맥내로 투여된다.

[0024] 일부 구현예에서, 제1 양태의 방법은 유효량의 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 2회 이상의 주기로 투여하는 것을 포함하며, 여기서 신생물성 병태에 대한 투여의 효능은 2회 이상의 주기에 걸쳐 증가된다.

[0025] 일부 구현예에서, 제3 양태의 방법은

[0026] a) 유효량의 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것 이외에 상기 대상체에서 상기 신생물성 병태에 대한 치료를 수행하는 단계; 및

[0027] b) 유효량의 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계

[0028] 를 포함한다.

[0029] 일부 구현예에서, 단계 a)에서 수행되는 치료는 화학 요법, 방사선 요법, 면역 요법 및/또는 표적 요법이다.

[0030] 일부 구현예에서, 단계 a)는 단계 b)와 동시에 수행되거나, 단계 b)는 단계 a) 이후에 수행된다.

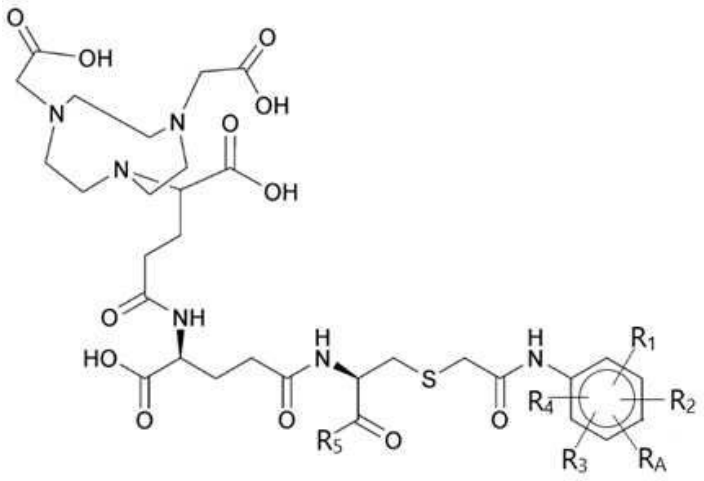
[0031] 일부 구현예에서, 단계 b)는 2회 이상의 주기 동안 수행된다. 이러한 일부 구현예에서, 신생물성 병태에 대한 단계 b)의 효능은 2회 이상의 주기에 걸쳐 증가된다. 일부 구현예에서, 단계 a) 및 b) 둘 모두는 2회 이상의 주기 동안 수행된다.

[0032] 특정 구현예에서, 제1 양태에 따른 화합물은 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료한다.

[0033] 제4 양태에 따르면, 본 개시내용은 대상체에서 세포 사멸을 유도하는 방법을 제공하며, 이는 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 양태에 따른 화합물 또는 제2 양태에 따른 약제학적 조성물은 대상체에게 다중 주기로 투여되며, 여기서 유도된 세포 사멸의 양은 다중 주기에 걸쳐 증가된다.

[0034] 제5 양태에 따르면, 본 개시내용은 신생물성 병태의 치료를 위한 약제의 제조에서의 제1 양태에 따른 화합물의 용도를 제공한다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 종양이다. 일부 구현예에서, 종양은 고형 종양이다. 일부 구현예에서, 신생물성 병태는 암이다. 일부 구현예에서, 치료는 제3 양태에 따른 방법을 포함한다. 특정 구현예에서, 약제는 세포 사멸을 유도함으로써 신생물성 병태를 치료한다.

[0035] 제6 양태에 따르면, 본 개시내용은 제1 양태에 따른 화합물의 제조 공정을 제공하며, 이는 식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물에 치료적 방사성 동위원소를 첨가하는 것을 포함하며,



[0036]

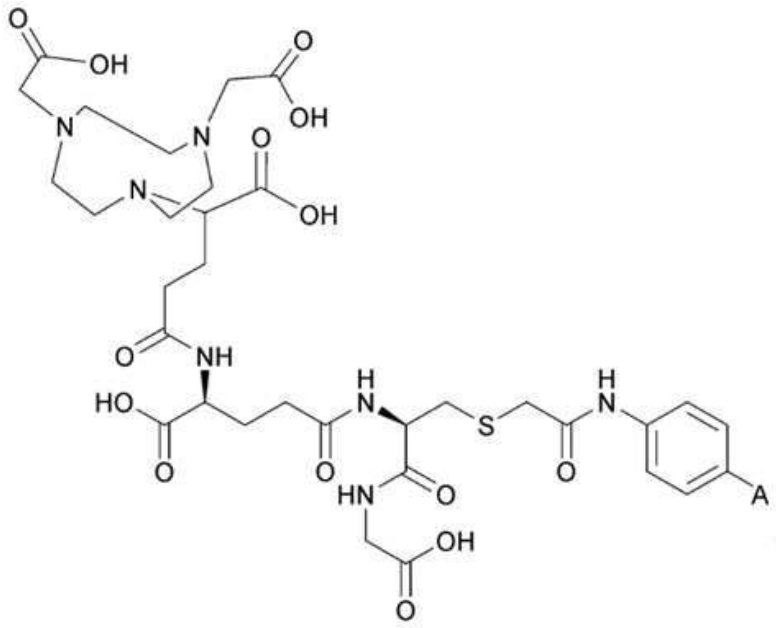
[0037] **식 (II)**,

[0038] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

[0039] 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

[0040] R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이다.

[0041] 일부 구현예에서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H이다. 일부 구현예에서, R_5는 $-NHCH_2COOH$이다. 일부 구현예에서, 식 (II)에 따른 화합물은 식 (IIa)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이며,



[0042]

[0043] **식 (IIa)**,

[0044] 여기서 A는 식 (II)에서 정의된 바와 같다.

[0045] 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소 Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re이다. 일부 바람직한 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu이다.

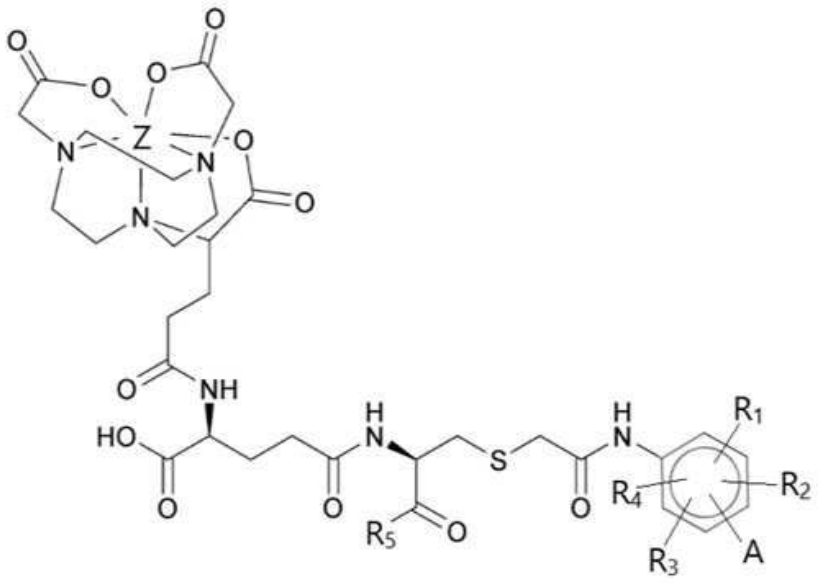
[0046] 일부 구현예에서, 식 (II)에 따른 화합물은 완충액에 제공되며, 여기서 완충액은 약 5.0의 pH를 갖는다.

[0047] 일부 구현예에서, 공정은 치료적 방사성 동위원소를 강한 양이온 교환 컬럼으로 용출하는 것 및 강한 양이온 교환 컬럼을 식 (II)에 따른 화합물로 용출하는 것을 포함한다.

[0048] 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제의 존재 하에 식 (II)에 따른 화합물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 항산화제는 아스코르브산을 포함한다. 일부 구현예에서, 반응 혼합물 중 아스코르브산의 농도는 약 0.01 M 이상이다.

[0049] 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 글루타티온의 존재 하에 식 (II)에 따른 화합물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 글루타티온 및 아스코르브산 둘 모두의 존재 하에 식 (II)에 따른 화합물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 반응 혼합물 중 글루타티온의 농도는 약 0.01 M 이상이다.

[0050] 제7 양태에 따르면, 본 개시내용은 식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물의 제조 공정을 제공하며,



[0051]

[0052] 식 (I),

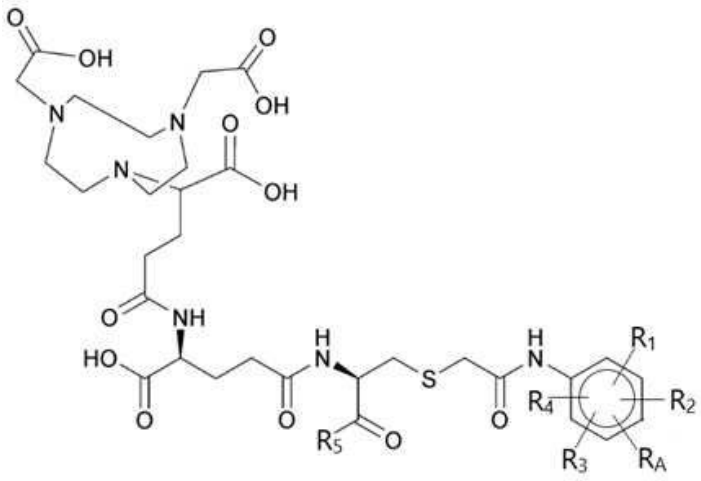
[0053] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

[0054] 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

[0055] R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고;

[0056] Z는 방사성 동위원소이고,

[0057] 상기 공정은 식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물에 방사성 동위원소를 첨가하는 것을 포함하며,



[0058]

[0059] 식 (II),

[0060] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고;

[0061] 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고;

[0062] R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이며;

[0063] 여기서 방사성 동위원소는 글루타티온의 존재 하에 식 (II)의 화합물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 반응 혼합물 중 글루타티온의 농도는 약 0.01 M 이상이다.

[0064] 일부 구현예에서, 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제, 예를 들어 아스코르브산의 존재 하에 식 (II)의 화합물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 반응 혼합물 중 아스코르브산의 농도는 약 0.01 M 이상이다.

[0065] 특정 구현예에서, 방사성 동위원소는 제1 양태에 정의된 바와 같은 치료적 방사성 동위원소 및/또는 4일 미만의 반감기를 갖는 방사성 동위원소, 예를 들어 ^{68}Ga이다.

도면의 간단한 설명

[0066] 본 개시내용의 예시적인 구현예는 다음 도면을 참조하여 비제한적인 예로서만 본원에서 설명된다.

도 1은 본원에 개시된 치료적 방사성 표지된 화합물에 대한 작용 모델을 보여준다.

도 2는 실시예 2에 기재된 바와 같이 (A) 2,3-다이머캅토-1-프로판올(DMP) 없이 또는 (B) DMP와 사전-배양하여 80℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 ^{175}Lu-NODAGA-GSAO의 HPLC 크로마토그램을 보여준다.

도 3은 실시예 2에 기재된 바와 같이 (A) DMP 없이 또는 (B) DMP와 사전-배양하여 실온에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 ^{63}Cu-NODAGA-GSAO의 HPLC 크로마토그램을 보여준다.

도 4는 실시예 2에 기재된 바와 같이 120℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 ^{89}Y-NODAGA-GSAO의 HPLC 크로마토그램을 보여준다.

도 5는 A) 80℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 배양하여 수득된 ^{175}Lu-표지된 생성물 및 B) 실온에서 30분 동안 pH 5.0에서 배양하여 수득된 ^{63}Cu-표지된 생성물에 대한 동위원소-NODAGA-GSAO 복합체의 형성 후 상이한 시점에서의 표지화 백분율을 보여준다.

도 6은 합성 종료 시 실시예 4의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 7은 합성 종료 1.5시간 후 실시예 4의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 8은 합성 종료 시 실시예 5a의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 9는 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 실시예 5a의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 10은 합성 종료 시 실시예 5b의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 11은 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 실시예 5b의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 12는 합성 종료시 실시예 5c의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 13은 합성 종료 시 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 실시예 5c의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 14는 합성 후 72시간에서 실시예 5c의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 15는 합성 후 72시간에서 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 실시예 5c의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 16은 합성 종료시 실시예 5d의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 17은 합성 종료 시 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 실시예 5d의 반응 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 18은 실시예 6에서 사용된 방사성 표지 시스템의 개략도이다.

도 19는 실시예 6에서 생산된 최종 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 20은 DMP와의 반응 후 실시예 6에서 생산된 최종 생성물(도 19와 동일한 생성물)의 방사측정 HPLC 크로마토그램이다.

도 21은 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 투여 1시간 및 2시간 후 건강한 수컷 랫트에서 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO(%ID/g)의 생체분포도를 보여준다.

도 22는 추적자(^{68}Ga-NODAGA-GSAO) 투여 a) 1시간 및 b) 2시간 후에 수행된 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET CT 스캔의 최대 강도 투사도를 보여준다.

도 23은 환자 1의 주사 8 시점 후의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET의 전방 최대 강도 투사도를 보여준다.

도 24는 환자 2의 주사 8 시점 후의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET의 전방 최대 강도 투사도를 보여준다.

도 25는 환자 3의 주사 8 시점 후의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET의 전방 최대 강도 투사도를 보여준다.

도 26은 환자 4의 주사 8 시점 후의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET의 전방 최대 강도 투사도를 보여준다.

도 27은 시간 경과에 따른 환자 1의 정상 기관에서의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 생체분포도를 보여준다.

도 28은 환자 1에 대해 선택된 정상 조직 및 종양에서의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 생체분포도를 보여준다.

도 29는 환자 2에 대해 선택된 정상 조직 및 종양에서의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 생체분포도를 보여준다.

도 30은 환자 3에 대해 선택된 정상 조직 및 종양에서의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 생체분포도를 보여준다.

도 31은 환자 4에 대해 선택된 정상 조직 및 종양에서의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 생체분포도를 보여준다.

도 32는 대상체 1-4에서 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 선택된 정상 조직(평균 SUV ± SD)에서의 생체분포도를 보여준다.

도 33은 대상체 1-4의 혈액 풀 활성 및 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 종양 침착물로의 흡수율을 보여준다.

도 34는 환자 3에서 256 MBq의 FDG(플루오로데옥시글루코스)의 투여 60분 후에 수행된 FDG-PET(도 34a) 및 205 MBq의 CDI(^{68}Ga NODAGA GSAO)의 투여 60분 후에 수행된 CDI-PET(도 34b)의 전방 최대 투사 강도 이미지를 보여준다. 종양을 외과적으로 절제하고, 고정하고, 인접 섹션이 아폽토시스 세포(도 34c, 갈색 TUNEL 염색, a 및 b)에 대해 또는 헤마톡실린 및 에오신(도 34c, c 및 d)에 의한 형태학적 특성에 대해 염색되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0067] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 개시내용이 속하는 기술 분야의 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 등가인 임의의 방법 및 물질이 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 전형적인 방법 및 물질이 기재되어 있다.

[0068] 본 명세서 전반에 걸쳐, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다(comprise)" 또는 "포함하는(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 언급된 단계 또는 요소 또는 정수 또는 단계 또는 요소 또는 정수의 그룹의 포함을 의미하는 것으로 이해될 것이지만, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 정수 또는 요소 또는 정수의 그룹은 배제되지 않는다. 따라서, 본 명세서의 맥락에서 용어 "포함하는"은 "주로 포함하지만, 반드시 필수적인 것은 아님"을 의미한다.

[0069] 본 명세서의 맥락에서, 용어 "a" 및 "an"은 관사의 문법적 대상 중 하나 또는 하나 초과(즉, 적어도 하나)을 지칭한다. 예를 들어, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.

[0070] 본 명세서의 맥락에서, 용어 "약"은 당업자가 동일한 기능 또는 결과를 달성하는 맥락에서 인용된 값과 등가인 것으로 간주할 수 있는 숫자의 범위를 지칭하는 것으로 이해된다.

[0071] 본 명세서의 맥락에서, 본원에 개시된 숫자의 범위(예를 들어, 1 내지 10)에 대한 참조는 또한 그 범위 내의 모든 유리수(예를 들어, 1, 1.1, 2, 3, 3.9, 4, 5, 6, 6.5, 7, 8, 9 및 10) 및 또한 그 범위 내의 임의의 범위의 유리수(예를 들어, 2 내지 8, 1.5 내지 5.5 및 3.1 내지 4.7)에 대한 참조를 포함하고, 따라서, 본원에 명시적으로 개시된 모든 범위의 모든 하위 범위가 이에 의해 명시적으로 개시된다. 이들은 구체적으로 의도된 것의 예일 뿐이며 열거된 최저값과 최고값 사이의 모든 가능한 수치 조합은 유사한 방식으로 본 출원에서 명시적으로 언급된 것으로 간주되어야 한다.

[0072] 본원에서 사용되는 용어 "및/또는"은 "및" 또는 "또는" 또는 둘 모두를 의미한다.

[0073] 본원에서 사용되는 용어 "대상체"는 가축 및 기타 농장 동물(예컨대, 소, 염소, 양, 말, 돼지 및 닭), 임무수행용 동물(예컨대, 경주마), 반려동물(예컨대, 고양이 및 개), 실험실 테스트 동물 및 인간을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 포유동물을 지칭한다. 전형적으로 대상체는 인간이다.

[0074] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는(treating)", "치료(treatment)", "치료하는(treating)", "감소시키다", "감소시키는", "예방하다" "예방하는" 및 "예방" 등은 감염 또는 질환의 중증도를 감소시키는 것을 포함하여, 감염 또는 질환 또는 감염 또는 감염 또는 질환의 적어도 하나의 증상의 진행을 치료(remedy)하거나 달리 방해하거나, 지연시키거나, 역전시키는 임의의 및 모든 적용을 지칭한다. 따라서, 용어 "치료하다", "치료하는", "치료"는 감염이 완전히 제거되거나 질환으로부터 회복될 때까지 대상체가 치료되었다는 것을 반드시 의미하지는 않는다. 유사하게, 용어 "예방하다", "예방하는", "예방" 등은 감염 또는 질환의 확립을 예방하거나 달리 감염 또는 질환의 발병을 지연시키는 임의의 및 모든 적용을 지칭한다.

[0075] 용어 "선택적으로"는 후속적으로 기재되는 특성이 존재하거나 존재하지 않을 수 있거나 후속적으로 기재되는 이벤트 또는 상황이 발생하거나 발생하지 않을 수 있음을 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 따라서, 본 명세서는 특성이 존재하는 구현예 및 특성이 존재하지 않는 구현예, 및 이벤트 또는 환경이 발생하는 구현예뿐만 아니라 그렇지 않은 구현예를 포함하고 포괄하는 것으로 이해될 것이다.

[0076] 본원에서 사용되는 용어 "유효량" 및 "유효 용량"은 그들의 의미 내에서 비독성이지만 원하는 효과를 제공하기에 충분한 양 또는 용량의 화합물을 포함한다. 필요한 정확한 양 또는 용량은 치료되는 종, 대상체의 연령 및 일반적인 병태, 치료되는 병태의 중증도, 투여되는 특정 화합물 및 투여 방식 등과 같은 요인에 따라 대상체마다 다를 것이다. 따라서, 정확한 "유효량" 또는 "유효 용량"을 지정하는 것은 불가능하다. 그러나, 임의의 주어진 경우에 대해, 적절한 "유효량" 또는 "유효 용량"은 일상적인 실험만을 사용하여 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0077] 본 명세서의 맥락에서, 용어 "아르센옥사이드"는 -As=O 기를 지칭한다. -As=O 및 $-As(OH)_2$로 기입된 기가 동의어로 간주된다.

[0078] 본원에 사용되는 용어 "아르센옥사이드 등가물"은 -As=O 또는 $-As(OH)_2$와 같이 디티올에 대해 본질적으로 동일한 친화성을 나타내는 임의의 디티올 반응성 종을 지칭하며, 이 용어는 예를 들어 전이 원소를 포함하는 기 및

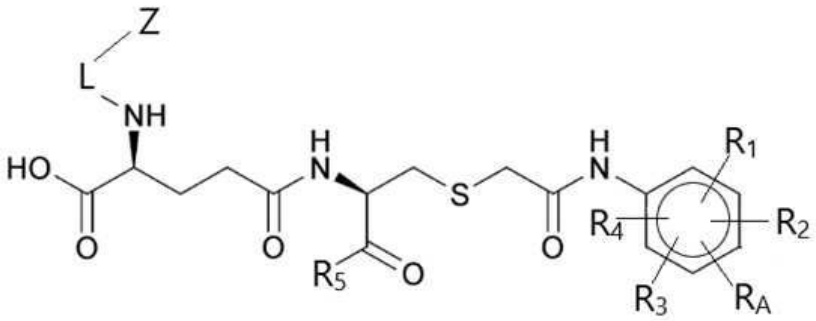
수성 매질(예컨대, 세포 배양 완충액 및 치료되는 유기체에 함유된 유체)에 용해될 때 -As=O 또는 $-As(OH)_2$로 가수분해되는 임의의 3가 비소제를 포함한다. 전형적으로, 아르센옥사이드 등가물은 As, Ge, Sn 및 Sb 종과 같은 디티올 반응성 엔티티를 포함한다. 아르센옥사이드 등가물은 상응하는 아르센옥사이드와 동일하거나 실질적으로 동일한 활성을 나타낼 것으로 예상된다.

[0079] 용어 "이작용성 킬레이트제"는 금속 또는 기타 이온, 예를 들어 방사성 핵종과 결합할 수 있는 킬레이트화 모이어티뿐만 아니라 추가 화학적 엔티티에 부착하기 위한 화학적 반응성 작용기를 포함하는 화학적 모이어티를 지칭한다. 본 출원의 맥락에서, 용어 "이작용성 킬레이트제"는 금속 또는 기타 이온으로 킬레이트화되기 전 및/또는 반응성 작용기에서 반응되기 전뿐만 아니라 일단 금속 또는 기타 이온으로 킬레이트화되고/되거나 반응성 작용기를 통해 추가 화학적 엔티티에 부착된 관련 화합물 둘 모두를 지칭하며, 관련 정의는 문맥에서 쉽게 명백해진다. 금속 또는 기타 이온을 킬레이트화하지 않는 경우, 이작용성 킬레이트제는 금속 또는 기타 이온을 킬레이트화하는 데 적합하다.

[0080] 본원에 사용되는 용어 "C_1-C_5-알킬" 등은 각각 1개 내지 3개, 1개 내지 6개 또는 1개 내지 12개의 탄소 원자를 함유하는 포화, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 지칭한다. C_1-C_5-알킬 라디칼의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 펜틸, 이소펜틸 및 네오펜틸을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0081] "약제학적으로 허용되는 염"은 건전한 의학적 판단의 범주 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등 없이 인간 및 하등 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 염을 의미한다. 본원에서 화합물에 대한 언급은 달리 명시되지 않거나 문맥에서 달리 이해되지 않는 한 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0082] 식 (X)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이 본원에 제공되며,

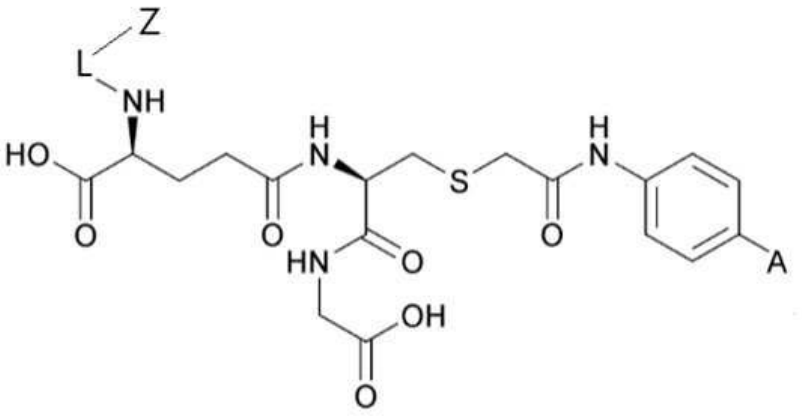


[0083] .

[0084] **식 (X)**,

[0085] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고; Z는 치료적 방사성 동위원소이고; L은 Z를 킬레이트화하는 이작용성 킬레이트제이다.

[0086] 일부 구현예에서, 식 (X)에 따른 화합물은 식 (Xa)에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이다:



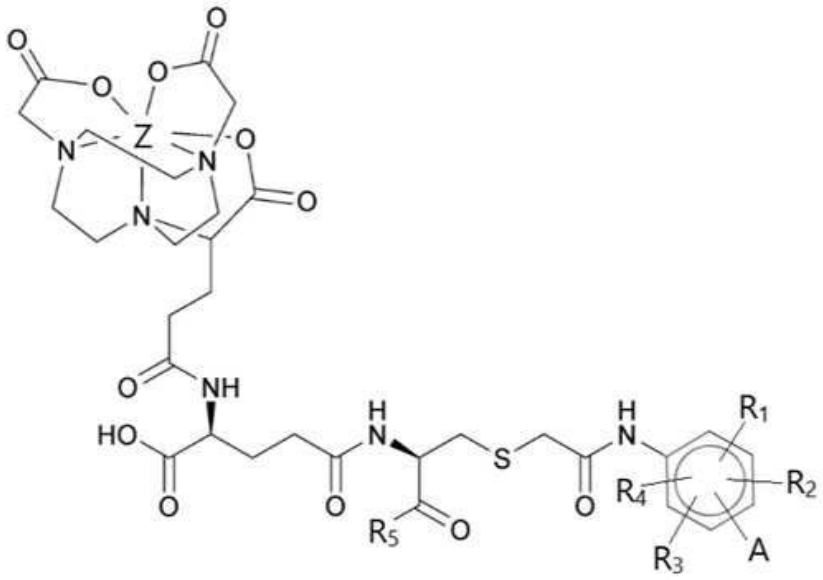
[0087]

[0088] 식 (Xa).

[0089] "치료적 방사성 동위원소"는 본 개시내용의 맥락에서, 치료적 효과, 특히 예를 들어, 종양 또는 암과 같은 신생물성 병태의 치료를 위해 세포 사멸을 촉진하는 치료적 효과를 갖는 임의의 방사성 동위원소를 지칭하는 것으로 이해된다. "신생물성 병태"는 비정상적으로 높은 수준의 세포 증식을 특징으로 하는 병태를 지칭하는 것으로 이해된다. 이러한 세포 사멸의 촉진은 치료적으로 유용한 정도이다. 전형적으로, 치료적 동위원소는 알파 또는 베타 방사체이다. 일부 구현예에서, 치료적 동위원소는 알파 방사체, 예를 들어 ^{225}Ac, ^{211}At, ^{213}Bi 및/또는 ^{223}Ra이다. 임의의 적합한 치료적 동위원소가 선택될 수 있고, 특히 에너지 전달의 적절한 반경(즉, 세포 사멸 반경)을 갖는 치료적 동위원소는 예를 들어 종양 크기/반경 및/또는 종양 내 사멸된 세포 및 사멸되어가는 세포의 분산 패턴에 따라 특정 *생체내* 생물학적 특성 및 특정 원하는 치료적 용도를 위해 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, Z는 ^{225}Ac, ^{211}At, ^{213}Bi, ^{223}Ra. ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 및 ^{188}Re로부터 선택되며, 예를 들어 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 및 ^{188}Re로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 및 ^{188}Re로부터 선택된다. 일부 바람직한 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu 또는 ^{90}Y, 예를 들어 ^{177}Lu, ^{67}Cu 또는 ^{90}Y이다. 특히 바람직한 구현예에서, Z는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu이다. 특히 바람직한 구현예에서, Z는 ^{188}Re 또는 ^{186}Re와 같은 Re 동위원소, 또는 필요에 따라 다른 치료적 동위원소이며, Z는 본 개시내용의 화합물에 혼입되기에 적합한 임의의 형태의 치료적 동위원소, 예를 들어 트리카르보닐, 예를 들어 레늄 트리카르보닐을 지칭할 수 있다. 바람직한 구현예에서, L은 치료적 방사성 동위원소, 예를 들어 ^{177}Lu, ^{67}Cu, 또는 ^{90}Y를 높은 친화성으로 킬레이트화하는 것으로 알려진 이작용성 킬레이트제이다. 일부 바람직한 구현예에서, 치료적 동위원소는 또한 진단 동위원소로서 기능하며, 즉, 특히 요법이 전달된 경우 및/또는 치료적 화합물이 얼마나 원하는 위치로 전달되었는지에 대해 화합물의 영상화를 가능하게 하는 진단 방출 및/또는 종양 사멸 및 정상 조직 독성의 가능성 또한 결정하기 위한 종양 및 정상 조직에 대한 방사선량의 계산치를 갖는다. 예를 들어, 치료적 동위원소는 양전자 방출일 수 있고 양전자 방출 단층촬영에 의해 영상화될 수 있다. 일부 구현예에서, 영상화는 단일 광자 영상화(SPECT)에 의해 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 핵의학('감마 카메라')은 방사성 동위원소를 영상화하는 데 사용될 수 있다. 주어진 동위원소 및 적용에 적합한 특정 유형의 영상화는 당업자에게 쉽게 명백해질 것이다.

[0090] 일부 구현예에서, Z는 ^{64}Cu가 아니다.

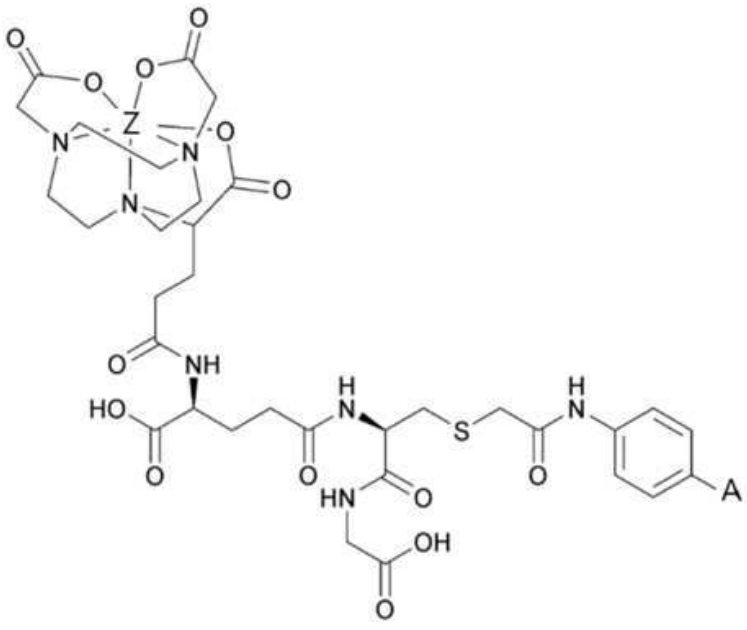
[0091] 본 개시내용은 식 (I)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물을 제공하며,



[0092]

[0093] 식 (I),

[0094] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고; Z는 치료적 방사성 동위원소이다. 일부 바람직한 구현예에서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H이다. 일부 바람직한 구현예에서, R_5는 $-NHCH_2COOH$이다. 특히 바람직한 구현예에서, 화합물은 식 (Ia)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이다:



[0095]

[0096] 식 I(a).

[0097] 바람직한 구현예에서, A는 아르센옥사이드기 $As(OH)_2$이다.

[0098] 본 발명에 사용하기에 적합한 화합물에서, 아르센옥사이드기($-As(OH)_2$)는 전형적으로 아르센옥사이드 등가물로 대체될 수 있다.

[0099] 이러한 화합물은 4-*N*-(*S*-글루타티오닐아세틸)아미노)페닐아비산(GSAO)을 기반으로 하며, 이는 이작용성 킬레이트제를 사용하여 방사성 동위원소로 방사성 표지되었다. 특히 바람직한 구현예에서, 이작용성 킬레이트제는 식

(I) 및 식 (Ia)에 나타낸 바와 같은 2,2'-(7-(1-카르복시-4((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-4-옥소부틸)-1,4,7-트리아조난-1,4-디일)디아세트산(NODAGA)이다.

[0100] GSAO는 사멸된 세포 및 사멸되어가는 세포에 특이적으로 흡수된다. 이론에 구애됨이 없이, GSAO는 As(III) 이온과 근접 시스테인 잔기의 티올기 사이의 공유 결합 형성을 통해 사멸되어가는 세포 및 사멸된 세포의 시토졸에 보유되는 것으로 생각된다. GSAO는 미토콘드리아 투과성 전이 기공을 활성화시키는 것으로 밝혀진 3가 As(III) 펩타이드이다. GSAO는 증식하는 세포에 독성이 있고 *생체내*에서 혈관신생을 억제하지만(*Don AS, Kisker O, Dilda P 등 (2003) A peptide trivalent arsenical inhibits tumor angiogenesis by perturbing mitochondrial function in angiogenic endothelial cells. Cancer Cell 3:497-509*), *시험관내*에서 휴면기 내피 세포에는 독성이 없다. 본 발명에서와 같이 GSAO의 γ-글루타밀 잔기와 치료적 방사성 동위원소의 접합은 이의 항-혈관신생 효과 및 사멸되어가는 세포를 표적화하는 능력의 상실을 초래한다. 원형질막 무결성이 손상된 경우 GSAO 접합체가 세포내 단백질, 주로 90 kDa 열충격 단백질(Hsp90)에 진입하여 결합하고(*Park D, Don AS, Massamiri T 등 (2011) Non-invasive imaging of cell death using an Hsp90 ligand. J Am Chem Soc 133:2832-2835*); 이 단백질은 시토졸에 매우 풍부하고, 세포 사멸 동안 세포막 무결성이 손상되었을 때만 접근할 수 있으며 많은 악성 종양에서 상향 조절된다(*Hahn JS. The Hsp90 chaperone machinery: from structure to drug development. BMB Rep. 2009;42(10):623-30*). GSAO의 As(III) 모티프는 Hsp90의 Cys597 및 Cys598의 쌍을 이루지 않은 티올을 교차 연결하여 세포 시토졸에서 효과적으로 비가역적인 안정한 사이클릭 디티오아르시나이트를 형성한다. 본 개시내용의 구현예의 방사성 표지된 화합물은 일시적인 세포 사멸 공정을 표적화 하지 않고, 세포 사멸의 아폽토시스 및 괴사 형태 둘 모두를 인식하고, 세포 표적이 풍부하고 결합이 비가역적이다. 이러한 특징은 세포 사멸 영역을 표적화하는 표적 치료제를 제공하는 데 특히 유리하다.

[0101] 본 개시내용의 실시예 4-8에서, 비록 치료적 동위원소가 아닌 ^{68}Ga로 방사성 표지되었을지라도, 본 발명의 구현예의 것과 유사한 화합물의 생체분포도는 또한 쉽게 제조되고 유리한 인간 생체분포 특징을 가지며, 종양에서의 높은 흡수율 및 정상 조직에서의 낮은 흡수율을 가지고, 부작용이 관찰되지 않는 것으로 나타났다. 정상 조직에서의 낮은 흡수율은 본 개시내용의 구현예에 따른 화합물을 사용한 치료의 부작용을 최소화한다.

[0102] 종양과 같은 높은 세포 사멸 영역에서 *인시츄*에 있을 때, 치료적 방사성 동위원소에 의해 방출되는 방사선은 여러 주변 세포에 영향을 미치는 범위이다. 치료적 방사성 동위원소로 표지된 본 개시내용에 따른 화합물은 높은 특이성 및 민감도를 갖는 종양 세포와 같은 사멸되어가는 세포 및 사멸된 세포를 표지하고 따라서 종양과 같이 높은 세포 사멸 영역에 치료적 방사성 동위원소를 특이적으로 제공하는 데 유용하다. 특히, 본원에 기재된 바와 같은 방사성 표지된 접합체는 높은 수준의 세포 사멸과 연관된 병태, 예를 들어 신생물성 장애, 예를 들어 종양 또는 예를 들어 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 화합물은 종양과 같은 높은 세포 사멸 및 세포 턴오버의 영역을 표적화 하기 때문에, 이들은 종양에 치료적 동위원소를 전달함으로써 종양 세포 사멸을 선택적으로 향상시키는 데 유리하게 사용될 수 있으며, 결과적으로 치료적 방사선은 사멸되어가는/사멸된 세포에 인접한 종양 세포 생존 가능한 세포에 전달되고; 이러한 인접 세포는 이미 세포 사멸에 이르지 않았기 때문에 다른 치료에 상대적으로 저항성이 있을 수 있다. 방사성 동위원소에 의한 인접 세포에서의 사멸 유도는 또한 본 개시내용의 방사성 표지된 화합물의 결합을 추가로 촉진할 수 있고, 결과적으로 인접 세포에서 추가 세포 사멸을 유발할 수 있다. 이는 종양과 같은 병태를 치료하기 위한 양성-피드백 메커니즘을 생성할 수 있다. 본 개시내용에 따른 화합물은 또한 요법에 대한 "증폭" 접근법에서 용도가 발견되는데, 여기서 요법, 예컨대 방사선 요법, 화학 요법, 면역 요법 또는 표적 요법과 같은 세포 사멸을 유발하는 개시제 이벤트가 수행되며, 이는 표적 영역의 세포에서 사멸되어가는 세포의 수를 증가시키고, 상기 사멸되어가는 세포에 결합하는 본 개시내용의 방사성 표지된 화합물이 또한 투여된다(개시제 요법 전, 후 또는 동시에). 사멸되어가는 세포에 대한 본 개시내용의 방사성 표지된 화합물의 결합은 상기 논의된 바와 같이 인접 세포에서 추가 세포 사멸을 유발하여, 방사선 요법, 화학 요법, 면역 요법 또는 표적 요법과 같은 개시제 요법의 효과를 증폭시킨다.

[0103] 예를 들어, 본 개시내용의 화합물은 또한 본 개시내용의 화합물에 의해 유도되는 추가 세포 사멸에 의해 다른 요법에 요구되는 용량을 감소시키기 위한 또 다른 요법, 예컨대 추가의 방사성 의약품, 예컨대 추가의 표적 방사성 의약품과 조합되어(상이한 시간에 포함됨) 투여될 수 있다. 본 개시내용의 화합물은 또한 예를 들어 또 다른 표적 요법에 의해 표적화되지 않은 세포에서 세포 사멸을 유도함으로써 효능을 확장하여 요법의 효능을 향상시킬 수 있으며; 예를 들어, 대상체가 상이한 마커를 발현하는 2개의 상이한 암 서브세트를 앓고 있고 표적 요법이 이러한 하나의 서브세트에만 표적화되는 상황에서, 본 개시내용의 화합물은 대체 표적 요법에 의해 표적화되지 않은 이들 세포에서 세포 사멸을 유도하기 위해 사용될 수 있다. 이와 같이, 본 개시내용은 병태를 효과적으로 치료하는 데 필요한 요법의 용량을 감소시키고/시키거나 요법, 예를 들어 표적 방사성 의약품과 같은 방사

성 의약품의 효과를 향상시키는 방법을 제공하며, 이는 요법을 본 개시내용에 따른 화합물과 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 이와 같이 조합하여 투여하는 것은 요법 및 본 개시내용의 화합물을 상이한 시간에 또는 동시에 투여하는 것을 포함할 수 있다.

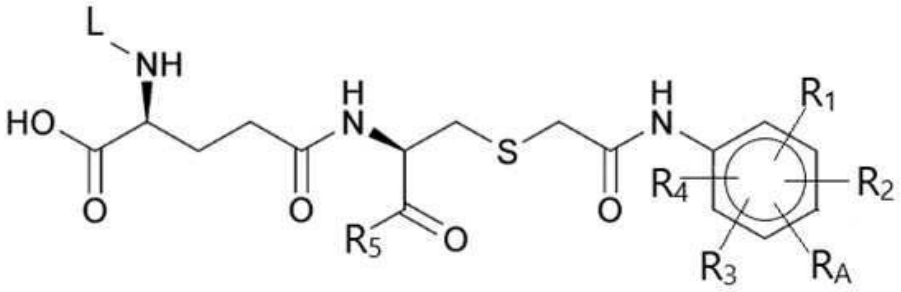
[0104] 이러한 치료법에서, 표적은 종양에 인접한 영역이 아닌 종양 자체와 같은 세포 사멸 영역이며, 이는 높은 특이성을 갖는 치료법을 제공한다. 이 메커니즘은 종양과 같은 병태를 치료하는 특히 효율적이고 표적화된 수단을 제공한다. 본 개시내용의 구현예에 따른 방사성 표지된 화합물은 추가로 유리하게는 정상 조직을 보존하면서 질환의 모든 부위를 표적화할 수 있으며, 이는 특히 국소화되지 않은 암의 치료에 도움이 된다. 본 개시내용의 방사성 표지된 접합체는, 일부 구현예에서, 사멸되어가는/사멸된 종양 세포가 모든 고형 종양에 존재하기 때문에 유익한 범종양 치료를 유리하게 제공할 수 있다.

[0105] 상기 언급된 바와 같이, 본 개시내용의 화합물과 유사하지만 치료적 동위원소 대신 ^{68}Ga를 사용하는 화합물은 배설 경로인 요로와 용량 제한 기관인 방광을 제외한 모든 기관에서 매우 낮은 수준의 활성을 갖는 것으로 본 출원의 실시예 6-8에 의해 나타난다. 이것은 신경내분비 종양의 치료에 사용되는 방사성 핵종과 공통되며 이를 관리하기 위한 확립된 프로토콜이 있다. 중요한 것은 골수, 림프절 및 위장관과 같은 건강한 조직에서 세포 사멸에 대한 화합물의 표적화는 가능한 한 최소한이다. 정상 조직의 사멸되어가는 세포는 며칠에서 몇 주 동안 지속되는 종양의 사멸되어가는/사멸된 세포와 달리 대식세포에 의해 빠르게 제거된다. 높은 기저 세포 사멸을 갖는 종양 내 화합물의 높은 흡수율은 또한 본 개시내용의 실시예(실시예 8)에 의해 입증된다. 이는 치료적 화합물의 잠재적인 부작용을 크게 최소화한다.

[0106] 일부 바람직한 구현예에 따르면, Z는 예를 들어 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re일 수 있다. 일부 구현예에서, Z는 예를 들어 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{90}Y, ^{186}Re 또는 ^{188}Re일 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu 또는 ^{90}Y이다. 일부 구현예에서, Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu 또는 ^{90}Y이거나, 일부 구현예에서 Z는 ^{177}Lu, ^{67}Cu 또는 ^{64}Cu이다. 특히 바람직한 구현예에서, Z는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu이다. ^{177}Lu는 생물학적 조직에서 ~1,800 μm를 이동하는 497 keV의 최대 에너지를 갖는 음전하 전자인 베타 입자를 방출하는, 붕괴하는 방사성 원자이다. 종양 세포는 10-20 μm의 직경을 가지며, 따라서 ^{177}Lu 베타 입자는 여러 종양 세포의 폭을 이동할 수 있다. 따라서 본 개시내용의 구현예에 따른 ^{177}Lu 표지된 화합물을 사용한 사멸되어가는 그리고 사멸된 종양 세포의 표지화는 인접한 생존 종양 세포에 치료적 방사선을 전달한다. ^{177}Lu는 6.7 d의 반감기를 가지며, 이는 치료적 동위원소로 적합하다. ^{67}Cu는 암 치료에 임상적으로 유용한 것으로 입증되었다. ^{90}Y는 특정 형태의 암에 대한 치료 전략을 포함하여 방사선 요법의 광범위한 적용 분야에서 사용된다. 일부 구현예에서, Z는 ^{64}Cu가 아니다.

[0107] 특히 바람직한 구현예에서, 식 (I)에 따른 화합물은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO(즉, Z는 ^{177}Lu이고, R_1-R_4는 H이고, R_5는 $-NHCH_2COOH$이고, A는 $As(OH)_2$인, 식 (I)의 화합물) 또는 ^{67}Cu-NODAGA-GSAO(즉, Z는 ^{67}Cu이고, R_1-R_4는 H이고, R_5는 $-NHCH_2COOH$이고, A는 $As(OH)_2$인 식 (I)의 화합물)이다. 이러한 구현예는 쉽게 합성되고 표적화된 방식으로 암 치료에 유용한 방사성 동위원소를 제공하는 이점을 제공한다.

[0108] 추가 양태에 따르면, 본 개시내용은 또한 식 (Y)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물 또는 이의 유도체를 제공하며,

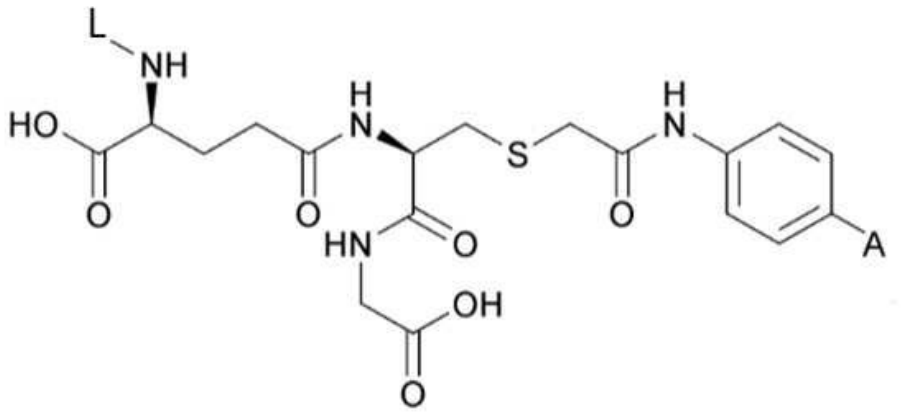


[0109]

[0110] 식 (Y),

[0111] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이고; L은 이작용성 킬레이트제이다.

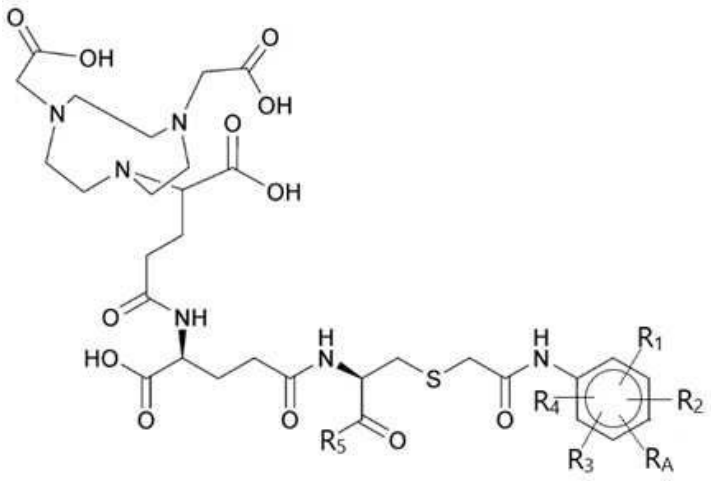
[0112] 일부 바람직한 구현예에서, 식 (Y)에 따른 화합물은 식 (Ya)에 따른 화합물이다:



[0113]

[0114] 식 (Ya).

[0115] 본 개시내용은 식 (II)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물인 식 (Y)에 따른 화합물을 제공하며,

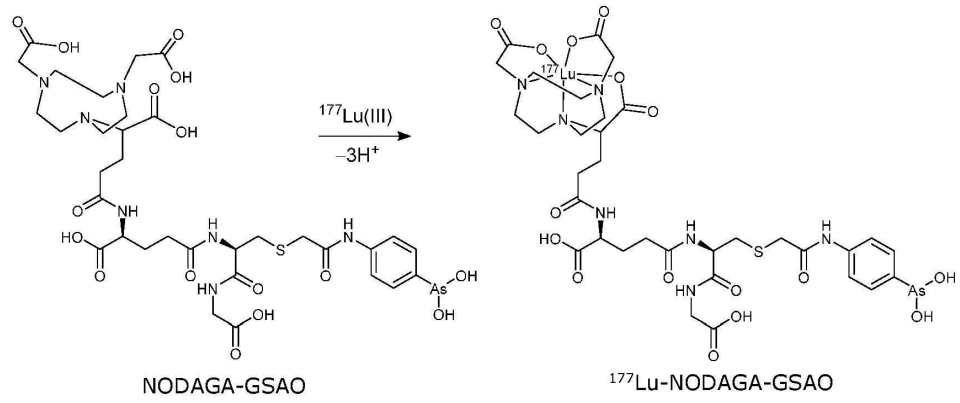


[0116]

[0117] 식 (II),

[0118] 여기서 A는 $-As(OH)_2$ 또는 아르센옥사이드 등가물 그룹이고; 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H, X, OH, NH_2, CO, SCN, $-CH_2NH$, $-NHCOCH_3$, $-NHCOCH_2X$ 또는 NO로부터 독립적으로 선택되고, X는 할로겐이고; R_5는 $-NHCH_2COOH$, OH 또는 OR_6이며, 여기서 R_6은 C_{1-5} 직쇄형 또는 분지형 알킬기이다.

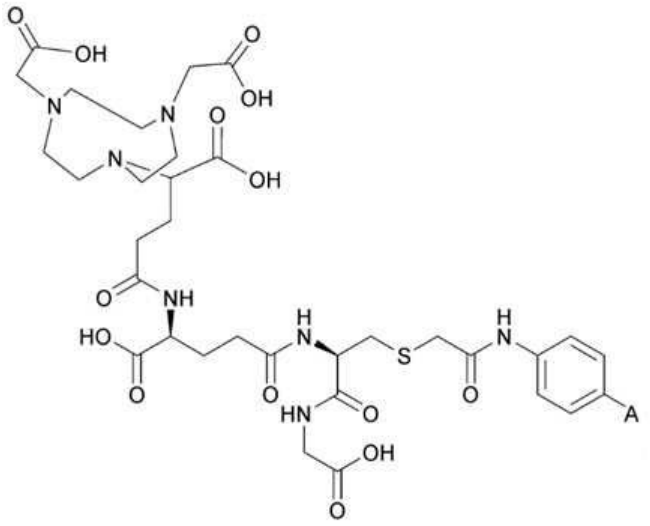
[0119] 식 (Y)의 화합물은 식 (X)의 합성에 유용하다. 특히, 식 (II)에 따른 화합물은 NODAGA 그룹의 방사성 표지화에 의한 식 (I)에 따른 화합물의 합성에 유용하다. 이러한 합성은 출발 물질로서 NODAGA-GSAO 및 방사성 동위원소로서 ^{177}Lu로 예시된 하기 반응식 1에서 도식적으로 나타내었다:



[0120]

[0121] 반응식 1.

[0122] 바람직한 구현예에서, 각각의 R_1, R_2, R_3 및 R_4는 H이다. 추가의 바람직한 구현예에서, R_5는 $-NHCH_2COOH$이다. 특히 바람직한 구현예에서, 화합물은 식 (IIa)에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 에스테르, 전구약물 또는 용매화물이며,



[0123]

[0124] **식 (IIa)**,

[0125] 여기서 A는 식 (II)에 대해 정의된 바와 같다.

[0126] 바람직한 구현예에서, A는 아르센옥사이드기 $As(OH)_2$이다.

[0127] 본 발명에 사용하기에 적합한 화합물에서, 아르센옥사이드기($-As(OH)_2$)는 전형적으로 아르센옥사이드 등가물로 대체될 수 있다.

[0128] 본 개시내용은 치료적 방사성 동위원소를 식 (II)에 따른 화합물과 혼합하는 것을 포함하는 식 (I)에 따른 화합물의 제조 공정을 제공하며, 여기서 식 (I) 또는 식 (II)의 화합물은 상기 기재된 것 중 임의의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합은 예를 들어, Z가 ^{67}Cu인 일부 구현예에서 실온, 즉 가열 없이 발생한다. 일부 구현예에서, 혼합은 예를 들어, Z가 ^{177}Lu인 일부 구현예에서 가열과 함께 발생한다. 이러한 구현예에서, 가열은 예를 들어, Z가 ^{177}Lu인 구현예에서 예를 들어 적어도 약 60℃, 예를 들어 약 60℃ 내지 약 80℃, 예를 들어 약 80℃의 온도가 될 수 있거나, 일부 구현예에서, 가열은 예를 들어, Z가 ^{90}Y인 구현예에서 예를 들어 적어도 약 80℃, 예를 들어 약 80℃ 내지 약 150℃, 예를 들어 약 120℃의 온도가 될 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합은 예를 들어 Z가 ^{177}Lu인 구현예에서 적어도 약 5.0, 예를 들어 약 5.0의 pH에서 발생한다. Z가 ^{177}Lu인 일부 특히 바람직한 구현예에서, 혼합은 약 60 내지 약 80℃의 온도, 적어도 약 5.0, 예를 들어 약 5.0의 pH에서 선택적으로 약 적어도 20분, 예를 들어 약 30분의 기간 동안 발생한다. 원하는 pH 수준은 임의의 적합한 완충액, 예를 들어 아세트산나트륨 완충액을 사용하여 달성될 수 있다.

[0129] 본 개시내용은 식 (I)에 따른 화합물의 제조 공정을 제공하며, 이는 치료적 방사성 동위원소 Z를 식 (II)에 따른 화합물에 첨가하는 것을 포함한다. 식 (II)에 따른 화합물은, 일부 구현예에 따라, 선택적으로 완충액과 혼합될 수 있으며, 여기서 완충액은 예를 들어 적어도 약 5.0, 예를 들어 약 5.0의 pH를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합은 상기 기재된 바와 같이 실온에서, 즉 가열 없이 수행되고, 일부 대안적 구현예에서, 혼합은 가열과 함께 수행된다. 일부 구현예에서, 공정은 치료적 방사성 동위원소를 강한 양이온 교환 컬럼으로 용출하는 것 및 강한 양이온 교환 컬럼을 식 (II)에 따른 화합물로 용출하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 식 (I) 및 식 (II)에 따른 화합물은 각각 식 (Ia) 및 식 (IIa)에 따른 화합물이다. 본 개시내용은 식 (X)에 따른 화합물의 제조 공정을 추가로 제공하며, 치료적 방사성 동위원소를 식 (Y)에 따른 화합물과 혼합하는 것을 포함하고, 여기서 식 (X) 또는 식 (Y)의 화합물은 상기 기재된 것 중 임의의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합은 상기 기재된 바와 같이 실온에서, 즉 가열 없이 수행되고, 일부 대안적 구현예에서, 혼합은 가열과 함께 수행된다. 본 개시내용은 Z가 ^{177}Lu, ^{64}Cu 또는 ^{67}Cu, 예컨대 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu인 식 (X)에 따른 화합물의 제조 공정을 제공하며, 이는 ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu를 식 (Y)에 따른 화합물에 첨가하는 것을 포함하고, 이는 선택적으로 완충액과 혼합되며, 여기서 완충액은 일부 구현예에서 적어도 약 5.0, 예를 들어 약 5.0의 pH를 갖는다. 일부 구현예에서, 혼합

은 예를 들어 Z가 ^{67}Cu 또는 ^{64}Cu, 예컨대 ^{67}Cu인 일부 구현예에서 실온, 즉 가열 없이 수행된다. 일부 대안적인 구현예에서, 혼합은 예를 들어 Z가 ^{177}Lu인 일부 구현예에서 상기 기재된 바와 같이 가열과 함께 수행된다.

[0130] 상기 기재된 공정의 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제의 존재 하에 식 (II)(또는 본원에 기재된 바와 같은 식 (IIa) 또는 식 (Y))에 따른 화합물에 첨가된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 항산화제는 아스코르브산을 포함한다. 상기 기재된 공정의 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 방사선분해(radiolysis)에 대한 하나 이상의 보호제의 존재 하에 식 (II)(또는 본원에 기재된 바와 같은 식 (IIa) 또는 식 (Y))에 따른 화합물에 첨가된다. 상기 기재된 공정의 일부 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 글루타티온의 존재 하에 식 (II)(또는 본원에 기재된 바와 같은 식 (IIa) 또는 식 (Y))에 따른 화합물에 첨가된다. 이론에 얽매이지 않고, 글루타티온은 산화된 NODAGA-GSAO를 생산하는 합성 동안 NODAGA-GSAO의 방사선 분해(radiolytic breakdown)를 감소시키는 항산화제 및 보호제로서 기능할 수 있다고 생각된다. "첨가되는"은 성분이 반응 혼합물에 첨가되는 순서에 상관없이, 인용된 성분 중 하나의 존재 하에 치료적 방사성 동위원소가 식 (II)에 따른 화합물과 반응하였음을 나타낸다. 하기 실시예 4 및 5에서 입증된 바와 같이, 아스코르브산과 같은 항산화제의 존재 및/또는 글루타티온의 존재, 및 특히 높은 농도의 아스코르브산 및 글루타티온 둘 모두의 존재는 산화된 NODAGA-GSAO를 생산하는 합성 동안 NODAGA-GSAO의 방사선 분해를 감소시켰다. 따라서, 바람직한 구현예에서, 치료적 방사성 동위원소는 하나 이상의 항산화제 및/또는 방사선분해에 대한 하나 이상의 보호제의 존재 하에, 예를 들어 글루타티온의 존재 하에, 예를 들어 아스코르브산 및 글루타티온의 존재 하에 식 (II)(또는 본원에 기재된 바와 같은 식 (IIa) 또는 식 (Y))에 따른 화합물에 첨가된다.

[0131] 특정 구현예에서, 하나 이상의 항산화제 및/또는 하나 이상의 보호제, 예컨대 아스코르브산 및/또는 글루타티온은 각각 반응 혼합물에 약 0.0075 이상, 예를 들어 약 0.01 M 이상, 예를 들어 약 0.0125 이상, 예를 들어 약 0.015 이상, 예를 들어 약 0.0175 이상, 예를 들어 약 0.02 이상의 농도로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 항산화제 및/또는 하나 이상의 보호제, 예컨대 아스코르브산 및/또는 글루타티온은 각각 반응 혼합물에 최대 약 0.1 M의 농도로 존재할 수 있다. 다중의 항산화제 및/또는 보호제가 존재하는 경우, 이러한 농도는 일부 구현예에 따라 각각의 개별 항산화제 및/또는 보호제, 예를 들어 각각의 아스코르브산 및/또는 글루타티온과 독립적으로 관련될 수 있다. "반응 혼합물 중" 농도는 치료적 방사성 동위원소가 식 (II)(또는 본원에 기재된 바와 같은 식 (IIa) 또는 식 (Y))에 따른 화합물과 반응할 때 관련 성분이 존재하는 농도를 지칭한다.

[0132] Z가 치료적 방사성 동위원소에 제한되지 않는 방사성 동위원소인 경우를 제외하고, 이러한 공정은 본원에 기재된 바와 같은 방사성 표지된 화합물을 제조하는 데 사용될 수 있다. Z는 본원에 기재된 바와 같은 치료적 방사성 동위원소일 수 있거나 Z는 대체 방사성 동위원소일 수 있다. 일부 구현예에서, Z는 4일 미만, 예를 들어 1일 미만, 예를 들어 4시간 미만, 예를 들어 2시간 미만의 반감기를 갖는 방사성 동위원소이다. Z는 일부 구현예에서 영상화제로서, 예컨대 양전자 방출 단층 촬영에서 사용하기에 적합한 방사성 동위원소일 수 있다. 일부 구현예에서 Z는 ^{68}Ga이다. 이러한 구현예는 세포 사멸을 영상화하는 데 유용한 화합물을 제조하는 용도로 발견될 수 있다. Z는 PCT 출원 번호 PCT/AU2020/050359(WO2020206503으로 공개됨)에 기재된 바와 같을 수 있다.

[0133] 본 개시내용은 약제학적 조성물 및/또는 치료적 제형, 즉 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제 및/또는 비히클과 함께 존재하는 본 개시내용의 화합물을 추가로 제공한다.

[0134] 의학적 용도를 위해, 본 개시내용에 따른 화합물의 염이 사용될 수 있고, 이들은 약제학적으로 허용되는 염을 포함하지만, 다른 염이 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 제조에 사용될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 건전한 의학적 판단의 범주 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등 없이 인간 및 하등 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 염을 의미한다.

[0135] 약제학적으로 허용되는 염은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0136] 예를 들어, 본 개시내용의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용되는 염은 약제학적으로 허용되는 산, 예컨대 염산, 황산, 메탄설폰산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 벤조산, 인산, 아세트산, 옥살산, 탄산, 타르타르산 또는 시트르산을 본 발명의 화합물과 혼합하여 제조될 수 있다. 따라서 본 개시내용의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용되는 염은 산 부가 염을 포함한다.

[0137] 예를 들어, *S.M. Berge* 등은 *J. Pharmaceutical Sciences, 1977,66: 1-19*에 약제학적으로 허용되는 염을 상세히 기재하고 있다. 염은 본 개시내용의 화합물의 최종 단리 및 정제 동안 인시츄에서 제조될 수 있거나, 유리 염기 작용기를 적합한 유기산과 반응시킴으로써 개별적으로 제조될 수 있다. 대표적인 산 부가 염은

아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파레이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 바이설페이트, 보레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 시트레이트, 사이클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵토네이트, 헥사노에이트, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드로아이오다이드, 2-하이드록시-에탄설포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 설페이트, 말레이트, 말레산염, 말로네이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 설페이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 톨루엔설포네이트, 운데카노에이트, 발레라트 염 등을 포함한다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리 토금속 염은 나트륨, 리튬 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등뿐만 아니라 비독성 암모늄, 4차 암모늄, 및 암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 에틸아민 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아민 양이온을 포함한다.

[0138] 본 개시내용은 또한 전구약물을 제공한다. 전형적으로, 전구약물은 영상화제, 치료제 및/또는 진단시약과 같은 본 개시내용의 요구되는 (활성)화합물로 *생체내*에서 쉽게 전환되는 본 개시내용 화합물의 기능적 유도체일 것이다.

[0139] 전구약물의 선택 및 제조를 위한 전형적인 절차는 당업자에게 알려져 있고, 예를 들어 *H. Bundgaard(Ed), Design of Prodrugs, Elsevier, 1985*에 기재되어 있다.

[0140] 중간체 및 최종 생성물은 예를 들어 크로마토그래피 방법, 분포 방법, (재)결정화 등을 사용하는 표준 방법에 따라 후처리 및/또는 정제될 수 있다. 화합물의 염을 포함하는 화합물은 또한 용매화물, 특히 수화물의 형태로 수득될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 용매화물은 고체 또는 액체 상태에서 용매 분자와 배위하여 복합체를 형성하는 본 개시내용에 따른 화합물의 형태를 지칭한다. 수화물은 물과 배위하는 용매화물의 특정한 형태이다. 본 화합물의 결정은 예를 들어 결정화에 사용되는 용매를 포함할 수 있다. 상이한 결정 형태가 존재할 수 있다.

[0141] 본 개시내용은 또한 공정 임의의 단계에서 중간체로서 수득될 수 있는 화합물을 출발 물질로 사용하고 나머지 공정 단계를 수행하거나, 출발 물질이 반응 조건 하에 형성되거나 유도체 형태, 예를 들어 보호된 형태 또는 염 형태로 사용되거나, 본 발명에 따른 공정에 의해 수득될 수 있는 화합물이 공정 조건 하에서 생산되고 인시츄에서 추가로 처리되는 본 개시내용에 따른 화합물의 제조 공정의 형태에 관한 것이다.

[0142] 화합물 또는 약제학적 조성물의 단일 또는 다중 투여는 치료 의사에 의해 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다. 이에 상관없이, 본 개시내용의 화합물 또는 약제학적 조성물은 환자를 효과적으로 치료하기에 충분한 양의 화합물을 제공해야 한다.

[0143] 당업자는 일상적인 실험에 의해 본원에 개시된 장애 및 질환을 치료하거나 예방하는데 필요한 본 발명에 사용된 화합물 또는 약제학적 조성물의 효과적이고 비독성인 양을 결정할 수 있을 것이다.

[0144] 본 개시내용의 화합물은 예를 들어 최대 800 μg의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 특정 구현예에서, 본 개시내용의 화합물은 예를 들어 최대 700 μg, 예를 들어 최대 600 μg, 예를 들어 최대 500 μg, 예를 들어 최대 400 μg, 예를 들어, 최대 300 μg, 예를 들어 최대 250 μg, 예를 들어 최대 200 μg, 예를 들어 최대 150 μg, 예를 들어 최대 100 μg, 예를 들어 최대 50 μg의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 화합물은 최대 200 μg의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 화합물은 50 μg 미만, 예를 들어 10 내지 50 μg의 용량으로 투여된다.

[0145] 본 개시내용의 화합물은 단독으로 투여될 수 있지만, 일반적으로 화합물은 약제학적 조성물/제형으로서 투여되는 것이 바람직하다. 일반적으로 본 개시내용의 화합물의 약제학적 제형은 당업자에게 알려진 방법에 따라 제조될 수 있고 따라서 약제학적으로 허용되는 담체, 부형제, 희석제, 비히클 및/또는 보조제를 포함할 수 있다.

[0146] 담체, 부형제, 희석제, 비히클 및 보조제는 제형의 다른 성분과 상용성이라는 측면에서 "허용가능"해야 하고 수용자에게 유해하지 않아야 한다.

[0147] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 약제학적 조성물은 본 개시내용에 따른 화합물뿐만 아니라 아스코르브산, 나트륨, 포스페이트, 아세테이트 및 클로라이드로부터 선택되는 하나 이상의 추가 성분을 포함한다. 일부 구현예에서, 약제학적 조성물은 이러한 모든 성분을 포함한다. 바람직한 형태에서 본 개시내용의 화합물의 약제학적 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 치료적 동위원소 화합물 대신에 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 포함하는 유사한 조성물에

대해 실시예 5에 나타낸 바와 같이 약제학적으로 허용되는 담체, 희석제 및/또는 보조제와 함께 유효량의 본 개시내용에 따른 화합물을 포함한다.

[0148] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 표준 경로로 투여될 수 있다.

[0149] 특히 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 화합물 또는 약제학적 조성물은 정맥내로 투여된다. 주사 가능한 용액 또는 현탁액으로서 투여하기 위해, 비독성 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 담체는 링거액, 등장성 식염수, 포스페이트 완충 식염수, 에탄올 및 1,2-프로필렌 글리콜을 포함할 수 있다.

[0150] 본 개시내용은 종양 및 암, 예를 들어 고형 종양을 포함하는 신생물성 병태의 치료에 사용하기 위한 본 개시내용에 따른 화합물 및 조성물을 제공한다. 암은 고형 또는 별개의 종양, 예를 들어 백혈병 또는 림프종을 반드시 포함하지 않는 암을 포함할 수 있다. 상기 치료는 치료적 방사성 동위원소를 세포 사멸 영역에 전달하고 치료적 동위원소의 전달에 반응하여 주변 세포에서 세포 사멸을 유도/향상시키는 것이다. 정맥내로 투여되는 경우, 본 개시내용의 화합물은 종양(높은 비율의 세포 사멸 및 턴오버를 가짐)과 같이 높은 수준으로 존재하는 사멸되어가는 세포를 표적화 할 것이고; 결과적으로 치료적 방사성 동위원소의 방사선이 인접 생존 세포로 전달되어 주변 종양 세포의 사멸을 유발할 수 있다. 본 개시내용의 화합물에 의해 유도된 이러한 세포 사멸은 본 개시내용의 화합물의 추가 결합을 유발할 수 있고, 따라서 양성-피드백 메카니즘에서 추가 세포 사멸을 유발할 수 있으며; 본 개시내용의 화합물은 예를 들어 각각의 투여 주기와 함께 다중 주기에 걸쳐 증가된 세포 사멸을 제공하기 위해 대상체에게 다회(즉, 다중 주기로) 투여될 수 있다.

[0151] 본 개시내용은 본원에 기재된 화합물의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 상기 언급된 병태를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 이러한 방법에서의 본원에 기재된 화합물의 용도, 및 이러한 병태의 치료를 위한 약제의 제조에서의 용도를 추가로 제공한다. 상기 치료는 특히 화합물이 선택적으로 표지되는 사멸되어가는 세포의 주변의 세포에서 세포 사멸을 유도하는 치료적 동위원소를 포함하는 본 개시내용의 화합물에 의한 것일 수 있다.

[0152] 본 개시내용의 화합물의 용도 및 본원에 제공된 치료 방법, 예를 들어 상기 기재된 병태의 치료 방법은 유효량의 본원에 기재된 화합물 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0153] 일부 구현예에서, 이러한 방법은 유효량의 본 개시내용의 화합물 또는 약제학적 조성물을 2회 이상의 주기로 투여하는 것을 포함하며, 여기서 신생물성 병태에 대한 투여의 효능은 2회 이상의 주기에 걸쳐 증가된다. 2회 이상의 주기에 걸친 신생물성 병태에 대한 투여의 효능의 증가는 각각의 개별 주기의 효능이 직전 주기보다 크지 않더라도 첫 번째 주기부터 이후 주기까지의 전반적인 효능 증가를 포함할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 신생물성 병태에 대한 투여의 효능은 각각의 2회 이상의 주기로 증가하며, 즉 각각의 투여의 효능은 직전 주기보다 더 크다. "주기"는 다른 요법의 투여와 같은 다른 단계에 의해 산재될 수도 그렇지 않을 수도 있는 별도의 반복 투여를 지칭하는 것으로 이해될 것이다. 2회 이상의 주기에 걸친 신생물성 병태에 대한 투여의 효능의 증가는 상기 논의된 본 개시내용의 화합물과 연관된 양성 피드백 메카니즘으로 인해 발생하고; 화합물은 자가-증폭 효과를 나타낼 수 있으며, 여기서 본 개시내용의 화합물에 의해 유발된 세포 사멸은 더 많은 화합물을 유인하고, 이는 더 많은 세포 사멸을 유도한다. 이와 같이, 본 개시내용의 화합물의 후속 주기의 투여는 이전 투여(들)에 의한 유발된 세포 사멸 수준의 증가로 인해 사멸되어가는 세포에서 증가된 흡수율의 화합물로 인한 신생물성 병태에 대해 증가된 효능을 가질 수 있다. "증가된 효능" 은 이전 투여(들)에 대해 주어진 양의 화합물에 대한 화합물의 투여에 의해 유발된 표적 영역(예컨대 종양)에서 더 높은 수준의 세포 사멸로 이해될 수 있다.

[0154] 특히 유리하게, 그리고 다른 치료적 접근법과 대조적으로, 세포 사멸을 유도하는 개시제 요법, 예컨대 화학 요법, 방사선 요법, 면역 요법 및/또는 표적 요법의 초기, 동시 또는 후속(전형적으로 초기 또는 동시) 투여에 의해 본 개시내용의 구현예에 따른 방사성 표지된 화합물의 흡수율을 증가시키는 것이 가능하며, 이는 종양 세포와 같은 일부 세포를 사멸시킴으로써 본 개시내용의 구현예의 방사성 표지된 화합물의 흡수율을 증가시킬뿐만 아니라 전달되는 내부 방사선과 시너지 효과를 가질 것이다. 이러한 작용 방식은 도 1에 도시되어 있다(여기서 'CDI'는 본 발명에 따른 치료적 방사성 동위원소를 포함하는 방사성 표지된 화합물을 지칭함). 이는 종양 세포 사멸의 자가-증폭 캐스케이드를 갖는 양성 피드백 메커니즘을 초래하고; 각 주기의 치료는 후속 치료 주기 등에서 방사성 표지된 화합물 흡수율을 증폭시킬 더 많은 세포 사멸을 초래하여 잔류 인접 생존 종양 세포의 기하급수적 피드백 사멸을 제공한다. 따라서 본 개시내용의 화합물은 다중 주기에 걸쳐 증가된 세포 사멸을 제공하기 위해 선택적으로 다중 주기의 개시제 요법과 함께 다중 주기로 전달될 수 있다. 다중 주기에 걸친 세포 사멸의 증가는 각 개별 주기의 세포 사멸이 직전 주기보다 크지 않더라도 첫 번째 주기에서 이후 주기까지 세포 사멸의 전반적인 증가를 포함할 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 투여와 연관된 세포 사멸은 각각의 2개 이상의 주

기에 따라 증가하며, 즉 각 투여와 연관된 세포 사멸은 직전 주기에서보다 크다. 이것은 모든 악성 종양에서 조합 요법 접근법을 변형시킬 수 있는 잠재력을 가진 복합 요법의 새로운 패러다임을 나타낸다. 일부 구현예에 따르면, 본 개시내용의 구현예의 방사성 표지된 화합물, 즉 감작 화학 요법, 방사선 요법, 면역 요법 및/또는 표적 요법과 조합된 치료제는 종양 세포 사멸의 자가-증폭 캐스케이드를 생성할 것이며 - 이는 치료제에 대한 새로운 개념이다.

[0155] 따라서, 본 개시내용은 상기 기재된 바와 같은 병태를 치료하는 방법을 추가로 제공하며, 방법은 a) 치료를 필요로 하는 대상체에서 상기 병태에 대한 치료를 선택적으로 수행하는 것; 및 b) 치료적 유효량의 본원에 기재된 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 단계 a)의 치료는 본 개시내용의 화합물 또는 조성물을 투여하는 것 이외의 치료이다. 단계 a)의 치료는 바람직하게는 특히 종양 또는 암, 또는 신생물성 병태의 다른 부위와 같은 원하는 위치에서 약간의 세포 사멸을 유도한다. 단계 a)는 단계 b)와 동시에 수행될 수 있거나, 단계 b)는 단계 a) 이후에 수행될 수 있다. 단계 a) 및/또는 b)는 반복될 수 있다. 일부 구현예에서, 단계 b)는 2회 이상의 주기로 반복되며, 즉 2회 이상 수행되고; 이러한 구현예는 상기 논의된 바와 같이 자가-증폭 치료를 제공한다. 이러한 일부 구현예에서, 신생물성 병태에 대한 투여의 효능은 2회 이상의 주기, 예를 들어 상기 논의된 바와 같이 각각의 주기에 걸쳐 증가하고, 특히 단계 a) 및/또는 b)를 포함하는 각 치료에 의해 유도된 세포 사멸의 양은 2회 이상의 주기, 예를 들어 각 주기에 걸쳐 증가할 수 있다. 일부 구현예에서, 단계 a)는 표적 영역, 예컨대 신생물성 부위, 예컨대 종양에서 세포 사멸을 개시하거나 초기에 증가시키기 위해 수행되고, 단계 b)는 다회 수행되며, 여기서 단계 b)에서 투여된 화합물은 단계 a)로부터 생성된 사멸되어가는 세포에 의해 흡수되고, 단계 b)의 추가 주기는 상기 기재된 바와 같이 치료 효과를 더욱 증폭시킨다. 일부 구현예에서, 단계 a) 및 b) 둘 모두는 단계를 교번시키거나 임의의 다른 순서로 여러 단계로 수행된다. . 단계 a)의 요법은 일부 구현예에서 화학 요법, 방사선 요법, 면역 요법 및 표적 요법으로부터 선택될 수 있다. 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 화합물을 추가로 제공하며, 이는 이러한 방법에 사용하기 위한 치료적 방사성 동위원소, 이러한 방법에서의 상기 화합물의 용도, 및 상기 기재된 병태의 치료를 위한 약제의 제조에서의 상기 화합물의 용도를 포함하며, 여기서 치료는 이러한 방법을 포함한다.

[0156] 본 개시내용은 또한 본 개시내용에 따른 화합물 또는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 신생물성 병태의 치료 여부와 관계없이 대상체에서 세포 사멸을 유도하는 방법에 관한 것이다. 이러한 방법은 *필요한 부분만 약간 수정하여* 신생물성 또는 다른 병태를 치료하기 위해 본원에 기재된 방법일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 화합물 또는 조성물은 다중 주기로 대상체에게 투여되며, 여기서 유도된 세포 사멸의 양은 상기 논의된 자가-증식 효과로 인해 다중 주기, 예를 들어 각 주기에 걸쳐 증가된다. 이러한 세포 사멸의 증가는 이전 투여에 대해 투여된 주어진 양의 화합물 또는 조성물에 대한 것일 수 있다.

[0157] 본 개시내용의 치료적 화합물은 또한 영상화될 수 있는 방출물을 제공하는 치료적 동위원소를 사용함으로써 본원에서 논의된 병태의 테라노스틱 치료에 사용될 수 있다. 예를 들어, 치료적 동위원소는 양전자 방출 단층 촬영을 사용하여 영상화될 수 있는 양전자 방출 동위원소일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료적 동위원소는 ^{177}Lu, ^{67}Cu, ^{64}Cu ^{90}Y, ^{188}Re 또는 ^{186}Re일 수 있고, 이들 모두는 영상화될 수 있다. 영상화/진단에 또한 사용될 수 있는 치료적 동위원소는 테라노스틱 방법(즉, 암/종양과 같은 표적 병태의 진단/식별과 요법을 조합하는 방법)에서 본 개시내용의 화합물의 사용을 가능하게 한다. 예를 들어, 본 개시내용에 따른 치료적 화합물이 투여될 수 있고, 화합물이 어디로 전달되었는지, 그리고 일부 구현예에서, 화합물이 얼마나 전달되었는지, 예컨대 화합물이 얼마나 표적 위치로 전달되었는지를 가시화하기 위해 후속적으로 영상화가 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 사멸 및 또한 정상 조직 독성의 확률을 결정하기 위한 종양 및 정상 조직에 대한 방사선량의 계산치는 테라노스틱 화합물을 사용하여 수행될 수 있다. 본 개시내용의 화합물은 사멸되어가는 세포를 선택적으로 표지하기 때문에, 치료제의 영상화에 의한 세포 사멸의 가시화는 치료적 화합물의 전달에 반응하는 세포 사멸의 변화를 평가하기 위해, 즉 치료의 효능을 모니터링하기 위해 추가로 사용될 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 이러한 테라노스틱 화합물은 단일 화합물을 사용한 치료 및 가시화 또는 치료의 모니터링 둘 모두를 가능하게 한다.

[0158] 본 개시내용의 치료적 화합물은 또한 별도의 진단시약, 예를 들어 영상화제, 예를 들어 종양 세포와 같은 신생물성 세포를 표적화하고 예를 들어, 양전자 방출 단층 촬영(PET) 스캐닝에 의해 영상화될 수 있는 영상화제의 투여와 조합하여 사용될 수 있다. 이러한 진단시약은 예를 들어 세포 사멸을 가시화하는 형태, 예를 들어 높은 수준의 세포 사멸을 갖는 종양의 형태로 병태의 존재를 가시화하기 위해 본원에 개시된 치료적 화합물의 투여 전에 및/또는 본 개시내용의 화합물로 치료한 후 상기 치료에 반응하는 변화, 예를 들어 세포 사멸의 변화를 가시화하기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 진단시약은 치료제와 함께 투여될 수 있다. 이러한 테

라노스틱 접근법에 사용하기에 적합한 진단시약은 본 출원의 실시예 4 내지 8에 기재된 ^{68}Ga 표지된 화합물(^{68}Ga-NODAGA-GSAO)이고, 이는 PCT 출원 PCT/AU2020/050359에 개시되어 있으며, 본 개시내용은 본원에 참조로 포함된다. PCT/AU2020/050359의 화합물 및 이에 개시된 방법은 본원에 기재된 바와 같은 치료적 방사성 동위원소로 표지된 치료적 화합물의 투여에 의한 치료와 함께 세포 사멸을 영상화하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 실시예에 기재된 ^{68}Ga 표지된 화합물은 치료의 효능을 모니터링하기 위해 본원에 기재된 바와 같은 치료적 방사성 동위원소로 표지된 화합물로 치료 전 및/또는 후에 투여될 수 있고, PET에 의해 가시화될 수 있다. PCT/AU2020/050359의 진단 화합물, 특히 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO는 쉽게 합성되고, 쉽게 이용가능하고 저렴한 출발 물질로부터 합성되고, 우수한 생체분포, 낮은 정상 기관 흡수율, 유리한 영상화 특징, 양호한 방사선량 측정치를 나타내고, 사용시 비침습적이고/이거나 양전자 방출 단층 촬영에 의한 순차적 반복 영상화 및 임상적으로 적절하고 실용적인 시간 척도에서의 영상화에 적합한 짧은 반감기를 갖는다. 진단시약은 일부 구현예에서 정맥내로 투여될 수 있다.

[0159] 본 개시내용의 맥락에서, 용어 "진단 화합물"은 별도의 진단 화합물, 또는 화합물의 영상화를 통해 진단 화합물로서 또한 기능할 수 있는 본 개시내용의 치료적 화합물, 즉 "테라노스틱 화합물"을 지칭할 수 있다. 이러한 용어의 의미는 사용 맥락에서 쉽게 명백해질 것이다.

[0160] 정맥내로 투여되는 경우, 본 개시내용의 테라노스틱 화합물 및 PCT/AU2020/050359의 영상화 화합물은 사멸되어 가는 세포를 표적화할 것이고 이들의 방사성 표지화에 의해 가시화될 수 있으므로, 예를 들어 세포 사멸을 유발하는 일부 다른 요법에 대한 반응으로 대상체의 상이한 부분에서 세포 사멸의 수준에 대한 정보를 제공할 수 있다. 화합물은 단일 시점에서, 즉 단일 PET 스캔 또는 다른 적절한 영상화 기술을 수행함으로써 세포 사멸의 척도를 제공하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 초과의 투여 및/또는 스캔이, 예를 들어 요법이 투여되기 전 및 후에 수행되어, 요법 전 및 후에 세포 사멸의 수준의 변화를 평가하고 치료가 성공적인지 여부를 결정할 수 있다. 본 개시내용의 치료적 화합물 및/또는 또 다른 요법의 투여 후 신생물성 병태, 예컨대 종양 또는 예컨대 암의 성공적인 치료는 영상화될 수 있는 화합물을 사용하여 신생물성 병태의 부위에서 증가된 수준의 세포 사멸을 가시화함으로써 결정될 수 있다.

[0161] 본원에 기재된 테라노스틱 또는 PCT/AU2020/050359에 기재된 것과 같은 별도의 진단 화합물인, 진단 화합물은 적용되는 치료, 예를 들어 치료의 강도 또는 기간을 조정하거나 변경하는 데 사용될 수 있다. 세포 사멸의 척도는 치료적 레지멘이 효과적이거나 효과적이지 않다는 것을 나타낼 수 있으며; 효과가 없는 경우, 대체 용량 또는 대체 치료가 채택될 수 있다. 효과가 있는 경우, 필요한 경우 치료를 계속하거나, 필요한 경우 감소/중단될 수 있다. 예를 들어, 치료 용량의 본 개시내용에 따른 치료적 화합물 또는 일부 다른 요법은 세포 사멸의 수준에 따라 적절하게 조정될 수 있다. 예를 들어, 요법 후 종양 세포 사멸이 거의 또는 전혀 없는 환자의 식별은 치유 또는 질환 제어 가능성을 최대화하기 위해 용량 또는 치료 기간(단계적 증가)의 증가 또는 보다 집중적이거나 복합적인 요법으로의 변경이 필요함을 나타낸다. 반대로, 치료 과정 초기에 반응을 정확하게 평가하면 치유 또는 질환 제어 가능성을 손상시키지 않고 치료 관련 이환율 및 사망률(단계적 감소)을 방지하기 위해 우수하게 반응하는 암 환자의 치료 기간 또는 강도를 감소시킬 수 있다. 세포 사멸에 의한 것과 같은 요법 성공 평가는 새로운 요법의 채택을 유발할 수 있으며, 여기서 초기 치료적 접근법에 따른 세포 사멸의 척도는 초기 접근법이 성공적이지 않다는 것을 시사한다.

[0162] 본 개시내용의 테라노스틱 화합물의 용도는 본 개시내용의 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 본 개시내용의 치료적 화합물과 함께 PCT/AU2020/050359에 개시된 것과 같은 별도의 진단 화합물의 용도는 유효량의 진단 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 이러한 용도는 진단 화합물(예를 들어, 테라노스틱 화합물)의 투여 후 대상체에서 영상화 방법을 수행하는 것을 추가로 포함할 수 있으며, 예를 들어 진단 화합물의 투여 후, 예를 들어 진단 화합물의 투여 직후 대상체에서 PET를 수행한다. 대안적인 구현예에서, PET 이외의 임의의 적합한 영상화 방법이 진단 화합물을 영상화하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 특히 화합물이 테라노스틱 화합물인 경우, 사용된 동위원소에 따라 핵의학(감마 카메라) 또는 PET를 사용하여 화합물을 영상화할 수 있다. 일부 구현예에서, 단일 광자 영상화(SPECT)가 동위원소를 영상화하는 데 사용된다. 주어진 동위원소 및 적용에 적합한 특정 유형의 영상화는 당업자에게 쉽게 명백해질 것이다.

[0163] 일부 구현예에서, PET 스캔은 진단 또는 테라노스틱 화합물의 투여 후 적어도 10분, 예를 들어, 적어도 20분, 적어도 30분, 적어도 40분, 적어도 50분, 또는 적어도 1시간의 시간 간격 후, 예를 들어 진단 화합물의 투여 약 1시간 후에 수행된다. 일부 구현예에서, 다중 PET 스캔은 투여 후 다양한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 진단 화합물이 투여될 수 있고, PET 스캔은 투여 직후뿐만 아니라 투여 약 30분, 약 1시간, 약 2시간 및 약 3시

간 후에 수행될 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 치료적 화합물은 일부 구현예에서 이의 효과가 나타나기 전에 어느 정도 시간이 걸릴 수 있으며; 따라서, 세포 사멸, 진단 화합물의 사용 또는 PET 스캔에 의한 것과 같은 테라노스틱 화합물의 사용과 같은 효과의 가시화는 치료적 또는 테라노스틱 화합물의 투여 후 더 긴 시간, 예를 들어 치료적 또는 테라노스틱 화합물의 투여 적어도 또는 약 1일, 3일, 5일, 1주, 2주 또는 1개월 후에 발생할 수 있다. 별도의 진단 화합물이 사용되는 일부 이러한 구현예에서, 진단 화합물은 스캔 전에 투여될 수 있다.

[0164] 일부 구현예에서, 치료 방법은 신생물성 병태의 치료를 위한 것과 같은 본 개시내용에 따른 치료적 방사성 표지된 화합물의 투여, 및 PCT/AU2020/050359에 개시된 것과 같은 별도의 진단시약의 투여를 포함하여 세포 사멸 유도 효과와 같은 치료적 화합물의 효과를 가시화한다. 치료적 화합물은 진단 화합물 투여와 함께, 그 이전에 또는 후속적으로 대상체에게 투여될 수 있다. PET 스캔은 진단 화합물을 투여한 후 치료적 화합물의 세포 사멸-유도 활성을 가시화하기 위해 수행될 수 있다.

[0165] 일부 특정 구현예에서, 본 개시내용은 신생물성 병태의 치료에 대한 대상체의 반응을 평가하는 방법을 제공하며, 이는 본 개시내용의 치료적 화합물을 투여하는 것; 및 세포 사멸을 가시화하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료적 화합물은 세포 사멸을 가시화하기 위해 영상화될 수 있는 치료적 방사성 동위원소를 포함하며, 즉 화합물은 테라노스틱 화합물이다. 일부 구현예에서, 방법은 예를 들어 PCT/AU2020/050359에 개시된 바와 같은 세포 사멸을 가시화하기 위한 별도의 진단 화합물, 예를 들어 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 투여하는 것을 포함한다. 하나의 특정 구현예에서, 세포 사멸은 대상체에 대해 양전자 방출 단층 촬영을 수행함으로써 가시화된다. 하나의 특정 구현예에서, 세포 사멸은 대상체에 대한 핵의학('감마 카메라')에 의해 가시화된다. 일부 구현예에서, 영상화는 단일 광자 영상화(SPECT)에 의해 수행될 수 있다. 성공적인 요법에서, 평가는 원하는 위치에서 높은 수준의 세포 사멸이 가시화될 때 요법이 성공적임을 보여줄 것이다. 일부 구현예에서, 진단 화합물이 투여되고/되거나 치료적 화합물의 투여 전에 세포 사멸이 또한 가시화되어 치료적 화합물의 투여 전과 후의 세포 사멸의 수준 사이의 비교를 허용할 수 있다. 이러한 경우, 두 가시화 사이의 세포 사멸의 수준의 증가는 성공적인 요법을 나타낼 수 있다. 반대로, 낮은 수준의 세포 사멸 또는 세포 사멸 감소는 실패하거나 준최적 요법을 나타낼 수 있다.

[0166] 상기 방법에서, 세포 사멸의 가시화(및 선택적으로 별도의 진단 화합물의 투여)는 예를 들어 본 개시내용의 치료적 화합물의 투여 약 1일, 약 2일, 약 3일, 약 1주, 약 2주, 약 3주, 약 4주, 약 5주 및/또는 약 6주 후에 발생할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 사멸의 가시화는 치료적 화합물의 투여 7일 이내에 발생한다. 일부 구현예에서, 세포 사멸의 가시화는 치료적 화합물의 투여 적어도 4주 후에 발생한다. 일부 구현예에서, 세포 사멸의 가시화는 치료적 화합물의 투여 후 1회 초과로 발생한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포 사멸의 가시화는 치료적 화합물의 투여 7일 이내 및 적어도 4주 후 둘 모두에 발생한다.

[0167] 상기 방법에서, 별도의 진단 화합물은 세포 사멸을 가시화하기 위해 투여되며, 예를 들어 양전자 방출 단층 촬영에 의한 세포 사멸의 가시화는 예를 들어 진단 화합물의 투여 적어도 10분, 적어도 20분, 적어도 후 30분, 적어도 40분, 적어도 50분, 적어도 1시간 또는 적어도 90분 후에 발생할 수 있다. 예를 들어, 진단 화합물이 투여될 수 있고, 가시화는 예를 들어 투여 직후, 또는 진단 화합물의 투여 약 30분, 약 1시간, 약 90분, 약 2시간 또는 약 3시간 후에 수행될 수 있다.

[0168] 본 개시내용은 상기 방법, 이러한 방법에 사용하기 위한 본 개시내용에 따른 화합물, 이러한 방법의 본 개시내용 화합물의 용도, 및 이러한 방법에 사용하기 위한 약제의 제조에서의 본 개시내용에 따른 화합물의 용도에 관한 것이다.

[0169] 본 발명은 또한 광범위하게는 본 출원 명세서에서 개별적으로 또는 집합적으로 언급되거나 지시된 부품, 요소 및 특성과, 임의의 둘 이상의 상기 부품, 요소 또는 특성의 임의의 또는 모든 조합으로 이루어진다고 얘기될 수 있으며, 여기서 본 발명이 관련된 기술 분야에서 알려진 등가물을 갖는 특정 정수가 본원에서 언급되며, 이러한 알려진 등가물은 개별적으로 제시된 것으로서 본원에 포함되는 것으로 간주된다.

[0170] 본 명세서에서 임의의 이전 간행물(또는 이로부터 유래된 정보) 또는 알려진 임의의 사항에 대한 참조는 인지 또는 승인 또는 이전 간행물(또는 이로부터 유래된 정보)의 임의의 형태의 제안으로서 간주되어서는 안되거나, 알려진 사항은 본 명세서와 관련된 노력의 분야에서 공통의 일반 지식의 부분을 형성한다.

[0171] 본 발명은 이제 다음 특정 실시예를 참조하여 설명될 것이며, 이는 어떠한 방식으로든 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0172] **실시예**

[0173] **실시예 1**

[0174] **NODAGA-GSAO의 합성**

[0175] a) GSAO를 *Park D, Don AS, Massamiri T 등 (2011) Non-invasive imaging of cell death using an Hsp90 ligand. J Am Chem Soc 133:2932-3835*에 기재된 공정을 사용하여 제조하였으며; 4-(*N*-(브로모아세틸)아미노)페닐아르손산(BRAA)을 p-아르사닐릭 및 브롬아세틸 브로마이드로부터 합성하였고, BRAA를 4-(N-(브로모아세틸)아미노)페닐아르손산(BRAO)으로 환원하였다. BRAO는 글루타티온(GSH)과 결합되어 GSAO를 생산하였다. GSAO는 C18 크로마토그래피에 의해 미반응 BRAO 및 GSH로부터 분해되었다.

[0176] b) 중탄산 나트륨 및 초순수를 사용하기 전에 30분 동안 질소로 퍼징하였다. 반응 설정 및 정제를 불활성 질소 분위기 하에서 수행하였다. 단계 a)로부터 수득된 GSAO(20.0 mg, 36.5 μmol)를 4℃에서 0.1 N 중탄산 나트륨(7.4 mL)에 용해시키고 10분 동안 교반하였다.

[0177] c) CheMatech(프랑스 디종)로부터 수득된 NODAGA-NHS(2,2'-(7-(1-카르복시-4-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-4-옥소부틸)-1,4,7-트리아조난-1,4-디일)디아세트산 모노-N-하이드록시숙신이미드 에스테르)(34.5 mg, 47.0 μmol)를 무수 디메틸포름아미드(DMF)(1 mL)에 용해시키고 단계 b)에서 수득된 반응 혼합물에 1시간에 걸쳐 적가하였다.

[0178] d) 반응 혼합물을 4시간 동안 교반하고, 1 M 염산(1 mL)을 첨가하여 산성화하고, 액체 질소에서 충격 동결시키고, 동결 건조시켰다.

[0179] **NODAGA-GSAO 정제**

[0180] e) 단계 d)로부터 생성된 잔류물을 탈기수(4 mL)에 재용해하고 여과하고(0.45 μm), 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 정제하였다. 이동상 A(초순수 중 0.2% TFA) 중 2-20% 이동상 B(아세토니트릴 중 0.2% 트리플루오로아세트산(TFA))의 구배를 0분 내지 25분 적용하였다. NODAGA-GSAO를 20.6분에 용출하였다. 샘플을 손으로 수집하고 각 분획물을 즉시 질소로 퍼징하였다.

[0181] HPLC를 2개의 LC-20AP 펌프, SIL-10AP 오토샘플러, SPD-20A UV/VIS 검출기 및 Shimadzu ShimPack GIS-C18 컬럼(150 x 10.0 mm i.d., 5 μm, 4 mL/분^{1})이 장착된 Shimadzu LC-20 시리즈 LC 시스템에서 수행하였다(시스템 A). Shimadzu LabSolutions 소프트웨어(Ver. 5.73)를 데이터 수집 및 처리에 사용하였다.

[0182] f) 풀링된 분획물을 -20℃에서 동결시키고 동결 건조하여 7.3 mg의 백색 분말을 얻었다(21.6% 수율).

[0183] g) NODAGA-GSAO를 100 μL 물 당 54 μg의 분취액으로 분배하였고 -80℃에서 보관하였다.

[0184] h) 화합물의 순도(>95%)를 NODAGA-GSAO(5 μL; 수중 대략 17 mM)의 용액을 0-5-45분에 걸쳐 이동상 A(질량 분석 등급 물 중 0.1% 포름산(FA)) 중 2-2-50% 이동상 B(아세토니트릴 중 0.1% FA)로 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS)에 주입하여 확인하였다. NODAGA-GSAO를 19.4분에 용출하였다.

[0185] LC-MS를 탈기기가 내장된 1260 시리즈 4차 펌프, 1200 시리즈 오토샘플러, 항온 컬럼 컴파트먼트, 다이오드 어레이 검출기, 분획물 수집기, 6120 시리즈 단일-사중극자 질량 분석기 및 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 컬럼(150 x 4.6 mm i.d., 5 μm)으로 이루어진 Agilent 시스템(미국 캘리포니아 산타클라라)을 사용하여 30℃에서 수행하였다(시스템 B). 건조 가스 흐름, 온도 및 네뷸라이저를 각각 12 L/분, 350℃ 및 35 psi로 설정하였다. Agilent OpenLAB 크로마토그래피 데이터 시스템(CDS) ChemStationEdition(C.01.05)을 데이터 수집 및 처리에 사용하였다. 전자분무 이온화(ESI)를 3500 V 캐피러리 전압의 양이온 모드에서 분취액(5 μL)을 분석하는 데 사용하였다. 핵 자기 공명(NMR) 분광법(^{1}H 및 ^{13}C) 스펙트럼을 VnmrJ 3.1 소프트웨어(미국 캘리포니아 산타클라라 Agilent Technologies)로 작동되는 24℃에서의 399.73 MHz(^{1}H) 또는 100.51 MHz(^{13}C)의 주파수에서 Varian 400-MR NMR 분광계(미국 메사추세츠 렉싱턴)를 사용하여 5 mm Pyrex 튜브(미국 윌매드)에 기록하였다. 스펙트럼 데이터는 ppm(δ)으로 보고되고 잔류 용매(중수소화 디메틸 설폭사이드[DMSO-d_6] 2.50/39.52 ppm)를 참조로 한다.

[0186] i) 흡광도를 210 및 254 nm에서 측정하고 각각의 곡선하면적(AUC)을 사용하여 배경과 비교하여 총 AUC의 백분율로 화합물 순도를 결정하였다.

[0187] **실시예 2**

[0188] **^{175}루테튬(^{175}Lu), ^{63}구리(^{63}Cu) 및 ^{89}이트륨(^{89}Y)을 사용하는 NODAGA-GSAO의 표지화**

[0189] 방사성 동위원소로 표지화하기 전에, 안정 동위원소를 사용한 결합 조건을 평가하였다. 특히, ^{175}Lu, ^{63}Cu 및 ^{89}Y를 각각의 ^{177}Lu, ^{67}Cu 및 ^{90}Y 대신에 사용하였다. 이러한 실험은 방사성 동위원소에 대한 개념 증명으로서 최적의 결합 조건 및 기능을 결정하였다.

[0190] 실시예 1에서 수득된 NODAGA-GSAO(62 μM)의 표지화를 하기에 표시된 바와 같이 다양한 pH 수준 및 온도의 0.4 M 아세트산 나트륨(Sigma Aldrich) 완충액에서 수행하였다. 안정 동위원소 ^{175}Lu(루테튬(III) 클로라이드), ^{63}Cu(구리(II) 설페이트 펜타하이드레이트) 또는 ^{89}Y(이트륨(III) 클로라이드)(Sigma Aldrich)를 NODAGA-GSAO에 비해 1.2배 몰비로 첨가하고 혼합물을 30분 동안 배양하였다.

[0191] 모든 실험을 Agilent(미국 캘리포니아 산타클라라) 1260 Infinity Quaternary LC에서 수행하였으며 Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 분석 컬럼은 Alltima HP C18 150 × 4.6 mm 5 μm 입자 크기(영국 버크셔 하이크롬)이다. 컬럼을 MiliQ 물(이동상 A) 및 아세토니트릴(이동상 B; 98/2, v/v)(Unichrom, Thermo Fisher Scientific) 중 0.1%(v/v) 트리플루오로아세트산(Sigma Aldrich)의 혼합물에서 평형화시켰다. 샘플(100 μL)을 실온에서 오토샘플러를 사용하여 컬럼에 로딩시키고 생성물을 0.6 mL/분의 유속으로 0-18-28-28-33분에 걸쳐 이동상 A에서 2-20-70-2-2% 이동상 B의 그레디언트를 사용하여 용출하였다. 흡광도를 210 nm 및 280 nm에서 측정하였다.

[0192] 표지화의 정도를 배경과 비교하여 총 곡선하면적(AUC)에 대한 표지된 CDI 피크(피크까지의 시간, 13.9-14.1)의 AUC의 백분율로 결정하였다.

[0193] 실온(63Cu), 80℃(89Y) 또는 85℃(175Lu)에서 30분 동안 배양한 후 안정 동위원소를 갖는 NODAGA-GSAO의 pH-의존적 표지화는 하기 표 1에 나타나 있다. 데이터는 1개 또는 2개(두 측정의 평균 ± SD) 실험로부터 유래된 것이다.

[0194] **표 1**

[0195]

동위원소	표지화(%)				
	pH 4.0	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
^{63}Cu	>99.9 ± 0.0	>99.9 ± 0.0	>99.9 ± 0.0	>99.9 ± 0.0	>99.9 ± 0.0
^{89}Y	18.59	44.46	62.69	58.33	57.72
^{175}Lu	77.34	90.05	92.08	91.52	92.21

[0196] pH 5에서 ^{175}Lu 또는 ^{89}Y를 갖는 NODAGA-GSAO의 시간 및 온도-의존 표지화는 하기 표 2에 나타나 있다(N.D. = 결정되지 않음). 데이터는 1개 또는 2개(두 측정의 평균 ± SD) 실험으로부터 유래된 것이다.

[0197] **표 2**

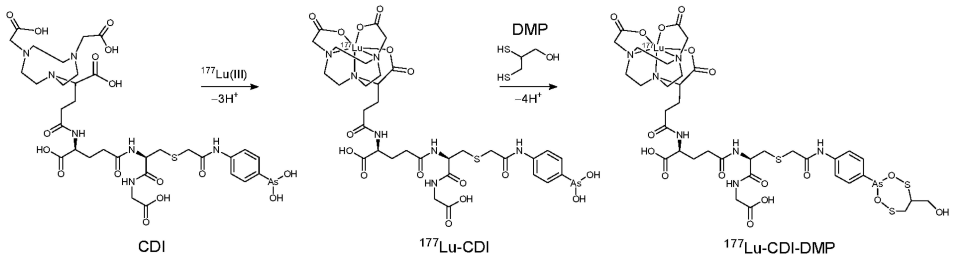
동위원소	반응 온도 및 pH	표지화(%)		
		10분	20분	30분
^{175}Lu	실온, pH 5.0	N.D.	N.D.	7.76
	60℃, pH 5.0	53.02	70.57	76.00
	70℃, pH 5.0	79.13	90.16	91.27
	80℃, pH 5.0	91.49	92.12 ± 0.26	94.08 ± 0.18
	85℃, pH 5.0	N.D.	N.D.	92.08
	90℃, pH 5.0	93.88	91.37	90.24
	100℃, pH 5.0	92.94	94.13	90.81
	110℃, pH 5.0	92.50	90.06	90.29
	120℃, pH 5.0	90.85	90.07	90.46
^{89}Y	실온, pH 4.5	N.D.	N.D.	11.63
	80℃, pH 4.5	N.D.	N.D.	44.46
	80℃, pH 5.0	N.D.	N.D.	62.69
	120℃, pH 5.0	N.D.	N.D.	57.52

[0198]

[0199] ^{175}Lu

[0200] NODAGA-GSAO와 ^{175}Lu의 결합은 pH 4.0 또는 4.5에서 차선이지만 pH ≥ 5.0에서는 효율적인 것으로 밝혀졌다. pH 5.0에서의 결합은 실온에서 30분 동안 배양하였을 때 비효율적(7.76%)인 것으로 밝혀졌지만, 온도를 60-80℃로 증가시키면 온도 및 시간-의존적 방식으로 표지화가 향상되었으며, 80℃에서 30분 동안의 배양 후 최대 표지화가 발견되었다.

[0201] 관찰된 용출 피크가 ^{175}Lu-NODAGA-GSAO를 구성하는지 확인하기 위해, 표지된 생성물을 DMP와 함께 실온에서 15분 동안 사전-배양하고 HPLC에 의해 평가되었다. DMP의 디티올은 NODAGA-GSAO의 As(III) 하이드록실기와 결합하여 하기 반응식 2에 나타낸 바와 같이 용출 피크를 오른쪽으로 이동시키는 5원 고리 구조를 형성한다:



[0202]

[0203] **반응식 2.**

[0204] 상기 기재된 바와 같이 (A) DMP 없이 또는 (B) DMP와 함께 사전-배양된 80℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 ^{175}Lu-NODAGA-GSAO의 HPLC 크로마토그램은 도 2에 나타나 있다. 관련 용출 피크의 피크까지의 시간이 표시된다. 데이터는 2개의 독립적인 실험을 대표한다. ^{175}Lu-NODAGA-GSAO와 DMP의 배양은 화합물의 용출 시간을 13.9분에서 25.0분으로 이동시켜 화합물이 활성 As(III) 표적 모이어티를 함유하고 있음을 확인하였다.

[0205] ^{63}Cu

[0206] ^{63}Cu로 표지화하는 것은 실온에서 배양하여 테스트한 모든 pH 조건에 대해 거의 100%인 것이 발견되었다.

[0207] ^{63}Cu-NODAGA-GSAO 생성물와 DMP의 배양은 활성 As(III)를 함유하고 있음을 확인하였다. 상기 기재된 바와 같이 (A) DMP 없이 또는 (B) DMP와 함께 사전-배양된 실온에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 HPLC에 의한 ^{63}Cu-

NODAGA-GSAO의 크로마토그램은 도 3에 제시되어 있다.

[0208] ^{89}Y

[0209] ^{89}Y의 경우, 표지화는 pH 4.0 또는 4.5에서 비효율적인 것으로 밝혀졌고 80℃에서 pH ≥ 5.0의 최대값, 최대 약 60% NODAGA-GSAO 표지화에 도달하였다. 120℃에서 표지화가 완만한 증가가 발생하였지만, 120℃에서 부산물 생성이 관찰되었다. 120℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 표지된 ^{89}Y-NODAGA-GSAO의 HPLC 크로마토그램은 도 4에 나타나 있다.

[0210] **실시예 3**

[0211] **표지된 NODAGA-GSAO 생성물의 안정성**

[0212] 복합 생성물의 *시험관내* 안정성은 치료적 화합물의 잠재적 임상 용도에 대한 중요한 결정 요인이었다. 표지화 후 안정성은 ^{175}Lu 및 ^{63}Cu-표지화된 NODAGA-GSAO 생성물을 실온에서 배양하여 평가하였다.

[0213] 동위원소-NODAGA-GSAO 복합체의 형성 후 상이한 시점에서 표지화의 백분율을 측정하였다. A) 80℃에서 30분 동안 pH 5.0에서 배양하여 수득된 ^{175}Lu-표지된 생성물 및 B) 실온에서 30분 동안 pH 5.0에서 배양하여 수득된 ^{63}Cu-표지된 생성물에 대한 결과를 도 5에 나타내었다. 특정 시점에서, 분취액을 취하고 NODAGA-GSAO의 표지화(검은색 원)을 HPLC로 평가하였다. 데이터는 1개 또는 2개(두 측정의 평균 ± SD) 실험으로부터 유래된 것이다.

[0214] ^{175}Lu-NODAGA-GSAO의 경우, 표지화는 시간 경과에 따라 약간 감소하였지만 보관 14일 후에는 ~90%를 유지하였다. 또한, 표지화 손실은 부산물 수준의 증가(총 AUC의 4-7.5%)와 일치하였다.

[0215] ^{63}Cu로 킬레이트화된 NODAGA-GSAO는 최대 4일 동안 매우 안정적이었고 소량의 단일 부산물만이 형성되었다(총 AUC의 < 1%). ^{175}Lu-NODAGA-GSAO으로 관찰되지만 ^{63}Cu-NODAGA-GSAO로는 관찰되지 않는 부산물은 ^{175}Lu와의 반응 중 가열로 인한 것일 수 있다. 방사성 동위원소의 반감기와 생성물 합성 후 치료 시간을 고려할 때 ^{175}Lu 및 ^{63}Cu-표지된 NODAGA-GSAO는 치료적 평가를 추구하기에 충분한 안정성을 나타내었다.

[0216] 상기 결과는 NODAGA-GSAO가 방사선 종양학에서 임상적 역할이 확립된 치료적 방사성 동위원소인 Lu 및 Cu의 동위원소로 효율적으로 표지될 수 있음을 입증하였다. 또한, 높은 시험관내 안정성의 ^{175}Lu 및 ^{63}Cu-표지된 NODAGA-GSAO가 입증되었다. NODAGA-GSAO의 고유한 특성을 사용함으로써, 이러한 접합체는 사멸되어가는 종양 세포 및 사멸된 종양 세포를 표적화하는 유망한 치료적 접근법을 제공하고 인접 생존 종양 세포에 치료적 방사선을 전달하는 신규한 수단을 제공한다.

[0217] **실시예 4**

[0218] **^{177}루테튬(^{177}Lu)을 사용하는 NODAGA-GSAO의 표지화**

[0219] 실시예 2에 기재된 바와 같이 NODAGA-GSAO를 안정 동위원소로 표지화한 후, NODAGA-GSAO는 500 MBq/54 μg NODAGA-GSAO(~2 GBq/216 μg NODAGA-GSAO)의 비방사능(specific activity)에서 방사성 동위원소 ^{177}Lu로 성공적으로 표지화되었다.

[0220] **합성**

[0221] 먼저, [^{177}Lu]$LuCl_3$를 용해시켜 원액을 형성하였다. 1.0 mL의 0.04 M HCL을 0.5 mL ^{177}LuCl(담체가 첨가되지 않음)(ANSTO) 바이알에 첨가하였다. 이어서 모든 [^{177}Lu]$LuCl_3$를 10 mL 진공 바이알로 옮겼다. 추가 1.5 mL의 0.04 M HCl을 사용하여 잔류 [^{177}Lu]$LuCl_3$를 헹구어 진공 바이알로 옮겨 5.0 mL 중 5.0 GBq(방사능 농도 = 1 GBq/mL)를 갖는 [^{177}Lu]$LuCl_3$ 용액을 제공하였다. 주사기에 부착된 벤트 니들을 삽입하여 압력을 평형화하였다.

[0222] 실시예 1로 제조된 NODAGA-GSAO 바이알(100 μL 중 54 μg, 0.06 μmol)을 해동하고 내용물을 에펜도르프 튜브에 피펫팅하였다. 그런 다음 100 μL의 0.25 M 아스코르브산을 첨가한 다음 250 μL의 아세트산 나트륨 결합 완

충액($CH_3COONa \cdot 3H_2O$, 1.5 M, pH 4.5, MW 136.08)을 첨가하였다. 0.25 M 아스코르브산을 1 mL 초순수 중 44 mg 아스코르브산(Merck 100468)을 용해시켜 수득하였다. 반응 혼합물에서 아스코르브산의 전체 농도는 0.0056 M이다.

[0223] 아세트산나트륨 완충액을 40 mL 초순수 중 10.21 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$(Merck 106267)을 용해하고, 빙초산을 사용하여 pH 5.0으로 조정하고, 초순수를 첨가하여 50 mL의 총 부피를 제공함으로써 수득하였다.

[0224] 이어서, 물, NODAGA-GSAO, 아스코르브산 및 결합 완충액(및 하기 실시예 5에서 사용되는 경우 에탄올 또는 글루타티온)의 총 부피가 4 mL가 되도록 초순수를 주사기로 인출하였다. 그런 다음 충전된 주사기를 사용하여 에펜도르프 튜브의 내용물을 인출하여 진공 바이알로 옮겼다. 그런 다음 500 μL의 $^{177}LuCl_3$ 용액을 첨가하였다. 벤트 니들을 삽입하여 주사기로 압력을 평형화하고, 에어로졸 오염을 예방하기 위해 바이알을 파라필름으로 감쌌다. 그런 다음 바이알을 85℃에서 30분 동안 배양하였다.

[0225] 그럼 다음 대략 0.4 mL의 반응 바이알 내용물을 분석을 위해 인출하였다. 200 μL를 삽입물을 갖는 오토샘플러 바이알에 넣었고 HPLC 분석을 수행하였다. 또한 200 μL를 10 μL DMP:DMSO가 함유된 삽입물을 갖는 오토샘플러 바이알에 넣었고 HPLC 분석을 수행하였다. DMP:DMSO를 495 μL DMSO 중 5 μL 2,3-디머캅토-1-프로판올(DMP)(Sigma D1129)을 용해시켜 수득하였다). 결과는 도 6 및 7에 나타나 있다. pH는 또한 종이를 사용하여 측정되었다.

[0226] **합성 후 정제**

[0227] 반응 바이알의 내용물을 주사기로 인출하고 대략 ~1 $mL.min^{-1}$에서 Oasis PRiME HLB 카트리지(335 mg 흡착제, 1 mL 에탄올 및 10 mL 주사용증류수로 프라이밍됨)에 로딩하고, 공기로 퍼징하고 폐기물을 폐기물 바이알에 수집하였다. 반응 바이알을 10 mL 생리 식염수로 추가로 헹구고 대략 ~1 $mL.min^{-1}$에서 Oasis PRiME HLB 카트리지에 로딩하고, 공기로 퍼징하고 폐기물을 폐기물 바이알에 수집하였다.

[0228] 생성물을 0.5 mL 에탄올로 Oasis PRiME HLB 카트리지에서 용출하고 공기로 퍼징하고, 생성물을 생성물 바이알에 수집하였다. Oasis PRiME HLB 카트리지를 대략 ~1 $mL.min^{-1}$에서 9.5 mL 일반 식염수로 추가로 헹구고 공기로 퍼징하고, 생성물 바이알에 수집하였다.

[0229] 활성을 폐기물 바이알, Oasis PRiME HLB 카트리지 및 생성물 바이알에서 측정하였다.

[0230] 대략 0.4 mL의 생성물 바이알을 분석을 위해 인출하였다. 대략 200 μL를 삽입물을 갖는 오토샘플러 바이알에 넣었고 HPLC 분석을 수행하였다. 또한 대략 200 μL를 10 μL DMP:DMSO를 함유하는 삽입물을 갖는 오토샘플러 바이알에 넣고 상기와 같이 HPLC 분석을 수행하였다(HPLC에 대한 2,3-디머캅토-1-프로판올(DMP)(Sigma D1129)을 495 μL DMSO 중 5 μL DMP를 용해시켜 수득함). pH는 또한 종이를 사용하여 측정되었다.

[0231] HPLC 매개변수는 하기에 제공된다:

[0232] **용액**

[0233] A: 트리플루오로아세트산(TFA)/H_2O

[0234] B: 아세토니트릴(ACN)

[0235] C: H_2O

[0236] D: MeOH

[0237] **그레디언트**

[0238] **표 3:** 분석 그레디언트

시간 (분)	유량 (mL)	%A(H_2O / 0.1%TFA)	%B ACN
0	0.6	98	2
18	0.6	80	20
28	0.6	30	70
38	0.6	98	2
42	0.6	98	2

[0239]

[0240] **표 4:** 클린 그레디언트

시간 (분)	유량 (mL)	%C(H_2O / 0.1%TFA)	%D MeOH
0	1.0	95	5
5	1.0	95	5
25	1.0	5	95
30	1.0	5	95
40	1.0	50	50
45	1.0	50	50

[0241]

[0242] **결과**

[0243] NODAGA-GSAO는 500 MBq/~51 μg NODAGA-GSAO에서 ^{177}Lu로 성공적으로 표지되었다. 합성 후 정제 전 반응 생성물의 라디오크로마토그램은 합성 종료 시(도 6) 및 합성 종료 1.5시간 후(도 7)의 반응 생성물에 대한 도 6 및 도 7에 나타나 있다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다.

[0244] 크로마토그램은 임의의 합성 후 정제가 수행되기 전에도 매우 적은 양의 유리 Lu-177이 반응 생성물에 존재함을 나타낸다. NODAGA-GSAO는 상기 기재된 바와 같이 ^{177}Lu로 성공적으로 표지되었지만, 도 6 및 7에 나타낸 바와 같이 합성 동안 방사선분해가 발생하여 산화된 NODAGA-GSAO를 생산하였다. 합성 후에는 더 이상 방사선분해가 발생하지 않으며, 이는 방사선분해에 열 및 자유 라디칼 생성 둘 모두가 필요함을 시사한다. 따라서, 방사선분해를 감소시키기 위한 방법을 하기 기재된 바와 같이 조사하였다.

[0245] **실시예 5**

[0246] **방사선분해 감소를 갖는 ^{177}루테튬(^{177}Lu)을 사용하는 NODAGA-GSAO의 표지화**

[0247] 상기 실시예 4에서 입증된 바와 같이, ^{177}Lu를 사용하는 NODAGA-GSAO의 표지화 동안 아스코르브산의 존재는 방사선분해를 불완전하게 예방하였다. 방사선분해를 추가로 예방하기 위한 몇 가지 방법을 조사하였다:

[0248] a) 에탄올

[0249] 합성 동안 NODAGA-GSAO에 100 μL M 아스코르브산 대신에 100 μL의 에탄올을 첨가한 것을 제외하고 실시예 4에 기재된 방법을 사용하여 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO를 제조하였다.

[0250] 합성 후 정제 전의 반응 생성물의 라디오크로마토그램을 도 8 및 9에 나타내었다. 합성 종료시 반응물의 라디오크로마토그램을 도 8에 나타내었다. DMSO 중 1% DMP와 혼합된 생성물의 라디오크로마토그램을 도 9에 나타내었다. 영역 1은 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 2는 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 NODAGA-GSAO의 As(III) 원자를 갖는 DMP의 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체이다.

[0251] 크로마토그램에서 볼 수 있듯이, 방사성 표지화는 에탄올의 존재에서 달성되었다. 그러나, 에탄올은 방사선분해로부터 최소한의 보호를 제공하였다. 반응물의 일부는 여전히 DMP와 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체를 형성할 수 있었다.

[0252] b) 고농도 아스코르빈산

[0253] 합성 동안 NODAGA-GSAO에 100 μL 아스코르브산 대신에 500 μL의 0.25 M 아스코르브산을 첨가한 것을 제외하고 실시예 4에 기재된 방법을 사용하여 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO를 제조하였다. 반응 혼합물 중 아스코르브산의 전체 농도는 0.023 M이었다.

[0254] 합성 후 정제 전의 반응 생성물의 라디오크로마토그램을 도 10 및 11에 나타내었다. 합성 종료 시 반응물의 라디오크로마토그램을 도 10에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. DMSO 중 1% DMP와 혼합된 생성물의 라디오크로마토그램을 도 11에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 NODAGA-GSAO의 As(III) 원자를 갖는 DMP의 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체이다.

[0255] 라디오크로마토그램에서 볼 수 있듯이, 아스코르브산의 양이 증가하면 방사능분해에 대한 추가 보호가 제공되었다.

[0256] c) 고농도 아스코르브산 및 글루타티온

[0257] 합성하는 동안 NODAGA-GSAO에 0.25 M 100 μL 아스코르브산 대신 500 μL의 아스코르브산뿐만 아니라 500 μL 0.25 M 글루타티온(1 mL 초순수 중 감소된 77 mg L-글루타티온(Sigma G4251-25G)을 용해하여 수득함)을 첨가한 것을 제외하고 실시예 4에 기재된 방법을 사용하여 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO를 제조하였다. 반응 혼합물 중 각각의 글루타티온 및 아스코르브산의 전체 농도는 0.023 M이었다.

[0258] 합성 후 정제 전의 반응 생성물의 라디오크로마토그램을 도 12-15에 나타내었다. 합성 종료 시 반응물의 라디오크로마토그램을 도 12에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. DMSO 중 1% DMP와 혼합된 합성 종료 시 생성물의 라디오크로마토그램을 도 13에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 NODAGA-GSAO의 As(III) 원자를 갖는 DMP의 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체이다. 합성 72시간 후 생성물의 라디오크로마토그램을 도 14에 나타내었다. 영역 2는 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. 합성 72시간 후 DMSO 중 1% DMP와 혼합된 생성물의 라디오크로마토그램을 도 15에 나타내었다. 영역 1은 NODAGA-GSAO의 As(III) 원자와 DMP의 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체이다.

[0259] 라디오크로마토그램에서 볼 수 있듯이, 고농도의 아스코르브산 및 글루타티온의 조합은 합성 동안 및 합성 후 최대 72시간 동안 방사성분해를 거의 완전히 예방하였다. 중요한 것은, 아스코르빈산 및 글루타티온이 생체적합성 화합물이라는 것이다.

[0260] d) 감소된 농도의 글루타티온

[0261] 합성 동안 500 μL 0.25 M 글루타티온 대신 100 μL를 사용한 것을 제외하고 상기 실시예 5c)에 기재된 방법을 사용하여 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO를 제조하였다. 반응 혼합물에서 글루타티온의 전체 농도는 0.0056 M이었다.

[0262] 합성 후 정제 전의 반응 생성물의 라디오크로마토그램을 도 16 및 17에 나타내었다. 합성 종료시 반응물의 라디오크로마토그램을 도 16에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. DMSO 중 1% DMP와 혼합된 생성물의 라디오크로마토그램을 도 17에 나타내었다. 영역 2는 산화된 NODAGA-GSAO이다. 영역 3은 ^{177}Lu-NODAGA-GSAO이다. 영역 4는 NODAGA-GSAO의 As(III) 원자를 갖는 DMP의 사이클릭 디티오아르

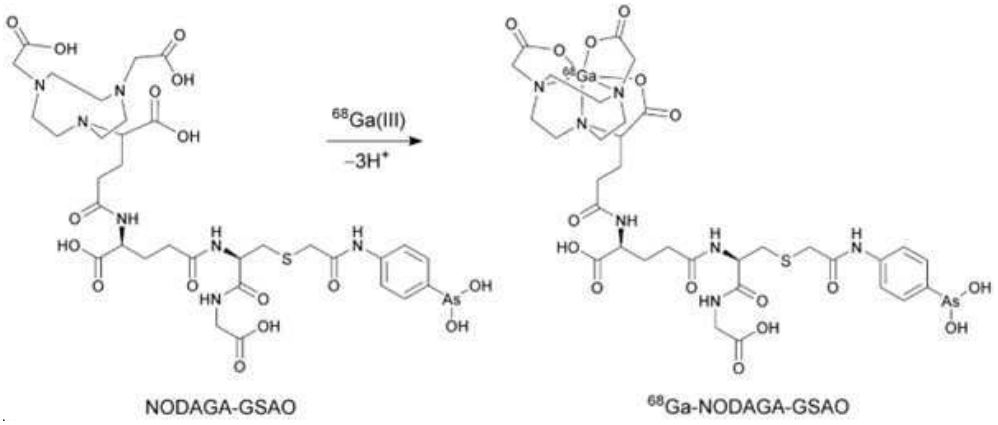
시나이트 복합체이다.

[0263] 글루타티온의 농도를 감소시키면 NODAGA-GSAO의 방사선분해가 증가하였다. 또한, As(III) 원자를 갖는 DMP의 사이클릭 디티오아르시나이트 복합체를 형성하지 않는 것으로 보이는 NODAGA-GSAO의 성분이 있었다.

[0264] **실시예 6**

[0265] **^{68}Ga를 사용하는 NODAGA-GSAO의 방사성 표지화**

[0266] ^{68}Ga는 PCT 출원 PCT/AU2020/050359에 기재되고 하기 반응식 3에 도시된 바와 같이 치료적 동위원소 대신 NODAGA-GSAO를 방사성 표지화하는 데 사용되었다. 이러한 화합물은 예를 들어 세포 사멸과 연관된 병태, 예를 들어 종양 또는 암과 같은 신생물성 병태의 진행을 모니터링하기 위해, 또는 치료의 효과를 모니터링하기 위한 세포 사멸의 영상화에 유용하다. 이러한 영상화는 예를 들어 양전자 방출 단층 촬영에 의해 수행될 수 있다.

[0267] 

[0268] **반응식 3**

[0269] ^{68}Ga와 관련하여 기재된 다음 실시예의 방법 및 절차는 *필요한 부분만 약간 수정하여* 본원에 기재된 치료적 방사성 동위원소를 포함하는 화합물에 적용될 수 있다. 그러나, ^{177}Lu 또는 ^{67}Cu로 표지화하는 것은 a) 내지 c), g) 및 h) 및 하기의 단계 없이 수행될 수 있다(즉, SCX 컬럼을 사용하지 않으며; 방사성 동위원소는 초기 양이온 교환 없이 NODAGA-GSAO에 첨가됨).

[0270] a) BondElute SCX 컬럼의 배럴을 절단하여 미늘 모양의 암형 루어 스레드(female luer thread)가 삽입 시 컬럼 매질 바로 위에 놓이도록 하여 카트리지(이하 SCX 카트리지라고 함)를 생성하였다. 미늘 모양의 암형 루어 스레드는 BondElute SCX 컬럼의 절단된 배럴에 견고하게 그리고 확실히 고정되어 공기 및 액체가 새지 않는 밀봉된 카트리지를 생성해야 한다.

[0271] b) SCX 카트리지를 1 mL 5.5 M HCl로 프라이밍한 다음 10 mL의 물로 플러싱하였다.

[0272] c) SCX 카트리지를 공기로 퍼징하였다.

[0273] d) 아스코르브산 용액(0.25 M)을 1 mL 물(Water Ultrapur, Merck) 중 44 mg의 아스코르브산에 용해시켜 수득하였다.

[0274] e) 아세트산나트륨 완충액(1.5 M $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, pH 4.5)을 물(Water Ultrapur, Merck) 중 10.21 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$을 용해시켜 수득하였다. pH를 빙초산을 사용하여 pH 4.5로 조정하고 물을 50 mL의 총 부피로 첨가하였다.

[0275] f) 실시예 1에서 수득된 54 μg NODAGA-GSAO의 하나의 바이알을 해동하고 100 μL의 아스코르브산 용액(GSAO는 방사선분해 및 산화에 민감하므로 자유 라디칼 스캐빈저로 사용됨), 250 μL의 아세트산나트륨 완충액, 및 3.5 mL 물과 혼합하고 혼합물을 10 mL 진공 유리 반응 바이알로 옮겼다.

[0276] g) ^{68}Ga를 공급업체의 지침에 따라 프라이밍된 SCX 카트리지에 용출하였다.

[0277] h) SCX 카트리지를 공기로 퍼징하였다.

[0278] i) SCX 카트리지의 내용물을 500 μL의 NaCl/HCl 용출 혼합물에 이어 0.5 mL 공기로 반응 바이알에 용출시켰고,

B. Braun Sterican 니들을 사용하여 니들에서 금속 이온의 침출을 최소화하였다. 반응 바이알의 내용물을 간단히 혼합하고 실온에서 10분 동안 반응시켰다.

[0279] j) 3 mL의 포스페이트 완충액을 반응 바이알에 첨가하였다. 반응 바이알의 내용물을 10 mL 주사기로 인출하고 0.22 μm 필터를 통해 새로운 멸균 바이알로 통과시켜 주사용 최종 생성물을 생성하였다. ^{68}Ga-NODAGA-GSAO가 C-18 카트리지에 유의하게 보유되지 않았고 적합한 생체적합성 정제 후 카트리지/용매 시스템이 식별되지 않았기 때문에 생성물의 정제 후를 수행하지 않았다. 그럼에도 불구하고, 기재된 방법은 ^{68}Ga 방사성 의약품에 대한 현재 방출 요건을 초과하는 높은 방사화학적 순도 및 비방사능의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 생산하였다.

[0280] k) 인간에 대한 용도를 위한 제조 및 작업자 및 환경에 대한 방사능 오염 위험을 또한 최소화하기 위해 멸균된 폐쇄형 방사성 표지화 시스템이 상기 절차에 사용되었다(도 18). 이것은 또한 방사화학적 합성 모듈을 사용하여 자동화될 수 있다.

[0281] **^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 순도**

[0282] l) ^{68}Ga-NODAGA-GSAO(상기 단계 h)에서 수득된 최종 생성물의 대략 100 μL 샘플)의 방사화학적 순도는 방사측정 검출을 사용하여 0-6-10분에 걸쳐 이동상 A(초순수 중 0.1% TFA) 중 9-9-60% 이동상 B(아세토니트릴)로 HPLC 시스템 C에 의해 평가되었다. 배경의 3배 초과의 모든 방사측정 피크의 합계에 대한 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO 피크의 AUC를 사용하여 방사화학적 순도를 결정하였다. 흡광도는 또한 210 및 280 nm에서 측정되었지만; 몰량은 신뢰할 수 있는 흡광도 검출 한계 미만이므로 순도 평가에 사용되지 않았다. ^{68}Ga-NODAGA-GSAO는 도 19의 최종 생성물의 방사측정 HPLC 크로마토그램에 나타난 바와 같이 대략 3분 55초의 머무름 시간으로 용출되었으며, 여기서 영역 1은 ^{68}Ga에 상응하고, 영역 2는 산화 생성물에 상응하며, 영역 3은 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO에 상응한다. 최종 생성물에서 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 방사화학적 순도에 사용된 방출 기준은 ≥91%이다(*European Pharmacopeia (2016) 01/2013:2482 Gallium (68Ga) Edotreotide injection correct 8.6. European Pharmacopeia, 9th edn, pp 1150-1152).*

[0283] m) ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 방사화학적 순도에 대한 추가 평가는 200 μL의 최종 생성물을 5 μL의 DMP/DMSO 용액과 실온에서 수시 교반하면서 10분 동안 반응시켜 수행하였다. 대략 100 μL의 이러한 혼합물은 방사측정 검출을 사용하여 0-6-10분에 걸쳐 이동상 A(초순수 중 0.1% TFA) 중 9-9-60% 이동상 B(아세토니트릴)에서 HPLC 시스템 C로 평가되었다. 배경의 3배 초과의 모든 방사측정 피크의 합계에 대한 DMP-^{68}Ga-NODAGA-GSAO 피크(대략 9분 30초의 머무름 시간을 갖음)는 ≥91%여야 하며; DMP는 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 페닐아르손 모이어티에 매우 높은 친화성으로 결합하기 때문에 이것은 대략 3분 55초의 머무름 시간을 갖는 일반적인 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO 피크를 없애고 대략 9분 30초의 머무름 시간을 갖는 새로운 피크를 생성한다. 이것은 활성 GSAO의 방사화학적 순도에 대한 특정 정보를 제공하고 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO 및 GSAO의 산화 분해 생성물과 같은 다른 생성물을 구별할 수 있다. 그러나, 이는 붕괴로 인한 생성물의 손실을 최소화하기 위해 요구되는 방출 기준에는 포함되지 않는다. 수득된 방사측정 HPLC 크로마토그램은 도 20에 도시되어 있으며, 여기서 영역 1은 비킬레이트화 ^{68}Ga에 상응하고, 영역 2는 산화 생성물에 상응하며, 영역 3은 DMP-^{68}Ga-NODAGA-GSAO에 상응한다.

[0284] n) 콜로이드 오염물질의 평가는 0.9% NaCl에서 발생된 즉석 박층 크로마토그래피에 의해 수행되었다. ^{68}Ga-NODAGA-GSAO가 Rf >0.5일 때 콜로이드 오염물질은 원점에 남아 있었다. 총 방사능이 Rf ≥ 0.5인 콜로이드 오염물질에 사용된 방출 기준은 ≥ 90%이다.

[0285] o) 반감기는 선량 교정기에서 수행된 10분에 걸친 최소 4회 측정에 의해 결정되었다. 사용된 방출 기준은 64 내지 72분의 계산된 반감기였다(유의한 ^{68}Ge 파과(breakthough)가 부재함을 확인하려면 반감기 결정이 필요함).

[0286] **멸균 및 발열성 테스트**

[0287] p) 멸균 및 발열성은 공정에 대한 멸균 및 발열성이 약전 가이드라인(*European Pharmacopeia (2016) 01/2013:2482 Gallium ^{68}Ga Edotreotide injection correct 8.6. European Pharmacopeia, 9th edn, pp 1150-*

1152) 내에 있음을 확인하기 위해 세가지 연속 합성에 대해 적절하게 공인된 실험실에서 초기 테스트되었다. 후속 제조물에 대한 무작위 테스트가 정기적으로 수행되었다.

[0288] **실시예 7**

[0289] **^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 약제학적 제형**

[0290] 하기 표 5에 열거된 성분의 양을 함유하는 조성물을 제조하였다.

[0291]

성분명	양	단위
아스코르브산	4.4	mg
나트륨	95	mg
포스페이트	109	mg
아세테이트	22	mg
클로라이드	91	mg
^{68}Ga-NODAGA-GSAO	200	MBq

[0292] **표 5**

[0293] **실시예 8**

[0294] **^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 생체분포**

[0295] 생체분포를 6-8주령의 건강한 수컷 랫트 10마리(루이스, 리버풀 병원 동물 시설)에서 연구하였다. 5마리의 랫트에게 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 투여하였다. 랫트를 불침투성 흡수 매트가 있는 케이지에 단독으로 수용하고 투여 1시간 후에 치명적인 이산화탄소 과다복용으로 5마리의 쥐를 희생시켰다. 사후 즉시, 혈액을 심장 천자를 통해 채취하였다. 5마리의 랫트 중 2마리는 PET CT(GE Discovery 710)로 영상화하였다. PET CT 스캔은 CT 스캔(80 kVp, 20 mA, 나선형 모드, 0.625 mm의 재구성 슬라이스 두께)에 이어 PET 스캔(2개의 베드 위치, 7.5분/베드 위치, 256 x 256 재구성 매트릭스, 슬라이스 두께 3.27 mm)으로 구성되었다.

[0296] 그런 다음 모든 랫트를 해부하고, 기관을 샘플링하고 무게를 측정하고 감마 카운터에서 계수한 다음, cpm 값을 알려진 표준값을 사용하여 MBq로 변환하였다. 남은 사체의 활성도는 선량 교정기에서 측정되었다.

[0297] 생체분포 연구를 ^{68}Ga-NODAGA GSAO 투여 2시간 후에 추가 5마리의 랫트에서 수행하였다.

[0298] 주사된 활성을 선량 교정기에 주사한 후 주사기에 남아 있는 잔류 활성을 측정하여 보정하였다. 주사 부위에서 분출된 임의의 용량을 보정하기 위해 꼬리를 수확하고 투여된 활성에서 꼬리의 활성을 뺐다. 모든 계산치는 주사 시간을 참조로 사용하여 붕괴 보정되었다.

[0299] 생체분포는 %ID/g 및 %ID/기관으로 표현되었다. %보유 활성은 주사된 용량의 백분율로 남아 있는 사체의 활성뿐만 아니라 개별적으로 수확된 모든 기관의 모든 활성의 총 합계이다. %회복 활성은 주사된 용량의 백분율로 남아있는 사체의 활성 및 불침투성 매트에서 배설된 활성뿐만 아니라 개별적으로 수확된 모든 기관의 모든 활성의 총 합계이다.

[0300] **결과**

[0301] 랫트의 체중은 평균 170 g(120 - 229 g 범위, 32.2 g 표준편차)이었다. 평균 주사된 활성은 27.3 MBq(18.9 - 38.6 MBq 범위, 7.4 MBq 표준편차)이었다.

[0302] 1시간 생체분포 그룹의 경우, 평균 흡수 시간은 62.6(60 - 65 범위)분이었고, 2시간 생체분포 그룹의 경우, 평균 흡수 시간은 122.2(120 - 126 범위)분이었다.

[0303] 도 21은 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 투여 1시간 및 2시간 후 건강한 수컷 랫트에서 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO(%ID/g)의 기관 생체분포도를 나타내었다.

[0304] 도 21에서 보이는 바와 같이, ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 농도가 가장 높은 부위는 신장이며, ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 가장 많이 흡수를 하는 기관은 신장, 간 및 소장이다. 높은 신장 및 간 흡수율은 신장 배설 및 간 대사와 일치하는 반면, 소장 흡수율은 사멸된 그리고 사멸되어가는 소장 상피 세포 내 흡수율을 반영할 가능성이 높다.

[0305] 동물 내 1시간에서 32.4%(24.9-38.2% 범위, SD 5.6%)의 주사된 활성이 보유되었고 2시간에서 21.4%(11.2-32.1% 범위, SD 7.5%)의 주사된 활성이 보유되었다. 1시간에서의 전체 평균 총 회복 활성은 84.9%(55.3-107.9% 범위, SD 19.0%)이었으며 2시간에서의 총 회복 활성은 75.3%(50.0-120.9% 범위, SD 27.2%)의 주사된 활성이었다.

[0306] **영상화**

[0307] PET CT 영상화는 정량적 생체분포 데이터와 일치하는 조사결과를 입증하였다. 도 22는 추적자(^{68}Ga-NODAGA-GSAO) 투여 a) 1시간 및 b) 2시간 후에 수행된 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET CT 스캔의 최대 강도 투사도를 나타내었다. 추적자 투여 1시간 후 수행된 영상화는 신장에서 높은 농도의 추적자(도 22 a) 및 b)의 화살표 i))와 간에서 더 낮은 수준의 흡수(화살표 ii))를 나타내었다. 간과 유사한 종격동(화살표 iii))에 잔류 혈액 풀 활성이 있었다. 투여 2시간 후에 수행된 영상화에서(도 22b) 간의 더 낮은 수준의 흡수율과 함께 신장에서 고농도의 추적자를 다시 나타내었다. 종격동에서 더 이상 가시적인 혈액 풀 활성은 없었다. 영상화의 세트 둘 모두 이 높은 생리학적 세포 사멸 부위에서 특정 흡수로 인해 소장(화살표 iv)) 및 성장판(화살표 v))에서 흡수가 있을 수 있었다.

[0308] **실시예 9**

[0309] **방사선량 측정**

[0310] 상기 유래된 생체분포 데이터는 표준 성인 남성에 대해 Stabin에 의해 기재된 방법을 사용하여 인간 방사선량 측정을 추정하는 데 사용되었다(*Stabin 및 Siegel 2003*). 주어진 표준 남성 기관에 대한 %ID/g는 다음 방정식을 사용하는 랫트 생체분포 데이터로부터 추정되었다:

[0311] $$\left(\frac{\%ID}{기관}\right)_{인간} = \left[\left(\frac{\%ID}{g_{기관}}\right) \times \left(g_{TB중량}\right)_{동물}\right] \times \left(\frac{g_{기관}}{g_{TB중량}}\right)_{인간}$$

[0312] 각 기관 및 총 잔여 조직에 대한 단일-지수 클리어런스 곡선을 OLINDA/EXM 소프트웨어의 도구를 사용하여 적합하게 하였다. ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 신속한 배설이 주어지면 모든 배설이 소변을 통해 이루어졌다고 가정하였다(즉, 소변 반 클리어런스 시간은 단일-지수 적합을 사용하여 계산되었고 각 시점에서 1 - % 총 보유 활성으로 가정되었음). 배뇨 방광 모델의 경우 환자가 투여 1시간 후에 배뇨할 것으로 가정하였다.

[0313] 전신 유효 용량을 2.13E-02 mSv/MBq로 추정하였다. 150 MBq의 주사된 활성으로 가정하였을 때 이는 복부의 진단용 CT 스캔보다 낮고 FDG-PET CT보다 낮은 용량인 3.2 mSv의 전신 유효 용량이다. 추정된 인간 개별 기관 용량은 하기 표 6에 열거되어 있다(ULI = 대장 상부, LLI = 대장 하부).

표적 기관	알파	베타	광자	총	ED 기여도
부신	0.00E000	2.13E-03	1.89E-03	4.02E-03	2.01E-05
뇌	0.00E000	8.15E-04	5.73E-03	1.39E-03	6.94E-06
유방	0.00E000	2.13E-03	8.94E-03	3.02E-03	1.51E-04
쓸개벽	0.00E000	2.13E-03	2.15E-03	4.28E-03	0.00E000
LLI 벽	0.00E000	2.13E-03	5.09E-03	7.23E-03	8.67E-04
소장	0.00E000	5.18E-03	3.03E-03	8.21E-03	4.10E-05
위벽	0.00E000	2.61E-03	1.61E-03	4.22E-03	5.06E-04
ULI 벽	0.00E000	2.53E-03	2.63E-03	5.16E-03	2.58E-05
심장벽	0.00E000	3.09E-03	1.55E-03	4.65E-03	0.00E000
신장	0.00E000	2.27E-02	3.56E-03	2.62E-02	1.31E-04
간	0.00E000	4.76E-03	2.04E-03	6.80E-03	3.40E-04
폐	0.00E000	5.42E-03	1.38E-03	6.80E-03	8.16E-04
근육	0.00E000	2.13E-03	2.04E-03	4.18E-03	2.09E-05
난소	0.00E000	2.13E-03	4.89E-03	7.02E-03	1.40E-03
췌장	0.00E000	3.87E-03	2.03E-03	5.90E-03	2.95E-05
적색골수	0.00E000	1.49E-03	1.89E-03	3.38E-03	4.05E-04
골형성 세포	0.00E000	3.31E-03	1.67E-03	4.98E-03	4.98E-05
피부	0.00E000	2.13E-03	1.06E-03	3.19E-03	3.19E-05
비장	0.00E000	4.05E-03	1.86E-03	5.91E-03	2.95E-05

[0314]

정소	0.00E000	2.21E-03	3.49E-03	5.69E-03	0.00E000
흉선	0.00E000	4.48E-03	1.36E-03	5.84E-03	2.92E-05
갑상선	0.00E000	2.13E-03	1.15E-03	3.28E-03	1.64E-04
방광벽	0.00E000	2.84E-01	3.92E-02	3.24E-01	1.62E-02
자궁	0.00E000	2.13E-03	9.42E-03	1.15E-02	5.77E-05
전신	0.00E000	2.68E-03	1.93E-03	4.61E-03	0.00E000

[0315]

[0316] **표 6**

[0317] **논의**

[0318] 상기 기재된 실험에 나타낸 바와 같이, ^{68}Ga-NODAGA-GSAO는 생리학적 신장 및 간 활성의 간섭이 상대적으로 거의 없는 유리한 영상화 특징을 가지고 있다. 또한, 신속한 클리어런스는 주사 1시간 내지 2시간 후에 영상화가 가능하므로 ^{68}Ga를 사용하는 데 매우 적합함을 시사한다(임상적으로 ^{68}Ga-기반 소마토스타틴 수용체 발현 영상화의

경우, 영상화는 주사 45-90분 후에 수행됨). ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET/CT 이미지(도 22)에서 주목해야 할 점은 소장 및 대장 내 흡수율의 가시화이며 또한 생리학적 세포 사멸률이 높은 영역에서의 흡수율을 나타낼 수 있는 긴 뼈의 성장판이다. 영상화 외관은 측정된 분포도에 의해 확인되며, 일부 다른 기관(특히 간 및 신장)과 달리 흡수율은 주사 1시간 후보다 2시간 시점에서 더 높았으며, 이는 장에서의 흡수가 비특이적 추적자 확산보다 특이적 결합을 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0319] 추정된 인간 방사선량 측정은 0.021 mSv/MBq의 추정 총 인체 유효 용량으로 유리하며, 표준 주사 용량을 150 MBq으로 가정할 때 3.2 mSv의 총 용량 전신 유효 용량을 전달할 것이다. 용량 제한 기관은 0.32 mSv/MBq 용량을 갖는 방광벽이다.

[0320] 이러한 조합된 결과는 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO가 사멸된 세포 및 사멸되어가는 세포의 생체내 영상화를 위한 유망한 제제일 수 있으며 인간 연구에서 처음으로 보증됨을 시사한다.

[0321] **실시예 10**

[0322] **인간 연구**

[0323] 다음 환자에게 200 내지 207 MBq 200 MBq의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO를 투여하였다:

[0324] 1. 식도의 편평 세포 암종을 가진 66세 남성 환자

[0325] 2. 전이성 난소암종을 가진 73세 여성

[0326] 3. 전이성 피부 편평 세포 암종을 가진 66세 남성

[0327] 4. 침윤성 유관암종을 가진 81세 여성.

[0328] 모든 대상체는 관련되거나 관련되지 않은 심각한 부작용 또는 부작용 없이 연구에 대해 내약성을 가졌다. 임의의 임상, 실험 또는 심전도 매개변수에는 유의한 변화가 없었다.

[0329] **생체분포도**

[0330] 생체분포 데이터는 혈액 풀로부터의 신속한 초기 클리어런스 이후 제2 더 느린 클리어런스 단계를 갖는 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 즉각적인 혈관내 분포를 입증하였다. 이것에는 신속한 신장 흡수 및 배설이 있었다.

[0331] 환자 1)의 경우, 소변으로 배설되는 %주사 용량(%ID)은 2시간 동안 평균 30%(19-38% 범위), 3시간까지 평균 48%(21-71% 범위)이다. 이 대상체로부터의 영상화 조사결과는 도 23에 나타나 있으며, 이는 8 시점에서 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO PET의 전방 최대 강도 투사도를 나타내며; FDG PET의 전방 최대 투사도는 비교를 위해 아래에 나타내었다. 종양의 위치는 각 시점에서 화살표로 표시되었다. 시간 경과에 따라 점진적으로 감소하는 나머지 기관에서 낮은 수준의 추적자 흡수율을 나타내었다(정소 및 대장 제외). 간담즙 배설은 분명하지 않았다. 뇌 내부에는 활성이 거의 부재하며, 이는 뇌혈관 장벽을 어느 정도 통과하지 못한다는 것을 시사하였다. 환자 2-4로부터의 영상화 조사결과를 도 24(환자 2), 도 25(환자 3), 도 26(환자 4)에 유사하게 나타내었다.

[0332] 도 27은 환자 1에서 시간 경과에 따른 정상 기관에서의 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO의 생체분포를 나타내었다. 혈액에서 초기에 농도가 신속히 감소된 후 클리어런스의 제2 더 느린 단계가 뒤따랐다. 대부분의 기관은 투여 후 최대 대략 40분까지 농도의 초기 증가를 나타내는 대장 및 정소를 제외하고 혈액 클리어런스의 제2 단계와 유사하게 초기 피크에 이어 점진적인 감소를 입증한다. 이것은 이 두 기관에서 더 높은 생리학적 세포 사멸률 때문일 수 있다. 방광벽은 별도로 평가되었다.

[0333] 기관 및 조직에서의 생체분포 패턴은 대상체 1-4에 걸쳐 일관적이었다(도 32에 나타낸 바와 같음). 이는 모두 신속한 신장 흡수 및 배설과 함께 주사 후 혈액 풀을 통해 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 신속한 분포를 입증하였다. 주사 1시간 후에, 신장은 다른 조직 및 기관에서 상대적으로 낮은 수준의 ^{68}Ga NODAGA GSAO와 함께 가장 높은 농도(4.85 ± 0.70; 평균 SUV ± SD, SUV = 표준 흡수 값)의 ^{68}Ga NODAGA GSAO를 가졌고, 이는 시간 경과에 따라 제거되었다. 대장은 다음으로 가장 높은 농도의 ^{68}Ga NODAGA GSAO(3.00 ± 0.62)을 가지며, 그 다음으로 혈액 풀(2.31 ± 0.37) 및 위(2.05 ± 1.34)가 뒤따른다.

[0334] 도 28-31은 각각 환자 1-4에 대한 선택된 정상 조직 및 종양에서의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 생체분포를 나타낸다. 종양 2는 환자 3 및 4에만 적용 가능하며, 도 28 및 29의 공백 또한 마찬가지이다. 도 32는 대상체 1-4의 선택된 정상 조직(평균 SUV ± SD)에서의 생체분포도를 나타낸다.

[0335] **방사선량 측정**

[0336] 전신 유효 용량을 기관 내 대표적인 관심 구형 부피를 도출하고, 각 기관에 대한 %ID/g를 추정한 다음 표준 성인 팬텀의 기관 중량을 사용하여 %ID/기관을 계산하여 추정하였다.

[0337] 대상체 1-4에 대한 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 유효 전신 용량은 2.16 x 10^{-2} 내지 3.38 x 10^{-2} mSv/MBq 범위이며, 인간 연구에서 처음 사용된 프로토콜에 대한 추정 유효 전신 용량은 13.5 - 15.9 mSv 범위이다. ^{68}Ga NODAGA GSAO에 대한 자세한 기관 선량 측정은 4명의 대상체에 대해 나타내었다(표 7 - 10). 모든 경우에서, 방광은 용량 제한 기관이다. 후속 인간 연구의 경우, 더 적은 시점이 필요하므로 전체 방사선량을 감소시키는 저선량 CT의 필요성이 감소되었다. 선량은 X선 컴퓨터 단층 촬영(CT), SPECT/CT 및 PET/CT 스캔을 포함하는 이온화 방사선을 사용하는 많은 일상적인 의료 영상화 절차와 비교가능한 수준이다.

[0338] 대상체 1-4의 경우, 방사선량 측정을 상기 논의된 기관 생체분포도를 기반으로 한 Olinda/EXM을 사용하여 계산하였다. 소변 배설물을 수집된 소변 샘플의 활성 측정을 기반으로 모델링하고 이미지에서 소변 부피를 측정하였다.

[0339] 표 7-10은 개별 기관 및 전신에 대한 200 MBq의 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 대상체 1-4에 대한 방사선량 측정에 대한 추정치를 mSv/MBq 단위로 나타내었다(EDE cont. = 유효 용량 등가 기여도, ED Cont. = 유효 용량 기여도). 하나(1)의 저선량 CT 및 두(2) 개의 초저선량 CT에서 추정된 전신 용량은 9.2 mSv이다.

[0340] 표 7은 대상체 1의 방사선량 측정에 대한 추정치를 나타낸다. 대상체 1의 전체 추정 방사선량은 14.5 mSv이다.

[0341] 표 7

표적 기관	알파	베타	광자	총	EDE 기여도	ED 기여도
부신	0.00E+00	9.68E-03	4.52E-03	1.42E-02	2.68E-04	7.09E-05
뇌	0.00E+00	6.82E-04	1.14E-03	1.82E-03	0.00E+00	9.10E-06
유방	0.00E+00	5.07E-03	2.11E-03	7.16E-03	1.08E-03	3.59E-04
쓸개벽	0.00E+00	3.48E-03	4.59E-03	8.07E-03	0.00E+00	0.00E+00
LLI 벽	0.00E+00	1.29E-02	7.31E-03	2.02E-02	1.03E-03	2.43E-03
소장	0.00E+00	9.17E-03	5.21E-03	1.44E-02	0.00E+00	7.19E-05
위벽	0.00E+00	6.13E-03	3.93E-03	1.01E-02	0.00E+00	1.21E-03
ULI 벽	0.00E+00	7.04E-03	5.20E-03	1.22E-02	0.00E+00	6.12E-05
심장벽	0.00E+00	6.65E-03	3.57E-03	1.02E-02	0.00E+00	0.00E+00
신장	0.00E+00	4.32E-02	7.22E-03	5.04E-02	3.03E-03	2.52E-04
간	0.00E+00	1.27E-02	4.84E-03	1.76E-02	5.09E-04	8.78E-04
폐	0.00E+00	5.19E-03	2.93E-03	8.12E-03	9.74E-04	9.74E-04
근육	0.00E+00	6.19E-03	3.51E-03	9.71E-03	0.00E+00	4.85E-05
난소	0.00E+00	3.15E-03	7.00E-03	1.01E-02	1.50E-03	1.20E-03
췌장	0.00E+00	1.20E-02	4.90E-03	1.69E-02	8.14E-04	8.46E-05
적색골수	0.00E+00	5.39E-03	3.70E-03	9.08E-03	1.09E-03	1.09E-03
골형성 세포	0.00E+00	7.79E-03	3.47E-03	1.12E-02	3.38E-04	1.12E-04
피부	0.00E+00	3.15E-03	2.03E-03	5.17E-03	0.00E+00	5.17E-05
비장	0.00E+00	1.27E-02	4.57E-03	1.73E-02	5.68E-04	8.65E-05
정소	0.00E+00	1.37E-02	4.58E-03	1.83E-02	4.56E-03	3.65E-03
흉선	0.00E+00	3.15E-03	2.96E-03	6.11E-03	0.00E+00	3.06E-05
갑상선	0.00E+00	1.12E-02	2.86E-03	1.41E-02	4.23E-04	7.05E-04
방광벽	0.00E+00	2.52E-01	4.05E-02	2.93E-01	1.76E-02	1.46E-02
자궁	0.00E+00	8.21E-03	1.06E-02	1.89E-02	5.83E-04	9.43E-05
전신	0.00E+00	6.33E-03	3.44E-03	9.78E-03	0.00E+00	0.00E+00
유효 용량						**2.63E-02**

[0342]

[0343] 표 8은 대상체 2의 방사선량 측정에 대한 추정치를 나타낸다. 대상체 2의 전체 추정 방사선량은 13.9 mSv이다.

[0344] 표 8

표적 기관	알파	베타	광자	총	EDE 기여도	ED 기여도
부신	0.00E+00	9.53E-03	5.24E-03	1.48E-02	0.00E+00	7.38E-05
뇌	0.00E+00	6.40E-04	1.46E-03	2.10E-03	0.00E+00	1.05E-05
유방	0.00E+00	9.48E-03	2.76E-03	1.22E-02	1.84E-03	6.12E-04
쓸개벽	0.00E+00	4.69E-03	5.27E-03	9.96E-03	0.00E+00	0.00E+00
LLI 벽	0.00E+00	1.37E-02	7.16E-03	2.08E-02	1.25E-03	2.50E-03
소장	0.00E+00	1.27E-02	5.57E-03	1.83E-02	0.00E+00	9.14E-05
위벽	0.00E+00	1.15E-02	4.97E-03	1.65E-02	0.00E+00	1.98E-03
ULI 벽	0.00E+00	1.19E-02	6.02E-03	1.79E-02	0.00E+00	8.97E-05
심장벽	0.00E+00	8.27E-03	4.29E-03	1.26E-02	0.00E+00	0.00E+00
신장	0.00E+00	4.21E-02	7.59E-03	4.97E-02	2.98E-03	2.48E-04
간	0.00E+00	1.45E-02	5.51E-03	2.00E-02	0.00E+00	1.00E-03
폐	0.00E+00	5.73E-03	3.54E-03	9.27E-03	1.11E-03	1.11E-03
근육	0.00E+00	6.08E-03	3.83E-03	9.91E-03	0.00E+00	4.95E-05
난소	0.00E+00	4.69E-03	6.95E-03	1.16E-02	2.91E-03	2.33E-03
췌장	0.00E+00	1.62E-02	5.90E-03	2.21E-02	1.32E-03	1.10E-04
적색골수	0.00E+00	6.61E-03	4.24E-03	1.08E-02	1.30E-03	1.30E-03
골형성 세포	0.00E+00	1.14E-02	4.14E-03	1.55E-02	4.65E-04	1.55E-04
피부	0.00E+00	4.69E-03	2.32E-03	7.01E-03	0.00E+00	7.01E-05
비장	0.00E+00	1.48E-02	5.34E-03	2.02E-02	1.21E-03	1.01E-04
흉선	0.00E+00	4.69E-03	3.66E-03	8.36E-03	0.00E+00	4.18E-05
갑상선	0.00E+00	1.19E-02	3.24E-03	1.52E-02	4.55E-04	7.59E-04
방광벽	0.00E+00	1.84E-01	3.21E-02	2.16E-01	1.30E-02	1.08E-02
자궁	0.00E+00	4.69E-03	8.98E-03	1.37E-02	0.00E+00	6.84E-05
전신	0.00E+00	7.76E-03	3.84E-03	1.16E-02	0.00E+00	0.00E+00
유효 용량						2.35E-02

[0345]

[0346] 표 9는 대상체 3의 방사선량 측정에 대한 추정치를 나타낸다. 대상체 3의 전체 추정 방사선량은 13.5 mSv이다.

[0347] 표 9

표적 기관					EDE 기여도	ED 기여도
부신	0.00E+00	5.97E-03	3.71E-03	9.68E-03	0.00E+00	4.84E-05
뇌	0.00E+00	6.13E-04	8.65E-04	1.48E-03	0.00E+00	7.39E-06
유방	0.00E+00	2.02E-03	1.59E-03	3.61E-03	5.41E-04	1.80E-04
쓸개벽	0.00E+00	2.02E-03	4.07E-03	6.09E-03	0.00E+00	0.00E+00
LLI 벽	0.00E+00	1.44E-02	5.96E-03	2.03E-02	1.22E-03	2.44E-03
소장	0.00E+00	8.73E-03	4.29E-03	1.30E-02	0.00E+00	6.51E-05
위벽	0.00E+00	4.31E-03	3.12E-03	7.43E-03	0.00E+00	8.91E-04
ULI 벽	0.00E+00	2.02E-03	4.00E-03	6.02E-03	0.00E+00	3.01E-05
심장벽	0.00E+00	4.65E-03	2.82E-03	7.48E-03	0.00E+00	0.00E+00
신장	0.00E+00	4.45E-02	6.83E-03	5.13E-02	3.08E-03	2.57E-04
간	0.00E+00	1.20E-02	4.36E-03	1.64E-02	9.84E-04	8.20E-04
폐	0.00E+00	5.16E-03	2.37E-03	7.53E-03	9.04E-04	9.04E-04
근육	0.00E+00	5.15E-03	2.83E-03	7.98E-03	0.00E+00	3.99E-05
난소	0.00E+00	2.02E-03	5.52E-03	7.54E-03	0.00E+00	0.00E+00
췌장	0.00E+00	1.13E-02	4.18E-03	1.54E-02	9.27E-04	7.72E-05
적색골수	0.00E+00	4.29E-03	2.96E-03	7.25E-03	8.70E-04	8.70E-04
골형성 세포	0.00E+00	4.95E-03	2.74E-03	7.69E-03	2.31E-04	7.69E-05
피부	0.00E+00	2.02E-03	1.63E-03	3.66E-03	0.00E+00	3.66E-05
비장	0.00E+00	1.09E-02	3.83E-03	1.47E-02	0.00E+00	7.35E-05
정소	0.00E+00	1.22E-02	4.18E-03	1.64E-02	4.09E-03	3.27E-03
흉선	0.00E+00	2.02E-03	2.30E-03	4.32E-03	0.00E+00	2.16E-05
갑상선	0.00E+00	8.46E-03	2.38E-03	1.08E-02	3.25E-04	5.42E-04
방광벽	0.00E+00	1.91E-01	2.79E-02	2.19E-01	1.31E-02	1.09E-02
자궁	0.00E+00	2.02E-03	8.36E-03	1.04E-02	0.00E+00	5.19E-05
전신	0.00E+00	4.94E-03	2.77E-03	7.71E-03	0.00E+00	0.00E+00
유효 용량						**2.16E-02**

[0348]

[0349] 표 10은 대상체 4의 방사선량 측정에 대한 추정치를 나타낸다. 대상체 4의 전체 추정 방사선량은 15.9 mSv이다.

[0350] 표 10

표적 기관	알파	베타	광자	총	EDE 기여도	ED 기여도
부신	0.00E+00	1.30E-02	4.86E-03	1.79E-02	1.07E-03	8.93E-05
뇌	0.00E+00	7.79E-04	1.23E-03	2.01E-03	0.00E+00	1.00E-05
유방	0.00E+00	6.43E-03	2.25E-03	8.68E-03	1.30E-03	4.34E-04
쓸개벽	0.00E+00	4.09E-03	4.46E-03	8.56E-03	0.00E+00	0.00E+00
LLI 벽	0.00E+00	3.53E-03	8.79E-03	1.23E-02	0.00E+00	1.48E-03
소장	0.00E+00	3.53E-03	5.67E-03	9.20E-03	0.00E+00	4.60E-05
위벽	0.00E+00	3.53E-03	4.01E-03	7.54E-03	0.00E+00	9.05E-04
ULI 벽	0.00E+00	3.53E-03	5.50E-03	9.03E-03	0.00E+00	4.52E-05
심장벽	0.00E+00	7.57E-03	3.84E-03	1.14E-02	0.00E+00	0.00E+00
신장	0.00E+00	4.30E-02	7.33E-03	5.03E-02	3.02E-03	2.52E-04
간	0.00E+00	1.16E-02	4.71E-03	1.63E-02	0.00E+00	8.13E-04
폐	0.00E+00	4.82E-03	3.15E-03	7.97E-03	9.57E-04	9.57E-04
근육	0.00E+00	7.68E-03	4.07E-03	1.18E-02	0.00E+00	5.88E-05
난소	0.00E+00	3.53E-03	8.79E-03	1.23E-02	3.08E-03	2.46E-03
췌장	0.00E+00	1.18E-02	5.04E-03	1.69E-02	1.01E-03	8.44E-05
적색골수	0.00E+00	5.25E-03	4.13E-03	9.38E-03	1.13E-03	1.13E-03
골형성 세포	0.00E+00	8.81E-03	3.80E-03	1.26E-02	3.78E-04	1.26E-04
피부	0.00E+00	3.53E-03	2.26E-03	5.79E-03	0.00E+00	5.79E-05
비장	0.00E+00	1.18E-02	4.70E-03	1.65E-02	0.00E+00	8.27E-05
흉선	0.00E+00	3.53E-03	3.23E-03	6.76E-03	0.00E+00	3.38E-05
갑상선	0.00E+00	1.34E-02	3.00E-03	1.64E-02	4.91E-04	8.18E-04
방광벽	0.00E+00	4.06E-01	6.85E-02	4.74E-01	2.85E-02	2.37E-02
자궁	0.00E+00	2.38E-02	1.51E-02	3.89E-02	2.33E-03	1.95E-04
전신	0.00E+00	6.96E-03	3.92E-03	1.09E-02	0.00E+00	0.00E+00
유효 용량						3.38E-02

[0351]

[0352] **종양 흡수**

[0353] 도 33은 대상체 1-4의 혈액 풀 활성 및 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 종양 침착물로의 흡수를 나타내었다(주: 환자 3 및 4에는 2개의 종양 침착물이 있으며, 이들은 별도로 분석됨). 혈액 풀 및 클리어런스는 재생 가능하지만 종양 흡수 및 클리어런스는 종양 유형에 따라 다르다.

[0354] 대상체 1-4에 걸쳐, 종양 흡수율은 종양 조직학적 특성에 따라 가변적이었으며, 식도의 편평 세포 암종(SUV 평균 3.8) 및 전이성 피부 편평 세포 암종(SUV 평균 4.1)에서 높은 수준의 흡수가 관찰되었고 전이성 난소 암종(SUV 평균 1.9) 및 유방 암종(SUV 평균 1.8)에서 낮은 흡수가 관찰되었다. 대상체 3 및 4에는 2개의 종양 침착물이 있었고 이들은 별도로 분석되었다. 상이한 종양 조직학적 특성이 상이한 *신생* 세포 사멸률을 가질 것이라는 것은 예상치 못한 일이 아니다. 이를 확인하기 위해, 환자 3의 두 종양 침착물에 대한 ^{68}Ga NODAGA GSAO의 종양 흡수율과 종양 세포 사멸률의 조직학적 상관관계를 수행하였다(하나는 우측 액와에서 SUV 평균 4.1의 높은 흡수율의 ^{68}Ga NODAGA GSAO를 갖고, 다른 하나는 우측 상부 전경부 삼각에서 SUV 평균 2.7의 낮은 흡수율의 ^{68}Ga NODAGA GSAO를 가짐)(도 34).

[0355] 해부된 종양을 포르말린으로 고정하고, 파라핀으로 포매하고 4 μm 두께의 섹션을 절단하였다. TUNEL(Abcam, 카탈로그#206386) 또는 헤마톡실린 및 에오신을 사용한 형태학적 특성을 사용하여 아폽토시스 세포에 대해 인접 섹션을 염색하였다. TUNEL 염색을 위해, 섹션을 자일렌에서 탈파라핀화하고, 감소하는 농도의 에탄올로 재수화하고 실온에서 20분 동안 프로테이나제 K로 투과화하였다. 내인성 퍼옥시다제 활성을 5분 동안 3% H_2O_2로 켄칭하였다. 아폽토시스 세포를 37℃의 습한 챔버에서 2시간 동안 비오티닐화 말단 데옥시뉴클레오티딜 전이효소로 표지한 후 스트렙트아비딘-HRP 접합체와 함께 30분 동안 배양하였다. HRP-양성 세포는 디아미노벤지딘을 사용하여

발달되었고 섹션은 메틸 그린(Sigma)으로 대조염색되었다. 전체 섹션을 Leica DM6000D 현미경에서 10x 배율로 PowerMosaic 스캐닝을 사용하여 영상화하였다.

[0356] 도 34는 전이성 피부 편평 세포 암종을 가진 66세 남성(*환자 3*)에서 256 MBq의 FDG(플루오로데옥시글루코스)의 투여 60분 후에 수행된 FDG-PET(도 34a) 및 205 MBq의 CDI(^{68}Ga NODAGA GSAO) 투여 60분 후에 수행된 CDI-PET(도 34b)의 전방 최대 투사 강도 이미지를 나타내었다. FDG-PET는 하나는 우측 액와 및 다른 하나는 우측 상부 전경부 삼각에서 일어나는 2개의 강한 대사적 활성 결절 전이를 입증하였다. 이들은 2개의 상이한 피부 편평 세포 암종(이전에 절제됨)의 동기 결절 전이를 나타내는 것으로 생각되었다. CDI-PET(^{68}Ga NODAGA GSAO)는 우측 액와 림프절 전이(SUV 평균 = 4.1)에서 강한 흡수율을 입증하였고 우측 전경부 삼각 결절 전이(SUV 평균 = 1.7)에서 약한 흡수율을 입증하였다. 종양을 외과적으로 절제하고, 고정하고, 아폽토시스 세포(도 34c, 갈색 TUNEL 염색, a 및 b)에 대해 또는 형태학적 특성에 의한 헤마톡실린 및 에오신(도 34c, c 및 d)에 대해 염색된 인접 섹션이다. TUNEL 염색의 화살표는 광범위한 아폽토시스 영역을 가리켰다.

[0357] 높은 흡수율을 갖는 종양은 혈액 풀보다 최대 2배 초과의 흡수율을 가지며, 흡수율은 배설 경로인 신장관을 제외한 다른 모든 기관에서의 흡수율보다 더 높았다. 정상 조직 및 기관 내 낮은 수준의 활성과 조합된 일부 종양 내 높은 수준의 흡수율은 ^{68}Ga NODAGA GSAO를 효과적인 영상화 제제로 사용할 수 있는 가능성을 입증하였다.

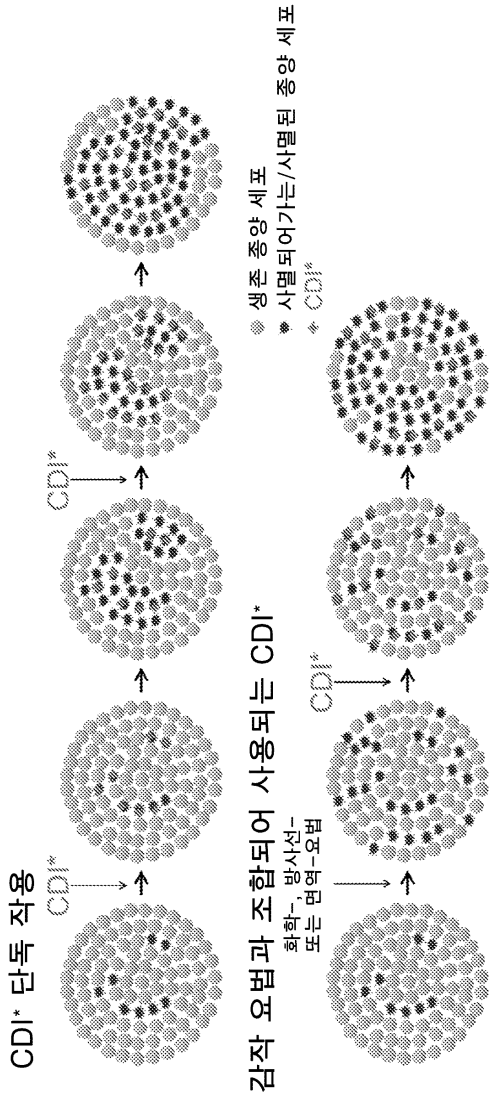
[0358] **논의**

[0359] ^{68}Ga-NODAGA-GSAO에 대한 최초의 인간 연구에서 처음 4명의 환자에 대한 중간 분석은 이것이 안전하고, 내약성이 우수하며 부작용이 없음을 입증하였다. 생체분포 및 영상화 특징은 대부분의 정상 기관에서 낮은 수준의 활성으로 유리하였다. 요로는 배설의 유일한 경로이다. 종양에서 사멸된 그리고 사멸되어가는 세포로의 흡수가 관찰되고 다양한 종양 조직과 일치하는 ^{68}Ga-NODAGA-GSAO 종양 흡수율 변수가 종양 내에서 사멸된 그리고 사멸되어가는 세포의 비율과 상관관계가 있는 것으로 조직병리학적으로 입증되었다. 유효 전신 용량의 68Ga NODAGA GSAO는 2.16 x 10-2 내지 3.38 x 10-2 mSv/MBq 범위이며, 200 MBq의 ad 투여 활성에 대한 추정 유효 전신 용량은 4.3 - 6.8 mSv 범위이다. 이는 PET/CT 및 SPECT/CT뿐만 아니라 X선 컴퓨터 단층 촬영(CT)과 같은 다른 방사선 절차의 유효 전신 용량에 사용되는 다른 많은 진단용 방사성 의약품과 비교될 수 있다.

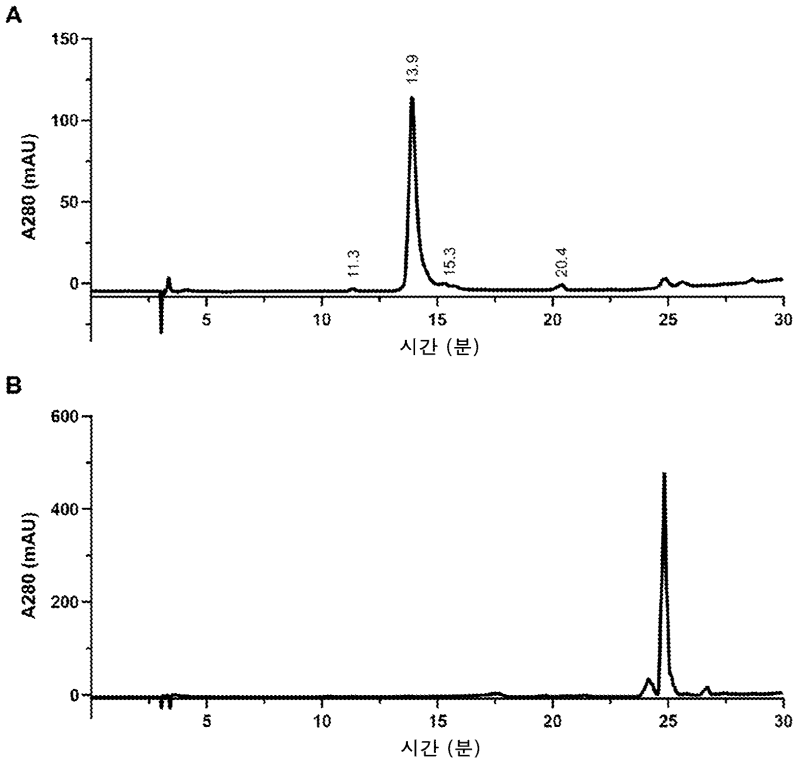
[0360] PCT 출원 번호 PCT/AU2020/050359(WO2020206503로 공개됨)의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

도면

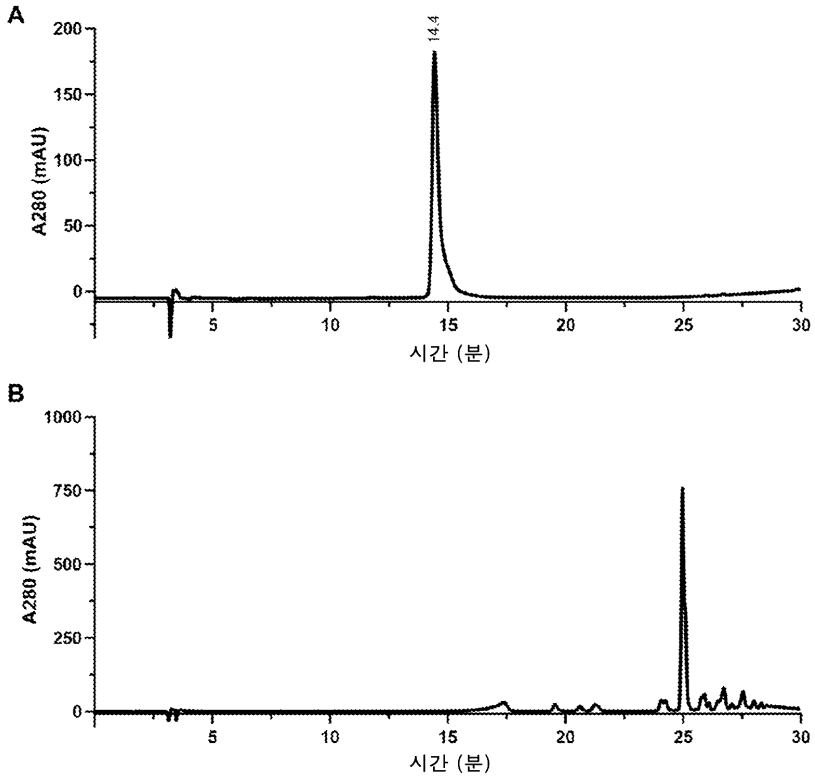
도면1


CDI* 단독 작용
CDI*
CDI*
감작 요법과 조합되어 사용되는 CDI*
화학-, 방사선-
또는 면역-요법
CDI*
CDI*
생존 종양 세포
사멸되어가는/사멸된 종양 세포
CDI*

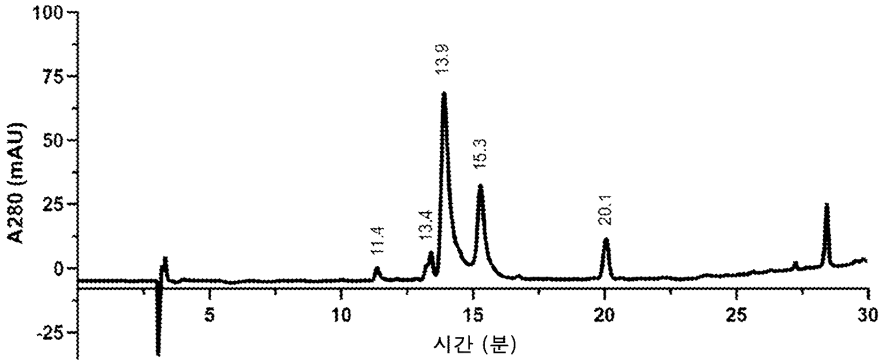
도면2


A
A280 (mAU)
시간 (분)
11.3
13.9
15.3
20.4
B
A280 (mAU)
시간 (분)

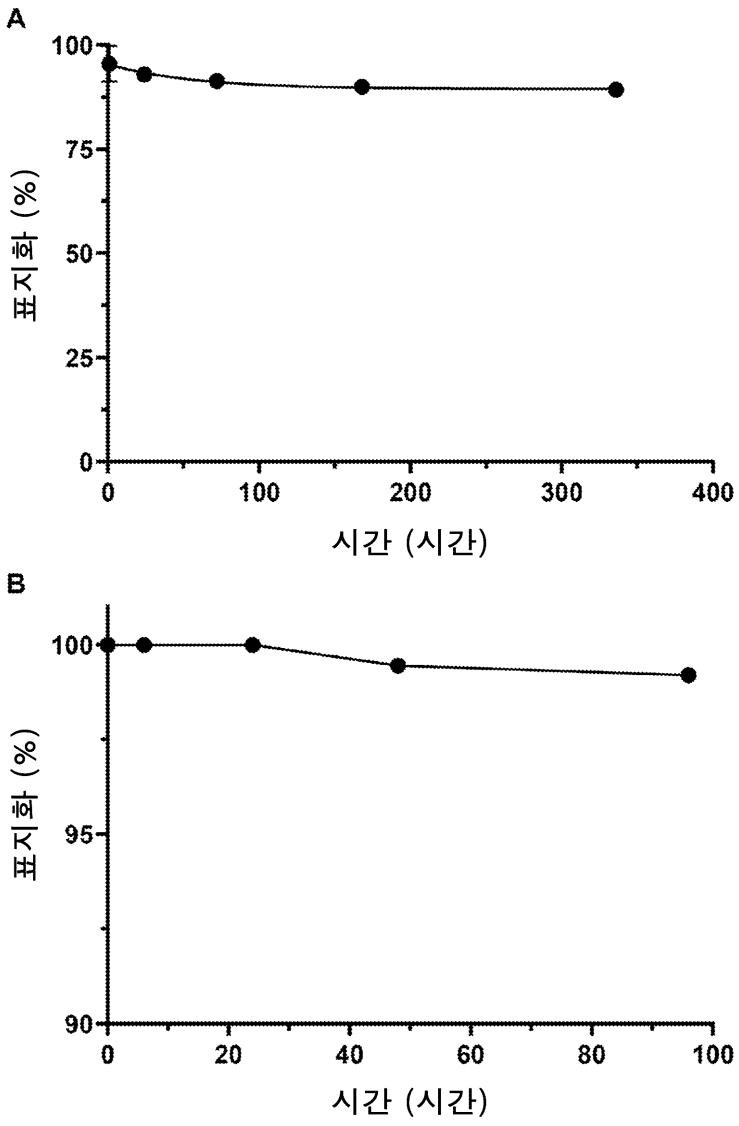
도면3


A
A280 (mAU)
시간 (분)
14.4
B
A280 (mAU)
시간 (분)

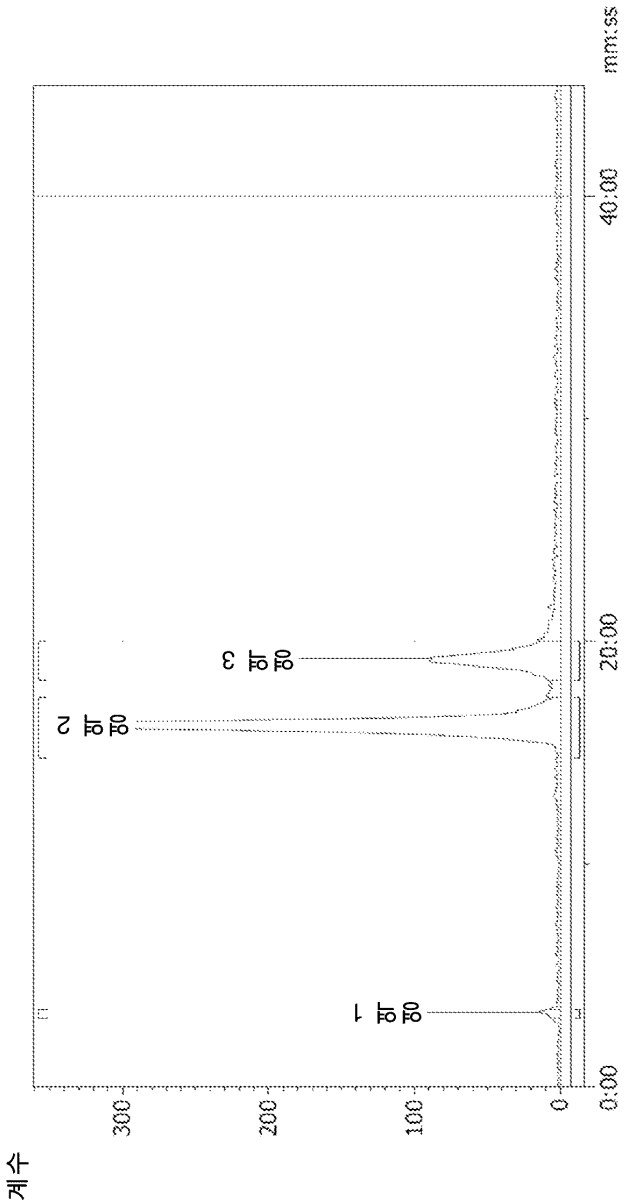
도면4



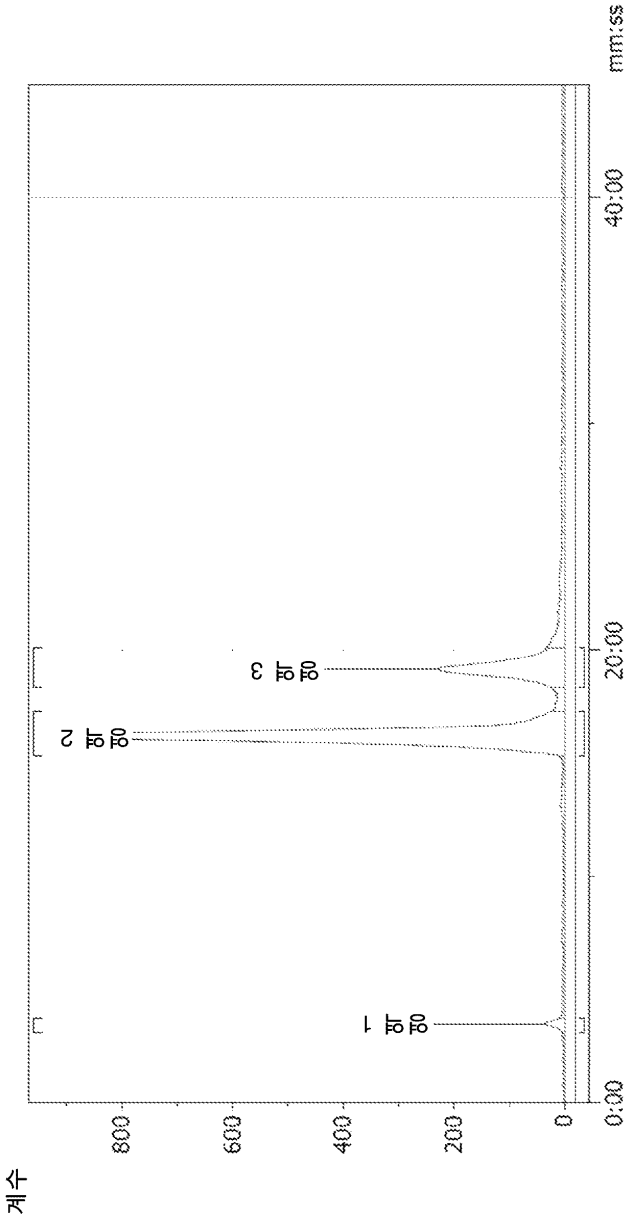
도면5



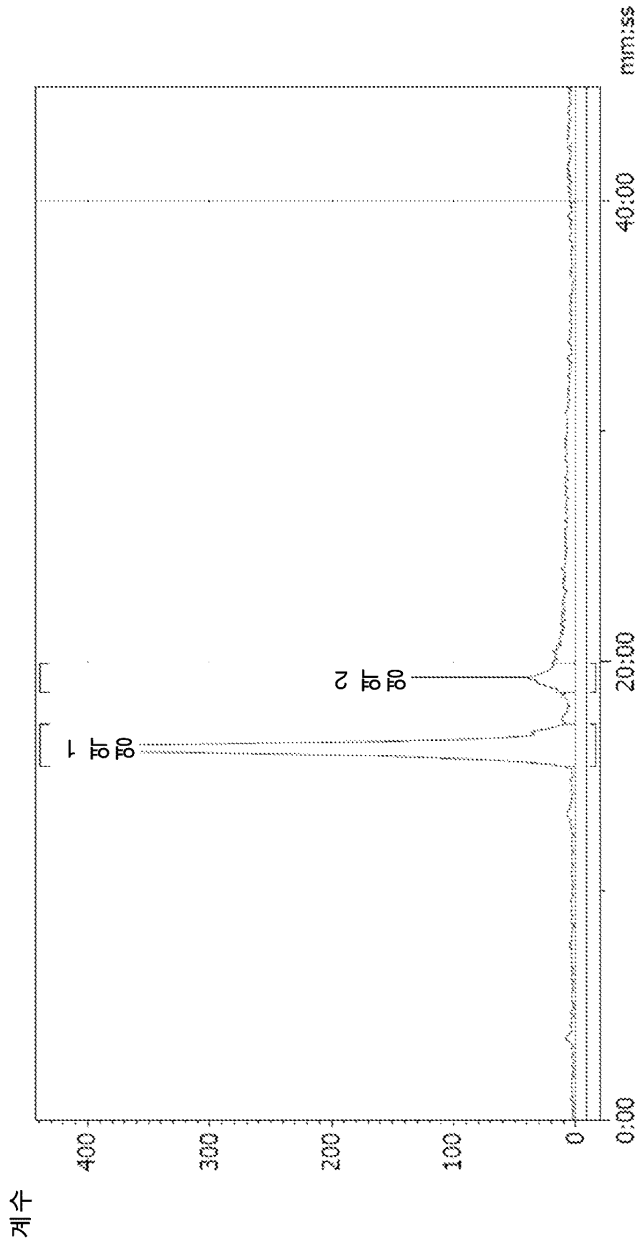
도면6



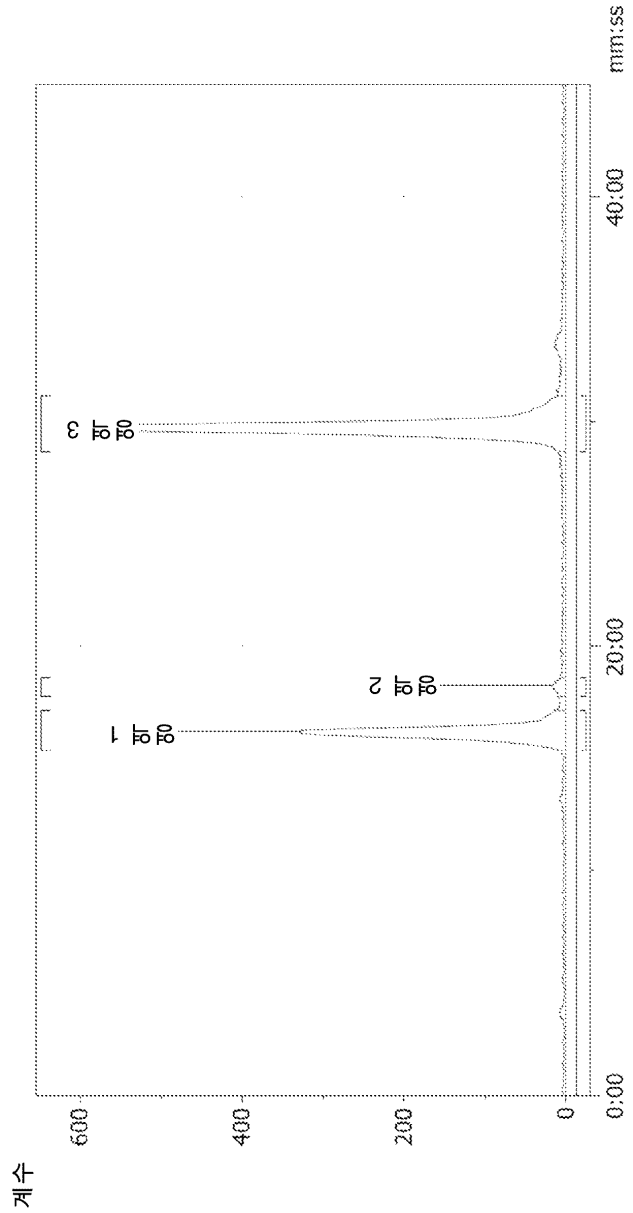
도면7



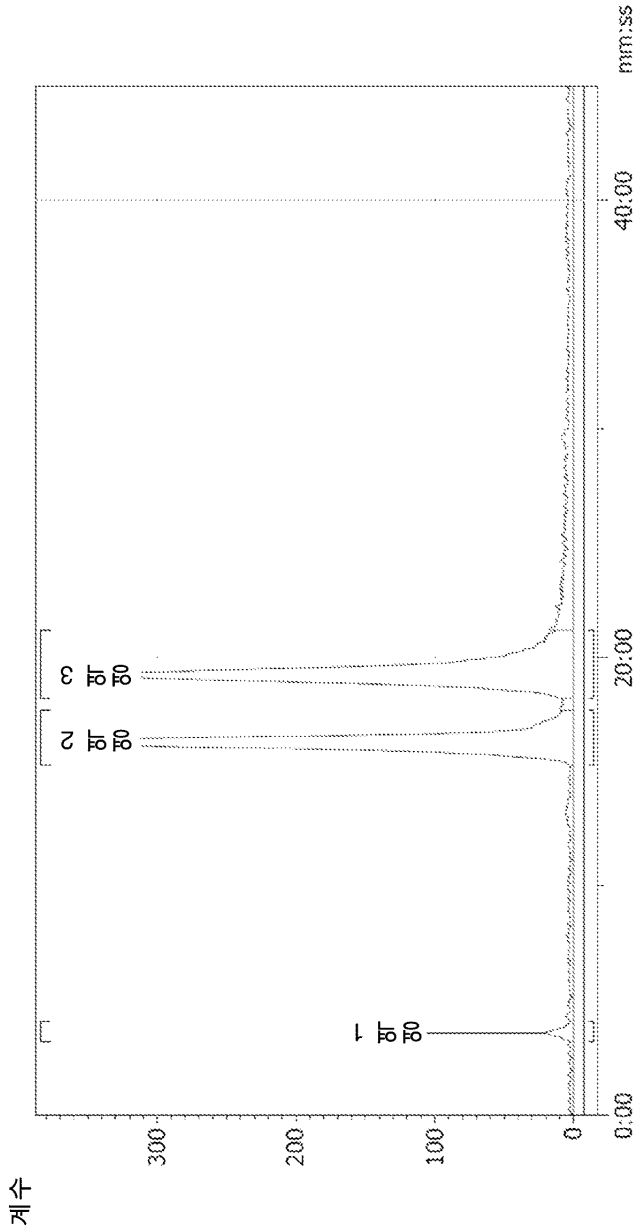
도면8



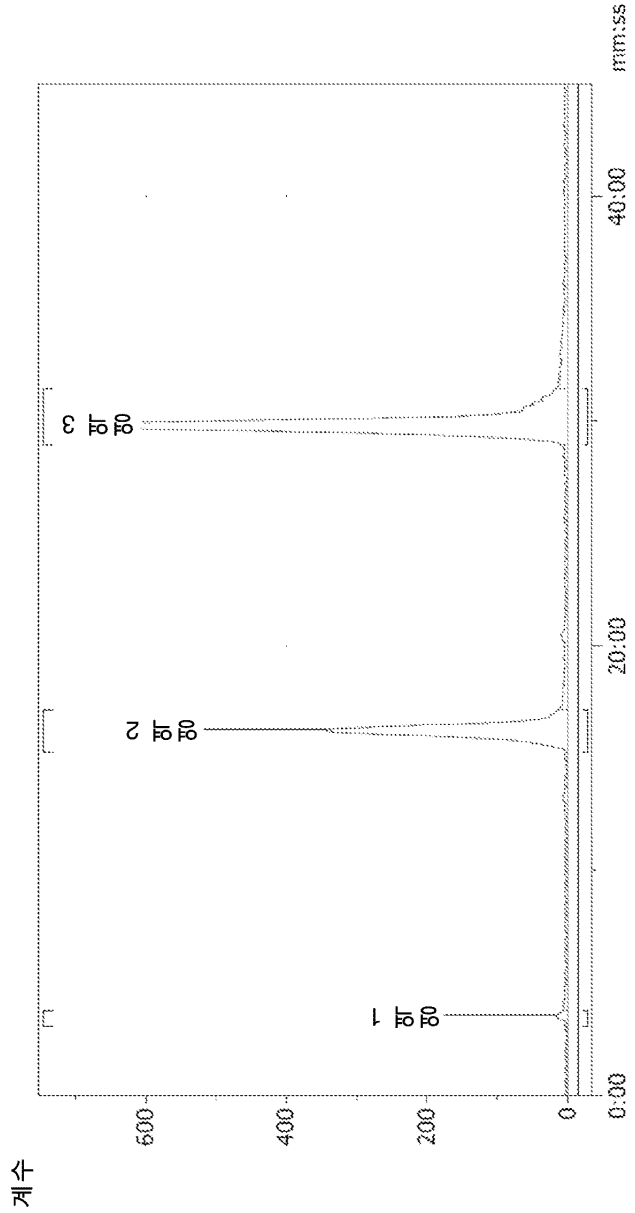
도면9



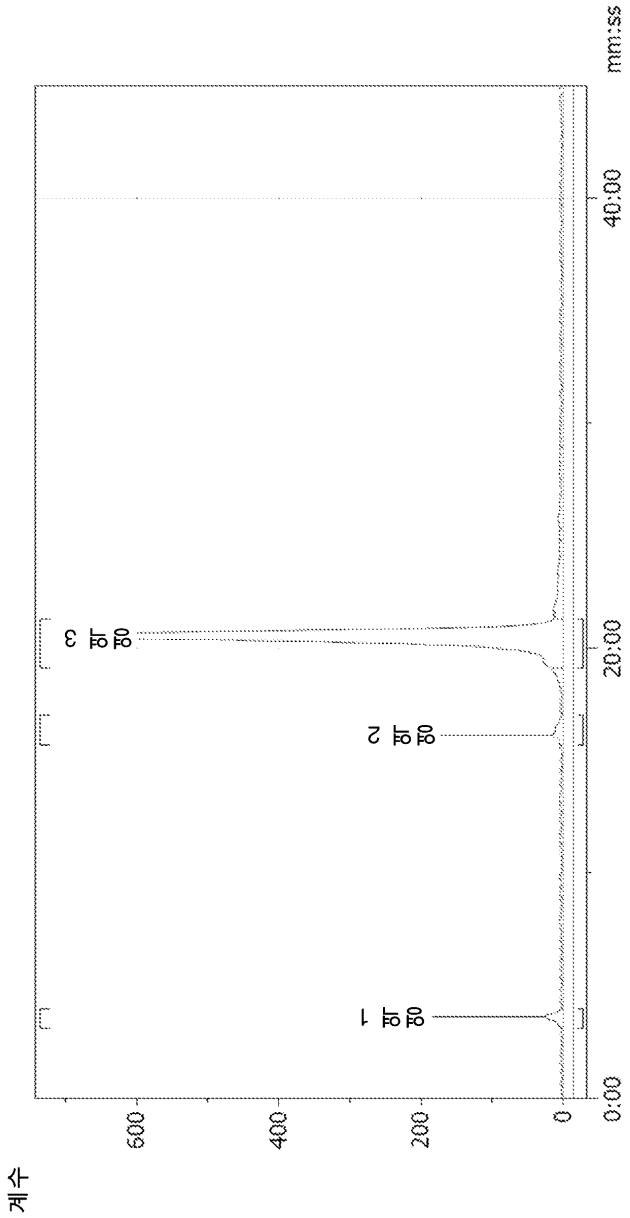
도면10



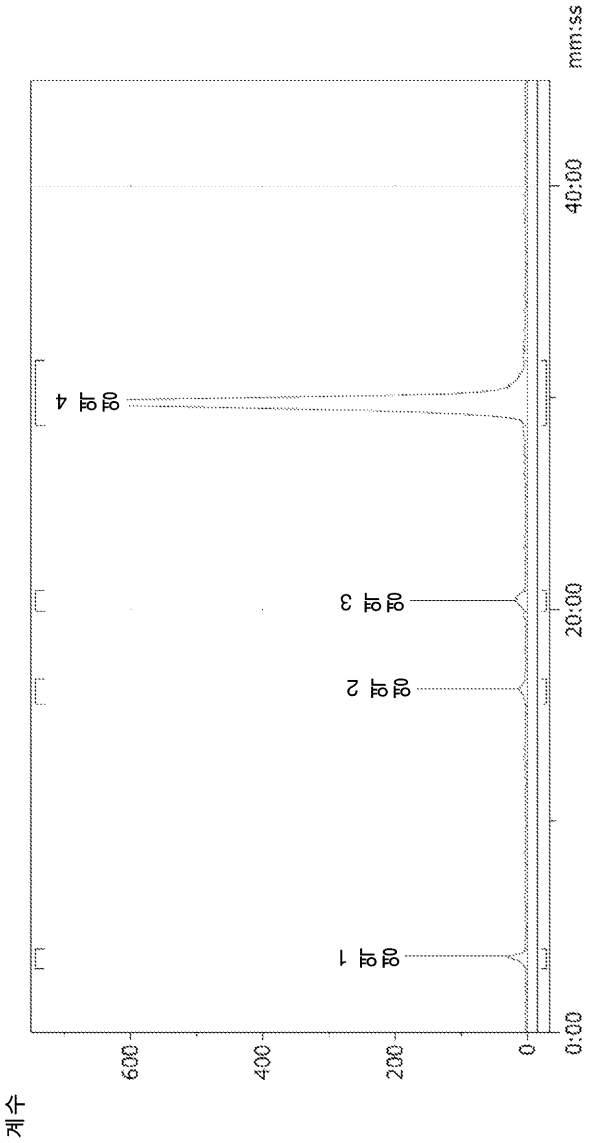
도면11



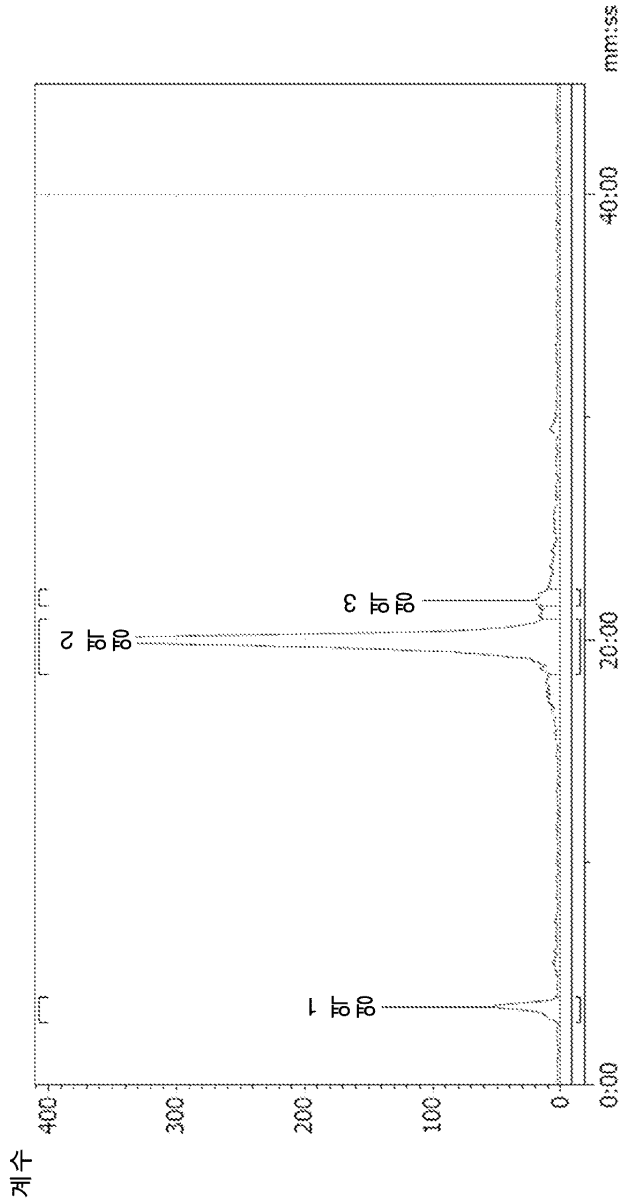
도면12



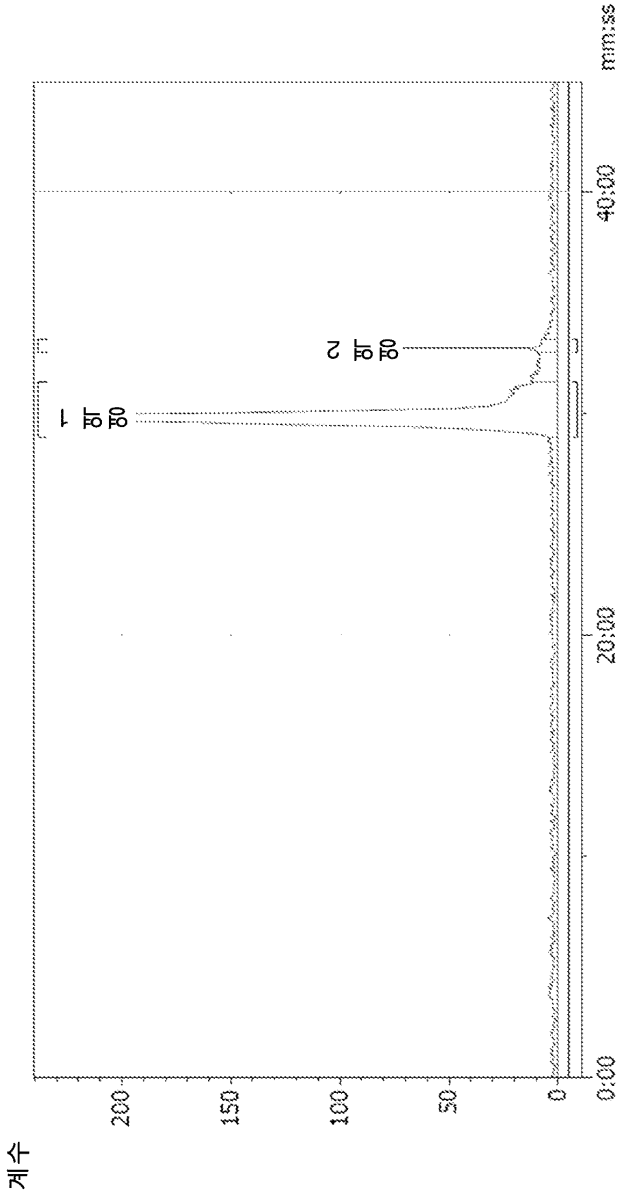
도면13



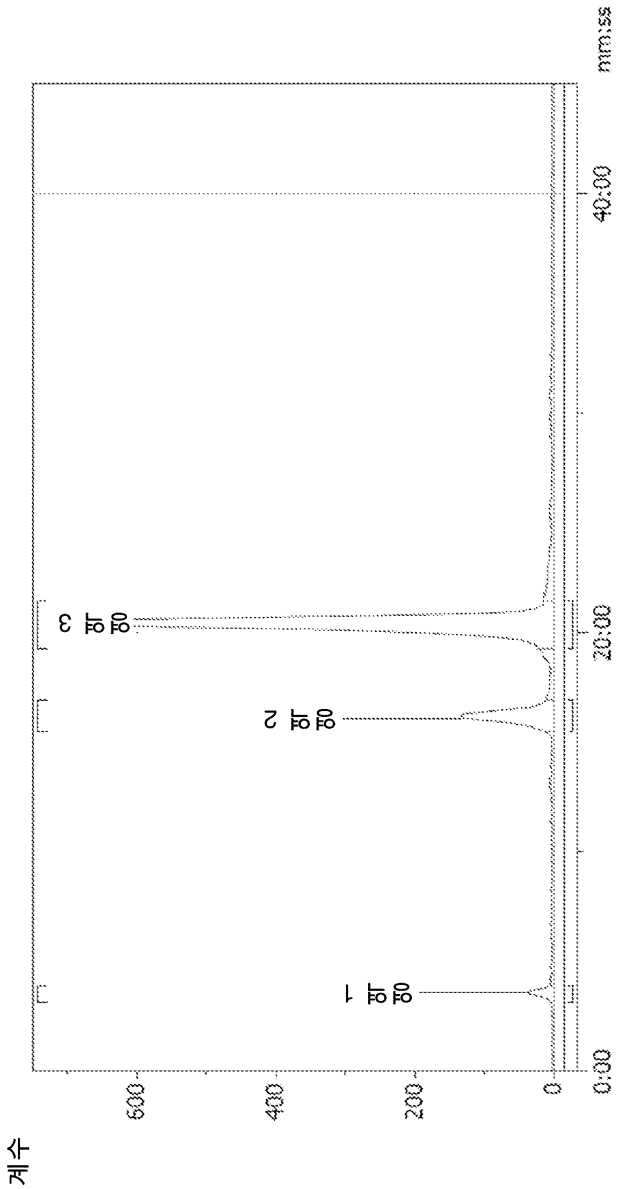
도면14



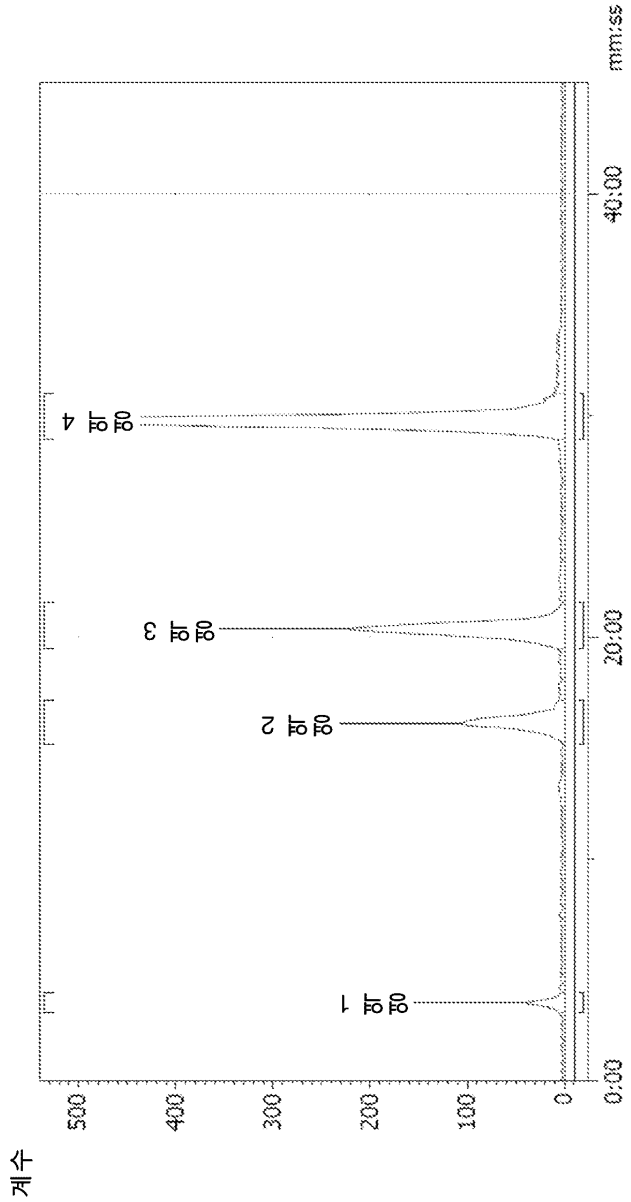
도면15



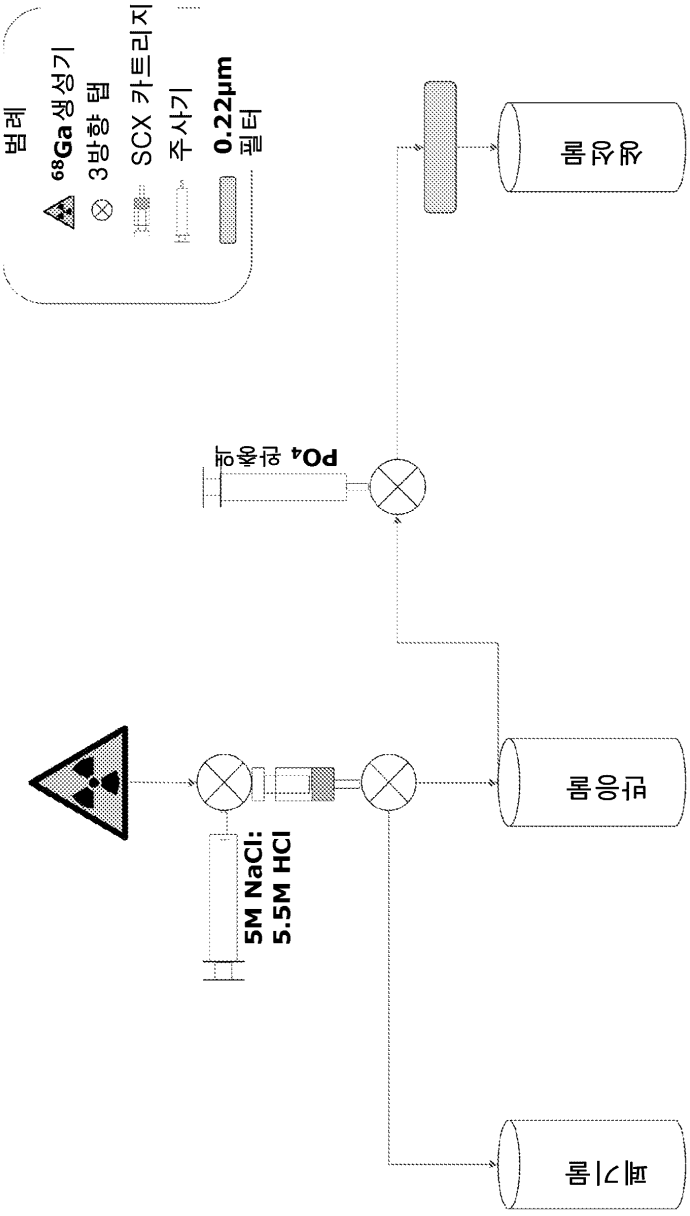
도면16



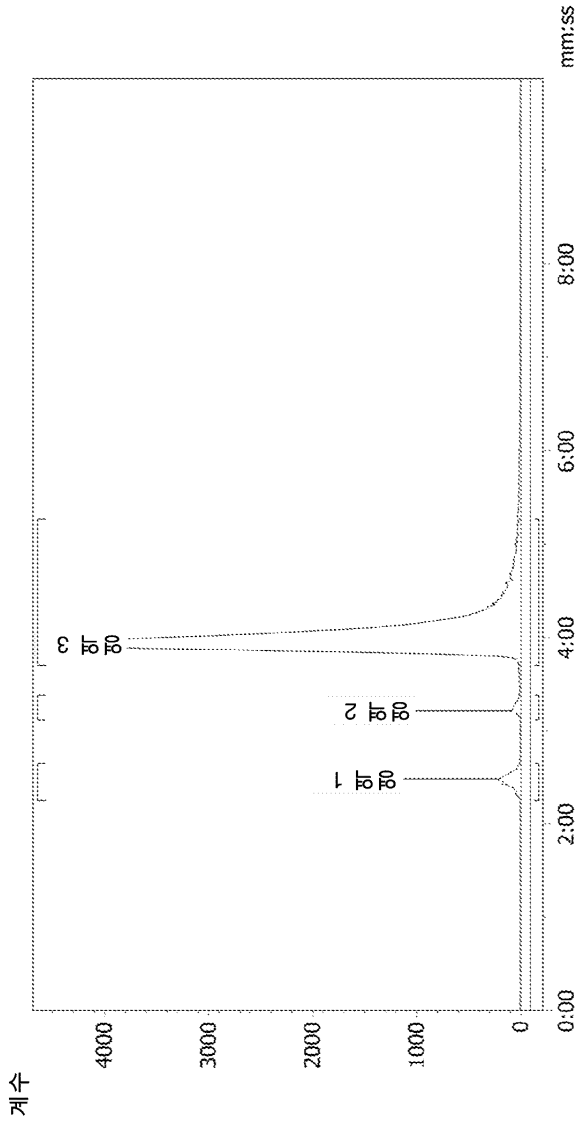
도면17



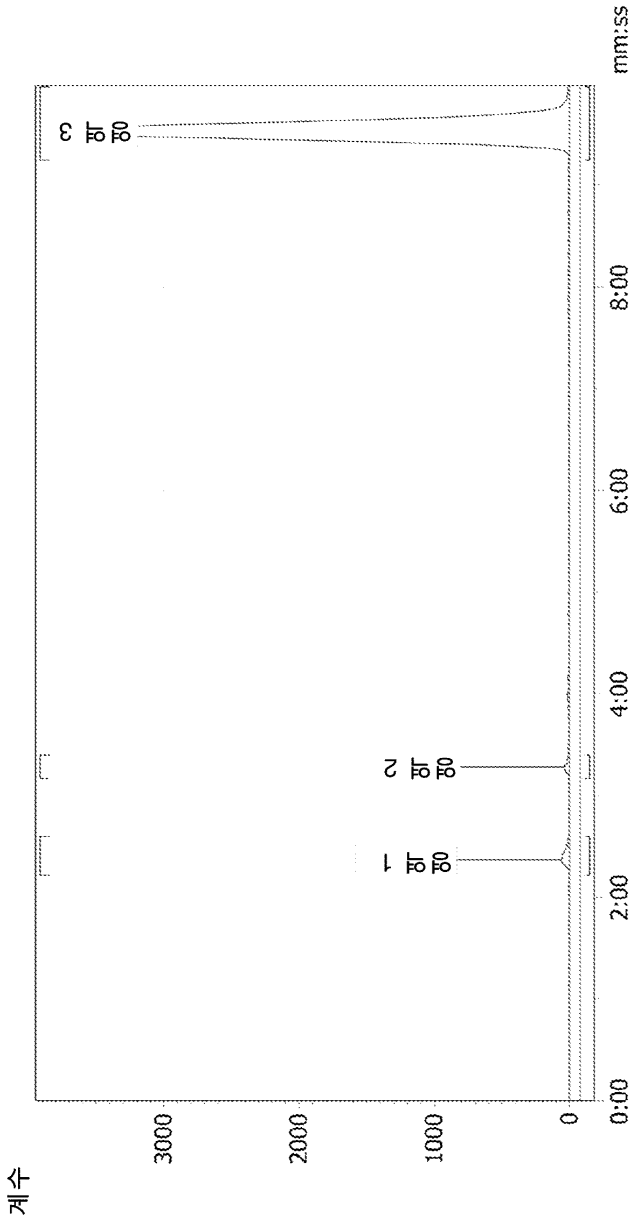
도면18


범례
^{68}Ga 생성기
3방향 탭
SCX 카트리지
주사기
0.22μm 필터
생성물
PO_4 완충액
5M NaCl:
5.5M HCl
반응물
폐기물

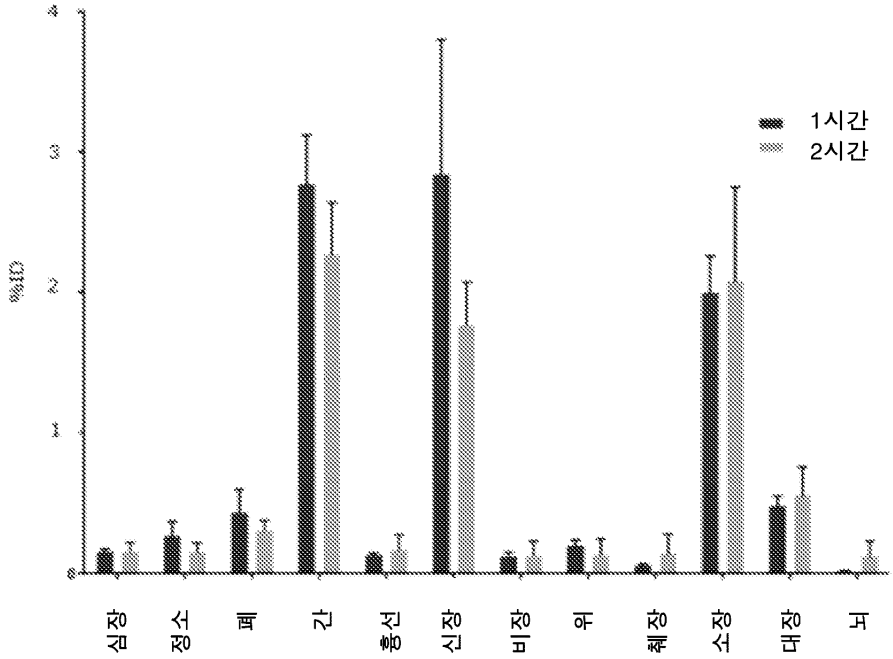
도면19



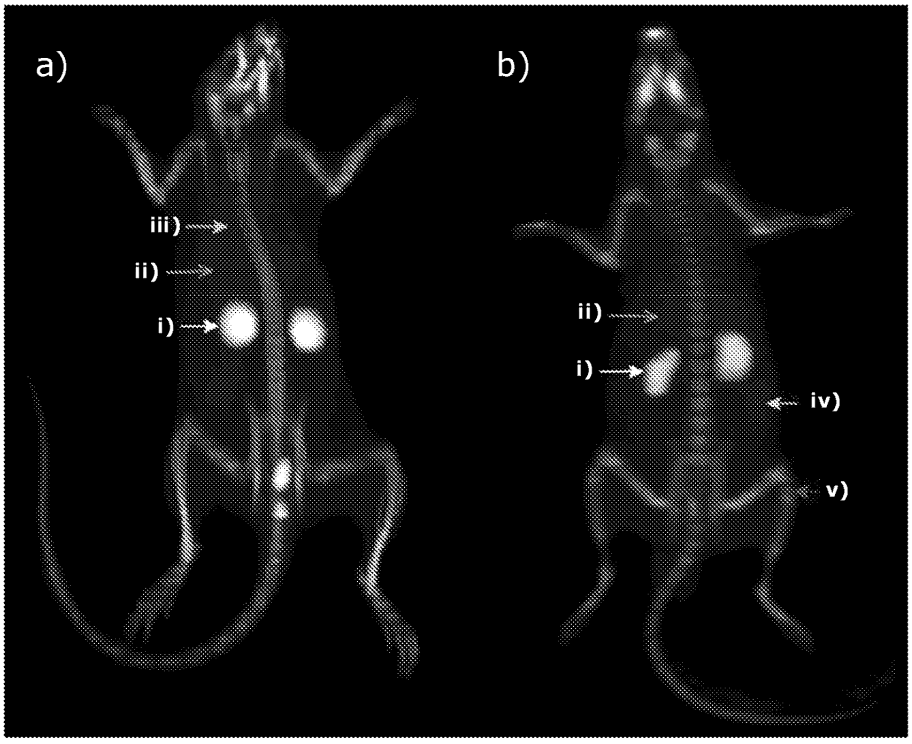
도면20



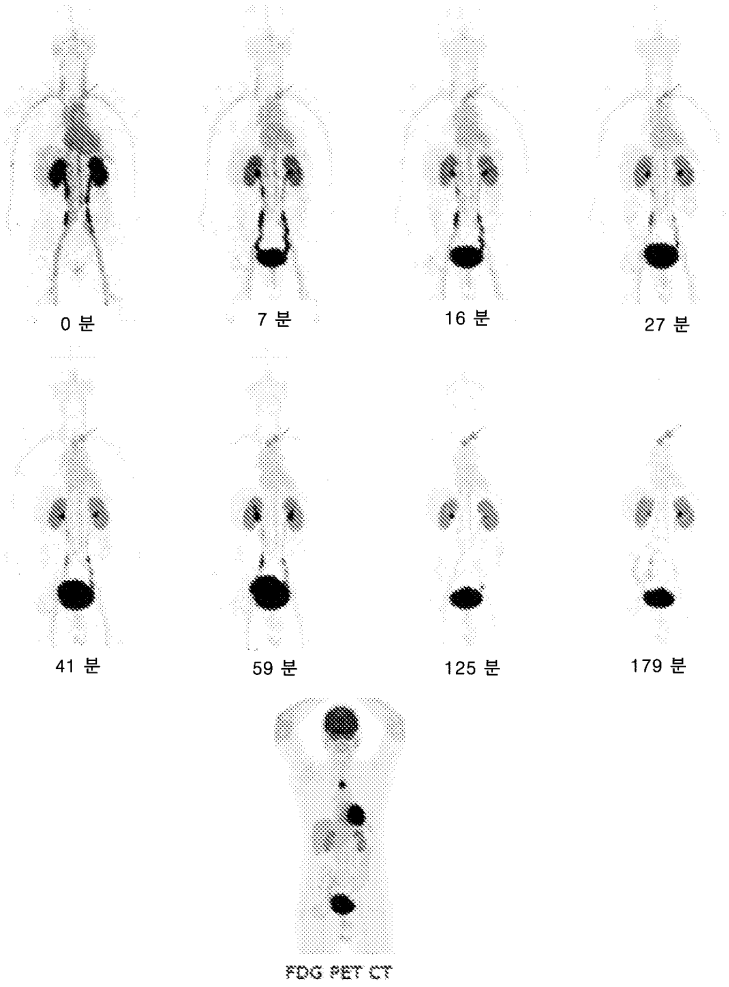
도면21



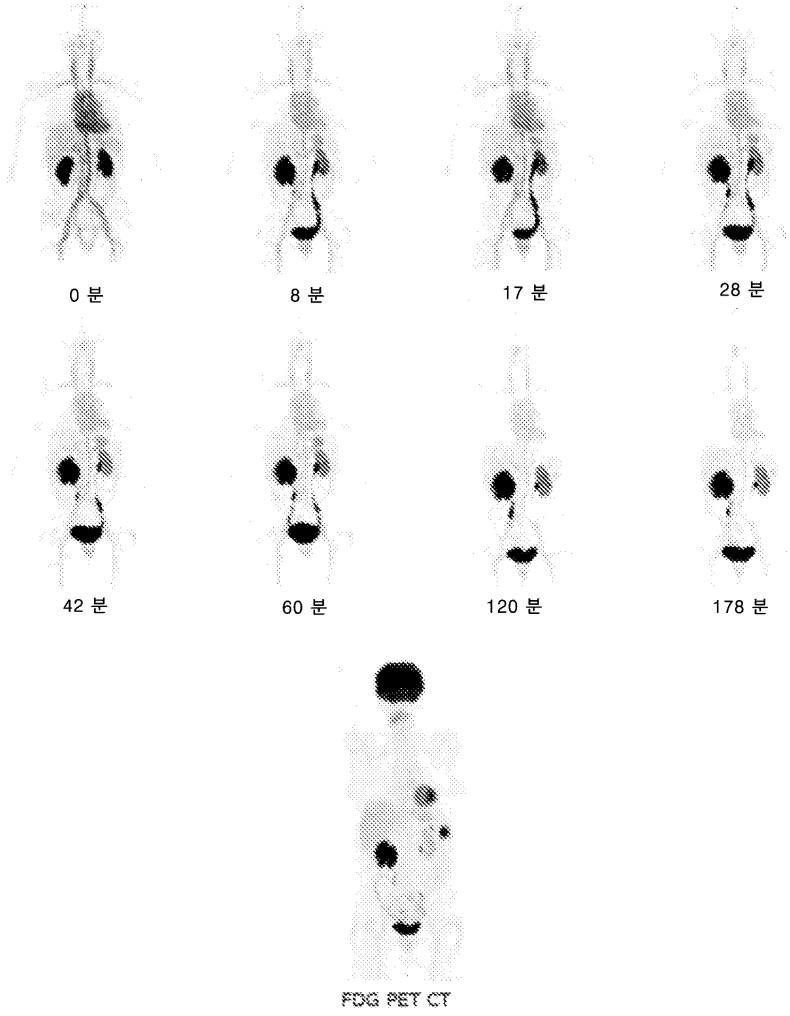
도면22



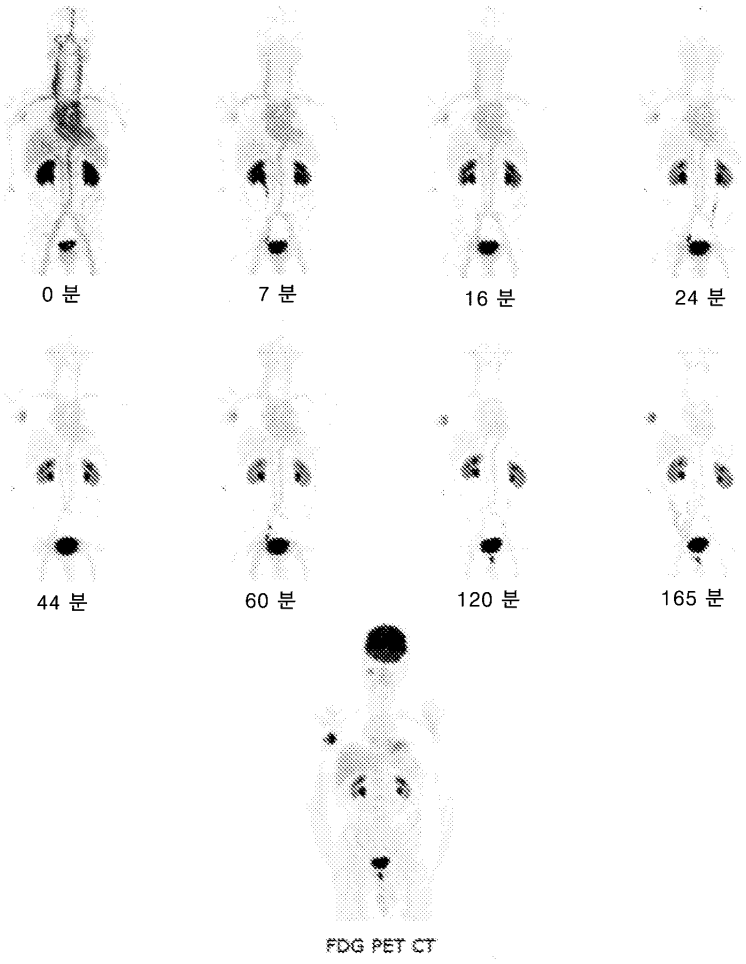
도면23



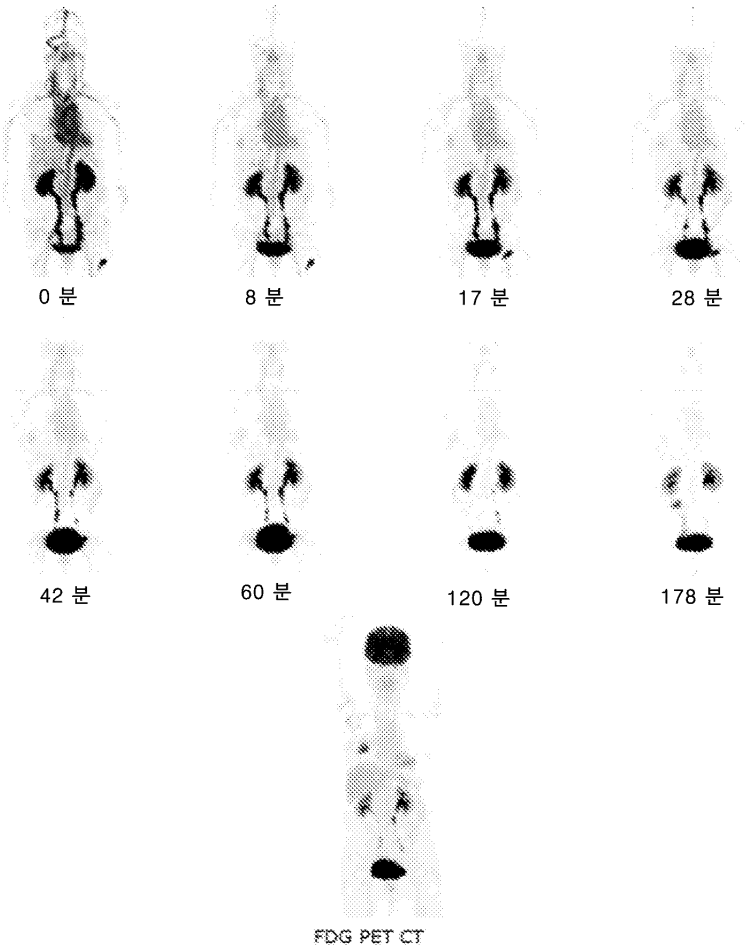
도면24



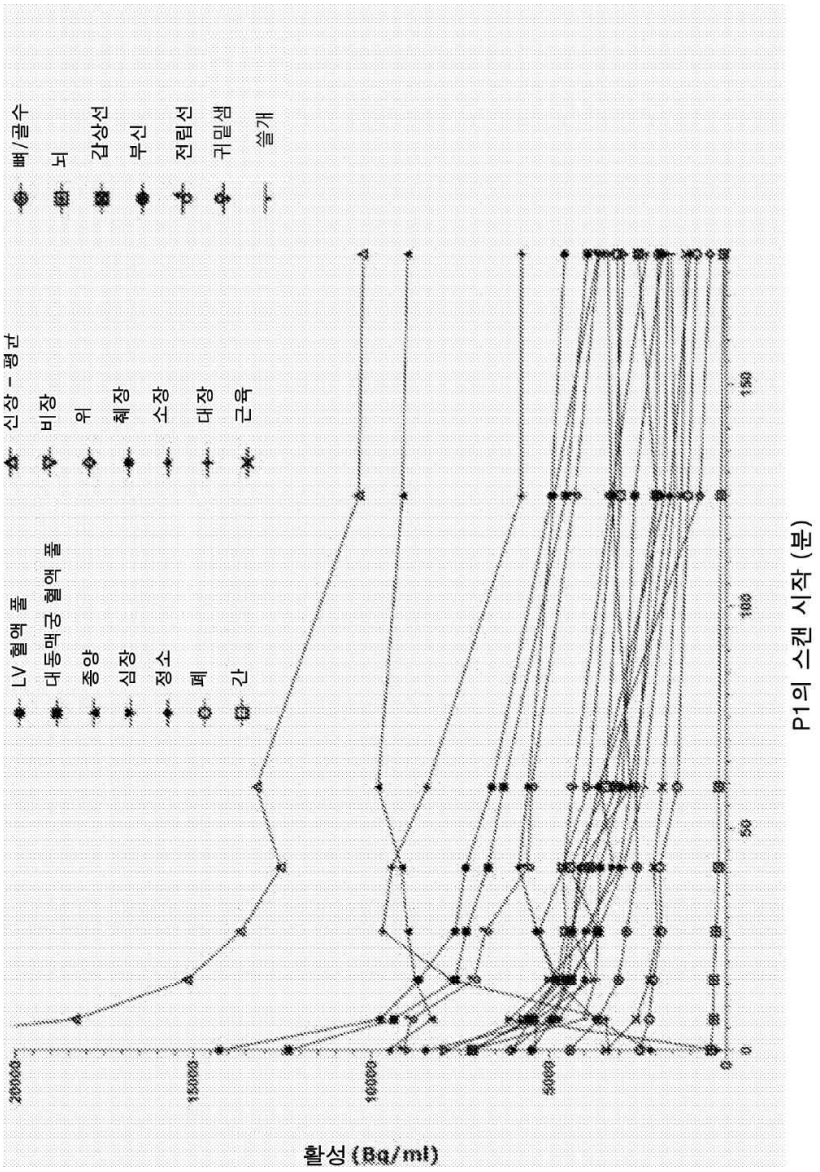
도면25



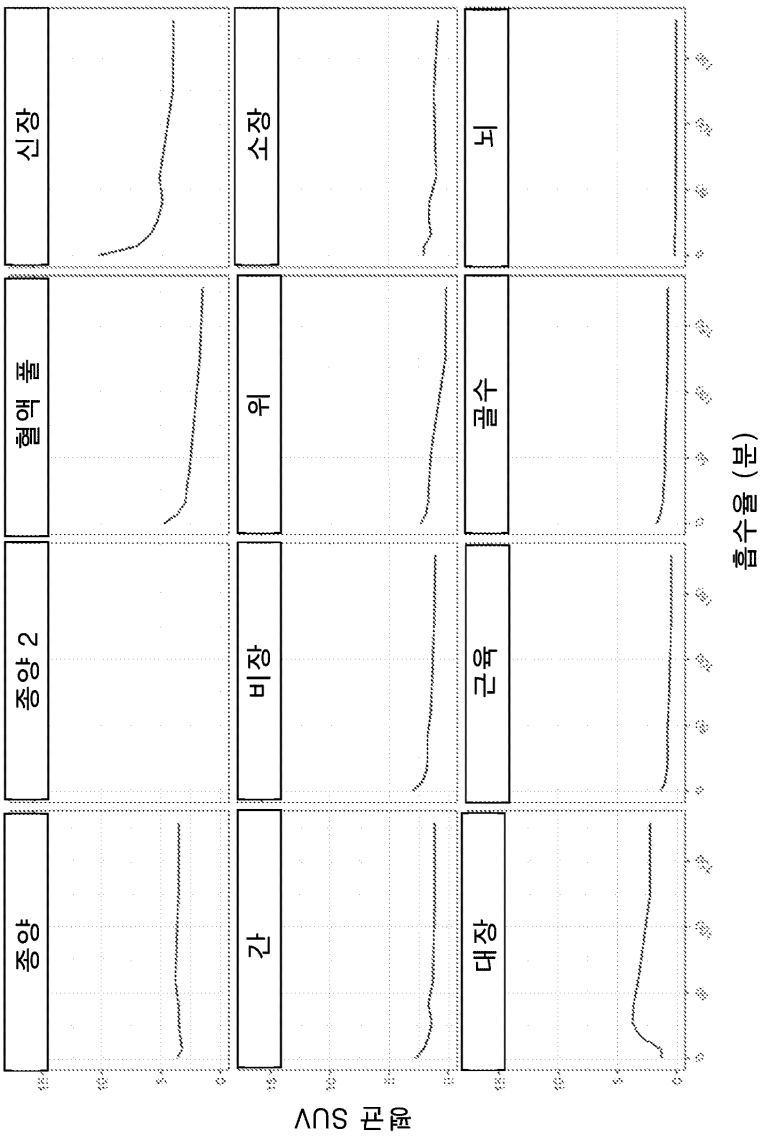
도면26



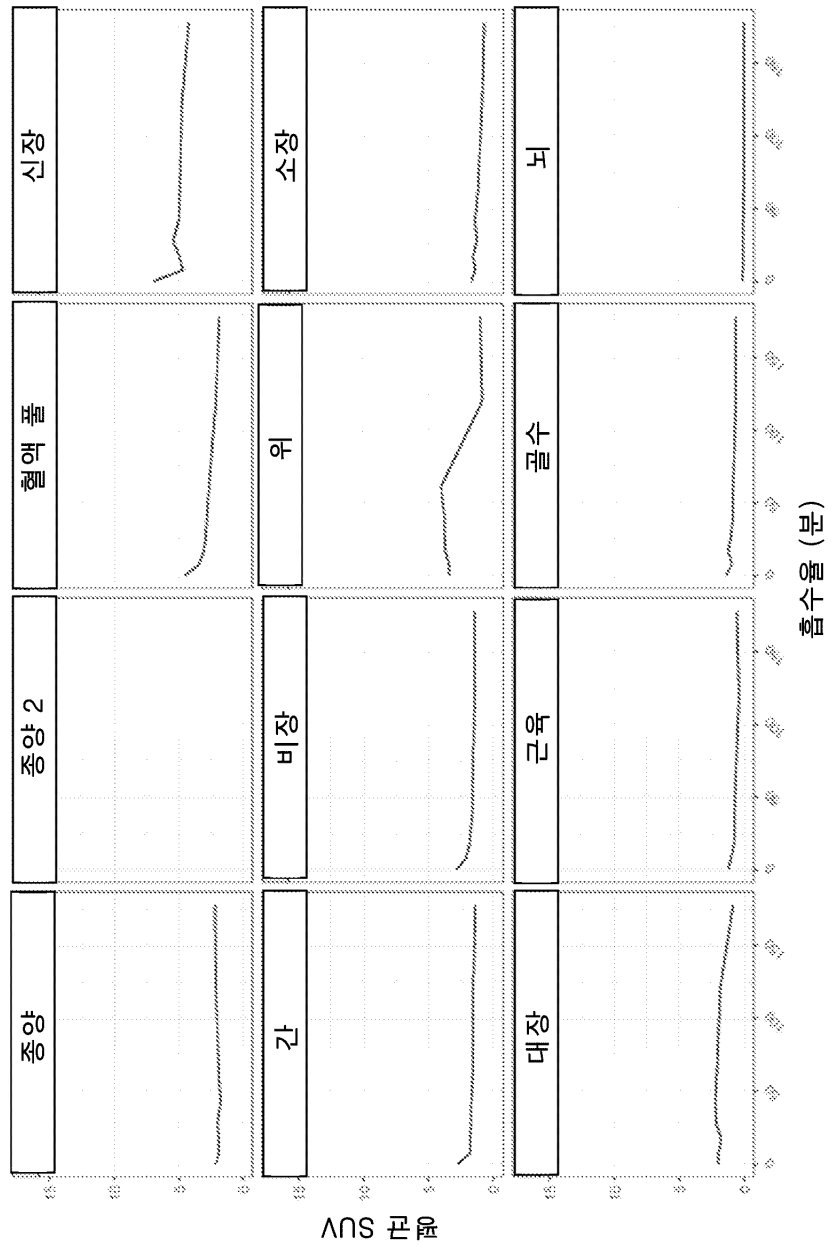
도면27


활성(Bq/ml)
P1의 스캔 시작(분)
LV 혈액 풀
대동맥궁 혈액 풀
중앙
심장
정소
폐
간
신장 - 평균
비장
위
췌장
소장
대장
근육
뼈/골수
뇌
갑상선
부신
전립선
귀밑샘
슬개

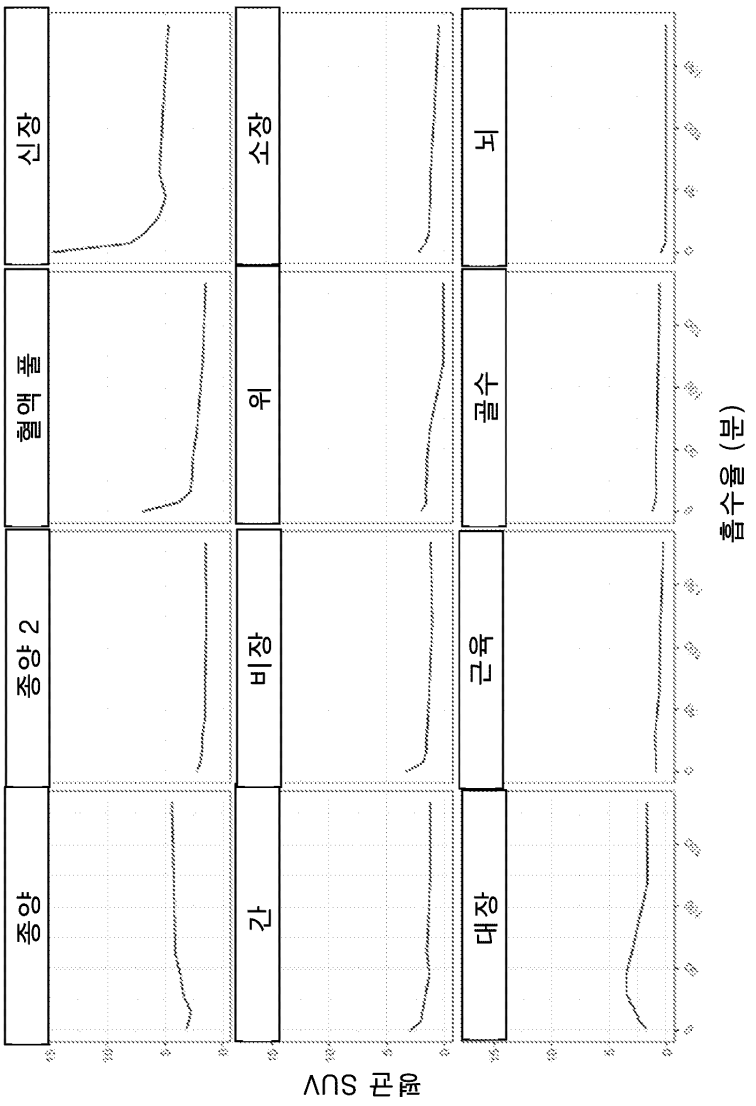
도면28



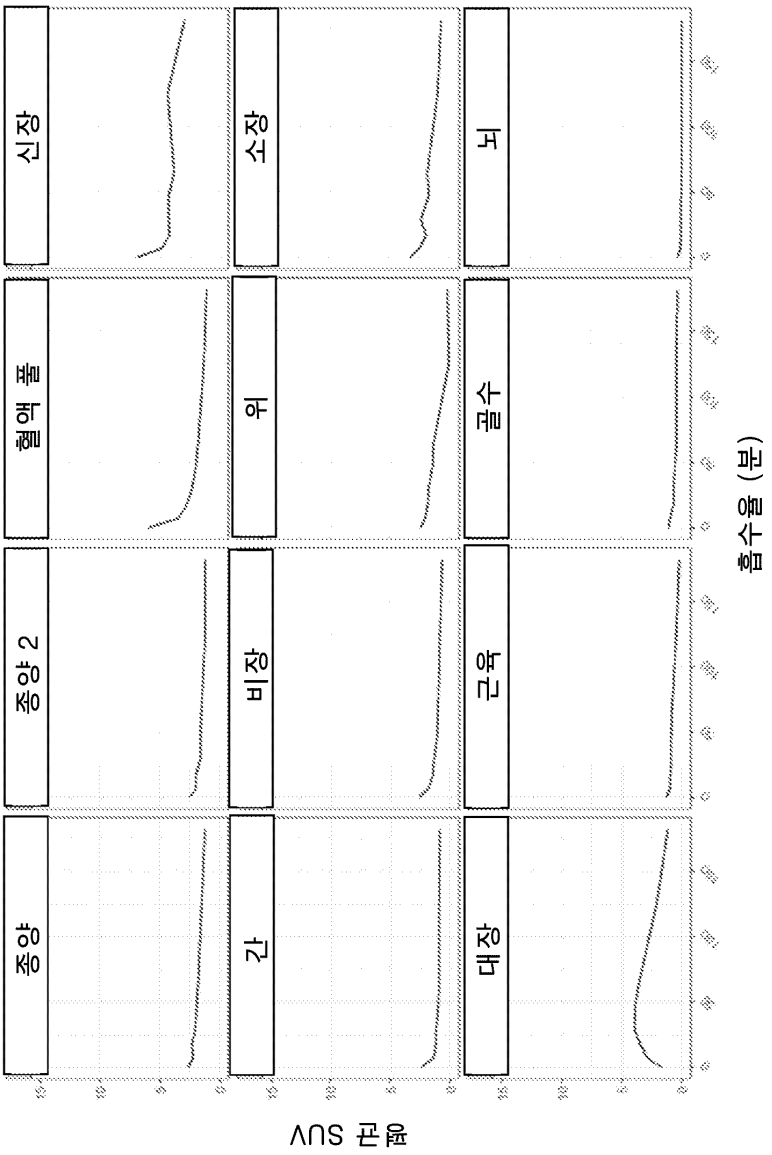
도면29



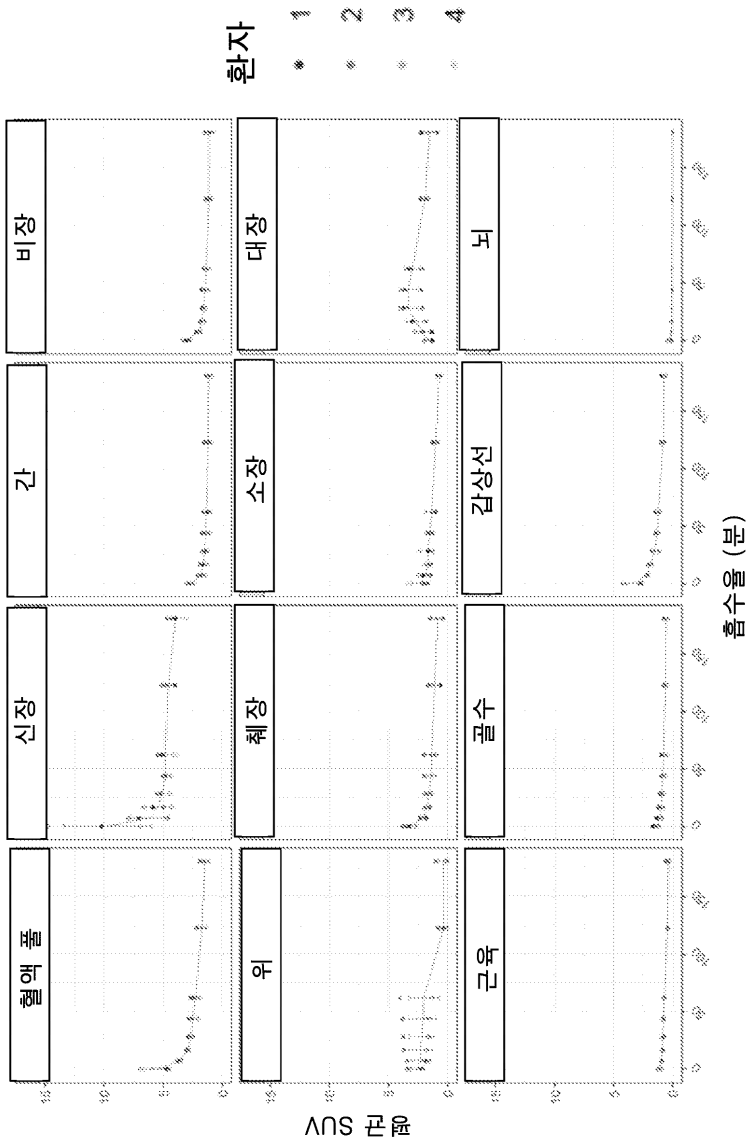
도면30



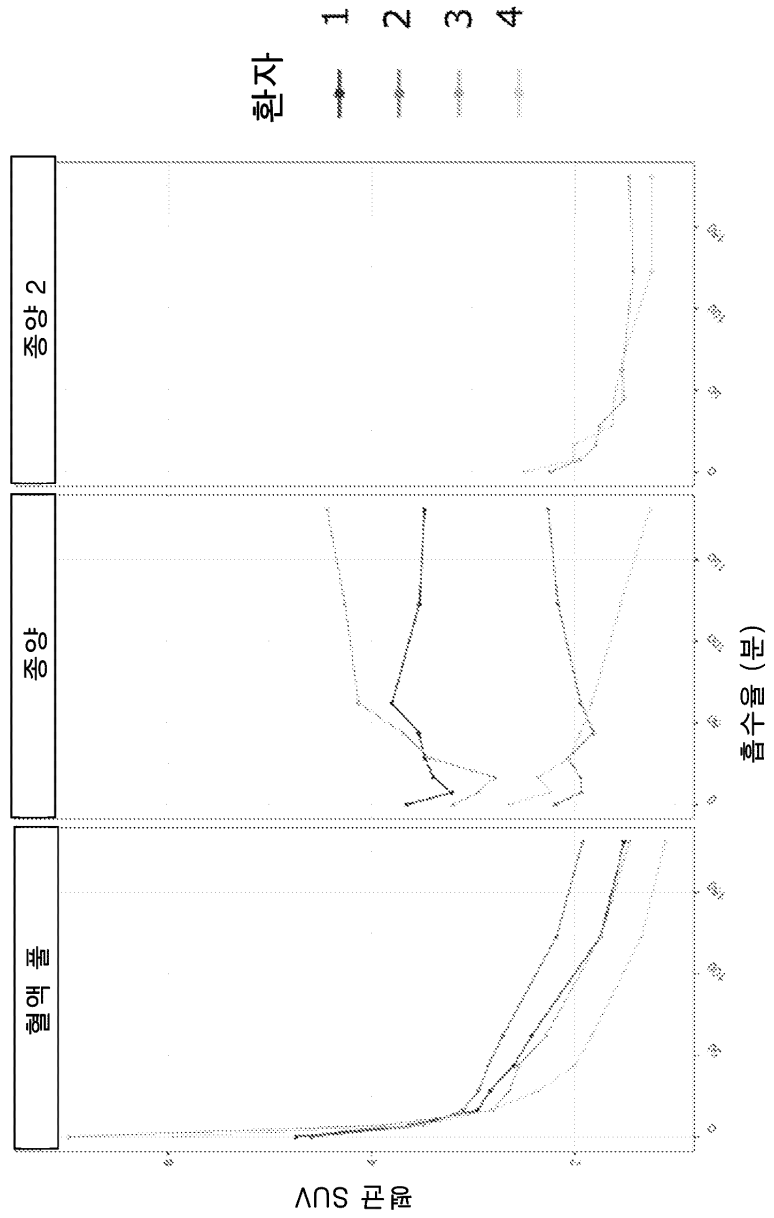
도면31



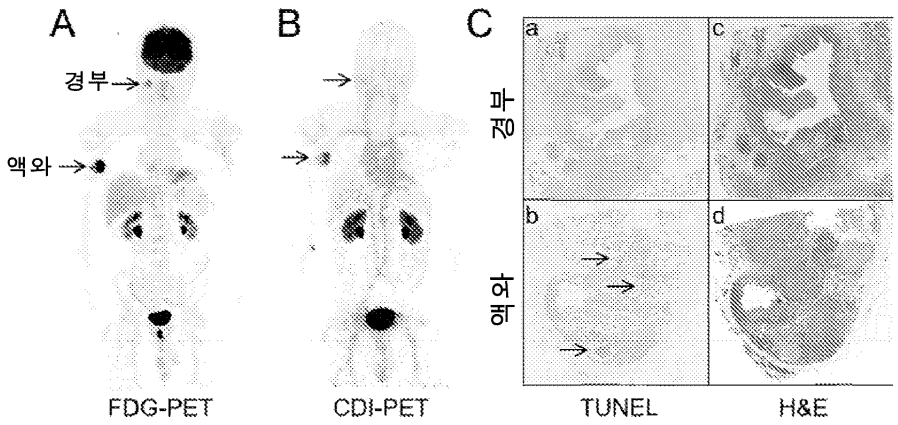
도면32



도면33


환자
1
2
3
4
종양 2
종양
혈액 풀
흡수율 (분)
평균 SUV

도면34


A
경부
액와
FDG-PET
B
CDI-PET
C
a
c
b
d
경부
허벅
TUNEL
H&E