(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2020-512348
(P2020-512348A)
(43)公表日　令和2年4月23日(2020.4.23)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 5/083	(2006.01)	C07K	5/083		4C084
C07K 16/30	(2006.01)	C07K	16/30	ZNA	4C085
C07K 5/062	(2006.01)	C07K	5/062		4H045
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		
A61P 35/02	(2006.01)	A61P	35/02		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 59 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-553023 (P2019-553023)
(86)(22)出願日　平成30年3月29日 (2018.3.29)
(85)翻訳文提出日　令和1年11月14日 (2019.11.14)
(86)国際出願番号　PCT/IB2018/052211
(87)国際公開番号　WO2018/178936
(87)国際公開日　平成30年10月4日 (2018.10.4)
(31)優先権主張番号　62/478,754
(32)優先日　平成29年3月30日 (2017.3.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/500,692
(32)優先日　平成29年5月3日 (2017.5.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　507189666
デューク　ユニバーシティ
アメリカ合衆国　ノースカロライナ州　２７７０５，ダラム，アーウィン　ロード　２８１２　スイート　３０６
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(72)発明者　ザルツキー，　マイケル　ロッド
アメリカ合衆国　ノースカロライナ　２７５１４，　チャペル　ヒル，　ダック　ポンド　トレイル　４０３３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】放射標識生体分子およびその使用

(57)【要約】
本出願は、放射標識生体分子と、放射性ハロゲン原子で生体分子を放射標識するための方法であって、インビボにおける脱ハロゲン化による放射性ハロゲンの喪失を最小にし、生体分子の生物学的活性を保存し、癌細胞における放射活性の保持を最大にし、インビボ投与後の正常組織における放射活性の保持を最小にする方法とに関する。いくつかのこのような放射標識生体分子は、放射性ハロゲンに代えてまたはそれに加えて、放射性金属原子を含む。生体分子は特定の細胞型に対する親和性を有し、特定の細胞、例えば癌細胞に特異的に結合し得る。関連生体分子としては、抗体、モノクローナル抗体、抗体断片、ペプチド、他のタンパク質、ナノ粒子およびアプタマーが挙げられる。

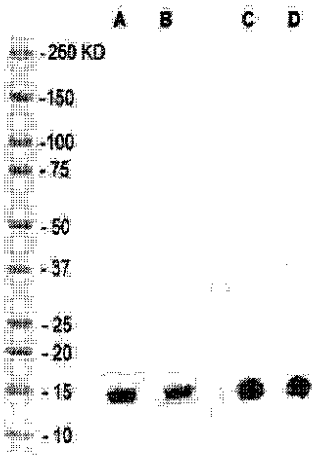
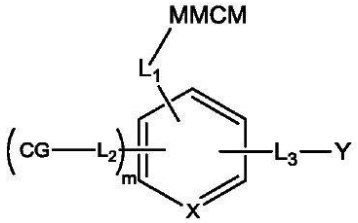


FIGURE 1

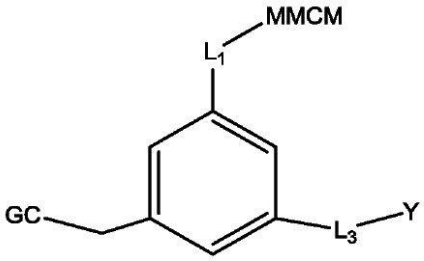
【特許請求の範囲】
【請求項１】
式Ｉにより表される補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体の形態の化合物：
【化２２】



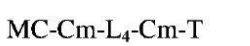
式 1

（式中、
Ｘは、ＣＨまたはＮであり；
$Ｌ_{1}$および$Ｌ_{3}$は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から独立して選択され；
ＭＭＣＭは、高分子コンジュゲート部分であり；
$Ｌ_{2}$は、置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖、または少なくとも３個の酸素原子を含むポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖であり、ここで、$Ｌ_{2}$は、刷子縁酵素切断可能ペプチドを必要に応じて含有し；
ＣＧは、グアニジン；$ＰＯ_{3}Ｈ$；$ＳＯ_{3}Ｈ$；アルギニン、ホスホノ／スルホフェニルアラニン、グルタメート、アスパルタートおよびリジンから選択される１つまたはそれを超える荷電Ｄ－またはＬ－アミノ酸；親水性炭水化物部分；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖；ならびにＺ－グアニジンから選択され；
Ｚは、$（ＣＨ_{2}）_{n}$であり；
ｎは、１超であり；
ｍは、０～３であり；ならびに
Ｙはアルキル金属部分であるか、または^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔからなる群より選択される放射性ハロゲンである）またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。
【請求項２】
放射性ハロゲン前駆体であり、Ｙが、トリメチルスタンニル（$ＳｎＭｅ_{3}$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$ＳｎＢｕ_{3}$）およびトリメチルシリル（$ＳｉＭｅ_{3}$）からなる群より選択されるアルキル金属部分である、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
補欠分子化合物であり、Ｙが、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔからなる群より選択される放射性ハロゲンである、請求項１に記載の化合物。
【請求項４】
ＭＭＣＭが、活性エステルまたは$（Ｇｌｙ）_{m}$（ｍは１であるかまたはそれを超える）である、請求項１に記載の化合物。
【請求項５】
ＭＭＣＭが、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）エステル、テトラフルオロフェノール（ＴＦＰ）エステル、イソチオシアネート基またはマレイミド基からなる群より選択される、請求項１に記載の化合物。
【請求項６】
ＭＭＣＭがＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙである、請求項１に記載の化合物。

【請求項７】
L_2が（CH_2）$_p$（ｐ＝１～６）である、請求項１に記載の化合物。
【請求項８】
前記必要に応じた刷子縁酵素切断可能ペプチドが、Ｇｌｙ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－ＴｙｒおよびＧｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓからなる群より選択される、請求項１に記載の化合物。
【請求項９】
以下の構造：
【化２３】



により表される、請求項１に記載の化合物。
【請求項１０】
Ｎ－スクシンイミジル３－グアニジノメチル－５－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエートまたはＮ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタト－５－グアニジノメチルベンゾエートを含む、請求項９に記載の化合物。
【請求項１１】
生体分子に付着した請求項１に記載の化合物を含む、放射標識生体分子または中間体。
【請求項１２】
前記生体分子が、抗体、抗体断片、ＶＨＨ分子、アプタマーまたはそれらの変形物からなる群より選択される、請求項１１に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項１３】
前記標識生体分子がＶＨＨである、請求項１１に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項１４】
前記ＶＨＨがＨＥＲ２を標的にする、請求項１３に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項１５】
前記ＶＨＨが、配列番号１～５に記載されている配列から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１４に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項１６】
薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤または担体と併せて、請求項１１に記載の放射標識生体分子を含む、医薬組成物。
【請求項１７】
式２により表される補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体の形態の化合物：
【化２４】



（式中、
ＭＣは、多座金属キレート部分であり；
Ｃｍは、チオ尿素、アミドまたはチオエーテルであり；
L_4は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、一方または両方の末端にＮＨ、ＣＯまたはＳを必要に応じて有する置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から選択され；
Ｔは、請求項１～１０のいずれかに記載の化合物であるか、またはその薬学的に許容され

る塩もしくは溶媒和物。
【請求項１８】
ＭＣが大環状構造である、請求項１７に記載の化合物。
【請求項１９】
ＭＣが、ＤＯＴＡ、ＴＥＴＡ、ＮＯＴＰおよびＮＯＴＡから選択される、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２０】
ＭＣが非環式多座配位子である、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２１】
ＭＣが、ＥＤＴＡ、ＥＤＴＭＰおよびＤＴＰＡから選択される、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２２】
放射性ハロゲン前駆体であり、Ｙが、トリメチルスタンニル（$SnMe_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$SnBu_3$）およびトリメチルシリル（$SiMe_3$）からなる群より選択されるアルキル金属部分である、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２３】
補欠分子化合物であり、Ｙが、^{75}Br、^{76}Br、^{77}Br、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}Iおよび^{211}Atから選択される放射性ハロゲンである、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２４】
前記ＭＣに結合した金属をさらに含む、請求項１７に記載の化合物。
【請求項２５】
前記金属が、^{177}Lu、^{64}Cu、^{111}In、^{90}Y、^{225}Ac、^{213}Bi、^{212}Pb、^{212}Bi、^{67}Ga、^{68}Ga、^{89}Zrおよび^{227}Thからなる群より選択される放射性金属である、請求項２４に記載の化合物。
【請求項２６】
生体分子に付着した請求項１７に記載の化合物を含む、放射標識生体分子または中間体。
【請求項２７】
前記生体分子が、抗体、抗体断片、ＶＨＨ分子およびアプタマーからなる群より選択される、請求項２６に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項２８】
前記生体分子がＶＨＨである、請求項２６に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項２９】
前記ＶＨＨがＨＥＲ２を標的にする、請求項２８に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項３０】
前記ＶＨＨが、配列番号１～５に記載されている配列から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項２９に記載の放射標識生体分子または中間体。
【請求項３１】
薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤または担体と併せて、請求項２６に記載の放射標識生体分子を含む、医薬組成物。
【請求項３２】
癌を処置するための方法であって、それを必要とする個体に、有効量の請求項１１に記載の放射標識生体分子を投与することを含む、方法。
【請求項３３】
癌を処置するための方法であって、それを必要とする個体に、有効量の請求項２６に記載の放射標識生体分子を投与することを含む、方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本発明は、生体分子を放射標識するために有用な化合物およびその前駆体と、放射標識生体分子とに関する。化合物は、細胞内に内在化された生体分子からの放射活性を有効に保持して、このような化合物を疾患、特に癌の診断および処置に有用にし得る。
【背景技術】
【０００２】
背景
放射性ヨウ素化は、生体分子を放射標識する最も簡便な方法の１つである。ヨウ素のいくつかの放射性同位体は、癌のイメージングおよび標的放射線療法に利用可能である。ヨウ素の放射性同位体はアルカリ性溶液として供給され、ヨウ素は－１（Ｉ$^{-}$；ヨウ化物）の酸化状態でこれらに存在する。標準的な生体分子放射性ヨウ素化方法は、生体分子、例えば抗体、他のタンパク質およびペプチド中に存在するチロシンアミノ酸への求電子置換のために、＋１酸化状態へのヨウ素の酸化を必要とする。このように放射性ヨウ素化されたモノクローナル抗体（ｍＡｂ）およびペプチドの課題としては、内在化後の細胞内におけるタンパク質分解に対するインビボ不安定性、脱ヨウ素化、および両プロセスの結果として腫瘍細胞からの放射活性の喪失が挙げられる。（受容体および特定の抗原への結合の結果として起こり得る）内在化後、細胞内において、放射性ヨウ素化抗体およびペプチドは放射性ヨードチロシンにタンパク質分解的に分解され、膜アミノ酸輸送体により細胞から効率的に輸送されることが広く認識されている。放出された放射性ヨードチロシンは、組織中に見られる脱ヨウ素酵素により脱ヨウ素化され、遊離放射性ヨウ素が再分布し、ヨウ化ナトリウム共輸送体発現を伴う器官、特に甲状腺、胃および唾液腺に蓄積する。したがって、腫瘍に保持される放射標識の量は減少し、同時に、正常組織における放射活性の取り込みが増加する。
【０００３】
抗体の欠点の１つは、全身投与後の高いバックグラウンドレベルおよびその結果として低い腫瘍対バックグラウンド比をもたらす長い血中半減期である。また、従来の抗体は固形腫瘍への拡散がやや遅く、それにより、それらが腫瘍塊全体の受容体／抗原に均一に到達して結合することが妨げられる。
【０００４】
いくつかの化合物が当技術分野で特定されているが、それらは不安定であり、商業的量による生産が困難である。したがって、標的放射線療法およびイメージング用途のために、生体分子を放射標識するために使用され得る改善された補欠分子化合物が必要である。
【０００５】
また、血液脳関門により課される送達制限により、抗体のサイズは脳内の腫瘍にとって特に問題となるので、腫瘍細胞、特に脳転移への抗体の取り込みは低い。本発明は、正常組織、特に腎臓により取り込まれる放射標識の量を減少させながら、腫瘍細胞により取り込まれて保持されることができる組成物により、癌（脳に転移した癌を含む）の処置に関連する問題に対処する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００６】
発明の要旨
本発明は、インビボにおける脱ハロゲン化による放射性ハロゲンの喪失を最小にし、生体分子の生物学的活性を保存し、癌細胞などの疾患細胞における保持を最大にし、インビボ投与後の正常組織における放射活性の保持を最小にする方法で、放射性ハロゲン原子で生体分子（高分子とも称される）を放射標識するための方法、化合物、および組成物に関する。生体分子は特定の細胞型に対する親和性を有する。すなわち、生体分子は、特定の

細胞、例えば癌細胞に特異的に結合し得る。本発明の組成物は、放射標識生体分子を含む。このような生体分子としては、抗体、モノクローナル抗体、抗体断片、ペプチド、他のタンパク質、ナノ粒子およびアプタマーが挙げられる。本発明の目的のための生体分子のこのような例としては、ダイアボディ、ｓｃＦｖ断片、ＤＡＲＰｉｎ、フィブロネクチンＩＩＩ型ベースの足場、アフィボディ、ＶＨＨ分子（単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）およびナノボディとしても公知）、核酸またはタンパク質アプタマーおよびナノ粒子が挙げられる。加えて、抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体およびＦ（ａｂ’）$_2$断片を含む５０ｋＤａ超のタンパク質などのより大きな分子は、本発明の実施において使用され得る。加えて、５０ｎｍ未満のサイズを有するナノ粒子は、本発明の実施において使用され得る。

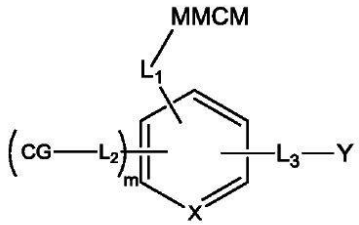
【０００７】

本発明の方法は、放射標識に有効な補欠分子化合物を利用する。このようなものとして、本開示は、このような放射標識化合物（本明細書では「補欠分子化合物」と称される）、およびこのような補欠分子化合物を得るための前駆体（本明細書では「放射性ハロゲン前駆体」と称される）を提供する。本開示はさらに、このような補欠分子化合物／ラジカルおよび１つまたはそれを超える高分子を含む放射標識高分子（例えば、生体分子）を提供する。いくつかのこのような実施形態では、これらの放射標識高分子は、標的放射線治療剤である。本発明の補欠分子化合物および放射標識化合物は、例えば、疾患の診断および標的放射線療法に有用である。

【０００８】

本開示の一態様では、式Ｉにより表される補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体の形態の化合物：

【化１】



式 1

（式中、

Ｘは、ＣＨまたはＮであり；

Ｌ$_1$およびＬ$_3$は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から独立して選択され；

ＭＭＣＭは、高分子コンジュゲート部分であり；

Ｌ$_2$は、置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖、または少なくとも３個の酸素原子を含むポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖であり、ここで、Ｌ$_2$は、刷子縁酵素切断可能ペプチドを必要に応じて含有し；

ＣＧは、グアニジン；ＰＯ$_3$Ｈ；ＳＯ$_3$Ｈ；１つまたはそれを超える荷電Ｄ－またはＬ－アミノ酸、例えばアルギニン、ホスホノ／スルホフェニルアラニン、グルタメート、アスパルタートおよびリジン；親水性炭水化物部分；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖；ならびにＺ－グアニジン（本明細書では「グアニジノ－Ｚ」とも称される）から選択され；

Ｚは、（ＣＨ$_2$）$_n$であり；

ｎは、１超であり；

ｍは、０～４（Ｘ＝ＣＨの場合）または０～３（Ｘ＝Ｎの場合）であり；ならびに

Ｙは、（上記放射性ハロゲン前駆体中の）アルキル金属部分または（上記補欠分子化合物

中の）放射性ハロゲンであり、ここで、上記放射性ハロゲンは、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{211}Ａｔからなる群より選択される放射性ハロゲンであるか、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物が提供される。

【０００９】

特定の好ましい実施形態では、ｍ＝１である。

【００１０】

いくつかの実施形態では、Ｙは、トリメチルスタンニル（$SnMe_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$SnBu_3$）およびトリメチルシリル（$SiMe_3$）からなる群より選択されるアルキル金属部分（化合物が放射性ハロゲン前駆体である場合）である。他の実施形態では、Ｙは、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉおよび^{211}Ａｔからなる群より選択される放射性ハロゲン（化合物が補欠分子化合物である場合）である。

【００１１】

いくつかの実施形態では、ＭＭＣＭは、活性エステルまたは$(Gly)_m$（ｍは１であるかまたはそれを超える）。いくつかの実施形態では、ＭＭＣＭは、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）エステル、テトラフルオロフェノール（ＴＦＰ）エステル、イソチオシアネート基またはマレイミド基からなる群より選択される。１つの例示的なＭＭＣＭはＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙである。

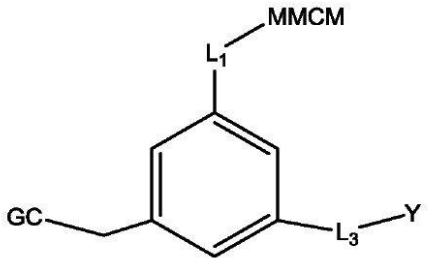
【００１２】

いくつかの実施形態では、L_2は$(CH_2)_p$（ｐ＝１～６またはｐ＝２～６）である。いくつかの実施形態では、必要に応じた刷子縁酵素切断可能ペプチドは、L_2内に存在する場合、Ｇｌｙ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－ＴｙｒおよびＧｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓからなる群より選択される。

【００１３】

特定の実施形態では、化合物（補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体）は、式１ａの以下の構造：

【化２】



により表される。

【００１４】

特定の実施形態では、化合物は、Ｎ－スクシンイミジル３－グアニジノメチル－５－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエート（ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ）またはＮ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタト－５－グアニジノメチルベンゾエート（ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ）を含む。

【００１５】

本発明の別の態様では、本開示は、式２により表される補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体の形態の化合物：

【化３】

$MC\text{-}Cm\text{-}L_4\text{-}Cm\text{-}T$

式 2,

（式中、

ＭＣは、多座金属キレート部分であり；
Ｃｍは、チオ尿素、アミドまたはチオエーテルであり；
$Ｌ_4$は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、一方または両方の末端にＮＨ、ＣＯまたはＳを必要に応じて有する置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から選択され；ならびに
Ｔは、本明細書に開示される（例えば、式１、例えば式１Ａの）化合物（補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体）である）またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を提供する。

【００１６】

いくつかの実施形態では、ＭＣは大環状構造である。特定の例示的な補欠分子化合物では、ＭＣは、ＤＯＴＡ、ＴＥＴＡ、ＮＯＴＰおよびＮＯＴＡから選択される。いくつかの実施形態では、ＭＣは非環式多座配位子である。特定の例示的な補欠分子化合物では、ＭＣは、ＥＤＴＡ、ＥＤＰＴＰおよびＤＴＰＡから選択される。

【００１７】

特定の実施形態では、Ｙはアルキル金属部分である（化合物が放射性ハロゲン前駆体である場合）。放射性ハロゲン前駆体中のアルキル金属部分は、例えば、トリメチルスタンニル（$ＳｎＭｅ_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$ＳｎＢｕ_3$）およびトリメチルシリル（$ＳｉＭｅ_3$）からなる群より選択される。このような前駆体は、本明細書に記載されるように、本明細書に開示される補欠分子化合物および放射標識生体分子の生産において有用であり得る。他の実施形態では、Ｙは、放射性ハロゲン（化合物が補欠分子化合物である場合）、例えば^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉまたは^{211}Ａｔである。

【００１８】

本開示はさらに、生体分子に付着した本明細書に開示される補欠分子化合物を含む放射標識生体分子を提供し、生体分子に付着した本明細書に開示される放射性ハロゲン前駆体を含む中間体（これは、反応して放射標識生体分子を形成し得る）も提供する。

【００１９】

生体分子は様々なものであり得る。特定の実施形態では、生体分子は、抗体、抗体断片、ＶＨＨ分子、アプタマーまたはそれらの変形物からなる群より選択される。特定の実施形態では、生体分子はＶＨＨである。特定の実施形態では、ＶＨＨはＨＥＲ２を標的にする。いくつかの実施形態では、ＶＨＨは、配列番号１～５に記載されている配列から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００２０】

本開示はさらに、薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤または担体と併せて、本明細書に開示される放射標識生体分子を含む医薬組成物を提供する。本開示のさらなる態様では、癌を処置するための方法であって、それを必要とする個体に、有効量の本明細書に開示される放射標識生体分子および／または有効量の本明細書に開示される医薬組成物を投与することを含む方法が提供される。

【００２１】

本開示の実施形態の理解を提供するために、添付図面を参照するが、これは必ずしも正確な比率ではない。図面は例示にすぎず、本開示を限定するものとして解釈されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【００２２】

【図１】図１は、（Ａ）［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨ、（Ｂ）［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨ、（Ｃ）ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよび（Ｄ）ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥ／蛍光イメージングプロファイルを提供し、左のレーンの分子量標準は比較用である；

【００２３】

【図２】図２は、（Ａ）［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ、（Ｂ）ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ、（Ｃ）［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよび（Ｄ）ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢを使用して標識した５Ｆ７　ＶＨＨを用いて、ＨＥＲ２発現ＢＴ４７４Ｍ１乳癌腫細胞で実施した飽和結合アッセイの結果を提供する；

【００２４】

【図３】図３は、インビトロにおけるＢＴ４７４Ｍ１細胞への［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの内在化のプロットを提供し、図３Ａは、細胞結合（内在化＋表面結合）放射活性の合計を示し、図３Ｂは、内在化放射活性を示す；

【００２５】

【図４】図４は、インビトロにおけるＢＴ４７４Ｍ１細胞への［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの内在化のプロットを提供し、図４Ａは、細胞結合（内在化＋表面結合）放射活性の合計を示し、図４Ｂは、内在化放射活性を示す；

【００２６】

【図５】図５は、腫瘍における取り込みと比較した、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの生体内分布を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００２７】

【図６】図６は、腫瘍における取り込みと比較した、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの生体内分布を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００２８】

【図７】図７は、腎臓における取り込みと比較した、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの生体内分布を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００２９】

【図８】図８は、腎臓における取り込みと比較した、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの生体内分布を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００３０】

【図９】図９は、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスの甲状腺（図９Ａ）および胃（図９Ｂ）における［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの取り込みに関するデータを提供し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００３１】

【図１０】図１０は、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスの甲状腺（図１０Ａ）および胃（図１０Ｂ）における［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の取り込みに関するデータを提供し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；

【００３２】

【図１１】図１１は、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの生体内分布から得られた腫瘍対組織比を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；ならびに

【００３３】

【図１２】図１２は、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の生体内分布から得られた腫瘍対組織比を示し、データは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨタンデムを投与した後に対標識研究から得られた；ならびに

【００３４】

【図１３】図１３は、皮下Ｂ４７４Ｍ１ヒト乳癌腫異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおける［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよび［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの対標識生体内分布を提供する表である；ならびに

【００３５】

【図１４】図１４は、皮下Ｂ４７４Ｍ１ヒト乳癌腫異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおけるｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７　ＶＨＨおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７　ＶＨＨの対標識生体内分布を提供する表である。

【発明を実施するための形態】

【００３６】

発明の詳細な説明

次に、例示的な実施形態を参照して、本開示をより詳細に以下で説明する。これらの例示的な実施形態は、本開示が十分かつ完全であり、本開示の範囲を当業者に完全に伝えるように記載されている。実際、本開示は多くの異なる形態で具現化され得、本明細書に記載される実施形態に限定されると解釈されるべきではない；むしろ、これらの実施形態は、本開示が適用法的要件を満たすように提供されている。本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、「ｔｈｅ」は、文脈上明確な指示がない限り、複数の指示対象を含む。

【００３７】

癌を含む疾患を診断および処置するための化合物、組成物および方法が提供される。一般に、本開示の化合物は、（標的放射線治療剤を提供する）標的化部分として機能する高分子（例えば、生体分子）に付着した放射標識補欠分子化合物／ラジカルまたは放射標識補欠分子団を含む。このようなものとして、本開示は、放射標識補欠分子化合物およびラジカルそれ自体、ならびにそれに付着したこのような放射標識補欠分子化合物／ラジカルを有する高分子（本明細書のいくつかの実施形態では「放射標識生体分子」または「標的放射性治療剤」と称される）を包含する。

【００３８】

本開示はまた、補欠分子団および／または標的放射線治療剤が生産され得るアルキル金属部分（本明細書では「放射性ハロゲン前駆体」と称される）を含有するこのような化合物およびラジカル（単独および／または生体分子との組み合わせ）を包含する。有利には

、いくつかの実施形態では、このような前駆体の調製は、より大きな放射性ハロゲン（例えば限定されないが、^{18}Ｆよりも大きな^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔを含む）を含む補欠分子化合物および標的放射線治療剤の生産を可能にする。

【００３９】

標識補欠分子化合物／ラジカルまたは放射性ハロゲン前駆体（単独または高分子に付着）は、一般に、放射性ハロゲンまたはその前駆体に加えて、荷電基（ＣＧ）および高分子コンジュゲート部分（ＭＭＣＭ）を含む。以下により詳細に記載されるように、これらの各成分は、１つまたはそれを超える切断可能（または切断不能）リンカーに結合され得る。いくつかの実施形態では、標的放射線治療剤は、生体分子（標的化部分）、放射標識補欠分子団またはテンプレートおよび必要に応じてキレート剤（大環状または非環状のいずれか）を含む。

【００４０】

本明細書に記載される放射標識化合物、特に放射標識生体分子および使用方法は、標的細胞における放射活性のより大きな取り込み、内在化後の標的細胞における放射活性のより高い保持、および正常細胞における放射活性のより少ない取り込みをもたらす；例えば、放射活性の甲状腺および腎臓取り込みがより少ない。本発明の標的放射線療法は、放射性核種を悪性細胞集団に選択的に送達することができる。標的放射線療法の利点は、目的の臨床適用の制約にベストマッチする特性を有する放射性核種を選択し得ることである。一例として、中枢神経系（ＣＮＳ）腫瘍の場合、放射線は、有利には、正常ＣＮＳ組織の照射を最小にする組織範囲で選択されるであろう。

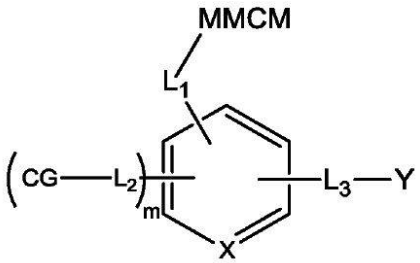
【００４１】

本明細書で提供される化合物（例えば、放射性ハロゲン前駆体、補欠分子化合物、中間体および標的放射線治療剤）は、細胞内タンパク質分解後に、リソソーム膜または細胞膜を通過し得ないエキソサイトーシス耐性の荷電異化産物を生成する標識技術を使用して、標的疾患細胞、例えば癌細胞における放射性核種、特に（特定の実施形態では）放射性ハロゲンの保持を増強する方法により調製される。標識を有する分子の一部がリソソーム分解に対して不活性であり、タンパク質分解後に細胞内に捕捉される場合、本発明の化合物は荷電異化産物を含む。

【００４２】

本開示により包含される特定の補欠分子化合物およびその前駆体（すなわち、放射性ハロゲン前駆体）は、式１のもの

【化４】



式１：クラスＩ型化合物の一般構造

ならびにその誘導体および変異体を含む。

【００４３】

本発明は、それに付着したホモ（Ｘ＝ＣＨ）またはヘテロ（Ｘ＝Ｎ）芳香環：補欠分子化合物／ラジカルまたは前駆体を高分子、放射性ハロゲンまたは放射性ハロゲン前駆体（Ｙ）にカップリングするための高分子コンジュゲート部分（ＭＭＣＭ）；および１個またはそれを超える荷電置換基（ＣＧ）を含む式１の一般構造の補欠分子化合物／ラジカルおよびその前駆体（「クラスＩ型化合物」と称される）を含む。これらの各成分は、リンカー（L_1、L_2、L_3）を介して芳香環に付着され得るか、または芳香環に直接結合され

得る（すなわち、L_1および／またはL_2および／またはL_3が結合である場合）。式１に示されているこれらの各成分は、以下にさらに詳細に記載される。

【００４４】

いくつかの実施形態では、Ｙは放射性ハロゲンである（式１が放射標識補欠分子化合物／ラジカルを表す場合）。このような放射性ハロゲンは、^{18}Ｆ、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔから選択され得る。有利には、いくつかの実施形態では、放射性ハロゲンは^{18}Ｆよりも大きい。特定の実施形態では、放射性ハロゲンＹは、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔから選択される。特定の実施形態では、放射性ハロゲンＹは、^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒおよび^{211}Ａｔから選択される。特定の一実施形態では、放射性ハロゲンＹは^{211}Ａｔである。

【００４５】

他の実施形態では、Ｙはアルキル金属部分である（式１が放射性ハロゲン前駆体／ラジカルを表す場合）。例示的なアルキル金属部分としては、限定されないが、トリメチルスタンニル（$SnMe_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$SnBu_3$）およびトリメチルシリル（$SiMe_3$）を含むトリアルキル金属前駆体が挙げられる。

【００４６】

Ｙは芳香環に直接結合され得るか（L_3＝直接結合）、またはリンカー（L_3）を介して芳香環に結合され得る。L_3は、例えば、スペーサー、例えば置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖または短いポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖（１～１０個のエチレングリコール単位）であり得る。

【００４７】

荷電基（ＣＧ）は、典型的には、本明細書に開示される補欠分子団に存在する（すなわち、ｍは１であるかまたはそれを超える）。典型的には、ｍは１である；しかしながら、ｍ＝２、ｍ＝３および（Ｘ＝ＣＨである場合）ｍが４であり得るように、１個を超えるＣＧが環に付着され得る。１個を超えるＣＧが環に付着される場合、このような各ＣＧ（および対応するL_2）は、同じものまたは異なるものであり得る。特定の実施形態では、以下で言及されるように（式２に示されているように）、別の部分が式１の環に付着され得、このようなさらなる部分が荷電性である場合、ｍは０であり得る（すなわち、いくつかの実施形態では、さらなる部分は、「荷電基」として有効に機能し得る）。

【００４８】

荷電基は、典型的には、内部細胞環境の生理学的条件下で荷電性の基である。いくつかの実施形態では、荷電基（ＣＧ）は、グアニジン、PO_3H基またはSO_3H基を含む。いくつかの実施形態では、ＣＧは、１個を超える炭素を含有するグアニジノアルキル基である。いくつかの実施形態では、ＣＧは、グアニジノ親水性基（例えば、アミノまたはヒドロキシル含有基）および／またはアルキルオキシカルボニルグアニジン基である。他の実施形態では、ＣＧは、１つまたはそれを超える荷電Ｄ－アミノ酸、例えばアルギニン、グルタメート、アスパルタート、リジンおよび／またはホスホノ／スルホフェニルアラニンを含む。なおさらなる実施形態では、ＣＧは親水性炭水化物部分を含む。いくつかの実施形態では、化合物は、癌細胞における細胞内捕捉を増加させるために、１個、２個または３個のＣＧ部分（および必要に応じて、対応するリンカー基L_2）を含み得る。

【００４９】

ＣＧは芳香環に直接結合され得るか（L_2＝直接結合）、またはリンカー（L_2）を介して芳香環に結合され得る。L_2は、例えば、スペーサー、例えば置換もしくは非置換アルキル鎖（例えば、単純な置換もしくは非置換アルキル鎖、例えばメチレン）、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖、少なくとも３個の酸素のＰＥＧ鎖、または刷子縁酵素切断可能ペプチド、例えばＧｌｙ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－Ｔｙｒもしくは Ｇｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓを含有する前述のいずれかであり得る。特定の実施形態では、ＣＧがグアニジンであり、L_2が非置換アルキル鎖である場合、非置換アルキル鎖は

２個またはそれを超える炭素原子を含むことに留意する。

【００５０】

本発明のいくつかの実施形態では、代謝可能スペーサーまたは切断可能リンカーL_2（例えば、刷子縁酵素切断可能リンカー）は、ＣＧと芳香環との間に位置する。これらの製剤により、ＣＧ部分が腎臓で切断されて、電荷が排除され、腎臓の腎尿細管細胞から（今や中性であるかまたはあまり荷電していない）放射性種が解放され、その後、それらが迅速に尿中に排泄されるので、腎臓における放射活性の取り込みおよび保持の増加が回避され得る。刷子縁酵素切断可能リンカーは、以前には放射活性と共に使用されていたが、「電荷スイッチ」を作るこの方法では使用されず、標識試薬は、腫瘍では荷電性であるので保持されるが、腎臓では電荷を喪失するので除去される。

【００５１】

このようなリンカーとしては、メプリンβ（腎臓刷子縁膜で発現されるメタロプロテアーゼ）を標的にするリンカー配列（Ｊｏｄａｌら、（２０１５）ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ　Ａｐｒ　９；１０（４）：ｅ０１２３４４３）；リジンのイプシロンアミノ基を介して抗体断片に連結されたＣ末端リジンまたはＣ末端（Ｎ（イプシロン）－アミノ－１，６－ヘキサン－ビス－ビニルスルホン）リジン（これは、近位尿細管細胞による取り込みの前に放射標識ペプチドリンカーを切断する腎臓刷子縁酵素のリジン特異的カルボキシペプチダーゼ活性を利用することにより、減少した腎臓取り込みを示す）（Ｌｉら、（２００２）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ　Ｃｈｅｍ　１３（５）：９８５－９９５）；Ｌ－チロシンＯ－チロシン、Ｌ－アスパラギン、Ｌ－グルタミン、Ｎ－Ｂｏｃ－Ｌ－リジン（Ａｋｉｚａｗａら、（２０１３）Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ　２４：２９１－２９９）；グリシル－リジン（Ａｒａｎｏら、（１９９９）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５９：１２８－１３４）（これらはすべて、参照により本明細書に組み込まれる）が挙げられる。

【００５２】

いくつかの実施形態では、ＭＭＣＭは活性エステルである。本明細書では、活性エステルは、穏和な条件、すなわち、高分子／生体分子の生物学的機能の喪失をもたらさない条件下で、高分子／生体分子（例えば、ペプチドまたはタンパク質）上に存在するアミン基とコンジュゲートされ得るエステルとして定義される。例示的なこのようなＭＭＣＭ基としては、限定されないが、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）またはテトラフルオロフェノール（ＴＦＰ）エステル、イソチオシアネート基またはマレイミド基が挙げられる。このようなＭＭＣＭは、一般に、タンパク質またはペプチド上のアミン基のランダム（非部位特異的）標識をもたらす。他の実施形態では、ＭＭＣＭは、酵素ソルターゼ（これは、１つの部位（タンパク質のＮ末端またはＣ末端のいずれか）のみへのコンジュゲーションをもたらす）を使用して実施すべき部位特異的コンジュゲーションを提供する。この場合、ＭＭＣＭは、例えば、トリペプチドＧｌｙＧｌｙＧｌｙである。

【００５３】

ＭＭＣＭは芳香環に直接結合され得るか（L_1＝直接結合）、またはリンカーを介して芳香環に結合され得る（L_1）。L_1は、例えば、スペーサー、例えば置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖または短いポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖（１～１０個のエチレングリコール単位）であり得る。

【００５４】

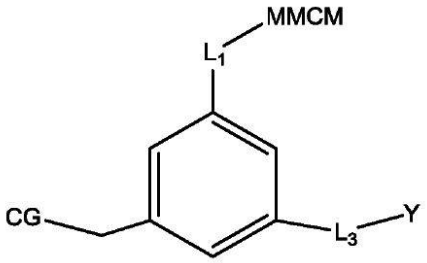
芳香環上のこれら３個の部分（－L_1－ＭＭＣＭ、－L_2－ＣＧおよび－L_3－Ｙ）の位置は変動し得る。ＸがＣＨである場合、これら３個の部分は、芳香環の位置のいずれかに配置され得る。いくつかのこのような実施形態では、－L_2－ＣＧおよび－L_3－Ｙ部分は、（１位の）－L_1－ＭＭＣＭ部分に対してそれぞれ３位および４位（またはそれぞれ４位および３位）に位置する。いくつかのこのような実施形態では、芳香環が１位、３位および５位に参照部分を含むように、－L_2－ＣＧおよび－L_3－Ｙ部分は、－L_1－ＭＭＣＭ部分に対して３位および５位に位置する。ＸがＮである場合、これらの３個の部分は、環の残りの５つの位置（例えば限定されないが、環の２位、４位および６位を含む

）のいずれかに配置され得る。

【００５５】

本発明の標的化分子を標識するための式１の範囲内の特定の補欠分子化合物、および放射性ハロゲン前駆体は、以下に示されているように、式１Ａの化合物ならびにその誘導体および変異体を含む。示されているように、式１Ａでは、ＸはＣＨであり（すなわち、芳香環はベンゼン環である）、$Ｌ_{2}$はメチレン基であり、３個の部分（$－Ｌ_{1}－$ＭＭＣＭ、$－Ｌ_{3}－$Ｙおよび$－ＣＨ_{2}－$ＣＧ）は、芳香環の１位、３位および５位に存在する。

【化５】



式１Ａ：サブクラスＩＡ型化合物の一般構造

【００５６】

本発明はまた、以下に示されている式２の一般構造を有するその化合物（「クラスＩＩ型化合物」と称される）を含む。

$ＭＣ－Ｃｍ－Ｌ_{4}－Ｃｍ－Ｔ$

式２：クラスＩＩ化合物の一般構造

【００５７】

このような化合物は、多座金属キレート部分（ＭＣ）、$Ｌ_{4}$の両端にコンジュゲート部分（Ｃｍ）を有するリンカー（$Ｌ_{4}$）、および放射性ハロゲン化テンプレートまたは放射性ハロゲン前駆体テンプレート（Ｔ）を含む。Ｔは、例えば、上記に示されているように、式１の化合物または式１Ａの化合物（ＭＭＣＭを含有する化合物）であり得る。いくつかの実施形態では、Ｔは補欠分子化合物／ラジカルであり、いくつかの実施形態では、Ｔは放射性ハロゲン前駆体化合物／ラジカルである。いくつかのこのような実施形態では、上記で言及されているように、ｍ＝０であり、式２の「$ＭＣ－Ｃｍ－Ｌ_{4}－Ｃｍ$」部分は、上記式１における$Ｌ_{2}－$ＣＧ部分の所望の機能を提供する（すなわち、$ＭＣ－Ｃｍ－Ｌ_{4}－$Ｃｍ置換基は十分に「荷電基」である）。他のこのような実施形態では、ｍ＝１、２または３であり、「Ｔ」の芳香環は少なくとも４個の置換基（すなわち、$Ｌ_{1}－$ＭＭＣＭ、$Ｌ_{3}－$Ｙ、$Ｌ_{2}－$ＣＧおよび$Ｃｍ－Ｌ_{4}－Ｃｍ－$ＭＣ）を有し、１個またはそれを超えるさらなる$Ｌ_{2}－$ＣＧ置換基を必要に応じて含み得る。

【００５８】

$Ｌ_{4}$は、$Ｌ_{1}$および$Ｌ_{3}$について上記で定義されるとおりであり得る。このようなものとして、$Ｌ_{4}$は直接結合であり得るか、または例えばスペーサー、例えば置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖、もしくは短いポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖（１～１０個のエチレングリコール単位）であり得る。$Ｌ_{4}$はやはり、上記で定義されるとおりであるが、一方または両方の末端にＮＨ、ＣＯ（カルボニル）またはＳ（チオエーテル）を有する。

【００５９】

Ｃｍは、例えば、チオ尿素、アミドまたはチオエーテルであり得る。例えば、いくつかの実施形態では、Ｃｍは、チオ尿素（例えば、キレート部分およびＴのコンジュゲート官能基がイソチオシアネートである場合）、アミド（キレート部分およびＴのコンジュゲート官能基がＮＨＳもしくはＴＦＰ活性エステルまたはハロゲン化アシルである場合）、またはチオエーテル（キレート部分およびＴのコンジュゲート官能基がマレイミドである場合）である。

【００６０】

一般に、Ｔは、ＭＭＣＭ（これを介して、高分子を化合物にカップリングし得る）を含有する放射標識部分または放射性ハロゲン前駆体である。上記で言及されているように、いくつかの実施形態では、Ｔは、式１の化合物／ラジカルまたは式１Ａの化合物／ラジカルであり得る。他の実施形態では、限定されないが、Ｃｈｏｉら、（２０１４）Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ Ｂｉｏｌ ４１（１０）：８０２－８１２（これは、参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているｉｓｏ－ＳＧＭＩＢ；Ｒｅｉｓｔら、（１９９７）Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ Ｂｉｏｌ ２４（７）：６３９－６４８（これは、参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているＳＩＰＣ；または米国特許第５，３０２，７００号（これは、参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているＳＤＭＢを含む他の放射性ハロゲンテンプレート（Ｔ）が使用され得る。

【００６１】

ＭＣは任意の多座部分であり得、環状または非環状であり得る。ＭＣの組成は変動し得る。ＭＣは錯体化され得ない（金属を欠く）か、または安定（非放射性）もしくは放射性形態の金属、好ましくは三価金属（M^{+3}）、例えばルテチウム、イットリウム、インジウム、アクチニウムもしくはガリウムと錯体化され得、ＭＣは、ＭＣ上に存在する遊離ＣＯＯＨ基の１個を使用して、またはＭＣ骨格炭素の１個を含むＭＣ上の他の位置を介してリンカーに接続される。ＭＣと錯体化され得る特定の具体的な放射性金属としては、限定されないが、^{177}Ｌｕ、^{64}Ｃｕ、^{111}Ｉｎ、^{90}Ｙ、^{225}Ａｃ、^{213}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{212}Ｂｉ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{89}ＺｒおよびＴｈからなる群より選択される放射性金属が挙げられる。このリストは包括的なものではなく、これらの例示的な放射性金属は三価であるが、本発明にしたがって使用され得る特定のＭＣは他の価数の金属に結合し得、このようなＭＣおよび放射性金属も本明細書に包含されることに留意する。

【００６２】

いくつかの実施形態では、ＭＣに結合した放射性金属を含めることにより、分子上の他の場所における放射性原子の必要性を排除し得る（例えば、式２のＴ＝式１／１ａの部分である場合に「Ｙ」として）。このようなものとして、式２の化合物では、「Ｔ」は、放射性原子（例えば、ハロゲン）を含んでもよいしまたは含まなくてもよい。いくつかの実施形態では、Ｔは、上記式１／１ａに示されている部分を含み、「Ｙ」基は、非放射性ハロゲン（例えば、非放射性臭素またはヨウ素）である。他の実施形態では、放射性ハロゲン（例えば、式２のＴ＝式１／１ａの部分である場合に「Ｙ」として）および（上記で言及されている放射性金属などのＭＣに結合した）放射性金属の両方を含む式２の化合物が提供される。特定の実施形態では、このような戦略は、例えば、複数の同位体について同じ補欠分子剤の使用を可能にするであろう。特定の例では、式２の化合物は、低エネルギーベータ放射体（例えば、^{131}Ｉ）＋高エネルギーベータ放射体（例えば、^{90}Ｙ）；またはアルファ放射体（例えば、^{225}Ａｃ）金属およびベータ放射体ハロゲン（例えば、^{131}Ｉ）；またはアルファ放射体ハロゲン（例えば、^{211}Ａｔ）およびベータ放射体放射性金属（例えば、^{177}Ｌｕ）で提供される。

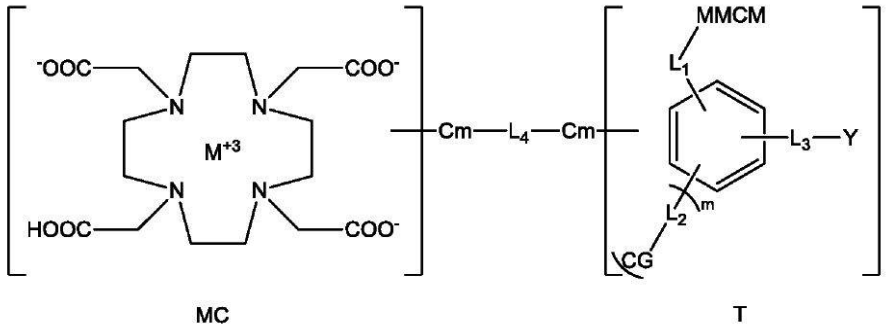
【００６３】

いくつかの実施形態では、ＭＣは、８個またはそれを超える原子を含有する環からなる大環状配位子であって、カルボキシル基またはホスホネート基などの少なくとも３個の負荷電置換基を有する大環状配位子である。ＭＣ基として適切な例示的な大環状配位子としては、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７，１０－テトラ酢酸（ＤＯＴＡ）、１，４，７－トリアザシクロノナン－１，４，７－トリ酢酸（ＮＯＴＡ）、１，４，８，１１－テトラアザシクロテトラデカン－１，４，８，１１－テトラ酢酸（ＴＥＴＡ）および１，４，７－トリアザシクロノナン－１，４，７－トリ（メチレンホスホン酸）（ＮＯＴＰ）が挙げられる。他の実施形態では、ＭＣは、Ｇａｌｉら、Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ（２００１），２１（４Ａ），２７８５－２７９２）（これは、参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているＭｅＯ－ＤＯＴＡである。

【００６４】

クラスＩＩ化合物の例は以下の式２Ａに示されており、ＭＣは、ＤＯＴＡを含む大環状配位子であり、放射性ハロゲン化テンプレートＴは、式１に対応する部分である。

【化６】



式２Ａ：ＤＯＴＡ　ＭＣを有する例示的なクラスＩＩ化合物

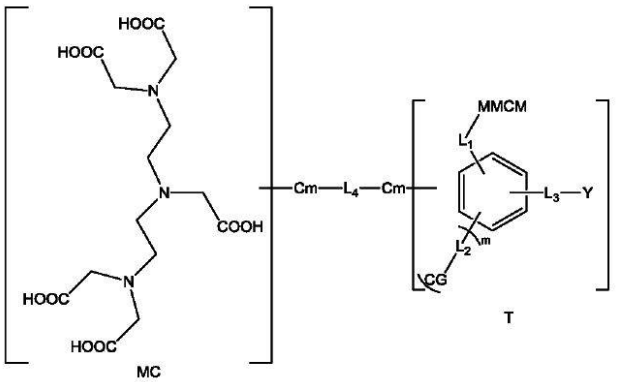
【００６５】

式２Ａの左側の括弧は、Ｃｍ基が結合したＭＣ（ＤＯＴＡ）上の特定部位が限定されない（すなわち、Ｃｍがその上の様々な部位でＤＯＴＡに結合し得る）ことを伝えることを意図する。同様に、式２Ａの右側の括弧は、Ｃｍ基が結合した「Ｔ」の環上の特定部位が限定されない（すなわち、Ｃｍが環上の様々な部位でＴに結合し得る）ことを伝えることを意図する。やはり、上記で言及されているように、ＣＧ－Ｌ$_2$は存在してもよいしまたは存在しなくてもよい。いくつかの実施形態では、式２ＡのＴのベンゼン環は、４個の置換基（連結ＭＣ、Ｌ$_2$－ＭＭＣＭ、Ｌ$_3$－ＹおよびＬ$_2$－ＣＧを含む）を含む。他の実施形態では、式２ＡのＴのベンゼン環は、３個の置換基（連結ＭＣ、Ｌ$_2$－ＭＭＣＭおよびＬ$_3$－Ｙを含む）を含む。後者の実施形態は、連結ＭＣが荷電性である場合に特に関連する（すなわち、それは、「Ｌ$_2$－ＣＧ」置換基の所望の機能の提供に取って代わり得る）。

【００６６】

いくつかの実施形態では、ＭＣは、６個またはそれを超える原子を含有する鎖からなる非環式配位子であって、カルボキシル基またはホスホネート基などの少なくとも３個の負荷電置換基を有する非環式配位子である。ＭＣ基として適切な例示的な非環式配位子としては、ジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＤＴＰＡ）、エチレンジアミンテトラメチレンホスホン酸（ＥＤＴＭＰ）およびエチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）が挙げられる。クラスＩＩ化合物の例は以下の式２Ｂに示されており、ＭＣは、ＤＴＰＡを含む非環式配位子であり、放射性ハロゲン化テンプレートＴは、式１に対応する部分である。

【化７】



式２Ｂ：ＤＴＰＡ（非環式）ＭＣを有する例示的なクラスＩＩ化合物

【００６７】

式２Ａに関して上記で言及されているように、式２Ｂの左側の括弧は、Ｃｍ基が結合したＭＣ（ＤＴＰＡ）上の特定部位が限定されない（すなわち、Ｃｍがその上の様々な部位

でＤＴＰＡに結合し得る）ことを伝えることを意図する。同様に、式２Ｂの右側の括弧は、Ｃｍ基が結合した「Ｔ」の環上の特定部位が限定されない（すなわち、Ｃｍが環上の様々な部位でＴに結合し得る）ことを伝えることを意図する。やはり、上記で言及されているように、ＣＧ－$Ｌ_2$は存在してもよいしまたは存在しなくてもよい。いくつかの実施形態では、式２ＢのＴのベンゼン環は、４個の置換基（連結ＭＣ、$Ｌ_2$－ＭＭＣＭ、$Ｌ_3$－ＹおよびＬ$_2$－ＣＧを含む）を含む。他の実施形態では、式２ＡのＴのベンゼン環は、３個の置換基（連結ＭＣ、$Ｌ_2$－ＭＭＣＭおよびＬ$_3$－Ｙを含む）を含む。後者の実施形態は、連結ＭＣが荷電性である場合に特に関連する（すなわち、それは、「$Ｌ_2$－ＣＧ」置換基の所望の機能の提供に取って代わり得る）。

【００６８】

いくつかの特定の実施形態では、ＭＣ＝ＤＯＴＡ、$Ｌ_4$＝－ＮＨ（$ＣＨ_2$）$_6$ＮＨ－、Ｔ＝３－ヨード－５－スクシンイミジルオキシカルボニル－ベンゾイル、Ｃｍ＝アミドおよびＭＭＣＭ＝Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、マレイミド含有部分、またはソルターゼを使用した部位特異的コンジュゲーションのための（Ｇｌｙ）$_n$（上記式を参照のこと）である式２の化合物が提供される。

【００６９】

ＭＭＣＭを含有する上記式は、付着高分子（例えば、生体分子）でさらに官能化され得、このようなものとして、いくつかの実施形態では、ＭＭＣＭを介してそれに配位された高分子（例えば、生体分子）をさらに含む本明細書の上記で提供される式のいずれかの化合物が包含される。したがって、本開示は、（放射性配位子前駆体および生体分子を含む）中間体および（補欠分子団および生体分子を含む）放射標識生体分子（これらは両方とも、金属キレート部分を含んでもよいしまたは含まなくてもよい）を包含する。

【００７０】

本開示はさらに、本明細書に記載される補欠分子化合物および放射標識生体分子を合成する方法を提供する。いくつかの実施形態では、前記方法は、一般に、式１の化合物（式中、Ｙ＝アルキル金属放射性ハロゲン前駆体）を調製することを含む。特定の実施形態では、前記方法は、一般に、式２の化合物（式中、（Ｙ＝アルキル金属放射性ハロゲン前駆体）を調製することを含む。いくつかの実施形態では、このような前駆体を用いることにより、より大きな放射性「Ｙ」基、例えば限定されないが、^{18}Ｆよりも大きな^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔを含む補欠分子化合物および放射標識生体分子の調製が可能になる。いくつかの実施形態では、高分子はＭＭＣＭに配位され得、Ｙはアルキル金属放射性ハロゲン前駆体の形態である；次いで、その後の反応は、Ｙが所望の放射性ハロゲン原子の形態である生成物を提供する。

定義：

【００７１】

「$Ｃ_m$－$Ｃ_n$アルキル」はそれ自体で、または$Ｃ_m$－$Ｃ_n$ハロアルキル、$Ｃ_m$－$Ｃ_n$アルキルカルボニル、$Ｃ_m$－$Ｃ_n$アルキルアミンなどの複合表現で、指定数の炭素原子を有する直鎖または分枝脂肪族炭化水素ラジカルを表し、例えば、$Ｃ_1$－$Ｃ_4$アルキルは、１～４個の炭素原子を有するアルキルラジカルを意味する。$Ｃ_1$－$Ｃ_6$アルキルは対応する意味を有し、ペンチルおよびヘキシルのすべての直鎖および分枝鎖異性体も含む。本発明において使用するための好ましいアルキルラジカルは、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチルおよびｎ－ヘキシルを含む$Ｃ_1$－$Ｃ_6$アルキル、特に$Ｃ_1$－$Ｃ_4$アルキル、例えばメチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｔ－ブチル、ｎ－ブチルおよびイソブチルである。典型的には、メチルおよびイソプロピルが好ましい。アルキル基は非置換であり得るか、または同じものもしくは異なるものであり得る１個もしくはそれを超える置換基で置換され得、各置換基は、ハロ、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、シアノ、ヒドロキシ、－Ｏ－アルキル、－Ｏ－アリール、－アルキレン－Ｏ－アルキル、アルキルチオ、－$ＮＨ_2$、－ＮＨ（アルキル）、－Ｎ（アルキル）$_2$、－ＮＨ（シクロ

アルキル）、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－アリール、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－シクロアルキル、－Ｃ（＝Ｏ）ＯＨおよび－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－アルキルから独立して選択される。特に指示がない限り、アルキル基は非置換であることが一般に好ましい。

【００７２】

「$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{n}$アルケニル」は、少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含有し、指定数の炭素原子を有する直鎖または分枝脂肪族炭化水素ラジカルを表し、例えば、$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{4}$アルケニルは、２～４個の炭素原子を有するアルケニルラジカルを意味し；$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{6}$アルケニルは、２～６個の炭素原子を有するアルケニルラジカルを意味する。非限定的なアルケニル基としては、エテニル、プロペニル、ｎ－ブテニル、３－メチルブト－２－エニル、ｎ－ペンテニルおよびヘキセニルが挙げられる。アルケニル基は非置換であり得るか、または同じものもしくは異なるものであり得る１個もしくはそれを超える置換基で置換され得、各置換基は、ハロ、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、シアノ、ヒドロキシ、－Ｏ－アルキル、－Ｏ－アリール、－アルキレン－Ｏ－アルキル、アルキルチオ、$－ＮＨ_{2}$、－ＮＨ（アルキル）、$－Ｎ（アルキル）_{2}$、－ＮＨ（シクロアルキル）、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－アルキル、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－アリール、－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）－シクロアルキル、－Ｃ（＝Ｏ）ＯＨおよび－Ｃ（＝Ｏ）Ｏ－アルキルから独立して選択される。特に指示がない限り、アルケニル基は非置換であることが一般に好ましい。

【００７３】

「$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{n}$アルキニル」は、少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含有し、指定数の炭素原子を有する直鎖または分枝脂肪族炭化水素ラジカルを表し、例えば、$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{4}$アルキニルは、２～４個の炭素原子を有するアルキニルラジカルを意味し；$Ｃ_{2}$－$Ｃ_{6}$アルキニルは、２～６個の炭素原子を有するアルキニルラジカルを意味する。非限定的なアルケニル基としては、エチニル、プロピニル、２－ブチニルおよび３－メチルブトイニルペンチニルおよびヘキシニルが挙げられる。アルキニル基は非置換であり得るか、または同じものもしくは異なるものであり得る１個もしくはそれを超える置換基で置換され得、各置換基は、ハロ、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、シアノ、ヒドロキシ、－Ｏ－アルキル、－Ｏ－アリール、－アルキレン－Ｏ－アルキル、アルキルチオ、$－ＮＨ_{2}$、－ＮＨ（アルキル）、$－Ｎ（アルキル）_{2}$、－ＮＨ（シクロアルキル）、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－アルキル、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－アリール、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－シクロアルキル、－Ｃ（Ｏ）ＯＨおよび－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルキルから独立して選択される。特に指示がない限り、アルキニル基は非置換であることが一般に好ましい。

【００７４】

本明細書で使用される場合、「$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$ハロアルキル」という用語は、少なくとも１個のＣ原子がハロゲン（例えば、$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$ハロアルキル基は、１～３個のハロゲン原子を含有し得る）、好ましくはヨウ素、臭素またはフッ素で置換された$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$アルキルを表す。典型的なハロアルキル基は$Ｃ_{1}$_$Ｃ_{2}$ハロアルキルであり、適切には、ハロはヨードを表す。例示的なハロアルキル基としては、ヨードメチル、ジヨードメチルおよびトリヨードメチルが挙げられる。本明細書で使用される場合、ハロゲンの１個のみが放射性であり得る。

【００７５】

本明細書で使用される場合、「$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$ヒドロキシアルキル」という用語は、少なくとも１個のＣ原子が１個のヒドロキシ基で置換された$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$アルキルを表す。典型的な$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$ヒドロキシアルキル基は、１個のＣ原子が１個のヒドロキシ基で置換された$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$アルキルである。例示的なヒドロキシアルキル基としては、ヒドロキシメチルおよびヒドロキシエチルが挙げられる。

【００７６】

本明細書で使用される場合、「$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$アルキレン」という用語は、指示数の炭素原子を有する直鎖または分枝二価アルキルラジカルを表す。本発明において使用するための好ましい$Ｃ_{m}$－$Ｃ_{n}$アルキレンラジカルは、$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{3}$アルキレンである。アルキレン基の非限定的な例としては、$－ＣＨ_{2}$－、$－ＣＨ_{2}ＣＨ_{2}$－、$－ＣＨ_{2}ＣＨ_{2}ＣＨ_{2}$－、－

ＣＨ（ＣＨ$_3$）ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－、－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－および－ＣＨ（ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$）－が挙げられる。

【００７７】

「Ｃ$_m$－Ｃ$_n$アルコキシ」は、ラジカルＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキル－Ｏ－（Ｃ$_m$－Ｃ$_n$アルキルは上記で定義されるとおりである）を表す。特に興味深いものは、メトキシ、エトキシ、ｎ－プロポキシ、イソプロポキシ、ｔ－ブトキシ、ｎ－ブトキシ、ｓｅｃ－ブトキシおよびイソブトキシを含むＣ$_1$－Ｃ$_4$アルコキシである。典型的には、メトキシおよびイソプロポキシが好ましい。Ｃ$_1$－Ｃ$_6$アルコキシは対応する意味を有し、ペントキシおよびヘキソキシのすべての直鎖および分枝鎖異性体を含むように拡大される。

【００７８】

「Ｍｅ」という用語はメチルを意味し、「ＭｅＯ」はメトキシを意味する。「アミノ」という用語は、ラジカル－ＮＨ$_2$を表す。「ハロ」という用語は、ハロゲンラジカル、例えばフルオロ、クロロ、ブロモ、ヨードまたはアスタトを表す。典型的には、ハロ基は、ヨード、ブロモまたはアスタトである。「アリール」という用語は、芳香環、例えばフェニル、ビフェニルまたはナフチル基を表す。

【００７９】

「ヘテロシクロアルキル」という用語は、Ｏ、ＳおよびＮから独立して選択される１～４個のヘテロ原子を含有する安定飽和単環式３～１２員環を表す。一実施形態では、安定飽和単環式３～１２員環は４個のＮヘテロ原子を含有する。第２の実施形態では、安定飽和単環式３～１２員環は、Ｏ、ＳおよびＮから独立して選択される２個のヘテロ原子を含有する。第３の実施形態では、安定飽和単環式３～１２員環は、Ｏ、ＳおよびＮから独立して選択される３個のヘテロ原子を含有する。ヘテロシクロアルキル基は非置換であり得るか、または同じものもしくは異なるものであり得る１個もしくはそれを超える置換基で置換され得、各置換基は、ハロ、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、シアノ、ヒドロキシ、－Ｏ－アルキル、－Ｏ－アリール、－アルキレン－Ｏ－アルキル、アルキルチオ、－ＮＨ$_2$、－ＮＨ（アルキル）、－Ｎ（アルキル）$_2$、－ＮＨ（シクロアルキル）、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－アルキル、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－アリール、－Ｏ－Ｃ（Ｏ）－シクロアルキル、－Ｃ（Ｏ）ＯＨおよび－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルキルからなる群より選択される。特に指示がない限り、ヘテロシクロアルキル基は非置換であることが一般に好ましい。

【００８０】

「ヘテロアリール」という用語は、Ｏ、ＳおよびＮから独立して選択される１～４個のヘテロ原子を含有する安定芳香環を表す。好ましい実施形態では、本開示において有用なヘテロアリール部分は、６個の環原子を有する。本発明の一実施形態では、安定芳香族環系は、Ｎである１個のヘテロ原子を含有する。

【００８１】

「アミノＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキル」という用語は、アミノ基で置換された（すなわち、アルキル部分の１個の水素原子がＮＨ$_2$基で置き換えられた）上記で定義されるＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキル基を表す。典型的には、「アミノＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキル」は、アミノＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキルである。

【００８２】

「アミノＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキルカルボニル」という用語は、アルキル部分の１個の水素原子がＮＨ$_2$基で置き換えられた上記で定義されるＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキルカルボニルラジカルを表す。典型的には、「アミノＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキルカルボニル」は、アミノＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキルカルボニルである。アミノＣ$_m$－Ｃ$_n$アルキルカルボニルの例としては、限定されないが、グリシル：Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_2$ＮＨ$_2$、アラニル：Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ（ＮＨ$_2$）ＣＨ$_3$、バリニル：Ｃ＝ＯＣＨ（ＮＨ$_2$）ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$、ロイシニル：Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ（ＮＨ$_2$）（ＣＨ$_2$）$_3$ＣＨ$_3$、イソロイシニル：Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ（ＮＨ$_2$）ＣＨ（ＣＨ$_3$）（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）およびノルロイシニル：Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ（ＮＨ$_2$）（ＣＨ$_2$）$_3$ＣＨ$_3$などが挙げられる。この定義は、天然に存在するアミノ酸に限定されない。

【００８３】

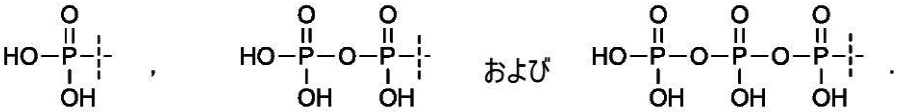
関連用語は、上記で提供される定義および技術分野における一般的な用法にしたがって解釈される。

【００８４】

本明細書で使用される場合、「（＝Ｏ）」という用語は、炭素原子に付着した場合にカルボニル部分を形成する。原子の原子価が許容する場合に、原子はオキソ基を有し得るにすぎないことに留意すべきである。

「一リン酸、二リン酸および三リン酸エステル」という用語は、基：

【化８】

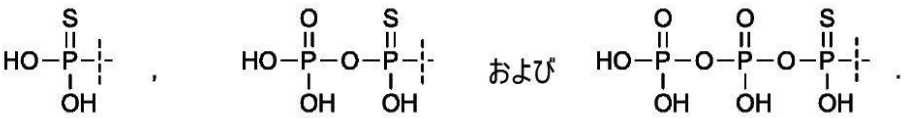


を指す。

【００８５】

「チオ一リン酸、チオ二リン酸およびチオ三リン酸エステル」という用語は、基：

【化９】



を指す。

【００８６】

本明細書で使用される場合、定義において使用される任意の分子部分上のラジカル位置は、それが化学的に安定である限り、このような部分上の任意の場所であり得る。任意の部分において、存在する任意の変数が１回を超えて出現する場合、各定義は独立している。

【００８７】

本明細書で使用される場合は常に、「式１の化合物」、「式１Ａの化合物」、「式２の化合物」または「本発明の化合物」または類似語句は、式１の化合物および式１の化合物のサブグループ、式２の化合物および式２の化合物のサブグループ（可能な立体化学的異性体を含む）ならびにそれらの薬学的に許容される塩および溶媒和物を含むことを意味する。

【００８８】

「溶媒和物」という用語は、式１および２の化合物ならびにそれらの塩が形成することができる任意の薬学的に許容される溶媒和物をカバーする。このような溶媒和物は、例えば、水和物、アルコラート、例えばエタノラート、プロパノラートなど、特に水和物である。

【００８９】

一般に、本出願において使用される化合物の名称は、ＣｈｅｍＤｒａｗ　Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ　１６．０を使用して生成される。加えて、構造または構造の一部の立体化学が、例えば太字または破線で示されない場合、構造またはその構造の一部は、そのすべての立体異性体を包含すると解釈すべきである。

【００９０】

リンカーはまた、コア構造への各部分の結合を促進するように選択され得る。例えば、補欠分子化合物の好ましい合成経路に関して以下により詳細に議論されているように、代表的なリンカーは、１～６個の炭素原子（この１個の炭素原子は、環式（炭化水素環）ラジカルまたは複素環式（複素環）ラジカルで置換され得る）を有する二官能性アルキル鎖（例えば、－ＣＨ$_2$－、－Ｃ$_2$Ｈ$_4$－、－Ｃ$_3$Ｈ$_6$－など）である。代表的な複素環式ラジカルは、複素環において少なくとも１個の窒素原子を有する。したがって、このような複素環式ラジカルの具体例は、ジアジニル、ジアゾリル、トリアジニル、トリアゾリル、

テトラジニルおよびテトラゾリルラジカルである。これらのおよび他の複素環式ラジカルまたは他の環式ラジカルは、別の環式もしくは複素環式ラジカルに必要に応じて縮合され得るか、またはそれ自体が縮合環系の一部である別の環式もしくは複素環式ラジカルに縮合され得る（例えば、トリアゾリルラジカル（または他の窒素原子置換複素環式炭化水素ラジカル）がジベンゾアゾカニルラジカルに縮合される場合のように、トリアゾリルラジカルは、それ自体が２つの６員環に縮合された８員環または複素環式ラジカルに縮合され得る）。したがって、３つまたはそれを超える縮合環、例えば炭化水素環、複素環およびこれらの環の組み合わせを含有するリンカーが可能である。代表的な荷電基リンカーL_2は、１～６個の炭素原子を有する二価置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、または置換もしくは非置換アルキニル鎖である。一般に、L_1、L_2、L_3および／またはL_4は、１～６個の炭素原子を有する置換または非置換二価アルキルラジカルであり得（を含み得）、１個またはそれを超える炭素原子は、ヘテロ原子、例えばＮＨ、ＯもしくはＳで置換され得、および／もしくは置き換えられ得るか、または１～８個の炭素原子を有する（例えば、分枝アルキルラジカルの形成をもたらす）別のアルキルラジカルであって、直鎖、分枝もしくは環状であり得る別のアルキルラジカルで置換され得、もしくは置き換えられ得る。例えば、アルキルラジカルの１個の炭素原子を置換してカルボニル（Ｃ＝Ｏ）基を提供し、隣接炭素原子をＮＨで置き換え、それにより、ペプチド／アミド結合－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＨ－をもたらし得る。したがって、代表的なリンカーL_1、L_2、L_3およびL_4は、アルキル鎖に組み込まれるこのようなペプチド結合、－ＮＨ－結合、－（Ｃ＝Ｏ）－結合および／または環状－C_6H_4－結合（このような結合のいずれか２つ、３つまたは４つの組み合わせを含む）の１つまたはそれよりも多くを有する二価アルキルラジカルを含み得る。加えて、L_1、L_2および／またはL_3の二価アルキルラジカルの場合、１組またはそれを超える隣接炭素原子間において炭素－炭素二重結合および／または炭素－炭素三重結合が形成されて、二価不飽和（例えば、オレフィン）アルキルラジカルが提供され得る。

【００９１】

生体分子のための適切な標識方法の選択は、生物学的環境との相互作用後の分子運命の慎重な検討を必要とする。放射性ヨウ素化タンパク質およびペプチドの場合、甲状腺ホルモン代謝に通常関与するものなどの脱ヨウ素酵素の作用回避が重要な懸念である。Ｎ－スクシンイミジル３－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエート（ＳＩＢ）などの試薬は、放射標識が存在する部位のチロシン非類似構造に基づいて、インビボで感知可能な脱ヨウ素化を受けないタンパク質を生じさせる。しかしながら、細胞表面受容体または抗原への結合後、標識タンパク質またはペプチドが細胞内在化を受けると、その細胞間経路に応じて、ＳＩＢ標識であっても、標的細胞からの標識のかなりの喪失が起こり得る。

【００９２】

いくつかの実施形態では、本発明の標的放射線治療方法は、１５ｍｍ未満の組織範囲で放射線を放出する放射性ハロゲンを利用し得る。これらとしては、アルファ放射体、例えば^{211}Ａｔ、ベータ放射体、例えば^{131}Ｉおよびオージェ電子放射体、例えば^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉおよび^{125}Ｉなどが挙げられる。放射性ハロゲン、例えば^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{124}Ｉなどを利用したポジトロン放出断層撮影法（ＰＥＴ）；放射性ハロゲン、例えば^{123}Ｉ、^{131}Ｉおよび^{77}Ｂｒなどを利用した単一光子放射コンピューター断層撮影法（ＳＰＥＣＴ）；または上記放射性ハロゲンのいずれかを用いて実施され得る術中イメージングにより、放射線が体外で検出され得るように、本発明の診断イメージング方法は、５ｍｍ超の組織範囲で放射線を利用する。米国特許第５，３０２，７００号（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。特に、^{131}Ｉは、２．３ｍｍの最大組織範囲で低エネルギーβ粒子を放出する。Ｓｔｅｉｎら、（２００３）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　６３：１１１－１１８（これは、参照により本明細書に組み込まれる）。本発明のセラノスティック法は、１）同じ放射性ハロゲンを利用して、標的放射線療法および診断イメージングを実施するか（例えば、^{131}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒなど）、または２）同じ元素の異なる放射性ハロゲンを利用して、標的放射線療法および診断イメ

ージングを実施する（例えば、^{124}Ｉおよび^{131}Ｉ；^{123}Ｉおよび^{131}Ｉ；^{77}Ｂｒおよび^{76}Ｂｒ；^{77}Ｂｒおよび^{75}Ｂｒなど）。（例えば、式２の化合物を用いる）いくつかの実施形態では、分子の金属キレート部分に結合する他の放射性金属が使用され得る。

【００９３】

上記放射標識補欠分子化合物にカップリングされ得る代表的な生体分子としては、細胞表面受容体、抗原または輸送体に特異的に結合する分子が挙げられる。代表的な細胞表面抗原または受容体としては、細胞により内在化されるものが挙げられる。生体分子は、細胞により数秒間、数分間、数時間または数日間かけて内在化される。好ましい生体分子は迅速に内在化される（すなわち、生体分子のほとんどは数分から数時間後に内在化される）。生体分子は、10^{-6}Ｍまたはそれ未満、好ましくは$10^{-8}M^{-1}$またはそれ未満の親和定数（K_D）で結合する場合に、特異的に結合するとみなされる。

【００９４】

生体分子は、細胞表面抗原、受容体または輸送体に特異的に結合する抗体、抗体の断片または合成ペプチドであり得る。抗体としては、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）が挙げられ、抗体断片としては、ＶＨＨ分子（単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）またはナノボディとしても公知）が挙げられる。好ましい実施形態では、生体分子は、内在化抗体または抗体断片である。細胞表面抗原に特異的に結合して細胞により内在化される任意の抗体は、内在化抗体である。抗体は、任意のクラス（すなわち、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥまたはＩｇＭ）の免疫グロブリンであり得、哺乳動物、例えばマウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、霊長類、ヒトまたは他の適切な種（Ｃａｍｅｌｉｄａｅ科のものを含む）の免疫化により得られ得る。抗体はポリクローナルであり得る（すなわち、細胞表面抗原またはその断片で免疫化された動物の血清から得られ得る）。抗体はまたモノクローナルであり得る（すなわち、当技術分野で公知であるように、細胞膜または表面リガンドまたは抗原またはそれらの断片を使用した哺乳動物の免疫化、免疫化哺乳動物由来のリンパまたは脾臓細胞と骨髄腫細胞株との融合、および特定のハイブリドーマクローンの単離により形成され得る）。抗体はまた、組換え抗体、例えば、組換えＤＮＡ法により生産されるキメラまたは種間抗体であり得る。好ましい内在化抗体は、細胞表面抗原への結合に対する特異性を有するマウス可変領域と一緒にヒト免疫グロブリン定常領域を含むヒト化抗体である（例えば、Ｒｅｉｓｔら、１９９７を参照のこと）。抗体の断片を使用する場合、断片は、細胞表面抗原に特異的に結合することができるべきである。断片は、例えば、免疫グロブリン軽鎖可変領域の少なくとも一部と、免疫グロブリン重鎖可変領域の少なくとも一部とを含み得る。生体分子はまた、細胞表面抗原に特異的に結合する合成ポリペプチドであり得る。例えば、米国特許第５，２６０，２０３号に記載されているように、または当技術分野で別様に公知であるように、生体分子は、免疫グロブリン軽鎖可変領域の少なくとも一部と、免疫グロブリン重鎖可変領域の少なくとも一部とを含む合成ポリペプチドであり得る。

【００９５】

標識ｍＡｂの公知の分子標的の多くは、抗原および受容体を内在化している。Ｂ細胞リンパ腫（Ｐｒｅｓｓら、１９９４；Ｈａｎｓｅｎら、１９９６）、Ｔ細胞白血病（Ｇｅｉｓｓｌｅｒら、１９９１）および神経芽細胞腫細胞（Ｎｏｖａｋ－Ｈｏｆｅｒら、１９９４）はすべて、迅速に内在化される抗原を有する。内在化受容体は、ｍＡｂを腫瘍に標的化するために使用されている。これらとしては、野生型上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ；神経膠腫および扁平上皮細胞癌腫；Ｂｒａｄｙら、１９９２；Ｂａｓｅｌｇａら、１９９４）、ｐ１８５　ｃ－ｅｒｂＢ－２癌遺伝子産物ＨＥＲ２（乳癌腫および卵巣癌腫；Ｄｅ　Ｓａｎｔｅｓら、１９９２；Ｘｕら、１９９７）ならびにトランスフェリン受容体（神経膠腫および他の腫瘍；Ｌａｓｋｅら、１９９７）が挙げられる。実際、細胞表面抗原に結合する事実上あらゆるｍＡｂで内在化が起こり得ることが示唆されている（Ｍａｔｔｅｓら、１９９４；Ｓｈａｒｋｅｙら、１９９７ａ）。

【００９６】

放射免疫療法のｍＡｂ内在化の利点は、放射活性が標的細胞上に長期間捕捉される限り、細胞核に送達される放射線吸収線量を増加させる可能性があることである。放射線線量測定計算は、多細胞範囲β放射体^{131}Ｉであっても、細胞膜から細胞質小胞への崩壊部位のシフトが、細胞核により受容される放射線量を２倍増加させ（Ｄａｇｈｉｇｈｉａｎら、１９９６）、それにより、処置を潜在的に増加させ得ることを示唆している。他方、ｍＡｂ内在化の欠点は、この事象がｍＡｂをさらなる異化プロセスに曝露し、腫瘍細胞からの放射活性の放出、癌細胞への放射線量の減少、体内の正常組織への放射線量の増加をもたらし得ることである。

【００９７】

細胞により内在化される抗原または受容体は、最終的には、エンドソームまたはリソソーム内に局在化され得る。標的化部分または内在化部分は、癌細胞などの標的疾患細胞に結合する部分であり、細胞表面受容体、輸送体、細胞表面上に見られる抗原、例えば膜貫通受容体、細胞外成長因子への結合後に内在化される。このように、本発明の化合物は、疾患細胞または腫瘍細胞の任意の集団を対象とし得る。したがって、それは、任意の癌、腫瘍または悪性成長を標的にするために広く使用され得る。本発明の化合物は、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、その腫瘍特異的突然変異体ＥＧＦＲｖＩＩＩ、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、ＶＥＧＦＡ／Ｂ、ＥＧＦＲ（ＨＥＲ１／ＥＲＢＢ１）、ＨＥＲ２（ＥＲＢＢ２／ｎｅｕ）、ＡＬＫ、Ａｘ１、ＣＤ２０、ＣＤ３０、ＣＤ３８、ＣＤ４７、ＣＤ５２、ＣＤＫ４、ＣＤＫ６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＫＩＴ、ＶＥＧＦＲ１／２／３、ＢＡＦＦ、ＨＤＡＣ、プロテアソーム、ＡＢＬ、ＦＬＴ３、ＫＩＴ、ＭＥＴ、ＲＥＴ、ＩＬ－６、ＩＬ－６Ｒ、ＩＬ－１β、ＥＧＦＲ（ＨＥＲ１／ＥＲＢＢ１）、ＭＥＫ、ＲＯＳ１、ＢＲＡＦ、ＡＢＬ、ＲＡＮＫＬ、Ｂ４ＧＡＬＮＴ１（ＧＤ２）、ＳＬＡＭＦ７、（ＣＳ１／ＣＤ３１９／ＣＲＡＣＣ）、ｍＴＯＲ、ＢＴＫ、Ｐ１３Ｋδ、ＰＤＧＦＲ、ＰＤＧＦＲα、ＰＤＧＦＲβ、ＣＴＬＡ４、ＰＡＲＰ、ＨＤＡＣ、ＦＧＦＲ１－３、ＲＡＦ、ＲＥＴ、ＪＡＫ１／２、ＪＡＫ３、Ｓｍｏｏｔｈｅｎｅｄ、ＭＥＫ、ＢＣＬ２、ＰＴＣＨ、ＰＩＧＦ、ＥＭＰ２、ＣＳＦ－１Ｒ、ＬＹＰＤ３などに標的化され得る。例えば、ワールドワイドウェブ上で「ｍｙｃａｎｃｅｒｇｅｎｏｍｅ」ウェブサイトのｏｖｅｒｖｉｅｗ－ｏｆ－ｔａｒｇｅｔｅｄ－ｔｈｅｒａｐｉｅｓ－ｆｏｒ－ｃａｎｃｅｒセクションに見られるＡｂｒａｍｓｏｎ，Ｒ．（２０１７）Ｏｖｅｒｖｉｅｗ ｆｏｒ Ｔａｒｇｅｔｅｄ Ｔｈｅｒａｐｉｅｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ，Ｍｙ Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｏｍｅを参照のこと。

【００９８】

いくつかの実施形態では、標的化部分は、抗ＨＥＲ２ ＶＨＨ配列、例えば配列番号１～５に示されているもの、ならびに前記配列の結合特異性を保持するその断片および変異体から選択され得る。すなわち、本発明は、放射標識ＶＨＨドメインの断片、類似体、突然変異体、変異体および誘導体を包含する。これらのオリゴクローナルＶＨＨは、ＨＥＲ２受容体上の広範なエピトープを標的化し得る。ＶＨＨのいくつかは、ＨＥＲ２への結合についてトラスツズマブと競合しない。いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるＶＨＨ配列の断片、類似体、突然変異体、変異体および／または誘導体は、配列番号１～５の少なくとも１つと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の配列同一性を有する。表１を参照のこと。

【００９９】

２つのアミノ酸配列間の配列同一性の程度の決定では、当業者は、アミノ酸置換と一般に記載され得る「保存的」アミノ酸置換（これは、アミノ酸残基が類似化学構造の別のアミノ酸残基で置き換えられ、ポリペプチドの機能、活性または他の生物学的特性にほとんどまたは本質的に影響を与えない）を考慮し得る。アミノ酸配列および核酸配列は、それらが全長にわたって１００％の配列同一性を有する場合、全く同じものである。

【０１００】

本明細書で使用される場合、配列が参照配列と「少なくともＸ％同一」であると定義される場合（例えば、「配列番号２と少なくとも９５％同一のポリペプチド」）、特に指示

がない限り、「Ｘ％同一」は、絶対同一性率を指す。「絶対同一性率」という用語は、ミスマッチアミノ酸または核酸の類似性にかかわらず、同一アミノ酸または核酸を１としてスコア化し、任意の置換をゼロとしてスコア化することにより決定される配列同一性の割合を指す。典型的な配列アラインメントでは、２つの配列の「絶対同一性率」は、アミノ酸または核酸「同一性」の割合として提示される。２つの配列の最適なアラインメントが配列の一方または両方におけるギャップの挿入を必要とする場合、他方の配列のギャップとアライメントする一方の配列のアミノ酸残基は、同一性率を決定する目的でミスマッチとしてカウントされる。ギャップは、内部的または外部的（すなわち、切断）であり得る。絶対同一性率は、例えば、デフォルトパラメータを使用したＣｌｕｓｔａｌ Ｗプログラム、１９９９年６月のバージョン１．８（Ｔｈｏｍｐｓｏｎら、（１９９４）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ２２：４６７３－４６８０）を使用して容易に決定され得る。

【０１０１】

示されているように、本発明の放射標識生体分子は、任意の疾患または悪性細胞集団に標的化され得る。いくつかの場合では、小生体分子を使用することが好ましい場合がある。脳転移は、体内の他の器官の原発腫瘍から脳に広がった癌細胞である。転移性腫瘍は、脳における最も一般的な腫瘤病変である。すべての癌患者の推定２４～４５％は、脳転移を有する。一般的に、肺癌、乳癌、黒色腫、結腸癌および腎臓癌は脳に広がる。脳転移は、生存不良および高い罹患率に関連する。転移性脳腫瘍のための治療の改善は、本発明の一態様である。

【０１０２】

乳癌の脳転移の計算孔径は、直径１０ｎｍ未満である。（Ｍｉｔｔａｐａｌｉら、（２０１７）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ７７（２）：２３８－２４６）。したがって、小分子は、転移性脳腫瘍を有効に標的化および処置するために必要である。転移性脳腫瘍の診断および処置において使用するために、本発明の標的生体分子は、限定されないが、アフィボディ、設計アンキリンリピートタンパク質（ＤＡＲＰｉｎｓ）、アプタマーおよびＶＨＨ分子（単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）またはナノボディとしても公知）（これらは、本明細書では小生体分子と総称される）を含む小分子である。他の「小分子」足場は、質量／サイズ、例えば１０ｎｍ未満のサイズまたは２５ｋＤａ未満を特徴とする。示されているように、これらの小生体分子は、癌細胞の一部に結合するように設計される。例えば、ＶＨＨは、癌細胞上の受容体、例えばヒト上皮成長因子受容体－２（ＨＥＲ２）または他の上記受容体のいずれかに特異的に結合するように調製され得る。例えば、米国特許第９，２３４，０２８号；米国特許第９，３０９，５１５号；米国特許第８，５２４，２４４号；米国特許第９，２３４，０６５号；Ｌｉｕら、（２０１２）Ｊ Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．１０：１４８；Ｇｉｊｓら、（２０１６）Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｂａｓｅｌ）９（２）：２９；Ｍｏｏｓａｖｉａｎら、（２０１５）Ｉｒａｎ Ｊ．Ｂａｓｉｃ Ｍｅｄ．Ｓｃｉ．１８（６）：５７６－５８６；Ｍａｈｌｋｎｅｃｈｔら、（２０１２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．１１０：８１７０－８１７５を参照のこと。

【０１０３】

小さなサイズにより、ＶＨＨ、アプタマーおよび他の小生体分子は、固形腫瘍全体に効率的に拡散および分布し、標的抗原に対する高い結合特異性および親和性により、小生体分子の高い腫瘍取り込みが観察され得る。重要なことに、それらの血中半減期は、全長抗体またはより大きな標的タンパク質よりも有意に短く、それにより、腎臓による小生体分子の未結合画分の迅速なクリアランスが可能になり、その投与直後の腫瘍対正常組織比がより高くなる。ＶＨＨは、免疫化ラクダまたはラマからのクローニングおよびファージディスプレイパニングによる選択により、ナノモルからピコモルの親和性で容易に生成される。また、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは安定であり、工業グレードの方法および適格な細菌、酵母または哺乳動物細胞を使用して大量に容易に生産される。他の小さなタンパク質系標的化ベクターと比較して、ＶＨＨは、一般に、安定性、溶解性、発現収率、多量体の構築

、および隠れたまたは非一般的なエピトープを認識する能力の点で大きな利点を提供する。米国特許第６，２４８，５１６号；米国特許第６，３００，０６４号；米国特許第６，８４６，６３４号；米国特許第６，８４６，６３４号；米国特許第６，６９６，２４５号；米国特許第９，２４３，０６５号；米国特許第７，６９６，３２０号（これらはすべて、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【０１０４】

アプタマーは、特定の標的化分子に結合するオリゴヌクレオチドまたはペプチド分子である。アプタマーは核酸分子（ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＸＮＡ）であり得、オリゴヌクレオチド（１つまたはそれを超える短い可変ペプチドドメインからなるペプチド分子）の短い鎖からなり得る。アプタマーは、化学合成により容易に生成される分子認識特性を提供し、望ましい保存特性を有し、治療用途において免疫原性をほとんどまたは全く誘発しない。Ｋｅｅｆｅら、（２０１０）Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ９：５３７－５５０；Ｅｌｌｉｎｇｔｏｎ ａｎｄ Ｓｚｏｓｔａｋ（１９９０）Ｎａｔｕｒｅ ３４６：８１８－８２２；Ｔｕｅｒｋ ａｎｄ Ｇｏｌｄ（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：５０５－５１０；Ｋｕｌｂａｃｈｉｎｓｋｉｙ，Ａ．Ｖ．（２００７）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ７２：１５０５－１５１８（これらはすべて、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【０１０５】

本明細書で使用される場合、被験体内の放射線の「（計算平均）実効線量」は、体のすべての指定組織および器官における等価線量の組織加重和を指す。放射線の種類および照射される各器官または組織の性質を考慮する。それは、国際放射線防護委員会（ＩＣＲＰ）により考案された放射線防護の国際システムにおける放射線防護の線量制限の中心的な量である。実効線量のＳＩ単位は、１ジュール／キログラム（Ｊ／ｋｇ）であるシーベルト（Ｓｖ）である。実効線量は、１９９１年に線量のＩＣＲＰシステムにおける以前の「実効線量当量」に置き替わった。放射性医薬品を使用する手順では、実効線量は、典型的には、注射放射能の単位当たり（すなわち、ｍＳｖ／ＭＢｑ）で表される。このため、個々の患者の実効線量は、ＭＢｑで表される放射性医薬品の注射放射能と、ｍＳｖ／ＭＢｑで表される計算平均実効線量とに依存するであろう。

【０１０６】

放射性医薬品の実効線量は、２００４年にＦＤＡにより承認されたＯＬＩＮＤＡ／ＥＸＭ（登録商標）ソフトウェアを使用して計算される。ＯＬＩＮＤＡ／ＥＸＭ（登録商標）パーソナルコンピューターコードは、放射性医薬品の線量計算および動態モデリングを実行する（ＯＬＩＮＤＡ／ＥＸＭは、Ｏｒｇａｎ Ｌｅｖｅｌ Ｉｎｔｅｒｎａｌ Ｄｏｓｅ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ／Ｅｘｐｏｎｅｎｔｉａｌ Ｍｏｄｅｌｉｎｇを表す）。ＯＬＩＮＤＡ（登録商標）は、全身投与された放射性医薬品から体の異なる器官への放射線量を計算し、ユーザー提供の生体動態データの回帰分析を実行して、核医学薬のこのような計算を支援する。これらの計算は、核医学の診断および治療用途におけるこのような医薬品の使用のリスク／ベネフィット評価を実施するために使用される。前記技術は、内部線量分野で広く受け入れられ使用されている成人、子供、妊婦などのためのいくつかの標準身体モデルを用いる。前記計算は、製薬産業開発者、核医学専門家、教育者、規制当局、研究者、および放射性薬物を患者または研究被験体に与えた場合に送達すべき許容放射線量を研究する他の者に有用である。

【０１０７】

計算実効線量は、選択された標準身体モデルおよび選択された排尿膀胱モデルに依存する。本明細書で提供される値は、女性成人モデルおよび１時間の排尿膀胱間隔を使用して計算されている。

【０１０８】

したがって、特定の実施形態では、癌の予防および／または処置は、本明細書に開示される放射標識小生体分子、すなわちアプタマー、ＶＨＨまたはその機能的断片などを、それを必要とする被験体に投与することにより達成され、小生体分子は、被験体において０

．００１～０．０５ｍＳｖ／ＭＢｑの計算平均実効線量、例えば限定されないが、０．０２～０．０５ｍＳｖ／ＭＢｑ、より好ましくは０．０２～０．０４ｍＳｖ／ＭＢｑ、最も好ましくは０．０３～０．０５ｍＳｖ／ＭＢｑの計算平均実効線量を有することを特徴とする。

【０１０９】

したがって、投与１回当たり患者に適用される放射活性の線量は、有効であるために十分に高くなければならないが、線量制限毒性（ＤＬＴ）をもたらす線量未満でなければならない。例えば^{131}ヨウ素による放射標識抗体を含む医薬組成物では、治療状況における超えてはならない最大耐用量（ＭＴＤ）を決定しなければならない。

【０１１０】

本明細書で想定されるタンパク質およびペプチド（以下、生体分子と総称される）ならびに／またはそれを含む組成物は、予防または処置すべき疾患または障害を予防および／または処置するために適切な処置レジメンにしたがって投与される。一般に、臨床医は、適切な処置レジメンを決定することができるであろう。一般に、処置レジメンは、１つまたはそれを超える薬学的有効量または用量で、１つもしくはそれを超える小生体分子、例えばＶＨＨ配列もしくはポリペプチドまたはそれを含む１つもしくはそれを超える組成物を投与することを含む。

【０１１１】

好都合なことに、所望の用量は、単回用量で、または適切な間隔で投与される分割用量（これもさらに分割され得る）として提示され得る。投与レジメンは、長期（すなわち、少なくとも２週間、例えば数カ月間または数年間）または毎日処置を含み得る。特に、投与レジメンは、１日１回から１年１回、例えば１日１回および１２カ月ごとに１回、例えば限定されないが、週１回で変動し得る。したがって、処置の所望の期間および有効性に応じて、本明細書に開示される医薬小生体分子組成物は、１回または数回、さらには断続的に、例えば異なる投与量で数日間、数週間または数カ月間にわたって毎日投与され得る。本明細書に開示される小生体分子組成物の適用量は、処置すべき癌または他の疾患の性質に依存する。ＤＬＴを回避しながら、癌への実効放射線量送達を達成するために、複数回の投与が好ましい場合がある。しかしながら、放射標識物質は、典型的には、４～２４週間間隔で、好ましくは８～２０週間間隔で投与される。当業者は、投与を２回またはそれを超える適用（これは、互いに直後に適用され得るか、または例えば１日から１週間の範囲のいくつかの他の所定間隔で適用され得る）に分割する方法を把握している。

【０１１２】

特に、本明細書に開示される生体分子は、本明細書で引用される疾患および障害の予防および／または処置に使用されるかまたは使用され得る他の医薬活性化合物または物質と組み合わせて使用され得、その結果として、相乗効果が得られてもよいしまたは得られなくてもよい。このような化合物および物質ならびにそれらを投与するための経路、方法および医薬製剤または組成物の例は、臨床医には明らかであろう。

【０１１３】

本発明の文脈では、「と組み合わせて」、「併用療法で」または「併用処置で」は、このような組み合わせの有益な効果から患者が利益を受け得るレジメンで、本明細書に開示される放射標識生体分子、例えばＶＨＨ、アプタマーなどが１つまたはそれを超える他の医薬活性化合物または物質と一緒に患者に適用されることを意味するものとする。特に、両処置は、時間的に近接して患者に適用される。好ましい実施形態では、両処置は、４週間（２８日）以内に患者に適用される。より好ましくは、両処置は、２週間（１４日）以内、より好ましくは１週間（７日）以内に適用される。好ましい実施形態では、２つの処置は、２または３日以内に適用される。別の好ましい実施形態では、２つの処置は、同日に、すなわち２４時間以内に適用される。別の実施形態では、２つの処置は、４時間以内または２時間以内または１時間以内に適用される。別の実施形態では、２つの処置は、並行して、すなわち同時に適用されるか、または２つの投与は、時間的に重複している。

【０１１４】

特定の非限定的な実施形態では、本発明の放射標識生体分子は、１つまたはそれを超える治療用抗体または治療用抗体断片と一緒に適用される。したがって、これらの特定の非限定的な実施形態では、放射標識生体分子を用いた標的放射線療法は、１つまたはそれを超える治療用抗体または治療用抗体断片を用いた通常の免疫療法と組み合わされる。さらなる特定の実施形態では、放射標識生体分子は、１つまたはそれを超える治療用抗体または治療用抗体断片を用いた併用療法または併用処置方法、例えば限定されないが、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））および／またはペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ（登録商標））を用いた併用処置において使用される。

【０１１５】

例えば、放射標識生体分子と、１つまたはそれを超える治療用抗体または治療用抗体断片、例えば限定されないが、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））および／またはペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ（登録商標））とは同時に注入され得るか、または注入は時間的に重複し得る。２つの薬物が同時に投与される場合、それらは、１つの単一医薬調製物で一緒に製剤化され得るか、またはそれらは、例えば１つの単一輸液に溶解もしくは希釈することにより、投与直前に２つの異なる医薬調製物から一緒に混合され得る。別の実施形態では、２つの薬物は、別々に、すなわち２つの独立した医薬組成物として投与される。好ましい一実施形態では、２つの処置の投与は、患者の体内の腫瘍細胞が有効量の細胞毒性薬および放射線に同時に曝露されるものである。別の好ましい実施形態では、有効量の本発明の放射標識生体分子と、１つまたはそれを超える治療用抗体または治療用抗体断片、例えば限定されないが、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））および／またはペルツズマブ（Ｐｅｒｊｅｔａ（登録商標））とは両方とも、腫瘍部位に同時に存在する。本発明はまた、定義される組み合わせに加えて投与されるさらなる薬剤の使用を包含する。これは、例えば、１つまたはそれを超えるさらなる化学療法剤であり得る。それはまた、与えられた他の薬物のいずれかの望ましくない副作用を予防、抑制または改善するために適用される１つまたはそれを超える薬剤であり得る。例えば、白血球の増殖を刺激するサイトカインは、白血球減少症または好中球減少症の効果を改善するために適用され得る。

【０１１６】

さらなる態様によれば、腫瘍特異的または癌細胞特異的標的分子が関与する少なくとも１つの癌関連疾患および／または障害の予防および／または処置のための医薬を調製するための、目的の腫瘍特異的または癌細胞特異的標的分子に特異的に結合する本明細書で想定される放射標識生体分子の使用が提供される。したがって、本出願は、腫瘍特異的または癌細胞特異的標的が関与する少なくとも１つの癌関連疾患および／または障害の予防および／または処置において使用するための、上記のものなどの腫瘍特異的または癌細胞特異的標的に特異的に結合する生体分子を提供する。特定の実施形態では、少なくとも１つの癌関連疾患および／または障害の予防および／または処置のための方法であって、それを必要とする被験体に、医薬活性量の本明細書で想定される１つまたはそれを超える生体分子（ＶＨＨ配列またはその機能的断片、ポリペプチド、アプタマーなどを含む）および／または医薬組成物を投与することを含む方法が提供される。

【０１１７】

本明細書に記載される放射標識生体分子で処置すべき被験体または患者は任意の温血動物であり得るが、特に、癌関連疾患および／または他の疾患障害を患っているかまたはそのリスクがある哺乳動物、より具体的にはヒトである。本明細書に記載される生体分子（すなわち、ＶＨＨ配列またはその機能的断片、アプタマー、ポリペプチドなど）およびそれを含む組成物の有効性は、関与する特定の疾患または障害に応じて、それ自体が公知の任意の適切なインビトロアッセイ、細胞ベースのアッセイ、インビボアッセイおよび／または動物モデルまたはそれらの任意の組み合わせを使用して試験され得る。適切なアッセイおよび動物モデルは、当業者には明らかであろう。

【０１１８】

関与する腫瘍特異的または癌細胞特異的標的に応じて、当業者は、一般に、腫瘍特異的

または癌細胞特異的分子への結合について；ならびに１つまたはそれを超える癌関連疾患および障害に関する治療効果および／または予防効果について、本明細書に記載される生体分子を試験するための適切なインビトロアッセイ、細胞アッセイまたは動物モデルを選択することができるであろう。

【０１１９】

したがって、医薬として使用するための、より具体的には、固形腫瘍を含む癌に関連する疾患または障害の処置のための方法において使用するための、少なくとも１つの放射標識生体分子またはその機能的断片を含むかまたはそれから本質的になる生体分子が提供される。

【０１２０】

特定の実施形態では、本明細書で想定される放射標識生体分子は、癌および新生物症状を処置および／または予防するために使用される。癌または新生物症状の例としては、限定されないが、線維肉腫、筋肉肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、胃癌、食道癌、直腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌、子宮癌、頭頸部の癌、皮膚癌、脳癌、扁平上皮細胞癌腫、皮脂腺癌腫、乳頭癌腫、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌腫、気管支癌腫、腎細胞癌腫、肝細胞腫、胆管癌腫、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣癌、小細胞肺癌腫、非小細胞肺癌腫、膀胱癌腫、上皮癌腫、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫またはカポジ肉腫が挙げられる。本明細書で想定される生体分子はまた、様々な増殖性障害を処置するために使用され得る。増殖性障害の例としては、造血性新生物性障害ならびに細胞増殖性および／または分化障害、例えば限定されないが、上皮過形成、硬化性腺腫および小管乳頭腫；腫瘍、例えば間質腫瘍、例えば線維腺腫、葉状腫瘍および肉腫ならびに上皮腫瘍、例えば大管乳頭腫；乳房の癌腫、例えば上皮内（非浸潤性）癌腫、例えば非浸潤性乳管癌腫（パジェット病を含む）および非浸潤性小葉癌腫ならびに浸潤性（浸潤）癌腫、例えば限定されないが、浸潤性乳管癌腫、浸潤性小葉癌腫、髄様癌腫、コロイド（粘液）癌腫、尿細管癌腫、浸潤性乳頭癌腫、他の悪性新生物、女性化乳房癌腫、気管支癌腫、例えば腫瘍随伴症候群、細気管支肺胞癌腫、神経内分泌腫瘍、例えば気管支カルチノイド、他の腫瘍および転移性腫瘍；胸膜の病状、例えば炎症性胸水、非炎症性胸水、気胸および胸膜腫瘍、例えば孤立性線維性腫瘍（胸膜線維腫）、悪性中皮腫、非新生物性ポリープ、腺腫、家族性症候群、結腸直腸発癌、結腸直腸癌腫、カルチノイド腫瘍、結節性過形成、腺腫および悪性腫瘍、例えば肝臓の原発癌腫および転移性腫瘍、体腔上皮の腫瘍、漿液性腫瘍、粘液性腫瘍、類内膜腫瘍、明細胞腺癌、嚢胞腺線維腫、ブレナー腫瘍、表面上皮腫瘍；胚細胞腫瘍、例えば成熟（良性）奇形腫、単皮奇形腫、未成熟悪性奇形腫、胚芽腫、内胚葉洞腫瘍、絨毛癌；性索間質腫瘍、例えば顆粒膜鞘細胞腫瘍、卵胞膜細胞腫線維腫、男性ホルモン産生細胞腫、ヒル細胞腫瘍および性腺芽腫；ならびに転移性腫瘍、例えばクルケンベルグ腫瘍が挙げられる。

【０１２１】

特許請求されている補欠分子化合物で標識した生体分子の投与後の放射活性のイメージングは、例えば、ガンマカメラ（放射線シンチグラフィー）、単一光子放射コンピューター断層撮影法（ＳＰＥＣＴ）およびポジトロン放射断層撮影法（ＰＥＴ）を用いた体のスキャンを含む標準的な放射線学的方法により実施され得る（例えば、Ｂｒａｄｗｅｌｌら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ　６：１６３－１７０，１９８５を参照のこと）。インビボ使用の場合、生体分子にカップリングされた標識補欠分子化合物は、診断的または治療的に許容される量で与えられるべきである。治療的に許容される量は、１つまたはそれを超える投与量で投与された場合に、臨床処置に許容される毒性レベルで、所望の治療効果、例えば腫瘍の収縮を生じさせる量である。このような投与量は、腫瘍細胞内における十分な放射線の吸収を引き起こして、例えばＤＮＡを破壊することにより、これらの細胞を損傷するであろう。このような投与量は、好ましくは、隣接および遠位の健常細胞

への最小限の損傷を引き起こすはずである。

【０１２２】

特定の組成物の用量および組成物の投与手段は両方とも、組成物の特定の質、患者の症状、年齢および体重、処置されている特定の疾患の進行、ならびに他の関連因子に基づいて決定され得る。組成物が抗体を含有する場合、組成物の有効投与量は、約５μｇ～約５０μｇ／患者体重ｋｇ、約５０μｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約１００μｇ～約５００μｇ／患者体重ｋｇおよび約２００～約２５０μｇ／ｋｇの範囲内である。放射活性の診断的に許容される量は、診断に許容される毒性レベルで、診断に必要な標識生体分子からの放射活性の検出を可能にする量である。

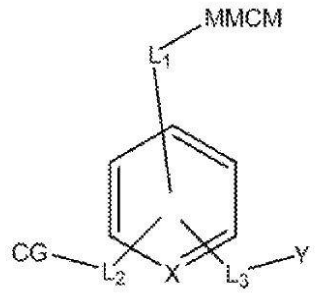
【０１２３】

様々な実施形態が本明細書で以下に提供される。

【０１２４】

実施形態１：式Ｉにより表される化合物（補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体を含む）：

【化１０】



式 1

（式中、

Ｘは、ＣＨまたはＮであり；

$Ｌ_1$および$Ｌ_3$は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から独立して選択され；

ＭＭＣＭは、高分子コンジュゲート部分であり；

$Ｌ_2$は、置換もしくは非置換アルキル鎖、置換もしくは非置換アルケニル鎖、置換もしくは非置換アルキニル鎖、または少なくとも３個の酸素原子を含むポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖であり、ここで、$Ｌ_2$は、刷子縁酵素切断可能ペプチドを必要に応じて含有し；

ＣＧは、グアニジン；$ＰＯ_3Ｈ$；$ＳＯ_3Ｈ$；１つまたはそれを超える荷電Ｄ－アミノ酸、アルギニンまたはホスホノ／スルホフェニルアラニン、グルタメート、アスパルタート、リジン；親水性炭水化物部分；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖；およびグアニジノ－Ｚから選択され；

Ｚは、$（ＣＨ_2）_n$であり；

ｎは、１超であり；ならびに

Ｙはアルキル金属放射性ハロゲン前駆体であるか、または$^{18}Ｆ$、$^{75}Ｂｒ$、$^{76}Ｂｒ$、$^{77}Ｂｒ$、$^{123}Ｉ$、$^{124}Ｉ$、$^{125}Ｉ$、$^{131}Ｉ$および$^{211}Ａｔ$からなる群より選択される放射性ハロゲンである）またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。

【０１２５】

実施形態２：Ｙが、トリメチルスタンニル（$ＳｎＭｅ_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$ＳｎＢｕ_3$）およびトリメチルシリル（$ＳｉＭｅ_3$）からなる群より選択されるアルキル金属放射性ハロゲン前駆体である、実施形態１に記載の化合物。

【０１２６】

実施形態３：Ｙが、$^{75}Ｂｒ$、$^{76}Ｂｒ$、$^{77}Ｂｒ$、$^{123}Ｉ$、$^{124}Ｉ$、$^{125}Ｉ$、

^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔからなる群より選択される放射性ハロゲンである、実施形態１に記載の化合物。

【０１２７】

実施形態４：ＭＭＣＭが、活性エステルまたは（Ｇｌｙ）$_m$（ｍは１であるかまたはそれを超える）である、実施形態１～３のいずれかに記載の化合物。

【０１２８】

実施形態５：ＭＭＣＭが、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）、テトラフルオロフェノール（ＴＦＰ）エステル、イソチオシアネート基またはマレイミド基からなる群より選択される、実施形態１～３のいずれか一項に記載の化合物。

【０１２９】

実施形態６：ＭＭＣＭがＧｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙである、実施形態１～３のいずれか一項に記載の化合物。

【０１３０】

実施形態７：Ｌ$_2$が（ＣＨ$_2$）$_p$（ｐ＝１～６）である、実施形態１～６のいずれか一項に記載の化合物。

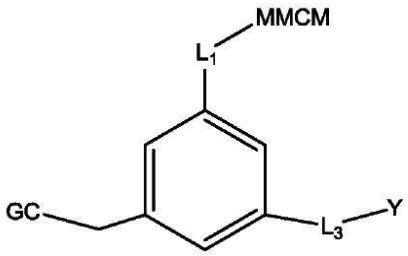
【０１３１】

実施形態８：上記必要に応じた刷子縁酵素切断可能ペプチドが、Ｇｌｙ－Ｌｙｓ、Ｇｌｙ－ＴｙｒおよびＧｌｙ－Ｐｈｅ－Ｌｙｓからなる群より選択される、実施形態１～７のいずれか一項に記載の化合物。

【０１３２】

実施形態９：以下の構造：

【化１１】



により表される、実施形態１～８のいずれかに記載の化合物。

【０１３３】

実施形態１０：Ｎ－スクシンイミジル３－グアニジノメチル－５－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエートまたはＮ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタト－５－グアニジノメチルベンゾエートである、実施形態９に記載の化合物。

【０１３４】

実施形態１１：生体分子に付着した実施形態１～１０のいずれか一項に記載の化合物を含む、放射標識生体分子または中間体。

【０１３５】

実施形態１２：上記生体分子が、抗体、抗体断片、ＶＨＨ分子、アプタマーまたはそれらの変形物からなる群より選択される、実施形態１１に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１３６】

実施形態１３：前記標識生体分子がＶＨＨである、実施形態１１または１２に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１３７】

実施形態１４：前記ＶＨＨがＨＥＲ２を標的にする、実施形態１３に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１３８】

実施形態１５：前記ＶＨＨが、配列番号１～５に記載されている配列から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態１４に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１３９】
実施形態１６：薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤または担体と併せて、実施形態１１～１５のいずれかに記載の（上記化合物が補欠分子化合物の形態である）放射標識生体分子を含む、医薬組成物。
【０１４０】
実施形態１７：式２により表される化合物（補欠分子化合物または放射性ハロゲン前駆体を含む）：
【化１２】
MC-Cm-L_4-Cm-T

式 2,

（式中、
ＭＣは、多座金属キレート部分であり；
Ｃｍは、チオ尿素、アミドまたはチオエーテルであり；
L_4は、結合、置換または非置換アルキル鎖、置換または非置換アルケニル鎖、一方または両方の末端にＮＨ、ＣＯまたはＳを必要に応じて有する置換または非置換アルキニル鎖およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）鎖から選択され；ならびに
Ｔは、実施形態１～１０のいずれかに記載の化合物である）またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物。
【０１４１】
実施形態１８：ＭＣが大環状構造である、実施形態１７に記載の化合物。
【０１４２】
実施形態１９：ＭＣが、ＤＯＴＡ、ＴＥＴＡ、ＮＯＴＰおよびＮＯＴＡから選択される、実施形態１７に記載の化合物。
【０１４３】
実施形態２０：ＭＣが非環式多座配位子である、実施形態１７に記載の化合物。
【０１４４】
実施形態２１：ＭＣが、ＥＤＴＡ、ＥＤＴＭＰおよびＤＴＰＡから選択される、実施形態１７に記載の化合物。
【０１４５】
実施形態２２：上記ＭＣに結合した金属をさらに含む、実施形態１７～２１のいずれか一項に記載の化合物。
【０１４６】
実施形態２３：上記金属が、^{177}Ｌｕ、^{64}Ｃｕ、^{111}Ｉｎ、^{90}Ｙ、^{225}Ａｃ、^{213}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{212}Ｂｉ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{89}Ｚｒおよび^{227}Ｔｈからなる群より選択される、実施形態２１に記載の化合物。
【０１４７】
実施形態２４：Ｙがアルキル金属部分である（および上記化合物が放射性ハロゲン前駆体である）、実施形態１７～２３のいずれか一項に記載の化合物。
【０１４８】
実施形態２５：上記アルキル金属部分が、トリメチルスタンニル（$SnMe_3$）、トリ－ｎ－ブチルスタンニル（$SnBu_3$）およびトリメチルシリル（$SiMe_3$）からなる群より選択されるアルキル金属部分である、実施形態２４に記載の化合物。
【０１４９】
実施形態２６：Ｙが、放射性ハロゲン、例えば^{75}Ｂｒ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉまたは^{211}Ａｔである（および上記化合物が補欠分子化合物である）、実施形態１７～２３のいずれか一項に記載の化合物。
【０１５０】
実施形態２７：生体分子に付着した実施形態１７～２６のいずれか一項に記載の化合物を含む、放射標識生体分子または中間体。
【０１５１】

実施形態２８：上記生体分子が、抗体、抗体断片、ＶＨＨ分子およびアプタマーからなる群より選択される、実施形態２７に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１５２】

実施形態２９：前記標識生体分子がＶＨＨである、実施形態２７に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１５３】

実施形態３０：前記ＶＨＨがＨＥＲ２を標的にする、実施形態２９に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１５４】

実施形態３１：前記ＶＨＨが、配列番号１～５に記載されている配列から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態３０に記載の放射標識生体分子または中間体。

【０１５５】

実施形態３２：薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤または担体と併せて、実施形態２７～３１のいずれかに記載の（上記化合物が補欠分子化合物である）放射標識生体分子を含む、医薬組成物。

【０１５６】

実施形態３３：癌を処置するための方法であって、それを必要とする個体に、有効量の実施形態１１～１５もしくは２７～３１のいずれか一項に記載の放射標識生体分子または有効量の実施形態１６もしくは３２に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

【０１５７】

本開示は、上記実施形態の２つ、３つ、４つまたはそれよりも多くの任意の組み合わせを含むだけではなく、本開示に記載されるいずれか２つ、３つ、４つまたはそれを超える特徴または要素が本明細書の特定の実施形態で明示的に組み合わされているかにかかわらず、このような特徴または要素の組み合わせも含む。

【０１５８】

以下の実施例は、限定ではなく例示として提供される。

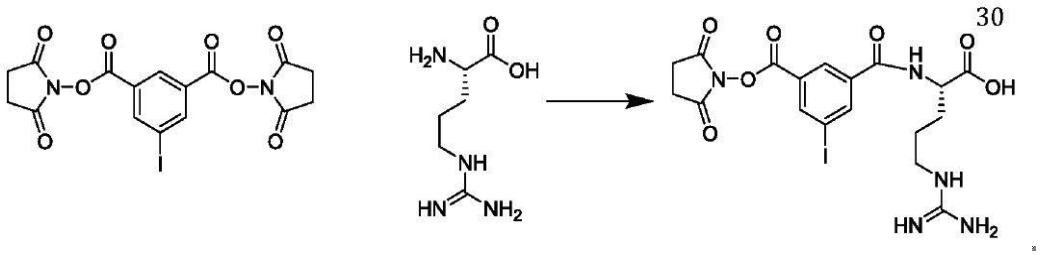
【実施例】

【０１５９】

実験

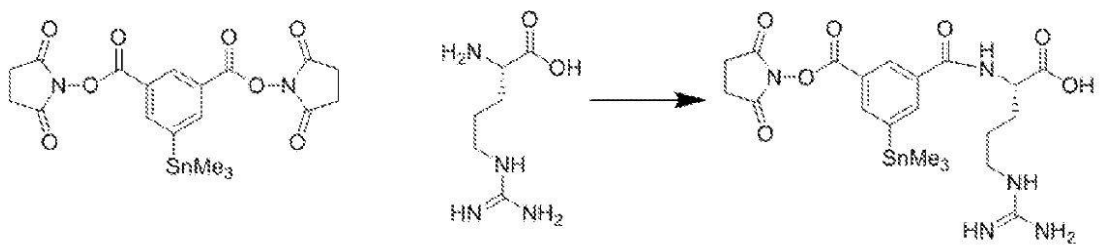
実施例１：ＳＩＢ－Ａｒｇ

【化１３】



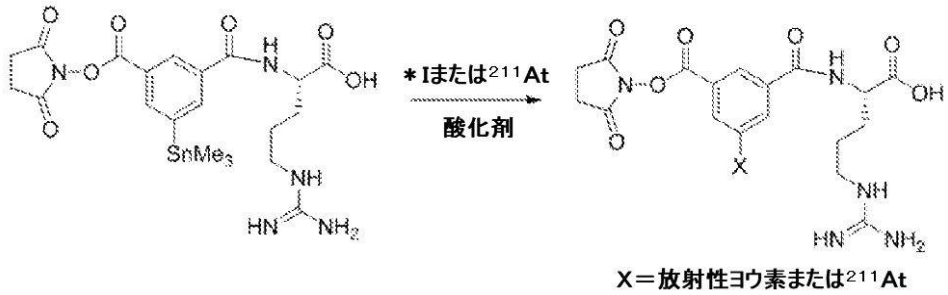
スキーム１：ＳＩＢ－Ａｒｇ標準の合成アプローチ

【化１４】



スキーム２：ＳＩＢ－Ａｒｇのスズ前駆体の合成アプローチ

【化１５】



X＝放射性ヨウ素または211At

スキーム３：放射性ハロゲン化ＳＩＢ－Ａｒｇの合成アプローチ

【０１６０】

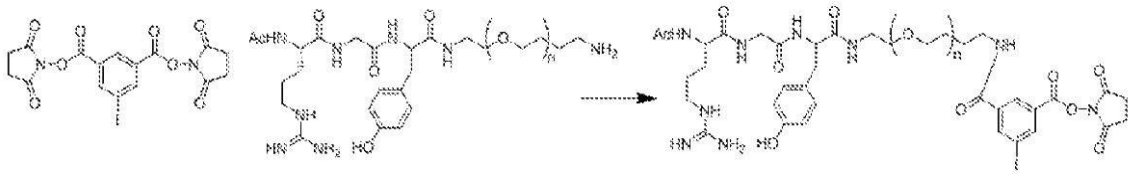
Ｄ－アルギニンを含む０．１Ｍ炭酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．５）の溶液（１７４．２ｍｇ；３．５ｍｌ中１ｍｍｏｌ）を、ビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－ヨードイソフタレート（４８６．２ｍｇ；１ｍｍｏｌ）を含むテトラヒドロフラン（ＴＨＦ；５．０ｍｌ）の溶液に徐々に添加する。混合物を室温で撹拌し、反応の進行を薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）により追跡する。溶媒を蒸発させた後、粗物質を逆相セミ分取高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）に供する。同じ手順にしたがって、１ｍｍｏｌ（５２４ｍｇ）のビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－（トリメチルスタンニル）イソフタレートを１ｍｍｏｌのＤ－アルギニンとコンジュゲートする。標準条件を使用してスズ前駆体を放射性ハロゲン化し、精製し、次いで、高分子にコンジュゲートする。

実施例２：Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－ＳＩＢ

【０１６１】

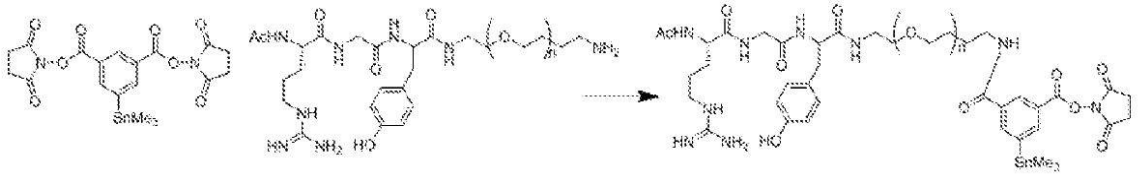
グアニジンを有するアミノ酸アルギニン、刷子縁酵素切断可能リンカージペプチドＧｌｙＴｙｒを含有する分子であって、ＰＥＧリンカーを介してＳＩＢ部分に接続された分子（Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－ＳＩＢ）は、スキーム４～６に示されている。標準的なヨード脱スタンニル化反応を使用して、この分子の放射標識バージョン、例えばＡｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－［１３１Ｉ］ＳＩＢを対応するスズ前駆体から得る。

【化１６】



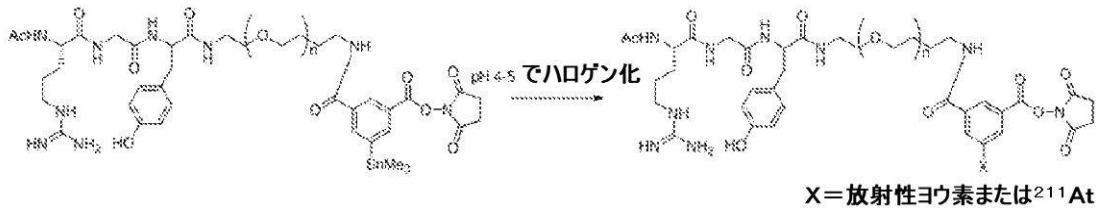
スキーム４：Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－ＳＩＢ標準の合成

【化１７】



スキーム５：Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－ＳＩＢのスズ前駆体の合成

【化１８】



スキーム６：放射性ハロゲン化Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｔｙｒ－ＰＥＧ－ＳＩＢの合成

【０１６２】

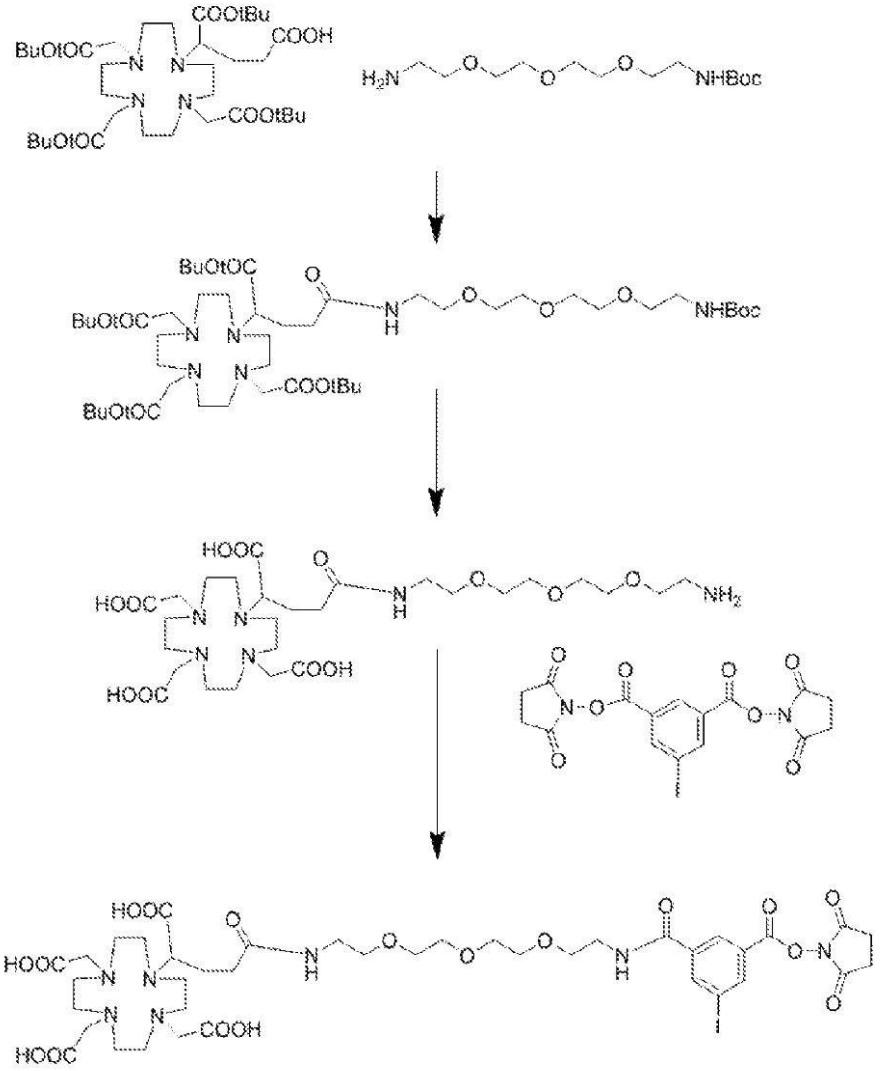
固相ペプチド合成によりＮ－アセチルアルギニニル－グリシル－チロシンを合成し、ＰＥＧジアミンにカップリングする（ｎ＝２～４）。あるいは、ＰＥＧジアミンを塩化トリチル樹脂にアンカリングし、３つのアミノ酸を連続的に付着させ得る。得られたペプチド誘導体（１ｍｍｏｌ）を、ビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－ヨードイソフタレート（４８６．２ｍｇ；１ｍｍｏｌ）を含むＴＨＦと０．１Ｍ炭酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．５）との混合物と反応させる。反応の進行を逆相ＨＰＬＣにより追跡し、完了したら、逆相セミ分取ＨＰＬＣにより生成物を単離する。ビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－ヨードイソフタレートをビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－（トリメチルスタンニル）イソフタレートに置き換えることにより、同様の方法でスズ前駆体を合成する。スズ前駆体を放射性ハロゲン化し、標準条件を使用して高分子とのコンジュゲーションのために精製する。

実施例３：ＤＯＴＡ－ＰＥＧ－ＳＩＢ

【０１６３】

ＤＯＴＡ－ＰＥＧ－ＳＩＢの合成スキームは、スキーム７に示されている。同じアプローチを使用して、スズ前駆体を合成し得る。標準条件を使用して、放射性ヨウ素でスズ前駆体を標識し得る；ヨード誘導体およびスズ誘導体の両方に存在するＤＯＴＡ部分を非放射性ルテチウムと錯体化させ得る。ＳＩＢ－ＤＯＴＡ（Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎら、（２０１２）Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２０（２４）：６９２９－６９３９）とは異なり、ＤＯＴＡ大環状分子の４個のＣＯＯＨ基はすべて、金属イオンとの錯体化に利用可能であり、ＰＥＧリンカーが疎水性６炭素アルキル鎖に取って代わる。また、重要なことに、リンカーは、刷子縁切断可能アミノ酸配列を含み得る。

【化１９】



スキーム７：ＤＯＴＡ－ＰＥＧ－ＳＩＢの合成

【０１６４】

５－（ｔｅｒｔ－ブトキシ）－５－オキソ－４－（４，７，１０－トリス（２－（ｔｅｒｔ－ブトキシ）－２－オキソエチル）－１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１－イル）ペンタン酸（ＤＯＴＡＧＡテトラ－ｔ－Ｂｕエステル；３０ｍｇ、４３μｍｏｌ）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（１３．８ｍｇ、１２０μｍｏｌ）、Ｎ－Ｂｏｃ－２－｛２－［２－（２－アミノ－エトキシ）－エトキシ］－エトキシ｝－エチルアミン（３５ｍｇ、１２０μｍｏｌ）およびＥＤＣ（１８．６ｍｇ、１２０μｍｏｌ）を含むＤＭＦ（０．５ｍＬ）の混合物を２０℃で一晩撹拌する。次いで、それをセミ分取逆相ＨＰＬＣにより精製して、トリ－ｔｅｒｔ－ブチル２，２’，２’’－（１０－（２，２，２４，２４－テトラメチル－４，１８，２２－トリオキソ－３，８，１１，１４，２３－ペンタオキサ－５，１７－ジアザペンタコサン－２１－イル）－１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７－トリイル）トリアセテートを油状物（１６ｍｇ、１６μｍｏｌ、収率３９％）として得る。ＬＲＭＳ　（ＬＣＭＳ－ＥＳＩ）　ｍ／ｚ：　９７５．７　（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．トリフルオロ酢酸（３００μｌ）を上記生成物（１６ｍｇ、１６μｍｏｌ）に添加し、得られた溶液を２０℃で一晩撹拌する。ＴＦＡを蒸発させて、２，２’，２’’－（１０－（１－アミノ－１６－カルボキシ－１３－オキソ－３，６，９－トリオキサ－１２－アザヘキサデカン－１６－イル）－１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７－トリイル）三酢酸を油状物（１０ｍｇ、１５．４μｍｏｌ、収率９６％）として得る。ＬＲＭＳ　（ＬＣＭＳ－ＥＳＩ）　ｍ／ｚ：　６５１．３

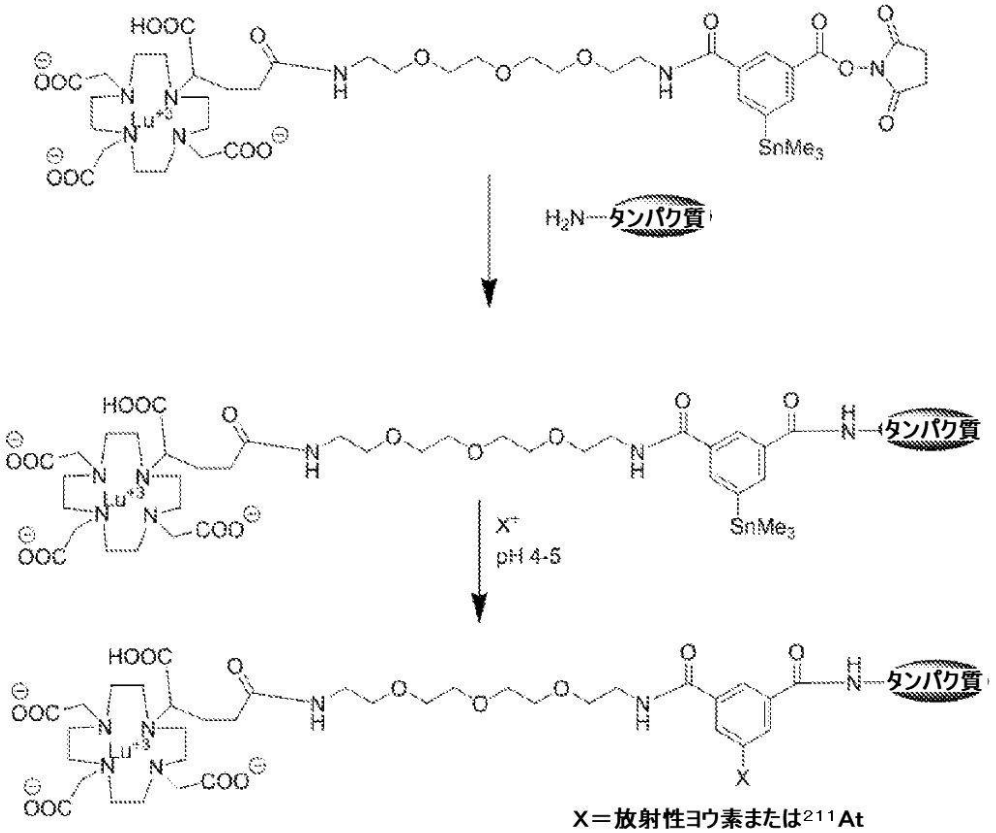
（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$．１当量の各試薬および１当量のＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンを含むＤＭＦを反応させることにより、上記生成物をビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－ヨードイソフタレートにカップリングする。生成物を逆相ＨＰＬＣにより精製し、^{177}Ｌｕなどの放射性金属によるその後の標識のために高分子とコンジュゲートする。

実施例４：プレコンジュゲーション－概念

【０１６５】

前述の実施例は、最初に（スズまたは他のアルキル金属前駆体から）放射性ハロゲン化分子を合成し、次いで放射標識分子を高分子にカップリングすることからなるアプローチを示す。代替アプローチは、最初に放射性ハロゲンの前駆体を高分子と反応させ、次いでこのタンパク質－前駆体コンジュゲートを放射標識することである。この第２のアプローチはプレコンジュゲーションと称され、合成時間の減少（放射活性に重要）および全体収率の増加を含むいくつかの潜在的利点を有する。放射性ハロゲン標識ではなく放射性金属標識の一般的なアプローチであるプレコンジュゲーション代替法では、それらの化学的性質の違いにより、最初に、スズ含有前駆体分子を高分子にコンジュゲートする。次いで、このような誘導体化高分子を放射性ハロゲン化し得るが、好ましくは、この手順を６．５未満のｐＨで実施する。このアプローチは、スキーム７（非放射性ルテチウムとの錯体化）に示されている薬剤を使用して、スキーム８に示されている。

【化２０】



X＝放射性ヨウ素または^{211}At

スキーム８：タンパク質とＬｕ－ＤＯＴＡ－ＰＥＧ－ＳＩＢスズ前駆体とのプレコンジュゲーション、および得られたコンジュゲートの放射性ハロゲン化

【０１６６】

あるいは、^{177}Ｌｕなどの放射性金属による標識のために、非錯体化ＤＯＴＡ部分を有するヨード誘導体を使用し得る。例えば、^{177}Ｌｕ、^{177}ＬｕＣｌ$_3$（２Ｃｉ／ｍｌの場合、１０μｌの０．０５Ｍ　ＨＣｌを０．１５Ｍ酢酸アンモニウム緩衝液で希釈し、１００～１０００μｇのＤＯＴＡ－ＰＥＧ－ＳＩＢと反応させ、反応が完了したら、標準的なサイズ排除クロマトグラフィー法により精製する。

【０１６７】

さらに、非錯体化ＤＯＴＡ部分を有するスズ誘導体を高分子とコンジュゲートし、次いで、放射性金属および放射性ハロゲンの両方で標識し得る。

実施例５：プレコンジュゲーション－実験的アプローチ

【０１６８】

ヨード誘導体について上記に記載されているのと同じ手順にしたがって、ＤＯＴＡＧＡ誘導体２，２’，２’’－（１０－（１－アミノ－１６－カルボキシ－１３－オキソ－３，６，９－トリオキサ－１２－アザヘキサデカン－１６－イル）－１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７－トリイル）三酢酸をビス（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）５－（トリメチルスタンニル）イソフタレートにカップリングする。次いで、それを非放射性ルテチウムと錯体化する。このために、５０μｍｏｌのスズ誘導体を、５当量のＬｕＣｌ$_3$を含む１０ｍｌの０．４Ｍ酢酸緩衝液（ｐＨ５．２）で処理する。反応の進行を逆相ＨＰＬＣにより追跡し、ルテチウム錯体をセミ分取逆相ＨＰＬＣにより精製する。次いで、複合体を高分子にコンジュゲートする。このために、高分子を含む０．２Ｍ炭酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．５）の溶液（１０ｎｍｏｌ／ｍｌ）を、補欠分子剤を含むＤＭＳＯの溶液（２５ｍＭ；５μｌ、１２５ｎｍｏｌ）に添加し、混合物を２０℃で１時間インキュベートする。得られた高分子－補欠分子団コンジュゲートを単離し、同時に、適切な分子量カットオフ（例えば、ＶＨＨの場合には１０ｋＤａ）を有するＶｉｖａＳｐｉｎ限外濾過ユニット（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）で濾過することにより、緩衝液を０．２Ｍアセテート（ｐＨ５．５）に交換する。次いで、改変高分子をｐＨ５で放射性ハロゲン化する。

実施例６：放射性ヨウ素化の前の担体ヨウ素による高分子のプレヨウ素化

【０１６９】

（アルキル金属補欠分子剤をプレコンジュゲートし、続いて、放射性ハロゲン化を実施する）上記戦略では、特に放射性ヨウ素化の欠点の１つは、目的の放射標識部位（すなわち、アルキル金属基を有する部分）に加えて、高分子中に存在する構成チロシン残基も放射性ヨウ素化され得ることである。放射性ヨウ素をチロシン上に置くことの問題は、内因性脱ヨウ素酵素の作用により、放射活性が体内で一旦放出され、癌細胞の高分子に局在化しないことである。より低いｐＨ（４～５）で放射性ヨウ素化を行うことによりこれを最小にし得るが、それを完全に回避し得ない。この潜在的問題を回避する１つのアプローチは、最初に、非放射性ヨウ素をこれらのチロシン残基に導入してから、高分子を放射性ヨウ素化に供することである。これらの同じ内因性脱ヨウ素酵素により媒介されると、構成チロシン残基上の非放射性ヨウ素が除去され、それにより、元のチロシン構造が復元され、想定標的に対する高分子の親和性が維持される可能性が高い。クロラミン－Ｔなどの酸化剤の存在下で過剰なヨウ化ナトリウムでタンパク質を処理することにより、タンパク質の非放射性ヨウ素化を簡単に達成し得る。

【０１７０】

このアプローチの例として、ＶＨＨタンパク質を含む０．５Ｍリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．４）を、各１５当量のヨウ化ナトリウムおよびクロラミン－Ｔと室温で５～１０分間反応させる。重亜硫酸ナトリウム（２モル当量のクロラミン－Ｔ）の添加により、反応を停止する。ゲル濾過または限外濾過により、ヨウ素化タンパク質を精製する。

実施例７：

【０１７１】

ＣＮＳ疾患の標的放射線療法。中枢神経系（ＣＮＳ）の癌を処置するための魅力的な戦略は、本発明の小生体分子などのベクターを使用して、放射性核種を悪性細胞集団に選択的に送達する標的放射線療法である。標的放射線療法の利点は、目的の臨床適用の制約にベストマッチする特性を有する放射性核種を選択し得ることであり、これは、ＣＮＳ腫瘍の場合、正常ＣＮＳ組織の照射を最小にする組織範囲の放射線を選択することを意味する。例えば、新生物性髄膜炎（ＮＭ）は、ＣＳＦ中では浮遊性癌細胞として現れ、区画壁上ではシート状沈着物として現れる。放射線線量測定計算は、脊髄への線量を最小にしながら腫瘍細胞への放射線量沈着を最大化にすることによるＮＭの処置にとって、短距離放射

線を放出する放射性核種が最適であることを示している。

【０１７２】

ＶＨＨ分子。単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）またはナノボディとしても公知のＶＨＨ分子はＣａｍｅｌｉｄａｅに由来し、インタクトなｍＡｂよりも１桁小さな分子量（約１５ｋＤａ）を有する天然抗体の最小抗原結合断片である。人工アフィボディ足場とは異なり、ＶＨＨは、免疫化ラクダまたはラマからのクローニングおよびファージディスプレイパニングによる選択により、ナノモルからピコモルの親和性で容易に生成される。他の小さなタンパク質系標的化ベクターと比較して、ＶＨＨは、一般に、熱的および化学的安定性、低い免疫原性、溶解性、発現収率、多量体の構築、および隠れたまたは非一般的なエピトープを認識する能力の点で大きな利点を提供する。現在のところ、単量体フォーマットおよび多量体フォーマットの両方のＶＨＨは、炎症を含む多くの疾患の治療薬として臨床評価を受けている。抗ＨＥＲ２　ＶＨＨのパネルを、^{99m}Ｔｃ、^{68}Ｇａ、^{18}Ｆ、^{131}Ｉおよび^{177}Ｌｕを含む様々な放射性核種で標識した。これらの放射標識ＶＨＨは、３～６％ＩＤ／ｇの範囲内のピーク腫瘍取り込みと、腎臓を除くすべての正常組織からの迅速なクリアランスとを示した。本発明は、有意に高い腫瘍取り込み、腎臓を含む正常組織における低い蓄積、改善された放射標識効率を示し、ＨＥＲ２およびＨＥＲ１などの内在化受容体の標的化において使用するためのより強力な放射標識生体分子を提供する。

【０１７３】

アルファ粒子放射体：ＣＮＳ腫瘍標的放射線療法の理論的根拠。現在のＣＮＳ腫瘍処置において使用される外部ビーム放射線のように、^{131}Ｉなどのベータ放射体は、低エネルギー付与の放射線である。他方、α粒子は高線エネルギー付与（ＬＥＴ）放射線であり、その結果、癌細胞を殺傷する能力は、低酸素、線量率効果または細胞周期位置により損なわれず、ＣＮＳ腫瘍の標的放射線療法に対する魅力が高まる。低ＬＥＴ放射線の場合とは異なり、細胞は、アポトーシス機構により腫瘍細胞を殺傷することが示されているα粒子により誘発されるＤＮＡ二本鎖切断を修復する限定的な能力を有するにすぎないので、耐性機構はα粒子の有効性を制限しない。組織内のα粒子の範囲は、ほんの数個の細胞直径に相当するわずか５０～８０μｍであり、腫瘍隣接正常ＣＮＳ組織の照射を最小にしながらＣＳＦ中の自由浮遊腫瘍細胞、脊髄上の薄い板状の腫瘍および頭蓋内転移を破壊するために理想的に適するはずである。したがって、ベータ放射体およびアルファ放射体は両方とも、本発明により包含される。

実施例８：ＨＥＲ－２発現癌の標的放射線療法のための補欠分子剤としての放射標識ｉｓｏ－ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－ＳＧＭＩＢ

１．イントロダクション

【０１７４】

乳房、非小細胞肺、胃、結腸および卵巣を含む複数の種類の癌を有する患者の一部では、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）が過剰発現される。乳癌の最大２０～３０％がＨＥＲ２を過剰発現し、ＨＥＲ２は、中枢神経系（ＣＮＳ）へのより大きな転移傾向を含むより侵襲的表現型を付与することが示されている。また、抗ＨＥＲ２モノクローナル抗体（ｍＡｂ）トラスツズマブで処置された患者では、脳転移および軟髄膜癌腫症のより高い発生率が報告されている。多くの場合、トラスツズマブは、多くの患者において全身性疾患を制御することにより、生存を延長する；しかしながら、この大きなタンパク質の血液脳関門不透過性に起因する不十分な送達により、これは、トラスツズマブが有効ではないＣＮＳ病変の機会を増加させる。

【０１７５】

ＨＥＲ２陽性ＣＮＳ疾患を有する患者は、厳しい予後を有する；したがって、神経機能の障害（これは、従来の放射線療法を含む非特異的処置の不幸な副作用であり得る）を伴わないより有効であり得る処置に対する喫緊の必要性がある。癌処置の特異性を増加させるための魅力的なアプローチは、ｍＡｂまたは他のベクターを使用して、細胞傷害性放射性核種を癌細胞に選択的に送達する標的放射線療法である。ＣＮＳ内の疾患の状況では、

α粒子（ごくわずかな細胞直径（５０～８０μｍ）の組織範囲の放射線）は、正常組織のクロスファイア照射を最小にし得るので有利であり得る。また、α粒子は、高い相対的生物学的有効性を有し、その破壊を達成するために必要な細胞当たりの横断がごくわずかである。

【０１７６】

ＨＥＲ２陽性癌の処置のためのα粒子の治療可能性の初期調査として、７．２時間の半減期のα放射体^{211}Ａｔでトラスツズマブを標識し、３つのＨＥＲ２発現ヒト乳癌腫株に対するその細胞毒性をインビトロで評価した。^{211}Ａｔ標識トラスツズマブの相対的生物学的有効性は、従来の外部ビーム療法よりも約１０倍高く、生存の有意な減少が達成され、結合した細胞当たりの^{211}Ａｔ原子はごくわずかであった。ＨＥＲ２陽性乳癌性髄膜炎モデルにおいてその後の研究を実施して、^{211}Ａｔ標識トラスツズマブの単回髄腔内注射の治療有効性を評価した。いくつかの長期生存体では、生存期間中央値の有意な延長が観察された；しかしながら、髄腔内区画への直接注射であっても、いくつかの動物では、神経軸領域が処置を免れたことが組織病理学的分析により明らかになった。インタクトなｍＡｂは、それらの大きなサイズが均一な送達を妨げ、静脈内適用の場合には遅い正常組織クリアランスをもたらすので、^{211}Ａｔなどの短命なα放射体と組み合わせて使用するために理想的ではない。

【０１７７】

これらの制限を克服するために、組換え断片、例えばダイアボディおよびミニボディならびにより小さな足場、例えばアフィボディを含む様々なより小さなＨＥＲ２標的タンパク質が開発されている。Ｃａｍｅｌｉｄａｅ重鎖のみ抗体に由来し、単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）である重鎖のみ抗体の可変ドメイン（ＶＨＨ）またはナノボディとして公知の別の魅力的な標的放射線療法プラットフォームは、１２～１５ｋＤａの分子量を有する。これらのＶＨＨは、ｎＭからｐＭの親和性、高い熱的および化学的安定性、ならびに低い免疫原性で比較的安価に生成され得る。また、それらの小さなサイズにより、それらは、血液および正常組織から迅速に除去され、腫瘍に効率的に浸透するが、これは、^{211}Ａｔのような短命なα放射体と共に使用するために特に有利な特性である。最後に、動物モデルおよび最近の臨床イメージング試験では、高いＨＥＲ２親和性を有するいくつかのＶＨＨが生成され、ＨＥＲ２陽性癌を標的にすると報告されている。

【０１７８】

^{211}Ａｔで５Ｆ７　ＶＨＨを標識するための試薬Ｎ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタ－４－グアニジノメチルベンゾエート（［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ）および新規残留剤Ｎ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタ－５－グアニジノメチルベンゾエート（ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ）の潜在的有用性を評価した。並行して、ベータ粒子放射体^{131}Ｉで標識した類似試薬（Ｎ－スクシンイミジル４－グアニジノメチル－３－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエート（［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ）およびＮ－スクシンイミジル３－グアニジノメチル－５－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾエート（ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ））の潜在的有用性を評価した。ＨＥＲ２発現乳癌腫細胞および異種移植片において、４つの残留剤の腫瘍標的化特性を評価した。

２．材料および方法

２．１．概要

【０１７９】

注記される場合を除いて、すべての試薬はＳｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入した。０．１Ｎ　ＮａＯＨ中ナトリウム［^{131}Ｉ］ヨージド（４４．４ＴＢｑ／ｍｍｏｌ）は、Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ　Ｌｉｆｅ　ａｎｄ　Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ，ＵＳＡ）から入手した。Ｄｕｋｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ＣＳ－３０サイクロトロンにおいて、^{209}Ｂｉ（α，２ｎ）^{211}Ａｔ反応を介して、２８ＭｅＶのα粒子を天然ビスマス金属標的に衝突させることにより、アスタチン－２１１を生産した。乾式蒸留により標的からアスタチン－２１１を単離し、ＰＥＥＫまたはＰＴＦＥチューブ中に捕捉し、最後に、以前に記載されているようにＮ－クロロスクシンイ

ミド（ＮＣＳ）を含むメタノールの溶液（０．２ｍｇ／ｍＬ）で抽出した。以前に報告されているように、スクシンイミジル４／５－（（１，２－ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）グアニジノ）メチル）－３－ヨードベンゾエート（Ｂｏｃ$_2$－ＳＧＭＩＢ／ｉｓｏ－ＳＧＭＩＢ）およびそれらの対応するスズ前駆体（Ｂｏｃ$_2$－ＳＧＭＴＢ／ｉｓｏ－ＳＧＭＴＢ）を合成した。Ｍｏｄｅｌ　１２６プログラマブル溶媒モジュール、Ｍｏｄｅｌ　１６６　ＮＭ可変波長検出器およびＳｃａｎＲａｍ　ＲａｄｉｏＴＬＣスキャナー／ＨＰＬＣ検出器の組み合わせ（ＬａｂＬｏｇｉｃ；Ｂｒａｎｄｏｎ，ＦＬ，ＵＳＡ）を備えるＢｅｃｋｍａｎ　Ｇｏｌｄ　ＨＰＬＣシステムを使用して、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）を実施した。Ｌａｕｒａソフトウェア（ＬａｂＬｏｇｉｃ）を使用して、ＨＰＬＣデータを取得および処理した。４．６×２５０ｍｍ　Ｐａｒｔｉｓｉｌシリカカラム（１０μｍ；Ａｌｌｔｅｃｈ，Ｄｅｅｒｆｉｅｌｄ，ＩＬ，ＵＳＡ）を使用して順相ＨＰＬＣを実施し、１ｍＬ／分の流速で、０．２％酢酸を含む７５：２５ヘキサン：酢酸エチル（ｖ／ｖ）の混合物を用いてアイソクラティックモードで溶出させた。ゲル濾過用使い捨てＰＤ１０脱塩カラムは、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ（Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ，ＵＳＡ）から購入した。移動相としてＰＢＳ（ｐＨ７．４）を用いてシリカゲル含浸ガラス繊維シート（Ｐａｌｌ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｅａｓｔ　Ｈｉｌｌｓ，ＮＹ，ＵＳＡ）を使用して、インスタント薄層クロマトグラフィー（ＩＴＬＣ）を実施した。上記ＴＬＣスキャナーを使用して、またはシートを小さなストリップに切断して自動ガンマカウンターでカウントすることにより、放射活性について展開シートを分析した。ＬＫＢ　１２８２（Ｗａｌｌａｃ，Ｆｉｎｌａｎｄ）またはＰｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｗｉｚａｒｄ　ＩＩ（Ｓｈｅｌｔｏｎ，ＣＴ，ＵＳＡ）自動ガンマカウンターのいずれかを使用して、様々なサンプル中の放射活性レベルを評価した。

２．２．抗ＨＥＲ２　５Ｆ７　ＶＨＨ分子

【０１８０】

抗ＨＥＲ２　５Ｆ７　ＶＨＨ分子は、Ａｂｌｙｎｘ　ＮＶ（Ｇｈｅｎｔ，Ｂｅｌｇｉｕｍ）からの寄贈として入手し、ＳＫＢＲ３ヒト乳癌腫細胞で免疫化されたラマ由来のファージライブラリーから選択した。グリシン－グリシン－システイン（ＧＧＣ）Ｃ末端テールを省略して、純粋な単量体調製物としたことを除いて、その生産、精製および特性評価は、以前に記載されているとおりであった（Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ　Ｍ，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ　Ｅ，Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ　Ｇ，Ｒｅｖｅｔｓ　Ｈ，Ｄｅｖｏｏｇｄｔ　Ｎ，Ｌａｈｏｕｔｔｅ　Ｔら、Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　ｂｒｅａｓｔ　ｃａｒｃｉｎｏｍａ　ｗｉｔｈ　ｒａｄｉｏｉｏｄｉｎａｔｅｄ　ａｎｔｉ－ＨＥＲ２　Ｎａｎｏｂｏｄｙ．Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　Ｂｉｏｌ　２０１３；４０：５２－９（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）。

２．３．細胞および細胞培養条件

【０１８１】

細胞培養試薬は、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ，ＮＹ，ＵＳＡ）から購入した。１０％ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）、ストレプトマイシン（１００μｇ／ｍＬ）およびペニシリン（１００ＩＵ／ｍＬ）（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，ＭＯ，ＵＳＡ）を含有するＤＭＥＭ／Ｆ１２培地で、ＢＴ４７４Ｍ１ヒト乳癌腫細胞を成長させた。細胞を５％CO_2加湿インキュベーター中、３７℃で培養した。

２．４．［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢの合成

【０１８２】

ほとんどの実験において、以前に報告されているように、酸化剤としてｔｅｒｔ－ブチルヒドロペルオキシドを使用し、溶媒としてクロロホルムを使用した対応するスズ前駆体の放射性ヨード脱スタンニル化により、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢを合成した。Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ　Ｇ，Ｚａｌｕｔｓｋｙ　ＭＲ．Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　ｏｆ　Ｎ－ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ　４－ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ－３－［＊Ｉ］ｉｏｄｏｂｅｎｚｏａｔｅ：ａ　ｒａｄｉｏ－ｉｏｄｉｎａｔｉｏｎ　ａｇｅｎｔ　ｆｏｒ　ｌａｂｅｌｉｎｇ　ｉｎｔｅｒｎａｌｉｚｉｎｇ　ｐｒｏ

teins and peptides. Nature Prot 2007；2：282－6およびChoi J, Vaidyanathan G, Koumarianou E, McDougald D, Pruszynski M, Osada Tら、N－Succinimidyl guanidinomethyl iodobenzoate protein radiohalogenation agents：influence of isomeric substitution on radiolabeling and target cell residualization. Nucl Med Biol 2014；41：802－12（これらは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。より最近のランでは、酸化剤としてＮＣＳを使用し、メタノール中で反応を実施した。このために、ＮＣＳを含むメタノールの溶液（０．２ｍｇ／ｍＬ；１００μＬ）、酢酸（１μＬ）および［^{131}Ｉ］ヨージド（１～２μＬ；３７～７４ＭＢｑ）をその順序で、５０μｇの必要なスズ前駆体を含有するハーフドラムガラスバイアルに添加し、時折バイアルを回転させながら、反応を２０℃で１５分間進行させた。溶媒のほとんどをアルゴン流で蒸発させ、残渣を２００μＬの各酢酸エチルおよび水に分配した。酢酸エチル層を分離し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、酢酸エチルを蒸発させた。残留放射活性をＨＰＬＣ移動相（２００μＬ）で再構成し、順相カラムに注入した。単離および脱保護の手順は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢについて以下に記載されているとおりであった。

２．５．［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢの合成

【０１８３】

アスタチン－２１１を含むＮＣＳ／メタノール（３０～５６ＭＢｑ）を、２００μｇの必要なスズ前駆体を含有するバイアルに添加し、続いて、１０μＬの酢酸を添加した。反応混合物を２０℃で３０分間インキュベートし、穏やかなアルゴン流でメタノールを蒸発させた。残留混合物を２０μＬの（７５：２５）ヘキサン／酢酸エチルに再溶解させ、順相ＨＰＬＣカラムに注入した。Ｂｏｃ$_2$－ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢまたはＢｏｃ$_2$－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ（t_R＝約２５分）を含有するＨＰＬＣ画分を単離し、溶媒をアルゴン流下で２０分間蒸発させた。１００μＬのトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）で２０℃で１０分間処理することにより、Ｂｏｃ保護基を除去した。ＴＦＡの完全な除去を確実にするために、酢酸エチル添加（５０μＬ）および蒸発のプロセスを３回実施した。次いで、残留放射活性を５Ｆ７　ＶＨＨ標識にそのまま使用した。

２．６．５Ｆ７　ＶＨＨの放射標識

【０１８４】

以前に報告されているように、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢまたはｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢによる５Ｆ７　ＶＨＨのヨウ素１３１標識を実施した。Choi J, Vaidyanathan G, Koumarianou E, McDougald D, Pruszynski M, Osada Tら、N－Succinimidyl guanidinomethyl iodobenzoate protein radiohalogenation agents：influence of isomeric substitution on radiolabeling and target cell residualization. Nucl Med Biol 2014；41：802－12（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。^{211}標識では、５Ｆ７　ＶＨＨを含む０．１Ｍホウ酸緩衝液（ｐＨ８．５）の溶液（５０μＬ、２ｍｇ／ｍＬ）の溶液を、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢまたはｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ放射能を含有するバイアルに添加し、混合物を２０℃で２０分間インキュベートした。リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で溶出するＰＤ－１０カラムによるゲル濾過により、標識５Ｆ７　ＶＨＨを精製した。使用前に、ＰＤ－１０カラムをヒト血清アルブミンで前処理して、非特異的結合を最小にした。

２．７．品質管理手順

【０１８５】

ＩＴＬＣおよびＳＤＳ－ＰＡＧＥにより各^{131}Ｉ－および^{211}Ａｔ標識５Ｆ７調製

物を評価して、それぞれタンパク質関連放射活性ならびに凝集体および多量体種の存在を決定した。ＩＴＬＣでは、移動相としてＰＢＳ（ｐＨ７．４）を使用した；この系では、インタクトなタンパク質は開始点に留まり（R_f＝０）、より低分子量の放射性種は０．７～０．８のR_f値で移動した。以前に記載されているように、非還元条件下におけるＳＤＳ－ＰＡＧＥおよび蛍光イメージングを実施した。ＨＥＲ２細胞外ドメインでコーティングした磁気ビーズ、または陰性対照としてウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）を使用してＬｉｎｄｍｏ法により、標識５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートの免疫反応性画分を決定した。簡潔に言えば、標識５Ｆ７のアリコート（約５ｎｇ）を２倍濃度のＨＥＲ２およびＢＳＡコーティングビーズの両方と共にインキュベートし、無限ＨＥＲ２過剰に対して推定される特異的結合として免疫反応性画分を計算した。

２．８．放射標識５Ｆ７コンジュゲートの結合親和性

【０１８６】

ＢＴ４７４Ｍ１乳癌腫細胞を細胞8×10^4個／ウェルの密度で２４ウェルプレートにプレーティングし、３７℃で２４時間インキュベートする。次いで、細胞を４℃で３０分間順化させてから、漸増濃度の放射標識５Ｆ７コンジュゲート（０．１～１００ｎＭ）を添加した。次いで、細胞を４℃で２時間インキュベートし、未結合放射活性を含有する培地を除去し、細胞を冷ＰＢＳで２回洗浄した。最後に、１Ｎ　ＮａＯＨ（０．５ｍＬ）で３７℃で１０分間処理することにより、細胞を可溶化した。自動ガンマカウンターを使用して、細胞結合放射活性をカウントした。非特異的結合を決定するために、１００倍過剰のトラスツズマブもインキュベーション培地に添加したことを除いては上記のように、並行アッセイを実施した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用してデータをフィッティングして、K_d値を決定した。

２．９．内在化アッセイ

【０１８７】

ＢＴ４７４Ｍ１乳癌腫細胞を使用して、内在化および細胞処理アッセイを対標識形式で実施した。細胞8×10^5個／ウェルの密度の細胞を含む３ｍＬの培地を６ウェルプレートにプレーティングし、３７℃で一晩インキュベートした後、４℃にし、３０分間インキュベートした。培地を除去し、各５ｎｍｏｌの［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７＋［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７またはｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７＋ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のいずれかを含有する新鮮培地を補充し、細胞を４℃でさらに１時間インキュベートした。未結合放射活性を含有する細胞培養上清を除去し、３７℃の新鮮培地を添加した。３７℃で１、２、４、６および２４時間インキュベートした後、内在化されたか、細胞膜上にあったか、または細胞培養上清に放出された初期細胞結合放射活性の割合を、以前に記載されているように決定した。非特異的取り込みを決定するために、１００倍モル過剰のトラスツズマブもウェルに添加したことを除いては上記のように、並行実験を実施した。

２．１０．対標識生体内分布実験

【０１８８】

デューク大学施設内動物管理使用委員会により確立されたガイドラインにしたがって、動物実験を実施した。以前に記載されているように、ＳＣＩＤマウスにおいて皮下ＢＴ４７４Ｍ１腫瘍異種移植片を確立し（Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ　Ｍ，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ　Ｅ，Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ　Ｇ，Ｒｅｖｅｔｓ　Ｈ，Ｄｅｖｏｏｇｄｔ　Ｎ，Ｌａｈｏｕｔｔｅ　Ｔら、Ｉｍｐｒｏｖｅｄ　ｔｕｍｏｒ　ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　ｏｆ　ａｎｔｉ－ＨＥＲ２　ｎａｎｏｂｏｄｙ　ｔｈｒｏｕｇｈ　Ｎ－ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ　４－ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ－３－ｉｏｄｏｂｅｎｚｏａｔｅ　ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｉｎｇ．Ｊ　Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　２０１４；５５：６５０－６（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）、腫瘍が約３５０～５００mm^3の体積に達したら、２つの対標識生体内分布研究を実施した。５匹のマウスの群は、約１８５ｋＢｑの各標識分子の尾静脈注射を受けた。第１の実験では、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（１７８ＭＢｑ／ｍｇ）および［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７（１７４ＭＢｑ／ｍｇ

）を投与し、第２のものでは、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（８５ＭＢｑ／ｍｇ）およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７（８９ＭＢｑ／ｍｇ）を注射した。このように、２つの各異性体配置について、腫瘍標的化およびインビボ安定性に対する^{211}Ａｔ－ｆｏｒ－^{131}Ｉ置換の効果を直接比較することができた。注射後１時間、２時間、４時間および２１時間に、生体内分布を評価した；第２の研究では、１４時間のさらなる時点が含まれていた。血液および尿を採取し、イソフルランの過剰摂取により、マウスを屠殺した。腫瘍および正常組織を単離し、ブロット乾燥し、血液および尿と一緒に計量した。自動ガンマカウンターを使用して、５％注射標準液と一緒にすべての組織サンプルを、^{131}Ｉおよび^{211}Ａｔ放射能についてカウントし、注射線量率（％ＩＤ）／器官／組織ｇを計算した。

２．１１．統計分析

【０１８９】

データは、平均±標準偏差として示されている。コインキュベート（インビトロ）または同時投与（インビボ）した標識コンジュゲートの挙動の差を、Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｏｆｆｉｃｅ　ｅｘｃｅｌプログラムを使用した対応のある両側スチューデントｔ検定を用いて、統計的有意性について分析し、コインキュベートまたは同時投与しなかった標識コンジュゲートの挙動の差を、対応のないスチューデントｔ検定を用いて試験した。Ｐ値＜０．０５の差は、統計的に有意とみなされた。

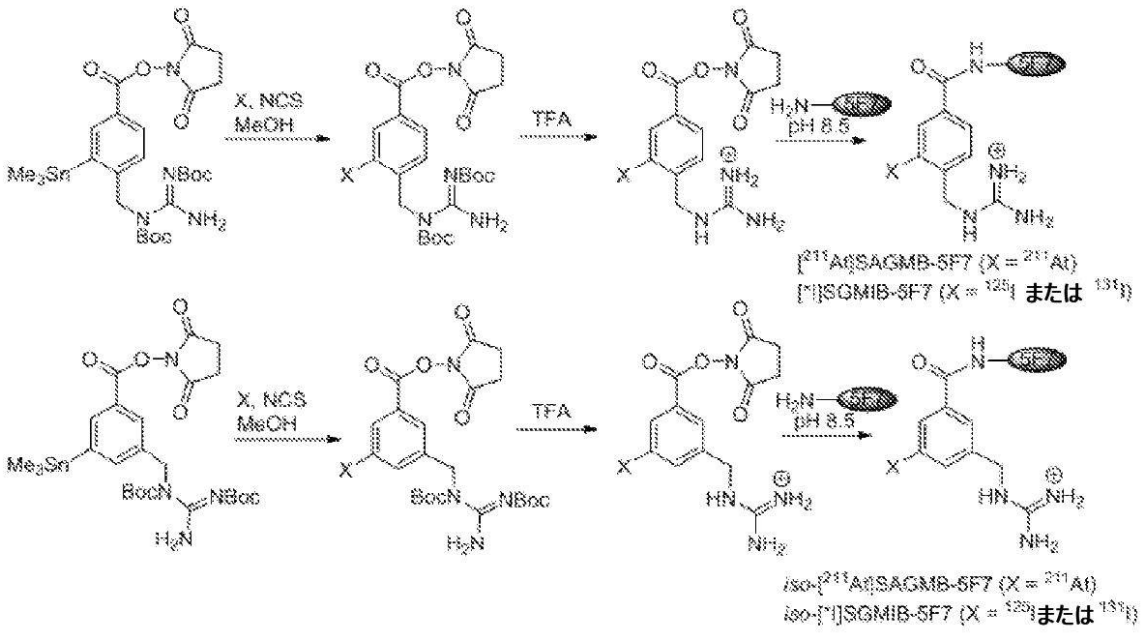
３．結果

３．１．放射標識

【０１９０】

４つの放射性ハロゲン化５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートの合成スキームは、スキーム９に提供されている。

【化２１】



スキーム９：［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ／ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢを使用した^{211}Ａｔによる、または［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢ／ｉｓｏ－［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢを使用した放射性ヨウ素による５Ｆ７　ＶＨＨ分子の合成

【０１９１】

同一条件下において、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－Ｂｏｃ$_2$の合成の放射化学的収率は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－Ｂｏｃ$_2$の６２．６±２．３％（ｎ＝６）と比較して６６．８±２．４％（ｎ＝７）であった。２つの収率の差は小さかったが、それは統計的に有意であった（Ｐ＜０．０５）。［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－Ｂｏｃ$_2$の合成の放射化学的収率は、酸化剤としてＴＢＨＰを使用し、溶媒としてクロロホルムを使用した場

合に以前に報告されたものと同様であった。本明細書で報告されるほとんどの実験では、酸化剤としてＴＢＨＰを使用して、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢを合成した；しかしながら、いくつかの研究では、酸化剤としてＮＣＳを使用し、溶媒としてメタノールを使用して、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢを合成したところ、ＴＢＨＰおよびクロロホルムを使用して得られたものよりもかなり高い６９．２±４．２％（ｎ＝４）および８４．０±４．５％（ｎ＝２）の放射化学的収率がそれぞれ得られた。

【０１９２】

ＴＦＡによるＢｏｃ$_2$－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびＢｏｃ$_2$－ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢの処理により得られた［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢとの反応により、^{211}Ａｔによる５Ｆ７　ＶＨＨの標識を達成した。同一条件下で実施した場合、５Ｆ７へのｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ（３９．５±６．８％；ｎ＝５）および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ（３８．４±１５．６％；ｎ＝６）のコンジュゲーション効率は同様であった（Ｐ＞０．０５）。［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢによる５Ｆ７の標識のコンジュゲーション効率は、それぞれ２８．９±１３．０％（ｎ＝６）および３３．１±７．１％（ｎ＝６）であった。ＩＴＬＣ分析により得られた放射化学的純度は、それぞれｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７および［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について９８．９％、９７．８％、９８．６％および９８．４％あった。図１に示されているように、非還元条件下で実施したＳＤＳ－ＰＡＧＥにより、４つの放射性ハロゲン化５Ｆ７コンジュゲートの放射活性の９８％超が、ＶＨＨ単量体の分子量に対応する約１５ｋＤａの分子量を有する単一バンドに存在することが実証された。

３．２．免疫反応性画分および結合親和性

【０１９３】

５Ｆ７　ＶＨＨの標識がＨＥＲ２結合を損なうかを決定するために、分子標的としてＨＥＲ２の細胞外ドメインを使用して、対標識フォーマットで免疫反応性画分を決定した。それぞれｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７および［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について、免疫反応性画分は８１．３±０．９％、８３．５±１．１％、８１．８±１．４％および８４．５±０．８％であると決定されたが、これは、使用した補欠分子剤にかかわらず、５Ｆ７　ＶＨＨが同程度に免疫反応性を保持することを示唆している。ＨＥＲ２発現ＢＴ４７４Ｍ１ヒト乳癌腫細胞で実施した飽和結合アッセイから得られた解離定数（Ｋ$_d$）値は、４つの標識コンジュゲートについて５ｎＭ未満であった（図２）。細胞（８×１０^{4}個）を漸増量の標識ＶＨＨコンジュゲートと共にインキュベートし、特定の細胞結合放射活性を本明細書に記載されるように決定することに基づいて、図２のデータを得た。プロットを生成し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用してＫｄ値を計算した。しかしながら、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（３．０±０．１ｎＭ）では、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（４．５±０．４ｎＭ）と比較して有意に高い親和性結合（Ｐ＜０．０５）が観察された。ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７および［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のＫ$_d$値はそれぞれ１．３±０．２ｎＭおよび２．４±０．２ｎＭであったが、これは、ｉｓｏ－コンジュゲーションコンジュゲートの親和性がより高いことを示している。^{131}Ｉ標識コンジュゲートは、それらの対応する^{211}Ａｔ標識５Ｆ７カウンターパートよりも有意に高い結合親和性を有していた（Ｐ＜０．０５）。

３．３．内在化アッセイ

【０１９４】

ＨＥＲ２発現ＢＴ４７４Ｍ１細胞を使用して対標識内在化アッセイを実施して、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（図３）および［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７

（図４）によるインビトロ放射活性の細胞内捕捉の程度を決定した。２つの異なる実験から得られた２つのバージョンの標識５Ｆ７に基づいて、図３に表されているデータを生成した。図３に示されているように、それぞれ７７．４±０．８％および６７．２±１．１％の値が観察された場合、細胞結合（膜結合＋内在化）および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７により内在化した初期結合放射活性の割合は、２４時間にわたってほぼ一定のままであった。一般に、補欠分子剤の性質の変化は、ＨＥＲ２陽性癌細胞の放射活性の残留に影響を及ぼさなかった。例えば、６時間の時点では、それぞれｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について、初期結合放射活性の６９．５±１．２％および７３．２±１．７％が細胞内区画に留まっていた。しかしながら、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の挙動とは異なり、２４時間の時点におけるｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７（４９．０±３．６％）およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（４８．４±５．５％）からの細胞内放射活性レベルは、１～６時間に観察されたものよりも有意に低かった（Ｐ＜０．０５）。

３．４．生体内分布研究

【０１９５】

皮下ＢＴ４７４Ｍ１乳癌異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおいて２回の対標識実験を実施して、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の組織分布をそれらの^{131}Ｉ標識カウンターパートと直接比較した。２１時間の期間（これは、^{211}Ａｔ崩壊の約３半減期に対応する）で得られた結果は、それぞれ表１および表２に要約されている。［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の腫瘍取り込みは、注射後１～４時間では１５～１６％ＩＤ／ｇのままであり、次いで、２１時間の時点では９．４９±１．２２％ＩＤ／ｇに低下した（図５）。放射性ヨウ素化コンジュゲートの値が約２０％高かった（１１．８±１．５％ＩＤ／ｇ；Ｐ＜０．０５）２１時間の時点を除いて、同時投与［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７についても同様の腫瘍取り込み値が観察された（図６）。第２の実験では、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の腫瘍取り込みに関して、放射性ヨウ素化したカウンターパートと比較して同様の傾向が観察された。しかしながら、すべての時点において、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の腫瘍蓄積は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７のものよりもほぼ５０％高く（図５）、４時間の時点で２３．４±２．２％ＩＤ／ｇのピークに達した（有意差、Ｐ＜０．０５、対応のないｔ検定による２１時間の時点を除く）。同様に、すべての時点において、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の腫瘍取り込みは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものよりも有意に高かった（図６）。腎臓を除いて、４つの５Ｆ７放射性コンジュゲート、特にｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の正常組織取り込みは低かった。腎臓では、ｉｓｏ－コンジュゲートの放射能レベルは、対応する非ｉｓｏ－コンジュゲートのものよりも有意に低く（対応のないｔ検定によりＰ＜０．０５）（図７および８）、^{211}Ａｔ標識コンジュゲートについては、差はあまり顕著ではなかった。^{211}Ａｔ標識化合物については、炭素－ハロゲン結合強度がより低いと予想されるので、甲状腺および胃（遊離アスタチドおよびヨウ化物を隔離することが公知の組織）の放射能レベルの比較は、これらのコンジュゲートの相対的インビボ安定性を解明することができる。４つの５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートの注射後の甲状腺および胃における^{211}Ａｔおよび^{131}Ｉ活性の取り込みは、それぞれ図９および１０に要約されている。両^{211}Ａｔ標識５Ｆ７コンジュゲートの甲状腺および胃蓄積は、それらの^{131}Ｉ標識同時投与カウンターパートで見られるよりも有意に高かった。しかしながら、甲状腺および胃放射能レベルは、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７では、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７と比較して約２倍低かったが、これは、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７のインビボにおける脱アスタチン化程度がより低いことを示唆している。

【０１９６】

図１１に示されているように、すべての組織において、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧ

ＭＢ－５Ｆ７の腫瘍対正常組織比は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７のものよりも有意に高かった。例えば、４時間の時点において、腫瘍対肝臓比、腫瘍対血液比、腫瘍対脾臓比および腫瘍対腎臓比は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の７．３１±１．２６、３２±４、７．１１±１．４７および０．６７±０．０８と比較して、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７ではそれぞれ１８±４、６３±１３、２１±３および１．５０±０．２５であった。同様に、すべての組織において、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の腫瘍対正常組織比は、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものよりも有意に高かった（図１２）。最後に、放射性ヨウ素化５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートの腫瘍対正常組織比は、対応する^{211}Ａｔ標識５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートのものよりもかなり高かった。

４．考察

【０１９７】

本研究では、正荷電標識異化産物の生成を介して受容体媒介性内在化後に、放射性核種をＨＥＲ２発現癌細胞に捕捉するように設計した２つの関連補欠分子剤［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢを使用して、α粒子放出放射性ハロゲン^{211}Ａｔで抗ＨＥＲ２　５Ｆ７　ＶＨＨを成功裏に標識した。ＨＥＲ２発現乳癌腫細胞に対する^{211}Ａｔα粒子の高い細胞毒性は、インビトロおよびインビボの区画状況において、^{211}Ａｔ標識トラスツズマブを用いて実証されている。^{211}Ａｔは、標的放射線療法にとって多くの潜在的利点を有するが、そのα粒子の短距離組織範囲と７．２時間の半減期との組み合わせは、正常組織からの迅速なクリアランスと共に癌細胞への均一かつ長期の送達を迅速に達成するための戦略の開発を必要とする。この目標を達成するためのほとんどのアプローチは、ｍＡｂ断片などの小分子を利用する；しかしながら、全ｍＡｂの場合とは異なり、^{211}Ａｔ標識ｍＡｂ断片は甲状腺および胃における高い取り込みを示すが、これは、インビボにおける遊離^{211}の放出を示している。ＨＥＲ２標的化空間内では、この挙動は、Ｎ－スクシンイミジル３－［^{211}Ａｔ］アスタトベンゾエート（ＳＡＢ）（これは、対応する^{125}Ｉ標識構築物よりも２５～５５倍高い胃および甲状腺レベルを示した）を使用して標識したアフィボディ（７ｋＤａ）で観察された。Ｎ－スクシンイミジルＮ－（４－［^{211}Ａｔ］アスタトフェネチルスクシナメート（ＳＡＰＳ）を使用して^{211}Ａｔで抗ＨＥＲ２ダイアボディも標識し、いくつかの有望な治療反応が得られたが、^{211}Ａｔ標識ダイアボディの生体内分布結果は報告しなかった。

【０１９８】

最適な^{211}Ａｔ標識抗ＨＥＲ２構築物を開発しようとして、上記インビボ安定性問題を検討するだけではなく、標識分子の結合および内在化後の癌細胞における放射活性封入の程度および期間を最大にする方法も検討することが重要である。加えて、正常組織における滞留時間を延長させずに、治療的に適切なレベルで迅速な腫瘍標的化を提供するタンパク質フォーマットを選択しなければならない。抗ＨＥＲ２　ＶＨＨＳＧＭＩＢコンジュゲートで得られた優れた結果は、^{211}Ａｔで５Ｆ７　ＶＨＨ標識するためのグアニジノメチル置換補欠分子団の潜在的有用性を評価する本研究の動機を提供した。ＧＧＣテールを有する（Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ Ｍ, Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ Ｅ, Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ Ｇ, Ｒｅｖｅｔｓ Ｈ, Ｄｅｖｏｏｇｄｔ Ｎ, Ｌａｈｏｕｔｔｅ Ｔら、Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｔｕｍｏｒ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉ－ＨＥＲ２ ｎａｎｏｂｏｄｙ ｔｈｒｏｕｇｈ Ｎ－ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ ４－ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ－３－ｉｏｄｏｂｅｎｚｏａｔｅ ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｉｎｇ．Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ２０１４；５５：６５０－６，ｗｈｉｃｈ ｉｓ ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ ｈｅｒｅｉｎ ｂｙ ｒｅｆｅｒｅｎｃｅを参照のこと）および有しない（Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ Ｇ, ＭｃＤｏｕｇａｌｄ Ｄ, Ｃｈｏｉ Ｊ．, Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ Ｅ, Ｗｅｉｔｚｅｌ Ｄ, Ｏｓａｄａ Ｔら、Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ １８Ｆ標識 ａｎｔｉ－ＨＥＲ２ ｎａｎｏｂｏｄｙ ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ｆｏｒ ｉｍａｇｉｎｇ ＨＥＲ２ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｂｙ ｉｍｍｕｎｏ－ＰＥＴ．Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ２０１６；５７：９６７

－７３を参照のこと）５Ｆ７　ＶＨＨを、ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片および両構築物を有するＳＣＩＤマウスにおけるＳＧＭＩＢ後に評価したところ、注射後２時間に腫瘍取り込みがピークに達したが、これは、このＶＨＨが、^{211}Ａｔの７．２時間の半減期に適合する局在化動態を有することを示唆している。ＧＧＣテールを有しないバージョンは純粋な単量体として存在し、単量体と５Ｆ７－ＧＧＣの二量体との混合物（Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ Ｍ，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ Ｅ，Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ Ｇ，Ｒｅｖｅｔｓ Ｈ，Ｄｅｖｏｏｇｄｔ Ｎ，Ｌａｈｏｕｔｔｅ Ｔら、Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｔｕｍｏｒ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉ－ＨＥＲ２ ｎａｎｏｂｏｄｙ ｔｈｒｏｕｇｈ Ｎ－ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ ４－ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ－３－ｉｏｄｏ ｂｅｎｚｏａｔｅ ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｉｎｇ．Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ２０１４；５５：６５０－６（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）と対比して有意に高い腫瘍局在化を示したので、これらの実験において使用するために、テールなし５Ｆ７構築物を選択した。

【０１９９】

アスタチン原子のサイズはヨウ素原子と比較して大きいので、^{211}標識では、立体障害がさらに重要な要因であり得る。ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢでは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢと比較して有意に高い放射性ヨウ素化およびタンパク質コンジュゲーション収率が観察されたことに基づいて、５Ｆ７　ＶＨＨの標識について、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ（１，３，５－異性体）および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ（１，３，４－異性体）を両方とも評価した。ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢの放射標識およびＶＨＨコンジュゲーション収率は、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢのものよりも高かったが、これらの差は有意ではなかった。これらの補欠分子団およびそれらの放射性ヨウ素化カウンターパートのコンジュゲーションは、ＨＥＲ２過剰発現ＢＴ４７４Ｍ１乳癌腫細胞への結合に対する優れた免疫反応性および親和性（＜５ｎＭ）を有する単量体生成物をもたらした。［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について得られた結果は、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７－ＧＧＣ構築物について以前に報告されているものとよく一致していた。Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ Ｍ，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ Ｅ，Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ Ｇ，Ｒｅｖｅｔｓ Ｈ，Ｄｅｖｏｏｇｄｔ Ｎ，Ｌａｈｏｕｔｔｅ Ｔら、Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｔｕｍｏｒ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉ－ＨＥＲ２ ｎａｎｏｂｏｄｙ ｔｈｒｏｕｇｈ Ｎ－ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ ４－ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ－３－ｉｏｄｏｂｅｎｚｏａｔｅ ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｉｎｇ．Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ２０１４；５５：６５０－６（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。両異性体では、^{211}Ａｔ標識５Ｆ７コンジュゲートの親和性は、対応する^{131}Ｉ標識５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートのものの約半分であった。いかなる作用機構にも縛られるものではないが、アスタチン原子のより大きなサイズおよび^{211}Ａｔα粒子の放射線分解効果は、結合親和性を減少させ得ると考えられる。それにもかかわらず、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（３．０±０．１ｎＭ）および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７（４．５±０．４ｎＭ）の結合親和性は、標的放射線療法としてのそれらの使用と適合するはずである。

【０２００】

放射標識受容体標的タンパク質の結合および細胞プロセシング後の癌細胞における放射性核種捕捉の最大化は、標的放射線療法の有効性を増加させるはずである。トラスツズマブおよび５Ｆ７　ＶＨＨの両方を用いて実施した内在化アッセイにより、［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢまたはｉｓｏ－［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢのいずれかによるこれらのＨＥＲ２標的タンパク質の標識は、６時間まで同程度の放射性ヨウ素の細胞内捕捉をもたらすことが実証された；しかしながら、２４時間の時点では、ｉｓｏ－［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢについては、総細胞結合および内在化放射能は有意に低かった。Ｃｈｏｉ Ｊ，Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ Ｇ，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ Ｅ，ＭｃＤｏｕｇａｌｄ Ｄ，Ｐｒｕｓｚｙｎｓｋｉ Ｍ，Ｏｓａｄａ Ｔら、Ｎ－Ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌ ｇｕａｎｉｄｉｎｏｍｅｔｈｙｌ ｉｏｄｏｂｅｎｚｏａｔｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ｒａｄｉｏｈａｌｏｇｅｎａｔｉｏｎ

agents：influence of isomeric substitution on radiolabeling and target cell residualization．Nucl Med Biol ２０１４；４１：８０２－１２（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。これらの結果は、ｉｓｏ－［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢの残留能力が［＊Ｉ］ＳＧＭＩＢのものほど持続的ではないことを示唆しているが、その半減期は７．２時間であるので、これは^{211}Ａｔの重大な欠点であり得ない。ＢＴ４７４Ｍ１乳癌腫細胞の対標識実験は、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の両方の細胞結合および細胞内放射能をそれらの放射性ヨウ素化カウンターパート直接比較を可能にした。本発明者らの結果により、１，３，４－および１，３，５－異性体の両方について、ヨウ素からアスタチンへの置換は残留能力に影響を与えないことが示された；しかしながら、後者については、２４時間の時点において、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の両方で、細胞内捕捉の有意な減少が観察された。この挙動の原因となる機構は不明であるが、１，３，５－異性体のより高い異化率および／または標識異化産物の放出が役割を果たし得る可能性が高いと思われる。それにもかかわらず、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７であっても、２４時間の時点において、初期結合放射活性の４８．４±５．５％が依然として内在化しており、^{211}Ａｔ原子の９０％超はこの時間までに崩壊するので、これは有望である。

【０２０１】

この研究の主な焦点は、^{211}Ａｔ標識５Ｆ７　ＶＨＨコンジュゲートの評価であり、本発明者らが知る限りでは、ＶＨＨ分子の標識についてこの有望なα放射体を評価する最初の試みである。これらの薬剤の１つである［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢは、上皮成長因子受容体の突然変異体と反応するインタクトな内在化ｍＡｂ　Ｌ８Ａ４を標識するために成功裏に使用されている。しかしながら、あるタイプのタンパク質構築物の結果から別のものを推定することは注意して行わなければならない。例えば、Ｎ^{ε}－（３－［^{131}Ｉ］ヨードベンゾイル）－Ｌｙｓ^{5}－Ｎ^{α}－マレイミド－Ｇｌｙ^{1}－ＧＥＥＥＫ（^{131}Ｉ－ＩＢ－Ｍａｌ－Ｄ－ＧＥＥＥＫ）は、インタクトなｍＡｂ　Ｌ８Ａ４を標識するための優れた試薬であることが示されたが、５Ｆ７　ＶＨＨの標識では、腫瘍取り込みの面で利点を提供せず、腎臓取り込みの面で明確な不利点を提供した。重要なことに、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７を用いた内在化アッセイで観察されたＨＥＲ２発現ＢＴ４７４Ｍ１癌細胞の放射活性の高い長期保持は、同じＢＴ４７４Ｍ１細胞株由来の異種移植片を有するＳＣＩＤマウスにおいて実施した対標識生体内分布研究において再現された。これらの^{211}Ａｔ標識５Ｆ７コンジュゲートで観察された腫瘍蓄積の規模は、^{99m}Ｔｃ、^{177}Ｌｕ、^{68}Ｇａおよび^{18}Ｆで標識した別のＨＥＲ２標的ＶＨＨ（２Ｒｓ１５ｄ）、ならびに^{211}Ａｔを含む様々な放射性核種で標識したＨＥＲ２特異的アフィボディについて報告されているものよりも２～３倍高かった。

【０２０２】

腫瘍放射能レベルに影響を及ぼす異性体置換パターンの可能性に関して、すべての時点において、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７は、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７および［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７と比較して有意かつ予想外な約１．５倍の腫瘍送達利点を示した。しかしながら、インビトロ内在化アッセイでは最終時点まで、両異性体について同程度の細胞内捕捉が観察されたので、これは、残留能力の差を反映しないと思われる。^{211}Ａｔ－および^{131}Ｉ標識ＶＨＨコンジュゲートのインビボ挙動の差に関して、ＨＥＲ２陽性ＢＴ４７４Ｍ１異種移植片における［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の局在化は、早期時点では、それらの同時投与^{131}Ｉ標識類似体のものと同等であったが、２１時間の時点では約２０％低かった。これは、インビボ安定性に関するハロゲン依存的差を反映している可能性があり、アスタチンのより低いＣ－Ｘ結合強度と一致して、最も可能性の高い原因であるアスタチンの脱ハロゲン化率はより高か

った。両方の異性体について、甲状腺および胃（遊離放射性ハロゲン化物を隔離することが公知の組織）における^{211}Ａｔレベルは、^{131}Ｉと比較して高いという観察結果により、これは裏付けられる。しかしながら、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の注射後の甲状腺および胃における放射能レベルはそれぞれ０．４～０．６％および１．０～２．３％ＩＤであり、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７のものはそれぞれ０．２～０．３％および０．６～１．７％ＩＤであったが、これは、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢコンジュゲートの脱アスタチン化程度がより低いことを示唆している。同様に、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の注射後の胃および甲状腺放射活性レベルは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものよりも低かったが、これは、これらの放射性ハロゲン化ｓｄＡｂコンジュゲートのインビボ安定性の予想外な異性体依存的差を示唆している。それにもかかわらず、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の両方の甲状腺および胃における^{211}Ａｔ取り込みの程度は、いくつかの異なる方法を使用して標識した様々な低分子量タンパク質について報告されているものよりも低かった。［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７からの^{211}Ａｔ［アスタチド］の喪失は比較的低かったにもかかわらず、それは正常組織毒性（これは、^{211}Ａｔ標識抗体を用いた臨床研究において行われたように、ブロッキング剤の使用により有意に減少され得る）を増加させ得る。

【０２０３】

腫瘍対正常組織比は、一般に、放射性ヨウ素化コンジュゲートでは、アスタチン化バージョンと比較して高かったが、これはおそらく、ヨードバージョンのより高いインビボ安定性を反映している。予想外のことに、ｉｓｏ－補欠分子剤を使用して５Ｆ７　ＶＨＨを標識した場合、両放射性核種について、腫瘍対正常組織比は有意に高かった。表１および表２に要約されているように、これは、腫瘍取り込みにおけるいくつかの利点だけではなく、特に^{131}Ｉ標識コンジュゲートについて、正常組織におけるかなり低い放射能レベルも反映している。この挙動の考えられる説明は、肝臓脾臓および肺などの正常器官における標識ＶＨＨの非特異的取り込みを遮断するためには特定の質量のＶＨＨ分子が必要であるという質量効果である。Ｘａｖｉｅｒ　Ｃ，Ｖａｎｅｙｃｋｅｎ　Ｉ，Ｄ’Ｈｕｙｖｅｔｔｅｒ　Ｍ，Ｈｅｅｍｓｋｅｒｋ　Ｊ，Ｋｅｙａｅｒｔｓ　Ｍ，Ｖｉｎｃｋｅ　Cら、Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　ｖａｌｉｄａｔｉｏｎ，ｄｏｓｉｍｅｔｒｙ，ａｎｄ　ｔｏｘｉｃｉｔｙ　ｏｆ^{68}Ｇａ－ＮＯＴＡ－ａｎｔｉ－ＨＥＲ２　ｎａｎｏｂｏｄｉｅｓ　ｆｏｒ　ｉＰＥＴ　ｉｍａｇｉｎｇ　ｏｆ　ＨＥＲ２　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｉｎ　ｃａｎｃｅｒ．Ｊ　Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　２０１３；５４：７７６－７８４（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７＋［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７７生体内分布実験を２．１μｇの総５Ｆ７　ＶＨＨ用量で実施し、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７＋ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７研究では、４．３μｇの総５Ｆ７用量を投与したので、これは本明細書に関連し得る。しかしながら、２．１μｇの総ＶＨＨ用量で本研究において［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について観察された生体内分布は、４．３．および６．８μｇの総５Ｆ７用量で［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７について以前に報告されているものと極めて類似していたので、これは要因ではない可能性がある。Ｖａｉｄｙａｎａｔｈａｎ　Ｇ，ＭｃＤｏｕｇａｌｄ　Ｄ，Ｃｈｏｉ　Ｊ．，Ｋｏｕｍａｒｉａｎｏｕ　Ｅ，Ｗｅｉｔｚｅｌ　Ｄ，Ｏｓａｄａ　Tら、Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　ｏｆ^{18}Ｆ－ｌａｂｅｌｅｄ　ａｎｔｉ－ＨＥＲ２　ｎａｎｏｂｏｄｙ　ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ　ｆｏｒ　ｉｍａｇｉｎｇ　ＨＥＲ２　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｂｙ　ｉｍｍｕｎｏ－ＰＥＴ．Ｊ　Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　２０１６；５７：９６７－７３（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。また、抗ＨＥＲ２　ＶＨＨ　２Ｒｓ１５ｄについて、質量依存的局在化の有意差は、０．１～１μｇの用量で^{68}Ｇａによる標識後に観察されたが、本研究において使用した用量を包含する１～１０μｇの用量では観察されなかった。

【０２０４】

特に、同じ動物モデルにおいてｉｓｏ－［^{125}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－トラスツズマブおよび［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－トラスツズマブを比較した場合に以前に観察された組織分布の類似性を考慮すると、同じ放射性ハロゲンを有する２つの異性体バージョンで観察された生物学的挙動の差は予想外であった。Ｃｈｏｉ　Ｊら、Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　Ｂｉｏｌ　２０１４；４１：８０２－１２（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。しかしながら、ＶＨＨ分子はインタクトなｍＡｂよりも約１０倍小さく、これは、脱ヨウ素酵素および脱ハロゲン化につながり得る他の酵素、例えばシトクロムＰ４５０への容易なアクセスを可能にするために十分に小さな種へのより迅速な分解につながり得る。ｉｓｏ－［^{125}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の代謝安定性が［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７と比較して大きいことは、２つのコンジュゲートの異化の差と、インビボ脱ヨウ素化に対する標識異化産物の感受性とにより説明することができる。最近の総説に要約されているように、放射性ヨウ素化合物の設計の微妙な差は、脱ヨウ素化速度の増加につながり得る。これと一致して、メタ－ヨードベンジルグアニジン（ｉｓｏ－ＳＧＭＩＢの構造要素）の脱ヨウ素化は、オルト－ヨードベンジルグアニジン（ＳＧＭＩＢの構造要素）のものよりも少なかった。ｉｓｏ－ＳＧＭＩＢ－ＶＨＨおよびＳＧＭＩＢ－ＶＨＨコンジュゲートから生成した標識異化産物の化学的性質を評価して、観察されたそれらのインビボ挙動差をもたらす機構をよりよく理解するための研究が計画されている。

【０２０５】

標的放射線療法のプラットフォームとしてＶＨＨ分子を使用することの潜在的問題は、腎臓における放射活性の高い蓄積および長期保持であり、これは、線量制限腎毒性をもたらし得る。この挙動は、放射性金属、例えば^{177}Ｌｕおよびいくつかの残留放射性ハロゲン化剤、例えば^{131}Ｉ－ＩＢ－Ｍａｌ－Ｄ－ＧＥＥＥＫで観察されている。例えば、^{131}Ｉ－ＩＢ－Ｍａｌ－Ｄ－ＧＥＥＥＫを使用して５Ｆ７－ＧＧＣを標識した場合、腎臓レベルは、注射後１～８時間では１５０％ＩＤ／ｇ超であり、２４時間の時点では約１００％ＩＤ／ｇであった。対照的に、本研究において評価した４つの放射性ハロゲン化５Ｆ７コンジュゲートではすべて、初期腎臓放射活性レベルは高かったが（６０～１００％ＩＤ／ｇ）迅速に減少し、腎クリアランス半減期は約１～２時間であった。驚くべきことに、すべての時点において、^{131}Ｉ－および^{211}Ａｔ標識ｉｓｏ－コンジュゲートの両方の腎臓放射活性レベルは、それらの対応する１，３，４異性体コンジュゲートについて観察されたものよりも有意に低く、腎臓保持の差は時間と共に増加した。例えば、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７の注射後２１時間に観察された腎臓放射活性レベルは、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものよりも４倍超低かった。腎臓放射能レベルの放射性核種依存的差も観察されたが、所定の放射性核種の２つの異性体バージョン間のものよりも程度は低い。逆説的に、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の注射後の腎臓放射活性レベルは、同時投与ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものより高く、［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７の注射後の腎臓放射活性レベルは、同時投与［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７のものよりも低かった。現時点では、４つの５Ｆ７　ＶＨＨ放射性コンジュゲートの腎臓取り込みおよび保持の差を説明することができず、腎臓保持に影響を与え得る物理的特性、例えば極性および親水性におけるアシル化剤の類似性を考慮すると予想外であった。また、以前の研究では、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよび［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢで標識したインタクトｍＡｂ　Ｌ８Ａ４と、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢおよびｉｓｏ－［^{125}Ｉ］ＳＧＭＩＢを使用して標識したトラスツズマブとの間の腎臓取り込み値の有意差が示されなかった。それらのより低い腎臓放射活性レベルの原因となる機構は明確ではないが、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢおよびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢコンジュゲートは、５Ｆ７および潜在的には他のＶＨＨによる腎臓への放射線吸収線量を最小にするための最適な試薬である。腎臓放射線量をさらなる減少が必要である場合、これは、少なくとも^{177}Ｌｕ標識ＶＨＨコンジュゲートを用いて血漿増量剤ゲロフシンとの同時注入により達成され得ることが示されている。

【０２０６】

要約すると、^{211}Ａｔを用いて合理的な収率で抗ＨＥＲ２　５Ｆ７　ＶＨＨを標識に

することができ、標識後の親和性および免疫反応性の保持が優れていることが実証された。［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７を用いた前臨床モデルにおける研究により、高い持続的な腫瘍標的化および迅速な正常組織クリアランスが実証され、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７では、さらにより好ましい観察結果が得られた。また、ｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７は、［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７と比較して有意に改善された腫瘍標的化を提供することが示された。まとめると、本発明者らの結果は、ｉｓｏ－［^{211}Ａｔ］ＳＡＧＭＢ－５Ｆ７およびｉｓｏ－［^{131}Ｉ］ＳＧＭＩＢ－５Ｆ７が、ＨＥＲ２発現悪性腫瘍の処置のためのα粒子およびβ粒子放出標的放射線療法としてのさらなる評価を保証することを示唆している。

【０２０７】

ＨＥＲ２を標的にするＶＨＨ配列であって、本発明の実施においてＶＨＨ配列としては、配列番号１～５に記載されているものが挙げられる。

配列番号１

免疫グロブリン重鎖可変領域、部分［Ｃａｍｅｌｕｓ　ｄｒｏｍｅｄａｒｉｕｓ］ＤＶＱＬＶＥＳＧＧＧＳＶＱＧＡＡＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＤＩＴＹＳＴＤＣＭＧＷＦＲＱＡＰＧＫＥＲＥＧＶＡＴＩＮＮＧＲＡＩＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＱＤＮＡＫＮＴＶＹＬＱＭＮＳＬＲＰＫＤＴＡＩＹＹＣＡＡＲＬＲＡＧＹＣＹＰＡＤＹＳＭＤＹＷＧＫＧＴＱＶＴＶＳＳ

配列番号２

免疫グロブリン重鎖可変領域、部分［Ｃａｍｅｌｕｓ　ｄｒｏｍｅｄａｒｉｕｓ］ＤＶＱＬＥＥＳＧＧＧＳＶＱＡＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＹＩＹＳＴＹＣＭＧＷＦＲＱＡＰＧＫＥＲＥＧＶＡＡＩＮＤＶＧＧＳＶＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＱＤＩＡＱＤＴＭＹＬＱＭＮＤＬＴＰＥＮＴＶＴＹＴＣＡＡＬＲＣＬＳＤＳＤＰＤＴＲＶＨＭＹＹＤＷＧＱＧＴＱＶＴＶＳＳ

配列番号３

免疫グロブリン重鎖可変領域、部分［Ｃａｍｅｌｕｓ　ｄｒｏｍｅｄａｒｉｕｓ］ＤＶＱＬＥＥＳＧＧＧＳＶＱＴＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＹＴＹＳＳＡＣＭＧＷＦＲＱＧＰＧＫＥＲＥＡＶＡＤＶＮＴＧＧＲＲＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＱＤＮＴＫＤＭＲＹＬＱＭＮＮＬＫＰＥＤＴＡＴＹＹＣＡＴＧＰＲＲＲＤＹＧＬＧＰＣＤＹＮＹＷＧＱＧＴＱＶＴＶＳＳ

配列番号４

免疫グロブリン重鎖可変領域、部分［Ｃａｍｅｌｕｓ　ｄｒｏｍｅｄａｒｉｕｓ］ＥＶＱＬＥＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＴＬＳＣＡＡＳＧＹＴＦＴＮＣＡＡＧＷＹＲＱＡＰＧＫＥＣＥＬＶＡＳＩＦＳＧＮＲＴＮＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＴＫＤＩＶＹＬＱＭＮＳＬＫＰＥＤＴＴＶＹＹＣＤＡＲＴＰＣＷＧＱＧＴＱＶＴＶＳＳ

配列番号５

免疫グロブリン重鎖可変領域、部分［Ｃａｍｅｌｕｓ　ｄｒｏｍｅｄａｒｉｕｓ］ＥＶＱＬＥＥＳＧＧＧＳＶＱＡＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＹＴＦＬＱＬＬＨＧＷＦＲＱＡＰＧＫＥＲＥＶＶＡＲＦＮＴＤＩＮＫＴＦＹＬＥＳＶＫＧＲＦＴＬＳＱＤＮＡＫＮＴＬＹＬＱＭＮＳＬＫＰＥＤＴＡＩＹＹＣＡＡＳＲＰＤＳＴＣＤＹＦＡＹＲＧＱＧＴＱＶＴＶＳＳ

【０２０８】

本明細書で言及される刊行物、特許および特許出願はすべて、本発明が関係する当業者の水準を示すものである。刊行物、特許および特許出願はすべて、個々の各刊行物、特許または特許出願が参照により組み込まれると具体的かつ個別に示されているのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。前述の本発明は、理解を明確にする目的で、例示および実施例としてある程度詳細に記載されているが、実施形態の範囲内で特定の変更および改変を実施し得ることは明らかであろう。

【図１】

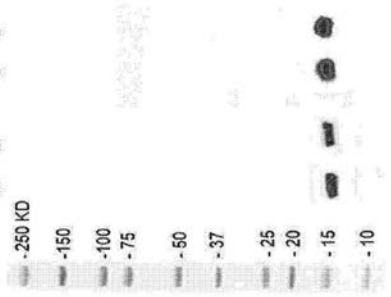


FIGURE 1

【図２】

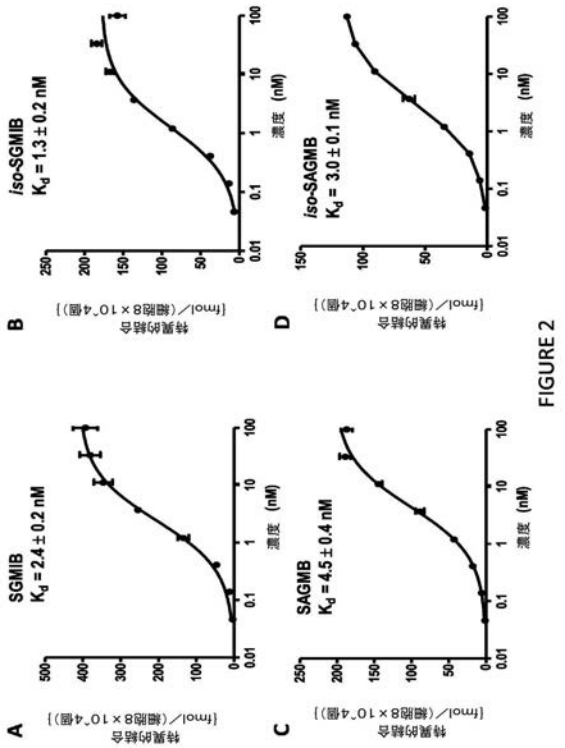


FIGURE 2

【図３】

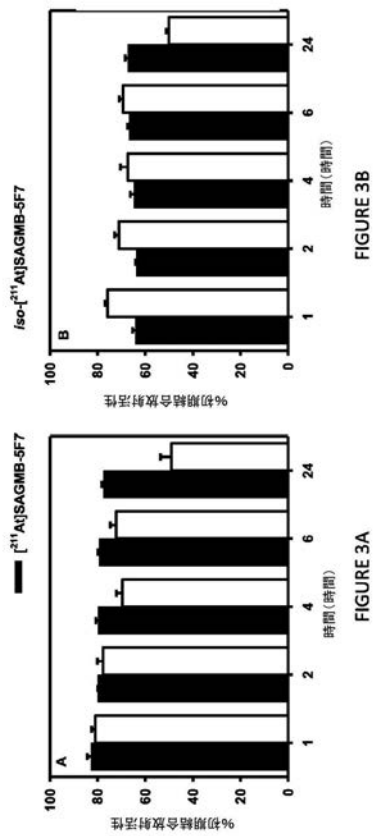


FIGURE 3A

FIGURE 3B

【図４】

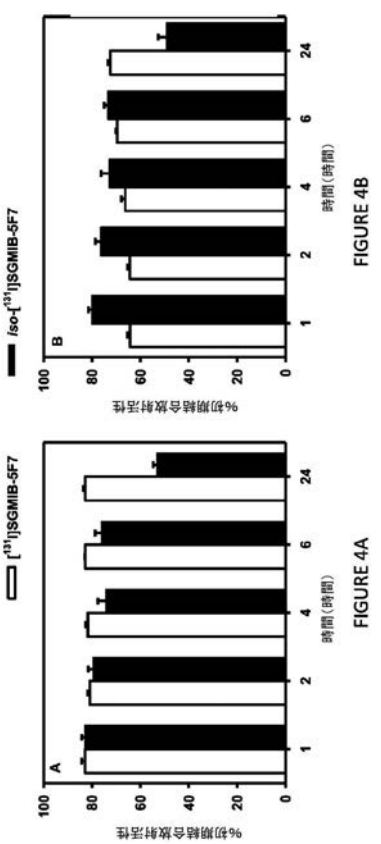


FIGURE 4A

FIGURE 4B

【図５】

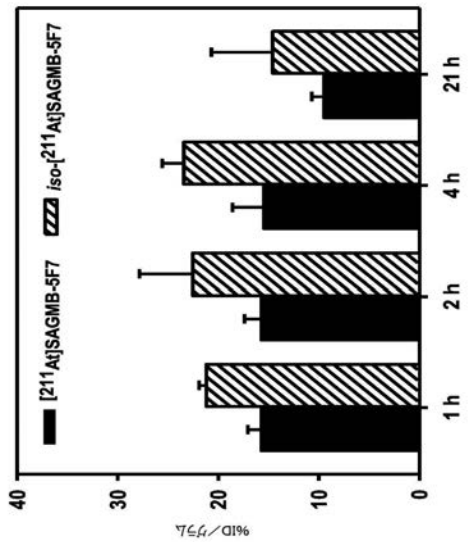


FIGURE 5

【図６】

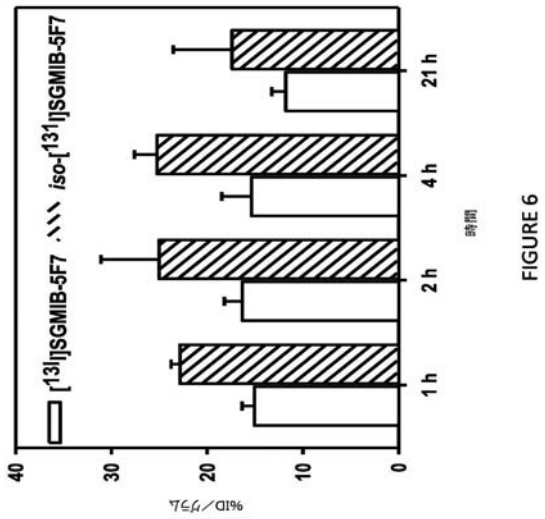


FIGURE 6

【図７】

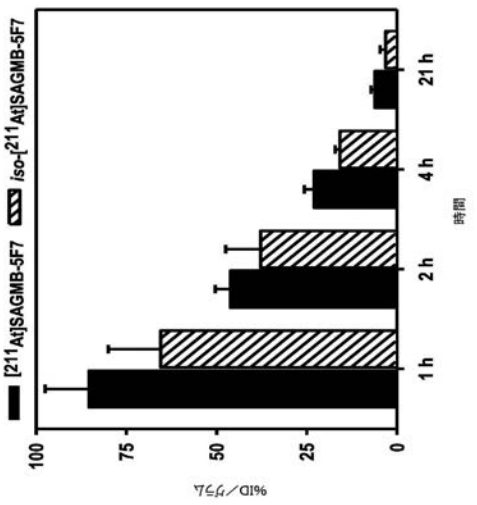


FIGURE 7

【図８】

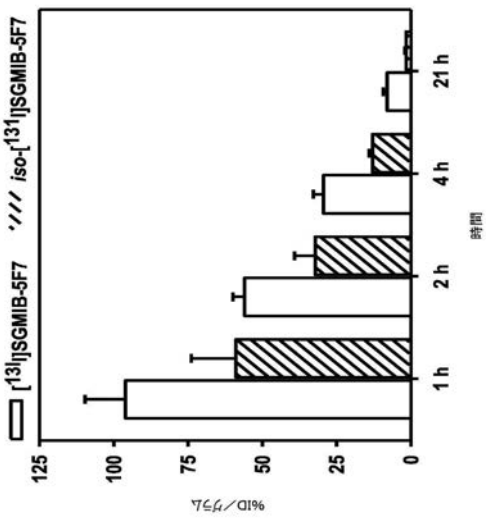


FIGURE 8

【図９】

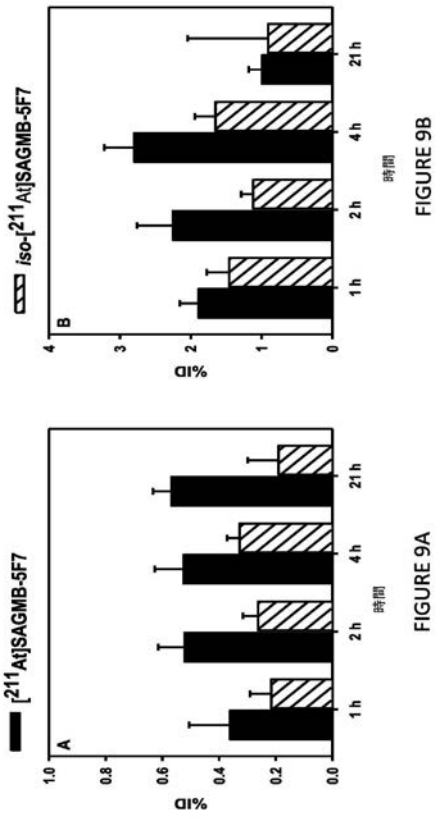


FIGURE 9A

FIGURE 9B

【図１０】

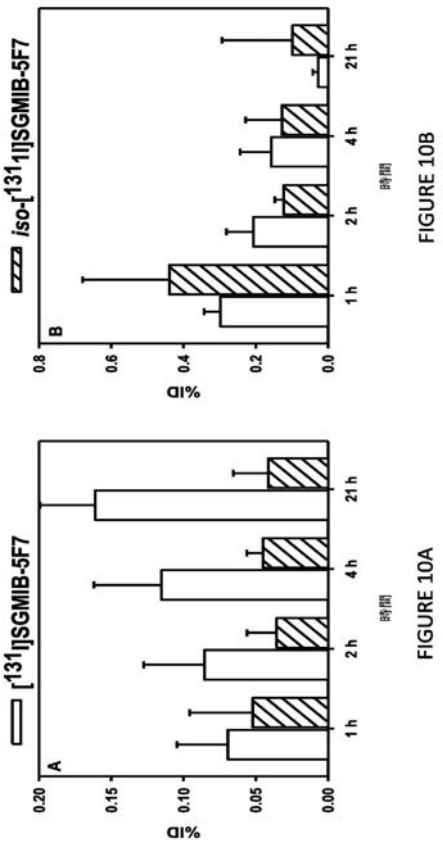


FIGURE 10A

FIGURE 10B

【図１１】

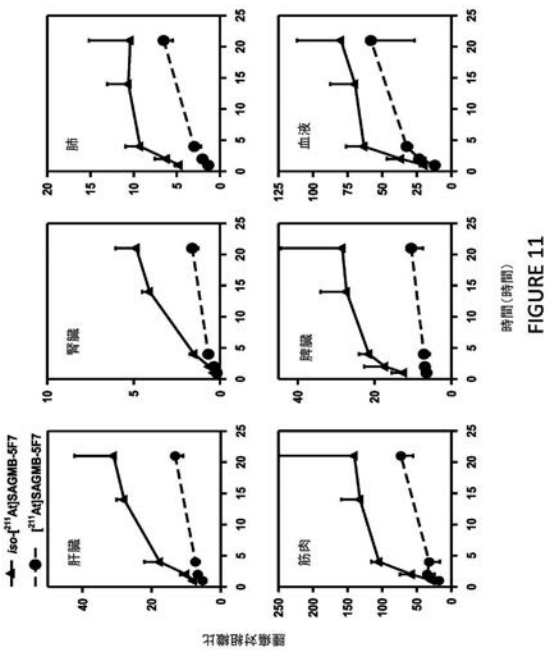


FIGURE 11

【図１２】

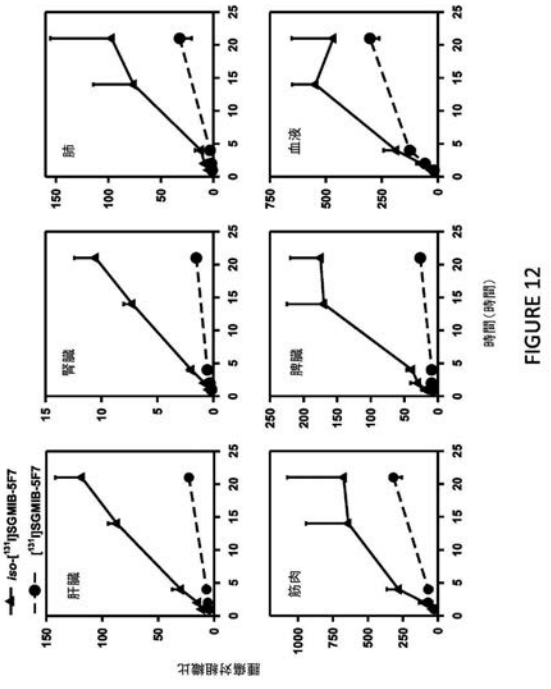
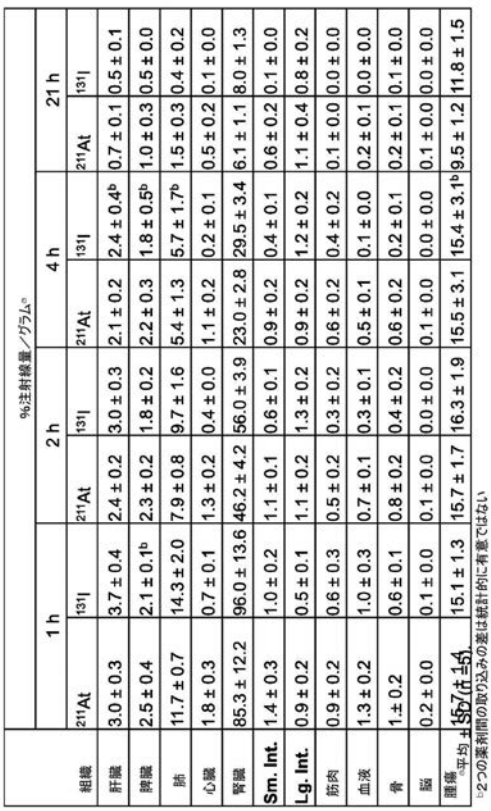


FIGURE 12

【図１３】

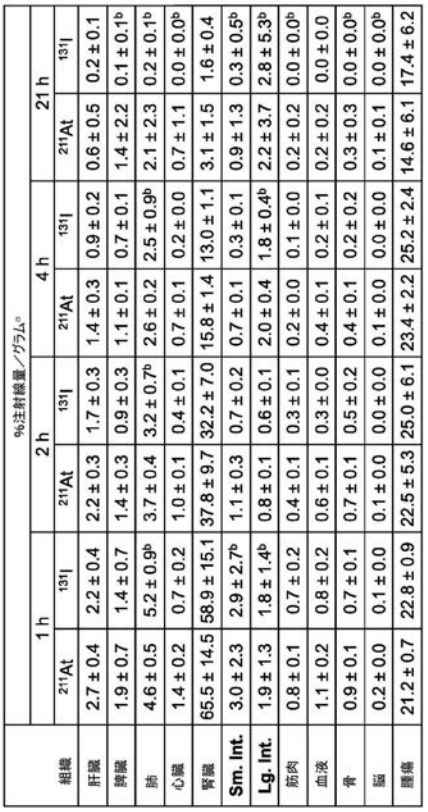


組織	%注射線量／グラム[a]									
	1 h		2 h		4 h		21 h			
	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I		
肝臓	3.0 ± 0.3	3.7 ± 0.4	2.4 ± 0.2	3.0 ± 0.3	2.1 ± 0.2	2.4 ± 0.4[b]	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.1		
脾臓	2.5 ± 0.4	2.1 ± 0.1[b]	2.3 ± 0.2	1.8 ± 0.2	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.5[b]	1.0 ± 0.3	0.5 ± 0.0		
肺	11.7 ± 0.7	14.3 ± 2.0	7.9 ± 0.8	9.7 ± 1.6	5.4 ± 1.3	5.7 ± 1.7[b]	1.5 ± 0.3	0.4 ± 0.2		
心臓	1.8 ± 0.3	0.7 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.4 ± 0.0	1.1 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0		
腎臓	85.3 ± 12.2	96.0 ± 13.6	46.2 ± 4.2	56.0 ± 3.9	23.0 ± 2.8	29.5 ± 3.4	6.1 ± 1.1	8.0 ± 1.3		
Sm. Int.	1.4 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.1 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.1 ± 0.0		
Lg. Int.	0.9 ± 0.2	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.4	0.8 ± 0.2		
筋肉	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
血液	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0		
骨	1± 0.2	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0		
脳	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
腫瘍	15.7 ± 1.4	15.1 ± 1.3	15.7 ± 1.7	16.3 ± 1.9	15.5 ± 3.1	15.4 ± 3.1[b]	9.5 ± 1.2	11.8 ± 1.5		

[a]平均±SD（n＝5）
[b]2つの薬剤間の取り込みの差は統計的に有意ではない

FIGURE 13

【図１４】



組織	%注射線量／グラム[a]									
	1 h		2 h		4 h		21 h			
	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I	^{211}At	^{131}I		
肝臓	2.7 ± 0.4	2.2 ± 0.4	2.2 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0.5	0.2 ± 0.1		
脾臓	1.9 ± 0.7	1.4 ± 0.7	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.3	1.1 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.4 ± 2.2	0.1 ± 0.1[b]		
肺	4.6 ± 0.5	5.2 ± 0.9[b]	3.7 ± 0.4	3.2 ± 0.7[b]	2.6 ± 0.2	2.5 ± 0.9[b]	2.1 ± 2.3	0.2 ± 0.1[b]		
心臓	1.4 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.7 ± 1.1	0.0 ± 0.0[b]		
腎臓	65.5 ± 14.5	58.9 ± 15.1	37.8 ± 9.7	32.2 ± 7.0	15.8 ± 1.4	13.0 ± 1.1	3.1 ± 1.5	1.6 ± 0.4		
Sm. Int.	3.0 ± 2.3	2.9 ± 2.7[b]	1.1 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.9 ± 1.3	0.3 ± 0.5[b]		
Lg. Int.	1.9 ± 1.3	1.8 ± 1.4[b]	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	2.0 ± 0.4	1.8 ± 0.4[b]	2.2 ± 3.7	2.8 ± 5.3[b]		
筋肉	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0[b]		
血液	1.1 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0		
骨	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0[b]		
脳	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0[b]		
腫瘍	21.2 ± 0.7	22.8 ± 0.9	22.5 ± 5.3	25.0 ± 6.1	23.4 ± 2.2	25.2 ± 2.4	14.6 ± 6.1	17.4 ± 6.2		

[a]平均±SD（n＝5）
[b]2つの薬剤間の取り込みの差は統計的に有意ではない

FIGURE 14

【配列表】
20205123480000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2018/052211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K51/10 A61P35/00 C07D403/12 C07D207/46
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07D A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016/016021 A1 (UNIV BRUXELLES [BE]) 4 February 2016 (2016-02-04)	1-5,7,9, 11-16, 31,32
Y	claims 13,17 examples 1,2,5-9 page 69, lines 1-11 -----	1-33
X	WO 2014/179715 A1 (UNIV DUKE [US]) 6 November 2014 (2014-11-06)	1,3-5,7, 9,11,12, 16-19, 23,26, 27,31-33
Y	figures 1,2 paragraphs [0003], [0004] -----	1-33
	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 June 2018	11/06/2018

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fitz, Wolfgang

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2018/052211

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/120251 A2 (UNIV DUKE [US]; ZALUTSKY MICHAEL ROD [US]; POZZI OSCAR RODOLFO [US]) 25 October 2007 (2007-10-25)	1-5,11, 12,16,32
Y	paragraph [0063] examples 5,7,11A-12 paragraph [0039]	1-33

X	CHOI ET AL.: NUCL MED BIOL, vol. 41, no. 10, 2014, pages 802-812, XP055312538, cited in the application	1-5,7, 9-16,31, 32
Y	abstract schemes 1-4 page 806, column 1, paragraph 2 page 811, column 2, conclusion	1-33

X	PRUSZYNSKI M; KOUMARIANOU E; VAIDYANATHAN G; REVETS H; DEVOOGDT N; LAHOUTTE T ET AL.: "Improved tumor targeting of anti-HER2 nanobody through N-succinimidyl 4-guanidinomethyl-3-iodobenzoate radiolabeling", J NUCL MED, vol. 55, 2014, pages 650-6, XP055180992, cited in the application	1-5,7,9, 11-16, 31,32
Y	abstract	1-33

X	VAIDYANATHAN G; ZALUTSKY MR: "Synthesis of N-succinimidyl 4-guanidinomethyl-3-[*I]iodobenzoate: a radio-iodination agent for labeling internalizing proteins and peptides", NATURE PROT, vol. 2, 2007, pages 282-6, XP009133348, cited in the application	1-5,7,9, 11,12, 16,32
Y	page 283; figure 1 page 2, column 1, lines 6-31	1-33

Y	XAVIER C; VANEYCKEN I; D'HUYVETTER M; HEEMSKERK J; KEYAERTS M; VINCKE C ET AL.: "Synthesis, preclinical validation, dosimetry, and toxicity of Ga-NOTA-anti-HER2 nanobodies for iPET imaging of HER2 receptor expression in cancer", J NUCL MED, vol. 54, 2013, pages 776-784, XP055181016, cited in the application abstract figure 1	1-33

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2018/052211

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016016021 A1	04-02-2016	AU 2015295687 A1	02-03-2017
		CA 2954359 A1	04-02-2016
		CN 106573983 A	19-04-2017
		EP 3174559 A1	07-06-2017
		JP 6289733 B2	07-03-2018
		JP 2017528435 A	28-09-2017
		KR 20170032463 A	22-03-2017
		US 2016030606 A1	04-02-2016
		WO 2016016021 A1	04-02-2016
WO 2014179715 A1	06-11-2014	EP 2991687 A1	09-03-2016
		US 2016074541 A1	17-03-2016
		WO 2014179715 A1	06-11-2014
WO 2007120251 A2	25-10-2007	CA 2634666 A1	25-10-2007
		DK 1968651 T3	17-06-2013
		EP 1968651 A2	17-09-2008
		JP 5264500 B2	14-08-2013
		JP 2009521469 A	04-06-2009
		US 2009304585 A1	10-12-2009
		WO 2007120251 A2	25-10-2007

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	***35/04***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/04		
Ａ６１Ｋ	***51/10***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	51/10	１００	
Ｃ１２Ｎ	*15/13*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	51/10	２００	
			Ｃ１２Ｎ	15/13		

(31)優先権主張番号 62/529,532
(32)優先日 平成29年7月7日(2017.7.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/583,134
(32)優先日 平成29年11月8日(2017.11.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 ヴァイッドヤナタン, ガネサン
アメリカ合衆国 ノースカロライナ ２７５１６, チャペル ヒル, パラフォックス ドライブ ６０３

Ｆターム(参考) 4C084 AA12 NA14 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272
4C085 HH03 KA03 KA29 KB07 KB11 KB12 KB15 KB17 KB18 KB19
KB20
4H045 AA11 AA20 AA30 BA51 BA57 BA71 CA40 DA76 EA28 FA74