

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6055417号
(P6055417)

(45) 発行日 平成28年12月27日 (2016. 12. 27)

(24) 登録日 平成28年12月9日 (2016. 12. 9)

(51) Int. Cl.

A 6 1 K 51/00 (2006. 01)

F 1

A 6 1 K 49/02

Z

請求項の数 11 (全 29 頁)

(21) 出願番号	特願2013-542563 (P2013-542563)	(73) 特許権者	305040710
(86) (22) 出願日	平成23年12月9日 (2011. 12. 9)		ジーイー・ヘルスケア・リミテッド
(65) 公表番号	特表2014-500268 (P2014-500268A)		イギリス国エイチビー7・9エヌエイ、バ
(43) 公表日	平成26年1月9日 (2014. 1. 9)		ッキンガムシャー、リトル・チャルフォン
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/072352		ト、アメルシャム・プレイス
(87) 国際公開番号	W02012/076697	(74) 代理人	100137545
(87) 国際公開日	平成24年6月14日 (2012. 6. 14)		弁理士 荒川 聡志
審査請求日	平成26年12月2日 (2014. 12. 2)	(74) 代理人	100105588
(31) 優先権主張番号	61/421, 390		弁理士 小倉 博
(32) 優先日	平成22年12月9日 (2010. 12. 9)	(74) 代理人	100129779
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 黒川 俊久

最終頁に続く

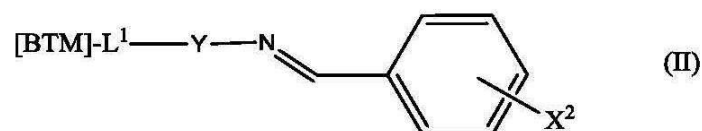
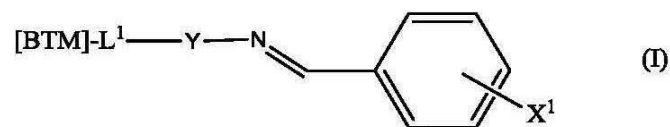
(54) 【発明の名称】 放射性トレーサー組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式 (I) の造影剤を以下の式 (II) の2種以上の非放射性アリアル誘導体及び生体適合性担体と共に含む、哺乳類への投与に適した形態の放射性医薬組成物であって、当該組成物中に存在する式 (II) の誘導体の合計濃度が $150 \mu\text{g} / \text{mL}$ 未満である、放射性医薬組成物。

【化 1】



10

20

式中、

B T Mは生体ターゲティング部分であり、

L^1 は式 $-(A)_m-$ の合成リンカー基であって、各Aは独立に $-CR_2-$ 、 $-CR=CR-$ 、 $-C(C)-$ 、 $-CR_2CO_2-$ 、 $-CO_2CR_2-$ 、 $-NRCO-$ 、 $-CONR-$ 、 $-CR=N-O-$ 、 $-NR(C=O)NR-$ 、 $-NR(C=S)NR-$ 、 $-SO_2NR-$ 、 $-NRSO_2-$ 、 $-CR_2OCR_2-$ 、 $-CR_2SCR_2-$ 、 $-CR_2NRCR_2-$ 、 C_{4-8} シクロヘテロアルキレン基、 C_{4-8} シクロアルキレン基、 $-Ar-$ 、 $-NR-Ar-$ 、 $-O-Ar-$ 、 $-Ar-(CO)-$ 、アミノ酸、糖又は単分散ポリエチレングリコール(PEG)構成ブロックであり、各Arは独立に C_{5-12} アリーレン基又は C_{3-12} ヘテロアリーレン基であり、

10

各Rは独立にH、 C_{1-4} アルキル、 C_{2-4} アルケニル、 C_{2-4} アルキニル、 C_{1-4} アルコシアルキル又は C_{1-4} ヒドロキシアルキルから選択され、

mは1～20の整数であり、

Yは $-O-$ であり、

X^1 は ^{18}F であり、

X^2 は $-N^+(CH_3)_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 又は $-OH$ であり、

B T M、 L^1 及びYは式(I)及び(II)で同一である。

【請求項2】

B T Mが、単一のアミノ酸、3～100残基ペプチド、酵素基質、酵素アンタゴニスト、酵素アゴニスト、酵素阻害剤又はレセプター結合化合物を含む、請求項1記載の放射性医薬組成物。

20

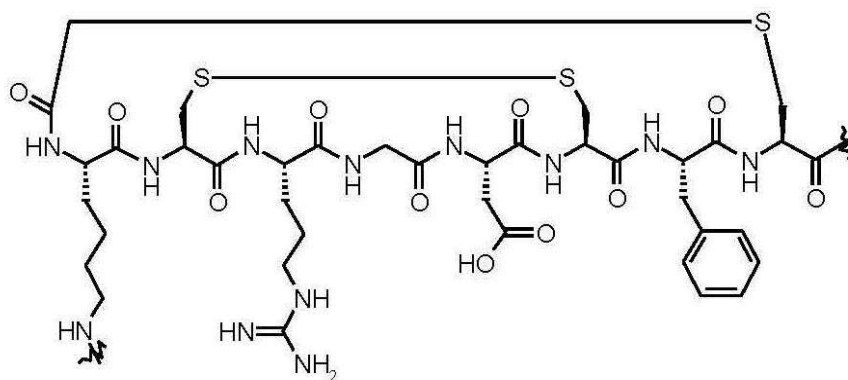
【請求項3】

B T MがRGDペプチドを含む、請求項1又は請求項2記載の放射性医薬組成物。

【請求項4】

B T Mが以下のフラグメントを含むペプチドである、請求項1乃至請求項3のいずれか1項記載の放射性医薬組成物。

【化2】



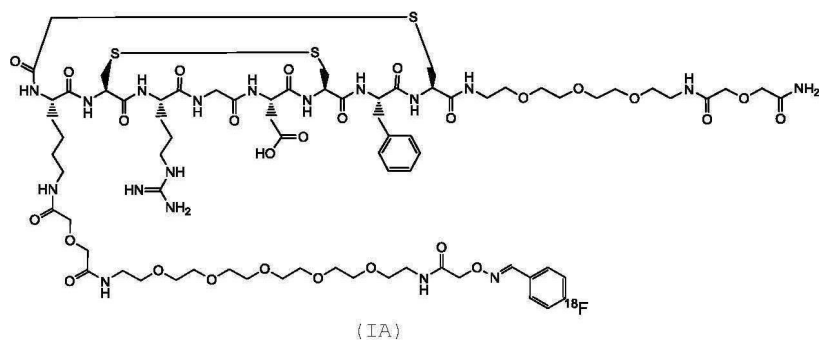
30

40

【請求項5】

造影剤が以下の式(IA)の造影剤である、請求項1乃至請求項4のいずれか1項記載の放射性医薬組成物。

【化 3】

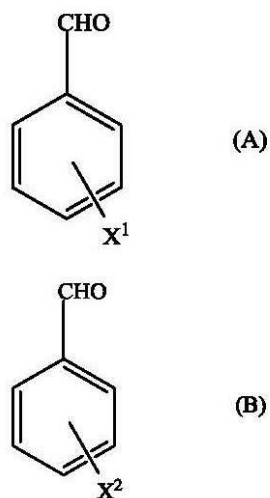


10

【請求項 6】

以下の式 (A) の放射性アルデヒドの溶液を以下の式 (B) の 2 種以上の非放射性アルデヒドと共に含む組成物であって、当該組成物中に存在する式 (B) の誘導体の合計濃度が $150 \mu\text{g} / \text{mL}$ 未満である、組成物。

【化 4】



20

30

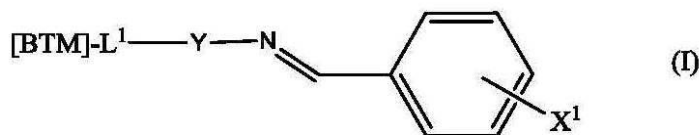
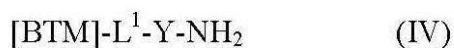
式中、 X^1 は ^{18}F であり、 X^2 は $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 又は $-\text{OH}$ である。

【請求項 7】

生体ターゲティング部分を放射性標識する方法であって、
 (i) 以下の式 (IV) のアミノオキシ基で官能化された生体ターゲティング部分を用意する段階と、
 (ii) 段階 (i) の官能化生体ターゲティング部分と、請求項 6 記載の放射性アルデヒド組成物との反応によって、式 (A) の放射性アルデヒドを前記アミノオキシ基と縮合させて、以下の式 (I) の放射性標識生体ターゲティング部分を得る段階とを含む方法。

40

【化 5】



10

式中、BTM、 L^1 、Y及び X^1 は請求項1乃至請求項5のいずれか1項で定義した通りである。

【請求項8】

自動合成装置を用いて実施される、請求項7記載の方法。

【請求項9】

当該放射性医薬組成物が分布した身体の少なくとも一部のPET画像を生成する段階を含むヒト又は動物の身体のイメージング方法に使用される請求項1乃至請求項5のいずれか1項記載の放射性医薬組成物。

20

【請求項10】

前記方法が薬剤によるヒト又は動物の身体の治療の効果をモニターするために繰返し実施され、前記イメージングが薬剤による治療の前後又は適宜途中に実施される、請求項9記載の放射性医薬組成物。

【請求項11】

当該放射性医薬組成物が分布した身体の少なくとも一部のPET画像を生成する段階を含むイメージング方法を含む、ヒト又は動物の身体の診断方法に使用される請求項1乃至請求項5のいずれか1項記載の放射性医薬組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、 ^{18}F 標識生体ターゲティング部分を含む改良放射性トレーサー造影剤組成物であって、インビロイメージングに影響を与える不純物が同定されて抑制された組成物に関する。上記改良組成物を、放射性トレーサー組成物の調製に有用な放射性フッ素化アルデヒド組成物と共に含む放射性医薬品も提供する。本発明は、上記放射性医薬組成物を用いたイメージング及び/又は診断方法も包含する。

【背景技術】

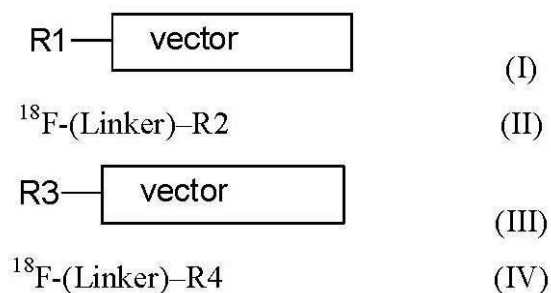
40

【0002】

国際公開2004/080492には、以下の式(I)の化合物と式(II)の化合物との反応又は式(III)の化合物と式(IV)の化合物との反応によってそれぞれ以下の式(V)又は(VI)のコンジュゲートを得ることを含むベクターの放射性フッ素化法が開示されている。

【0003】

【化 1】



10

式中、

R 1 はアルデヒド基、ケトン基、アセタールのような保護アルデヒド、ケタールのような保護ケトン、或いは酸化剤を用いてアルデヒド又はケトンに迅速かつ効率的に酸化することのできる官能基（例えばジオール又はN - 末端セリン残基）であり、

R 2 は、第一級アミン、第二級アミン、ヒドロキシルアミン、ヒドラジン、ヒドラジド、アミノオキシ、フェニルヒドラジン、セミカルバジド及びチオセミカルバジドから選択される基であって、好ましくはヒドラジン、ヒドラジド又はアミノオキシ基であり、

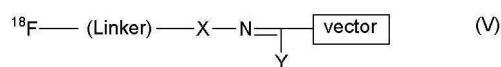
20

R 3 は、第一級アミン、第二級アミン、ヒドロキシルアミン、ヒドラジン、ヒドラジド、アミノオキシ、フェニルヒドラジン、セミカルバジド又はチオセミカルバジドから選択される基であって、好ましくはヒドラジン、ヒドラジド又はアミノオキシ基であり、

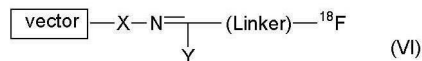
R 4 はアルデヒド基、ケトン基、アセタールのような保護アルデヒド、ケタールのような保護ケトン、或いは酸化剤を用いてアルデヒド又はケトンに迅速かつ効率的に酸化することのできる官能基（例えばジオール又はN - 末端セリン残基）である。

【 0 0 0 4 】

【化 2】



30



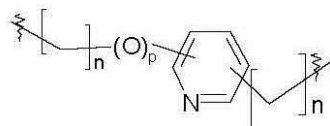
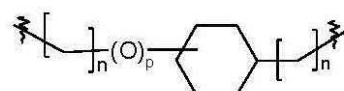
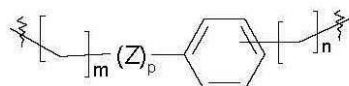
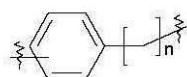
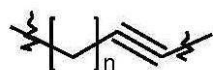
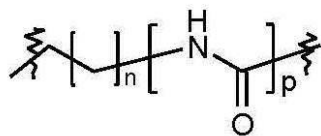
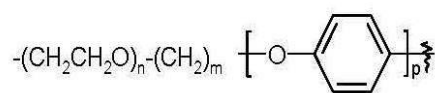
式中、X は - CO - NH - 、 - NH - 、 - O - 、 - NHCONH - 又は - NHCSNH - であって、好ましくは - CO - NH - 、 - NH - 又は - O - であり、Y はH、アルキル又はアリール置換基であり、

40

式 (I I) 、 (I V) 、 (V) 及び (V I) のリンカー基は以下のものから選択される。

【 0 0 0 5 】

【化 3】



10

20

30

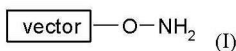
式中、 n は 0 ~ 20 の整数であり、 m は 1 ~ 10 の整数であり、 p は 0 又は 1 の整数であり、 Z は O 又は S である。

【0006】

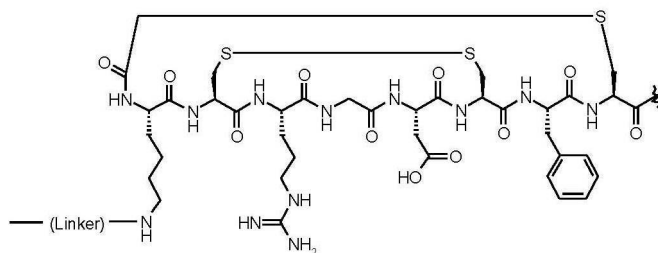
国際公開 2006/030291 には、以下の式 (I) の化合物と式 (II) の化合物との反応によって以下の式 (III) の化合物を得ることを含む放射性フッ素化法が開示されている。

【0007】

【化 4】



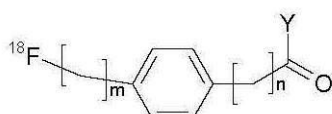
式中、ベクターは以下のフラグメントを含むものである。



10

【 0 0 0 8 】

【化 5】



(II)

20

式中、

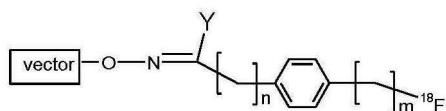
n は 0 ~ 20 の整数であり、

m は 0 ~ 10 の整数であり、

Y は水素、C₁₋₆アルキル又はフェニルである。

【 0 0 0 9 】

【化 6】



(III)

30

式中、m、n 及び Y は式 (II) の化合物で定義した通りであり、ベクターは式 (I) の化合物で定義した通りである。

【 0 0 1 0 】

Glaser et al [Bioconj. Chem., 19(4), 951-957 (2008)] には、¹⁸F - フルオロベンズアルデヒドを始めとする ¹⁸F 標識アルデヒドの合成並びにそれらをアミノオキシ官能化環式 RGD ペプチドと結合させることが記載されている。

40

【 0 0 1 1 】

Speranza et al [Appl. Rad. Isotop., 67, 1664-1669 (2009)] には、TRACERlab (商標) 装置を用いた [¹⁸F] - フルオロベンズアルデヒド ([¹⁸F] - FBA) の自動合成が記載されている。 [¹⁸F] - FBA の精製に、手製の精製デバイスが使用されている。Speranza et al には、自動合成装置での合成には、HPLC 精製よりもカートリッジ精製の方が好ましいと記載されている。ただし、それらのカートリッジ法では、ジクロロメタン又はク

50

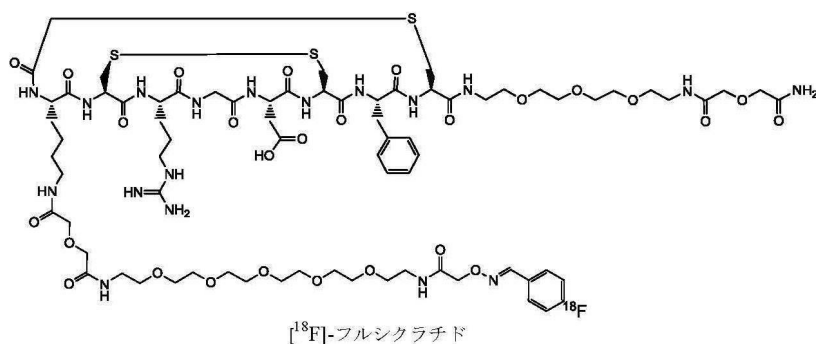
ロ口ホルムが $[^{18}\text{F}]$ -FBA精製の最良の溶媒であると示唆されている。いずれの溶媒も、インビボでの使用には不適切な毒性を有しており、水と混和しない。そのため、この方法は放射性医薬品の調製には適していない。

【0012】

Battle et al [J. Nucl. Med., 52(3), 424-430 (2011)]には、 $[^{18}\text{F}]$ -フルシクラチド(fluciclatide)による抗血管新生療法のモニタリングについて開示されている。

【0013】

【化7】



Battle et alは、水で希釈し、固相抽出(SPE)カートリッジで捕捉することによって、使用した $[^{18}\text{F}]$ -FBAを精製したと記載されている。前駆体、DM SO、Kryptofix-222及び親水性副生物のような不純物を廃液として溶出し、しかる後 $[^{18}\text{F}]$ -FBAをエタノールで溶出したと記載されている。しかし、本発明者らは、C18 SPEカートリッジを使用すると、前駆体の一部しか廃液として溶出されず、残りは $[^{18}\text{F}]$ -FBAをエタノールで溶出する際に同時に溶出するという知見を得た。

【0014】

したがって、生体ターゲティング部分を ^{18}F で標識するための代替法が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【0015】

本発明は、アミノオキシ-又はヒドラジン-官能化BTMへの ^{18}F -標識アルデヒドの結合によって得られる、改良 ^{18}F -放射性標識生体ターゲティング部分(BTM)組成物を提供する。本発明は、かかるアルデヒド中に存在する不純物の詳細な解析に基づくものであり、これらがどのようにして放射性標識BTM生成物中に持ち込まれるか並びに不要な不純物種を抑制するにはどのようにするのが最適かという知見に基づく。これらの不純物の多くは従来技術では認識されておらず、かかる従来技術の薬剤は、イメージング特性に悪影響を与えかねない不都合な化学種を含んでいた。

【0016】

さらに、本発明の改良組成物は、調製を短時間で行うことができ、使用前の調製及び精製ステップでの ^{18}F (半減期109分)放射能含有量の損失を最小限に抑えることができる。本発明の組成物は、市販の自動合成装置による自動化に適した方法で得ることができ、従来技術のHPLC法(自動化できない)に対する長所である。自動化によって、再現性が向上し、オペレーターの被曝線量を低減できる。

【0017】

さらに、生成物の放射化学収率及び純度の向上は、同じ量の放射性生成物を得るのに必要な官能化BTMの使用量が少なくてすむことを意味する。非標識BTMは、生体内で同じ生物学的部位に対して競合するので、官能化BTMの存在量の低下は、放射性標識生成

物の効力を保持するのに役立つ。さらに B T M は、例えば高価で入手に時間がかかる複合ポリペプチド又はタンパク質であることがあるので、時間 / 材料の効率の点で重要である。

【 0 0 1 8 】

本発明は、所望¹⁸F - 放射性フッ素化 B T M の濃度が約 4 0 倍も向上し、化学的不純物が約 9 9 % (即ち約 1 0 0 倍) 低減した組成物を提供する。

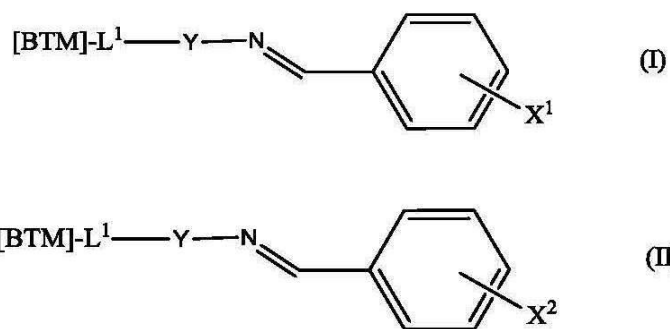
【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 9 】

第 1 の態様では、本発明は、式 (I) の造影剤を式 (I I) の 1 種以上の非放射性アリアル誘導体と共に含む組成物であって、当該組成物中に存在する式 (I I) の誘導体の合計濃度が 1 5 0 μ g / m L 未満である、組成物を提供する。

【 0 0 2 0 】

【 化 8 】



式中、

B T M は生体ターゲティング分子であり、

L¹ は式 - (A)_m - の合成リンカー基であって、各 A は独立に - C R₂ - 、 - C R = C R - 、 - C - C - 、 - C R₂ C O₂ - 、 - C O₂ C R₂ - 、 - N R C O - 、 - C O N R - 、 - C R = N - O - 、 - N R (C = O) N R - 、 - N R (C = S) N R - 、 - S O₂ N R - 、 - N R S O₂ - 、 - C R₂ O C R₂ - 、 - C R₂ S C R₂ - 、 - C R₂ N R C R₂ - 、 C₄₋₈ シクロヘテロアルキレン基、C₄₋₈ シクロアルキレン基、- A r - 、- N R - A r - 、- O - A r - 、- A r - (C O) - 、アミノ酸、糖又は単分散ポリエチレングリコール (P E G) 構成ブロックであり、各 A r は独立に C₅₋₁₂ アリーレン基又は C₃₋₁₂ ヘテロアリーレン基であり、

各 R は独立に H、C₁₋₄ アルキル、C₂₋₄ アルケニル、C₂₋₄ アルキニル、C₁₋₄ アルコキシアルキル又は C₁₋₄ ヒドロキシアルキルから選択され、

m は 1 ~ 2 0 の整数であり、

Y は - O - 又は - N H - であり、

X¹ は¹⁸F、- O (C H₂)_q ¹⁸F 又は - O C H₂ - C H (O H) - C H₂ ¹⁸F であって、q は 2、3 又は 4 であり、

X² は - N⁺ (C H₃)₃、- N (C H₃)₂、- O C H₃、H、- C H₃、- O H、- S C H₃、- O C₆H₄ C H O 又は¹⁹F であり、

B T M、L¹ 及び Y は式 (I) 及び (I I) で同一である。

【 0 0 2 1 】

「組成物」という用語は、その通常の意味を有し、式 (I) の放射性標識 B T M と式 (I I) の 1 種以上の非放射性アリアル誘導体の混合物をいう。式 (I I) の複数の誘導体が組成物中に存在していてもよいが、式 (I) 及び (I I) において、組成物のすべての成分について B T M、L¹ 及び Y は同一であり、X¹ 及び X² は - C = N 基に対してフェニ

ル環の同じオルト、メタ又はパラ位に位置する。したがって、第 1 の態様に係る組成物の成分の相違点は X^1 及び X^2 の種類だけである。

【 0 0 2 2 】

「存在する式 (I I) の誘導体の合計濃度」という用語は、 X^2 が異なっていたとしても、存在する式 (I I) のすべての化合物の合計濃度をいう。一例として、本明細書の例 2 では、体積 1 . 1 m L のトリメチルアンモニウムベンズアルデヒド前駆体 3 . 3 m g を用いる (3 . 0 m g / m L 又は 3 0 0 0 μ g / m L) 。 7 7 G B q の [^{18}F] - フルオロベンズアルデヒドは約 0 . 0 7 2 μ g に等しい。したがって、化学的には、[^{18}F] - フッ化物に消費される前駆体は比較的少量であり、本発明の方法でなければ、式 (I I) の不純物レベルは大幅に増大してしまう。1 5 0 μ g / m L 未満というレベルは、不純物の 9 0 % 以上、好ましくは 9 5 % 以上を除去しておくことが必要とされる。好ましくは、式 (I I) の誘導体の濃度は 1 0 0 μ g / m L 未満、さらに好ましくは 4 5 μ g / m L 未満である。定量化は H P L C - M S によって、既知不純物の標準試料に基づく校正曲線を参照してなされる。また、定量化に役立てるため標準試料の吸光係数も求めた。 X^2 が ^{19}F のときは、使用した ^{18}F 放射性同位体に存在する ^{19}F 担体に相当する。かかる種は式 (I I) の非放射性不純物の一因になる。

10

【 0 0 2 3 】

「含む」という用語は、本願全体を通してその通常の意味を有していて、組成物が標記の成分を有していなければならないが、明示していないその他の化合物又は化学種が存在していてもよいことを意味する。この用語は、組成物が標記の成分を有していて他の化合物又は化学種が存在しないことを意味する「から本質的になる」ことを好ましい部分集合として包含する。

20

【 0 0 2 4 】

式 (I) の造影剤は、放射性フッ素化生体ターゲティング部分 (B T M) を含む。「造影剤」という用語は、哺乳類の身体のイメージングに適した化合物を意味する。好ましくは、哺乳類は、インタクトな哺乳類の生体であり、さらに好ましくはヒトである。好ましくは、造影剤は、哺乳類の身体に最小限の侵襲的方法で (つまり医学的専門技術の下で実施したときに哺乳類被験体に対して実質的な健康上のリスクを伴わずに) 投与できる。かかる最小限の侵襲的な投与は、好ましくは、被験体の末梢静脈への静脈内投与であり、局所又は全身麻酔を必要としない。

30

【 0 0 2 5 】

本明細書で用いる「インビボイメージング」という用語は、哺乳類被験体の内部構造の全部又は一部の画像を非侵襲的に生成する技術をいう。本発明の好ましいイメージング技術は陽電子放射断層撮影 (P E T) である。

【 0 0 2 6 】

「生体ターゲティング部分」 (B T M) という用語は、投与後に、インビボで哺乳類の身体の特定の部位に選択的に取り込まれるか又は局在化する化合物を意味する。かかる部位は、例えば、特定の病態に関係していることもあるし、臓器又は代謝過程がいかに機能しているかの指標となることもある。

【 0 0 2 7 】

「アミノ酸」という用語は、L - 又は D - アミノ酸、アミノ酸類似体 (例えば、ナフチルアラニン) 或いはアミノ酸模倣体を意味し、これらは天然のもの又は純粹に合成由来のものであってよく、光学的に純粹なもの (即ち、単一の鏡像異性体) 、したがってキラルなものであるか、或いは鏡像異性体の混合物であってよい。本明細書中では、アミノ酸に関する通常の三文字略語又は一文字略語を用いる。好ましくは、本発明のアミノ酸は光学的に純粹なものである。

40

【 0 0 2 8 】

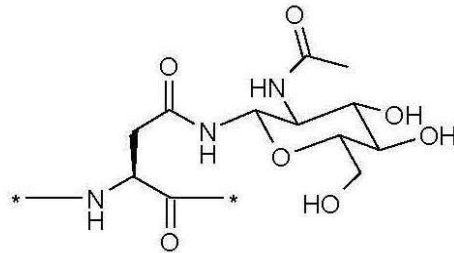
「糖」という用語は、単糖、二糖又は三糖を意味する。好適な糖には、グルコース、ガラクトース、マルトース、マンノース及びラクトースがある。任意には、アミノ酸への容易なカップリングを可能にするように糖を官能化することができる。即ち、例えばアミノ

50

酸のグルコサミン誘導体は、ペプチド結合を介して他のアミノ酸に結合させることができる。アスパラギンのグルコサミン誘導体（Nova Biochem社から市販）はその一例である。

【0029】

【化9】



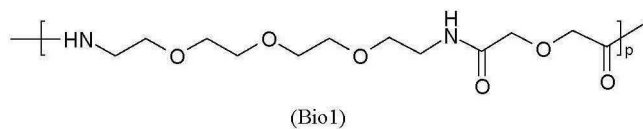
10

「ポリエチレングリコールポリマー」又は「PEG」という用語は、例えば“ The Merck Index ”, 14th Edition, 7568に記載されているような通常の意味を有し、一般式 $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ (n は4以上の整数である。)の液体又は固体ポリマーである。本発明のポリエチレングリコールポリマーは線状でも枝分れでもよいが、好ましくは線状である。ポリマーは好ましくは非デンドリマーである。好ましいPEG含有リンカー基は、式Bio1又はBio2の単分散PEG様構造のオリゴマー化で得られる単位を含む。

20

【0030】

【化10】

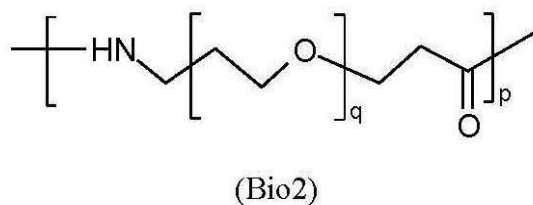


30

式Bio1（式中、 p は1～10の整数である。）の17-アミノ-5-オキソ-6-アザ-3,9,12,15-テトラオキサヘプタデカン酸。或いは、式Bio2のプロピオン酸誘導体に基づくPEG様構造も使用できる。

【0031】

【化11】



40

式中、 p は式Bio1について定義した通りであり、 q は3～15の整数である。式Bio2において、 p は好ましくは1又は2であり、 q は好ましくは5～12である。

50

【 0 0 3 2 】

式 (I) 及び (I I) では、 $C = N$ 結合での異性は、E - 又は Z - ジアステレオマーが存在し得ることを意味する。1 種類の異性体のみを示したが、式 (I) 及び (I I) は、かかる異性体の混合物、並びにかかるジアステレオマーの 1 種類が濃縮された混合物、並びに純粋なジアステレオマーを包含する。

【 0 0 3 3 】

好ましい実施形態

第 1 の態様の式 (I) では、 X^1 は、好ましくは ^{18}F 又は $-O(CH_2)_q^{18}F$ (q は 2 又は 3 である。) であり、さらに好ましくは ^{18}F 又は $-O(CH_2)_3^{18}F$ 、最も好ましくは ^{18}F である。

10

【 0 0 3 4 】

第 1 の態様の式 (I) 及び (I I) では、 X^1 及び X^2 は、好ましくはオルト又はパラ位のいずれかに位置し、さらに好ましくはパラ位に位置する。

【 0 0 3 5 】

式 (I) 及び (I I) では、 Y は好ましくは $-O-$ である。さらに好ましくは、 Y は $-O-$ であり、 X^1 及び X^2 は好ましくはパラ位に位置する。かかる組合せの各々において、好ましい B T M 基は以下で説明する通りである。

【 0 0 3 6 】

B T M は合成品でも天然品であってもよいが、好ましくは合成品である。「合成品」という用語はその通常の意味を有し、つまり、天然の起源 (例えば、哺乳類の身体) から単離したものではなく、人工のものをいう。かかる化合物は、その製造及び不純物プロファイルを十分に制御できるという利点を有する。したがって、天然由来のモノクローナル抗体及びそのフラグメントは、本明細書で用いる「合成品」という用語の範疇には属さない。B T M は、好ましくは非タンパク系のもので、タンパク質を含まない。

20

【 0 0 3 7 】

B T M の分子量は、好ましくは 3 0 0 0 0 ダルトン以下である。さらに好ましくは、分子量は 2 0 0 ~ 2 0 0 0 0 ダルトンの範囲内にあり、最も好ましくは 3 0 0 ~ 1 8 0 0 0 ダルトンの範囲内にあり、4 0 0 ~ 1 6 0 0 0 ダルトンが特に好ましい。B T M が非ペプチドである場合、B T M の分子量は好ましくは 3 0 0 0 ダルトン以下、さらに好ましくは 2 0 0 ~ 2 5 0 0 ダルトン、最も好ましくは 3 0 0 ~ 2 0 0 0 ダルトンであり、4 0 0 ~ 1 5 0 0 ダルトンが特に好ましい。

30

【 0 0 3 8 】

B T M の分子量は、好ましくは 1 0 0 0 0 ダルトン以下である。さらに好ましくは、分子量は 2 0 0 ~ 9 0 0 0 ダルトンの範囲内にあり、最も好ましくは 3 0 0 ~ 8 0 0 0 ダルトンの範囲内にあり、4 0 0 ~ 6 0 0 0 ダルトンが特に好ましい。B T M が非ペプチド系のものである場合、B T M の分子量は好ましくは 3 0 0 0 ダルトン以下、さらに好ましくは 2 0 0 ~ 2 5 0 0 ダルトン、最も好ましくは 3 0 0 ~ 2 0 0 0 ダルトンであり、4 0 0 ~ 1 5 0 0 ダルトンが特に好ましい。

【 0 0 3 9 】

生体ターゲティング部分は、好ましくは、3 ~ 8 0 残基のペプチド、ペプチド類似体、ペプトイド又はペプチド模倣体 (これらは線状ペプチド、環状ペプチド又はこれらの組合せであってもよい。) 、単一のアミノ酸、酵素基質、酵素アンタゴニスト、酵素アゴニスト (部分アゴニストを含。む) 又は酵素阻害剤、レセプター結合化合物 (レセプター基質、アンタゴニスト、アゴニスト又は基質を含む。) 、オリゴヌクレオチド、或いはオリゴ DNA フラグメント又はオリゴ RNA フラグメントからなる。

40

【 0 0 4 0 】

「ペプチド」という用語は、ペプチド結合 (つまり、あるアミノ酸のアミンと別のアミノ酸のカルボキシルとを連結するアミド結合) で連結した 2 以上のアミノ酸 (以下で定義) を含む化合物を意味する。「ペプチド模倣体」又は「模倣体」という用語は、ペプチド又はタンパク質の生物活性を模倣するが、化学的性状がペプチドでない (つまり、ペプチ

50

ド結合（アミノ酸間のアミド結合）を含まない）生物活性化合物をいう。ここでは、ペプチド模倣体という用語は広義に用いられ、性状が完全にはペプチドでない分子（例えば、プソイドペプチド、セミペプチド及びペプトイド）を包含する。「ペプチド類似体」という用語は、以下に記載する1種以上のアミノ酸類似体を含むペプチドをいう。Synthesis of Peptides and Peptidomimetics, M. Goodman et al, Houben-Weyl Vol E22c of Methods in Organic Chemistry, Thieme (2004) 参照。

【0041】

B T Mが酵素基質、酵素アンタゴニスト、酵素アゴニスト、酵素阻害剤又はレセプター結合化合物である場合、好ましくは非ペプチドであり、さらに好ましくは合成品である。「非ペプチド」という用語は、ペプチド結合（つまり2つのアミノ酸残基間のアミド結合）を含まない化合物を意味する。好適な酵素の基質、アンタゴニスト、アゴニスト又は阻害剤には、グルコース及びグルコース類似体（例えば、フルオロデオキシグルコース）、脂肪酸、或いはエラスターゼ、アンギオテンシンII又はメタロプロテイナーゼ阻害剤がある。好ましい非ペプチド系アンギオテンシンIIアンタゴニストは、ロサルタンである。好適な合成レセプター結合化合物には、エストラジオール、エストロゲン、プロゲステロン、プロゲステロン及び他のステロイドホルモン、ドーパミンD-1又はD-2レセプター用リガンド又はトロパンのようなドーパミン輸送体用リガンド、並びにセロトニンレセプター用リガンドがある。

【0042】

B T Mは、最も好ましくは3～100残基ペプチド又はペプチド類似体である。B T Mがペプチドである場合、好ましくは4～30残基ペプチドであり、最も好ましくは5～28残基ペプチドである。B T Mがペプチドである場合、好ましいかかるペプチドには以下のものがある。

- ソマトスタチン、オクトレオチド及び類似体。
- S Tレセプターに結合するペプチド（ここで、S Tとは大腸菌（E. coli）その他の微生物によって産生される耐熱性毒素をいう。）。
- ボンベシン。
- 血管作用性小腸ペプチド。
- ニューロテンシン。
- ラミニンフラグメント、例えば、Y I G S R、P D S G R、I K V A V、L R E 及び K C Q A G T F A L R G D P Q G。
- 白血球集積部位をターゲティングするためのN-ホルミル走化性ペプチド。
- 血小板第4因子（P F 4）及びそのフラグメント。
- R G D（A r g - G l y - A s p）含有ペプチド。例えば、血管新生をターゲティングし得るもの。[R. Pasqualini et al., Nat Biotechnol. 1997 Jun; 15(6): 542-6]、[E. Ruoslahti, Kidney Int. 1997 May; 51(5): 1413-7]。
- ₂-抗プラスミン、フィブロネクチン、₂-カゼイン、フィブリノーゲン又はトロンボスポンジンのペプチドフラグメント。₂-抗プラスミン、フィブロネクチン、₂-カゼイン、フィブリノーゲン又はトロンボスポンジンのアミノ酸配列は、以下の参考文献で見出すことができる。₂-抗プラスミン前駆体[M. Tone et al., J. Biochem, 102, 1033(1987)]、₂-カゼイン[L. Hansson et al, Gene, 139, 193(1994)]、フィブロネクチン[A. Gutman et al, FEBS Lett., 207, 145(1996)]、トロンボスポンジン1前駆体[V. Dixit et al, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 83, 5449(1986)]、R. F. Doolittle, Ann. Rev. Biochem., 53, 195(1984)。
- アンギオテンシンII: A s p - A r g - V a l - T y r - I l e - H i s - P r o -

10

20

30

40

50

Phe (E. C. Jorgensen et al, J. Med. Chem., 1979, Vol 22, 9, 1038 - 1044) 及び [Sar, Ile] アンギオテンシン I: Sar - Arg - Val - Tyr - Ile - His - Pro - Ile (R. K. Turker et al., Science, 1972, 177, 1203) のようなアンギオテンシンの基質又は阻害剤であるペプチド。

- アンギオテンシン I: Asp - Arg - Val - Tyr - Ile - His - Pro - Phe - His - Leu。

【0043】

BTMがペプチドである場合、ペプチドの一端又は両端（好ましくは両端）に代謝阻害基（ M^{IG} ）が結合している。このように両方のペプチド末端を保護することは、インビ
10
イメージング用途で重要である。さもないと、急速な代謝が起こって、BTMペプチドに対する選択的結合親和性が失われてしまうと予想されるからである。「代謝阻害基（ M^{IG} ）」という用語は、アミノ末端又はカルボキシ末端でのBTMペプチドの酵素（特にカルボキシペプチダーゼのようなペプチダーゼ）代謝を阻害又は抑制する生体適合性基を意味する。かかる基はインビボ用途で特に重要であり、当業者に周知であり、好適には、ペプチドアミン末端に関してはN - アシル化基 - $NH(C=O)R^G$ （式中、アシル基 - $(C=O)R^G$ は、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-10} アリール及びポリエチレングリコール（PEG）構成ブロックから選択される R^G を有する。）から選択される。好適なPEG基については、リンカー基（L）に関して上述した。好ましいPEG基は、式Bio1又はBio2（
20
上記）のバイオモディファイアーである。好ましいアミノ末端 M^{IG} 基はアセチル、ベンジルオキシカルボニル又はトリフルオロアセチルであり、最も好ましくはアセチルである。

【0044】

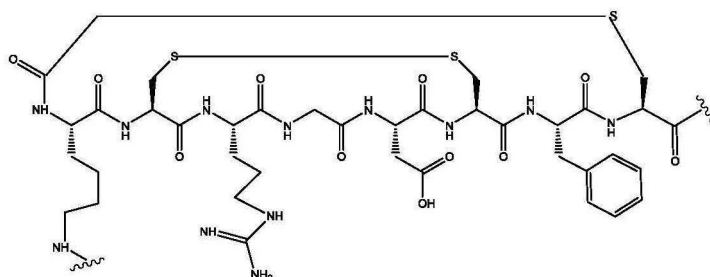
ペプチドカルボキシル末端に適した代謝阻害基には、カルボキサミド、tert - ブチルエステル、ベンジルエステル、シクロヘキシルエステル、アミノアルコール及びポリエチレングリコール（PEG）構成ブロックがある。BTMペプチドのカルボキシ末端アミノ酸残基に適した M^{IG} 基は、アミノ酸残基の末端アミンを C_{1-4} アルキル基（好ましくはメチル基）でN - アルキル化したものである。好ましい M^{IG} 基はカルボキサミド又はPEGであり、最も好ましい基はカルボキサミドである。

【0045】

好ましいBTMペプチドは、RGDペプチドである。さらに好ましいかかるRGDペ
30
チドは、以下のフラグメントを含む。

【0046】

【化12】



最も好ましいかかるRGDペプチドは、BTMが次の式（BTM1）のペプチドである
場合のペプチドである

【0047】

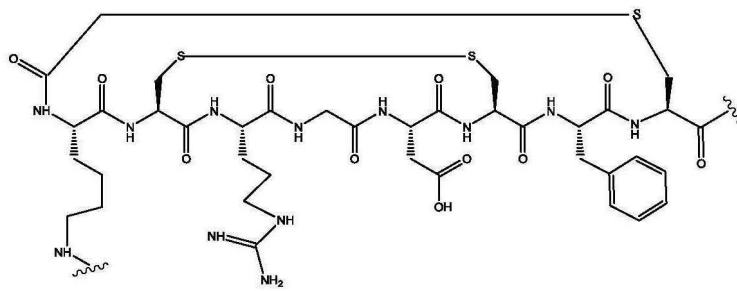
10

20

30

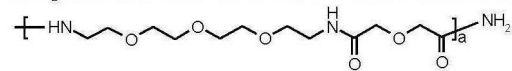
40

【化 1 3】



BTM1

式中、 X^7 は $-NH_2$ 又はPEG1のいずれかであり、PEG1は次式の通りである。



PEG1

式中、 a は1～10の整数である。

10

式BTM1において、 X^7 は好ましくはPEG1であり、「 a 」は好ましくは1である。

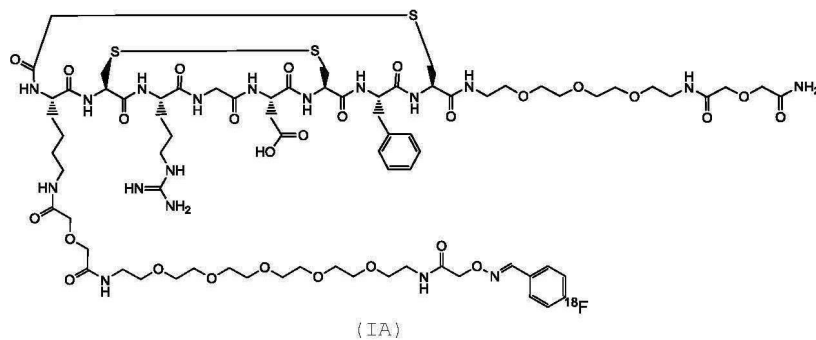
【0048】

式(I)の好ましい造影剤は式(IA)の $[^{18}F]$ -フルシクラチドである。

20

【0049】

【化 1 4】



(IA)

30

第1の態様の組成物では、 X^1 が ^{18}F であり、 X^2 が好ましくは $-N^+(CH_3)_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 又は $-OH$ である場合、さらに好ましくは式(II)の複数の誘導体は、 X^2 がこれらの基の3つすべてに等しくなるように存在する。これについては、第3の態様(後述)でさらに詳しく説明する。

【0050】

好ましくは、造影剤組成物は、無菌形態で、即ち第2の態様(後述)に記載の通り、哺乳類への投与に適した形態で提供される。

40

【0051】

第1の態様の造影剤組成物は、第4の態様(後述)に記載の通り得ることができる。

【0052】

第2の態様では、本発明は、第1の態様の造影剤組成物を、生体適合性担体と共に含む、哺乳類への投与に適した形態の放射性医薬組成物を提供する。

【0053】

第2の態様の造影剤組成物の好ましい態様は、第1の態様(上述)に定義した通りである。

【0054】

50

「哺乳類への投与に適した形態」という記載は、無菌でパイロジェンフリーであり、毒性又は有害作用を生じる化合物を含まず、生体適合性 pH (pH 4.0 ~ 10.5) で製剤化される組成物を意味する。かかる組成物は、インピボで塞栓を生じる危険性のある粒状物質を含んでおらず、しかも体液 (例えば、血液) と接触しても沈殿を生じないように製剤化される。かかる組成物は、生物学的に適合性の賦形剤のみを含み、好ましくは等張性である。

【0055】

「生体適合性担体」とは、造影剤を懸濁又は好ましくは溶解できる流体、特に液体であって、組成物が生理学的に認容できるもの、つまり毒性も耐え難い不快感も伴わずに哺乳類の身体に投与することができるようなものである。生体適合性担体は好適には注射可能な担体液であり、例えば、発熱物質を含まない注射用の滅菌水、食塩液のような水溶液 (これは注射用の最終製剤が等張性となるように調整するのに都合がよい)、1 種以上の張度調節物質 (例えば血漿陽イオンと生体適合性対イオンとの塩)、糖 (例えばグルコース又はスクロース)、糖アルコール (例えばソルビトール又はマンニトール)、グリコール (例えばグリセロール) その他の非イオン性ポリオール材料 (例えばポリエチレングリコール、プロピレングリコールなど) の水溶液である。好ましくは、生体適合性担体は発熱物質を含まない注射用水又は等張食塩水又はリン酸緩衝液である。

【0056】

造影剤及び生体適合性担体は各々、無菌健全性及びノ又は放射能安全性、さらに適宜ヘッドスペースの不活性ガス (例えば、窒素又はアルゴン) を維持できるとともに、注射器又はカニューレでの溶液の添加及び吸引も行うことのできる密封容器からなる適当なバイアル又は容器に入れた状態で供給される。かかる容器として好ましいのは、セプタムシールバイアルであり、気密蓋をオーバーシール (通常はアルミニウム製) と共にクリンプオンする。蓋は、無菌健全性を維持したまま皮下注射針で 1 回又は複数回穿刺するのに適したもの (例えば、クリンプオン式セプタムシール蓋) である。かかる容器は、所望に応じて (例えばヘッドスペースガスの変更又は溶液の脱気のため) 真空に蓋が耐えるとともに、酸素や水蒸気のような外部雰囲気ガスを侵入させずに減圧のような圧力変化に耐えるという追加の利点がある。

【0057】

好ましい多用量用容器は、患者の複数回分の用量を収容した単一バルクバイアル (例えば容積 10 ~ 50 cm³ のもの) からなり、臨床症状に応じて製剤の有効期間中様々な時間間隔で 1 回分の用量を臨床グレードの注射器に吸引することができる。プレフィルド型注射器は患者の 1 回分の用量つまり「単位用量」を収容するように設計され、そのため好ましくは使い捨てその他臨床用に適した注射器である。本発明の医薬組成物は、好ましくは 1 人の患者用に適した用量を有し、上述のような適当な注射器又は容器に入れて供給される。

【0058】

医薬組成物は、抗菌保存剤、pH 調整剤、充填剤、放射線防護剤、可溶化剤又はモル浸透圧濃度調整剤のような追加の添加剤を適宜含んでもよい。「放射線防護剤」という用語は、水の放射線分解で生じる含酸素フリーラジカルのような反応性の高いフリーラジカルを捕捉することによって、酸化還元反応のような分解反応を抑制する化合物を意味する。本発明の放射線防護剤は、好適には、アスコルビン酸、パラアミノ安息香酸 (つまり 4 - アミノ安息香酸)、ゲンチシン酸 (つまり 2, 5 - ジヒドロキシ安息香酸) 及びそれらの生体適合性陽イオンとの塩から選択される。「生体適合性陽イオン」(B⁺) という用語は、イオン化した負荷電基と塩を形成する正荷電の対イオンを意味する。この場合、正荷電対イオンも無毒性であり、したがって哺乳類の身体 (特に人体) への投与に適している。好適な生体適合性陽イオンの例としては、アルカリ金属であるナトリウム及びカリウム、アルカリ土類金属であるカルシウム及びマグネシウム、並びにアンモニウムイオンが挙げられる。好ましい生体適合性陽イオンはナトリウム及びカリウムであり、最も好ましくはナトリウムである。

【 0 0 5 9 】

放射性医薬組成物が、式 (I A) のフルシクラチドを含む場合、組成物は好ましくは放射線防護剤を含む。好ましくは、放射線防護剤は 4 - アミノ安息香酸ナトリウム (Na - p A B A) である。使用される Na - p A B A の好ましい濃度は 1 ~ 3 m g / m L、好ましくは 1 . 5 ~ 2 . 5 m g / m L、最も好ましくは約 2 . 0 m g / m L である。

【 0 0 6 0 】

「可溶化剤」という用語は、組成物に存在する添加剤であって、溶媒中での造影剤の溶解度を高める添加剤を意味する。かかる溶媒として好ましいのは水性媒質であり、したがって可溶化剤は好ましくは水中での溶解度を高める。かかる可溶化剤として好適なものとして、C₁₋₄アルコール、グリセリン、ポリエチレングリコール (P E G)、プロピレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ソルビタンモノオレエート、ポリソルベート、ポリ (オキシエチレン) ポリ (オキシプロピレン) ポリ (オキシエチレン) ブロック共重合体 (P l u r o n i c s (商標))、シクロデキストリン (例えば、 α 、 β 、 γ - 又は δ - シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン或いはヒドロキシプロピル - γ - シクロデキストリン) 及びレシチンがある。

10

【 0 0 6 1 】

「抗菌保存剤」という用語は、細菌、酵母又はカビなどの有害微生物の増殖を阻害する薬剤を意味する。抗菌保存剤は、使用する用量に応じてある程度の殺菌作用を示すこともある。本発明の抗菌保存剤の主な役割は、医薬組成物におけるこのような微生物の増殖を阻止することである。ただし、抗菌保存剤は、投与に先立って前記組成物の製造に使用されるキットの 1 種以上の成分における有害微生物の増殖の防止にも適宜使用できる。好適な抗菌保存剤には、パラベン類 (即ち、メチル、エチル、プロピル又はブチルパラベン或いはこれらの混合物)、ベンジルアルコール、フェノール、クレゾール、セトリミド及びチオメルサルがある。好ましい抗菌保存剤はパラベン類である。

20

【 0 0 6 2 】

「pH調整剤」という用語は、組成物のpHがヒト又は哺乳類への投与のための許容範囲 (約 pH 4 . 0 ~ 1 0 . 5) 内に確実に収まるようにするのに有用な化合物又は化合物混合物を意味する。好適なかかるpH調整剤には、トリシン、リン酸塩又はT R I S [即ち、トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン] のような薬学的に許容される緩衝剤、及び炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム又はこれらの混合物のような薬学的に許容される塩基がある。組成物をキットの形態で使用する場合には、キットのユーザーが多段操作の一部としてpHを調整できるように、pH調整剤を適宜別個のバイアル又は容器に入れて供給してもよい。

30

【 0 0 6 3 】

「充填剤」という用語は、製造及び凍結乾燥時における材料の取扱いを容易にすることができる薬学的に許容される増量剤を意味する。好適な充填剤には、塩化ナトリウムのような無機塩、及びスクロース、マルトース、マンニトール又はトレハロースのような水溶性の糖又は糖アルコールがある。

【 0 0 6 4 】

第 4 の態様の放射性医薬組成物は、無菌製造条件下で (即ち、クリーンルーム内で) 製造して所望の無菌で非発熱性の生成物を得ることができる。基本構成要素、特に関連する試薬並びにイメージング剤に接触する装置部品 (例えば、バイアル) は無菌であるのが好ましい。かかる構成要素及び試薬は、無菌濾過或いは (例えば、 γ 線照射、オートクレーブ処理、乾熱又は (例えば、エチレンオキシドによる。) 化学処理を用いる。) 終末滅菌をはじめとする、当技術分野で公知の方法によって滅菌できる。一部の構成要素を予め滅菌しておけば、最小限の数の操作を実施すれば済むので好ましい。しかし、予防策として、医薬組成物の製造における最終段階として少なくとも無菌濾過段階を含めることが好ましい。

40

【 0 0 6 5 】

本発明の放射性医薬組成物は、第 4 の態様 (後述) に記載の通り調製することができる

50

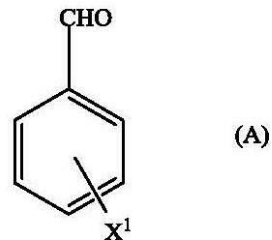
。

【 0 0 6 6 】

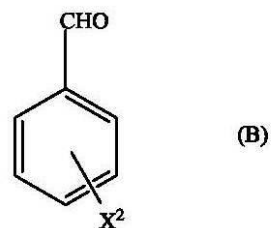
第 3 の態様では、本発明は式 (A) の放射性アルデヒドを、式 (B) の 1 種以上の非放射性アルデヒドと共に含む組成物であって、組成物中に存在する式 (B) の誘導体の合計濃度が $150 \mu\text{g} / \text{mL}$ 未満である組成物を提供する。

【 0 0 6 7 】

【 化 1 5 】



10



20

式中、 X^1 及び X^2 は第 1 の態様で定義した通りである。

【 0 0 6 8 】

第 3 の態様の X^1 及び X^2 の好ましい態様は、第 1 の態様 (上述) に定義した通りである。好ましくは、存在する式 (B) の誘導体の濃度は $100 \mu\text{g} / \text{mL}$ 未満、さらに好ましくは $45 \mu\text{g} / \text{mL}$ 未満である。

【 0 0 6 9 】

第 3 の態様の組成物では、 X^1 は、好ましくは ^{18}F であり、 X^2 は $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 若しくは $-\text{OH}$ 又はその組合せである。

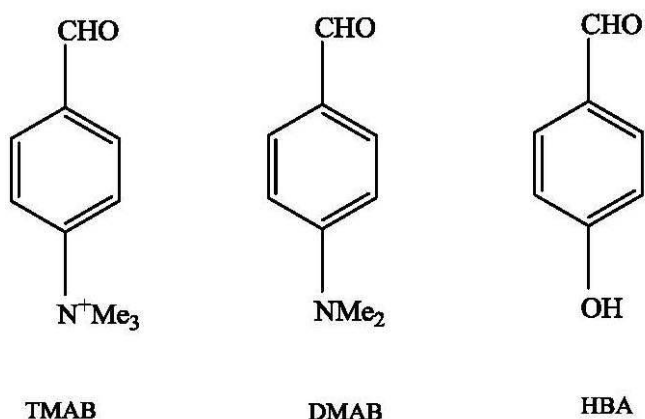
30

【 0 0 7 0 】

したがって、本発明者らは、 $[^{18}\text{F}]$ - フルオロベンズアルデヒド ($[^{18}\text{F}]$ - FBA) を従来の放射合成で TMA B から調製すると、存在する化学的不純物の 95% 以上が TMA B、DMA B 及び HBA に由来することを発見した。

【 0 0 7 1 】

【化 16】



10

さらに、式(II)の不純物は、 $X^2 = -SCH_3$ 又は $-OC_6H_4CHO$ である場合に生じ得る。 $X^2 = -SCH_3$ 種は、DMSOが溶媒として使用される場合に生じ得る。これらの不純物は、LC-MS研究によって同定されている。

【0072】

これらの不純物は、すべてアルデヒドの性質なので、対象となる官能化BTMを有する $[^{18}F]$ -FBAと競合する。このことは、以下の3つの重要な作用を有する。

20

(i) 放射性収率が低下する。

(ii) 全体的な化学的純度が低下する。

(iii) それから生じる造影剤組成物は、複数のBTMで官能化された不純物[式(II)の]を含有する場合があります、この不純物は、インビボの所望の生物学的部位を ^{18}F 標識造影剤と競合しかねない。

【0073】

したがって、問題(iii)は、インビボで造影剤の有効性に対して影響を及ぼし得る。さらに、式(I)及び(II)のBTMコンジュゲートは、類似の構造を有するので、これらのコンジュゲートは、形成されると分離することが難しく、組成物中に存在することがある。放射性同位体 ^{18}F は109分の半減期を有し、結果的に、組成物の精製に経過する時間は、問題(i)にも影響を与える。したがって、第3の態様の改良組成物は、第1の態様の造影剤組成物を達成するための重要な寄与因子である。

30

【0074】

第3の態様の組成物は、好ましくは溶液として提供される。かかる溶液に適した溶媒は、エタノール、エタノール水溶液、アセトニトリル又はアセトニトリル水溶液である。好ましい溶媒は、エタノール又はエタノール水溶液、さらに好ましくはエタノールである。

【0075】

第3の態様の組成物は、以下の通り得ることができる。 ^{18}F -アルデヒドは、水酸化アンモニウム溶液で希釈され、次にMCXミックスモード固相抽出(SPE)カートリッジ(Watersから市販、パート番号186003516)で精製される。ミックスモードカートリッジは、カチオン交換及び逆相(C18)クロマトグラフィーの特徴の両方を有する。粗混合物のアルカリ条件によって、HBA、Kryptofix 222及び炭酸カリウムと、任意の未反応の $[^{18}F]$ -フッ化物イオンは、確実にイオン化形態になる。結果的に、それらはカートリッジに結合せず、したがって洗浄して廃棄される。その後、 $[^{18}F]$ -アルデヒドは、MCXカートリッジからエタノールを用いて溶出される。TMABなどのカチオン種は、カートリッジによって保持され、FBAが有機溶媒で溶出されるときには溶出されない。

40

【0076】

第4の態様では、本発明は、生体ターゲティング分子を放射性標識する方法であって、

50

(i) アミノオキシ又はヒドラジン基で官能化された生体ターゲティング部分を用意する段階と、

(i i) 段階 (i) の官能化生体ターゲティング部分と第 3 の態様の放射性アルデヒド組成物との反応によって、式 (A) の放射性アルデヒドを前記アミノオキシ又はヒドラジン基と縮合させて、放射性標識生体ターゲティング分子を得る段階とを含む方法を提供する。

【 0 0 7 7 】

第 4 の態様の生体ターゲティング部分 (B T M) 及びその好ましい実施形態は、第 1 の態様 (上述) に記載した通りである。

【 0 0 7 8 】

「アミノオキシ基」という用語は、B T M にアミノオキシ官能基が共有結合で結合したものを意味する。かかる基は式 $-O-NH_2$ 、好ましくは $-CH_2O-NH_2$ を有するものであって、アミノオキシ基のアミンは、アルデヒドと縮合反応してオキシムエーテルを生成する際に L y s アミン基よりも反応性が高いという利点を有する。

【 0 0 7 9 】

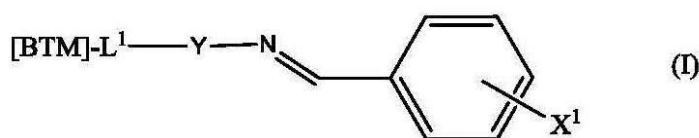
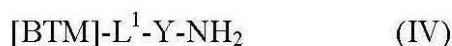
「ヒドラジン基」は式 $-NH-NH_2$ の官能基である。

【 0 0 8 0 】

第 4 の態様の方法では、官能化生体ターゲティング部分は好ましくは以下の式 (I V) のものであり、放射性標識生成物は以下の式 (I) のものである。

【 0 0 8 1 】

【 化 1 7 】



式中、B T M、 L^1 、Y 及び X^1 並びにそれらの好ましい態様は、第 1 の態様 (上述) で記載した通りである。

【 0 0 8 2 】

第 4 の態様の方法は、好ましくは自動合成装置を用いて実施される。「自動合成装置」という用語は、Satyamurthy et al [Clin. Posit. Imag., 2 (5), 233 - 253 (1999)] に記載されているような単位操作の原理に基づく自動化モジュールを意味する。「単位操作」という用語は、複雑なプロセスが一連の簡単な操作又は反応に集約されることを意味し、広範な材料に適用できる。かかる自動合成装置は、本発明の方法、特に放射性医薬品生成物が所望される場合の本発明の方法に好ましい。これらは、GE Healthcare 社、CTI 社、Ion Beam Applications 社 (ベルギー国、B - 1348 ルヴァン・ラ・ヌーブ、シュマン・デュ・シクロトロン 3)、Raytest 社 (ドイツ) 及び Bioscan 社 (米国) を始めとする様々な供給業者から市販されている [Satyamurthy 他、上掲]。

【 0 0 8 3 】

市販の自動合成装置は、放射性医薬品の製造の結果として生じる液体放射性廃棄物用の

10

20

30

40

50

適当な容器も提供する。自動合成装置は、適切に設計された放射能作業セル内で使用するよう設計されているので、通例、放射線遮蔽が設けられていない。放射能作業セルは、潜在的な放射線量からオペレーターを保護するのに適した放射線遮蔽をもたらすとともに、化学薬品蒸気及び/又は放射性蒸気を除去するための換気装置を与える。自動合成装置は、好ましくはカセットを備える。「カセット」という用語は、合成装置の可動部材の機械的運動がカセットの外側から（つまり外部から）カセットの動作を制御するように、自動合成装置（上述）に着脱自在かつ交換可能に装着できるように設計された装置を意味する。好適なカセットは直線状に並んだ弁の列を含み、その各々は倒立セプタムシールバイアルの針穿刺又は気密連結継手によって試薬又はバイアルを装着することができるポートに結合している。各弁は、自動合成装置の対応する可動アームとかみ合うはめ込み型継手を有している。カセットを自動合成装置に装着した場合、アームの外部回転が弁の開閉を制御する。自動合成装置の追加の可動部材は、注射器のプランジャー先端をつかみ、注射器外筒を上昇又は降下させるように設計されている。

【0084】

カセットは融通性の高いものであって、通例は試薬を装着することができる複数の位置、及び試薬のシリンジバイアル又はクロマトグラフィー用カートリッジ（例えば、固相抽出（SPE））を装着するために適した複数のポートを有している。カセットは常に反応容器を含んでいる。かかる反応容器は好ましくは0.5～10mL、さらに好ましくは0.5～5mL、最も好ましくは0.5～4mLの容積を有しており、カセットの様々なポートから試薬又は溶媒を移送できるように、カセットの3以上のポートが反応容器に連結されるように構成されている。好ましくは、カセットは直線状に並んだ15～40個の弁、最も好ましくは20～30個の弁を有しており、25個の弁が特に好ましい。カセットの弁は好ましくは各々同一であり、最も好ましくは三方弁である。本発明のカセットは放射性医薬品の製造に適するように設計され、医薬グレードの材料であって理想的には放射線分解にも耐える材料で製造される。

【0085】

本発明の好ましい自動合成装置は、放射性ヨウ素化された放射性医薬品の所定バッチの製造を実施するのに必要なすべての試薬、反応容器及び機器を含むディスプレイつまり使い捨てカセットを備える。かかるカセットは、単にカセットを交換するだけで、自動合成装置が相互汚染のリスクを最小限に抑えながら各種の放射性ヨウ素標識放射性医薬品を製造できる融通性を有することを意味する。カセットアプローチには、装置構成の単純化とそれに伴うオペレーターエラーのリスクの低減、GMP（Good Manufacturing Practice）コンプライアンスの向上、マルチトレーサー能力、生産作業間の迅速な変更、カセット及び試薬の作業前自動診断検査、実施すべき合成と化学試薬との自動バーコードクロスチェック、試薬のトレーサビリティ、使い捨てであり、そのため相互汚染のリスクがなく、改竄及び誤用を防ぐことができるという利点がある。

【0086】

本発明のこの態様は、第2の態様の放射性医薬組成物を調製するために自動合成装置を使用することが含む。

【0087】

第4の態様の方法は、好ましくは、第2の態様の医薬組成物が得られるように、無菌的に実施される。本発明の放射性医薬組成物は、以下の様々な方法で調製することができる。

- (i) ^{18}F - 放射性標識段階がクリーンルーム環境内で実施される、無菌製造技術、
- (ii) ^{18}F - 放射性標識が無菌製造を使用せずに実施され、次に最終段階で滅菌される、最終滅菌 [例えば、ガンマ照射、オートクレーブ、乾熱又は化学的処理（例えば、エチレンオキシドを用いる。）によって]、
- (iii) 適切な前駆体及び任意選択の添加剤を含む無菌の非放射性キット製剤を、 ^{18}F の適切な供給源と反応させる、キットによる方法、
- (iv) ^{18}F - 放射性標識段階が自動合成装置を用いて実施される、無菌製造技術。

【0088】

方法 (iv) が好ましい。

【0089】

アミノオキシ官能化ペプチドは、Poethko et al [J. Nucl. Med., 45, 892-902 (2004)], Schirrmacher et al [Bioconj. Chem., 18, 2085-2089 (2007)], Solbakken et al [Bioorg. Med. Chem. Lett., 16, 6190-6193 (2006)] 又は Glaser et al [Bioconj. Chem., 19, 951-957 (2008)] の方法で調製することができる。アミノオキシ基は、適宜、2つの段階でコンジュゲートすることができる。まず、対応するN保護アミノオキシカルボン酸又はN保護アミノオキシ活性化エステルを、ペプチドにコンジュゲートする。次に、中間体であるN保護アミノオキシ官能化ペプチドを脱保護して、所望の生成物を得る(先に引用したSolbakken及びGlaserの論文を参照)。Boc-NH-O-CH₂(C=O)OH及びEei-N-O-CH₂(C=O)OHなどのN保護アミノオキシカルボン酸は、例えばNovabiochem及びIRISから市販されている。

10

【0090】

ヒドラジン官能基をポリペプチドにコンジュゲートし、その後、放射性標識アルデヒドと縮合させて、ヒドラジンに結合したコンジュゲートの形成方法は、Y. Wang et al [印刷前に電子出版されたNucl. Med. Biol., (2011) "Synthesis and evaluation of [18F]exendin (9-39)...", 並びにMeszaros et al [Inorg. Chim. Acta, 363(6), 1059-1069 (2010)] に記載されている。

20

【0091】

「保護」とは保護基の使用をいう。「保護基」という用語は、望ましくない化学反応を阻止又は抑制するが、分子の残部を変質させない程度に温和な条件下で問題の官能基から脱離させ得るのに十分な反応性を有するように設計された基を意味する。脱保護後には所望の生成物が得られる。アミン保護基は当業者に周知であり、好適にはBoc(Bocはtert-ブチルオキシカルボニルである。)、Eei(Eeiはエトキシエチリデンである。)、Fmoc(Fmocはフルオレニルメトキシカルボニルである。)、トリフルオロアセチル、アリルオキシカルボニル、Dde[即ち、1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)エチル]及びNpy[即ち、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル]から適宜に選択される。さらに他の保護基の使用については、'Protective Groups in Organic Synthesis', Theodore W. Greene and Peter G.M. Wuts (John Wiley & Sons, 1991) に記載されている。好ましいアミン保護基は、Boc及びEeiであり、最も好ましくはEeiである。

30

【0092】

式 $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_2\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_q\text{CH}_2\text{CHO}$ (qは3である。)の ^{18}F 標識脂肪族アルデヒドは、Glaser et al [Bioconj. Chem., 19(4), 951-957 (2008)] の方法で得ることができる。 ^{18}F -フルオロベンズアルデヒドは、Glaser et al [J. Lab. Comp. Radiopharm., 52, 327-330 (2009)] の方法で得ることができる。 ^{18}F ^{18}F -フルオロベンズアルデヒドの前駆体、即ち $\text{Me}_3\text{N}^+-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CHO}$ 、 CF_3SO_3- は、Haka et al [J. Lab. Comp. Radiopharm., 27, 823-833 (1989)] の方法で得られる。

40

【0093】

他のペプチドは、P. Lloyd-Williams, F. Albericio and E. Girald; Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, C

50

R C P r e s s , 1 9 9 7 に記載の通り、固相ペプチド合成によって得ることができる。

【 0 0 9 4 】

第 5 の態様では、本発明は、ヒト又は動物の身体のイメージング方法であって、第 2 の態様の放射性医薬組成物が分布した身体の少なくとも一部の P E T 画像を生成する段階を含む、方法を提供する。

【 0 0 9 5 】

第 5 の態様の放射性医薬組成物及び該組成物中の造影剤の好ましい態様は、それぞれ第 2 及び第 1 の態様（上記を参照）に記載した通りである。

【 0 0 9 6 】

第 5 の態様の方法は、好ましくは、身体の一部が、インテグリン $\alpha_v \beta_3$ レセプターの異常発現が関与している、特に血管新生が関与している病状である場合に実施される。かかる病状には、関節リウマチ、乾癬、再狭窄、網膜症及び腫瘍増殖が含まれる。第 5 の態様の好ましいかかる病状は、腫瘍増殖である。インテグリン $\alpha_v \beta_3$ 発現の陽電子放射断層撮影（P E T）造影は、Beer et al [Theranostics, 1, 48 - 57 (2011)] によって記載されている。

【 0 0 9 7 】

第 5 の態様のイメージング方法は、薬剤によるヒト又は動物の身体の治療の効果をモニターするために、適宜反復して実施することができ、前記イメージングが薬剤による治療の前後又は適宜途中に実施される。状態が末期になる前に確実に悪性増殖を制御するために、抗血管新生薬の療法の効率を初期にモニターすることが、特に重要である。かかる療法のモニタリング造影は、Battle et al [J. Nucl. Med., 52 (3), 424 - 430 (2011)] 及び Morrison et al [J. Nucl. Med., 50 (1), 116 - 122 (2009) and Theranostics, 1, 149 - 153 (2011)] に記載されている。

【 0 0 9 8 】

好ましくは、放射性医薬組成物が哺乳類の身体に予め投与されている第 5 の態様の方法が実施される。「予め投与されている」とは、臨床医が関与して、例えば造影剤を静脈内注射として患者に投与する段階が、造影前に既に実施されていることを意味する。

【 0 0 9 9 】

第 6 の態様では、本発明は、第 5 の態様のイメージング方法を含むヒト又は動物の身体の診断方法を提供する。

【 0 1 0 0 】

第 6 の態様の造影剤、組成物及びイメージング方法の好ましい態様は、第 1、第 2 及び第 5 の態様（上述）に記載した通りである。

【実施例】

【 0 1 0 1 】

本発明を、以下に詳説する非限定的な例によって例示する。例 1 は、本発明の前駆体 1 の合成について記載する。例 2 は、[^{18}F] - F B A の合成について記載し、例 3 は、本発明の組成物を得るための [^{18}F] - F B A の精製について記載する。例 4 は、本発明の精製 [^{18}F] - F B A 組成物を用いた本発明の化合物 1 の合成について記載する。例 5 は、不純物の分析について記載し、本発明の方法を用いた不純物種の除去について実証する。

【 0 1 0 2 】

略語

従来の 1 文字又は 3 文字のアミノ酸の略語を使用する。

A c : アセチル

A C N : アセトニトリル

B o c : t e r t - ブチルオキシカルボニル

D I P E A : N , N - ジイソプロピルエチルアミン

10

20

30

40

50

D M A B : 4 - (ジメチルアミノ) ベンズアルデヒド

D M S O : ジメチルスルホキシド

E O S : 合成の終了

F B A : 4 - フルオロベンズアルデヒド

F m o c : 9 - フルオレニルメトキシカルボニル

H A T U : O - (7 - アザベンゾトリアゾール - 1 - イル) - N , N , N ' , N ' - テト

ラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート

H B A : 4 - ヒドロキシベンズアルデヒド

H P L C : 高速液体クロマトグラフィー

M C X : ミックスモードのカチオン交換カートリッジ

10

N M M : N - メチルモルホリン

N M P : 1 - メチル - 2 - ピロリジノン

P B S : リン酸緩衝食塩水

P y B O P : ベンゾトリアゾール - 1 - イル - オキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート

R A C : 放射性濃度

R C P : 放射化学的純度

R T : 室温

S P E : 固相抽出

t B u : t e r t - ブチル

20

T F A : トリフルオロ酢酸

T F P : テトラフルオロフェニル

T M A B : 4 - (トリメチルアンモニウム) ベンズアルデヒド

T R : 保持時間

【 0 1 0 3 】

表 1: 本発明の化合物

化合物名	構造
ペプチド 1	
前駆体 1	
化合物 1	

ペプチド 1 は標準ペプチド合成を用いて合成した。

(a) 1 , 1 7 - ジアジド - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキサヘプタデカン

乾燥ヘキサエチレングリコール（25 g、88 mmol）及びメタンスルホニルクロライド（22.3 g、195 mmol）の乾燥THF（125 mL）溶液を、アルゴン下で維持し、氷/水浴で0℃に冷却した。トリエチルアミン（19.7 g、195 mmol）の乾燥THF（25 mL）溶液を45分間滴下した。1時間後、冷却浴を除去し、反応をさらに4時間撹拌した。次いで水（55 mL）を混合物に添加した後、炭酸水素ナトリウム（5.3 g、pH 8まで）及びナトリウムアジド（12.7 g、195 mmol）を添加した。THFを蒸留によって除去し、水溶液を24時間還流させた（二層が形成した）。混合物を冷却し、エーテル（100 mL）を添加し、水相を塩化ナトリウムで飽和させた。各相を分離し、水相をエーテル（4×50 mL）で抽出した。有機相を一緒にして、ブライン（2×50 mL）で洗浄し、乾燥させた（MgSO₄）。溶媒を濾過し、蒸発させて、黄色油26 gを得た（89%）。生成物はそれ以上精製せずに次の段階で使用した。

(b) 17 - アジド - 3, 6, 9, 12, 15 - ペンタオキサヘプタデカンアミン

激しく攪拌した 1, 17 - ジアジド - 3, 6, 9, 12, 15 - ペンタオキサヘプタデカン (25 g、75 mmol) の 5% HCl (200 mL) 懸濁液に、トリフェニルホスフィン (19.2 g、73 mmol) のエーテル (150 mL) 溶液を 3 時間かけて室温で添加した。反応混合物をさらに 24 時間攪拌した。各相を分離し、水相をジクロロメタン (3 × 40 mL) で抽出した。水相を氷 / 水浴中で冷却し、固体水酸化カリウムの添加によって pH を 12 に調節した。水相を濃縮し、生成物をジクロロメタン (150 mL)

に取り込んだ。有機相を乾燥させ (Na_2SO_4)、濃縮して黄色油 2.2 g (95%) を得た。生成物を、エレクトロスプレー質量分析 (ESI-MS) で同定した (MH+ 計算値: 307.19、実測値 307.4)。粗油はそれ以上精製せずに次の段階で使用した。

【0106】

(c) 2,3-アジド-5-オキソ-6-アザ-3,9,12,15,18,21-ヘキサオキサトリコサン酸

1,7-アジド-3,6,9,12,15-ペンタオキサヘプタデカンアミン (1.5 g、5.0 mmol) のジクロロメタン (100 mL) 溶液に、ジグリコール無水物 (Acros、6.4 g、5.5 mmol) を添加した。反応混合物を一晩撹拌した。反応を ESI-MS 分析でモニターし、追加の試薬を添加して、反応を完了させた。溶液を濃縮して黄色残渣を得、これを水 (250 mL) に溶解した。生成物を、ジクロロメタンで一晩続けて抽出することによって、水相から単離した。溶媒の乾燥及び蒸発によって、収量 1.8 g (85%) を得た。生成物を、ESI-MS 分析で特性決定した (MH+ 計算値: 423.20、実測値 423.4)。生成物はそれ以上精製せずに次の段階で使用した。

【0107】

(d) 2,3-アミノ-5-オキソ-6-アザ-3,9,12,15,18,21-ヘキサオキサトリコサン酸

2,3-アジド-5-オキソ-6-アザ-3,9,12,15,18,21-ヘキサオキサトリコサン酸 (9.0 g、2.1 mmol) を水 (50 mL) に溶解し、 $\text{H}_2(\text{g})$ -Pd/C (10%) を用いて還元した。ESI-MS 分析で所望の生成物に完全に添加したことが判明するまで、反応を実施した (MH+ 計算値: 397.2、実測値 397.6)。粗生成物はそれ以上精製せずに次の段階で使用した。

【0108】

(e) (Boc-アミノオキシ) アセチル-PEG(6)-ジグリコール酸

ジシクロヘキシルカルボジイミド (515 mg、2.50 mmol) のジオキサン (2.5 mL) 溶液を、(Boc-アミノオキシ) 酢酸 (477 mg、2.50 mmol) 及び N-ヒドロキシスクシンイミド (287 mg、2.50 mmol) のジオキサン (2.5 mL) 溶液に滴下した。反応を RT で 1 時間撹拌し、濾過した。濾液を、2,3-アミノ-5-オキソ-6-アザ-3,9,12,15,18,21-ヘキサオキサトリコサン酸 (1.0 g、2.5 mmol) 及び NMM (278 μL 、2.50 mmol) の水 (5 mL) 溶液の入った反応器に移した。混合物を RT で 30 分間撹拌した。ESI-MS 分析によって、所望の生成物に完全に変換されたことが判明した (MH+ 計算値: 570.28、実測値 570.6)。粗生成物を、分取 HPLC (カラム: Phenomenex Luna 5 μm C18 (2)、250 \times 21.20 mm、検出: 214 nm、勾配: 60 分で 0 ~ 50% B、A = H_2O / 0.1% TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1% TFA、流速: 1.0 mL / 分) によって精製して、純粋な生成物 500 mg (38%) を得た。生成物を HPLC で分析した (カラム: Phenomenex Luna 3 μm C18 (2)、50 \times 2.00 mm、検出: 214 nm、勾配: 10 分で 0 ~ 50% B、A = H_2O / 0.1% TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1% TFA、流速: 0.75 mL / 分、 R_t = 5.52 分)。さらに NMR 分析による確認を行った。

【0109】

(f) ペプチド 1 への (Boc-アミノオキシ) アセチル-PEG(6)-ジグリコール酸の結合

(Boc-アミノオキシ) アセチル-PEG(6)-ジグリコール酸 (0.15 mmol、85 mg) 及び PyAOP (0.13 mmol、68 mg) を DMF (2 mL) に溶解した。NMM (0.20 mmol、20 μL) を添加し、混合物を 10 分間撹拌した。ペプチド 1 (0.100 mmol、126 mg) 及び NMM (0.20 mmol、20 μL) の DMF (4 mL) 溶液を添加し、反応混合物を 25 分間撹拌した。追加の NMM (0.20 mmol、20 μL) を添加し、混合物をさらに 15 分間撹拌した。DMF を真

10

20

30

40

50

空中で蒸発させ、生成物を10%アセトニトリル-水に取り込み、分取HPLCで精製して(カラム: Phenomenex Luna 5 μ C18(2)、250 \times 21.20 mm、検出: UV 214 nm、勾配: 40分で5~50% B、A = H₂O / 0.1% TFA及びB = アセトニトリル / 0.1% TFA、流速: 1.0 mL / 分)、半純粋な生成物100 mgを得た。第2の精製段階で、TFAをHCOOH(勾配: 0~30% B、それ以外は先と同じ条件)によって置き換えると、89 mg(50%)が得られた。生成物をHPLCで分析した(カラム: Phenomenex Luna 3 μ C18(2)、50 \times 2 mm、検出: UV 214 nm、勾配: 10分で0~30% B、A = H₂O / 0.1% HCOOH及びB = アセトニトリル / 0.1% HCOOH、流速: 0.3 mL / 分、R_t: 10.21分)。生成物の追加の特性決定をESI-MSを用いて実施した(MH 22 + 計算値: 905.4、実測値: 906.0)。

10

【0110】

(g) 脱保護

脱保護を、5%水を含有するTFAをペプチド10 mgに添加することによって実施した。

【0111】

例2: ¹⁸F-ベンズアルデヒド(¹⁸F-FBA)の放射合成

銀ターゲットをもつGEMS PET traceサイクロトロンを用いた[¹⁸O](p, n)[¹⁸F]核反応によって[¹⁸F]-フッ化物を生成した。全ターゲット体積1.5~3.5 mLを使用した。放射性フッ素を、Waters QMAカートリッジ(炭酸塩でプレコンディショニングした)に捕捉し、フッ化物を、Kryptofix_{2.2.2}(4 mg、10.7 μ M)及び炭酸カリウム(0.56 mg、4.1 μ M)の水(80 μ L)及びアセトニトリル(320 μ L)溶液で溶出した。窒素を用いて、溶液をQMAカートリッジから押し出して反応器に入れた。[¹⁸F]-フッ化物を、窒素の定常流及び真空中に120 \pm 9分間乾燥させた。DMSO(1.1 mL)中トリメチルアンモニウムベンズアルデヒドトリフレート[Haka et al, J. Lab. Comp. Radiopharm., 27, 823-833 (1989)](3.3 mg、10.5 μ M)を、乾燥[¹⁸F]-フッ化物に添加し、混合物を105 \pm 7分間加熱して4-[¹⁸F]-フルオロベンズアルデヒドを生成させた。

20

【0112】

例3: ¹⁸F-フルオロベンズアルデヒド(¹⁸F-FBA)の精製

例2の粗生成物である標識混合物を、水酸化アンモニウム溶液で希釈し、MCX+SPEカートリッジ(FASTlabシーケンスの一部として水でプレコンディショニングした)にロードした。カートリッジを水洗し、窒素ガスで乾燥させてから、エタノール(1.8 mL)で4-[¹⁸F]-フルオロベンズアルデヒドの溶出を行って反応器に戻した。総体積2.2 mLのエタノールを溶出に使用したが、最初の部分(0.4 mL)は、[¹⁸F]-FBAを含んでいなかったので廃棄した。4~7%(崩壊について補正)の[¹⁸F]放射活性がカートリッジ上に捕捉されたままであった。

30

【0113】

例4: [¹⁸F]-フルシクラチド(化合物1)の調製

前駆体1(5 mg)との[¹⁸F]-FBAの結合は、アニリン塩酸塩の存在下でエタノール(1.8 mL)及び水(1.8 mL)溶液中で実施した。反応混合物は60 \pm 5分間維持した。

40

【0114】

例5: 不純物の分析

SPE精製前後のベンズアルデヒドタイプの不純物レベルを、表1に示す通り決定した(TMABトリフレート塩5250 μ gに対して; mol. wt 313)。

【0115】

【表 2】

表 1

化合物	μmol
TMAB (初期)	16.7
SPE (MCX) 精製後に回収されたベンズアルデヒド	1.5
SPE (MCX) 精製で除去されたベンズアルデヒド	15.2

したがって、S P E 法で不純物ベンズアルデヒドの 9 1 % が除去された。

10

【配列表】

0006055417000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 エンジェル, トルグリム
ノルウェー国、エン - 0 4 0 1 オスロ、ニイダレン、ポストボックス 4 2 2 0 ニイコベイエン
2、ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ
- (72)発明者 グリッグ, ジュリアン
英国、バッキンガムシャー・エイチピー7 ピーエルエル、アメルシャム、ホワイト・ライオン・
ロード、ザ・グローヴ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド
- (72)発明者 マンジラス, ディミトリオス
ノルウェー国、エン - 0 4 0 1 オスロ、ニイダレン、ポストボックス 4 2 2 0 ニイコベイ
エン 2、ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ

審査官 石井 裕美子

- (56)参考文献 特表2008-516894(JP, A)
国際公開第2010/079079(WO, A1)
Two-step methodology for high-yield routine radiohalogenation of peptides: (18)F-labeled RGD and octreotide analogs., J Nucl Med, 2004年, vol.45, no.5, pp.892-902
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 51/00 - 51/12
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)