

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-193199

(P2012-193199A)

(43) 公開日 平成24年10月11日(2012.10.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 51/00</b> (2006.01)	A 6 1 K 49/02	B 4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/48 (2006.01)	A 6 1 K 49/02	C 4 C 0 8 5
	A 6 1 K 47/48	

審査請求 有 請求項の数 1 O L (全 90 頁)

(21) 出願番号	特願2012-155112 (P2012-155112)	(71) 出願人	500039463
(22) 出願日	平成24年7月11日 (2012.7.11)		ボード・オブ・リージェンツ, ザ・ユニバーシテイ・オブ・テキサス・システム
(62) 分割の表示	特願2008-123946 (P2008-123946) の分割		アメリカ合衆国、テキサス・78701、オースティン、ウエスト・セブンス・ストリート・201
原出願日	平成13年6月1日 (2001.6.1)	(74) 代理人	100102978
(31) 優先権主張番号	09/587, 583		弁理士 清水 初志
(32) 優先日	平成12年6月2日 (2000.6.2)	(74) 代理人	100102118
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 春名 雅夫
(31) 優先権主張番号	09/599, 152	(74) 代理人	100160923
(32) 優先日	平成12年6月21日 (2000.6.21)		弁理士 山口 裕孝
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 エチレンジシステイン (EC) - 薬物結合体

## (57) 【要約】

【課題】画像化用に組織を標的化するための新しい放射性標識の戦略を提供することによって、先行技術の欠点および他の欠点を克服すること。

【解決手段】本発明は、放射性標識した組織特異的リガンド、ならびにこの放射性標識したリガンドを作製するための方法および組織特異的疾患を画像化するためにこの放射性標識したリガンドを使用するための方法を提供する。本発明は、組織特異的疾患画像化のための組成物を提供する。本発明のこの画像化組成物は、一般に、エチレンジシステインおよび酸アーム (acid arm) の一方または両方上のエチレンジシステインに結合体化された組織特異的リガンドでキレート化された放射性核種標識を含む。このエチレンジシステインは、放射性核種標識を有する  $N_2 S_2$  キレートを形成する。当然、このキレート化した化合物は、放射性核種とキレート化合物との間にイオン結合を含む。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

本明細書中に記載される、画像化のための組成物、方法およびキット。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

(発明の背景)

政府は、本発明の権利を所有しない。

## 【0002】

(1. 発明の分野)

本発明は、一般に、標識、放射画像化 (radio imaging) および化学合成の分野に関する。より詳細には、本発明は、標的化リガンドを放射画像化するための戦略に関する。本発明は、さらに、腫瘍の画像化および組織特異的障害の画像化において、これらの放射性標識したリガンドを使用する方法に関する。

10

## 【背景技術】

## 【0003】

(2. 関連技術の説明)

シンチグラフ腫瘍画像化の改善は、さらなる腫瘍特異的放射性医薬品の開発によって、広範囲にわたって決定される。より高い腫瘍特異性に起因して、放射性標識したリガンドおよび放射性標識した抗体は、腫瘍のシンチグラフ検出の新しい時代を開き、そして広範囲の前臨床試験の開発および評価を受けている (非特許文献 1 ~ 3 (Mathiasら、1996、1997a、1997b))。放射性核種画像化様式 (陽子射出放出断層撮影、PET; 単一光子放射型コンピュータ断層撮影、SPECT) は、放射性核種標識された放射性トレーサーの位置および密度をマッピングする診断用断層画像化技術である。CTおよびMRIは、腫瘍の位置および範囲に関するかなりの解剖的な情報を提供するが、これらの画像化様式は、浮腫、放射線壊死、グレーディング (grading) または神経膠症由来の侵襲性損傷を十分に区別し得ない。PETおよびSPECTは、代謝活性を測定することによって、腫瘍を局在化および特徴付けするために使用され得る。

20

## 【0004】

新しい腫瘍低酸素剤の開発は、一次性損傷および転移性損傷を検出するため、ならびに放射線応答性および再発までの時間を予測するために、臨床的に所望されている。現代の画像化様式のどれも、低酸素症を正確に測定しない。なぜならば、この腫瘍低酸素症の診断は、病理学的試験を必要とするからである。処置される各腫瘍において、少なくとも低酸素症のベースラインを知ることなく、低酸素腫瘍のための治療の成果を予測することは、しばしば困難である。Eppendorf ポーラログラフ酸素微小電極は、腫瘍中の酸素電圧を測定し得るが、この技術は、侵襲性であり、かつ熟練した操作者を必要とする。さらに、この技術は、アクセス可能な腫瘍 (例えば、頭部および首 (頸部)) でのみ使用され得、そして複数の読み取りが必要とされる。従って、腫瘍低酸素症を測定するための正確かつ容易な方法は、患者選択のために有用である。しかし、正常な組織に対する腫瘍の取込み比は、使用される放射性医薬品に依存して変化する。従って、新しい放射性医薬品を臨床的な実施に導入する場合に、低酸素症の標準的なEppendorf金電極測定を用いて、正常組織に対する腫瘍の取込み比を補正することが合理的である。

30

40

## 【0005】

[ $^{18}\text{F}$ ] FMISOは、頭部および頸部の腫瘍、心筋梗塞、炎症および脳虚血を診断するために使用されている (Martinら、1992; Yehら、1994; Yetら、1996; Liuら、1994)。正常組織に対する腫瘍の取込み比は、腫瘍低酸素症を評価するためのベースラインとして使用された (Yehら、1996)。 $^{18}\text{F}$  FMISOを使用する腫瘍低酸素症は明確に実証されたが、新しい画像化剤を臨床的な実施に導入することは、容易に利用可能であることおよび同位体の費用などのいくつかの他の因子に依存する。 $^{18}\text{F}$  FDGを使用する腫瘍代謝性画像化は明確に実証されたが、

50

分子画像化剤を臨床的な実施に導入することは、容易に利用可能であることおよび同位体の費用などのいくつかの他の因子に依存する。[ $^{18}\text{F}$ ]フルオロデオキシグルコース (FDG) は、腫瘍、心筋梗塞、および神経学的疾患を診断するために使用されている。さらに、PET放射性合成は、ポジトロン同位体の半減期が短いので、迅速でなければならない。 $^{18}\text{F}$ 化学もまた、複雑である。この $^{18}\text{F}$ 化学は、異なる分子において再現不可能である。従って、種々の薬物に結合体化し得るキレート剤を開発することが、理想的である。好ましい同位体は、低い費用 ( $^{18}\text{F}$ の $\$50/\text{mCi}$ に対して $\$0.21/\text{mCi}$ ) および低いエネルギー ( $^{18}\text{F}$ の $571\text{KeV}$ に対して $140\text{KeV}$ ) に起因して $^{99\text{m}}\text{Tc}$ である。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ は、 $^{99}\text{Mo}$ 発生器から容易に得られる。望ましい物理学的特性およびかなり低い値段に起因して、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ は、放射性医薬品を標識するのに好ましい。

10

## 【0006】

いくつかの化合物は、窒素キレート剤および硫黄キレート剤を使用して、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で標識されている (Blondeauら、1967; Davisonら、1980)。ビス-アミノエタンチオール四座配位子リガンド (これはまた、ジアミノジチオール化合物とも呼ばれる) は、2個のチオール硫酸原子および2個のアミノ窒素原子に対するオキソテクネチウム基の効率的な結合に基づいて、非常に安定な $\text{Tc(V)O}$ 錯体を形成することで公知である。 $^{99\text{m}}\text{Tc-L}$ 、L-エチレンジシステイン ( $^{99\text{m}}\text{Tc-EC}$ ) は、 $\text{N}_2\text{S}_2$ キレートの最近、かつ有用な例である。ECは、放射性化学的に高い純度および安定性を有する、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で容易におよび効率的に標識され得、そして活性な管状輸送体によって腎臓を介して排出される (Surmaら、1994; Van Neromら、1990、1993; Verbruggenら、1990、1992)。他のECの適用は、PET用のガリウム-68 (ポジトロン放出、 $t_{1/2} = 68$ 分) およびガドリニウム、磁気共鳴画像法 (MRI) 用の鉄もしくはマンガンでキレート化される。 $^{99\text{m}}\text{Tc-EC}$ -ネオマイシンおよび $^{99\text{m}}\text{Tc-EC}$ -デオキシグルコースが開発され、そして腫瘍の特徴付けにおけるそれらの潜在的な使用が評価された。

20

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0007】

【非特許文献1】Mathiasら、J Nucl Med, 37: 1003 - 1008, 1996

30

【非特許文献2】Mathiasら、J Nucl Med, (Supplement) 38: 87P, 1997a

【非特許文献3】Mathiasら、J Nucl Med, (Supplement) 38: 133P, 1997b

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0008】

画像化用に組織を標的化するための新しい放射性標識の戦略を提供することによって、先行技術のこれらの欠点および他の欠点を克服すること。

40

## 【課題を解決するための手段】

## 【0009】

(発明の要旨)

本発明は、画像化用に組織を標的化するための新しい放射性標識の戦略を提供することによって、先行技術のこれらの欠点および他の欠点を克服する。本発明は、放射性標識した組織特異的リガンド、ならびにこの放射性標識したリガンドを作製するための方法および組織特異的疾患を画像化するためにこの放射性標識したリガンドを使用するための方法を提供する。

本発明は、組織特異的疾患画像化のための組成物を提供する。本発明のこの画像化組成物は、一般に、エチレンジシステインおよび酸アーム (acid arm) の一方または

50

両方上のエチレンジシステインに結合体化された組織特異的リガンドでキレート化された放射性核種標識を含む。このエチレンジシステインは、放射性核種標識を有する $N_2S_2$ キレートを形成する。当然、このキレート化した化合物は、放射性核種とキレート化合物との間にイオン結合を含む。用語「EC-組織特異的リガンド結合体」、「EC-誘導体」および「EC-薬物結合体」は、標識されていないエチレンジシステイン-組織特異的リガンド化合物をいうために、本明細書中で交換可能に使用される。本明細書中で使用される場合、用語「結合体」は、共有結合した化合物をいう。

#### 【0010】

エチレンジシステインは、ビス-アミノエタンチオール(BAT)四座配位子である(これはまた、ジアミノジチオール(DADT)化合物としても公知である)。このような化合物は、2個のチオール硫酸原子および2個のアミノ窒素原子に対するオキソテクネチウム基の効率的な結合に基づいて、非常に安定なTc(V)O錯体を形成することで公知である。この $^{99m}Tc$ 標識化ジエチルエステル( $^{99m}Tc-L, L-ECD$ )は、脳内物質(brain agent)として公知である。 $^{99m}Tc-L, L-$ エチレンジシステイン( $^{99m}Tc-L, L-EC$ )は、最も極性のある代謝物であり、尿中に迅速かつ効率的に排出されることが発見された。従って、 $^{99m}Tc-L, L-EC$ は、腎機能剤として使用されてきた(Verbruggenら、1992)。

#### 【0011】

組織特異的リガンドは、哺乳動物または患者の体内に導入された場合、組織の特定の型に特異的に結合する化合物である。本発明の組成物は、実質的に任意の公知の組織特異的化合物を含み得ることが、想定される。好ましくは、本発明と組み合わせて使用される組織特異的リガンドには、抗癌剤、DNAトポイソメラーゼインヒビター、抗代謝剤、腫瘍マーカー、ホレート(folate)レセプター標的化リガンド、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンド、腫瘍低酸素症標的化リガンド、DNAインターカレーター(intercalator)、レセプターマーカー、ペプチド、ヌクレオチド、器官特異的リガンド、抗菌剤(例えば、抗生物質もしくは抗真菌剤)、グルタメートペプチド、またはグルコースを模倣する薬剤がある。このグルコースを模倣する薬剤はまた、「糖(sugar)」とも呼ばれ得る。

#### 【0012】

好ましい抗癌剤としては、メトトレキセート、ドキソルピシン、タモキシフェン、パクリタキセル、トポテカン(topotecan)、LHRH、マイトマイシンC、エトボシド、トムデクス(tomodex)、ポドフィロトキシン、ミトザントロン、カプトセシン(captoprillin)、コルヒチン、エンドスタチン(endostatin)、フルダラビンおよびゲムシタピンが挙げられる。好ましい腫瘍マーカーとしては、PSA、ER、PR、AFP、CA-125、CA-199、CEA、インターフェロン、BRCA1、シトキサン(cytosine)、p53、VEGF、インテグリン、エンドスタチン、HER-2/neu、アンチセンスマーカーまたはモノクローナル抗体が挙げられる。任意の他の公知の腫瘍マーカーまたは任意のモノクローナル抗体が本発明と組み合わせた使用に効果的であることを想定する。好ましいホレートレセプター標的化リガンドとしては、ホレート、メトトレキセートおよびトムデクスが挙げられる。好ましい腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンドまたは腫瘍低酸素症標的化リガンドとしては、アネキシンV、コルヒチン、ニトロイミダゾール、マイトマイシンまたはメトロニダゾールが挙げられる。好ましい抗菌剤としては、グラム陽性細菌およびグラム陰性細菌に対して、アンピシリン、アモキシシリン、ペニシリン、セファロsporin、クリダマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ピマリシン(natamycin)、ナフシリン、リファンピン、テトラサイクリン、バンコマイシン、プレオマイシン、およびドキシサイクリン、ならびに真菌に対して、アンホテリシンB、アマンタジン、ナイスタチン、ケトコナゾール、ポリミキシン(polymyxin)、アシクロビル、およびガンシクロビルが挙げられる。グルコースまたは糖を模倣する好ましい薬剤としては、ネオマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、プロマイシン(paromycin)、アミカシン、ト

10

20

30

40

50

ブラマイシン、ネチルマイシン、リボスタマイシン、シソマイシン、マイクロマイシン、リビドマイシン、ジベカシン ( d i b e k a c i n )、イセパマイシン ( i s e p a m i c i n )、アストロマイシン、アミノグリコシド、グルコースまたはグルコサミンが挙げられる。

#### 【 0 0 1 3 】

特定の実施形態において、エチレンジシステインと組織特異的リガンドとの間にリンカーを含むことが必要である。リンカーは、代表的に、薬物の水溶液中の水溶性を増加させるため、および薬物の親和性の変化を最小にするために使用される。この組成物の水溶性を増加させる任意のリンカーは、実質的に、本発明と組み合わせるために想定されるが、このリンカーは、一般に、ポリアミノ酸、水溶性ペプチド、または単一のアミノ酸のいずれかである。例えば、組織特異的リガンド上の官能基、または薬物が、エストラジオール、トポテカン、パクリタキセルまたはラロキシフェンエトポシドのような脂肪族OHまたはフェノールOHである場合、このリンカーは、ポリグルタミン酸 ( MW 約 7 5 0 ~ 約 1 5 , 0 0 0 )、ポリアスパラギン酸 ( MW 約 2 , 0 0 0 ~ 約 1 5 , 0 0 0 )、プロモエチルアセテート、グルタミン酸、またはアスパラギン酸である得る。この薬物の官能基は、脂肪族NH<sub>2</sub>もしくは芳香族NH<sub>2</sub>またはペプチド (例えば、ドキシソルピシン、マイトマイシン C、エンドスタチン、アネキシン V、LHRH、オクトレオチド、およびVIP) である場合、このリンカーは、ポリグルタミン酸 ( MW 約 7 5 0 ~ 約 1 5 , 0 0 0 )、ポリアスパラギン酸 ( MW 約 2 , 0 0 0 ~ 約 1 5 , 0 0 0 )、グルタミン酸またはアスパラギン酸であり得る。この薬物の官能基が、カルボン酸またはペプチド (例えば、メトトレキセートまたは葉酸) である場合、このリンカーは、エチレンジアミン、またはリジンであり得る。

10

20

#### 【 0 0 1 4 】

画像化のための好ましい放射性核種は、<sup>99m</sup>Tcであるが、他の放射性核種が、特に治療剤としての使用のために、EC組織特異的リガンド結合体または本発明のEC薬物結合体にキレート化されることが想定される。例えば、他の有用な放射性核種には、<sup>188</sup>Re、<sup>186</sup>Re、<sup>153</sup>Sm、<sup>166</sup>Ho、<sup>90</sup>Y、<sup>89</sup>Sr、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>111</sup>In、<sup>153</sup>Gd、および<sup>59</sup>Feがある。これらの組成物は、体内の特定の損傷部 (例えば、乳癌、卵巣癌、前立腺癌 (例えば、<sup>186</sup>/<sup>188</sup>Re - EC - ホレートを使用する) ならびに頭部および頸部の癌 (例えば、<sup>186</sup>/<sup>188</sup>Re - EC - ニトロイミダゾールを使用する) ) に治療放射性核種を送達するために使用される。

30

#### 【 0 0 1 5 】

本発明の特定の実施形態としては、<sup>99m</sup>Tc - EC - アネキシン V、<sup>99m</sup>Tc - EC - コルヒチン、<sup>99m</sup>Tc - EC - ニトロイミダゾール、<sup>99m</sup>Tc - EC - グルタメートペンタペプチド、<sup>99m</sup>Tc - EC - メトロニダゾール、<sup>99m</sup>Tc - EC - ホレート、<sup>99m</sup>Tc - EC - メトトレキセート、<sup>99m</sup>Tc - EC - トムデクス、<sup>99m</sup>Tc - EC - ネオマイシン、<sup>99m</sup>Tc - EC - カナマイシン、<sup>99m</sup>Tc - EC - アミノグリコシド、(グルコサミン、EC - デオキシグルコース)、<sup>99m</sup>Tc - EC - ゲンタマイシン、および<sup>99m</sup>Tc - EC - トブラマイシンが挙げられる。

#### 【 0 0 1 6 】

本発明は、さらに、画像化または治療用途のために、放射性標識したエチレンジシステイン薬物結合体またはエチレンジシステイン薬物誘導体を合成するための方法を提供する。この方法は、組織特異的リガンドを得る工程、このリガンドをエチレンジシステイン (EC) と混合して、EC組織特異的リガンド誘導体を得る工程、ならびに放射性核種および還元剤と共にEC組織特異的リガンド誘導体を混合して、放射性核種標識されたEC組織特異的リガンド誘導体を得る工程を包含する。この放射性核種は、N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>キレートを紹介してECにキレート化される。この組織特異的リガンドは、上記のように直接的またはリンカーを紹介してのいずれかで、ECの酸アームの一方または両方に結合体化される。この還元剤は、好ましくは、ジチオナイト ( d i t h i o n i t e ) イオン、スズイオンまたは鉄 ( I I ) イオンである。

40

50

## 【0017】

本発明は、さらに、画像化、治療用途のため、または診断用途もしくは予後用途のために組織特異的リガンドを標識するための方法を提供する。この標識方法は、組織特異的リガンドを得る工程、エチレンジシステイン（EC）と共に組織特異的リガンドを混合して、EC-リガンド薬物結合体を得る工程、および還元剤の存在下で、薬物結合体を $^{99m}\text{Tc}$ と反応させて、エチレンジシステインとこの $^{99m}\text{Tc}$ との間に $\text{N}_2\text{S}_2$ キレートを形成する工程を包含する。

## 【0018】

この実施形態の目的のために、組織特異的リガンドは、上記または本明細書中で議論されるいずれかのリガンドであり得る。還元剤は、任意の公知の還元剤であり得るが、好ましくは、ジチオナイトイオン、スズイオンまたは鉄（II）イオンである。

10

## 【0019】

別の実施形態において、本発明は、哺乳動物の体内のある部位を画像化する方法を提供する。この画像化方法は、 $^{99m}\text{Tc}$ 標識されたエチレンジシステイン組織特異的リガンド結合体を含む組成物の診断有効量を投与する工程、およびその部位に局在化された $^{99m}\text{Tc}$ からの放射能シグナルを検出する工程を包含する。この検出する工程は、代表的に、哺乳動物の体内にこの組成物を導入した約10分～約4時間後に実施される。より好ましくは、この検出する工程は、哺乳動物の体内にこの組成物を注入した約1時間後に実施される。

20

## 【0020】

特定の好ましい実施形態において、この部位は、感染、腫瘍、心臓、肺、脳、肝臓、脾臓、膵臓、腸または任意の他の器官である。腫瘍または感染は、哺乳動物の体内のどこかに局在化され得るが、一般に、胸部、卵巣、前立腺、子宮内膜、肺、脳、または肝臓である。この部位は、ホレート陽性癌またはエストロゲン陽性癌であり得る。

## 【0021】

本発明はまた、放射性薬学的調製物を調製するためのキットを提供する。このキットは、一般に、予め決められた量のエチレンジシステイン組織特異的リガンド結合体組成物およびこの結合体を $^{99m}\text{Tc}$ で標識するために十分な量の還元剤を含む、密閉されたバツクまたは他の任意の種の適切な容器を含む。特定の場合において、このエチレンジシステイン組織特異的リガンド結合体組成物はまた、このエチレンジシステインと組織特異的リガンドとの間にリンカーを含む。この組織特異的リガンドは、任意の特異的な組織型（例えば、本明細書中で議論される組織型）に特異的に結合する任意のリガンドであり得る。リンカーがこの組成物中に含まれる場合、このリンカーは、本明細書中で記載されるようなリンカーであり得る。

30

## 【0022】

このキット成分は、任意の適切な形態（例えば、液体形態、凍結形態または乾燥形態）であり得る。好ましい実施形態において、このキット成分は、凍結乾燥形態で提供される。このキットはまた、抗酸化剤および/または捕捉剤を含み得る。この抗酸化剤は、公知の任意の抗酸化剤であるが、好ましくは、ビタミンCであり得る。捕捉剤はまた、残りの放射性核種を結合するために存在し得る。最も市販されているキットは、捕捉剤としてグルコヘプトネートを含む。しかし、グルコヘプトネートは、約10～15%を残したまま、代表的なキット成分と完全には反応しない。この残りのグルコヘプトネートは腫瘍に達し、そして画像化結果をゆがめる。従って、本発明は、より安価で、かつより完全に反応するように、捕捉剤としてEDTAを使用することが好ましい。

40

## 【0023】

本発明の別の局面は、特定の腫瘍の治療のために、候補化合物の潜在的な有用性を決定するための予後方法である。現在、ほとんどの腫瘍は、数ヶ月および数千ドルを費やすまで、この薬物が特定の腫瘍に対して実際に有用であるかどうかのいずれの指標もなく、化学療法において「通常を選択された薬物」で処置される。本発明の画像化組成物は、標識化されたEC薬物結合体の形態で、特定の薬物を腫瘍部位に送達すること、次いで特定の薬

50

物がどうかを決定するために数時間内で部位を画像化することに有用である。

【0024】

このことに関連して、本発明の予後方法は、哺乳動物の体内の腫瘍の部位を決定する工程、腫瘍特異的な癌化学療法薬物候補物に結合体化されるECにキレート化された放射性核種を含む画像化組成物を得る工程、この組成物を哺乳動物の体内に投与する工程、ならびにこの腫瘍に対するこの候補薬物の有効性を決定するためにこの部位を画像化する工程を包含する。代表的に、この画像化工程は、哺乳動物の体内に組成物を注入した約10分～約4時間後以内で実施される。好ましくは、この画像化工程は、哺乳動物の体内に組成物を注入した約1時間後以内で実施される。

【0025】

予後組成物中のECに結合体化されたこの癌化学療法薬物候補物は、公知の癌化学療法薬物から選択され得る。このような薬物は、表2にある。癌の特定の型に特異的であることが公知の多くの抗癌剤が存在する。しかし、癌の特定の型に対する全ての抗癌剤が、あらゆる患者に有用とは限らない。従って、本発明は、処置に莫大な時間とお金を費やす前に、候補薬物の潜在的な有用性を決定する方法を初めて提供する。

【0026】

本発明のなお別の実施形態は、シンチグラフ画像化剤を調製するための試薬である。本発明の試薬は、組織特異的リガンドを含み、この組織特異的リガンドは、シンチグラフで検出可能な画像を提供するのに十分なインビボの標識部位に対する親和性を有し、 $^{99m}\text{Tc}$ 結合部分に共有結合する。 $^{99m}\text{Tc}$ 結合部分は、上記のように、この組織特異的リガンドに直接的に結合されるか、またはリンカーを介してリガンドに結合されるかのいずれかである。この $^{99m}\text{Tc}$ 結合部分は、好ましくは、+4酸化状態の $^{99m}\text{Tc}$ とエチレンジシステイン(EC)との間の $\text{N}_2\text{S}_2$ キレートである。この組織特異的リガンドは、上記のように直接的またはリンカーを介してのいずれかで、ECの酸アームの一方または両方に共有結合される。この組織特異的リガンドは、上記のようなりガンドのいずれかであり得る。

【発明の効果】

【0027】

本発明により、例えば、以下が提供される：

(項目1) 画像化のための組成物であって、以下：

放射線核種標識；

エチレンジシステイン；および

該エチレンジシステインに結合体化した組織特異的リガンド；を含み、ここで、該エチレンジシステインが、該放射線核種標識と $\text{N}_2\text{S}_2$ キレートを形成する、組成物。

(項目2) 前記組織特異的リガンドが、前記エチレンジシステインの1つまたは両方の酸アームで該エチレンジシステインと結合体化し得る、項目1に記載の組成物。 (項目3)

前記放射線核種が、 $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{183}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{183}\text{Gd}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ または $^{62}\text{Cu}$ である、項目1に記載の組成物。

(項目4) 前記放射線核種が $^{99m}\text{Tc}$ である、項目3に記載の組成物。 (項目5) 前記組織特異的リガンドが、抗癌剤、DNAトポイソメラーゼインヒビター、代謝拮抗剤、腫瘍マーカー、ホレートレセプター標的化リガンド、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンド、腫瘍低酸素標的化リガンド、DNAインターカレーター、レセプターマーカー、ペプチド、ヌクレオチド、器官特異的リガンド、抗生物質、抗真菌剤、抗体、グルタミン酸ペプチドまたはグルコースを模倣する因子である、項目1に記載の組成物。

(項目6) 前記組織特異的リガンドが、抗癌剤である、項目5に記載の組成物。 (項目7) 前記抗癌剤が、メトトレキサート、ドキソルビシン、タモキシフェン、パクリタキセル、トポテカン、LHRH、マイトマイシンC、エトポシドトムデックス、ポドフィロトキシン、ミトザントロン、カンプトセシン、コルヒチン、エンドスタチン、フルダ

10

20

30

40

50

ラビン、ゲムシタピンおよびトムデックスからなる群より選択され得る、項目 6 に記載の組成物。

(項目 8) 前記組織特異的リガンドが腫瘍マーカーである、項目 5 に記載の組成物。

(項目 9) 前記腫瘍マーカーが、PSA、ER、PR、CA-125、CA-199、CEA、AFP、インターフェロン、BRCA1、HER-2/neu、シトキサン、p53、エンドスタチンまたはモノクローナル抗体(例えば、アンチセンス)である、項目 8 に記載の組成物。

(項目 10) 前記組織特異的リガンドが、ホレートレセプター標的化リガンドである、項目 5 に記載の組成物。

(項目 11) 前記ホレートレセプター標的化リガンドが、ホレート、メトトレキセートまたはトムデックスである、項目 10 に記載の組成物。

(項目 12)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレートとしてさらに規定される、項目 11 に記載の組成物。

(項目 13)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-メトトレキセートとしてさらに規定される、項目 11 に記載の組成物。

(項目 14)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-トムデックスとしてさらに規定される、項目 11 に記載の組成物。

(項目 15) 前記組織特異的リガンドが、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンドまたは腫瘍低酸素標的化リガンドである、項目 5 に記載の組成物。

(項目 16) 前記組織特異的リガンドが、アネキシンV、コルヒチン、ニトロイミダゾール、マイトマイシンまたはメトロニダゾールである、項目 15 に記載の組成物。(項目 17)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-アネキシンVとしてさらに規定される、項目 16 に記載の組成物。

(項目 18)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-コルヒチンとしてさらに規定される、項目 16 に記載の組成物。

(項目 19)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ニトロイミダゾールとしてさらに規定される、項目 16 に記載の組成物。

(項目 20)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-メトロニダゾールとしてさらに規定される、項目 16 に記載の組成物。

(項目 21) 前記組織特異的リガンドが、グルタミン酸ペプチド(分子量 750~15,000)である、項目 5 に記載の組成物。

(項目 22)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-グルタミン酸ペプチドとしてさらに規定される、項目 21 に記載の組成物。

(項目 23) 前記組織特異的リガンドが、グルコースを模倣する因子である、項目 5 に記載の組成物。

(項目 24) グルコースを模倣する前記因子が、ネオマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、パロマイシン、アミカシン、トブラマイシン、ネチルマイシン、リボスタマイシン、シソマイシン、ミクロマイシン、リビドマイシン、ジベカシン、イセバマイシン、アストロマイシン、またはアミノグルコシドである、項目 23 に記載の組成物。(項目 25)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンとしてさらに規定される、項目 24 に記載の組成物。

(項目 26)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-カナマイシンとしてさらに規定される、項目 24 に記載の組成物。

(項目 27)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-アミノグリコシドとしてさらに規定される、項目 24 に記載の組成物。

(項目 28)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ゲンタマイシンとしてさらに規定される、項目 24 に記載の組成物。

(項目 29)  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-トブラマイシンとしてさらに規定される、項目 24 に記載の組成物。

(項目 30) ECを前記組織特異的リガンドに結合体化するリンカーをさらに含む。

10

20

30

40

50

項目 2 に記載の組成物。

(項目 3 1) 前記リンカーが、水溶性ペプチド、グルタミン酸、アスパラギン酸、プロモ酢酸エチル、エチレンジアミンまたはリジンである、項目 3 0 に記載の組成物。

(項目 3 2) 前記組織特異的リガンドが、エストラジオール、トポテカン、パクリタキセル、ラロキシフェン、エトポシド、ドキソルビシン、マイトマイシン C、エンドスタチン、アネキシン V、LHRH、オクトレオチド、VIP、メトトレキセートまたは葉酸である、項目 3 1 に記載の組成物。

(項目 3 3) 画像化のための放射標識されたエチレンジシステイン誘導体を合成する方法であって、該方法は、以下の工程：

a) 組織特異的リガンドを得る工程；

b) 該リガンドをエチレンジシステイン (EC) と混合して、EC - 組織特異的リガンド誘導体を得る工程；ならびに

c) 該 EC - 組織特異的リガンド誘導体を、放射線核種および還元剤と混合して、放射線核種標識された EC - 組織特異的リガンド誘導体を得る工程であって、ここで、該 EC が、該放射線核種と  $N_2S_2$  キレートを形成する、工程、を包含する、方法。

(項目 3 4) 前記還元剤が、亜ジチオン酸イオン、第一スズイオン、または第一鉄イオンである、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5) 画像化のために組織特異的リガンドを標識化する方法であって、該方法は、以下の工程：

a) 組織特異的リガンドを得る工程；

b) 該組織特異的リガンドをエチレンジシステイン (EC) と混合して、EC - リガンド薬物結合体を得る工程；ならびに

c) 該薬物結合体を、還元剤の存在下で  $^{99m}Tc$  と反応させて、該エチレンジシステイン (リンカーありまたはリンカーなし) と該  $^{99m}Tc$  との間に  $N_2S_2$  キレートを形成する工程、を包含する、方法。

(項目 3 6) 前記組織特異的リガンドが、抗癌剤、DNA トポイソメラーゼインヒビター、代謝拮抗剤、腫瘍マーカー、ホレートレセプター標的化リガンド、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンド、腫瘍低酸素標的化リガンド、DNA インターカレーター、レセプターマーカー、ペプチド、器官特異的リガンド、抗生物質、抗真菌剤、グルタミン酸ペプタペプチドまたはグルコースを模倣する因子である、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7) 前記還元剤が、亜ジチオン酸イオン、第一スズイオン、または第一鉄イオンである、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8) 哺乳動物身体内の部位を画像化する方法であって、 $^{99m}Tc$  標識されたエチレンジシステイン - 組織特異的リガンド結合体を含む診断有効量の組成物を投与する工程、および該部位に局在する  $^{99m}Tc$  からの放射活性シグナルを検出する工程、を包含する、方法。

(項目 3 9) 前記部位が腫瘍である、項目 3 8 に記載の方法。(項目 4 0) 前記部位が感染である、項目 3 8 に記載の方法。(項目 4 1) 前記部位が、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、子宮内膜、心臓、肺、脳、肝臓、ホレート (+) 癌、ER (+) 癌、脾臓、膵臓、または腸である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 2) 放射性薬学的調製物を調製するためのキットであって、該キットは、所定量のエチレンジシステイン - 組織特異的リガンド結合体組成物および  $^{99m}Tc$  を用いて該結合体を標識するために十分量の還元剤を含むシールされた容器を備える、キット。

(項目 4 3) 前記エチレンジシステイン - 組織特異的リガンド結合体組成物が、該エチレンジシステインと該組織特異的リガンドとの間にさらにリンカーを含む、項目 4 2 に記載のキット。

(項目 4 4) 前記組織特異的リガンドが、抗癌剤、DNA トポイソメラーゼインヒビター、代謝拮抗剤、腫瘍マーカー、ホレートレセプター標的化リガンド、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンド、腫瘍低酸素標的化リガンド、DNA インターカレーター、レセ

10

20

30

40

50

プターマーカー、ペプチド、器官リガンド、抗生物質、抗真菌剤、グルタミン酸ペントペプチドまたはグルコースを模倣する因子である、項目 4 2 に記載のキット。 (項目 4 5)

前記組織特異的リガンドが、エストラジオール、トボテカン、バクリタキセル、ラロキシフェン、エトポシド、ドキシソルピシン、マイトマイシン C、エンドスタチン、アネキシン V、LHRH、オクトレオチド、VIP、メトトレキセートまたは葉酸である、項目 4 3 に記載のキット。

(項目 4 6) 前記リンカーが、水溶性ペプチド、グルタミン酸、ポリグルタミン酸、アスパラギン酸、ポリアスパラギン酸、プロモ酢酸エチル、エチレンジアミンまたはリジンである、項目 4 5 に記載のキット。

(項目 4 7) シンチグラフィ画像化剤を調製するための試薬であって、 $^{99m}\text{Tc}$  結合部位に共有結合した組織特異的リガンドを含む、試薬。

(項目 4 8) 前記  $^{99m}\text{Tc}$  結合部分が、エチレンジシステインである、項目 4 7 に記載の試薬。

(項目 4 9) 前記組織特異的リガンドが、抗癌剤、DNAトポイソメラーゼインヒビター、代謝拮抗剤、腫瘍マーカー、ホレートレセプター標的化リガンド、腫瘍アポトーシス細胞標的化リガンド、腫瘍低酸素標的化リガンド、DNAインターカレーター、レセプターマーカー、ペプチド、器官特異的リガンド、抗生物質、抗真菌剤、グルタミン酸ペントペプチドまたはグルコースを模倣する因子である、項目 4 8 に記載の試薬。 (項目 5 0)

前記組織特異的リガンドと前記  $^{99m}\text{Tc}$  結合部位との間にさらにリンカーを含む、項目 4 8 に記載の試薬。

(項目 5 1) 腫瘍に対する候補薬物の有効性を決定する方法であって、該方法は、以下：

a) 候補薬物を得る工程；

b) 該候補薬物をエチレンジシステイン (EC) と結合体化して、EC - 候補薬物結合体を生成する工程；

c) 該候補薬物結合体を、 $^{99m}\text{Tc}$  を用いてキレート化して、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - 候補薬物結合体を生成する工程；

d) 該  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - 候補薬物結合体を、腫瘍を有する患者に導入する工程；および

e) 該患者を画像化して、該腫瘍に対する該候補薬物の有効性を決定する工程、を包含する、方法。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図 1】図 1 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - ホレートの合成スキームである。

【図 2】図 2 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - MTX (メトトレキセート) の合成スキームである。

【図 3】図 3 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - TDX (トムデクス (tomudex)) の合成スキームである。

【図 4】図 4 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC および  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - ホレートの生体分布研究である。

【図 5】図 5 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC ホレートを用いた腫瘍 / 筋肉カウント比および腫瘍 / 血液カウント比についてのブロック研究である。

【図 6】図 6 A および図 6 B は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC 注射群と比較した、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC ホレート注射群における腫瘍のシンチグラフィ画像である。

【図 7】図 7 は、EC - MN (メトロニダゾール) の合成スキームである。

【図 8 A】図 8 A は、EC - NIM についての合成スキームを示す。

【図 8 B】図 8 B は、EC - NIM についての構造の  $^1\text{H}$  - NMR 確認を示す。

【図 9】図 9 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - MN、 $^{18}\text{F}$  FMISO および  $^{131}\text{I}$  IMISO についての生体分布研究 (腫瘍 / 血液比) である。

【図 10】図 10 は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC、 $^{18}\text{F}$  FMISO および  $^{131}\text{I}$  IMISO

10

20

30

40

50

ISOについての生体分布研究（腫瘍／筋肉比）である。

【図11】図11Aは、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MN注射群の腫瘍のシンチグラフィ画像であり、図11Bは、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC注射群の腫瘍のシンチグラフィ画像である。

【図12】図12は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNでの注射の1時間後において実施したオートラジオグラムである。

【図13】図13は、イヌ血清サンプル中の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNの安定性を示す。

【図14A】図14Aは、ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MN 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの胸部腫瘍取り込みを示す。

【図14B】図14Bは、コントロールと比較した、パクリタキセルで処理したラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MN 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの胸部腫瘍取り込みを示す。

【図15A】図15Aは、ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIM 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの卵巣腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルを用いて処理したラットにおける腫瘍取り込み（図15B）は、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込み（図15A）よりも少ない。肉腫を有するラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの腫瘍取り込みもまた示す。図15Cは、パクリタキセルで処理した肉腫保有ラットにおける腫瘍取り込みを示し、一方、図15Dは、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルで処理した後に、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの取り込みの減少したが存在した。

【図15B】図15Aは、ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIM 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの卵巣腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルを用いて処理したラットにおける腫瘍取り込み（図15B）は、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込み（図15A）よりも少ない。肉腫を有するラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの腫瘍取り込みもまた示す。図15Cは、パクリタキセルで処理した肉腫保有ラットにおける腫瘍取り込みを示し、一方、図15Dは、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルで処理した後に、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの取り込みの減少したが存在した。

【図15C】図15Aは、ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIM 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの卵巣腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルを用いて処理したラットにおける腫瘍取り込み（図15B）は、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込み（図15A）よりも少ない。肉腫を有するラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの腫瘍取り込みもまた示す。図15Cは、パクリタキセルで処理した肉腫保有ラットにおける腫瘍取り込みを示し、一方、図15Dは、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルで処理した後に、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの取り込みの減少したが存在した。

【図15D】図15Aは、ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIM 対  $^{99m}\text{Tc}$ -ECの卵巣腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルを用いて処理したラットにおける腫瘍取り込み（図15B）は、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込み（図15A）よりも少ない。肉腫を有するラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの腫瘍取り込みもまた示す。図15Cは、パクリタキセルで処理した肉腫保有ラットにおける腫瘍取り込みを示し、一方、図15Dは、パクリタキセルで処理していないラットにおける腫瘍取り込みを示す。パクリタキセルで処理した後に、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-NIMの取り込みの減少したが存在した。

【図16】図16は、EC-GAP（ペンタグルタメート）の合成スキームである。

【図17】図17は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAP注射群における胸部腫瘍のシンチグラフィ画像である。

【図18】図18は、異なる時間間隔での、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEX V注射群における胸部腫瘍のシンチグラフィ画像である。

【図19A】図19Aおよび図19Bは、卵巣腫瘍保有群におけるパクリタキセル処理前（図19A）とパクリタキセル処理後（図19B）との間の、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEX Vの取り込み差異の比較である。

10

20

30

40

50

【図19B】図19Aおよび図19Bは、卵巣腫瘍保有群におけるパクリタキセル処理前（図19A）とパクリタキセル処理後（図19B）との間の、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ANNEX V}$ の取り込み差異の比較である。

【図20A】図20Aおよび図20Bは、肉腫腫瘍保有群におけるパクリタキセル処理前（図20A）とパクリタキセル処理後（図20B）との間の、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ANNEX V}$ の取り込み差異の比較である。

【図20B】図20Aおよび図20Bは、肉腫腫瘍保有群におけるパクリタキセル処理前（図20A）とパクリタキセル処理後（図20B）との間の、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ANNEX V}$ の取り込み差異の比較である。

【図21】図21は、EC-COL（コルヒチン）の合成スキームである。

【図22】図22は、EC-COL合成において分解生成物が観察されなかったことを示す。

【図23】図23は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{COL}$ についての、時間関数としての腫瘍対筋肉比および腫瘍対血液比である。

【図24】図24は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC}$ についての、時間関数としての腫瘍対筋肉比および腫瘍対血液比である。

【図25】図25は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{COL}$ を用いた胸部腫瘍保有ラットにおけるインビボ画像研究である。

【図26】図26は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC}$ を用いた胸部腫瘍保有ラットにおけるインビボ画像研究である。

【図27】図27は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{COL}$ 対 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC}$ の、注射後のコンピュータで輪郭をとった目的の領域である。

【図28】図28は、発作に罹患した59歳の男性患者の $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{MN}$ を用いたSPECTである。画像は、注射1時間後に撮影した。

【図29】図29は、図28と同じ患者のMRI T1重み付け画像である。

【図30】図30は、発作1日後の73歳の男性患者の、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{MN}$ を用いた注射の1時間後でのSPECTである。

【図31】図31は、発作12日後の図30で画像化した同じ73歳の男性患者の、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{MN}$ を用いた注射の1時間後でのSPECTである。

【図32】図32は、発作1日後の図30で画像化した同じ73歳の男性発作患者のCTである。

【図33】図33は、発作12日後の図32で画像化した同じ73歳の男性発作患者のCTである。画像化にCTを用いた1日目と12日目との間に顕著な差がないことに注意する。

【図34】図34は、発作に罹患した72歳の男性患者の $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{MN}$ を用いた注射の1時間後でのSPECTである。

【図35】図35は、図34で画像化した同じ72歳の男性発作患者のCTである。CTがいかに病変サイズを誇張しているかに注意すること。

【図36】図36は、 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ネオマイシン}$ の合成スキームである。

【図37A】 $^{99m}\text{Tc} - \text{EC}$ および $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ネオマイシン}$ （100  $\mu\text{Ci}$  / ラット、静脈内）の投与後の胸部腫瘍保有ラットのシンチグラフィ画像は、この腫瘍が注射後0.5～4時間で良好に可視化され得ることを示す。

【図37B】図37Bは、乳癌患者の $^{99m}\text{Tc} - \text{EC} - \text{ネオマイシン}$ （30 mCi、静脈内）を用いたシンチマンモグラフィである。画像は、注射2時間後に撮影した。

【図38A】図38Aは、ECの $^1\text{H} - \text{NMR}$ である。

【図38B】図38Bは、ネオマイシンの $^1\text{H} - \text{NMR}$ である。

【図38C】図38Cは、EC-ネオマイシンの $^1\text{H} - \text{NMR}$ である。

【図39】図39Aおよび図39Bは、EC-ネオマイシンの質量分析である（M+112.55）。

【図40A】図40Aは、ECのUV波長スキャンである。

10

20

30

40

50

- 【図40B】図40Bは、ネオマイシンのUV波長スキャンである。
- 【図40C】図40Cは、EC-ネオマイシンのUV波長スキャンである。
- 【図41】図41は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンのラジオ-TLC分析である。
- 【図42】図42は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンのHPLC分析である（放射能検出器）。
- 【図43】図43は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンのHPLC分析である（UV 254nm）。
- 【図44】図44は、 $^{18}\text{F}$ -FDGのHPLC分析である（放射能検出器）。
- 【図45】図45は、 $^{18}\text{F}$ -FDGのHPLC分析である（UV 254nm）。
- 【図46】図46は、肺癌細胞株における一連の $^{99m}\text{Tc}$ -EC薬物結合体のインビトロ細胞取り込みアッセイである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンは、試験した薬剤において最も高い取り込みを示した。
- 【図47】図47は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGの細胞（A549）取り込みに対するグルコースの影響を示す。
- 【図48A】図48Aは、薬物取り込み（%）として示され、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGの細胞（H1299）取り込みに対するグルコースの影響を示す。
- 【図48B】図48Bは、グルコース充填に伴う変化（%）として示され、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGの細胞（H1299）取り込みに対するグルコースの影響を示す。
- 【図49】図49は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-グルコサミンの合成スキームである。
- 【図50】図50は、グルコースのヘキソキナーゼアッセイである。
- 【図51】図51は、グルコサミンのヘキソキナーゼアッセイである。
- 【図52】図52は、EC-グルコサミンのヘキソキナーゼアッセイである。
- 【図53】図53は、EC-GAP-グルコサミンのヘキソキナーゼアッセイである。
- 【図54】図54は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAP-グルコサミンの合成スキームである。
- 【図55A】図55A~図55Cは、肺癌細胞株（A549）における $^{99m}\text{Tc}$ -EC（図55A）、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコース-GAP（図55B）、および $^{18}\text{F}$ -FDG（図55C）のインビトロ細胞取り込みアッセイである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGは、 $^{18}\text{F}$ -FDGと比較して類似の取り込みを示した。
- 【図55B】図55A~図55Cは、肺癌細胞株（A549）における $^{99m}\text{Tc}$ -EC（図55A）、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコース-GAP（図55B）、および $^{18}\text{F}$ -FDG（図55C）のインビトロ細胞取り込みアッセイである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGは、 $^{18}\text{F}$ -FDGと比較して類似の取り込みを示した。
- 【図55C】図55A~図55Cは、肺癌細胞株（A549）における $^{99m}\text{Tc}$ -EC（図55A）、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコース-GAP（図55B）、および $^{18}\text{F}$ -FDG（図55C）のインビトロ細胞取り込みアッセイである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGは、 $^{18}\text{F}$ -FDGと比較して類似の取り込みを示した。
- 【図56】図56は、胸部腫瘍保有ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPの腫瘍対組織カウント密度比である。
- 【図57】図57は、乳癌細胞株（13762）における注射2時間後の、グルコース充填を伴う $^{18}\text{F}$ -FDGのインビトロ細胞取り込みである。
- 【図58】図58は、胸部腫瘍保有マウスにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンのインビトロ組織取り込みである。
- 【図59】図59は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースの合成スキームである。
- 【図60】図60は、EC-デオキシグルコースの質量分析である。
- 【図61】図61は、EC-デオキシグルコース（EC-DG）の $^1\text{H}$ -NMRである。
- 【図62】図62は、グルコサミンの $^1\text{H}$ -NMRである。
- 【図63】図63は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGのラジオ-TLC分析である。
- 【図64】図64は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースおよび $^{99m}\text{Tc}$ -ECの

HPLC分析である(放射能検出器)。

【図65】図65は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースおよび $^{99m}\text{Tc}$ -ECのHPLC分析である(放射能検出器、混合)。

【図66】図66は、グルコースのヘキソキナーゼアッセイである。

【図67】図67は、FDGのヘキソキナーゼアッセイである。

【図68】図68は、EC-DGのヘキソキナーゼアッセイである。

【図69】図69は、肺癌細胞株(A549)における $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコース、 $^{99m}\text{Tc}$ -ECおよび $^{18}\text{F}$ -FDGのインビトロ細胞取り込みアッセイである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGは、 $^{18}\text{F}$ -FDGと比較して類似した取り込みを示した。

【図70】図70は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGの胸部細胞(13762細胞株)取り込みに対するd-グルコースおよびl-グルコースの影響である。 10

【図71】図71は、 $^{18}\text{F}$ -FDGの胸部細胞(13762細胞株)取り込みに対するd-グルコースおよびl-グルコースの影響である。

【図72】図72は、 $^{18}\text{F}$ -FDGの肺細胞(A549細胞株)取り込みに対するd-グルコースおよびl-グルコースの影響である。

【図73】図73は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGの肺細胞(A549細胞株)取り込みに対するd-グルコースおよびl-グルコースの影響である。

【図74】図74は、グルコサミンおよびEC-DG(1.2mmol/kg、静脈内)によって誘導されたインビボ血中グルコースレベルの影響である。

【図75】図75は、FDG(1.2mmol/kgおよび1.9mmol/kg、静脈内)およびインスリンによって誘導されたインビボ血中グルコースレベルの影響である。 20

【図76】図76は、胸部腫瘍保有ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースの腫瘍対組織カウント密度比である。

【図77】図77は、胸部腫瘍保有ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースのインビボ生体分布である。

【図78】図78は、肺腫瘍保有マウスにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースのインビボ組織取り込みである。

【図79】図79は、肺腫瘍保有マウスにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンのインビボ組織取り込みである。

【図80】図80は、肺腫瘍保有マウスにおける $^{18}\text{F}$ -FDGのインビボ組織取り込みである。 30

【図81】 $^{99m}\text{Tc}$ -ECおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコース(100 $\mu\text{Ci}$ /ラット、静脈内)投与後の胸部腫瘍保有ラットの平面画像は、この腫瘍が、注射後0.5~4時間で良好に可視化され得ることを示した。

【図82A】図82Aは、悪性神経膠星状細胞腫を有する患者のMRIである。

【図82B】図82Bは、悪性神経膠星状細胞腫を有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いたSPECTである。

【図83A】図83Aは、出血性神経膠星状細胞腫を有する患者のMRIである。

【図83B】図83Bは、悪性神経膠星状細胞腫を有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いたSPECTである。 40

【図84A】図84Aは、良性髄膜腫を有する患者のMRIである。

【図84B】良性髄膜腫を有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いたSPECTは、焦点が強調された取り込みを示さなかった。

【図85A】図85Aは、肺におけるTBを有する患者のCTである。

【図85B】TBを有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いたSPECTは、焦点が強調された取り込みを示さなかった。

【図86A】図86Aは、肺癌を有する患者のCTである。

【図86B】図86Bは、肺癌を有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いた全身画像である。

【図86C】図86Cは、肺癌を有する患者の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGを用いたSPECT 50

Tであり、腫瘍は、焦点が強調された取り込みを示した。

【発明を実施するための形態】

【0029】

(例示的な実施形態の説明)

核医学の分野において、特定の病理的状态は、局在化するか、またはそれらの程度が、少量の内部投与される放射性標識されたトレーサ化合物(放射性トレーサまたは放射性薬品と呼ばれる)の分布を検出することによって評価される。これらの放射性薬品を検出するための方法は、画像化法または放射性画像化法として一般的に公知である。

【0030】

放射性画像化において、放射性標識は、線放射放射性核種であり、そして放射性トレーサは、線検出カメラを使用して位置決めされる(このプロセスは、しばしば、シンチグラフィと呼ばれる)。画像化部位は、検出可能である。なぜなら、放射性トレーサは、病理学的部位に局在化する(陽性コントラストと呼ばれる)か、あるいは、放射性トレーサがこのような病理学的部位に特異的に局在化しないように選択される(陰性コントラストと呼ばれる)かのいずれかであるからである。

10

【0031】

種々の放射性核種( $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ または $^{186}\text{Re}$ を含む)は、放射性画像化に有用であることが公知である。より良い画像化特性および低価格に起因して、可能な場合、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ および $^{111}\text{In}$ 標識された化合物を、対応する $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識化合物に置き換える試みがな

20

【0032】

ヒトにおける最適な放射線画像化のために、多くの因子が考慮されなければならない。検出の効率を最大にするために、100~200keVの範囲でエネルギーを放射する放射性核種が好ましい。患者に対する吸収される放射線量を最小にするために、放射性核種の物理的半減期は、画像化手順が可能である限り短くあるべきである。検査が任意の日にそしてその日の任意の時間で行われ得るために、臨床場所においていつでも利用可能な放射性核種の供給源を有することが有利である。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ は、140keVで線を放射し、6時間の物理的半減期を有し、そしてモリブデン-99/テクネチウム-99m発生器を使用して、現場で容易に利用可能であるので、好ましい放射性核種である。

30

【0033】

ビスアミノエタンチオール4座配位リガンド(ジアミノジチオール化合物とも呼ばれる)は、2つのチオール硫黄および2つの窒素原子に対するオキソテクネチウム基の効率的な結合に基づいて、非常に安定なTc(V)O-錯体を形成することが公知である(Davisonら、1980;1981;Verbruggenら、1992)。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-エチレンジシステイン( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC)は、最近成功した $\text{N}_2\text{S}_2$ キレート

40

【0034】

本発明は、画像化のために、リガンドを特定の組織型に標的化させるための標識剤とし

50

て $^{99m}\text{Tc}$ -ECを利用する。ECを組織標的リガンドに結合する利点は、組織標的リガンドの特異的結合特性が目的の領域上で放射性シグナルを濃縮することである。標識化戦略としての $^{99m}\text{Tc}$ -ECの使用が、実質的に任意の型の化合物で効果的であり得ることが考慮されるが、いくつかの提案される好ましいリガンドは、例示の目的のために本明細書中において提供される。本発明の $^{99m}\text{Tc}$ -EC薬物結合体が腫瘍だけでなく、他の組織特異的状态（例えば、感染、低酸素組織（発作）、心筋梗塞、アポトーシス細胞、アルツハイマー病および子宮内膜症）をも画像化するのに有用であり得る。

#### 【0035】

放射標識タンパク質およびペプチドは、先行技術において報告されている（Egerら、米国特許第4,832,940号、Abramsら、1990；Bakkerら、1990；Goldsmithら、1995,1997；Olexaら、1982；Ranbyら、1988；Hadleyら、1988；Leesら、1989；Sobelら、1989；Stuttle、1990；Maraganoreら、1991；Rodwellら、1991；Tubisら、1968；Sandrehagen 1983）。しかし、 $^{99m}\text{Tc}$ -ECは、本発明の前に、任意のリガンド（ジエチルエステル以外）と組み合わせて使用されなかった（Kabasakiら、2000）。ECのジエチルエステルは、脳血流剤として使用された（Kikukawara、2000）。

10

#### 【0036】

放射性画像化について最適ではあるが、 $^{99m}\text{Tc}$ の化学は、他の元素の化学ほど完全には研究されておらず、このため、 $^{99m}\text{Tc}$ での放射標識の方法は、豊富ではない。 $^{99m}\text{Tc}$ は、通常、モリブデン-99/テクネチウム-99m発生器から、 $^{99m}\text{Tc}$ ペルテクネート（ $\text{TcO}_4^-$ ；+7の酸化状態のテクネチウム）として通常得られる。しかし、ペルテクネートは、他の化合物と十分結合しない。従って、化合物を放射標識するために、 $^{99m}\text{Tc}$ ペルテクネートは、別の形態に変換されなければならない。テクネチウムが水溶液において安定なイオンを形成しないので、分解を妨げ、 $^{99m}\text{Tc}$ の不溶性の二酸化テクネチウムへの変換も、ペルテクネートへ戻る変換も生じることを妨げるのに十分な動力的および熱学的安定性を有する配位錯体の形態でこのような溶液中で保持されなければならない。

20

#### 【0037】

放射標識化のために、 $^{99m}\text{Tc}$ 錯体が、テクネチウムイオンの周りのドナー基のすべてが単一のキレートリガンドによって提供される（この場合、エチレンジシステイン）であるキレートとして形成されることが特に有利である。これによって、キレート化された $^{99m}\text{Tc}$ が、エチレンジシステインとリガンドとの間で直接かまたは単一のリンカーを介してのいずれかで、組織特異的リガンドに共有結合され得る。

30

#### 【0038】

テクネチウムは、多くの酸化状態（+1、+2、+4、+5、+6および+7）を有する。+1の酸化状態である場合、 $\text{Tc MIBI}$ と呼ばれる。 $\text{Tc MIBI}$ は、熱反応を用いて作製されなければならない（Seaboldら、1999）。本発明の目的のために、 $\text{Tc}$ が+4の酸化状態であることが重要である。この酸化状態は、ECを用いる $\text{N}_2\text{S}_2$ キレートを形成するのに理想的である。従って、本発明の薬物結合体と放射性テクネチウムとの錯体の形成において、テクネチウム錯体（好ましくは、 $^{99m}\text{Tc}$ ペルテクネートの塩）は、還元剤の存在下で、本発明の薬物結合体と反応する。

40

#### 【0039】

本発明における使用のための好ましい還元剤は、 $\text{Tc}$ をその+4の酸化状態に還元するための塩化スズ（ $\text{SnCl}_2$ ）の形態のスズイオンである。しかし、他の還元剤（例えば、ジチオネートイオンまたは鉄（II）イオン）が本発明と組み合わせて有用であり得る。還元剤が固相還元剤であり得ることも意図される。還元剤の量は、重要であり得る。なぜなら、コロイドの形成を避けることが必要であるからである。例えば、約100~約300mCiの $\text{Tc}$ ペルテクネート当たり、約10~約100 $\mu\text{g}$ の $\text{SnCl}_2$ を使用することが好ましい。最も好ましい量は、約200mCiの $\text{Tc}$ ペルテクネートおよび約

50

2 ml の生理食塩水当たり、約 0.1 mg の  $SnCl_2$  である。これは、代表的には、5 人の患者における使用に十分な Tc - EC 組織特異的リガンド結合体を作製する。

【0040】

エチレンジシステインの酸化を防ぐために、組成物中に酸化防止剤を含むこともしばしば重要である。本発明と組み合わせた使用に好ましい酸化防止剤は、ビタミンC (アスコルビン酸) である。しかし、他の酸化防止剤 (例えば、トコフェロール、ピリドキシン、チアミンまたはルチン) もまた有用であり得ることが意図される。

【0041】

一般的に、本発明と組み合わせた使用のためのリガンドは、酸のアームのいずれかまたは両方で EC に結合し得るアミノ基またはヒドロキシ基のいずれかを有する。アミノ基またはヒドロキシル基が利用可能でない場合 (例えば、酸官能基)、所望のリガンドは、リンカー (例えば、エチレンジアミン、アミノプロパノール、ジエチレントリアミン、アスパラギン酸、ポリアスパラギン酸、グルタミン酸、ポリグルタミン酸、またはリジン) を加えることによって本発明の方法を使用して、なお EC に結合し、そして  $^{99m}Tc$  で標識される。本発明における使用に意図されるリガンドとしては、限定しないが、新脈管形成 / 抗新脈管形成リガンド、DNA トポイソメラーゼインヒビター、解糖マーカ、抗代謝リガンド、アポトーシス / 低酸素リガンド、DNA インターカレーター、レセプターマーカー、ペプチド、ヌクレオチド、抗菌剤 (例えば、抗生物質または抗真菌剤)、器官特異的リガンドおよび糖または薬剤 (グルコースを模倣する) が挙げられる。

10

【0042】

EC 自体は、水溶性である。本発明の EC - 薬物結合体もまた水溶性であることが必要である。本発明と組み合わせて使用されるリガンドの多くは、水溶性であるか、または EC と結合した場合に水溶性化合物を形成する。しかし、組織特異的リガンドが水溶性でない場合、リガンドの溶解性を増加するリンカーが使用され得る。リンカーは、脂肪族アルコールまたは芳香族アルコール、アミンまたはペプチドにあるいはカルボキシルおよびまたはペプチドに結合し得る。リンカーは、ポリアミノ酸 (ペプチド) またはアミノ酸 (例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸またはリジン) のいずれかであり得る。表 1 は、特異的薬物官能基に対する所望のリンカーを示す。

20

【0043】

【表 1】

30

表 1

薬物の官能基	リンカー	例
脂肪族アルコール (-OH)	EC-ポリ(グルタミン酸) (MW. 750-15,000) EC-ポリ(アスパラギン酸) (MW. 2000-15,000) または アミノプロパノール EC-グルタミン酸 または EC-アスパラギン酸	A
脂肪族または芳香族アミン (NH <sub>2</sub> ) あるいはペプチド	EC-ポリ(グルタミン酸) (MW. 750-15,000) EC-ポリ(アスパラギン酸) (MW. 2000-15,000) EC-グルタミン酸 (モノ-またはジエステル) EC-アスパラギン酸	B
カルボキシルまたはペプチド	エチレンジアミン → リジン	C

40

例 :

A . エストラジオール、トポテカン、パクリタキセル、ラロキシルフェン (raloxifen) エトポシド

B . ドキソルピシン、マイトマイシン C、エンドスタチン、アネキシン V、LHRH、オクトレオチド、VIP

50

### C. メトトレキサート、葉酸

本発明のEC組織特異的リガンド薬物結合体が他の放射性核種にキレート化し得、放射性核種療法に使用され得ることも想定される。一般的に、実質的に任意の、 $\alpha$ -放射体、 $\beta$ -放射体、または、 $\gamma$ -放射体が、本発明とともに使用され得ることが考えられる。好ましい、 $\alpha$ -放射体としては、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、および $^{89}\text{Sr}$ が挙げられる。好ましい $\beta$ -放射体としては、 $^{90}\text{Y}$ および $^{225}\text{Ac}$ が挙げられる。好ましい $\gamma$ -放射体としては、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ および $^{111}\text{In}$ が挙げられる。好ましい $\alpha$ -放射体としては、 $^{211}\text{At}$ および $^{212}\text{Bi}$ が挙げられる。常磁性物質（例えば、 $\text{Gd}$ 、 $\text{Mn}$ および $\text{Fe}$ ）が、本発明と組み合わせ使用のためにECとキレート化され得ることも想定される。

10

#### 【0044】

錯体およびこのような錯体を調製するための手段は、標識される本発明のEC-組織特異的リガンドの所定量および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で結合体を標識するのに十分な量の還元剤を含む密封バイアルを備えるキット形態で便利に提供される。本発明に従う $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識シンチグラフィ画像化剤は、EC-組織特異的結合体および還元剤を含むバイアルへの適切な量の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ または $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 錯体の添加、および本明細書中、以下の実施例1に記載される条件下での反応によって調製され得る。キットはまた、例えば、浸透圧を調節するための薬学的に受容可能な塩、緩衝液、保存剤、酸化防止剤などのような従来薬学的補助物質を含み得る。キットの成分は、液体形態、凍結形態または乾燥形態であり得る。好ましい実施形態において、キット成分は、凍結乾燥形態で提供される。

20

#### 【0045】

本発明によって提供される放射性標識試薬または結合体は、適切な量の放射能を有して提供される。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 放射性錯体を形成する際に、1 mL当たり約0.01 mCi ~ 約300 mCiの濃度で放射能を含む溶液で放射性錯体を形成することが一般的に好ましい。

#### 【0046】

本発明によって提供される $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識シンチグラフィ画像化剤は、哺乳動物の身体における部位を視覚化するために使用され得る。本発明に従って、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識シンチグラフィ画像化剤は、単一の単位注射可能線量で投与される。当業者に公知の任意の通常のキャリア（例えば、滅菌生理食塩水溶液または血漿）は、本発明に従って、種々の器官、腫瘍などを診断的に画像化するための注射可能溶液を調製するための放射標識の後に、利用され得る。一般的に、投与される単位線量は、約0.01 mCi ~ 約300 mCi、好ましくは10 mCi ~ 約200 mCiの放射能を有する。単位投薬量で注入される溶液は、約0.01 mL ~ 約10 mLである。静脈内投与の後に、器官または腫瘍のインビボでの画像化は、所望である場合、放射標識試薬が、患者に導入された後の数時間でまたはそれより長くにおいて行われ得る。大部分の場合、十分な量の投与線量が、シンチフォトグラフをとることを可能にするように約0.1時間以内に画像化される領域に蓄積する。診断目的または予後判定目的のためのシンチグラフィ画像化の任意の従来方法が、本発明に従って利用され得る。

30

#### 【0047】

本発明の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC標識戦略はまた、予後判定の目的のために使用され得る。ECが癌化学療法のために選択した公知の薬物（例えば、表2に列挙されるもの）に結合され得ることが想定される。次いで、これらのEC-薬物結合体は、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ で放射標識され得、そして腫瘍を有する患者に投与され得る。標識EC-薬物結合体は、腫瘍に特異的に結合する。画像化は、特定の患者の特定の腫瘍に対する癌化学療法薬物の効力を決定するために実行され得る。この方法において、医師は、続行するどの処置様式がもっとも有効か、どの化学療法薬物がもっとも有効かを迅速に決定し得る。これは、薬物を選択する工程および1回の化学療法を施す工程を包含する現在の方法に対して劇的な改善を表す。これは、薬物の効果が決定され得る前の、数か月の患者の時間および数千ドルに係る。

40

50

## 【0048】

本発明によって提供される $^{99m}\text{Tc}$ 標識EC-組織特異的リガンド結合体および錯体は、水性生理食塩水媒体のような静脈内注射のための任意の従来の媒体で、または血漿媒体において静脈内で投与され得る。このような媒体はまた、例えば、浸透圧を調節するための薬学的に受容可能な塩、緩衝液、保存剤、酸化防止剤などのような従来の薬学的補助物質を含み得る。好ましい媒体には、ノーマルセーラインおよび血漿がある。

## 【0049】

特定の好ましい標的化戦略は、さらに詳細に以下に議論される。

## 【0050】

(腫瘍葉酸レセプター標的化)

放射標識リガンド(例えば、ペンテトレオチド(pentetreotide)および血管作用性腸ペプチド)は、細胞レセプターに結合し、これらのうちのいくつかは、腫瘍細胞において過剰発現される(BrittonおよびGranowska, 1996; Kennenら, 1995; Reubiら, 1992; Goldsmithら, 1995; Virgoliniら, 1994)。これらのリガンドが免疫原性でなく、そして血漿から迅速に排除されるので、レセプター画像化は、抗体画像化と比較してより見込みがあるようである。

## 【0051】

葉酸および葉酸代謝拮抗薬(例えば、メトトレキサート)が、古典的な還元型葉酸キャリアシステムに加えて、高い親和性の葉酸レセプター(グリコシルホスファチジルイノシトール結合膜葉酸結合タンパク質)を介して、細胞に入る(Westerhofら, 1991; Orrら, 1995; HsuehおよびDolnick, 1993)。葉酸レセプター(FR)は、多くの新生物細胞型(例えば、肺癌、乳房癌、卵巣癌、頸部癌、結腸直腸癌、鼻咽頭癌、腎腺癌、悪性黒色腫および上皮細胞腫)において過剰発現されるが、主に、いくつかの正常な分化組織(例えば、脈絡叢、胎盤、甲状腺および腎臓)において発現される(Orrら, 1995; Weitmanら, 1992a; Campbellら, 1991; Weitmanら, 1992b; Holmら, 1994; Rossら, 1994; Franklिनら, 1994; Weitmanら, 1994)。FRは、葉酸結合タンパク質毒素、薬物/アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびリポソームを、葉酸レセプターを過剰発現する腫瘍細胞に送達するために使用された(Ginobbira, 1997; LeamonおよびLow, 1991; LeamonおよびLow, 1992; Leamonら, 1993; LeeおよびLow, 1994)。さらに、抗T細胞レセプター抗体に結合される抗FR抗体を含む二特異的抗体は、T細胞をFR陽性腫瘍に標的化するために使用されており、現在、卵巣癌について臨床試験にある(Canevarira, 1993; Bolhuisら, 1992; Patrickら, 1997; Coneyら, 1994; Kranzら, 1995)。同様に、この性質は、放射標識葉酸結合体(例えば、葉酸レセプター陽性腫瘍の画像化のための、 $^{67}\text{Ga}$ デフェロキサミン-葉酸および $^{111}\text{In}$ -DTPA-葉酸)を開発するために鼓舞された(Mathiasら, 1996; Wangら, 1997; Wangら, 1996; Mathiasら, 1997b)。これらの薬剤を用いた限定されたインビトロおよびインビボ研究の結果は、葉酸レセプターが、腫瘍画像化のための潜在的な標的であり得ることを示唆する。本発明において、本発明者らは、一連の新規な葉酸レセプターリガンドを開発した。これらのリガンドは、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-葉酸、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-メトトレキサート( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MTX)、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-トムデックス(tomodex)( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-TDX)である。

## 【0052】

(腫瘍低酸素標的化)

腫瘍細胞は、酸素の非存在化におけるよりも酸素の存在下において従来の照射により感受性である;腫瘍内の少ない割合の低酸素細胞でさえ、放射線に対する応答を制限し得る(Hall, 1988; Bushら, 1978; Grayら, 1953)。低酸素放射線

10

20

30

40

50

抵抗性は、多くの動物腫瘍において示されたが、ヒトにおいては少しの腫瘍型のみで示された (Dische, 1991; Gatenbyら, 1988; Nordmarkら, 1996)。ヒト腫瘍における低酸素の発生は、大部分において、組織学的知見および動物腫瘍研究から推論された。低酸素のインビボ実証は、酸素電極を用いた組織測定を必要とし、そしてこれらの技術の侵襲性は、それらの臨床的適用を限定している。

#### 【0053】

ミソナダゾール (MISO) は、低酸素細胞増感剤であり、そして異なる放射性同位体 (例えば、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) でのMISOの標識は、PETまたは平面 (planar) シンチグラフィによる十分に酸素化された活性腫瘍から、低酸素だか代謝的に活性な腫瘍を区別するのに有用であり得る。 [ $^{18}\text{F}$ ]フルオロソニダゾール (FMISO) は、腫瘍低酸素を評価するためにPETとともに使用される。最近の研究は、PET ([ $^{18}\text{F}$ ]FMISOによる細胞酸素含有量をモニターするその能力を有する) が、放射線に対する腫瘍応答を推測するための高い可能性を有することを示した (Kohら, 1992; Valkら, 1992; Martinら, 1989; Raseyら, 1989; Rasey et alら, 1990; Yangら, 1995)。PETは、視準なしで高い分解能を提供するが、臨床設定においてPET同位体を使用するコストは、ひどく高い。ヨウ素でのMISOの標識化が選択されたが、甲状腺組織における高い取り込みが観測された。従って、同位体があまり高価でなく、そして大部分の主用な医療設備において容易に入手可能である平面シンチグラフィのための化合物を開発することが望ましい。本発明において、発明者らは、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-2-ニトロイミダゾールおよび $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-メトロニダゾールの合成を提供し、そして腫瘍低酸素マーカーとしてそれらの潜在的な使用を示す。

10

20

#### 【0054】

(癌のペプチド画像化)

ペプチドおよびアミノ酸は、種々の型の腫瘍の画像化において首尾よく使用されてきた (Westerら, 1999; CoenenおよびStocklin, 1988; Radererら, 1996; Lambertら, 1990; Bakkerら, 1990; StellaおよびMathew, 1990; Butterfieldら, 1998; Piperら, 1983; Mochizukiら, DickinsonおよびHiltner, 1981)。グルタミン酸ベースのペプチドは、癌処置のための薬物キャリアとして使用されてきた (StellaおよびMathew, 1990; Butterfieldら, 1998; Piperら, 1983; Mochizukiら, 1985; DickinsonおよびHiltner, 1981)。ホレートのグルタメート部分が分解し、そしてインビボでポリグルタメートを形成することは公知である。次いで、このポリグルタメートは、ホレートに再結合されて、ホリルポリグルタメートを形成し、このホリルポリグルタメートは、グルコース代謝に関係する。グルタミン酸ペプチドを標識することは、腫瘍の悪性度を区別する際に有用であり得る。本発明において、本発明者らは、EC-グルタミン酸ペンタペプチドの合成を報告し、そして腫瘍の画像化におけるその潜在的な使用を評価する。

30

#### 【0055】

(腫瘍アポトーシス細胞の画像化)

アポトーシスは、化学療法および放射線を用いる癌の処置の間に生じる (Lennonら, 1991; Abramsら, 1990; Blakenbergら, 1998; Blakenbergら, 1999; TaitおよびSmith, 1991)。アネキシンVは、ホスホチジルセリンに結合することが知られており、このホスホチジルセリンは、腫瘍アポトーシス細胞によって過剰発現される (Blakenbergら, 1999; TaitおよびSmith, 1991)。アネキシンVによるアポトーシスの評価は、治療の効力 (例えば、疾患の進行または後退) を評価するために有用である。本発明において、本発明者らは、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-アネキシンV (EC-ANNEX) を合成し、そして腫瘍画像化におけるその潜在的な使用を評価する。

40

50

## 【0056】

(腫瘍新脈管形成の画像化)

新脈管形成は、部分的に、腫瘍増殖および転移の発生の原因である。抗有糸分裂性化合物は、抗脈管形成性であり、そして抗癌薬物としてのそれらの潜在的な使用について知られている。これらの化合物は、細胞サイクルの分裂期の間の細胞分裂を阻害する。細胞機能の生化学的プロセス(例えば、細胞分裂、細胞運動性、分泌、線毛運動およびべん毛運動、細胞内輸送、ならびに細胞の形態の維持)の間に、微小管が関係する。抗有糸分裂性化合物は、高い親和性で、微小管タンパク質(チューブリン)に結合し、微小管アセンブリを乱し、そして増幅細胞の有糸分裂の停止を引き起こすことが知られている。従って、抗有糸分裂性化合物は、微小管インヒビターとして、または紡錘体毒として、みなされる(Lu、1995)。

10

## 【0057】

多くの型の抗有糸分裂性化合物は、チューブリンに結合することによって、微小管アセンブリ-ディスアセンブリを制御する(Lu、1995; Gohら、1998; Wangら、1998; Rowinskyら、1990; Imbert、1998)。コルヒチノイド(colchicinoid)のような化合物は、コルヒチン結合部位上のチューブリンと相互作用し、そしてチューブリンの構築を阻害する(Lu、1995; Gohら、1998; Wangら、1998)。コルヒチノイドの中で、コルヒチンは、急性痛風の予防を処置するために使用される有効な抗炎症性薬物である。コルヒチンはまた、慢性骨髄性白血病において使用され得る。コルヒチノイドは、特定の型の腫瘍増殖に対して強力であるが、臨床的な治療可能性は、治療的効果および毒性効果を分離することが不可能であるために、制限される(Lu、1995)。しかし、コルヒチンは、細胞機能を評価するための生化学的ツールとして有用である。本発明において、本発明者らは、チューブリン機能に対する生化学的プロセスの評価のために、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-コルヒチン(EC-COL)を開発した。

20

## 【0058】

(腫瘍アポトーシス細胞の画像化)

アポトーシスは、化学療法および放射線を用いる癌の処置の間に生じる。アネキシンVは、ホスホチジルセリンに結合することが知られており、このホスホチジルセリンは、腫瘍アポトーシス細胞によって過剰発現される。アネキシンVによるアポトーシスの評価は、治療の効力(例えば、疾患の進行または後退)を評価するために有用である。従って、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-アネキシンV(EC-ANNEX)を開発した。

30

## 【0059】

(腫瘍低酸素症の画像化)

放射線治療の前の、画像化様式による腫瘍低酸素症の評価により、放射線増感剤または生体還元薬剤(bioreductive drug)(例えば、チラパザミン(tirapazine)、マイトマイシンC)での処置のための患者を選択する合理的な手段が提供される。このような患者の選択は、低酸素症性腫瘍を有する患者のより正確な処置を可能にする。さらに、腫瘍サプレッサ遺伝子(P53)は、多重薬物耐性に関係する。化学療法の前後の組織病理学により画像化の知見とP53の過剰発現とを相関付けることは、後の腫瘍処置応答において有用である。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-2-ニトロイミダゾールおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-メトロニダゾールを開発した。

40

## 【0060】

(腫瘍新脈管形成の画像化)

新脈管形成は、部分的に、腫瘍増殖および転移の発生の原因である。抗有糸分裂性化合物は、抗脈管形成性であり、そして抗癌薬物としてのそれらの潜在的な使用について知られている。これらの化合物は、細胞サイクルの分裂期の間の細胞分裂を阻害する。細胞機能の生化学的プロセス(例えば、細胞分裂、細胞運動性、分泌、線毛運動およびべん毛運動、細胞内輸送、ならびに細胞の形態の維持)の間に、微小管が関係する。抗有糸分裂性化合物は、高い親和性で、微小管タンパク質(チューブリン)に結合し、微小管アセンブ

50

りを乱し、そして増幅細胞の有糸分裂の停止を引き起こすことが知られている。従って、抗有糸分裂性化合物は、微小管インヒビターとして、または紡錘体毒として、見なされる。コルヒチン（これは、強力な抗脈管形成薬剤である）は、微小管重合および中期での細胞停止を阻害することが知られている。コルヒチン（COL）は、細胞機能を評価するための生化学的ツールとして有用であり得る。次いで、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLを開発した。

#### 【0061】

（発作に起因する低酸素症の画像化）

腫瘍細胞は、多少低酸素症的であるが、それは、酸素プローブが、圧力を測定することを必要とする。低酸素症的な条件を模倣するために、本発明者らは、発作を経験した11人の患者を、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-メトロニダゾル（ $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MN）を使用して、画像化した。メトロニダゾルは、腫瘍低酸素症マーカーである。発作の範囲の組織は、酸素の欠乏に起因して、低酸素症的となる。このSPECT画像を、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNの注射の1時間後と3時間後に行った。全てのこれらの画像化研究は、積極的に、病変を局在化させた。CTは、非常に十分にまたは正確に、病変を示さなかった。いくつかの場合におけるMRIおよびCTは、病変のサイズを誇張した。以下は、3人の患者から選択されたケースである。

10

#### 【0062】

ケース1． 59歳の男性患者は、左脳幹神経節に発作を患った。SPECT

$^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNは、注入後1時間で病変を同定し（図28）、これは、MRI T1負荷画像に対応する（図29）。

20

#### 【0063】

ケース2． 73歳の男性患者は、左中大脳動脈（MCA）領域において、発作を患った。SPECT  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNを、注入後1時間で、1日目および12日目（図30および31）で得た。これらの病変は、12日目での有意な増加した取り込みを示した。CTは、病変における広範な脳出血を示した。1日目と12日目との間に、顕著な差異は、観察されなかった（図32および図33）。これらの発見は、組織生存度に起因して、患者の症状（無酸素症から低酸素症へ）を改善したことを示す。SPECT  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNにより、CT画像化よりも良好な機能的情報が提供される。

30

#### 【0064】

ケース3． 72歳の男性患者が、右MCAおよびPCA領域における発作を患った。

SPECT  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MNは、注入後1時間での病変を同定した（図34）。CTは、病変のサイズを誇張した（図35）。

#### 【0065】

（腫瘍解糖標的化）

放射性標識リガンド（例えば、多糖（ネオマイシン、カナマイシン、トブラマイシン）および単糖（例えば、グルコサミン））は、細胞グルコーストランスポータ（腫瘍細胞で過剰発現される）に結合し、続いて、リン酸化される（Rogersら、1968；Fanciulliら、1994；Popoviciら、1971；Jonesら、1973；Hermannら、2000）。多糖（ネオマイシン、カナマイシン、トブラマイシン）および単糖（グルコサミン）によって誘導されるグルコースレベルは、インスリンによって抑制され得る（Haradaら、1995；Mollerら、1991；Offieldら、1996；Shankarら、1998；Yoshinoら、1999；Villevaleois-Camら、2000）。これらのリガンドは、免疫原性ではなく、そして細胞質から迅速に浄化されるので、代謝画像化は、抗体画像化と比較して、有望であるようである。

40

#### 【0066】

以下の実施例は、本発明の好ましい実施形態を例示することが意図される。以下の実施例に開示される技術は、本発明の実施において十分に機能することが本発明者らによって発見された技術を表し、従って、その実施のための好ましい様式を構成すると考えられ得

50

ることが、当業者によって理解されるべきである。しかし、当業者は、本開示の観点から、多くの改変が、開示される特定の実施形態においてなされ得、そしてなおも本発明の意図および範囲から逸脱することなく同様または類似の結果を得ることを、理解する。

【実施例】

【0067】

(実施例1：腫瘍ホレートレセプター標的化)

(ECの合成)

ECを、以前に記載された方法(RatnerおよびClarke、1937; Blondeauら、1967; 各々は、本明細書中に参考として援用される)に従って、2工程合成で調製した。前駆体L-チアゾリジン-4-カルボン酸を、合成した(m.p. 195、報告値196-197)。次いで、ECを、調製した(m.p. 237、報告値251-253)。この構造を、<sup>1</sup>H-NMRおよび高速原子ボンバードメント質量分析法(FAB-MS)によって確認した。

10

【0068】

(メトトレキサートのアミノエチルアミドアナログ(MTX-NH<sub>2</sub>)の合成)

MIX(227mg、0.5mmol)を、1mlのHCl溶液(2N)に溶解した。pH値を、<3とした。この攪拌溶液に、2mlの水および4mlのN-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、メタノール中6.609%、1mmol)を、室温で添加した。エチレンジアミン(EDA、0.6ml、10mmol)をゆっくりと添加した。この反応混合物を、一晚攪拌し、そして溶媒を減圧下でエバポレートした。未処理の固体物質を、ジエチルエーテル(10ml)、アセトニトリル(10ml)および95%エチルアルコール(50ml)で洗浄して、未反応のEEDQおよびEDAを除去した。次いで、生成物は、凍結乾燥によって乾燥し、そしてさらに精製することなく使用した。この生成物を、210mg(84.7%)であり、黄色粉末であった。生成物の融点：195-198(分解、MIX); <sup>1</sup>H-NMR(D<sub>2</sub>O) 2.98-3.04(d, 8H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4.16-4.71(m, 6H, -CH<sub>2</sub>-プテリジニル, 芳香族-NCH<sub>3</sub>, NH-CH-COOHグルタメート), 6.63-6.64(d, 2H, 芳香族-CO), 7.51-7.53(d, 2H, 芳香族-N), 8.36(s, 1H, プテリジニル)。FAB MS m/z C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>10</sub>O<sub>4</sub>(M)<sup>+</sup>についての計算値496.515, 実測値496.835。

20

30

【0069】

(ホレートのアミノエチルアミドアナログ(ホレート-NH<sub>2</sub>)の合成)

葉酸二水和物(1g、2.0mmol)を、10mlの水の添加した。pH値を、HCl(2N)を使用して、2に調節した。この攪拌溶液に、N-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ、10mlメタノール中1g、4.0mmol)およびエチレンジアミン(EDA、1.3ml、18mmol)をゆっくりと添加した。この反応混合物を、室温で一晩攪拌した。溶媒を、減圧下でエバポレートした。生成物を、メタノール(50ml)中で沈澱させ、そしてさらに、アセトン(100ml)で洗浄して、未反応のEEDQおよびEDITを除去した。次いで、この生成物を、凍結乾燥し、そしてさらに精製することなく使用した。ニンヒドリン(メタノール中2%)スプレーは、陽性のアミノ基を示した。この生成物は、0.6g(収率60%)であり、黄色粉末であった。生成物の融点：250(分解)。<sup>1</sup>H-NMR(D<sub>2</sub>O) 1.97-2.27(m, 2H, ホレートの-CH<sub>2</sub>グルタメート), 3.05-3.40(d, 6H, -CH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4.27-4.84(m, 3H, -CH<sub>2</sub>-プテリジニル, NH-CH-COOHグルタメート), 6.68-6.70(d, 2H, 芳香族-CO), 7.60-7.62(d, 2H, 芳香族-N), 8.44(s, 1H, プテリジニル)。FAB MS m/z C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>(M)<sup>+</sup>についての計算値：483, 実測値483.21。

40

【0070】

50

(エチレンジシステイン - ホレート (EC - ホレート) の合成)

ECを溶解するために、NaOH (2N、0.1ml)を、水 (1.5ml)中のEC (114ma、0.425mmol)の攪拌溶液に添加した。この無色の溶液に、スルホ - NHS (92.3mg、0.425mmol)およびEDC (81.5mg、0.425mmol)を添加した。ホレート - NH<sub>2</sub> (205mg、0.425mmol)を、次いで、添加した。この混合物を、室温で24時間攪拌した。この混合物を、500の分子カットオフを有するSpectra/POR分子多孔性膜 (Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX)を使用して、48時間透析した。透析の後、生成物を凍結乾燥した。この生成物は、116mg (収率35%)であった。m.p. 195 (分解); <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) 1.98 - 2.28 (m, 2H, ホレートの -CH<sub>2</sub> グルタメート), 2.60 - 2.95 (m, 4HおよびECの -CH<sub>2</sub> -SH), 3.24 - 3.34 (m, 10H, -CH<sub>2</sub> -CO, ホレートのエチレンジアミンおよびECのエチレンジアミン), 4.27 - 4.77 (m, 5H, -CH - プテリジニル, ホレートのNH - CH - COOHグルタメートおよびECのNH - CH - COOH), 6.60 - 6.62 (d, 2H, 芳香族 -CO), 7.58 - 7.59 (d, 2H, 芳香族 -N), 8.59 (s, 1H, プテリジニル)。C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>N<sub>11</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Na<sub>2</sub> (8H<sub>2</sub>O) についての分析計算値, FAB MS m/z (M)<sup>+</sup> 777.3 (水なし)。C, 37.79; H, 5.75; N, 16.72; S, 6.95。実測値: m/z (M)<sup>+</sup> 777.7 (20), 489.4 (100)。C, 37.40; H, 5.42; N, 15.43; S, 7.58。

10

20

【0071】

(EC - ホレートおよびECの<sup>99m</sup>Tcでの放射標識化)

<sup>99m</sup>Tc - EC - ホレートの放射合成 (radiosynthesis) を、必要とされる量の<sup>99m</sup>Tc - 過テクネチウム酸を、自家製キット (EC - ホレートの凍結乾燥残渣 (3mg)、SnCl<sub>2</sub> (100μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (13.5mg)、アスコルビン酸 (0.5mg) およびNaEDTA (0.5mg) を含む) に添加することによって達成した。調製物の最終pHは、7.4であった。<sup>99m</sup>Tc - ECをまた、ECの凍結乾燥残渣 (3mg)、SnCl<sub>2</sub> (100μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (13.5mg)、アスコルビン酸 (0.5mg) およびpH10のNaEDTA (0.5mg) を含む自家製キットを使用することによって、得た。次いで、調製物のpHを7.4に調節した。放射化学純度を、各々、アセトン (系A) および酢酸アンモニウム (水中1M) : メタノール (4:1) (系B) で溶出するTLC (ITLC SG, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI) によって、決定した。radio-TLC (Bioscan, Washington, DC) 分析から、放射化学純度は、両方の放射性医薬品について、>95%であった。Radio-TLCデータを表2に要約する。<sup>99m</sup>Tc - EC - ホレートの合成を、図1に示す。

30

【0072】

(表2)

(癌化学療法のための選択された薬物)

以下の表は、USAおよびカナダにおける癌の治療のために使用される薬物およびそれらの主要な有害な影響を列挙する。列挙する選択された薬物は、Medical Letterコンサルタントの意見に基づいた。いくつかの薬物を、それらが、米国食品医薬品庁によって承認されていない指標について列挙する。抗癌薬物およびそれらの有害な影響については、以下の通りである。本発明の目的のために、これらの列挙は、例示を意味し、全てを網羅するものではないことを意味する。

40

【0073】

【表 2】

選択された薬物		
癌	選択された薬物	いくらかの代替物
副腎皮質**	ミトーテン シスプラチン	ドキシソルピシン、ストレプトゾシン、エトポシド
膀胱*	局所：BCGの滴注 全身：メトトレキサート+ ピンブラスチン+ドキシソ ルピシン+クラプラチン (M VAC) クラプラチン+メトトレキ サート+ピンブラスチン (CMV)	マイトマイシン、ドキシソ ルピシンまたはチオテパ (t hiotape) の滴注 ベシタキセル、組合せにお けるカルボプラチンのクラ プラチンへの置換
脳 未分化神経膠星状細胞腫 * 退形成型乏突起膠腫* 神経膠芽細胞腫 (g l i a b i a s t o m e) ** 髄芽細胞腫	プロカルバジン+ロムスチ ン (I a m u a t i n e) +ピンクリスチン プロカルバジン+ロムスチ ン (I a m u s t i n e) +ピンクリスチン	カルムスチン、クラプラチ ン カルムスチン、クラプラチ ン プロカルバジン、クラプラ チン
	カルムスチンまたはロムス タチン ピンクリスチン+カルムス チン±メクロレタミン±メ トトレキサート メクロレタミン+ピンクリ スチン+プロカルバジン+ プレドニゾン (MOPP) ピンクリスチン+クラプラ チン±シクロホスファミド	エトポシド
原発性中枢神経系リンパ腫	メトトレキサート (高用量 の静脈内および/または鞘 内) ±シタラビン (静脈内 および/または鞘内) シクロホスファミド+ドキ ソルピシン+ピンクリスチ ン+プレドニゾン (CHO P)	
乳房	アジュバント <sup>1</sup> : シクロホ スファミド+メトトレキサ ート+フルオロウラシル (CMF) ; シクロホスフ	

10

20

30

40

〔表 2 〕 の 概 要

	<p>アミド+ドキシソルピシン±フルオロウラシル (ACまたはCAF) ; タモキシフェン</p> <p>転移性: シクロホスファミド+メトトレキサート+フルオロウラシル (CMF) またはシクロホスファミド+ドキシソルピシン±フルオロウラシル (ACまたはCAF) (レセプター陰性および/またはホルモン抗療性に対して); タモキシフェン (レセプター陽性および/またはホルモン感受性<sup>2</sup>に対して)</p>	<p>バクリタキセル; チオテパ+ドキシソルピシン+ビンブラスチン; マイトマシリン+ビンブラスチン+; マイトマイシン+メトトレキサート+ミトザントロン; 連続注入によるフルオロウラシル; 骨髄移植<sup>3</sup></p>	10
頰部**	<p>クラブラチン イフォスファミド (平均を用いての) プレオマイシン+イホスファミド (平均を用いての) +クラブラチン</p>	<p>クロラムブシル、ピンクリスチン、フルオロウラシル、ドキシソルピシン、メトトレキサート、アルトレタミン</p>	
絨毛癌	<p>メトトレキサート+ロイコポリン ダクチノマイシン</p>	<p>メトトレキサート+ダクチノマイシン+シクロホスファミド (MAC) エトポシド+メトトレキサート+ダクチノマイシン+シクロホスファミド+ビンクリスチン</p>	20
結腸直腸*	<p>アジュバント結腸<sup>4</sup>: フルオロウラシル+レバミゾール; フルオロウラシル+ロイコポリン</p> <p>転移性: フルオロウラシル+ロイコポリン</p>	<p>肝臓転移: 肝臓内一動脈 フロクスウリジン マイトマイシン</p>	
胎児性横紋筋肉腫 <sup>5</sup>	<p>ピンクリスチン+ダクチノマイシン±シクロホスファミド ピンクリスチン+イホスファミド (平均を用いての) +エトポシド</p>	<p>同じもの+ドキシソルピシン</p>	30
子宮内膜**	<p>メゲストロールまたは別のプロゲステロン ドキシソルピシン+クラブラチン±シクロホスファミド</p>	<p>フルオロウラシル、タモキシフェン、アルトレタミン</p>	

【表 2】の添付?

食道*	クラブラチン+フルオロウ ラシル	ドキソルビシン、メトトレ キサート、マイトマイシン	
ユーイング肉腫 <sup>5</sup>	シクロホスファミド (また はイホスファミド (平均を 用いての)) +ドキソルビ シン+ピンクリスチン (C AV) ±ダクチノマイシン	CAV+エトボシド	
胃*	フルオロウラシル±ロイコ ボリン	クラブラチン、ドキソルビ シン、エトボシド、メトト レキサート+ロイコボリ ン、マイトマイシン	10
頭部および頸部扁平上皮細 胞* <sup>6</sup>	クラブラチン+フルオロウ ラシル メトトレキサート	プレオマイシン、カルボプ ラチン、バクリタキセル	
島細胞**	ストレプトゾシン+ドキソ ルビシン	ストレプトゾシン+フルオ ロウラシル; クロロゾトシン <sup>+</sup> ; オクト レオチド	
カボージ肉腫** (Aids 関連)	エトボシドまたはインタフ ェロンαまたはビンプラス チン ドキソルビシン+プレオマ イシン+ピンクラスチンま たはビンプラスチン (AB V)	ピンクリスチン、ドキソル ビシン、プレオマイシン	20
白血病 急性リンパ球性白血病 (ALL) <sup>7</sup>	誘導: ピンクリスチン+ブ レドニゾン+アスバラギナ ーゼ±ダウノルビシン	誘導: 同じもの±高用量メ トトレキサート±	

(表2の続き)

癌	選択される薬物	いくつかの代替物
	CNS予防法:くも膜下内メトトレキサート±全身高用量のメトトレキサート(ロイコポリンと共に)±くも膜下内シタラビン±くも膜下内ヒドロコルチゾン  維持:メトトレキサート+メルカプトプリン 骨髄移植 <sup>3a</sup>	シテラビン(cyterabine);アスバラギナーゼの代わりにペガスパルガーゼ(pegaspargase) テニポシドまたはエトポシド 高用量シタラビン  維持:メトトレキサート+定期的なピンクリスチン+プレドニゾン
急性骨髄性白血病(AML) <sup>9</sup>	誘導:シトスラビン+ダウノルピシンまたはイダルピシンのいずれか 誘導後:高用量シタラビン±他の薬物(例えば、エトポシド) 骨髄移植 <sup>3</sup>	シタラビン+ミトセントロン 高用量シテラビン
慢性リンパ性白血病(CLL)	クロランブシル±プレドニゾン フルダラビン	クラドリビン(cladribine)、シクロホスファミド、ペントスタチン、ピンクリスチン、ドキシルピシン
慢性骨髄性白血病(CML) <sup>10</sup> 慢性期	骨髄移植 <sup>3</sup> インターフェロン $\alpha$ ヒドロキシウレア	ブスルファン
加速期 <sup>11</sup>	骨髄移植 <sup>3</sup>	ヒドロキシウレア、ブスルフェン(busulfen)  トレチノイン <sup>†</sup>
急性転化期 <sup>11</sup>	リンパ球:ピンクリスチン+プレドニゾン	アムセクリン(amsecline), <sup>†</sup>

10

20

30

(表 2 の続き)

ヘアリーセル白血病	ン+ビーセパラギネス(separagines) s)+くも膜下内メトトレキサート(±メ トレキサートでの維持+8-メルカプト プリン  ベントスタチンまたはクラドリビン	アザシジチン ビンクリスチン±プリカマイシ ン  インターフェロンα、クロラン プシル、フルダラビン
肝臓**	ドキソルビシン フルオロウラシル	肝臓内動脈フロクスウリジン またはクラプラチン(claplati n)
肺、小細胞(cac細胞)	クラプラチン+エトポシド(PE) シクロホスファミド+ドキソルビシン+ ビンクリスチン(CAV) CAVで改変したPE シクロホスファミド+エトポシド+クラ プラチン(CEP) ドキソルビシン+シクロホスファミド+ エトポシド(ACE)	イホスファミド(手段を用いる) +カルボプラチン+エトポシド (ICE) 毎日の経口のエトポシド エトポシド+イホスファミド(手 段を用いる)+クラプラチン (VIP) パクリタキセル
肺(非小細胞)**	クラプラチン+エトポシド クラプラチン+ビンブラスチン±マイ トマイシン クラプラチン+ビンクリシン(vincrisin e)	クラプラチン+フルオロウラシ ル+ロイコボリン カルボプラチン+パクリタキ セル
リンパ腫 ホジキン <sup>12</sup>	ドキソルビシン+プレオマイシン+ビ ンブラスチン+ダカルバジン(ABVD) MOPPで改変したABVD メクロレタミン+ビンクリスチン+プロ カルバジン(±プレドニゾン)+ドキソ ルビシン+プレオマイシン+ビンブ ラスチン(MOP[P]-ABV)	メクロレタミン+ビンクリスチ ン+プロカルバジン+プレド ニゾン(MOPP) クロランブシル+ビンブラス チン+プロカルバジン+プレ ドニゾン±カルムスチン エトポシド+ビンブラスチン+ ドキソルビシン 骨髄移植 <sup>9</sup>

10

20

30

40

(表2の続き)

非ホジキン バーキットリンパ腫	シクロホスファミド+ビンクリスチン+ メトトレキサート シクロホスファミド+高用量シタラビン ±メトトレキサート(ロイトボリン(leuto- vorin)と共に) くも膜下内メトトレキサートまたはシタ ラビン	イホスファミド(手段を用いる) シクロホスファミド+ドキシソル ピシン+ビンクリスチン+プレ ドニゾン(CHOP)	10
びまん性大細胞(dif- fuse large-cell)リ ンパ腫	シクロホスファミド+ドキシソルピシン+ ビンクリスチン+プレドニゾン(CHO P)	プレドニゾンでしばしば置換さ れたデキサメタゾン 他の組み合わせのレジメン (これは、メトトレキサート、エ トポシド、シタラビン、プレオマ イシン、プロカルバジン、イホ スファミドおよびミトキサントロ ンを含み得る) 骨髄移植 <sup>3</sup>	20
濾胞性リンパ腫	シクロホスファミドまたはクロラムブシ ル	同±ビンクリスチンおよびブ レドニゾン±エトポシド インターフェロン $\alpha$ 、クラドリビ ン、フルダラビン 骨髄移植 <sup>3</sup> シクロホスファミド+ドキシソル ピシン+ビンクリスチン+プレ ドニゾン(CHOP)	30
黒色腫**	インターフェロン $\alpha$ ダカルバジン	カルムスチン、ロムスチン、シ スプラチン ダカルバジン+クラブラチン +カルムスチン+タモキシフ エン アルデスロイキン	40

(表2の続き)

菌状息肉腫*	PUVA(ソラレン+紫外線A) メクロレタミン(局所的) インターフェロン $\alpha$ 電子線放射線治療 メトトレキサート	イソトレチノイン、局所的カルムスチン、ペントシスチン(pentostatin)、フルダラビン、クラドリビン、フォトフェシス(体外光化学治療)、非ホジキンリンパ腫の場合の化学治療	10
骨髄腫*	メルファラン(またはシクロホスファミド)+プレドニゾン メルファラン±カルムスチン+シクロホスファミド+プレドニゾン+ビンクリスチン デキサメタゾン+ドキシソルピシン+ビンクリスチン(VAD) ビンクリスチン+カルムスチン+ドキシソルピシン+プレドニゾン(VBAP)	インターフェロン $\alpha$ 骨髄移植 <sup>3</sup> 高用量デキサメタゾン	20
神経芽細胞腫**	ドキシソルピシン+シクロホスファミド+クラプラチン+テニポシドまたはエトポシド ドキシソルピシン+シクロホスファミド+クラプラチン+シクロホスファミド	カルボプラチン、エトポシド 骨髄移植 <sup>3</sup>	
骨原性肉腫 <sup>5</sup>	ドキシソルピシン+クラプラチン±エトポシド±イホスファミド	イホスファミド(手段を用いる) エトポシド、カルボプラチン、高用量メトトレキサート(ロイコボリンと共に) シクロホスファミド+エトポシド	30
癌	選択される薬物	いくつかの代替物	
卵巣	クラプラチン(またはカルボプラチン)+パクリタキセル クラプラチン(またはカルボプラチン)+シクロホスファミド(CP)±ドキシソル	イホスファミド(手段を用いる)、パクリタキセル、タモキシフェン、メルファラン、アルトレタミン(altretamine)	40

(表2の続き)

膵臓**	ピシン(CAP) フルオロウラシル±ロイコポリン	ゲモルタビネット(gemoltabinet)	
前立腺	ロイプロリド(またはゴセレリン)±フルタミド	エストラムスチン±ビンブラスチン、アミノグルテチミド+ヒドロコルチゾン、エストラムスチン+エトポシド、ジエチルスチルベストロール、ニルタミド	10
腎臓**	アルデスロイキン インターフェロンα	ビンブラスチン、フロクスウリジン	
網膜芽細胞腫 <sup>5*</sup>	ドキシソルピシン+シクロホスファミド±クラブラチン±エトポシド±ビンクリスチン	カルボプラチン、エトポシド、イホスファミド(手段を用いる)	20
肉腫、軟組織、成体*	ドキシソルピシン±デカルバジン(decarbazine)±シクロホスファミド±イホスファミド(手段を用いる)	マイトマイシン(mitomycin)+ドキシソルピシン+クラブラチン ビンクリスチン、エトポシド	
精巣	クラブラチン+エトポシド±プレオマイシン(PEB)	ビンブラスチン(またはエトポシド)+イホスファミド(手段を用いる)+クラブラチン(VIP) 骨髄移植 <sup>3</sup>	30
ウィルムス腫 <sup>5</sup>	ダクチノマイシン+ビンクリスチン±ドキシソルピシン±シクロホスファミド	イホスファミド(手段を用いる)、エトポシド、カルボプラチン	

+研究用途のためのみにUSAにおいて利用可能

\* 化学療法は、中程度の活性のみを有する。

\* \* 化学療法は、少ない活性のみを有する。

<sup>1</sup> 化学療法を伴うかまたは伴わないタモキシフェンは、一般に、閉経後エストロゲン-レセプター陽性の、モード陽性患者に対して推奨され、そしてタモキシフェンを伴うかまたは伴わない化学療法が、閉経前のモード陽性な患者に対して一般に推奨される。化学療法および/またはタモキシフェンを伴うアジュバント処置が、より大きな腫瘍または他の有害な予後指標を有するモード陰性患者に対して推奨される。

<sup>2</sup> メゲストロールおよび他のホルモン剤は、タモキシフェンが作用しないいくらかの患者において有用であり得る。

<sup>3</sup> 高用量化学療法の後(Medical Letter, 34:79, 1982)。

<sup>4</sup> 直腸癌について、フルオロウラシル単独での処置の前後に、フルオロウラシル(flurouracil)および放射線を用いる手術後アジュバント処置。

<sup>5</sup> 手術切除、放射線治療、または両方と組合された場合にのみ、薬物が主要な活性を有する。

10

20

30

40

50

<sup>6</sup> ビタミンAアナログである、ラクトラチノール (lactratinoln) (Acg utana) は、前腫瘍性病変 (白斑症 (leukoplakla)) を制御し得、そして第二の原発性腫瘍の割合を減少し得る (SE Bannerら、J Natl Cancer Inst, 88:140 1994)。

<sup>†</sup> 調査用途のためにUSAのみで利用可能。

<sup>7</sup> 高リスク患者 (例えば、高カウント、細胞遺伝異常、成人) は、誘導、維持および「強化」 (寛解の達成後のさらなる薬物の使用) のためのさらなる薬物を必要とし得る。さらなる薬物としては、シクロホスファミド (cyclophosphamida)、ミトキサトロンおよびチオグアニン (thioguanine) が挙げられる。イギリスにおける1つの大きな制御された試行の結果は、強化が、ALLの全ての子供の生存率を改善し得ることを示唆する (JM Chasseliera、Lancet, 34B:143, Jan 21, 1995)。

10

<sup>8</sup> 初めに悪い予後を有する患者または寛解後に再発した患者。

<sup>9</sup> 急性前骨髄球白血病を有する何人かの患者は、トラチノイン (tratinoin) に対する完全な応答を有した。このような処置は、主に発熱および呼吸困難により特徴付けられる有毒な症状を引き起こし得る (RP Warrell, Jrら、N Engl J Med. 328:177, 1993)。

<sup>10</sup> 同種異系HLA同一同胞骨髄移植は、慢性期のCMLの患者の40%~70%、加速期のCMLの患者の18%~28%、急性転化の患者の15%未満を治癒し得る。骨髄移植後の疾患を有さない生存率は、50歳より大きい年齢、診断から3年より長い疾患の持続時間、および1抗原不適合または適合無関係のドナーの骨髄の使用により悪影響を受けた。インターフェロン はまた、慢性期のCMLを有する患者 (この患者は完全な細胞遺伝的応答 (約10%) を達成する) において治癒的であり得；これは、新しく慢性期CMLと診断された80歳を越える年齢の患者、および同種異系骨髄移植の候補ではない全ての患者のために選択される処置である。化学治療単独は待機的である。

20

<sup>11</sup> これらの組み合わせのいずれかを用いて第2の慢性期が達成される場合、同種異系骨髄移植が考慮されるべきである。第2の慢性期における骨髄移植は、CMLの患者の30%~35%に対して治癒的であり得る。

<sup>12</sup> 極限段階のホジキン病 (1段階および2段階) は、放射線治療によって治癒可能である。播種性疾患 (3b段階および4段階) は、化学治療を必要とする。いくつかの中間段階および選択された臨床的状況が、この両方から利益を受ける。

30

【0074】

【表 2 - 2】

## 抗癌剤およびホルモン

薬物	急性毒性†	遅発性毒性‡
アルデスロイキン(インターロイキン-2; Proleukin-Cetus Oncology)	熱; 流体保持; 高血圧; 呼吸困難; 発疹; 貧血; 血栓腫脹; 吐気および嘔吐; 下痢; 毛細管漏出症; 腎毒素; 心筋毒素; 肝毒素; 紅斑結節; 好中球走化欠失	神経精神医学的障害; 甲状腺機能低下; ネフローゼ症候群; おそらく急性白質脳症; 上腕叢状症; 腸穿孔
アルトレタミン(ヘキサメチル-メラミン; Hexalen-U Bioscience)	吐気および嘔吐	骨髄機能低下; CNS機能低下; 末梢ニューロパシー; 視覚幻覚; 衰弱; 振せん; 脱毛; 発疹
アミノグルテチミド(Cytadren-Ciba)	嗜眠状態; 吐気; めまい感; 発疹	甲状腺機能低下(稀); 骨髄機能低下; 発熱; 低血圧; 男性化
†アムサクリン(m-AMSA; アマイジン(amaidine); AM SP P-D-Parke-Davis, Amsidyl-Warner-Lambert)	吐気および嘔吐; 下痢; 疼痛または輸液における静脈炎; アナフィラキシー	骨髄機能低下; 肝臓損傷; 痙攣; 口内炎; 心室性細動; 脱毛; うっ血性心不全; 腎不全
アスパラギナーゼ(Elspar-merck; Kidrolase, Canada)	吐気および嘔吐; 発熱; 悪寒; 頭痛; 過敏症; アナフィラキシー; 腹痛; 高血糖誘導性昏睡	CNS機能低下または過剰興奮; 急性出血性肺炎; 凝固不全; 血栓症; 腎臓損傷; 肝臓損傷
頸部**	クラブラチン、イホスファミド(手段を用いる) ブレオマイシン、パチン(patin) イホスファミド(手段を用いる)	クロランブシル、ピンクリスチン、フルオロウラシル、ドキソルビシン、メトレキサート、アルトレタミン
絨毛癌	メトレキサート±ロイコポリ	メトレキサート+ダクチノマ

10

20

30

	ン ダクチノマイシン	イシン+シクロホスファミド(MAC) エトポシド+メトトレキサート +ダクチノマイシン+シクロホスファミド+ビンクリスチン	
直腸結腸*	アジュバント 結腸*:フルオロウラシル+ラバムレオール(lavamleole);フルオロウラシル+ロイコバリン(leucovarin) 転移性:フルオロウラシル+ロイコバリン	肝臓転移: 肝臓内動脈フロクスウリジン マイトマイシン	10
胎児性横紋筋肉腫 <sup>6</sup>	ビンクリアチン(vincristine)+ダクチノマイシン±シクロホスファミド ビンクリスチン+イホスファミド(手段を用いる)+エトポシド	同+ドキシソルピシン	20
子宮内膜**	メガストロール(megastrol)または別のプロゲステン ドキシソルピシン+クラプラチン±シクロホスファミド	フルオロウラシル、タモキシフェン、アルトレタミン	
癌	選択される薬物	いくつかの代替物	
食道*	クラプラチン+フルオロウラシル	ドキシソルピシン	30
ユーイング肉腫 <sup>5</sup>	シクロホスファミド(またはイホスファミド(手段を用いる))+ドキシソルピシン+ビンクリスチン(CAV)±ダクチノマイシン	メトトレキサート、マイトマイシン CAV+エトポシド	

胃**	フルオロウラシル±ロイコボリン	クラブラチン、ドキシソルピシン、エトポシド、メトトレキサート+ロイコボリン、マイトマイシン	
頭部および首部扁平上皮細胞**	クラブラチン+フルオロウラシル メトトレキサート	ブラオナイシン (Blaonycin)、カルボプラチン、パシクタキセル (pacitaxel)	10
島細胞**	ストレプトゾシン+ドキシソルピシン	ストレプトゾシン+フルオロウラシル; クロロゾトシン; アクトレアチド (actreotide)	
カポサル肉腫* (AIDS関連)	エトポシドまたはインターフェロン $\alpha$ またはビンブレオマイシン スチン (stine) ドキシソルピシン+プレオマイシン+ビンクリスチンまたはビンブレオマイシン スチン (ABV)	ビンクリスチン、ドキシソルピシン、プレオマイシン	20
白血病 急性リンパ性白血病 (ALL) <sup>7</sup>	誘導: ビンクリスチン+プレドニゾン+アスパラギナーゼ±ダウノルビシン CNS予防薬: くも膜下内メトトレキサート±全身上用量メトトレキサート (ロイコボリンと共に) ±くも膜下内シタラビン ±くも膜下内ヒドロコルチゾン 維持: メトトレキサート±メルカプトプリン 骨髄移植 <sup>8</sup>	誘導: 同+高用量メトトレキサート±シタラビン; ペガスパルガーゼ (アスパラギナーゼの代わり) テニポシドまたはエトポシド 高用量シタラビン  維持: 同+周期的なビンクリスチン+プレドニゾン	30
急性骨髄性白血病 (AML) <sup>9</sup>	誘導: シタラビン+ダウノルビシンまたはイダルビシンのいずれか	シタラビン+ミトキサトロン 高用量シタラビン	

10

20

30

40

慢性リンパ性白血病(CLL)	誘導後:高用量シタラビン± 他の薬物(例えば、エトポシ ド) 骨髄移植 <sup>3</sup>  クロランブシルエプレドニゾン フルダラビン	クラプラチン、シクロホスファ ミド、ベントスタチン、ビノルス チン(vinorelbine)、ドキシソ ル ビシン
----------------	---	---

10

† 研究用途のためのみにUSAで利用可能。

‡ 用量制限効果は太字である。皮膚反応(時折、重篤)、色素過剰、および眼毒性は、実質的に全ての非ホルモン性抗癌剤で報告された。他の薬物との悪い相互作用については、Medical Letter Handbook of Adverse Drug Interactions, 1995を参照のこと。

1. 研究用途のためのみにUSAで利用可能。

2. メゲストロールおよび他のホルモン剤は、タモキシフェンで失敗した場合の患者において有効であり得る。

20

3. 高用量化学治療後(Medical Letter, 34:78, 1992)。

4. 直腸癌について、フルオロウラシルのみを用いる処置の前および後の、フルオロウラシル+放射線を用いる手術後のアジュバント処置。

5. 薬物は、外科的切除、放射線治療またはその両方と組み合わせた場合にのみ、主な活性を有する。

6. ビタミンAアナログのイソトレチノイン(Accutane)は、新生物発生前のイシオン(ision)(白斑症)を制御し、そしてラットの第1の一次腫瘍を減少させ得る(SE Sennerら、J Natl Cancer Inst. 88:140, 1994)。

30

7. 高リスク患者(例えば、高カウント、細胞遺伝異常、成人)は、誘導、維持および「強化」(寛解の達成後のさらなる薬物の使用)のためのさらなる薬物を必要とし得る。さらなる薬物としては、シクロホスファミド、ミトキサトロンおよびチオグアニンが挙げられる。イギリスにおける1つの大きな制御された試行の結果は、強化がALLの全ての子供の生存率を改善し得ることを示唆する(JM Chassellaら、Lancet, 348:143, Jan 21, 1998)。

8. 初めに悪い予後を有する患者または寛解後に再発した患者。

9. 急性前骨髄球白血病を有する何人かの患者は、トレチノインに対する完全な応答を有した。このような処置は、主に発熱および呼吸困難により特徴付けられる有毒な症状を引き起こし得る(RP Warrell, Jrら、N Engl J Med. 329:177, 1993)。

40

10. 同種異系HLA同一同胞骨髄移植は、慢性期のCMLの患者の40%~70%、加速期のCMLの患者の15%~25%、急性転化の患者の15%未満を治癒し得る。骨髄移植後の疾患を有さない生存率は、50歳より大きい年齢、診断から3年より長い疾患の持続時間、および1抗原不適合または適合無関係のドナーの骨髄の使用により悪影響を受けた。インターフェロンはまた、慢性期のCMLを有する患者(この患者は完全な細胞遺伝的応答(約10%)を達成する)において治癒的であり得;これは、新しく慢性期CMLと診断された50歳を越える年齢の患者、および同種異系骨髄移植の候補ではない全ての患者のために選択される処置である。化学治療単独は待機的である。

【0075】

50

( $^{99m}\text{Tc}$ でのCE-MTXおよびEC-TDXの放射標識)

EC-ホレートの合成について記載された同じ方法を使用して、EC-MTXおよびEC-TDXを調製した。標識手順は、EC-MTXおよびEC-TDXを使用したこと以外は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレートの調製について記載された手順と同じである。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MTXおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-TDXの合成を、図2および図3に示す。

【0076】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレート、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MTXおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-TDXの安定性アッセイ)

$^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレート、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MTXおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-TDXの安定性を、血清サンプル中で試験した。簡単には、740KBqの1mgの $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレート、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-MTXおよび $^{99m}\text{Tc}$ -EC-TDXを、イヌ血清(200 $\mu\text{l}$ )中で、37℃で4時間インキュベートした。この血清サンプルを、水中50%メタノールで希釈し、そして放射性TLCを、上記のように、0.5時間、2時間および4時間で繰り返した。

10

【0077】

(組織分布研究)

雌性Fischer 344ラット(150 $\pm$ 25g)(Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)に、0.1mlの乳癌細胞を、25ゲージ針を使用して、013762腫瘍細胞株懸濁液(10<sup>6</sup>細胞/ラット、Fixcherラットに特異的な腫瘍細胞株)から後脚に皮下接種した。腫瘍の直径が約1cmに達した場合、移植後14~17日間研究を実施した。各手順の前に、動物をケタミン(10~15mg/ラット、腹腔内)で麻酔した。

20

【0078】

組織分布研究において、各動物に、370~550KBqの $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレートまたは $^{99m}\text{Tc}$ -ECを静脈内注射した(n=3/時点)。各リガンドの注入質量は、10 $\mu\text{g}$ /ラットであった。放射性医薬の投与後20分、1時間、2時間および4時間において、麻酔した動物を屠殺し、そして腫瘍および選択した組織を切除し、計量し、そして線計数器(Packard Instruments, Downers Grove, IL)で放射能をカウントした。各サンプル中のトレーサーの体内分布を、組織の湿潤重量1gあたりの注射用量の割合(%ID/g)として算出した。元の注射液の希釈サンプルのカウントを、参照のために使用した。腫瘍/非標的組織の計数密度比を、対応する%ID/g値から算出した。スチューデントt検定を使用して、2つの群間の差の有意性を評価した。

30

【0079】

別の研究において、ブロック研究を行って、レセプター媒介型プロセスを決定した。ブロック研究において、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレートを、腫瘍保有マウスに、50および150 $\mu\text{mol/kg}$ の葉酸と同時投与(i.v.)した(n=3/群)。注射の1時間後に動物を殺し、そしてデータを収集した。

【0080】

(シンチグラフィ画像化およびオートラジオグラフィ研究)

シンチグラフィ画像を、低エネルギー平行穴型コリメーターを備える線カメラ(Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL)を使用して、18.5MBqの $^{99m}\text{Tc}$ 標識放射性トレーサーの静脈内注射後0.5時間、2時間および4時間で得た。

40

【0081】

全身オートラジオグラフィを、定量用画像分析器(Cyclone Storage Phosphor System, Packard, Meridian, CI.)によって得た。37MBqの $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ホレートの静脈内注射後1時間で動物を殺し、そして死体をカルボキシメチルセルロース(4%)中に固定した。冷凍した死体をクリオスタット(LKB 2250クリオマイクローム)中におき、そして100 $\mu\text{m}$ の冠

50

状切片に切断した。各切片を解凍し、そしてスライドに取り付けた。次いで、このスライドを汎用リン光ストレージスクリーン (MP, 7001480) に接触して配置し、そして15時間<sup>99mTc</sup>標識に暴露した。このリン光スクリーンを赤色レーザー光で励起し、そして以前に吸収されたエネルギーに比例する得られる青色光を記録した。

【0082】

(結果)

(<sup>99mTc</sup>-EC-ホレートの化学および安定性)

単純であり、高速かつ高収率のホレートのアミノエチルアミドおよびECアナログ、MTXおよびTDXを開発した。これらのアナログの構造を、NMRおよび質量分光分析により確認した。EC-ホレートの<sup>99mTc</sup>での放射性合成を、高い(>95%)放射化学的純度で達成した。<sup>99mTc</sup>-ECホレートは、イヌ血清サンプル中で、20分、1時間、2時間および4時間において安定であることが見出された。

10

【0083】

(<sup>99mTc</sup>-EC-ホレートの体内分布)

体内分布研究により、20分~4時間における腫瘍/血液計数密度比は、<sup>99mTc</sup>-EC-ホレートについて、徐々に増加し、一方、これらの値は、同じ時間における<sup>99mTc</sup>-ECについて減少することが示された(図4)。<sup>99mTc</sup>-EC-ホレートおよび<sup>99mTc</sup>-ECの%ID/g取込み値、腫瘍/血液比、および腫瘍/筋肉比を、それぞれ、表3および4に示した。

20

【0084】

(表3)

乳房腫瘍保有ラットにおける<sup>99mTc</sup>-EC-ホレートの体内分布

【0085】

【表3】

	器官または組織あたりの注射した <sup>99mTc</sup> -EC-ホレート用量の%			
	20	1	2	4
血液	0.370±0.049	0.165±0.028	0.086±0.005	0.058±0.002
肝	0.294±0.017	0.164±0.024	0.092±0.002	0.063±0.003
肝臓	0.274±0.027	0.185±0.037	0.148±0.042	0.105±0.002
胃	0.130±0.002	0.557±0.389	0.118±0.093	0.073±0.065
腎臓	4.328±0.896	4.052±0.488	5.102±0.276	4.673±0.399
甲状腺	0.311±0.030	0.149±0.033	0.095±0.011	0.066±0.011
筋肉	0.058±0.004	0.0257±0.005	0.016±0.007	0.008±0.0005
腸	0.131±0.013	0.101±0.071	0.031±0.006	0.108±0.072
尿	12.637±2.271	10.473±3.083	8.543±2.763	2.447±0.376
腫瘍	0.298±0.033	0.147±0.026	0.106±0.029	0.071±0.006
腫瘍/血液	0.812±0.098	0.894±0.069	1.229±0.325	1.227±0.129
腫瘍/筋肉	5.157±0.690	5.739±0.347	6.876±2.277	8.515±0.307

30

示される値は、3匹の動物のデータの平均±標準偏差を表す。

【0086】

(シンチグラフィ画像化およびオートラジオグラフィ研究)

異なる時点において得られたシンチグラフィ画像は、<sup>99mTc</sup>-EC-葉酸を注射した群における腫瘍の可視化を示した。対照的に、<sup>99mTc</sup>-ECを注射した群においては、明らかな腫瘍取り込みが存在しなかった(図6)。両方の放射性トレーサーは、全ての画像における明らかな腎臓取り込みを示した。<sup>99mTc</sup>-EC-葉酸の注射の1時間後に実施したオートラジオグラムは、腫瘍の活性を明らかに示した。

40

【0087】

(実施例2:腫瘍低酸素症標的化)

(2-(2-メチル-5-ニトロ-<sup>1</sup>Hイミダゾリル)エチルアミン(メトロニダゾルのアミノアナログMN-NH<sub>2</sub>)の合成)

メトロニダゾルのアミノアナログを、以前に記載された方法に従って合成した(Hay

50

ら、1994)。簡単に言えば、メトロニダゾルをメシル化アナログ (m.p. 149 ~ 150、報告値 153 ~ 154、TLC: 酢酸エチル、Rf = 0.45) に転換し、75%を得た。次いで、メシル化メトロニダゾルをアジ化ナトリウムと反応させて、アジドアナログ (TLC: 酢酸エチル、Rf = 0.52) を、収率 80% で得た。このアジドアナログを、トリフェニルホスフィンによって還元し、そして所望のアミノアナログ (m.p. 190 ~ 192、報告値 194 ~ 195、TLC: 酢酸エチル、Rf = 0.15) を得た (60%)。ニンヒドリン (メタノール中 2%) のスプレーは、MN-NH<sub>2</sub> のアミノ基の陽性を示した。構造を、<sup>1</sup>H-NMR および質量分析 (FAB-MS) m/z 171 (M<sup>+</sup>H, 100) によって確認した。

## 【0088】

(エチレンジシステイン-メトロニダゾル (EC-MN) の合成)

水酸化ナトリウム (2N、0.2 ml) を、水 (5 ml) 中 EC (134 mg、0.5 mmol) の攪拌溶液に添加した。この無色の溶液に、スルホ-NHS (217 mg、1.0 mmol) および 1~) C (192 mg、1.0 mmol) を添加した。次いで、MN-NH: 二塩酸塩 (340 mg、2.0 mmol) を添加した。この材料 (mature) を室温で 24 時間攪拌した。この混合物を、500 でのカットオフを有する Spectra/POR 分子多孔質膜 (Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX) を使用して、48 時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥機 (Labconco, Kansas City, MO) を使用してフリーズドライした。生成物の重量は、315 mg であった (収率 55%)。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) 2.93 (s、6H、ニトロイミダゾール-CH<sub>3</sub>)、2.60 ~ 2.95 (m、4H および EC の -CH<sub>2</sub>-SH)、3.30 ~ 3.66 (m、8H、EC のエチレンジアミンおよびニトロイミダゾール-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)、3.70 ~ 3.99 (t、2H、EC の NH-CH-CO)、5.05 (t、4H、メトロニダゾール-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>)、(s、2H、ニトロイミダゾール C=CH)。FAB MS m/z 572 (M<sup>+</sup>, 20)。EC-MN の合成スキームを、図 7 に示す。

## 【0089】

(3-(2-ニトロ-<sup>1</sup>H-イミダゾリル)プロピルアミン (ニトロイミダゾールのアミノアナログ NIM-NH<sub>2</sub>) の合成)

2-ニトロイミダゾール (1 g、8.34 mmol) および Sc<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.9 g、8.90 mmol) を含むジメチルホルムアミド (DMF、50 ml) 中の攪拌溶液に、1,3-ジトシルプロパン (3.84 g、9.99 mmol) を添加した。この反応物を 80 で 3 時間加熱した。溶媒を減圧下でエバポレートし、そして残渣を酢酸エチル中に懸濁させた。固体を濾過し、溶媒を濃縮し、シリカゲルを充填したカラムに装填し、そして、ヘキサン: 酢酸エチル (1:1) で溶出した。生成物である、3-トシルプロピル-(2-ニトロイミダゾール) を、m.p. 108 ~ 111 で単離した (1.67 g、収率 57.5%)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.23 (m、2H)、2.48 (s、3H)、4.06 (t、2H、J = 5.7 Hz)、4.52 (t、2H、J = 6.8 Hz)、7.09 (s、1H)、7.24 (s、1H)、7.40 (d、2H、J = 8.2 Hz)、7.77 (d、2H、J = 8.2 Hz)。

## 【0090】

次いで、トシル化 2-ニトロイミダゾール (1.33 g、4.08 mmol) を、DMF (10 ml) 中アジ化ナトリウム (Q29 g、4.49 mmol) と、100 で 3 時間反応させた。冷却後、水 (20 ml) を添加し、そして生成物を酢酸エチル (3 x 20 ml) から抽出した。溶媒を、MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、そして乾固するまでエバポレートして、アジドアナログ (0.6 g、75%、TLC: ヘキサン: 酢酸エチル; 1:1、Rf = 0.42) を得た。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.14 (m、2H)、3.41 (t、2H、J = 6.2 Hz)、4.54 (t、2H、J = 6.9 Hz)、7.17 (s、2H)。

## 【0091】

10

20

30

40

50

このアジドアナログ (0.57 g、2.90 mmol) を、テトラヒドロフラン (PH I ; ) 中のトリフェニル (t a p h e n y l ) ホスフィン (1.14 g、4.35 mmol) によって、室温で4時間還元した。濃HCl (12 ml) を添加し、そしてさらに5時間加熱した。生成物を、酢酸エチルと水との混合物から抽出した。この酢酸エチルをMgSO<sub>4</sub>で乾燥し、そして乾固するまでエボレートして、アミン塩酸塩アナログを得た (360 ma、60%)。ニンヒドリン (メタノール中2%) のスプレーは、NIM-NHのアミノ基の陽性を示した。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) 2.29 (m、2H)、3.13 (t、2H、J = 7.8 Hz)、3.60 (br、2H)、4.35 (t、2H、J = 7.4 Hz)、7.50 (d、1H、J = 2.1 Hz)、7.63 (d、1H、J = 2.1 Hz)。

10

**【0092】**

(エチレンジシステイン - ニトロイミダゾール (EC - NIM) の合成)

水酸化ナトリウム (2N、0.6 ml) を、EC (134 ma、0.50 mmol) の水 (2 ml) 中の攪拌溶液に添加した。この無色の溶液に、スルホ - NHS (260.6 mg、1.2 mmol)、EDC (230 ma、1.2 mmol) および水酸化ナトリウム (2N、1 ml) を添加した。次いでNIM-NH<sub>2</sub>塩酸塩 (206.6 mg、1.0 mmol) を添加した。この混合物を室温で24時間攪拌した。この混合物を、500でのカットオフを有するSpectra/POR分子多孔質膜 (Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX) を使用して、48時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥機 (Labconco, Kansas City, MO) を使用してフリーズドライした。生成物の重量は、594.8 mgであった (収率98%)。EC - NIMの合成スキームを、図8Aに示す。構造を、<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) によって確認する (図8B)。

20

**【0093】**

(EC - MNおよびEC - NIMの、<sup>99m</sup>Tcでの放射性同位元素標識)

<sup>99m</sup>Tc - EC - MNおよび<sup>99m</sup>Tc - EC - NIMの放射線合成を、必要量の過テクネチウム酸を、EC - MNまたはEC - NIMの凍結乾燥した残渣 (3 mg)、SnCl<sub>2</sub> (100 μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (13.5 mg)、アスコルビン酸 (0.5 mg) およびNaEDTA (0.5 mg) を含む自家製のキットに添加することによって、達成した。調製物の最終pHは、7.4であった。放射化学的純度を、それぞれアセトン (系A) および酢酸アンモニウム (水中1M) : メタノール (4:1) (系B) で溶出するTLC (ITLAC SG, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI) によって決定した。放射線TLC (Bioscan, Washington, DC) 分析から、両方の放射線トレースに対して放射化学的純度は96%より高かった。

30

**【0094】**

( [<sup>18</sup>F] FMISO および [<sup>131</sup>I] IMISO の合成 )

[F] フッ素を、小容量の銀標的において富化された<sup>18</sup>O - 水のプロトン照射を使用するサイクロトロンによって、生成した。トシルMISO (Hayら、1994) (20 mg) を、アセトニトリル (1.5 ml) に溶解し、クリプトフィックス - フッ化物錯体に添加した。加熱後、加水分解およびカラム精製により、25 ~ 40% の収率 (崩壊を補正した) の純粋な生成物を、60分のボンバードメントの終了 (EOB) において、単離した。HPLCを、C - 18 ODS - 20Tカラム (4.6 x 25 mm) (Waters Corp., Milford, Mass) において、水 / アセトニトリル (80 / 20) を用いて、1 ml / 分の流速を使用して実施した。キャリアが添加されていない生成物は、類似の条件下での非標識FMISOの保持時間 (6.12分) に対応した。放射化学的純度は、99%より高かった。UV検出器 (310 nm) のもとで、他の不純物は存在しなかった。決定した [<sup>18</sup>F] FMISOの比活性は、既知の質量および放射能のサンプルのUVおよび放射能検出に基づいて、1 Ci / μmolであった。

40

**【0095】**

[<sup>131</sup>I] IMISOを、同じ手順を使用して調製した (Cherifら、1994)

50

。簡単に言えば、5 mgのトシルMISOをアセトニトリル(1 ml)に溶解し、そして $\text{Na}^{131}\text{I}$ (0.1 mlの1N NaOH中1 mCi)(Dupont New England Nuclear, Boston, MA)を添加した。加熱および精製の後、生成物(収率60~70%)を得た。放射線TLCは、溶出液としてクロロホルムメタノール(7:3)を使用して、最終生成物に対して0.01のRf値を示した。

#### 【0096】

( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNおよび $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-NIMの安定性アッセイ)

標識された $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNおよび $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-NIMの安定性を、血清サンプルにおいて試験した。簡単に言えば、740 KBqの1 mgの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNおよび $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-NIMを、イヌ血清(200  $\mu\text{l}$ )中37°Cで4時間インキュベートした。これらの血清サンプルを、水中50%メタノールで希釈し、そして放射線TLCを、上記のように、0.5時間、2時間および4時間において繰り返した。

10

#### 【0097】

( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNの組織分布研究)

雌性Fischer 344ラット(150 $\pm$ 25 g)(Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)に、13762腫瘍細胞株懸濁液(10<sup>6</sup>細胞/ラット、Fischerラットに対して特異的な腫瘍細胞株)由来の0.1 mlの哺乳動物腫瘍細胞を、25ゲージの針を使用して後肢に皮下接種した。研究を、移植の14~17日後に、腫瘍がおおよそ1 cmの直径に達したときに実施した。ラットをケタミン(10~15 mg/ラット、腹腔内)で麻酔し、その後、それぞれの手順を行った。

20

#### 【0098】

組織分布研究において、各動物に、370~550 KBqの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNまたは $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC(n=3/時点)を静脈内注射した。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNの注射した質量は、1匹のラットあたり10  $\mu\text{g}$ であった。放射線トレーサーの投与の0.5時間後、2時間後および4時間後に、これらのラットを屠殺し、そして選択した組織を切除し、秤量し、そして放射能を計数した。各サンプルにおけるトレーサーの生体分布を、組織含水重量1グラムあたりの注射用量の百分率(%ID/g)として、算出した。腫瘍/非標的組織の計数密度比を、対応する%ID/g値から算出した。このデータを、同じ動物モデルを使用して[ $^{18}\text{F}$ ]FMISOおよび[ $^{131}\text{I}$ ]IMISOと比較した。Studentのt検定を使用して、群間の差異の有意性を評価した。

30

#### 【0099】

(シンチグラフィ画像化およびオートラジオグラフィ研究)

低エネルギーの平行穴コリメータを備える線カメラ(Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL)を使用するシンチグラフィ画像を、18.5 MBqの各放射線トレーサーの静脈内注射の0.5時間後、2時間後および4時間後に得た。

#### 【0100】

全身のオートラジオグラムを、定量的画像分析器(Cyclone Storage Phosphor System, Packard, Meridian, CT)によって得た。37 MBqの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-MNの静脈内注射に続いて、これらの動物を1時間で殺傷し、そしてその身体をカルボキシメチルセルロース(4%)に、以前に記載されたように固定した(Yangら、1995)。凍結させた身体を低温槽(LKB 2250 クリオマイクローム)に設置し、そして100  $\mu\text{m}$ の冠状切片に切断した。各切片を解凍し、そしてスライドに載せた。次いで、このスライドを多目的リン貯蔵スクリーン(MP、7001480)と接触させ、そして15時間露光した。

40

#### 【0101】

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-NIMが化学療法に対する腫瘍応答をモニタリングし得るか否かを確認するために、腫瘍容量1.5 cmを有するラットおよび卵巢腫瘍保有マウスの群を、パクリタキセル(40 mg/kg/ラット、80 mg/kg/マウス、静脈内)で、単一

50

用量で処置した。画像を、パクリタキセル処置の4日後に撮像した。処置ありまたは処置なしでの、1グラムの腫瘍重量あたりの注射された用量の百分率を、決定した。

【0102】

(ポラログラフィー酸素微小電極によるpO<sub>2</sub>測定)

腫瘍の低酸素症を確認するために、腫瘍内のpO<sub>2</sub>測定を、エッペンドルフコンピュータ化ヒストグラムシステムを使用して、実施した。2~3の直線軌道の各々に沿った、20~25のpO<sub>2</sub>測定を各腫瘍において0.4mmの間隔で実施した(合計40~75の測定)。腫瘍pO測定を、3匹の腫瘍保有ラットにおいて実施した。オンラインコンピュータシステムを使用して、各軌道のポット測定を、この軌道に沿った測定点の位置に対して絶対的な値として表現し、そして2.5mmのクラス幅の0mmHgと100mmHgとの間のpO<sub>2</sub>ヒストグラムの相対頻度として、表した。

10

【0103】

(結果)

(<sup>99m</sup>Tc-EC-MNおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-NIMの放射線合成および安定性)

EC-MNおよびEC-NIMの、<sup>99m</sup>Tcでの放射線合成を、高い放射化学的純度(95%より高い)で達成し、放射化学的収率は100%であった。<sup>99m</sup>Tc-EC-MNおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-NIM(図13)は、イヌ血清サンプルにおいて、0.5時間、2時間および4時間安定であることが見出された。分解生成物は、観察されなかった。MISOの放射性フッ素化および放射性ヨウ素化は、同じ前駆体を使用して、容易に達成された。両方の標識されたMISOアナログにおいて、放射化学的純度は、99%より高かった。

20

【0104】

(インビボ組織分布研究)

<sup>99m</sup>Tc-EC-MNおよび<sup>99m</sup>Tc-ECの、腫瘍保有ラットにおける組織分布を、表4および5に示す。イオン性<sup>99m</sup>Tcに対する高い親和性に起因して、有意な一貫した甲状腺取り込みは存在せず、インビボでの<sup>99m</sup>Tc-EC-MNの安定性を示唆する(表5)。

【0105】

【表4】

30

表4  
乳房腫瘍保有ラットにおける<sup>99m</sup>Tc-ECの生体分布

	器官または組織あたりの注射された <sup>99m</sup> Tc-ECの用量の%			
	20分	1時間	2時間	4時間
血液	0.435±0.029	0.273±0.039	0.211±0.001	0.149±0.008
肺	0.272±0.019	0.187±0.029	0.144±0.002	0.120±0.012
肝臓	0.508±0.062	0.367±0.006	0.286±0.073	0.234±0.016
胃	0.136±0.060	0.127±0.106	0.037±0.027	0.043±0.014
腎臓	7.914±0.896	8.991±0.268	9.116±0.053	7.834±1.018
甲状腺	0.219±0.036	0.229±0.118	0.106±0.003	0.083±0.005
筋肉	0.060±0.006	0.043±0.002	0.028±0.009	0.019±0.001
腸	0.173±0.029	0.787±0.106	0.401±0.093	0.103±0.009
尿	9.124±0.808	11.045±6.158	13.192±4.505	8.693±2.981
腫瘍	0.342±0.163	0.149±0.020	0.115±0.002	0.096±0.005
腫瘍/血液	0.776±0.322	0.544±0.004	0.546±0.010	0.649±0.005
腫瘍/筋肉	5.841±3.253	3.414±0.325	4.425±1.397	5.093±0.223

40

示される値は、3匹の動物からのデータの平均±標準偏差を表す。

【0106】

ブロック研究において、腫瘍/筋肉および腫瘍/血液の計数密度比は、葉酸の同時投与によって、有意に低下した(p<0.01)(図5)。

【0107】

50

【表 5】

表 5

乳房腫瘍保有ラットにおける<sup>99m</sup>Tc-EC-メトロニダゾル結合体の生体分布

	30分	2時間	4時間
血液	1.46±0.73	1.19±0.34	0.76±0.14
肺	0.79±0.39	0.73±0.02	0.52±0.07
肝臓	0.83±0.36	0.91±0.11	0.87±0.09
脾臓	0.37±0.17	0.41±0.04	0.37±0.07
腎臓	4.30±1.07	5.84±0.43	6.39±0.48
筋肉	0.08±0.03	0.09±0.01	0.07±0.01
腸	0.27±0.12	0.39±0.24	0.22±0.05
甲状腺	0.051±0.16	0.51±0.09	0.41±0.02
腫瘍	0.034±0.13	0.49±0.02	0.50±0.09

10

1. 各ラットが、<sup>99m</sup>Tc-EC-メトロニダゾル(10 µCi、静脈内)を受容した。各値は、1グラムの重量あたりの注射用量(n=3)/時間間隔の百分率である。各データは、標準偏差を伴う3回の測定の平均を表す。

## 【0108】

20

生体分布研究は、0.54時間における腫瘍/血液および腫瘍/筋肉の計数密度比が、<sup>99m</sup>Tc-EC-NM、[<sup>18</sup>F]FMISOおよび[<sup>131</sup>I]IMISOにおいては次第に増加し、一方でこれらの値は、同じ時間において、<sup>99m</sup>Tc-ECについては変化しないことを示した(図9および図10)。<sup>99m</sup>Tc-ECについては、注射後30分、2時間および4時間において、[<sup>131</sup>I]IMISOおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-MNの取り込み比と比較して、最も高い腫瘍対血液の取り込み比を示した。注射後2時間および4時間における<sup>99m</sup>Tc-EC-MNおよび[<sup>131</sup>I]IMISOについての、腫瘍/血液および腫瘍/筋肉の比は、有意には異ならなかった(p<0.05)。

## 【0109】

30

(シンチグラフ画像化およびオートラジオグラフィ研究)

異なる時点において得られたシンチグラフィ画像は、<sup>99m</sup>Tc-EC-MNおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-NIM群における腫瘍の可視化を示した。対照的に、<sup>99m</sup>Tc-ECを注射した群においては、明らかな腫瘍の取り込みが存在しなかった(図11)。<sup>99m</sup>Tc-EC-MNの注射の1時間後に実施したオートラジオグラムは、明らかに、腫瘍活性を示した(図12)。<sup>99m</sup>Tc-EC-NMと比較して、<sup>99m</sup>Tc-EC-NIMは、より高い腫瘍対バックグラウンドの比に起因して、より良好なシンチグラフィ画像を提供するようであった。乳房腫瘍保有ラットにおいて、腫瘍の取り込みは、<sup>99m</sup>Tc-ECと比較して、<sup>99m</sup>Tc-EC-NIM群において顕著に高かった(図14A)。1グラムの腫瘍の重量あたりの<sup>99m</sup>Tc-EC-NIMの注射用量の百分率から得られたデータは、コントロール群と比較した場合に、パクリタキセルで処置したラットにおいて、25%が取り込みを低下したことを示した(図14B)。

40

## 【0110】

卵巣癌保有マウスにおいて、パクリタキセルで処置したマウスにおける低下した腫瘍取り込みが存在した(図15Aおよび図15B)。類似の結果が、肉腫保有において観察された(図15Cおよび図15D)。従って、<sup>99m</sup>Tc-EC-NIMは、パクリタキセル処置に対する腫瘍応答を評価するために、使用され得る。

## 【0111】

(ポーラログラフィー酸素微小電極によるpO<sub>2</sub>測定)

腫瘍の腫瘍内PO<sub>2</sub>測定は、腫瘍の酸素圧力が、正常筋肉の35±10mmHgと比較して、4.6±4.1mmHgの範囲であることを示した。このデータは、腫瘍が低酸素

50

症であることを示す。

【0112】

(実施例3：癌のペプチド画像化)

(エチレンジシステイン-ペンタグルタミン酸(EC-GAP)の合成)

水酸化ナトリウム(1N, 1ml)を、水(10ml)中のEC(200mg、0.75mmol)の攪拌溶液に添加した。この無色溶液に、スルホNHS(162mg、0.75mmol)およびEDC(143mg、0.75mmol)を添加した。次いでペンタグルタミン酸ナトリウム塩(M.W. 750~1500, Sigma Chemical Company)(500mg、0.67mmol)を添加した。混合物を24時間室温で攪拌した。混合物を、500のカットオフを有するSpectra/POR分子多孔膜(Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX)を使用して48時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥機(Labconco, Kansas City, MO)を使用して凍結乾燥した。塩形態の生成物は、0.95gの重さであった。EC-GAPの合成スキームは、図16に示す。

10

【0113】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPの安定性アッセイ)

$^{99m}\text{Tc}$ でのEC-GAPの放射性標識を、以前に記載されたのと同じ手順を使用して達成した。放射化学純度は、100%であった。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPの安定性を、血清サンプル中で試験した。手短にいうと、740KBqの1mg  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPを、37°Cで4時間、イヌ血清(200 $\mu$ l)中でインキュベートした。血清サンプルを、水中50%メタノールで希釈し、そして放射性TLCを、上記のように、0.5時間、2時間、および4時間で繰り返した。

20

【0114】

(シンチグラフィ-画像化研究)

低エネルギーの、平行な穴のコリメータを備えたカメラを使用して、シンチグラフィ-画像を、18.5MBqの各放射性トレーサーの静脈内注射の0.5時間、2時間および4時間後に得た。

【0115】

(結果)

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPの安定性アッセイ)

$^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAPは、イヌ血清サンプル中で、0.5時間、2時間および4時間で安定であることが見出された。分解産物は、観察されなかった。

30

【0116】

(シンチグラフィ-画像化研究)

異なる時点で得られたシンチグラフィ-画像は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-GAP群において腫瘍の可視化を示した。最適な取り込みは、投与後30分~1時間である(図17)。

【0117】

(実施例4：腫瘍アポトーシス細胞の画像化)

(エチレンジシステイン-アネキシンV(EC-ANNEX)の合成)

炭酸水素ナトリウム(1N, 1ml)を、EC(5mg、0.019mmol)の攪拌溶液に添加した。この無色溶液に、スルホNHS(4mg、0.019mmol)およびEDC(4mg、0.019mmol)を添加した。次いでアネキシンV(M.W. 33kD、ヒト、Sigma Chemical Company)(0.3mg)を添加した。混合物を24時間室温で攪拌した。混合物を、10,000のカットオフを有するSpectra/POR分子多孔膜(Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX)を使用して48時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥機(Labconco, Kansas City, MO)を使用して凍結乾燥した。塩形態の生成物は、12mgの重さであった。

40

【0118】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXの安定性アッセイ)

50

$^{99m}\text{Tc}$ でのEC-ANNEXの放射性標識を、EC-GAPにおいて記載されたのと同じ手順を使用して達成した。放射化学純度は、100%であった。標識した $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXの安定性を、血清サンプル中で試験した。手短にいうと、740KBqの1mg $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXを、37°Cで4時間、イヌ血清(200 $\mu\text{l}$ )中でインキュベートした。血清サンプルを、水中50%メタノールで希釈し、そして放射性TLCを、上記のように、0.5時間、2時間、および4時間で繰り返した。

## 【0119】

(シンチグラフィ-画像化研究)

低エネルギーの、平行な穴のコリメータを備えたカメラを使用して、シンチグラフィ-画像を、18.5MBqの各放射性トレーサーの静脈内注射の0.5時間、2時間および4時間後に得た。使用した動物モデルは、乳房、卵巣および肉腫であった。乳房腫瘍および卵巣腫瘍を有する両方のラットは、高いアポトーシス性の細胞を過剰発現することが知られている。画像化研究を、腫瘍細胞接種後14日で行なった。腫瘍処置応答を確かめるために、画像化前のマウスを、パクリタキセル投与し(80mg/kg、静脈内注射、14日目)、そして画像を18日目に取った。

10

## 【0120】

(結果)

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXの安定性アッセイ)

$^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXは、イヌ血清サンプル中で、0.5時間、2時間および4時間で安定であることが見出された。分解産物は、観察されなかった。

20

## 【0121】

(シンチグラフィ-画像化研究)

異なる時点で得られたシンチグラフィ-画像は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEX群において腫瘍の可視化を示した(図18~20)。画像は、高度にアポトーシス性の細胞が、より多くの $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ANNEXの取り込みを有することを示した。高いアポトーシス(卵巣腫瘍保有)群(図19Aおよび図19B)および低アポトーシス(肉腫腫瘍保有)群(図20Aおよび図20B)におけるパクリタキセル処理前とパクリタキセル処理後との間に、腫瘍取り込みの顕著な差異は、存在しなかった。

## 【0122】

(実施例5:腫瘍新脈管形成の画像化)

30

(コルヒチンのアミノアナログ、COL-NH<sub>2</sub>)の合成)

コルヒチンの脱メチル化アミノアナログおよび脱メチル化ヒドロキシアナログを以前に記載された方法(Orrら、1995)に従って合成した。手短にいうと、コルヒチン(4g)を、25%硫酸を含む100mlの水中に溶解した。反応混合物を、100°Cで5時間加熱した。混合物を、炭酸ナトリウムを用いて中和した。生成物をろ過し、そして、凍結乾燥機で乾燥し、2.4g(70%)の所望のアミノアナログ(融点153~155°C、155~157°Cと報告されている)を生じた。ニンヒドリン(メタノール中2%)噴霧は、COL-NH<sub>2</sub>のアミノ基の陽性を示した。構造を、<sup>1</sup>H-NMRおよび質量分析法(FAB-MS)によって確かめた。

## 【0123】

40

## 【数1】

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) $\delta$  8.09 (s, 1H), 7.51 (d, 1H, J=12 Hz), 7.30 (d, 1H, J=12Hz), 6.56 (s, 1H), 3.91 (s, 6H), 3.85 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 2.25-2.52 (m, 4H). m/z 308.2(M<sup>+</sup>,20), 307.2 (100).

(エチレンジシステイン-コルヒチン(EC-COL)の合成)

水酸化ナトリウム(2N, 0.2ml)を、水(5ml)中のEC(134mg, 0.50mmol)の攪拌溶液に添加した。この無色溶液に、スルホNH<sub>2</sub>(217mg, 1

50

. 0 mmol) および EDC (192 mg, 1.0 mmol) を添加した。次いで COL-NH<sub>2</sub> (340 mg, 2.0 mmol) を添加した。混合物を 24 時間室温で攪拌した。混合物を、500 のカットオフを有する Spectra/POR 分子多孔膜 (Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX) を使用して 48 時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥機 (Labconco, Kansas City, MO) を使用して凍結乾燥した。塩形態の生成物は、315 mg の重さであった (収率 55%)。

【0124】

【数2】

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) δ 7.39 (s, 1H), 7.20 (d, 1H, J=12Hz), 7.03 (d, 1H, J=12Hz), 6.78 (s, 1H), 4.25-4.40 (m, 1H), 3.87 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.53 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.42-3.52 (m, 2H), 3.05-3.26 (m, 4H), 2.63-2.82 (m, 4H), 2.19-2.25 (m, 4H). FAB MS m/z 580 (ナトリウム塩, 20).

EC-COL の合成スキームを、図 21 に示す。

【0125】

(EC-COL および EC の <sup>99m</sup>Tc を用いる放射性標識)

<sup>99m</sup>Tc-EC-COL の放射性合成を、EC-COL の凍結乾燥残渣 (5 mg)、SnCl<sub>2</sub> (100 μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (13.5 mg)、アスコルビン酸 (0.5 mg) および NaEDTA (0.5 mg) を含む自家製キットへ必要な量の <sup>99m</sup>Tc-過テクネチウム酸を添加することによって達成した。調製物の最終 pH は、7.4 であった。<sup>99m</sup>Tc-EC はまた、pH 10 で、EC の凍結乾燥残渣 (5 mg)、SnCl<sub>2</sub> (100 μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (13.5 mg)、アスコルビン酸 (0.5 mg) および NaEDTA (0.5 mg) を含む自家製キットを使用することによって得た。次いで、調製物の最終 pH を 7.4 に調整した。放射化学純度を、酢酸アンモニウム (水中 1 M) : メタノール (4 : 1) を用いて溶出する TLC (ITLC SG, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI) によって決定した。放射線-薄層クロマトグラフィー (TLC, Bioscan, Washington, DC) を使用して、両方の放射線トレーサについての放射化学純度を分析した。

【0126】

(<sup>99m</sup>Tc-EC-COL の安定性アッセイ)

標識された <sup>99m</sup>Tc-EC-COL の安定性を、血清サンプル中で試験した。手短にいうと、740 KBq の 5 mg <sup>99m</sup>Tc-EC-COL を、37 °C で 4 時間、ウサギ (rabbit) 血清 (500 μl) 中でインキュベートした。血清サンプルを、水中 50% メタノールで希釈し、そして放射性 TLC を、上記のように、0.5 時間、2 時間、および 4 時間で繰り返した。

【0127】

(組織分布研究)

雌性 Fischer 344 ラット (150 ± 25 g) (Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN) を、25 ゲージ針を使用して後肢に、13762 腫瘍細胞株懸濁液 (10 細胞/ラット、Fischer ラットに特異的な腫瘍細胞株) 由来の 0.1 ml の乳房腫瘍細胞で皮下接種した。研究を、腫瘍が直径約 1 cm に達した、移植後 14 ~ 17 日で行なった。ラットを、各手順の前に、ケタミン (10 ~ 15 mg/ラット、腹腔内) で麻酔した。

【0128】

組織分布研究において、各動物を、370 ~ 550 KBq の <sup>99m</sup>Tc-EC-COL または <sup>99m</sup>Tc-EC で静脈内注射した (n = 3 / 時点)。<sup>99m</sup>Tc-EC-COL の注射された質量は、1 匹のラット当たり 10 μg であった。放射線トレーサの投与 0.5

時間、2時間および4時間後、ラットを屠殺し、そして選択した組織を切り出し、秤量し、そして放射能についてカウントした。各サンプルにおけるトレーサーの体内分布を、1gの組織湿重量当りの注射された用量の割合として計算した(%ID/g)。腫瘍/非標的組織カウント密度比を、対応する%ID/g値から計算した。スチューデントt検定を使用して、群の間の差異の有意性を評価した。

#### 【0129】

(シンチグラフィ画像化研究)

低エネルギーの、平行な穴のコリメータを備えたカメラ(Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL)を使用して、シンチグラフィ画像を、300 $\mu$ Ciの $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLおよび $^{99m}\text{Tc}$ -ECの静脈内注射の0.5時間、2時間および4時間後に得た。コンピューターで概略した目的の領域(ROI)を使用して、腫瘍取り込み対正常筋肉取り込みを定量する(1画素当りのカウント)。

10

#### 【0130】

(結果)

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLの放射性合成および安定性)

$^{99m}\text{Tc}$ でのEC-COLの放射性合成を、高い(>95%)放射化学的純度で達成した(図21)。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLは、は、ウサギ血清サンプル中で、0.5時間、2時間および4時間で安定であることが見出された。分解産物は、観察されなかった(図22)。

20

#### 【0131】

(インビボ体内分布)

乳房腫瘍保有ラットにおける $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLおよび $^{99m}\text{Tc}$ -ECのインビボ体内分布を、表4および6に示す。0.5時間、2時間および4時間における $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COLの腫瘍取り込み値(%ID/g)は、 $0.436 \pm 0.089$ 、 $0.395 \pm 0.154$ および $0.221 \pm 0.006$ であったが(表6)、 $^{99m}\text{Tc}$ -ECについての体内分布は、それぞれ $0.342 \pm 0.163$ 、 $0.115 \pm 0.002$ および $0.097 \pm 0.005$ であった(表4)。時間の関数としての増加した腫瘍対血液比( $0.52 \pm 0.12$ から $0.72 \pm 0.07$ )および腫瘍対筋肉比( $3.47 \pm 0.40$ から $7.97 \pm 0.93$ )は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COL群において観察された(図23)。逆に、腫瘍対血液値および腫瘍対筋肉値は、同じ期間における $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COL群と比較した場合、 $^{99m}\text{Tc}$ -ECでの時間依存性の減少を示した(図24)。

30

#### 【0132】

【表 6】

表 6  
乳房腫瘍保有ラットにおける  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-コルヒチルの体内分布

	30分	2時間	4時間
血液	0.837 ± 0.072	0.606 ± 0.266	0.307 ± 0.022
肺	0.636 ± 0.056	0.407 ± 0.151	0.194 ± 0.009
肝臓	1.159 ± 0.095	1.051 ± 0.213	0.808 ± 0.084
脾臓	0.524 ± 0.086	0.559 ± 0.143	0.358 ± 0.032
腎臓	9.705 ± 0.608	14.065 ± 4.007	11.097 ± 0.108
筋肉	0.129 ± 0.040	0.071 ± 0.032	0.028 ± 0.004
胃	0.484 ± 0.386	0.342 ± 0.150	0.171 ± 0.123
子宮	0.502 ± 0.326	0.343 ± 0.370	0.133 ± 0.014
甲状腺	3.907 ± 0.997	2.297 ± 0.711	1.709 ± 0.776
腫瘍	0.436 ± 0.089	0.395 ± 0.154	0.221 ± 0.006

10

\* 各ラットは、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-コルヒチン (10  $\mu\text{Ci}$ 、静脈内) を受けた。各値は、時間間隔あたり 1 グラム組織重量 (n = 3) 当りの注射された用量のパーセントである。各データは、標準偏差を有する 3 つの測定値の平均値を示す。

20

【 0 1 3 3 】

【表 7】

表 7  
放射線 TLC (ITLC-SG) 研究により決定された Rf 値

	系 A*	系 B†
$^{99m}\text{Tc}$ -EC-葉酸	0	1(>95%)
$^{99m}\text{Tc}$ -EC-	0	1(>95%)
遊離 $^{99m}\text{Tc}$	1	1
減少した $^{99m}\text{Tc}$	0	0

30

\* アセトン

† 酢酸アモニウム (水中 1M) : メタノール (4:1)

(乳房腫瘍保有ラットにおける  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COL のシンチグラフィ画像化)

投与後 1 時間での 3 匹の乳房腫瘍保有ラットにおけるインビトロ画像化研究は、腫瘍が  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COL 群で十分に可視化され得ることを示したが (図 25)、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC 群においてより少ない腫瘍取り込みが観察された (図 26)。コンピューターで概略した目的の領域 (ROI) は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-COL 群における腫瘍/バックグラウンド比が、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC 群よりも有意に高いことを示した (図 27)。

40

【 0 1 3 4 】

(腫瘍解糖標的化)

(実施例 6 :  $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンの開発)

(EC の合成)

EC を、以前に記載された方法 (Ratner および Clarke, 1937; Blondeau ら、1967) に従って、2 工程合成で調製した。前駆体 (L-チアゾリジン-4-カルボン酸) を合成した (融点 195 °、196 ~ 197 ° と報告されている)。次いで EC を調製した (融点 237 °、251 ~ 253 ° と報告されている)。構造を、

50

<sup>1</sup>H-NMRおよび高速原子衝撃質量分析(FAB-MS)によって確認した。

【0135】

(エチレンジシステイン-ネオマイシン(EC-ネオマイシン)の合成)

水酸化ナトリウム(2N、0.2ml)を、水中(5ml)のEC(134mg、0.50mmol)の攪拌した溶液に添加した。この無色の溶液に、スルホ-NHS(217mg、1.0mmol)およびEDC(192mg、1.0mmol)を添加した。次いで、ネオマイシントリスルフェート塩(909mg、1.0mmol)を添加した。この混合物を、室温にて24時間攪拌した。この混合物を、500のカットオフ値を有するSpectra/POR分子多孔性膜(Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX)を使用して48時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥器(Labconco, Kansas City, MO)を使用して凍結乾燥した。生成物の重量は、720mg(収率83%)であった。EC-ネオマイシンの合成スキームを図36に示す。この構造を、<sup>1</sup>H-NMR(図38A~B)、質量分析計(図39A~B)および元素分析(Galbraith Laboratories, Inc, Knoxville, TN)によって確かめる。元素分析C<sub>39</sub>H<sub>75</sub>N<sub>10</sub>S<sub>4</sub>O<sub>19</sub>・1.5H<sub>2</sub>O(C、H、N、S)、計算値 C:33.77、H:7.58、N:10.11、S:9.23;実測値 C:32.44、H:5.90、N:10.47、S:10.58。EC-ネオマイシンのUV波長は、ECおよびネオマイシンと比較した場合に、270.5nmシフトした(図40A~C)。

10

20

【0136】

(<sup>99m</sup>TcでのEC-MNおよびEC-ネオマイシンの放射標識)

<sup>99m</sup>Tc-ECおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの放射合成(radiosynthesis)を、ECまたはEC-ネオマイシンの凍結乾燥化残渣(10mg)、SnCl<sub>2</sub>(100μg)、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(13.5mg)およびアスコルビン酸(0.5mg)を含む手製のキットに、必要量の<sup>99m</sup>Tc-パラテクネート(pertechnetate)を添加することによって達成した。次いで、0.1ml水中のNaEDTA(0.5mg)を添加した。調製物の最終pHは、7.4であった。放射化学的純度を、酢酸アンモニウム(水中1M):メタノール(4:1)で溶出されるTLC(ITLCSG, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI)によって決定した。放射TLC(Bioscan, Washington, DC)分析(図41)およびHPLC分析(図42~45)から、放射化学的純度は、両方の放射性トレーサーについて95%を超えた。

30

【0137】

(<sup>99m</sup>Tc-ECおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの安定性アッセイ)

標識した<sup>99m</sup>Tc-ECおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの安定性を、イヌ血清サンプル中で試験した。手短に言うと、740KBqの1mgの<sup>99m</sup>Tc-ECおよび<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンを、イヌ血清中(200μl)で37℃にて4時間インキュベートした。この血清サンプルを、水中の50%メタノールで希釈し、そして放射-TLCを、上記のように0.5時間、2時間および4時間で繰り返した。

40

【0138】

(<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの組織分布研究)

雌性Fishcer 344ラット(150±25g)(Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)に、25ゲージ針を用いて、13762腫瘍細胞株懸濁液由来の0.1mlの乳房腫瘍細胞(10<sup>6</sup>細胞/ラット、Fishcerラットに特異的な腫瘍細胞株)を後脚に皮下接種した。腫瘍が約1cm直径に到達する移植後14~17日に、研究を行った。ラットを、各手順の前にケタミン(10~15mg/ラット、腹腔内)で麻酔した。

【0139】

組織分布研究において、各動物に、10~20μCiの<sup>99m</sup>Tc-ECまたは<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシン(n=3/時点)を静脈内注射した。<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオ

50

マイシンの注射した量は、200 μg / ラットであった。これらの放射トレーサーの投与後0.5時間、2時間および4時間で、ラットを屠殺し、そして選択した組織を切り出し、重さを量り、そして放射活性を計数した。各サンプル中のトレーサーの体内分布を、1g組織湿重量あたりの注射用量のパーセンテージ(%ID/g)として計算した。腫瘍/非標的組織の計数密度比を、対応する%ID/g値から計算した。<sup>99m</sup>Tc-EC(表4)および遊離テクネチウム(表9)と比較した場合、腫瘍対組織比は、<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシン群において時間の関数として増加した(表8)。

【0140】

(シンチグラフィ画像化研究)

低エネルギーの平行穴コリメーターを備えたカメラ(Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL)を使用して、シンチグラフィ画像を、100 μCiの各放射トレーサーの静脈内注射後0.5時間、2時間および4時間で得た。<sup>99m</sup>Tc-ECと比較して、腫瘍中の高い取り込みが観察された(図37A)。予備的な臨床画像化研究を、乳癌を有する患者において行った。腫瘍は、<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの投与後2時間で十分に可視化された(図37B)。

10

【0141】

(表8)

(乳房腫瘍保有ラットにおける<sup>99m</sup>Tc-EC-ネオマイシンの体内分布)

【0142】

20

【表8】

	30分間	1時間	2時間	4時間
血液	0.463±0.007	0.262±0.040	0.139±0.016	0.085±0.004
脾	0.344±0.011	0.202±0.030	0.114±0.014	0.080±0.003
肝臓	0.337±0.012	0.269±0.013	0.221±0.020	0.195±0.012
胃	0.279±0.039	0.147±0.001	0.061±0.008	0.054±0.008
脾臓	0.159±0.008	0.114±0.013	0.095±0.007	0.089±0.003
腎臓	8.391±0.395	8.804±0.817	8.356±0.408	8.638±0.251
甲状腺	0.349±0.008	0.202±0.028	0.114±0.007	0.086±0.001
筋肉	0.093±0.001	0.049±0.010	0.021±0.006	0.010±0.001
腸	0.159±0.004	0.093±0.014	0.061±0.004	0.266±0.200
尿	25.402±8.621	21.786±2.690	0.224±0.000	2.609±2.377
腫瘍	0.419±0.023	0.279±0.042	0.166±0.023	0.131±0.002
脳	0.022±0.001	0.014±0.003	0.010±0.001	0.007±0.001
心臓	0.147±0.009	0.081±0.012	0.040±0.004	0.029±0.002
腫瘍/血液	0.906±0.039	1.070±0.028	1.196±0.061	1.536±0.029
腫瘍/筋肉	4.512±0.220	5.855±0.458	8.364±1.469	12.706±0.783
腫瘍/脳	19.495±1.823	20.001±0.890	17.515±2.035	20.255±1.693

30

40

示された値は、3匹の動物からのデータの平均±標準偏差を表す。

【0143】

(表9)

(乳房腫瘍保有ラットにおける<sup>99m</sup>Tcパーテクネートの体内分布)

【0144】

【表 9】

	30分間	2時間	4時間
血液	1.218±0.328	0.666±0.066	0.715±0.052
脾臓	0.646±0.291	0.632±0.026	0.387±0.024
肝臓	0.541±0.232	0.304±0.026	0.501±0.081
脾臓	0.331±0.108	0.187±0.014	0.225±0.017
腎臓	0.638±0.197	0.489±0.000	0.932±0.029
甲状腺	24.821±5.181	11.907±15.412	17.232±5.002
筋肉	0.130±0.079	0.076±0.002	0.063±0.003
腸	0.153±0.068	0.186±0.007	0.344±0.027
腫瘍	0.591±0.268	0.328±0.016	0.423±0.091
脳	0.038±0.014	0.022±0.002	0.031±0.009
心臓	0.275±0.089	0.145±0.015	0.166±0.012
腫瘍/血液	0.472±0.093	0.497±0.073	0.597±0.144
腫瘍/筋肉	4.788±0.833	4.302±0.093	6.689±1.458
腫瘍/肝臓	1.084±0.023	1.084±0.115	0.865±0.270

10

20

示された値は、3匹の動物からのデータの平均±標準偏差を表す。

## 【0145】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-薬物結合体のインビトロ細胞取り込み)

$^{99m}\text{Tc}$ -EC-薬物結合体の細胞取り込みを評価するために、80,000個の細胞(A549肺癌細胞株)を含む各ウェルに、 $2\mu\text{Ci}$ の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGを添加した。インキュベーション後0.5~4時間で、細胞を、リン酸緩衝化生理食塩水で3回洗浄し、次いで、トリプシンによって細胞を死なせた。次いで、細胞を、カウンターによって計数した。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンは、ヒト肺癌細胞株中で試験した薬剤中で最も高い取り込みを示した(図46)。

## 【0146】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGの細胞取り込みに対するグルコースの効果)

ネオマイシンは、グルコース吸収に影響を及ぼすことが知られている(Rogersら、1968; Fanciulliら、1994)。先の実験は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンが、ヒト肺癌細胞株(A549)中で $^{18}\text{F}$ -FDGよりも高い取り込みを有することを示した。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンの取り込みがグルコース関連機構を介して媒介されるか否かを決定するために、グルコース(0.1mg~2.0mg)を、50,000個の(乳房)細胞または80,000個の(肺)細胞のいずれかを含有する各ウェルに、 $2\mu\text{Ci}$ の $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンおよび $^{18}\text{F}$ -FDGと共に添加した。インキュベーション後、細胞を、リン酸緩衝化生理食塩水で3回洗浄し、次いで、トリプシンによって細胞を死なせた。次いで、細胞を、カウンターによって計数した。

## 【0147】

0.1~2.0mg/ウェルの濃度でグルコースを添加することによって、2つの肺癌細胞株および1つの乳房細胞株における $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンの取り込みの減少が観察された。類似の結果が、 $^{18}\text{F}$ -FDG群において観察された。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC(コントロール)は、取り込みを全く示さなかった。これらの知見は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-ネオマイシンの細胞取り込みが、グルコース関連機構を介して媒介され得ることを示唆する(図47、48Aおよび48B)。

## 【0148】

(実施例7： $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースでの腫瘍の代謝画像化)

30

40

50

( EC - デオキシグルコース ( EC - DC ) の合成 )

水酸化ナトリウム ( 1 N、1 ml ) を、水中 ( 5 ml ) の EC ( 110 mg、0.41 mmol ) の攪拌した溶液に添加した。この無色の溶液に、スルホ - NHS ( 241.6 mg、1.12 mmol ) および EDC ( 218.8 mg、1.15 mmol ) を添加した。次いで、D - グルコサミン塩酸塩 ( 356.8 mg、1.65 mmol ) を添加した。この混合物を、室温にて24時間攪拌した。この混合物を、500のカットオフ値を有する Spectra / POR 分子多孔性膜 ( Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX ) を使用して48時間透析した。透析後、生成物を、凍結乾燥器 ( Labconco, Kansas City, MO ) を使用して凍結乾燥した。塩形態の生成物の重量は、568.8 mg であった。この合成スキームを図59に示す。この構造を、質量分析計 ( 図60 ) およびプロトンNMR ( 図61および62 ) で確かめた。 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - DC の放射化学的純度は、放射 - TLC ( 図63 ) および HPLC ( 図64 および65 ) 分析によって決定した場合100%であった。

10

【0149】

( ヘキソキナーゼアッセイ )

EC - DG がグルコースリン酸化を模倣するか否かを決定するために、ヘキソキナーゼアッセイを行った。既製のキット ( Sigma Chemical Company ) を使用して、EC - DG、グルコサミンおよびグルコース ( 標準 ) を、UV波長340 nm でアッセイした。グルコース、EC - DG およびグルコサミンは、陽性ヘキソキナーゼアッセイを示した ( 図66 ~ 68 ) 。

20

【0150】

( インビトロ細胞取り込みアッセイ )

インビトロ細胞取り込みアッセイを、ヒト肺癌細胞株 ( A549 ) を使用することによって行った。 $2\ \mu\text{Ci}$  の  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - DG および  $^{18}\text{F}$  - FDG を、各80,000個の細胞を含有するウェルに添加した。インキュベーション後0.5 ~ 4時間で、細胞を、リン酸緩衝化生理食塩水で3回洗浄し、次いで、トリプシンによって細胞を死なせた。次いで、細胞を、カウンターによって計数した。 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - DG の取り込みは、FDG に匹敵した ( 図69 ) 。

30

【0151】

(  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースおよび  $^{18}\text{F}$  - FDG の細胞取り込みに対する d - グルコースおよび l - グルコースの効果 )

$^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースの取り込みが d - グルコース関連機構を介して媒介されるか否かを評価するために、d - グルコースおよび l - グルコース ( 1 mg および 2.0 mg ) を、乳癌細胞または肺癌細胞 ( 50,000個 / 0.5 ml / ウェル ) のいずれかを含有する各ウェルに、 $2\ \mu\text{Ci}$  の  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースおよび  $^{18}\text{F}$  - FDG と共に添加した。2時間のインキュベーション後、細胞を、リン酸緩衝化生理食塩水で3回洗浄し、次いで、トリプシンによって細胞を死なせた。細胞を、カウンターによって計数した。

40

【0152】

1 ~ 2.0 mg / ウェルの濃度でグルコースを添加することによって、乳癌細胞および肺癌細胞における  $^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースおよび  $^{18}\text{F}$  - FDG の取り込みの減少が観察された。しかし、l - グルコースによる両薬剤に対する影響は存在しなかった ( 図70 ~ 73 ) 。これらの知見は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースの細胞取り込みが、d - グルコース機構を介して媒介されることを示唆する。

【0153】

( 正常ラットにおける血中グルコースレベルに対する EC - デオキシグルコース負荷の効果 )

先の実験は、 $^{99m}\text{Tc}$  - EC - デオキシグルコースの細胞取り込みが、FDG に類似することを示した。例えば、ヘキソキナーゼアッセイ ( グルコースリン酸化 ) は、陽性で

50

あった。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-デオキシグルコースの取り込みは、d-グルコース機構を介して媒介される。この研究は、血中グルコースレベルがFDGまたはEC-デオキシグルコースのいずれかによって誘導され得、そしてインスリンによって抑制され得るか否かを決定することである。

#### 【0154】

正常な健常Fischer 344ラット(重量145~155g)を、実験前に一晩絶食させた。調製した塩酸グルコサミン、FDGおよびEC-デオキシグルコースの濃度は、60%および164%(mg/ml)であった。血中グルコースレベル(mg/dl)を、グルコースメーター(Glucometer DEX, Bayer Corporation, Elkhart, IN)によって測定した。この研究の前に、血中グルコースレベルのベースラインを得た。各ラット(n=3/群)に、1.2mmol/kgのグルコサミン、FDGおよびEC-デオキシグルコースを投与した。別の実験において、1群のラットに、EC-デオキシグルコースおよびFDGを投与した。インスリン(5ユニット)を、30分後に投与した。血液サンプルを、尾静脈から30分毎に投与後6時間まで収集した。

10

#### 【0155】

血中グルコースレベルは、グルコサミン、FDGおよびEC-デオキシグルコースのポラス静脈内投与によって誘導された。この血中グルコースレベルの増加は、EC-デオキシグルコースまたはFDGおよびインスリンの投与によって抑制され得た(図74および75)。

20

#### 【0156】

( $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGの組織分布研究)

乳房腫瘍保有動物モデルについて、雌性Fischer 344ラット(150±25g)(Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)に、25ゲージ針を用いて、13762腫瘍細胞株懸濁液由来の0.1mlの乳房腫瘍細胞( $10^6$ 細胞/ラット、Fischerラットに特異的な腫瘍細胞株)を後脚に皮下接種した。腫瘍が約1cm直径に到達する移植後14~17日に、研究を行った。ラットを、各手順の前にケタミン(10~15mg/ラット、腹腔内)で麻酔した。

#### 【0157】

肺腫瘍保有動物モデルについて、各胸腺欠損ヌードマウス(20~25g)に、25ゲージ針を用いて、A549腫瘍細胞株懸濁液由来の0.1mlのヒト肺腫瘍細胞( $10^6$ 細胞/マウス)を後脚に皮下接種した。腫瘍が約0.6cm直径に到達する移植後17~21日に、研究を行った。

30

#### 【0158】

組織分布研究において、各動物に、10~20 $\mu\text{Ci}$ (1匹のラットあたり)または1~2 $\mu\text{Ci}$ (1匹のマウスあたり)の $^{99m}\text{Tc}$ -ECまたは $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DG(n=3/時点)を静脈内注射した。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DGの注射した量は、1mg/ラットであった。これらの放射トレーサーの投与後0.5時間、2時間および4時間で、これらの齧歯動物を屠殺し、そして選択した組織を切り出し、重さを量り、そして放射活性を計数した。各サンプル中のトレーサーの体内分布を、1g組織湿重量あたりの注射用量のパーセンテージ(%ID/g)として計算した。腫瘍/非標的組織の計数密度比を、対応する%ID/g値から計算した。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC(表4)および遊離テクネチウム(表9)と比較した場合、腫瘍対組織比は、 $^{99m}\text{Tc}$ -EC-DG群において、時間の関数として増加した(図76~80)。

40

#### 【0159】

(シンチグラフィ画像化研究)

低エネルギーの平行穴コリメーターを備えたカメラを使用して、シンチグラフィ画像を、100 $\mu\text{Ci}$ の放射トレーサーの静脈内注射後0.5時間、2時間および4時間で得た。使用した動物モデルは、乳房腫瘍保有ラットであった。 $^{99m}\text{Tc}$ -EC(コントロール群)と比較した場合、腫瘍は十分に可視化され得た(図81)。予備的な臨床画像

50

化研究を、5人の患者(3人の脳腫瘍および2人肺疾患患者)において行った。画像を、投与後1~2時間で得た。 $^{99m}\text{Tc}-\text{EC}-\text{DG}$ は、良性腫瘍を悪性腫瘍に対して区別し得た。例えば、悪性星状細胞腫は、高い取り込みを示した(図82A, 82B、83Aおよび83B)。良性髄膜腫は、悪性髄膜腫と比較して乏しい取り込みを示した(図84AおよびB)。乏しい取り込みは、TBを有する患者において観察されたが(図85Aおよび図85B)、高い取り込みが、肺腫瘍において観察された(図86A, 図86B、および図86C)。

【0160】

本明細書中に開示されそして特許請求される全ての組成物および/または方法は、本開示を考慮して過度の実験を伴うことなく作製および実行される。本発明の組成物および方法は、好ましい実施形態について記載されたが、これらの組成物および/または方法に対して、および本明細書中に記載される方法の工程または工程の順序において、本発明の概念、精神および範囲を逸脱することなく改変が適用され得ることは、当業者に明らかである。より詳細には、化学的および生理学的の両方で関連する特定の薬剤が、本明細書中に記載される薬剤と置換され得、同じかまたは類似の結果が達成されることが、明らかである。当業者に明らかな全てのこのような類似の置換物および改変物は、添付の特許請求の範囲に規定されるように、本発明の精神、範囲および概念内にあるとみなされる。

10

【0161】

(参考文献)

以下の参考文献は、これらが本明細書中に記載されるものに対して補助的な、例示的手順または他の詳細を提供する程度まで、本明細書中に参考として詳細に援用される。

20

【0162】

## 【表 1 0】

- Abrams, Juweid, Tenkate, "Technetium-99m-human polyclonal IgG radiolabeled via the hydrazino nicotinamide derivative for imaging focal sites of infection in rats," *J. Nucl. Med.*, 31:2022-2028, 1990.
- Bakker, Krenning, Breeman, Kiper, Kooij, Reubi, Klijn, Visser, Docter, Lamberts, "Receptor scintigraphy with a radioiodinated somatostatin analogue: radiolabeling, purification, biologic activity and in vivo application in animals," *J. Nucl. Med.*, 31:1501-1509, 1990.
- Blakenberg, Katsikis, Tait *et al.*, "In vivo detection and imaging of phosphatidylserine expression during programmed cell death," *Proc Natl. Acad. Sci USA*, 95:6349-6354, 1998. 10
- Blakenberg, Katsikis, Tait, Davis, Naumovski, Ohtsuki, Kopiwoda, Abrams, Strauss, "Imaging of apoptosis (programmed cell death) with <sup>99m</sup>Tc annexin V.," *J. Nucl. Med.*, 40:184-191, 1999.
- Blondeau, Berse, Gravel, "Dimerization of an intermediate during the sodium in liquid ammonia reduction of L-thiazolidine-4-carboxylic acid," *Can J. Chem.*, 45:49-52, 1967.
- Bolhuis, Lamers, Goey *et al.*, "Adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with Bs- MAb targeted lymphocytes. A multicenter study," *Int J Cancer*, 7:78-81, 1992. 20
- Britton and Granowska, "Imaging of tumors, in tomography in nuclear medicine," *Proceedings of an International Symposium*, Vienna, Austria, IAEA, 91-105, 1996.
- Bush, Jenkins, Allt, Beale, Bena, Dembo, Pringle, "Definitive evidence for hypoxic cells influencing cure in cancer therapy," *Br J Cancer*, (Suppl. III) 37:302-306, 1978.
- Butterfield, Fuji, Ladd, Snow, Tan, Toner, "Segmented chelating polymers as imaging and therapeutic agents," *United States Patent 4,730,968*, March 24, 1998.
- Campbell, Jones, Foulkes, Trowsdale, "Folate-binding protein is a marker for ovarian cancer," *Cancer Res*, 51:5329-5338, 1991. 30
- Canevari, Miotti, Bottero, Valota, Colnaghi, "Ovarian carcinoma therapy with monoclonal antibodies," *Hybridoma*, 12:501-507, 1993.
- Cherif, Yang, Tansey, Kim, Wallace, "Synthesis of [<sup>18</sup>F]fluoromisonidazole," *Pharm Res.*, 11:466-469, 1994.

- Coenen and Stocklin, "Evaluation of radiohalogenated amino acid analogues as potential tracers for PET and SPECT studies of protein synthesis," *Radioisot Klinik Forschung*, 18:402-440, 1988.
- Coney, Mezzanzanica, Sanborn, Casalini, Colnaghi, Zurawski, "Chimeric murine-human antibodies directed against folate binding receptor are efficient mediators of ovarian carcinoma cell killing," *Cancer Res*, 54:2448-2455, 1994.
- Davison, Jones, Orvig, Sohn, "A new class of oxotechnetium(+5) chelate complexes containing a  $TcON_2S_2$  Core," *Inorg Chem*, 20:1629-1632, 1980. 10
- Dickinson and Hiltner, "Biodegradation of poly( $\alpha$ -amino acid) hydrogel. II. In vitro," *J. Biomed Mater Res.*, 15:591, 1981.
- Dische, "A review of hypoxic-cell radiosensitization," *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 20:147-152, 1991.
- Fanciulli, Paggi, Bruno, et al., "Glycolysis and growth rate in normal and in hexokinase-transfected NIH-3T3 cells," *Oncol Res*. 6(9):405-9, 1994.
- Franklin, Waintrub, Edwards, Christensen, Prendergrast, Woods, Bunn, Kolhouse, "New anti-lung-cancer antibody cluster 12 reacts with human folate receptors present on adenocarcinoma," *Int J Cancer-Supplement*, 8:89-95, 1994. 20
- Gatenby, Kessler, Rosenblum, Coia, Moldofsky, Hartz, Broder, "Oxygen distribution in squamous cell carcinoma metastases and its relationship to outcome of radiation therapy," *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 14:831-838, 1988.
- Ginobbi, Geiser, Ombres, Citro, "Folic acid- polylysine carrier improves efficacy of c-myc antisense oligodeoxynucleotides on human melanoma (M14) cells," *Anticancer Res*, 17:29-35, 1997a.
- Goh, Pricher, Lobie, "Growth hormone promotion of tubulin polymerization stabilizes the microtubule network and protects against colchicine-induced apoptosis," *Endocrinology*, 139:4364-4372, 1998. 30
- Goldsmith, "Receptor imaging: Competitive or complementary to antibody imaging," *Sem Nucl Med.*, 27:85-93, 1997.
- Goldsmith, Macapinlac, O'Brien, "Somatostatin receptor imaging in lymphoma," *Sem Nucl Med*, 25:262-271, 1995.
- Gray, Conger, Elbert, Morsney, Scold, "The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy," *Br J Radiol*, 26:638-648, 1953.
- Hall, "The oxygen effect and reoxygenation," In: E. J. Hall (ed.) *Radiobiology for the radiobiologist*, 3rd edition J.B. Lippincott Co., Philadelphia, PA, 137-160, 1988. 40

- Harada, Smith, Smith *et al.*, "Insulin-induced egr-1 and c-fos expression in 32D cells requires insulin receptor, Shc, and mitogen-activated protein kinase, but not insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase activation," *J. Biol. Chem.* 271(47):30222-6, 1996.
- Hay, Wilson, Moselen, Palmer, Denny, "Hypoxia-selective antitumor agents. Bis(nitroimidazolyl)alkanecarboxamides: a new class of hypoxia-selective cytotoxins and hypoxic cell radiosensitizers," *J Med. Chem.*, 37:381-391, 1994.
- Hermann, Patel. "Adaptive recognition by nucleic acid aptamers," *Science*, 287(5454):820-5, 2000. 10
- Holm, Hansen, Hoier-Madsen, Sondergaard, Bzorek, "Folate receptor of human mammary adenocarcinoma," *APMIS*, 102:413-419, 1994.
- Hsueh and Dolnick, "Altered folate-binding protein mRNA stability in KB cells grown in folate-deficient medium," *Biochem Pharmacol*, 45:2537-2545, 1993.
- Imbert, "Discovery of podophyllotoxins," *Biochimie*, 80:207-222, 1998.
- Jamar, Stoffel, Van Nerom, *et al.*, "Clinical evaluation of Tc-99m L,L-ethylenedicycysteine, a new renal tracer, in transplanted patients," *J Nucl Med*, 34:129P, 1993a.
- Jamar, Van Nerom, Verbruggen, *et al.*, "Clearance of the new tubular agent Tc-99m L,L-ethylenedicycysteine: Estimation by a simplified method," *J Nucl Med*, 34:129P, 1993b. 20
- Kabasakal. "Technetium-99m ethylene dicycysteine: a new renal tubular function agent," *Eur. J Nucl. Med.* 27(3):351-7, 2000.
- Kikukawa, Toyama, Katayama, *et al.*, "Early and delayed Tc-99m ECD brain SPECT in SLE patients with CNS involvement," *Ann Nucl Med.* 14(1):25-32, 2000.
- Koh, Rasey, Evans, Grierson, Lewellen, Graham, Krohn, Griffin, "Imaging of hypoxia in human tumors with [18F]fluoromisonidazole," *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 22:199-212, 1992. 30
- Kranz, Patrick, Brigle, Spinella, Roy, "Conjugates of folate and anti-T-cell-receptor antibodies specifically target folate-receptor-positive tumor cells for lysis," *Proc Natl Acad Sci*, 92:9057-9061, 1995.
- Krenning, Kwokkeboom, Bakker, *et al.*, "Somatostatin receptor scintigraphy with [In-111-DTPA-D-Phe] and [I-123-Tyr]-octretide: The Rotterdam experience with more than 1000 patients," *Eur J Nucl Med*, 7:716-731, 1995.
- Lambert, Bakker, Reubi, Krenning, "Somatostatin receptor imaging in vivo localization of tumors with a radiolabeled somatostatin analog," *J. Steroid Biochem Mol Biol*, 37:1079-1082, 1990. 40

- Leamon and Low, "Cytotoxicity of momordin-folate conjugates in cultured human cells," *J Biol Chem*, 267:24966-24971, 1992.
- Leamon and Low, "Delivery of macromolecules into living cells: a method that exploits folate receptor endocytosis," *Proc Natl Acad Sci*, 88:5572-5576, 1991.
- Leamon, Pastan, Low, "Cytotoxicity of folate-pseudomonas exotoxin conjugates toward tumor cells," *J Biol Chem*, 268:24847-24854, 1993.
- Lee and Low, "Delivery of liposomes into cultured KB cells via folate receptor-mediated endocytosis," *J Biol Chem*, 269:3198-3204, 1994. 10
- Lennon, Martin, Cotter, "Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli," *Cell Prolif*, 24:203-214, 1991.
- Lu, "Antimitotic agents," In: Foye, WO. Ed., "Cancer chemotherapeutic agents," Washington, DC: American Chemical Society, 345-368, 1995.
- Martin, Caldwell, Rasey, Grunbaum, Cerqueira, Krohn, Enhanced binding of the hypoxic cell marker [<sup>18</sup>F]fluoromisonidazole in ischemic myocardium," *J Nucl Med*, 30:194-201, 1989.
- Mathias, Hubers, Trump, Wang, Luo, Waters, Fuchs, Low, Green, "Synthesis of Tc-99m-DTPA-folate and preliminary evaluation as a folate-receptor-targeted radiopharmaceutical (Abstract)," *J Nucl Med*, (Supplement); 38:87P, 1997a. 20
- Mathias, Wang, Waters, Turek, Low, Green, "Indium-111-DTPA-folate as a radiopharmaceutical for targeting tumor-associated folate binding protein (Abstract)," *J Nucl Med*, (Supplement) 38:133P, 1997b.
- Mathias, Wang, Lee, Waters, Low, Green, "Tumor-selective radiopharmaceutical targeting via receptor-mediated endocytosis of Gallium-67- deferoxamine- folate," *J Nucl Med*, 37:1003-1008, 1996.
- Moller, Benecke, Flier. "Biologic activities of naturally occurring human insulin receptor mutations. Evidence that metabolic effects of insulin can be mediated by a kinase-deficient insulin receptor mutant," *J Biol Chem*. 15;266(17):10995-1001, 1991. 30
- Mochizuki, Inaki, Takeymoto, "Synthesis of polyglutamates containing 5-substituted uracil moieties," *Nucleic Acids Res.*, 16:121-124, 1985.
- Nordmark, Overgaard, Overgaard, "Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck," *Radiother Oncol*, 41:31-39, 1996.
- Offield, Jetton, Labosky, *et al.*, "PDX-1 is required for pancreatic outgrowth and differentiation of the rostral duodenum," *Development*. 122(3):983-95, 1996. 40

- Orr, Kreisler, Kamen, "Similarity of folate receptor expression in UMSSC 38 cells to squamous cell carcinoma differentiation markers," *J Natl Cancer Inst*, 87:299-303, 1995.
- Patrick, Kranz, van Dyke, Roy, "Folate receptors as potential therapeutic targets in choroid plexus tumors of SV40 transgenic mice," *J Neurooncol*, 32:111-123, 1997.
- Piper, McCaleb, Montgomery, "A synthetic approach to poly(glutamyl) conjugates of methotrexate," *J. Med. Chem.*, 26:291-294, 1983.
- Popovici, Mungiu, Trandafirescu, et al., "The influence of some antibiotics on hexokinase and pyruvate-kinase activity in the rat liver and kidney," *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 193(1):80-6, 1971. 10
- Raderer, Becherer, Kurtaran, Angelberger, Li, Leimer, Weinlaender, Kornek, Kletter, Scheithauer, Virgolini, "Comparison of Iodine-123-vasoactive intestinal peptide receptor scintigraphy and Indium-111 CFT-102 immunoscintigraphy," *J. Nucl. Med.*, 37:1480-1487, 1996.
- Raffauf, Farren, Ulliyot, "Colchicine. Derivatives of trimethylcolchicinic acid," *J. Am Chem Soc*, 75:5292-5294, 1953.
- Rasey, Koh, Griesohn, Grunbaum, Krohn, "Radiolabeled fluoromisonidazole as an imaging agent for tumor hypoxia," *Int. J. Radiat Oncol. Biol Phys*, 17:985-991, 1989. 20
- Rasey, Nelson, Chin, Evans, Grunbaum, "Characterization of the binding of labeled fluoromisonidazole in cells in vitro," *Radiat Res*, 122:301-308, 1990.
- Ratner and Clarke, "The action of formaldehyde upon cysteine," *J. Am Chem. Soc.*, 59:200-206, 1937.
- Reubi, Krenning, Lamberts *et al.*, "In vitro detection of somatostatin receptors in human tumors," *Metabolism*, 41:104-110 (suppl 2), 1992.
- Rogers, Bachorik, Nunn. "Neomycin effects on glucose transport by rat small intestine," *Digestion*. 1(3):159-64, 1968. 30
- Ross, Chaudhuri, Ratnam, "Differential regulation of folate receptor isoforms in normal and malignant tissue in vivo and in established cell lines," *Cancer*, 73:2432-2443, 1994.
- Rowinsky, Cazenave, Donahower, "Taxol: a novel investigational antimicrotuble agent," *J. Natl. Cancer Institute*, 82(15):1247-1259, 1990.
- Seabold, Gurll, Schurrer, Aktay, Kirchner, "Comparison of  $^{99m}\text{Tc}$ -Methoxyisobutyl Isonitrile and  $^{201}\text{Tl}$  Scintigraphy for Detection of Residual Thyroid Cancer After  $^{131}\text{I}$  Ablative Therapy," *J. Nucl. Med.*, 40(9):1434-1440, 1999. 40
- Shankar, Zhu, Baron et al., "Glucosamine infusion in rats mimics the beta-cell dysfunction of non-insulin-dependent diabetes mellitus," *Metabolism*. 47(5):573-7, 1998.

- Stella and Mathew, "Derivatives of taxol, pharmaceutical compositions thereof and methods for preparation thereof," *United States Patent 4,960,790*, October 2, 1990.
- Surma, Wiewiora, Liniecki, "Usefulness of Tc-99m-N,N'-ethylene-1-dicysteine complex for dynamic kidney investigations," *Nucl Med Comm*, 15:628-635, 1994.
- Tait and Smith, "Site-specific mutagenesis of annexin V: role of residues from Arg-200 to Lys-207 in phospholipid binding," *Arch Biochem Biophys*, 288:141-144, 1991.
- Valk, Mathis, Prados, Gilbert, Budinger, "Hypoxia in human gliomas: Demonstration by PET with [<sup>18</sup>F]fluoromisonidazole," *J Nucl Med*, 33:2133-2137, 1992. 10
- Van Nerom, Bormans, Bauwens, Vandecruys, De Roo, Verbruggen, "Comparative evaluation of Tc-99m L,L-ethylenedicysteine and Tc-99m MAG3 in volunteers," *Eur J Nucl Med*, 16:417, 1990.
- Van Nerom, Bormans, De Roo, *et al.*, "First experience in healthy volunteers with Tc-99m-L,L-ethylenedicysteine, a new renal imaging agent," *Eur J Nucl Med*, 20:738-746, 1993.
- Verbruggen, Nosco, Van Nerom *et al.*, "Tc-99m-L,L-ethylenedicysteine: A renal imaging agent. I. Labelling and evaluation in animals," *J Nucl Med*, 33:551-557, 1992. 20
- Verbruggen, Nosco, Van Nerom, Bormans, Adriacns, De Roo, "Evaluation of Tc-99m-L,L-ethylenedicysteine as a potential alternative to Tc-99m MAG3," *Eur J Nucl Med*, 16:429, 1990.
- Villevalois-Cam, Tahiri, Chauvet, *et al.*, "Insulin-induced redistribution of the insulin-like growth factor II/mannose 6-phosphate receptor in intact rat liver," *J Cell Biochem*. 77(2):310-22, 2000
- Virgolini, Raderer, Kurtaran, "Vasoactive intestinal peptide (VIP) receptor imaging in the localization of intestinal adenocarcinomas and endocrine tumors," *N Eng J Med*, 331:1116-1121, 1994. 30
- Wang, Lee, Mathias, Green, Low, "Synthesis, purification, and tumor cell uptake of Ga-67 deferoxamine-folate, a potential radiopharmaceutical for tumor imaging," *Bioconjugate Chem*, 7:56-62, 1996.
- Wang, Luo, Lantrip, Waters, Mathias, Green, Fuchs, Low, "Design and synthesis of [<sup>111</sup>In]DTPA-folate for use as a tumor-targeted radiopharmaceutical," *Bioconjugate Chem*, 8:673-679, 1997.
- Wang, Wang, Ichijo, Giannakakou, Foster, Fojo, Wimalasena, "Microtubule-interfering agents activate c-Jun N-terminal kinases/stress-activated protein kinase through both Ras and apoptosis signal-regulating kinase pathways," *J. Biol. Chem.*, 273:4928-4936, 1998. 40

Weitman, Frazier, Kamen, "The folate receptor in central nervous system malignancies of childhood," *J Neuro-Oncology*, 21:107-112, 1994.

Weitman, Lark, Coney *et al.*, "Distribution of folate GP38 in normal and malignant cell lines and tissues," *Cancer Res*, 52:3396-3400, 1992a.

Weitman, Weinberg, Coney, Zurawski, Jennings, Kamen, "Cellular localization of the folate receptor: potential role in drug toxicity and folate homeostasis," *Cancer Res*, 52:6708-6711, 1992b.

Wester, Herz, Weber, Heiss, Schmidtke, Schwaiger, Stocklin, "Synthesis and radiopharmacology of -O(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-Tyrosine for tumor imaging," *J. Nucl. Med.*, 40:205-212, 1999. 10

Westerhof, Jansen, Emmerik, Kathmann, Rijksen, Jackman, Schornagel, "Membrane transport of natural folates and antifolate compounds in murine L1210 leukemia cells: Role of carrier- and receptor- mediated transport systems," *Cancer Res*, 51:5507-5513, 1991.

Yang, Wallace, Cherif, Li, Gretzer, Kim, Podoloff, "Development of F-18-labeled fluoroerythronitroimidazole as a PET agent for imaging tumor hypoxia," *Radiology*, 194:795-800, 1995. 20

Yoshino, Takeda, Sugimoto, *et al.*, "Differential effects of troglitazone and D-chiroinositol on glucosamine-induced insulin resistance in vivo in rats," *Metabolism*. 48(11):1418-23, 1999.

以下の図面は、本明細書の一部を形成し、そして本発明の特定の局面をさらに示すために含まれる。本発明は、本明細書中に示される特定の実施形態の詳細な説明と組み合わせ、これらの図面のうちの1つ以上を参照することによって良好に理解され得る。

【 図 3 】

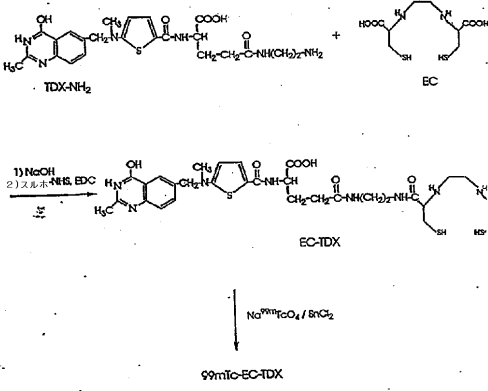


FIG. 3

【 図 4 】

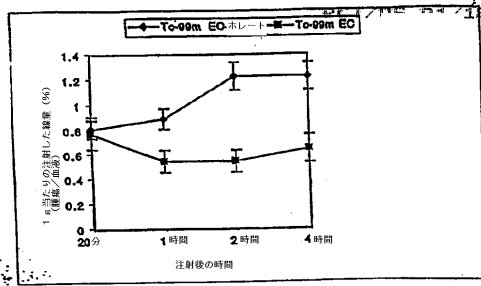


FIG. 4

【 図 5 】

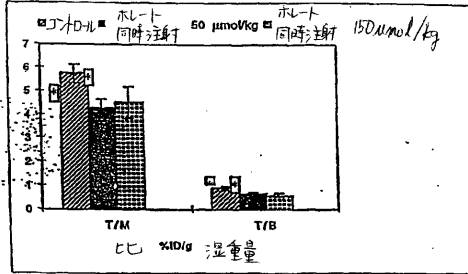


FIG. 5

【 図 6 】

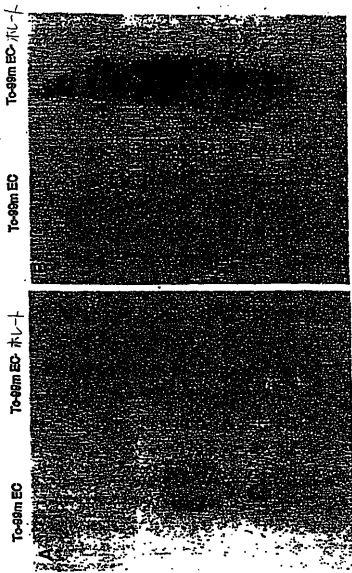


FIG. 6B

FIG. 6A

【 図 7 】

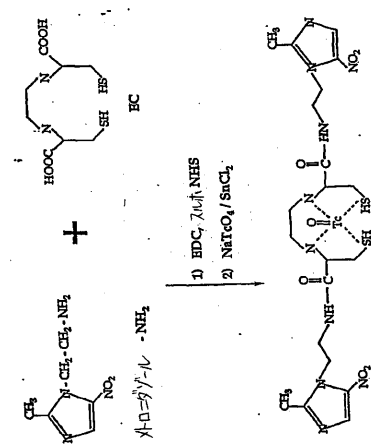


FIG. 7

【 図 8 A 】

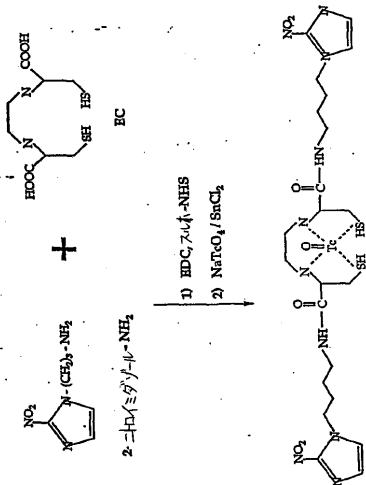


FIG. 8A

【 図 8 B 】

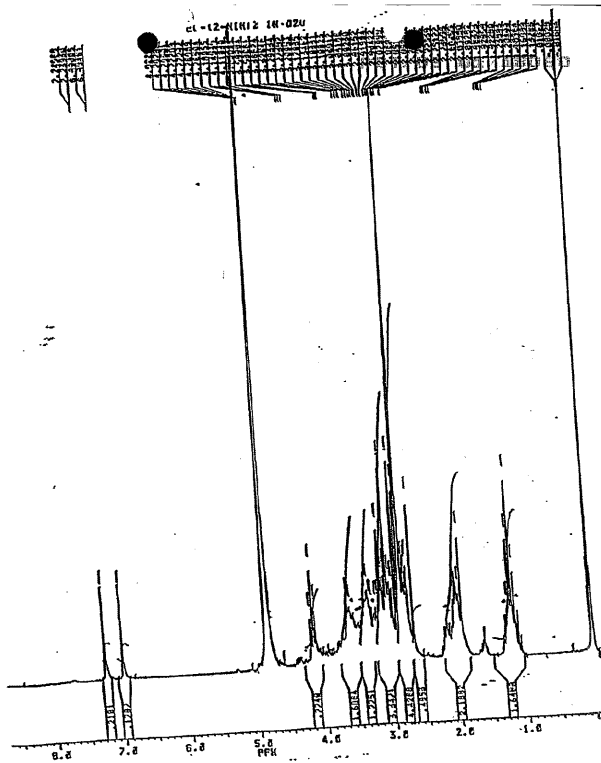


FIG. 8B

【 図 9 】

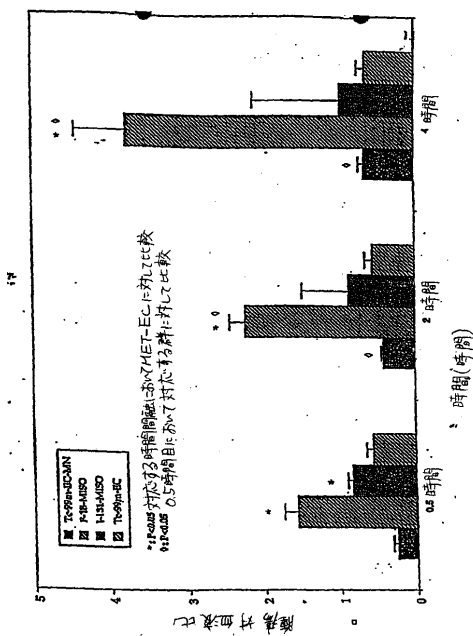


FIG. 9

【 図 10 】

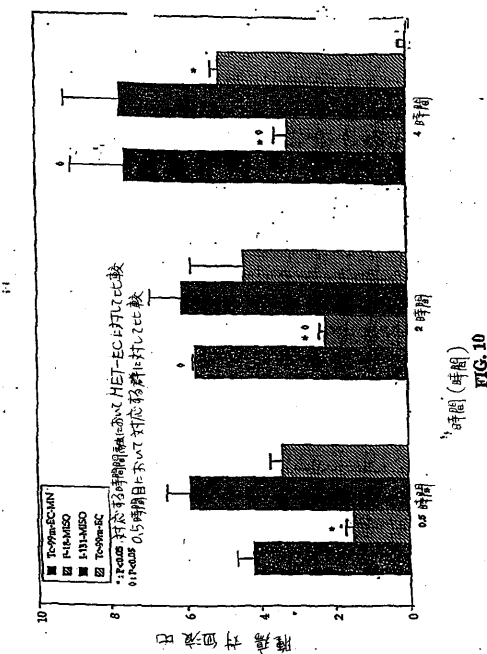


FIG. 10

【 図 1 1 】

FIG. 11A

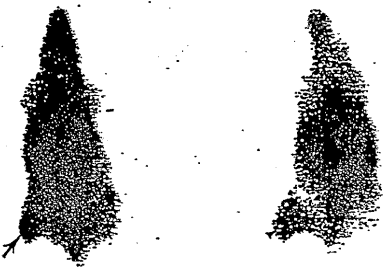
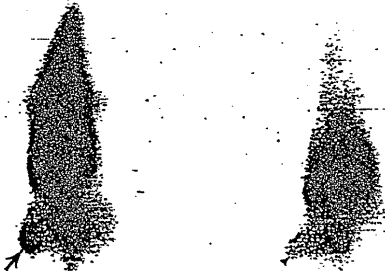


FIG. 11B



【 図 1 2 】

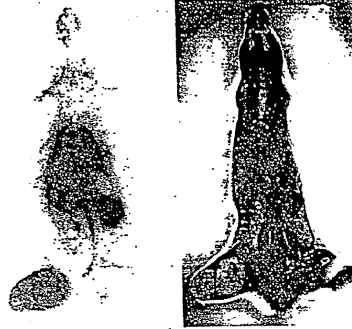


FIG. 12

【 図 1 3 】

3-10-1999

Date: Mar 10 1999 Start time: 16:02 Run time: 00:00:50  
 Data File: Plate: 1 Lane: 1  
 PCT/US 01/18060 (Amp. Range: 0 - 2047)

Elect Resolution: NORMAL  
 Stop counts: 50000  
 Stop Counts Region: 0.00 to 20.00 cm Solvent Front: 19.00 cm  
 Rf Calculations: Origin: 1.50 cm  
 Integration Parameters: Auto Integration Peak slope: 1.0 Min width: 0.1 Min %: 2.0

Total Count Region: 0.00cm to 20.00cm  
 Total Counts: 53170  
 Total CPM: 63810

Reg. #	Start (cm)	Stop (cm)	Center (cm)	Rf	Region Counts	Region CPM	% of Tot Reg	% of Tot
1	0.60	4.40	2.50	0.05	4557	5468	9.02	8
2	8.20	16.80	12.56	0.63	45960	55180	90.98	86
TOTAL					50517	60648	100.00	94

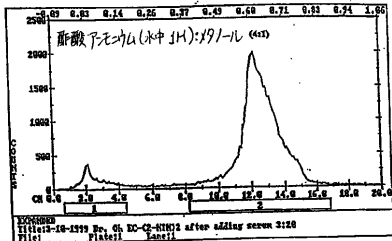


FIG. 13

【 図 1 4 A 】

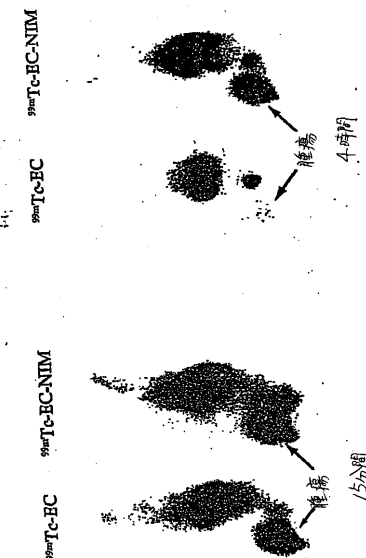


FIG. 14A

【 図 1 4 B 】

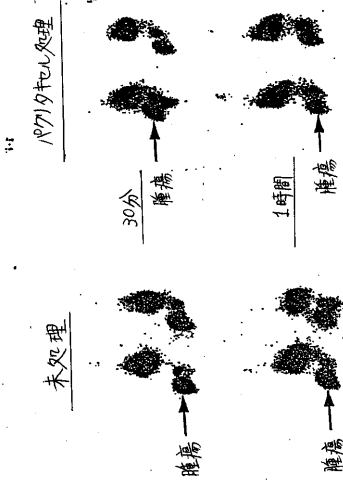


FIG. 14B

【 図 1 5 A 】

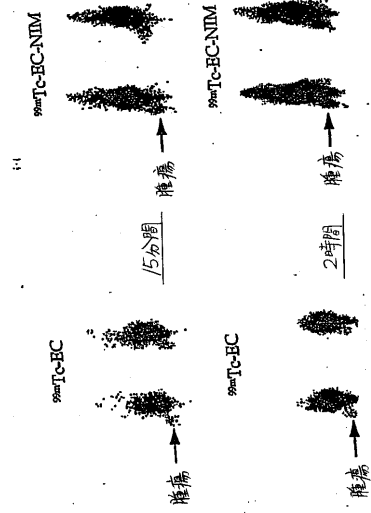


FIG. 15A

【 図 1 5 B 】

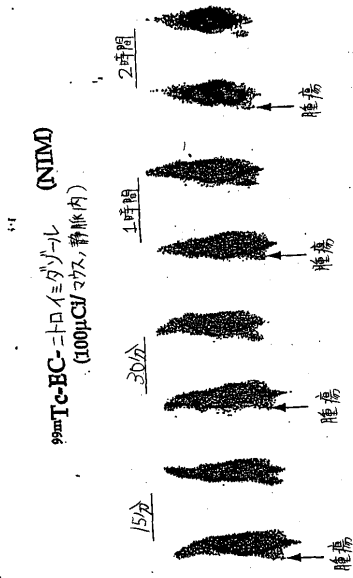


FIG. 15B

【 図 1 5 C 】

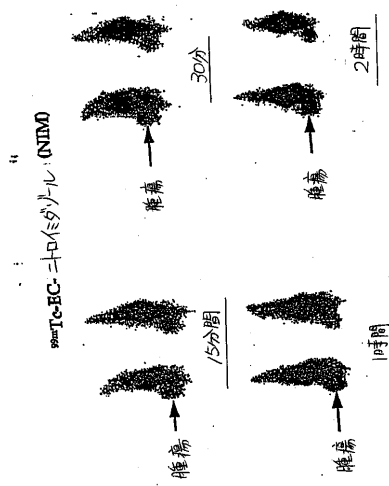
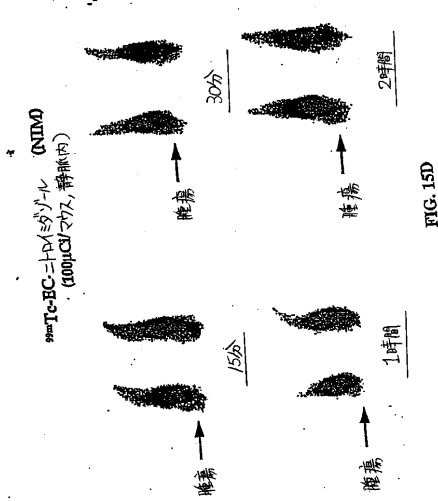
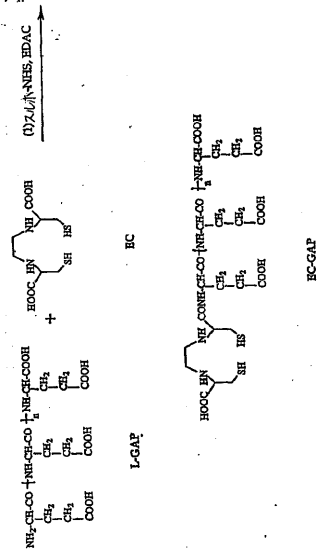


FIG. 15C

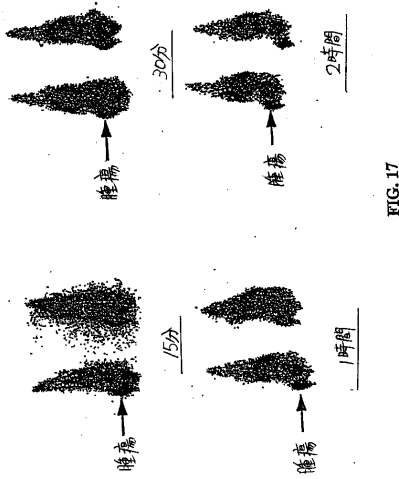
【 図 15 D 】



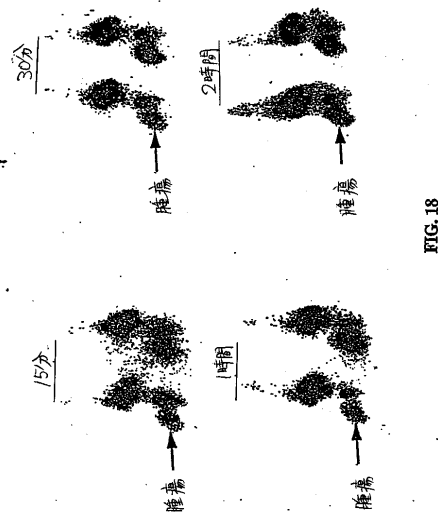
【 図 16 】



【 図 17 】



【 図 18 】



【図 19 A】

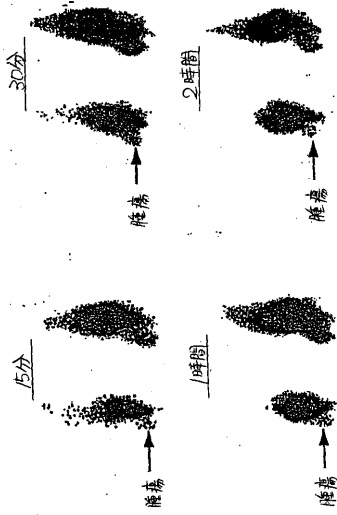


FIG. 19A

【図 19 B】

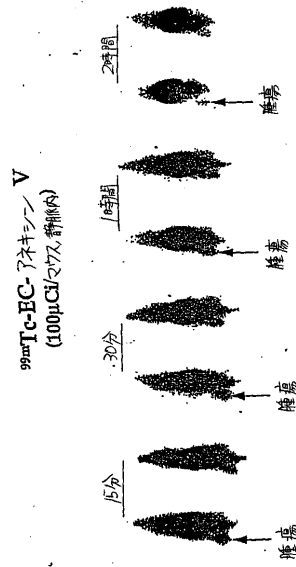
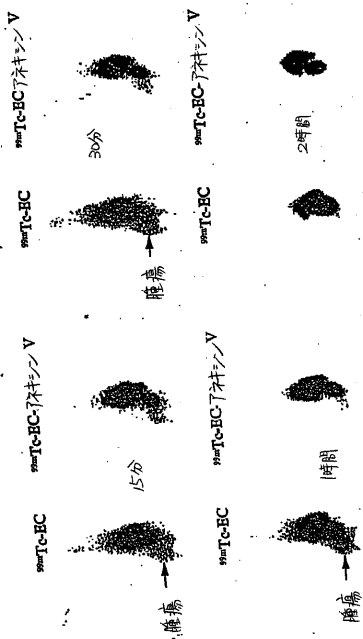


FIG. 19B

【図 20 A】



【図 20 B】

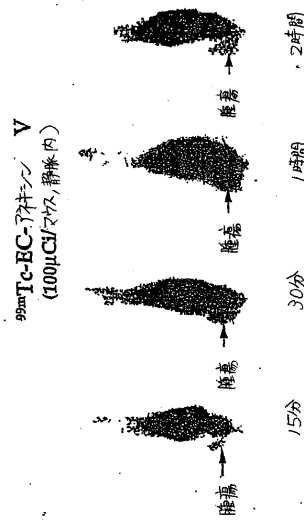


FIG. 20B

【 図 2 1 】

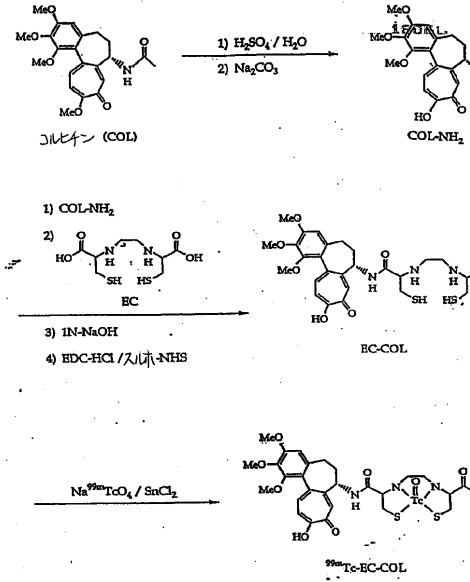


FIG. 21

【 図 2 2 】

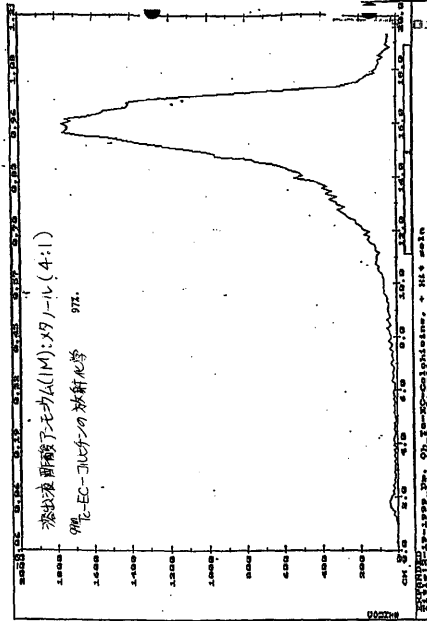


FIG. 22

【 図 2 3 】

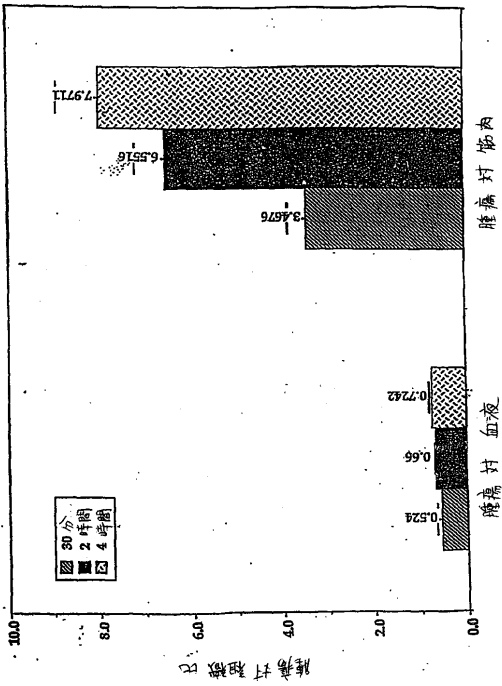


FIG. 23

【 図 2 4 】

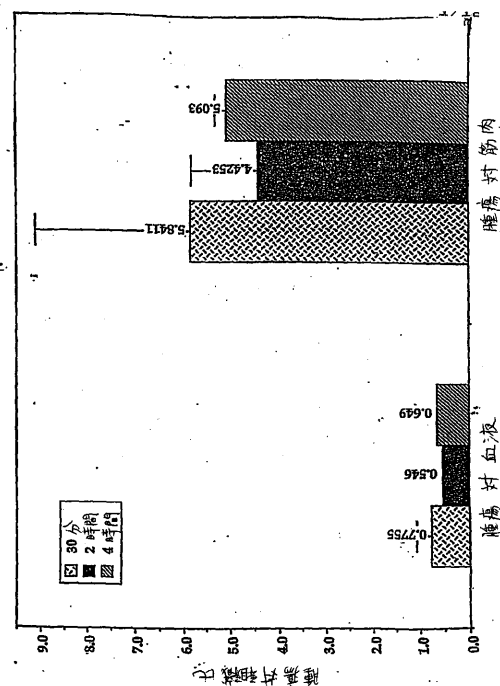


FIG. 24

【 図 2 5 】

$^{99}\text{Tc}$ -EC-コルヒチン (注射1時間後)

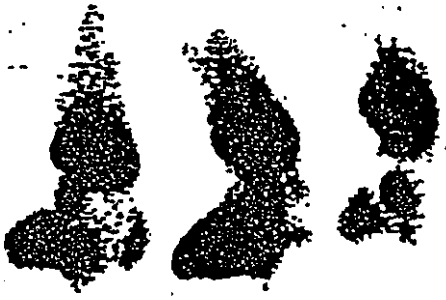


FIG 25

【 図 2 6 】

$^{99}\text{Tc}$ -EC (注射1時間後)



FIG 26

【 図 2 7 】

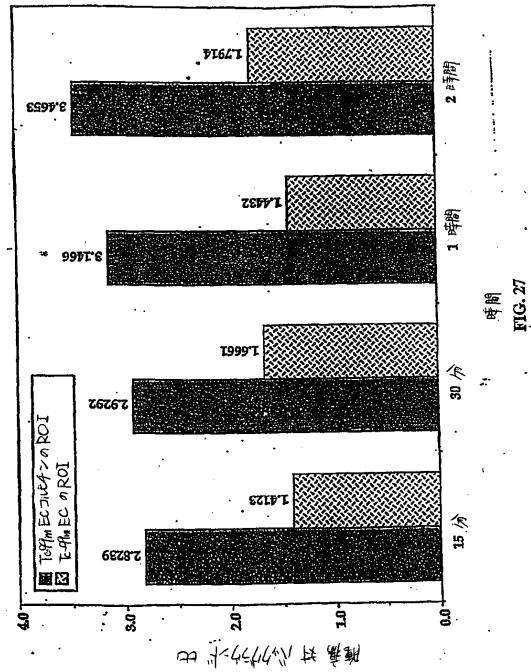


FIG. 27

【 図 2 8 】

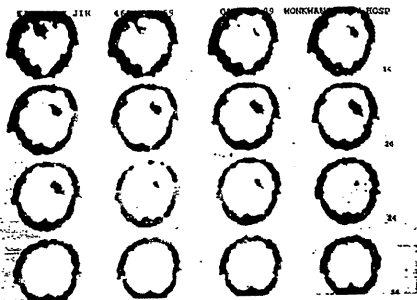


FIG. 28

【 図 3 0 】

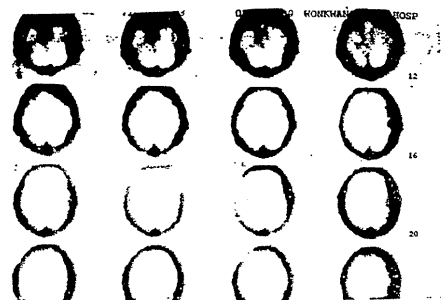


FIG. 30

【 図 2 9 】



FIG. 29

【 図 3 1 】

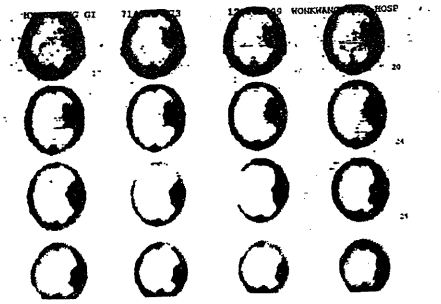


FIG. 31



【 図 3 7 B 】

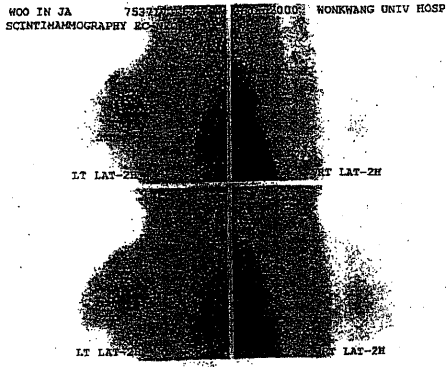


FIG. 37B 乳癌患者の<sup>99</sup>Tc-EC-ネオマイン(30mCi, 静脈内)を用いたシンチマンモグラフィ。画像是注射2時間後に撮影した。

【 図 3 8 A 】

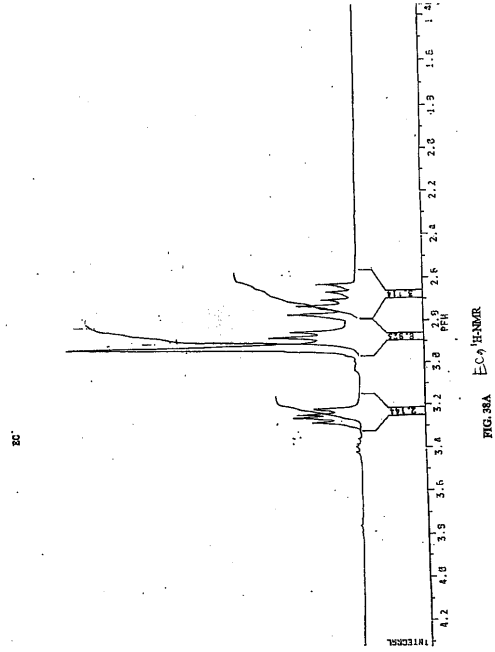


FIG. 38A EC-NMR

【 図 3 8 B 】

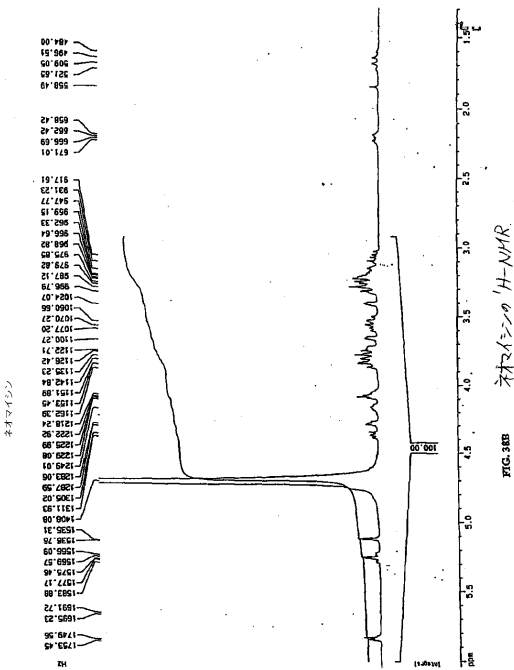


FIG. 38B EC-ネオマインのH-NMR

【 図 3 8 C 】

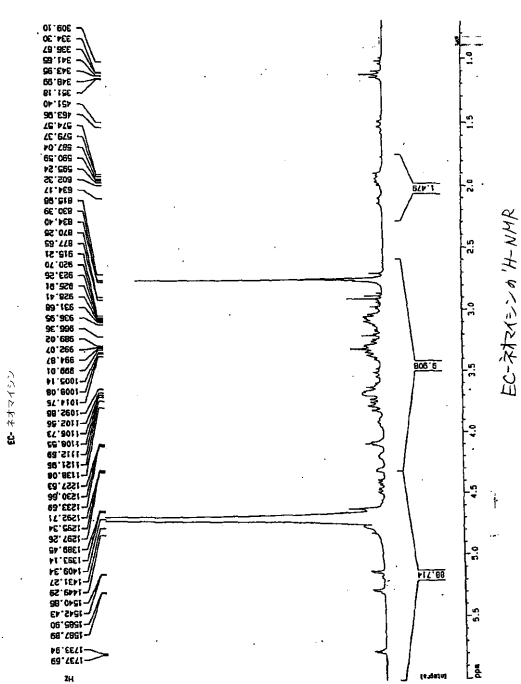


FIG. 38C EC-ネオマインのH-NMR



【 図 4 1 】

EC-NEOMYCIN 30mg + EC 結果報告

Tc-99m  
METHANOL-AMMONIUM ACETATE

Date: Feb 03 2000 Start time: 12:45 Accum time: 00:03:01  
Data File: Plate: 1 Lane: 1

Elect Resolution: NORMAL (Amp. Range: 0 - 2047)  
RF Calculations: Origin: 0.00 cm Solvent Front: 20.00 cm  
Integration Parameters: Auto Integration Peak slope: 1.0 Min width: 0.1 Min #: 2.0

Total Count Region: 0.00cm to 20.00cm  
Total Counts: 49360  
Total CPM: 16030

Reg. #	Start (cm)	Stop (cm)	Center (cm)	RF	Region Counts	Region CPM	% of Tot Reg	% of Tot Cnt
1	6.50	14.90	10.57	0.53	45000	14920	100.00	93.05
TOTAL					45000	14920	100.00	93.05

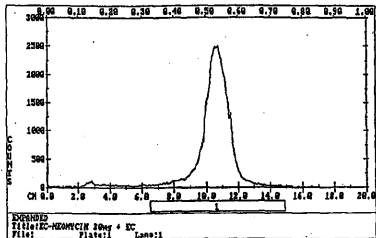


FIG.41 <sup>99</sup>Tc-EC-ネオマイシンのラジオ-TLC分析

【 図 4 2 】

<sup>99</sup>Tc-EC-NEO  
カラム: Bio-Rad Carbohydrate, Aminec HPLC-SEC, 250x4mm  
溶出液: H<sub>2</sub>O  
流速: 0.6ml/min  
検出器: 放射化学的  
温度: 25°C

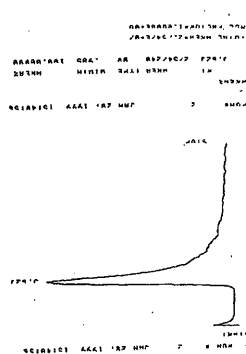


FIG.42 <sup>99</sup>Tc-EC-ネオマイシンのHPLC分析(放射能検出器)

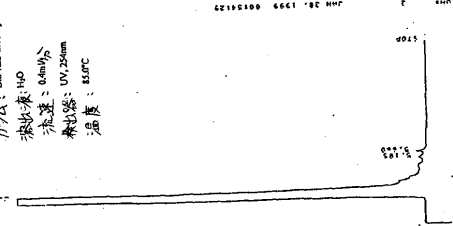
【 図 4 3 】

<sup>99</sup>Tc-EC-NEO  
カラム: Bio-Rad Carbohydrate, Aminec HPLC-SEC, 250x4mm  
溶出液: H<sub>2</sub>O  
流速: 0.6ml/min  
検出器: UV, 254nm  
温度: 25°C

00-24800-11-00124-704  
00-25565-12-030-7-103

01101 201 04 10500 0010  
01101 202 04 10500 0010  
01101 203 04 10500 0010

0210100 0461 02 HNF 1 0 HNF +  
0210100 0461 02 HNF 2 0 HNF +



【 図 4 4 】

<sup>18</sup>F-FDG  
カラム: Bio-Rad Carbohydrate, Aminec HPLC-SEC, 250x4mm  
溶出液: H<sub>2</sub>O  
流速: 0.6ml/min  
検出器: 放射化学的  
温度: 25°C

00-24800-11-00124-704  
00-25565-12-030-7-103

01101 201 04 10500 0010  
01101 202 04 10500 0010  
01101 203 04 10500 0010

0210100 0461 02 HNF 1 0 HNF +  
0210100 0461 02 HNF 2 0 HNF +

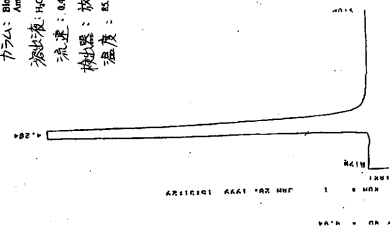


FIG.44 <sup>18</sup>F-FDGのHPLC分析(放射能検出器)



【 図 48 B 】

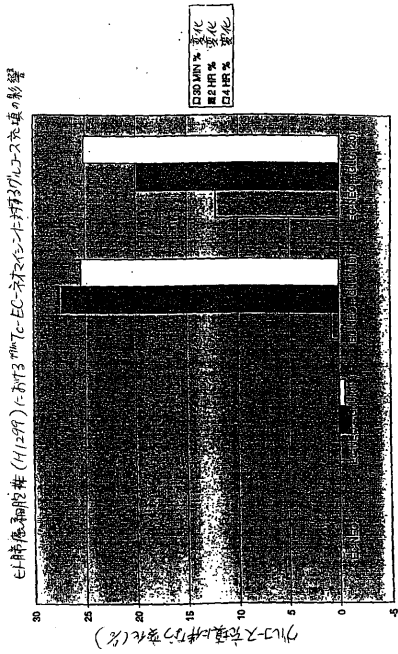
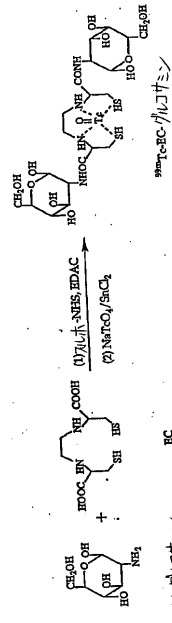


FIG. 48B

薬剤 (質量)

【 図 49 】



99mTc-EC-グルコサミンの合成

FIG. 49

【 図 50 】

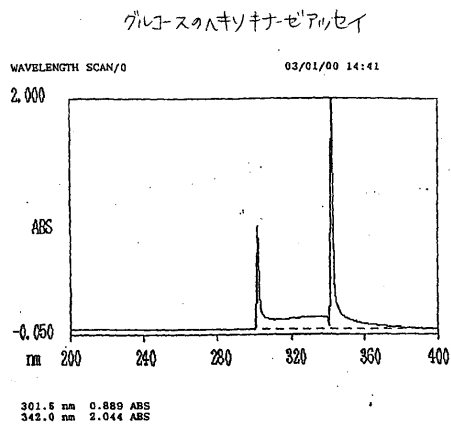


FIG. 50

【 図 51 】

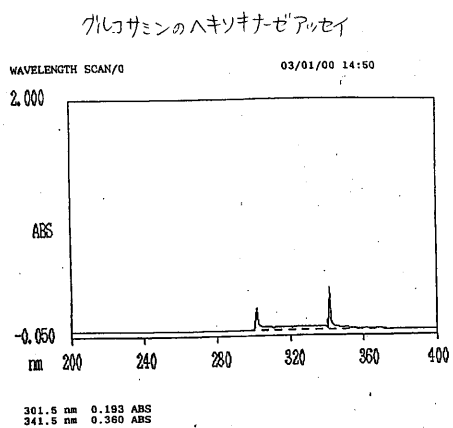


FIG. 51

【 図 5 2 】

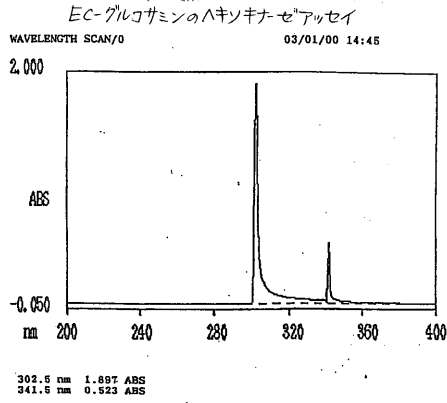


FIG. 52

【 図 5 3 】

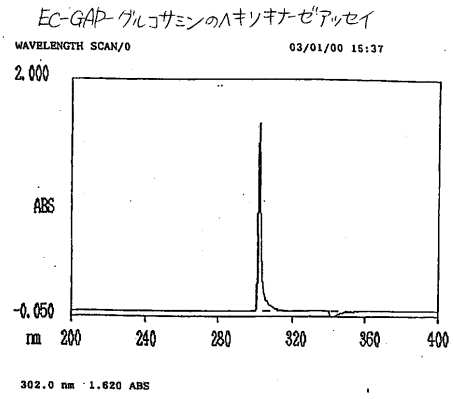


FIG. 53

【 図 5 4 】

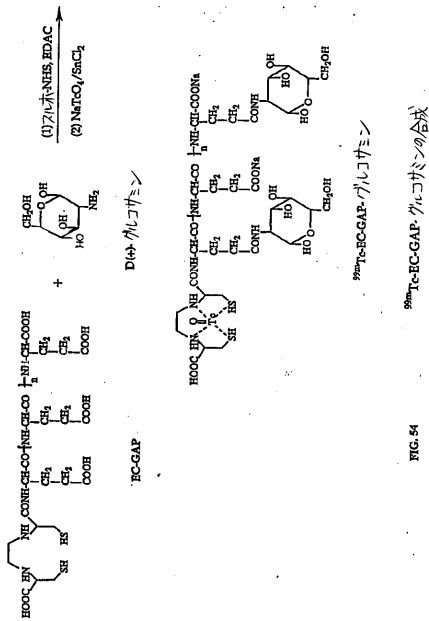
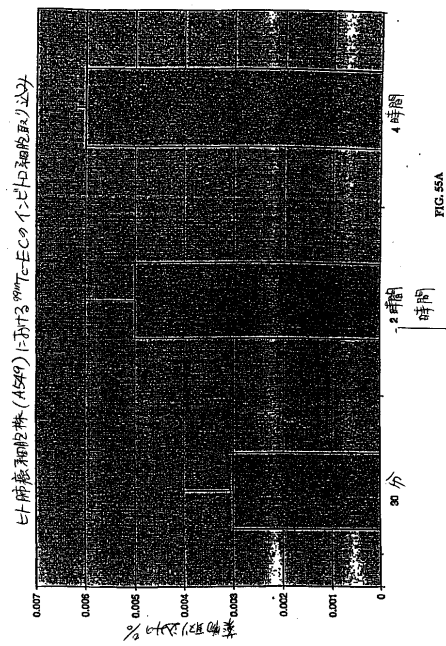
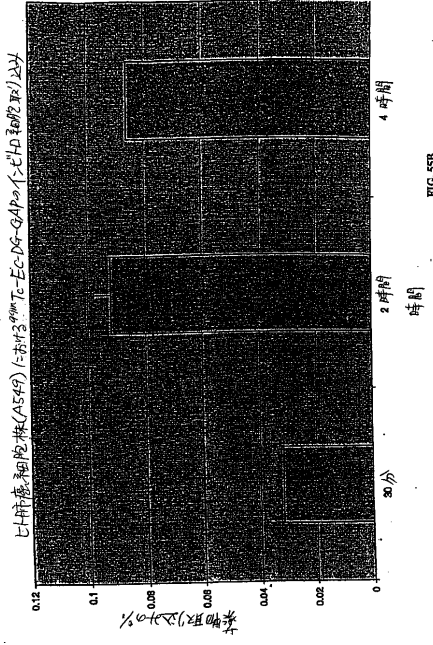


FIG. 54

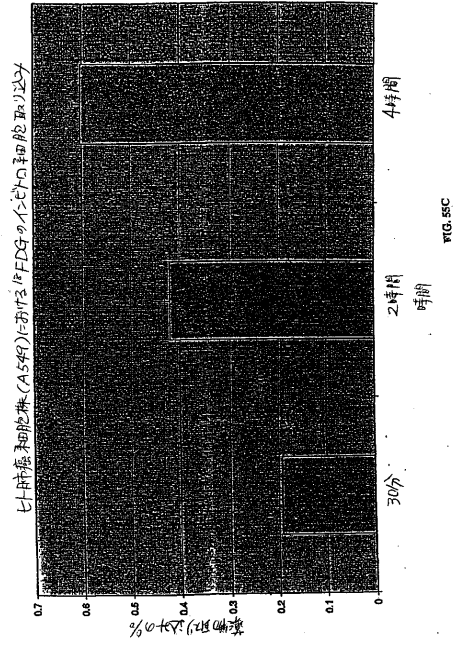
【 図 5 5 A 】



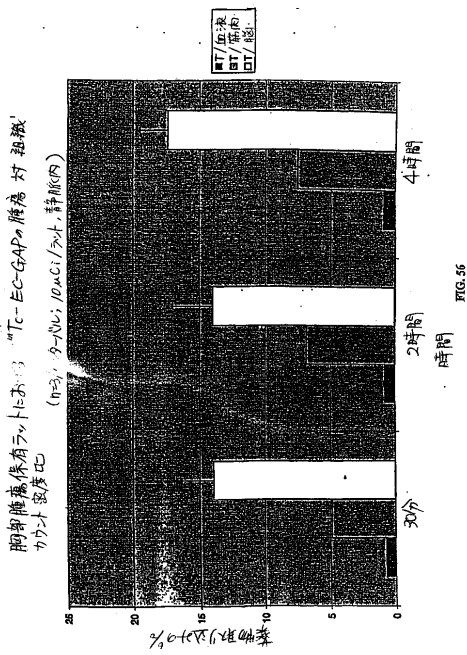
【 図 5 5 B 】



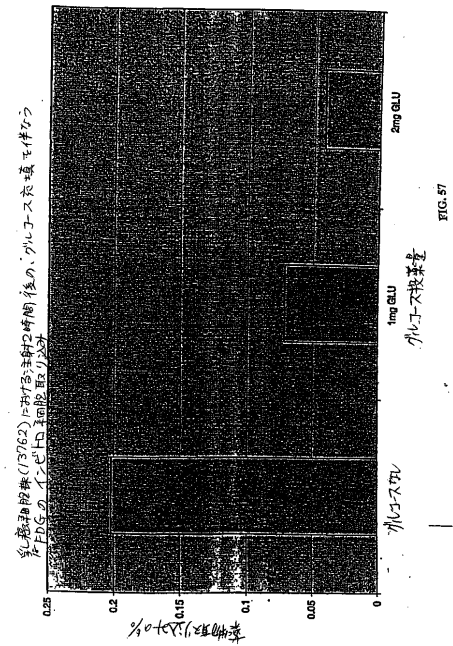
【 図 5 5 C 】



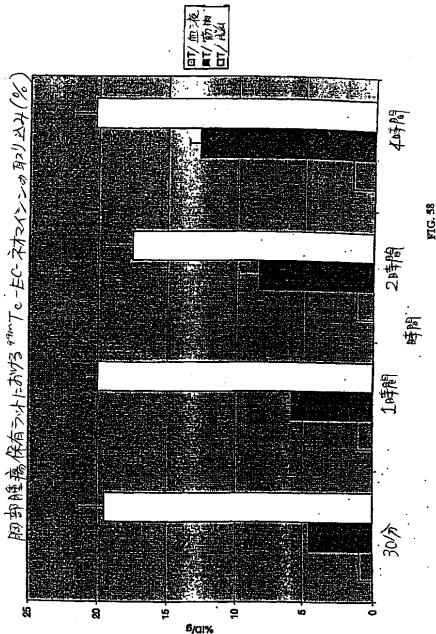
【 図 5 6 】



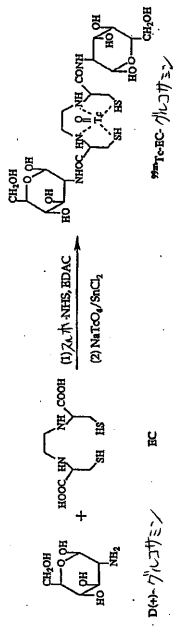
【 図 5 7 】



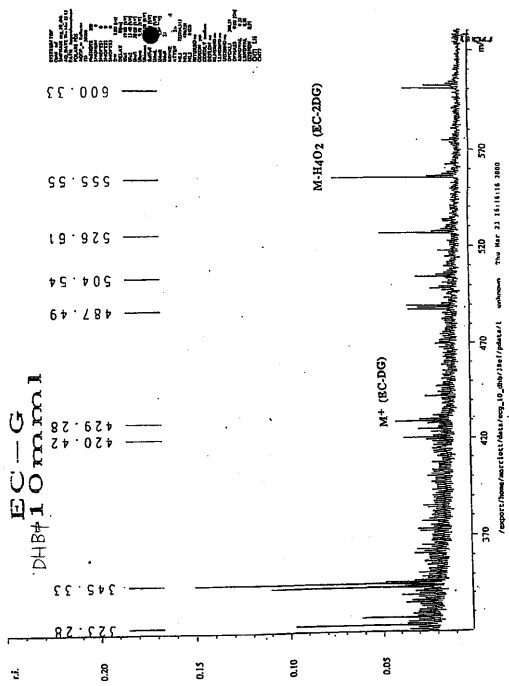
【 58 】



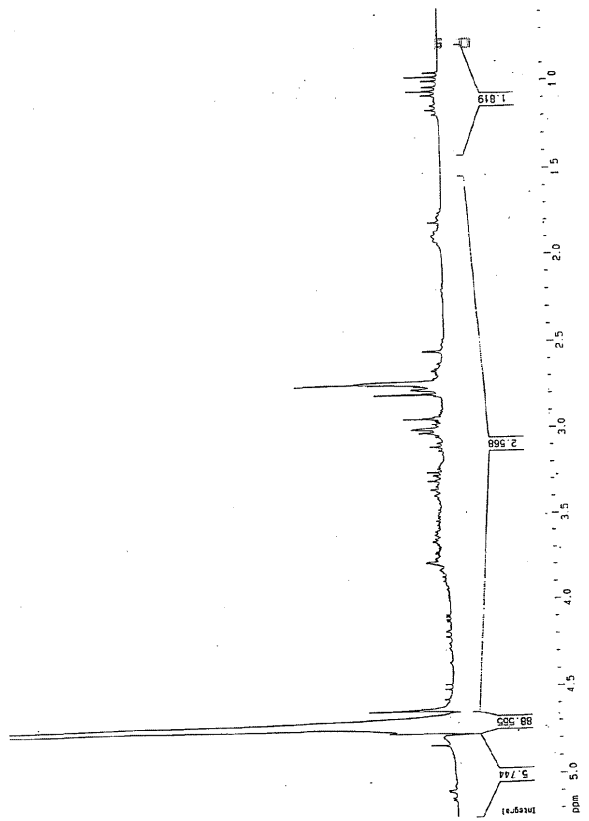
【 59 】



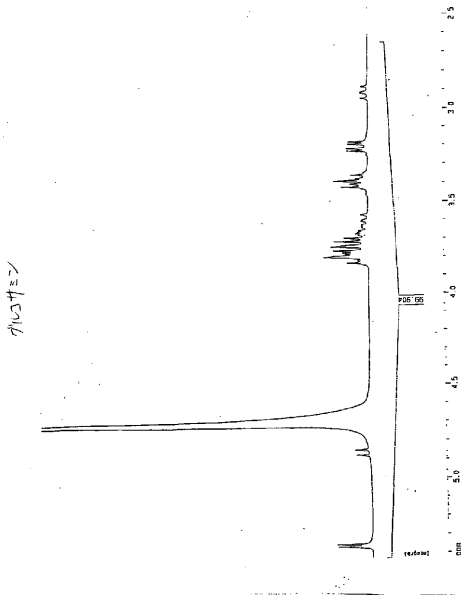
【 60 】



【 61 】



【 図 6 2 】



【 図 6 3 】

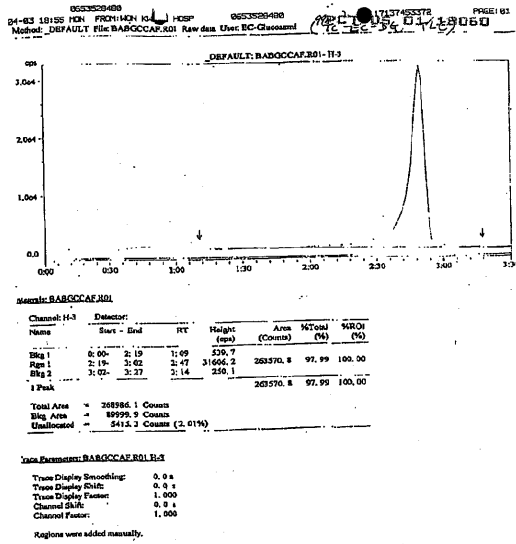


FIG. 63 <sup>99m</sup>Tc-EC-DGのラジエーション-TLC分析

【 図 6 4 】

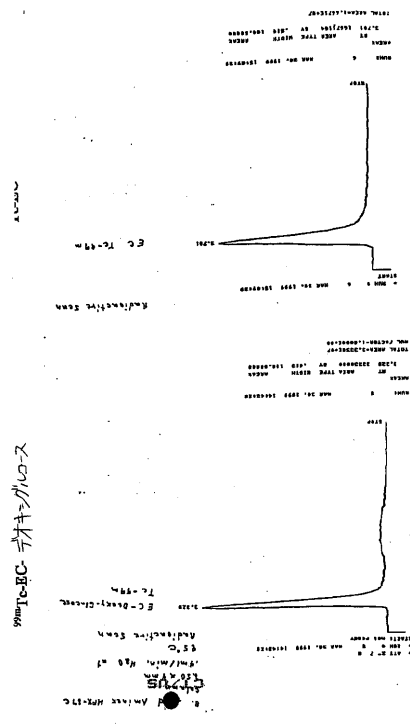


FIG. 64 <sup>99m</sup>Tc-ECラジエーション-TLC分析 (放射能検出器)

【 図 6 5 】

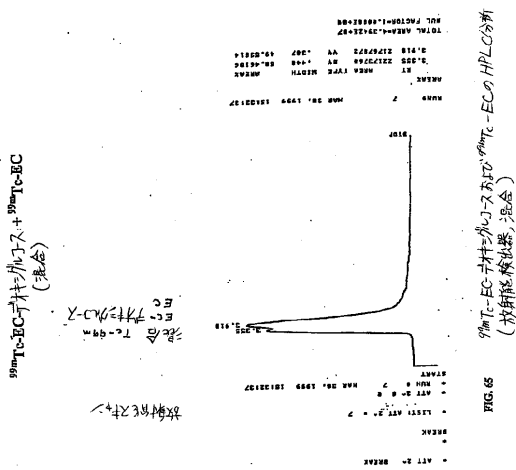


FIG. 65 <sup>99m</sup>Tc-ECラジエーション-TLC分析 (放射能検出器, 混合)

<sup>99m</sup>Tc-ECラジエーション

<sup>99m</sup>Tc-ECラジエーション + <sup>99m</sup>Tc-EC (混合)

【 図 6 6 】

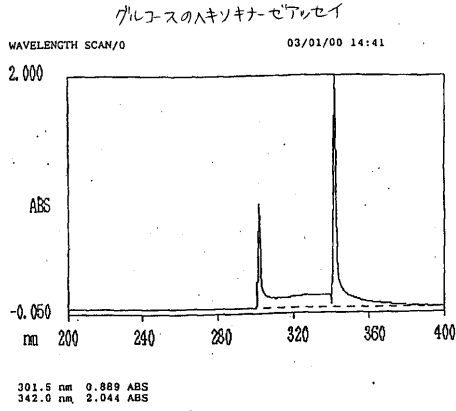


FIG. 66 グルコースハキソキナーゼアッセイ

【 図 6 7 】

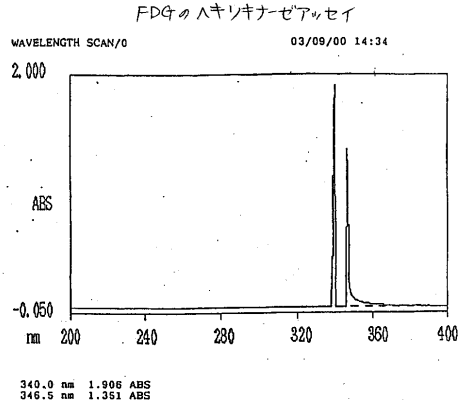


FIG. 67 FDGのハキソキナーゼアッセイ

【 図 6 8 】

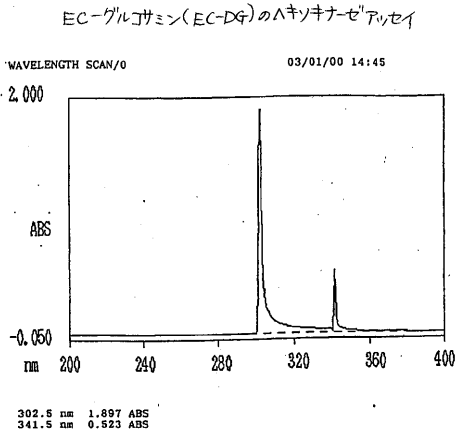
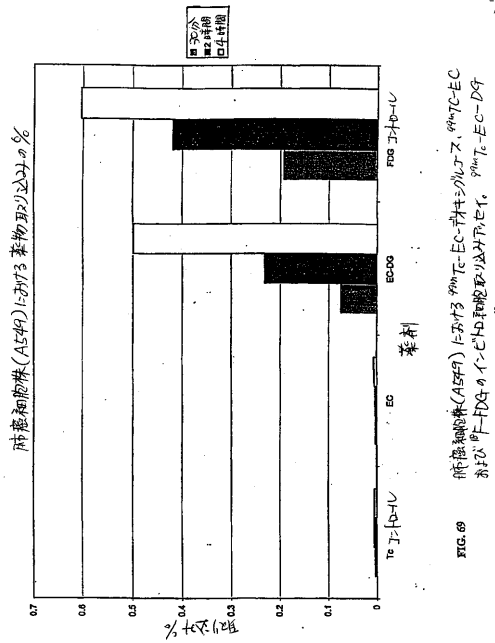


FIG. 68 EC-DGのハキソキナーゼアッセイ

【 図 6 9 】



【 図 7 0 】

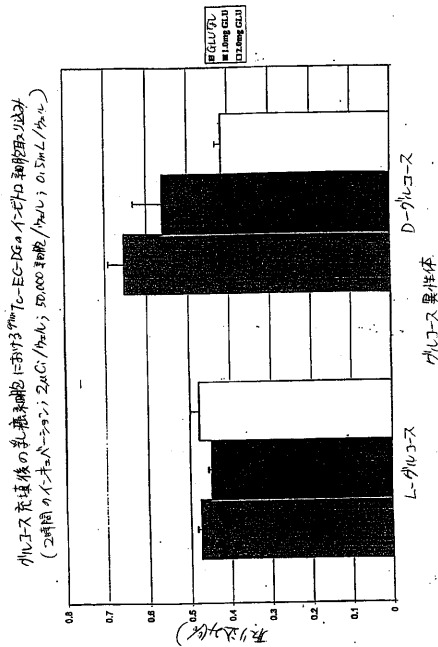


FIG. 70  $^{14}C$ -EC-DGの陽性細胞(13%2細胞株)取り込み材料

【 図 7 1 】

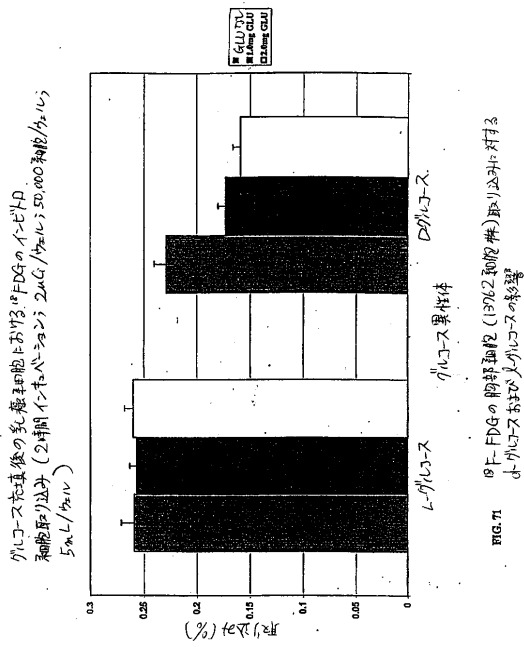


FIG. 71  $^{14}C$ -FDGの陽性細胞(13%2細胞株)取り込み材料によるグルコースおよび $^{14}C$ -グルコースの影響

【 図 7 2 】

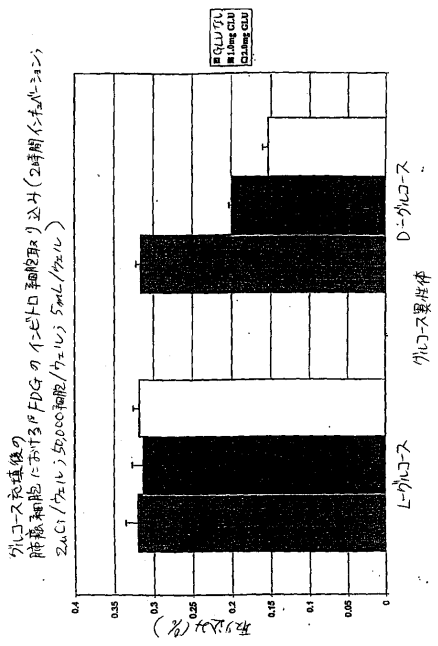


FIG. 72  $^{14}C$ -FDGの陽性細胞(13%2細胞株)取り込み材料によるグルコースおよび $^{14}C$ -グルコースの影響

【 図 7 3 】

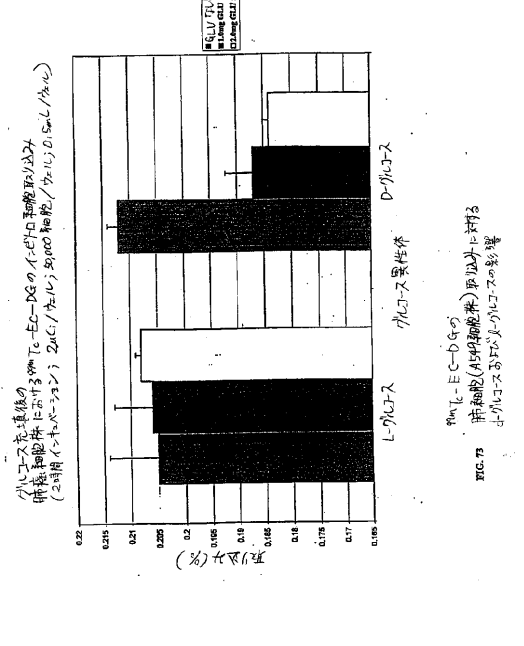


FIG. 73  $^{14}C$ -EC-DGの陽性細胞(13%2細胞株)取り込み材料によるグルコースおよび $^{14}C$ -グルコースの影響

【 図 7 4 】

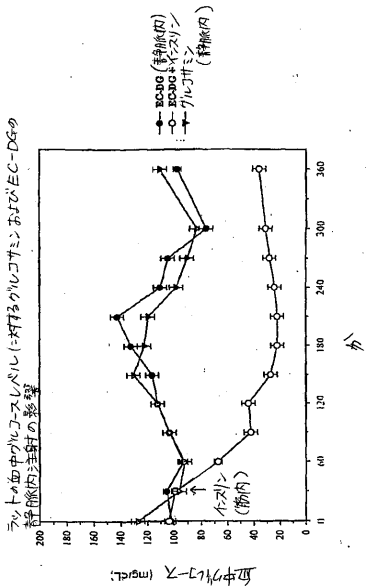


FIG. 74 グルコサミンおよびEC-DG (1.2mmol/kg, 静脈内) により誘導されたインシュリン中のグルコースの影響

【 図 7 5 】

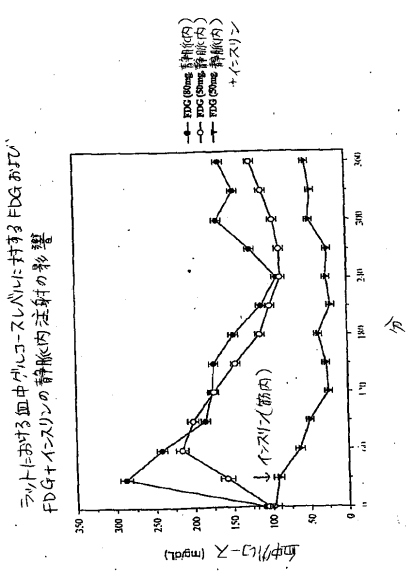


FIG. 75 EC-DG (1.2mmol/kg, および1.9mmol/kg, 静脈内) およびインシュリンにより誘導されたインシュリン中のグルコースの影響

【 図 7 6 】

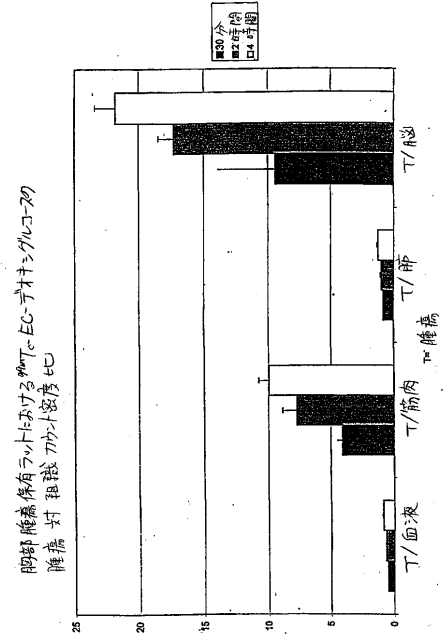


FIG. 76 胸部腫瘍保有ラットにおける<sup>125</sup>I-EC-DGの組織密度比較

【 図 7 7 】

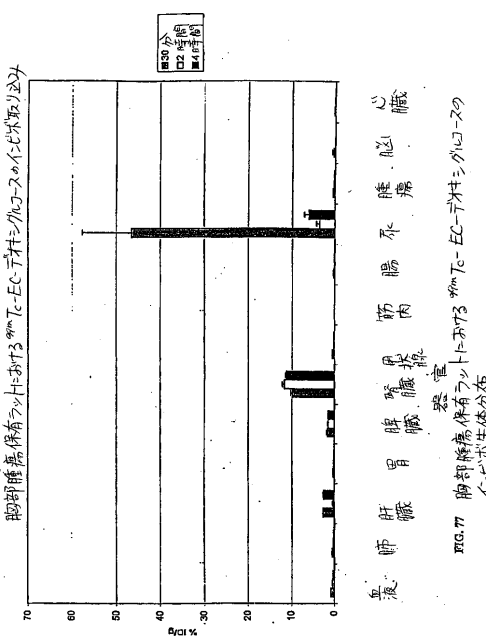
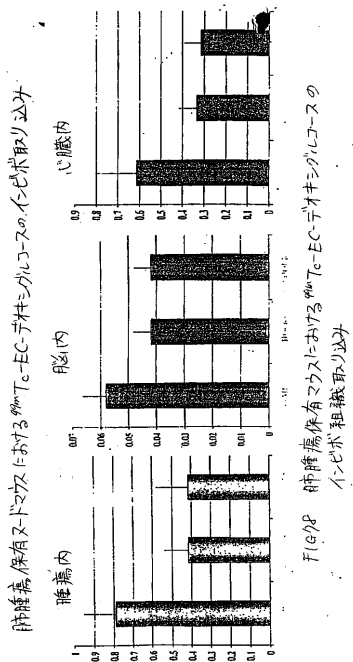
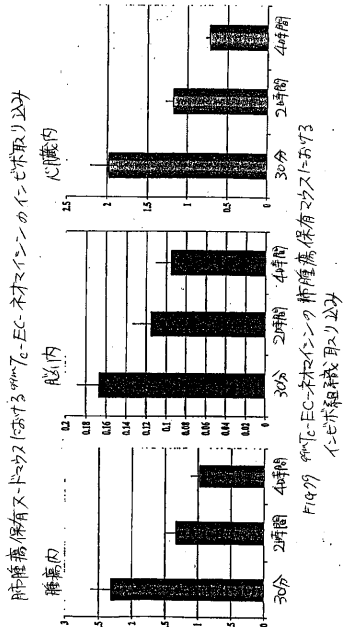


FIG. 77 胸部腫瘍保有ラットにおける<sup>125</sup>I-EC-DGの組織密度比較

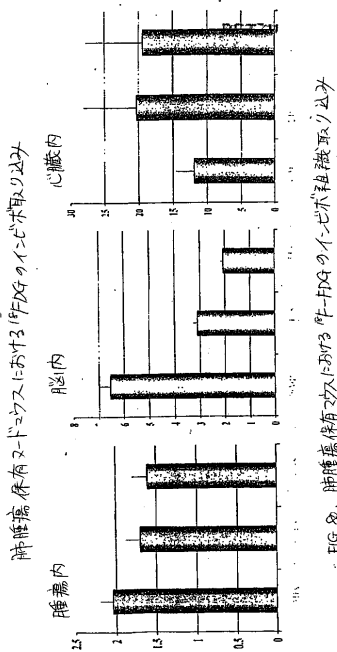
【 図 7 8 】



【 図 7 9 】



【 図 8 0 】



【 図 8 1 】

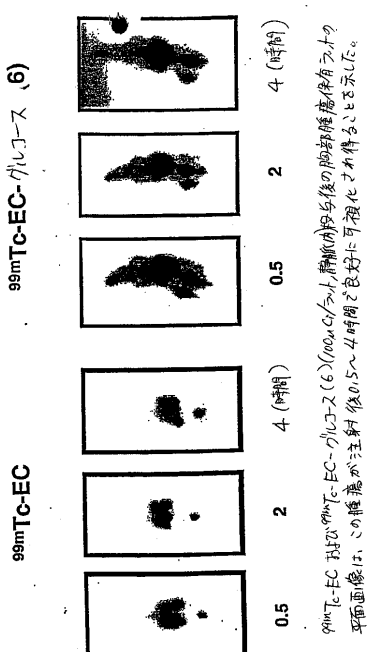
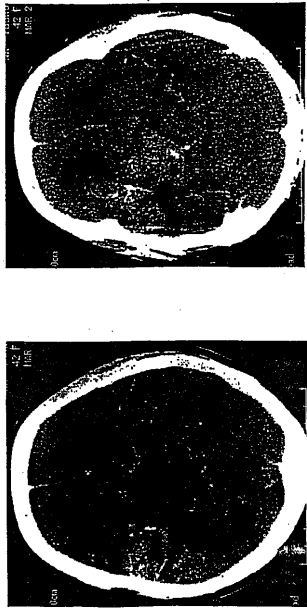


FIG 81 <sup>99m</sup>Tc-EC及び<sup>99m</sup>Tc-EC-デキサメチルグルコース(6)(100µCi/ラット)肺腫瘍保有マウス後の肺腫瘍保有マウスの平面画像は、この腫瘍が注射後0.5~4時間と良好に可視化されたと示した。

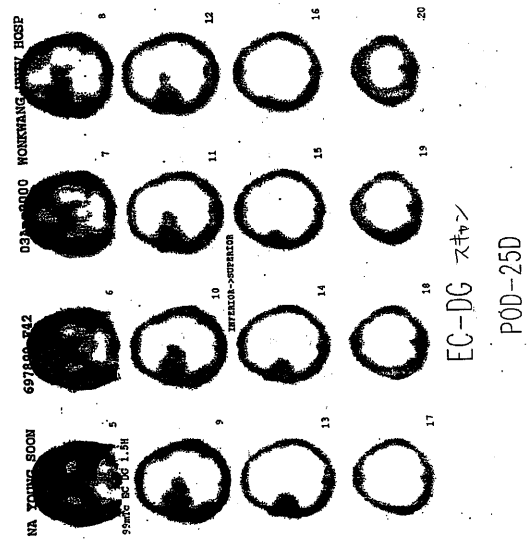
【 図 8 2 A 】

症例 11/11?  
Dx: 未分化神経膠芽状細胞腫



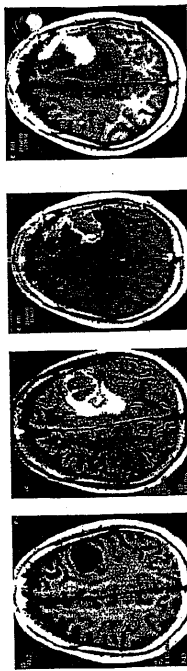
OP前 OP後

【 図 8 2 B 】



【 図 8 3 A 】

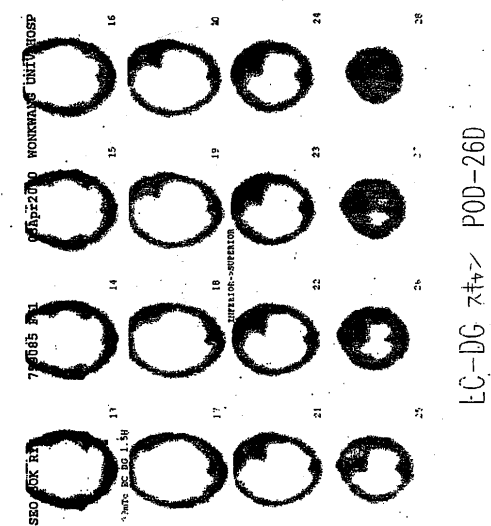
症例 11/11  
Dx: 未分化神経膠芽状細胞腫



OP前 OP後

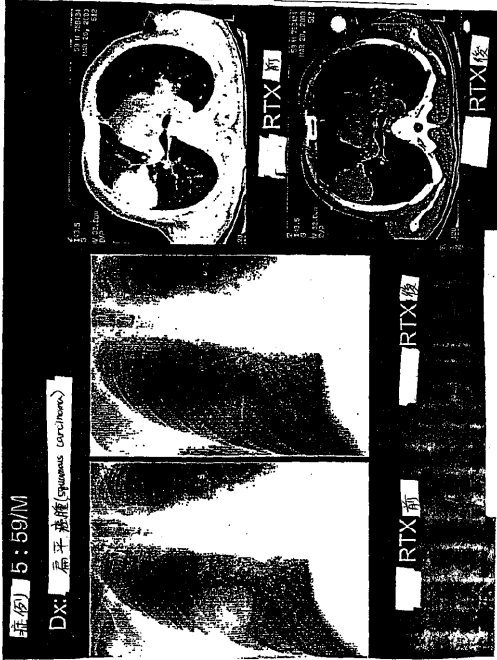
Fig 83A 未分化神経膠芽状細胞腫を有する患者のMRI

【 図 8 3 B 】

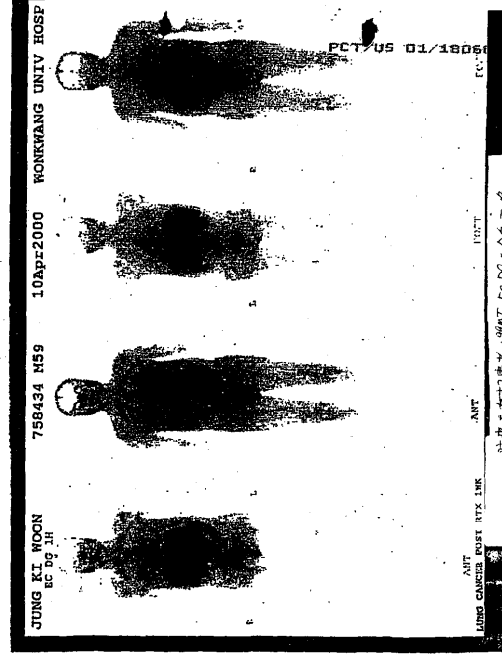




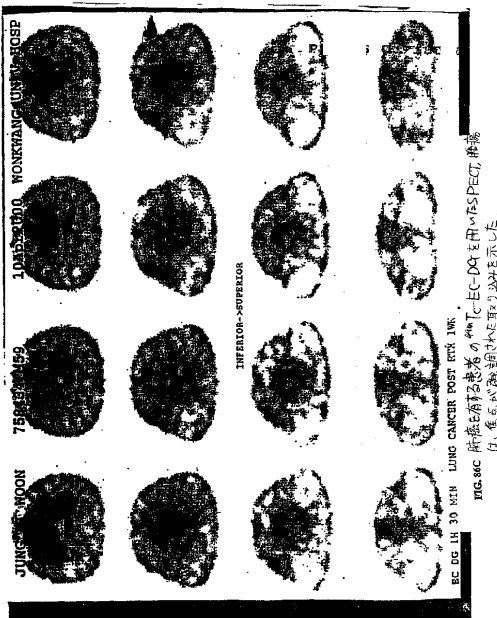
【 8 6 A 】



【 8 6 B 】



【 8 6 C 】



【 図 1 】

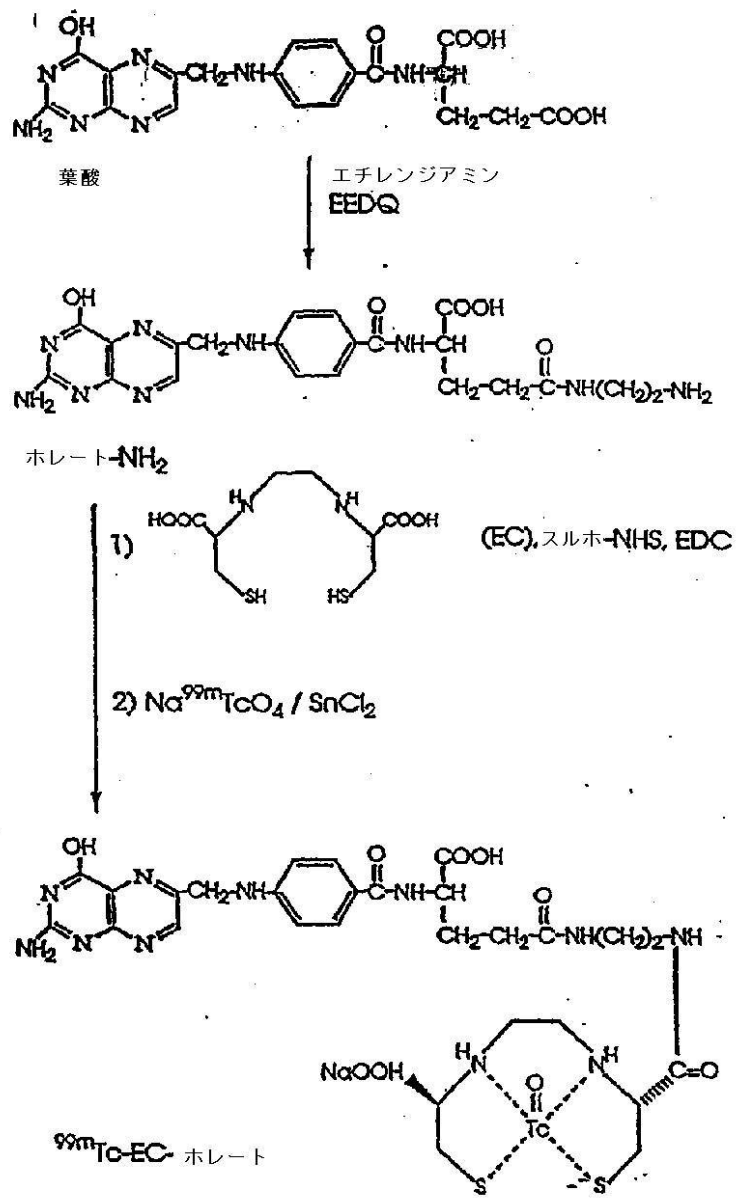


FIG. 1

【 図 2 】

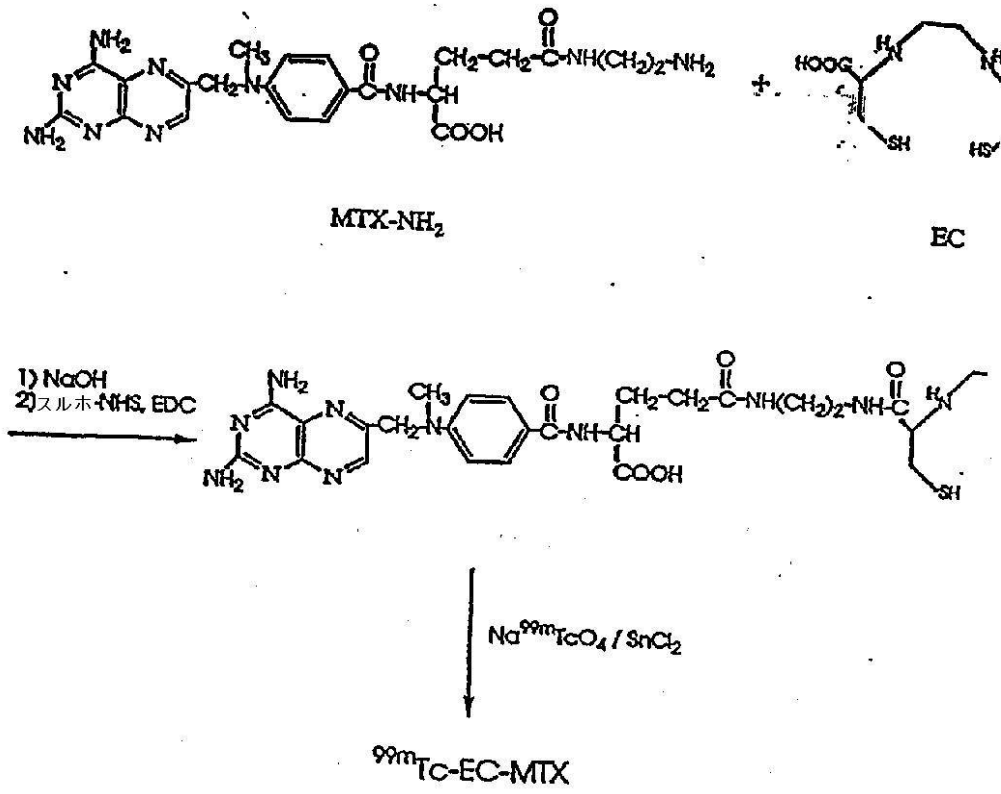


FIG 2

## フロントページの続き

- (74)代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100130845  
弁理士 渡邊 伸一
- (74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 デイビッド ジェイ . ヤング  
アメリカ合衆国 テキサス 77030, シュガーランド, スピンネイカー ウェイ 1123
- (72)発明者 チュン - ウェイ リウ  
アメリカ合衆国 テキサス 77479, シュガーランド, ミルロック サークル 3918
- (72)発明者 ユー ドン - ファン  
アメリカ合衆国 テキサス 77030, ヒューストン, ビーチャースト ドライブ 15002
- (72)発明者 イー . エドマンド キム  
アメリカ合衆国 テキサス 77024, ヒューストン, マグノリア ベンド 7

Fターム(参考) 4C076 CC50 EE59A

4C085 HH03 JJ02 JJ03 JJ11 KA04 KA09 KA29 KA34 KA36 KA37  
KB05 KB07 KB08 KB09 KB10 KB11 KB12 KB15 KB28 KB52  
KB57 KB78 KB82 KB91 KB92 LL05 LL07 LL09 LL11 LL12  
LL18