

明 細 書

発明の名称：化合物及び放射性標識化合物

技術分野

[0001] 本発明は、化合物及び放射性標識化合物に関する。

背景技術

[0002] 放射性核種を構造中に有する放射性標識化合物は、標的分子の検出のための試薬、診断薬、又は疾患の治療のための医薬品として用いられている。病巣の検出性能及び治療効果の更なる向上を目的として、標的組織及び部位への特異的な集積の向上や、標的でない組織及び部位への集積の低減に関する検討が進められている。

[0003] 特許文献1には、アルブミン結合部位であるヨードフェニルブチリル基を、PSMA-617の構造から分岐するように付加した誘導体（HTK01169）が記載されている。この誘導体は、前立腺特異的膜抗原（PSMA）を標的として結合し、前立腺がんの検出及び治療を目的として使用できることも記載されている。

[0004] 特許文献2には、アルブミン結合部位としてエバンスブルーに由来する構造を有する誘導体が記載されている。この誘導体は、放射性金属をキレートするためのキレート部と、標的分子に結合するためのペプチド等とを構造中に有しており、放射線治療剤及びイメージング剤として使用可能であることが記載されている。

[0005] また特許文献3には、アルブミンと結合可能なPSMA阻害剤が記載されている。この阻害剤も、特許文献1と同様にPSMAを標的として結合し、前立腺がんの検出及び治療を目的として使用できることも記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2019/075583号パンフレット

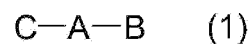
特許文献2：国際公開第2017/196806号パンフレット

特許文献3：国際公開第2018/098390号パンフレット

発明の概要

- [0007] 標的組織及び部位への特異的な集積の向上や、標的でない組織及び部位への集積の低減を実現するためには、血中滞留性等の体内動態の制御が重要であり、体内動態を効果的に制御するための方法の一つとして、化学構造の最適化が望まれる。一般的に、分子量が小さい化合物は血中滞留性に劣り、その結果、標的となる組織への集積が不十分となったり、正常組織への意図しない集積が生じたりする場合がある。また、特許文献1ないし3に記載の化合物は、腎臓に非特異的な集積が多く、この点で改善の余地があった。
- [0008] したがって、本発明は、標的組織への集積の向上と、標的でない組織への集積の低減、特に腎臓への集積の低減とを両立可能な化合物及び放射性標識化合物に関する。
- [0009] 本発明は、下記一般式(1)で示される化合物を提供するものである。

[化01]



(式(1)中、Aは放射性金属と配位可能なキレート部であり、Bはアルブミン結合部を含む原子団であり、Cは標的分子結合部を含む原子団であり、
BはAの任意の部位に結合しており、
Cは、BがAに結合する部位とは異なる部位においてAと結合している。
)

- [0010] また本発明は、前記化合物に、放射性金属のイオンが配位されてなる、放射性標識化合物を提供するものである。

図面の簡単な説明

- [0011] [図1]図1は、実施例及び比較例の体内放射能分布実験の結果を示すグラフである。
- [図2]図2は、評価5におけるSPECT/CT画像である。

[図3]図3は、評価6におけるSPECT／CT画像である。

[図4]図4は、実施例5-1（ $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1）及び比較例2-1（ $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB）における細胞結合実験の結果を示すグラフである。

[図5]図5は、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1及び $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DBにおけるアルブミン結合実験の結果を示すグラフである。

[図6]図6は、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1及び $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DBにおける体内放射能分布実験の結果を示すグラフである。

[図7]図7は、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1及び $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DBにおけるSPECT／CT画像である。

[図8]図8は、実施例5-2（ $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DA1）及び比較例2-2（ $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DB）における腫瘍容積及びマウス体重の変化を示すグラフである。

[図9]図9は、実施例5-3（ $[^{225}\text{Ac}]$ Ac-PSMA-DA1）及び比較例2-3（ $[^{225}\text{Ac}]$ Ac-PSMA-DB）における腫瘍容積及びマウス体重の変化を示すグラフである。

[図10]図10は、E4DA1及びE4Dにおける細胞結合実験の結果を示すグラフである。

[図11]図11は、E4DA1及びE4Dにおける体内放射能分布実験の結果を示すグラフである。

[図12]図12は、実施例6（ $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1）及び比較例3（ $[^{111}\text{In}]$ In-E4D）におけるSPECT／CT画像である。

[図13]図13は、実施例7（ $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA）における血漿中安定性の結果を示すHPLCチャートである。

[図14]図14は、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAにおける細胞結合実験の結果を示すグラフである。

[図15]図15は、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAにおけるアルブミン結合実験の結果を示すグラフである。

[図16]図16は、 $[^{111}\text{In}] \text{In-PtDA}$ におけるSPECT/CT画像である。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の化合物及びこれを用いた放射性標識化合物を、その好ましい実施形態に基づき説明する。以下の説明において、「 $T \sim U [V]$ 」（ T 及び U は任意の数字であり、 $[V]$ は単位である。）と記載した場合、特に断らない限り「 $T [V]$ 以上 $U [V]$ 以下」を意味する。また、構造中に不斉炭素原子が存在する場合には、特に断りのない限り、それぞれ独立して、 S 配置であってもよく、 R 配置であってもよい。

[0013] 本発明の化合物は、その構造中に、放射性金属のイオンと配位可能なキレート部と、アルブミンと結合可能な化学構造を有するアルブミン結合部を含む原子団と、標的分子と結合可能な化学構造を有する標的分子結合部を含む原子団とを備えている。このような化学構造を有していることによって、本発明の化合物に放射性金属イオンを配位させた放射性標識化合物は、標的組織への集積の向上と、標的でない組織、特に腎臓への集積の低減とが両立したものとなる。本発明の化合物は、放射性金属などの放射性同位体によって標識するために用いられる前駆体化合物、すなわち、好ましくは標識前駆体として用いられる化合物である。放射性金属に関する説明は後述する。

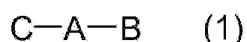
[0014] 本発明の化合物は、以下の一般式（1）で示されることが好ましい。

つまり、当該化合物は、その化学構造を巨視的に見たときに、キレート部（一般式（1）中、符号Aで表される。）が構造の中央に位置し、アルブミン結合部を含む原子団（一般式（1）中、符号Bで表される。）と標的分子結合部を含む原子団（一般式（1）中、符号Cで表される。）とがキレート部を介して配置されていることが好ましい。

[0015] また、アルブミン結合部を含む原子団が該キレート部の一方側に結合し、且つ標的分子結合部を含む原子団が該キレート部の他方側に結合するように配置されていることがより好ましく、実質的に直線状に配置されていることが更に好ましい。キレート部の「一方側」及び「他方側」とは、キレート部

における分子対称面を考えたときに、該分子対称面にて分子構造を仮想的に分断したときの分子構造の一方の側と他方の側とを指し、アルブミン結合部を含む原子団と標的分子結合部とが面对称な位置に存在する場合には「実質的に直線状に配置されている」とする。

[0016] [化02]



[0017] 式(1)中、Aは放射性金属のイオンと配位可能なキレート部であり、Bはアルブミン結合部を含む原子団であり、Cは標的分子結合部を含む原子団である。

式(1)中、Bは、Aの任意の部位に結合していることが好ましい。

式(1)中、Cは、BがAに結合する部位とは異なる部位においてAと結合していることが好ましい。

[0018] 本発明の化合物は、これを放射性標識化合物としたときに、標的組織への集積の向上と、標的でない組織、特に腎臓への集積の低減とが高いレベルで両立させる観点から、前記式(1)中、Aは環状構造を有し、該環状構造が窒素原子を2つ以上有し、各窒素原子が隣り合う2つ以上の炭素原子を隔てて連結されているか、又は、Aは鎖状構造を有し、該鎖状構造が窒素原子を2つ以上有し、各窒素原子が隣り合う2つ以上の炭素原子を隔てて連結されていることが好ましい。

[0019] Aが環状構造を有する場合、該環状構造は、その骨格が窒素原子及び炭素原子のみから構成されていてもよく、窒素原子及び炭素原子に加えて、酸素原子を含んで構成されていてもよい。環状構造における炭素原子どうしの結合は鎖状であってもよく、環構造を形成していてもよい。

また、Aが鎖状構造を有する場合、該鎖状構造における炭素原子どうしの結合は、窒素原子によって分断されていてもよい。鎖状構造における炭素原子どうしの結合は鎖状であってもよく、環構造を形成していてもよい。

[0020] また、Aが環状構造又は鎖状構造を有する場合、Aは、該環状構造又は該

鎖状構造を構成する窒素原子に直接結合する窒素結合原子団を有することが好ましい。窒素結合原子団の具体例としては、カルボキシ基、リン酸基、アミド基、ベンゼン環及びピリジン環のうち一種以上を含む原子団が好ましく挙げられ、更に好ましくは該原子団は鎖状である。

更に、Aが環状構造又は鎖状構造を有する場合、BはAの任意の部位に結合し、且つCはBの結合部位とは異なるAの任意の部位に結合していることを条件として、Bが上述の窒素結合原子団に結合している場合、CはBが結合している窒素結合原子団以外の部位に結合していることが好ましい。

[0021] 具体的には、前記式(1)中、符号Aで表される放射性金属と配位可能なキレート部として、下記式(A1)ないし(A9)のいずれか一つで表される化合物に由来する構造を有することが好ましく、下記式(A1)で表される化合物に由来する構造を有することが更に好ましい。つまり、本発明の化合物は、下記式(A1)ないし(A9)のいずれか一つで表される化合物の誘導体であることが好ましく、下記式(A1)で表される化合物の誘導体であることが更に好ましい。これらの構造は、後述する放射性金属の種類に応じて、適宜選択することができる。いずれの構造を有するキレート部であっても、標的組織への集積の向上と、標的でない組織、特に腎臓への集積の低減とが両立したものとなる。

[0022] 前記式(1)中、符号Aで表されるキレート部は、例えば以下の化合物に由来する構造が挙げられるが、これらに限られず適用可能である。

- ・ 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)
- ・ 1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-テトラプロピオン酸(DOTPA)
- ・ 1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-テトラメチレンリン酸(DOTMP)
- ・ ヒドロキシプロピルテトラアザシクロドデカントリ酢酸 (HP-D03A)
- ・ (1R,4R,7R,10R)- $\alpha, \alpha', \alpha'', \alpha'''$ -テトラメチル-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 (DOTAMA)

- ・ 1, 4, 7, 10-テトラキス(カルバモイルメチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン (DOTAA)
- ・ 1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-テトラキス(アセタミドメチレン)ホスホン酸 (DOTA-A-AMP)
- ・ テトラアザシクロドデカンジメタンホスホン酸 (D02P)
- ・ α -(2-カルボキシエチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-テトラ四酢酸(DOTAGA)
- ・ 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)
- ・ 1, 4, 8, 11-テトラアザシクロテトラデカン-1, 4, 8, 11-テトラプロピオン酸(TETPA)
- ・ N, N' , N'' , N''' -テトラ(1, 2-ジヒドロ-1-ヒドロキシ-2-オキソピリジン-6-カルボニル)-1, 5, 10, 14-テトラアザテトラドデカン (1, 2-HOP0)
- ・ 1, 4, 7, 10, 13-ペンタアザシクロペンタドデカン-N, N' , N'' , N''' , N'''' -ペンタ酢酸 (PEPA)
- ・ エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)
- ・ 6, 6' -((エタン-1, 2-ジイルビス((カルボキシメチル)アザンジイル))ビス(メチレン))ジピコリン酸 (H₄octapa)
- ・ 6, 6' -({9-ヒドロキシ-1, 5-ビス(メトキシカルボニル)-2, 4-ジ(ピリジン-2-イル)-3, 7-ジアザビシクロ[3. 3. 1]ノナン-3, 7-ジイル}ビス(-メチレン))ジピコリン酸 (H₂bispa2)
- ・ 1, 2-[6-(カルボキシ)-ピリジン-2-イル]-メチルアミノ]エタン (H₂dedpa)
- ・ 6-(1, 4, 10, 13-テトラオキサ-7, 16-ジアザシクロオクタデカン-N, N' -, メチル)ピコリン酸 (H₂macropa)
- ・ N, N'' -ビス(6-カルボキシ-2-ピリジルメチル)-ジエチレントリアミン-N, N' , N'' -トリ酢酸 (H₅decapa)
- ・ N, N' -(メチレンホスホネート)-N, N' -[6-(メトキシカルボニル)ピリジン-2-イル]-メチル-1, 2-ジアミノエタン (H₆phospa)

・ 6, 6' -((((4-イソチアシアネートフェネチル)アザンジイル)ビス(エタン-2, 1-ジイル))ビス((カルボキシメチル)アザンジイル))ビス(メチレン))ジピコリン酸 (p-SCN-Bn-H₄neunpa)

・ 6, 6' -((((4-ニトロフェネチル)アザンジイル)ビス(エタン-2, 1-ジイル))ビス((カルボキシメチル)アザンジイル))ビス(メチレン))ジピコリン酸 (p-NO₂-Bn-H₄neunpa)

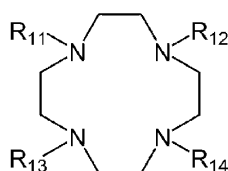
・ 6, 6' -(((アザンジイルビス(エタン-2, 1-ジイル))ビス((カルボキシメチル)アザンジイル)ビス(メチレン))ジピコリン酸 (H₅neunpa)

・ 2-[4, 7-ビス(カルボキシメチル)-1, 4, 7-トリアゾナン-1-イル]酢酸 (NOT A)

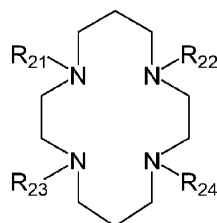
[0023]

[化03]

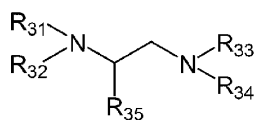
(A1)



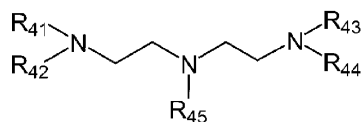
(A2)



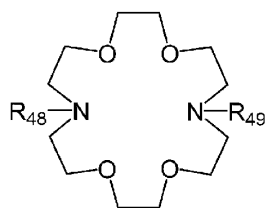
(A3)



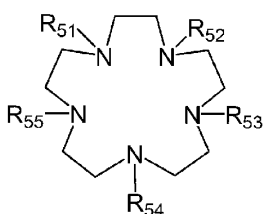
(A4)



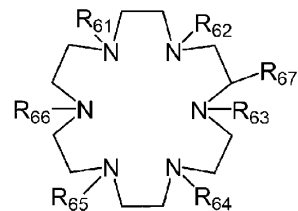
(A5)



(A6)



(A7)



[0024] 式 (A1) 中、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 及び R_{14} は、それぞれ独立して、 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 、 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ からなる基のいずれかであり、 p は 0 以上 3 以下の整数である。

[0025] 式 (A2) 中、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 及び R_{24} は、それぞれ独立して、カルボキシ基又は、炭素数 2 若しくは 3 のカルボキシアルキル基である。

[0026] 式 (A3) 中、 R_{31} 、 R_{32} 、 R_{33} 及び R_{34} は、それぞれ独立して、水素原子と、2 以上 10 以下の炭素原子とを有し、窒素原子又は酸素原子を含んでいてもよい原子団であり、 R_{35} は水素原子、カルボキシ基、又は炭素数 2 若しくは

3のカルボキシアルキル基である。

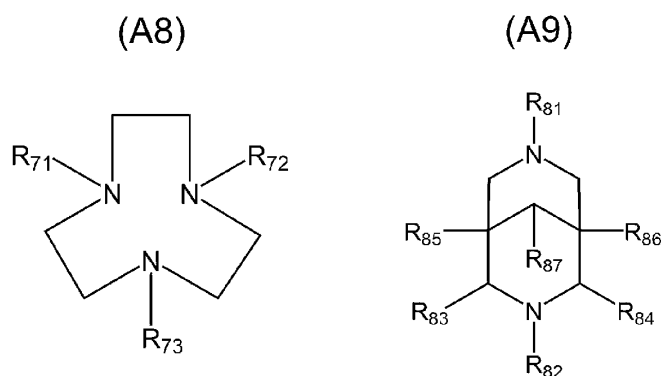
[0027] 式(A4)中、 R_{41} 、 R_{42} 、 R_{43} 及び R_{44} は、それぞれ独立して、水素原子と、2以上10以下の炭素原子とを有し、窒素原子又は酸素原子を含んでいてもよい原子団であり、 R_{45} は、水素原子、カルボキシ基、又は炭素数2若しくは3のカルボキシアルキル基である。

[0028] 式(A5)中、 R_{48} 及び R_{49} は、それぞれ独立して、水素原子と、2以上10以下の炭素原子とを有し、窒素原子又は酸素原子を含んでいてもよい原子団である。

[0029] 式(A6)中、 R_{51} 、 R_{52} 、 R_{53} 、 R_{54} 及び R_{55} は、それぞれ独立して、水素原子と、2以上10以下の炭素原子とを有し、窒素原子若しくは酸素原子を含んでいてもよい原子団である。

[0030] 式(A7)中、 R_{61} 、 R_{62} 、 R_{63} 、 R_{64} 、 R_{65} 及び R_{66} は、それぞれ独立して、水素原子と、2以上10以下の炭素原子とを有し、窒素原子又は酸素原子を含んでいてもよい原子団であり、 R_{67} は、水素原子、カルボキシ基、又は炭素数2若しくは3のカルボキシアルキル基である。

[0031] [化04]



[0032] 式(A8)中、 R_{71} 、 R_{72} 及び R_{73} は、それぞれ独立して、水素原子と、2以上10以下の炭素原子とを有し、窒素原子若しくは酸素原子を含んでいてもよい原子団である。

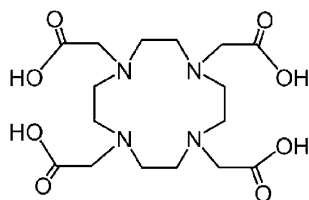
[0033] 式(A9)中、 R_{81} 及び R_{82} は、それぞれ独立して、炭素数1以上5以下のアルキル基であり、当該アルキル基の末端が1以上のカルボキシ基で置換さ

れたピリジル基で置換されていてもよく、 R_{87} は、水酸基又はカルボニル基であり、 R_{83} 及び R_{84} は、置換又は無置換のピリジニル基であり、 R_{85} 及び R_{86} は、それぞれ独立して、 $-COO-R_a$ であり、 R_a は炭素数1以上5以下のアルキル基である。

[0034] 式(A1)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A1-1)～(A1-7)で表される構造が挙げられる。

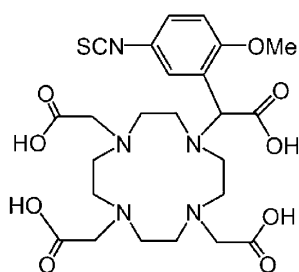
[0035] [化05]

(A1-1)



DOTA

(A1-2)

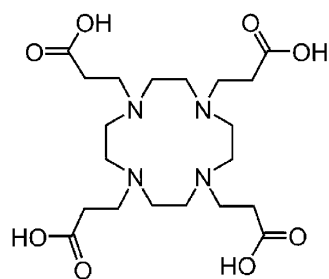


MeO-DOTA-NCS

[0036]

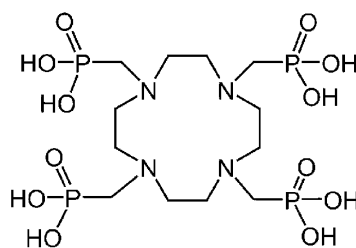
[化06]

(A1-3)



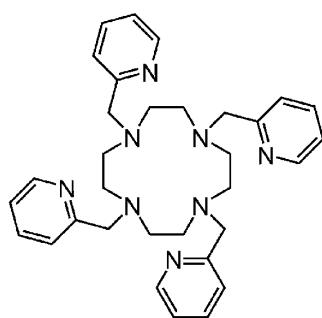
DOTPA

(A1-4)

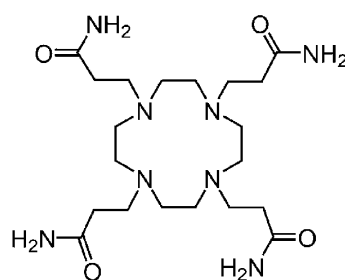


DOTMP

(A1-5)

 L^{py}

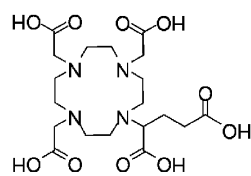
(A1-6)



DOTAM

[0037] [化07]

(A1-7)

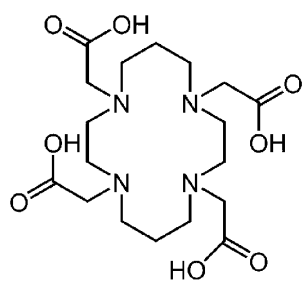


DOTAGA

[0038] 式 (A 2) 表される具体的な構造としては、例えば以下の式 (A 2-1) ~ (A 2-2) で表される構造が挙げられる。

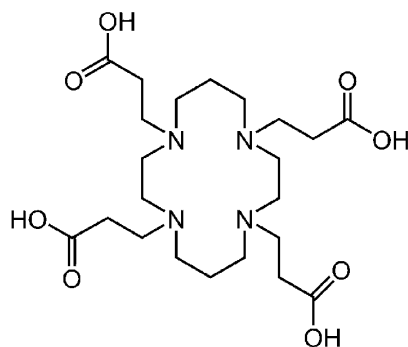
[0039] [化08]

(A2-1)



TETA

(A2-2)

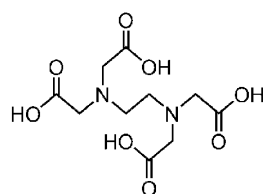


TETPA

[0040] 式 (A 3) 表される具体的な構造としては、例えば以下の式 (A 3-1) ~ (A 3-7) で表される構造が挙げられる。

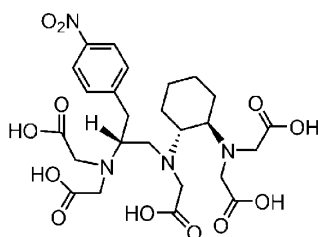
[0041] [化09]

(A3-1)



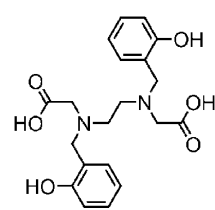
EDTA

(A3-2)



CHX-A"-DTPA

(A3-3)

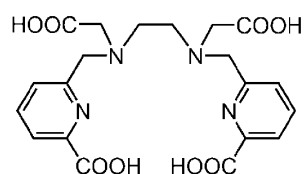


HBED

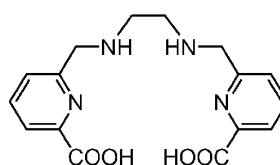
[0042]

[化10]

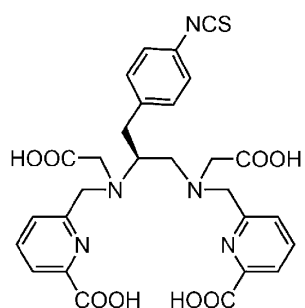
(A3-4)

H₄octapa

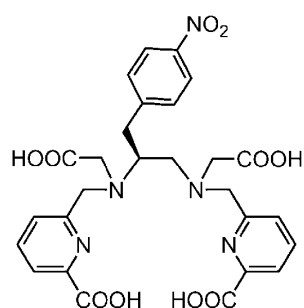
(A3-5)

H₂dedpa

(A3-6)

p-SCN-Bn-H₄octapa

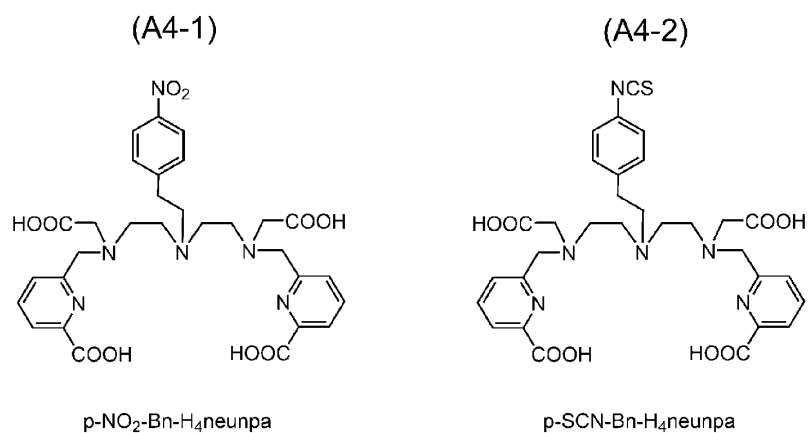
(A3-7)

p-NO₂-Bn-H₄octapa

[0043] 式(A4)表される具体的な構造としては、以下の式(A4-1)～(A4-2)で表される構造が挙げられる。

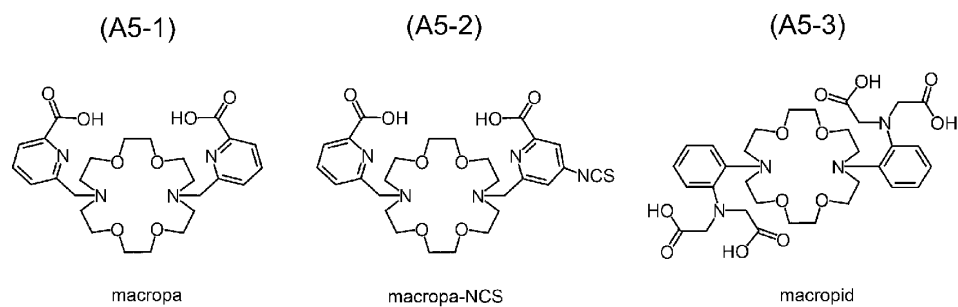
[0044]

[化11]



[0045] 式(A5)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A5-1)～(A5-3)で表される構造が挙げられる。

[0046] [化12]

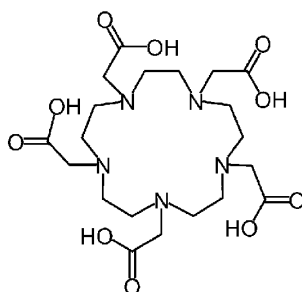


[0047] 式(A6)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A6-1)で表される構造が挙げられる。

[0048]

[化13]

(A6-1)

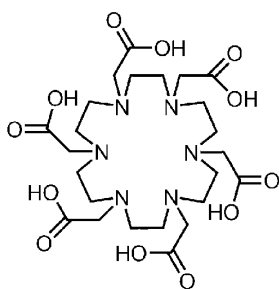


PEPA

[0049] 式(A7)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A7-1)～(A7-2)で表される構造が挙げられる。

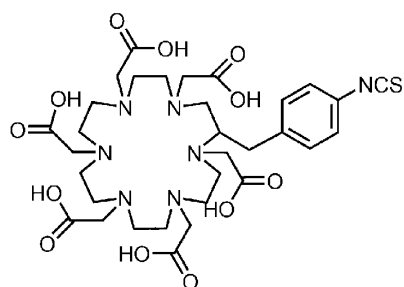
[0050] [化14]

(A7-1)



HEHA

(A7-2)

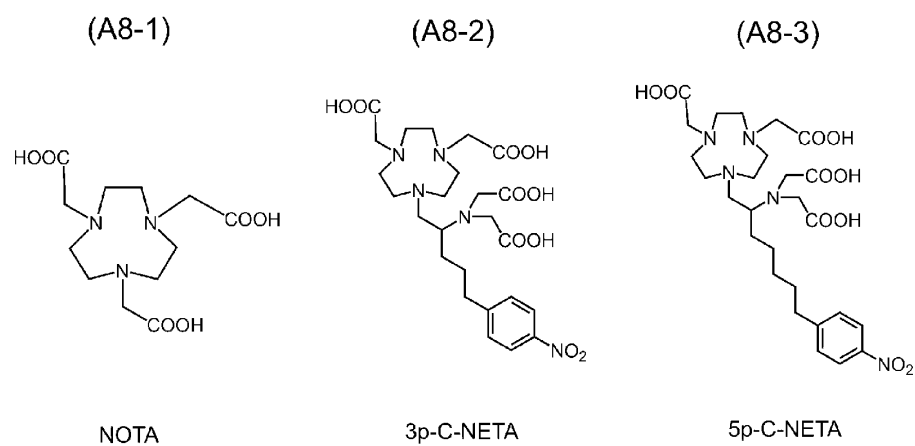


HEHA-NCS

[0051] 式(A8)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A8-1)～(A8-3)で表される構造が挙げられる。

[0052]

[化15]

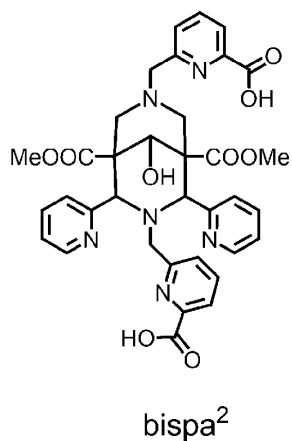


[0053] 式(A9)で表される具体的な構造としては、例えば以下の式(A9-1)～(A9-4)で表される構造が挙げられる。

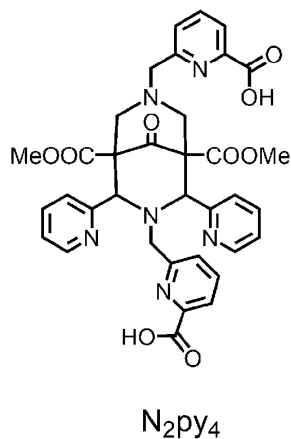
[0054]

[化16]

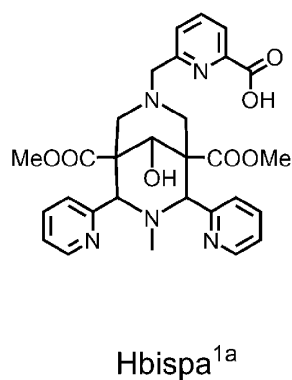
(A9-1)



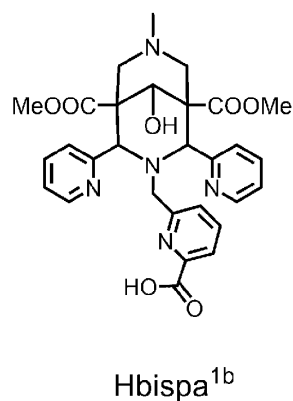
(A9-2)



(A9-3)



(A9-4)



[0055] 式(1)中、符号Bで表される部位は、アルブミンとの親和性、好ましくは血清アルブミン、更に好ましくはヒト血清アルブミンとの親和性を有し、該アルブミンと可逆的に結合可能な化学構造であるアルブミン結合部を含む原子団である。本発明の化合物にこのような構造が含まれていることによって、該化合物に放射性金属を標識して生体に投与したときに、血中での滞留性を高めつつ、腎臓への集積を低減することができる。

[0056] 詳細には、アルブミン結合部を分子中に有する化合物は、血中のアルブミ

ンと結合しやすくなっているところ、アルブミンと結合した化合物は腎臓で糸球体ろ過を受けなくなるので、腎臓や尿への移行及び排泄が低減され、血中での滞留性が向上する。その結果、正常組織である腎臓への集積が低下し、該化合物の腫瘍組織等の標的組織への移行性を更に高めることができる。

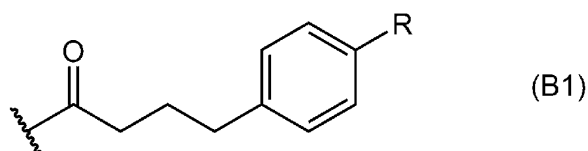
化学構造を巨視的に見たときに、アルブミン結合部を含む原子団と標的分子結合部を含む原子団とがキレート部を介して配置されている化合物を用いた場合、アルブミン結合部と標的分子結合部との間における距離を適度に確保することができるので、アルブミンへの親和性と標的分子の親和性とを兼ね備えることができる。特に、アルブミン結合部が本発明の化合物の一方の構造末端に配置され、且つ標的分子結合部が本発明の化合物の他方の構造末端に配置されていることによって、アルブミン結合部及び標的分子結合部における距離を十分に確保することができるので、アルブミンへの親和性と標的分子の親和性とを高いレベルで両立させることができる点で更に有利である。

[0057] 前記式(1)中、アルブミン結合部の構造としては、例えば、 γ グルタミン酸、置換若しくは無置換のフェニル酪酸、脂質、ヘマチン、ビリルビン、クロフィブリン酸、クロフィブラート、カロテノイド、ステロイド骨格を有する化合物、イブプロフェン骨格を有する化合物、炭素数13以上20以下の直鎖若しくは分枝鎖且つ飽和若しくは不飽和である炭化水素、シアニン色素、スルホン酸基を有する染料、ジアゾ染料、ペンタメチンシアニン色素、ブルーデキストラン、ブロモクレゾールグリーン、及びエバンスブルー並びにこれらの誘導体、又は国際公開第2005/117984号パンフレット、国際公開第2010/127336号パンフレット、若しくは国際公開第2010/172844号パンフレットに記載の構造のうち一種以上に由来する構造が挙げられる。また、これに加えて又はこれに代えて、アルブミンに結合可能な抗体若しくはペプチド(例えば、国際公開第2007/106120号パンフレットに記載のペプチド等)をアルブミン結合部として用いることもできる。

[0058] これらのうち、生体へ適用可能な化合物を得る観点、及び腎臓などの意図しない正常臓器への集積を低減する観点から、アルブミン結合部の構造として、置換若しくは無置換のフェニル酪酸、及びエバンスブルー並びにこれらの誘導体のうち一種以上、又は、アルブミンに結合可能な抗体若しくはペプチドを用いることが好ましい。

[0059] アルブミン結合部として適用可能な置換若しくは無置換のフェニル酪酸としては、例えば以下の式（B1）で示される構造が挙げられる。

[0060] [化17]

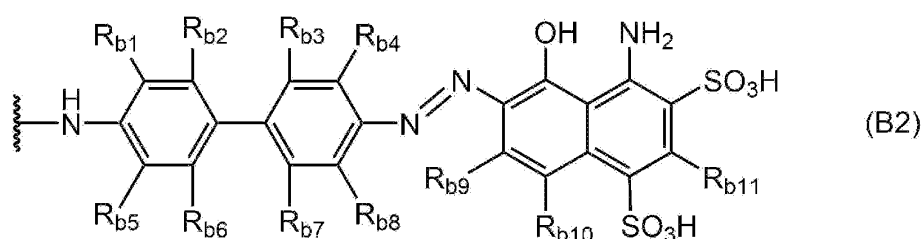


[0061] 式（B1）中、Rは、水素原子、ハロゲン原子又は炭素数1以上5以下のアルキル基であり、波線で示す部分は他の構造との結合部分である。

式（B1）中、Rは水素原子、ヨウ素原子、臭素原子又はメチル基であることが好ましい。

[0062] アルブミン結合部として適用可能なエバンスブルー及びその誘導体としては、例えば以下の式（B2）で示される構造が挙げられる。

[0063] [化18]



[0064] 式（B2）中、R_{b1}ないしR_{b11}は、それぞれ独立して、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、シアノ基、炭素数が1以上6以下の置換若しくは無置換のアルキル基、又は炭素数が1以上6以下の置換若しくは無置換のアルコキシ基であり、波線で示す部分は他の構造との結合部分である。

式（B2）中、 R_{b1} 及び R_{b4} はいずれもメチル基であり、 R_{b2} 及び R_{b3} 並びに R_{b5} ないし R_{b11} はすべて水素原子であることが好ましい。

[0065] アルブミンに結合可能な抗体としては、アルブミンに親和性を有する限りにおいて、IgG、IgA、IgM、IgD及びIgEのクラスを有する免疫グロブリンを用いてもよく、抗体断片（例えば、Fabフラグメント）を用いてもよい。肝臓などの意図しない組織への集積を低減する観点から、アルブミンに結合可能な抗体をアルブミン結合部として用いる場合、分子量が少ないFabフラグメントを用いることが好ましい。

[0066] アルブミンに結合可能なペプチドとしては、例えば、国際公開第2007/106120号パンフレットに示される配列を含むペプチドが挙げられ、詳細には、以下のペプチド配列を含むペプチドが挙げられるが、これらの配列に限られない。

以下のペプチド配列は、アミノ酸を一文字表記で示し、紙面左側がN末端、紙面右側がC末端を示す。

- ・ LCLRDWGCLW（配列番号1）
- ・ DICLPRWGCLWW（配列番号2）
- ・ MEDICLPRWGCLWGD（配列番号3）
- ・ QRLMEDICLPRWGCLWEDDE（配列番号4）
- ・ QGLIGDICLPRWGCLWGRSV（配列番号5）
- ・ QGLIGDICLPRWGCLWGRSVK（配列番号6）
- ・ EDICLPRWGCLWEDD（配列番号7）
- ・ RLMEDICLPRWGCLWEDD（配列番号8）
- ・ MEDICLPRWGCLWEDD（配列番号9）
- ・ MEDICLPRWGCLWED（配列番号10）
- ・ RLMEDICLARWGCLWEDD（配列番号11）
- ・ EVRSFCTRWPAEKSCCKPLRG（配列番号12）
- ・ RAPESFVCYWETICFERSEQ（配列番号13）

[0067] 式（1）中、符号Cで表される部位は、がん等の疾患の原因となる組織に

発現している標的分子に親和性を有し、該標的分子と可逆的に結合可能な化学構造である標的分子結合部を含む原子団である。本発明の化合物にこのような構造が含まれていることによって、これを放射性金属で標識して生体に投与したときに、治療又は診断の対象となる組織に効率よく集積させることができ、治療又は診断の効率を高めることができる。

[0068] がんとしては、例えば脳腫瘍、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、胃がん、肺がん、結腸がん、直腸がん、大腸がん、小腸がん、食道がん、十二指腸がん、舌がん、咽頭がん、唾液腺がん、神経膠腫、肝臓がん、腎臓がん、胆管がん、子宮体がん、子宮頸がん、卵巣がん、膀胱がん、皮膚がん、血管腫、悪性黒色腫、甲状腺がん、副甲状腺がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、骨腫瘍、血管線維腫、網膜肉腫、陰茎がん、精巣がん、及び小児固形がんなどの固形がん、悪性リンパ腫、白血病及び骨髄腫などの血液がん、肉腫、並びに多発性膠芽腫が挙げられる。これらのがんは、原発性であっても転移性であってもよい。

[0069] 標的分子結合部における化学構造は、目的とする組織や該組織に発現する標的分子の量に応じて適宜選択することができる。詳細には、標的分子結合部として、正常組織にはあまり発現していないが、がん組織などの疾患の原因となる組織に多く発現する分子を標的分子とし、該分子に親和性を有する構造を採用することができる。標的分子に親和性を有する構造としては、例えば、低分子化合物、ペプチド、抗体及びF a bフラグメント等の抗体断片のうち一種以上が挙げられる。

[0070] 標的分子としては、例えばタンパク質、DNA及びRNA等が挙げられ、好ましくは細胞膜表面に存在するか、又は細胞膜を貫通して存在するタンパク質である。

標的分子の具体例としては、HER2及びHER3、EPHA2、KIT等のチロシンキナーゼ、CD19、CD19A、CD20、CD22、CD27L、CD30、CD33A、CD38、CD56、CD70、CD74、CD79b、CD138、SLAMF7等の造血系細胞に発現するタンパ

ク質、FOLR1等の葉酸受容体、TROP2等の腫瘍関連Caシグナルトランスデューサー、CEACAM5等の癌胎児性抗原関連細胞接着分子、ENPP3等のエクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ、STEAP1等のメタロレダクターゼ、EGFR及びEGFRvIII等の上皮成長因子受容体、ネクチン4等の細胞接着分子、FGFR2等の線維芽細胞増殖因子、NaPi2b等のリン酸トランスポーター、ETB1及びETB2等のエンドセリン受容体、LIV1A等の亜鉛トランスポーター、CA-IX等の炭酸脱水酵素、GLP-1受容体等のグルカゴン様ペプチド受容体、膜貫通糖タンパク質NMB（gpNMB）、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、メソテリン、グアニル酸シクラーゼC、並びにインテグリンなどが挙げられる。

[0071] 本発明の化合物をがんの治療又は診断に用いる化合物の前駆体として用いる場合、上記式（1）中、標的分子結合部の構造として、例えば、CA-IX、PSMA又はGLP-1受容体のいずれか一つの標的分子に結合する構造等が挙げられる。

[0072] CA-IXは、細胞が低酸素状態になった際に発現が亢進する膜結合型タンパク質である。CA-IXは、例えば固形がん組織における低酸素領域を有する組織では発現が高くなるのに対し、正常組織では発現が低いものである。したがって、CA-IXは、本発明における有用な標的分子の一つであり、固形がんの治療及び診断の標的として特に有用である。

[0073] PSMAは、前立腺がんにおいて発現が亢進する膜結合型タンパク質である。PSMAは、前立腺を含む正常組織での発現量は少ないが、前立腺がんの悪性度が高まるにつれてPSMAの発現量が亢進する。したがって、PSMAは、本発明における有用な標的分子の一つであり、前立腺がんの診断及び治療の標的として特に有用である。

[0074] GLP-1受容体は、生体で分泌されるインクレチンホルモンの一種として知られるグルカゴン様ペプチドに対する受容体である。GLP-1受容体は、膵臓がん（特に、インスリノーマ）において他の正常組織よりも特異的

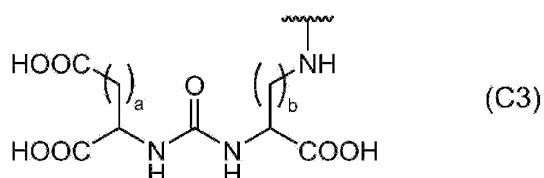
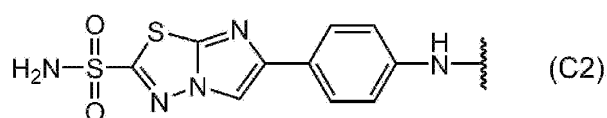
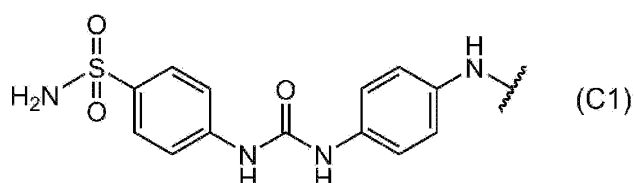
に高く発現することが知られている。したがって、GLP-1受容体も、本発明における有用な標的分子の一つであり、膵臓がんの診断及び治療の標的として特に有用である。

[0075] 上記式(1)中、標的分子結合部は、下記式(C1)ないし(C3)のうちいずれか一つで表される構造を有するか、又は標的分子に結合可能な抗体若しくはペプチドであることが好ましい。本発明の化合物にこのような構造が含まれていることによって、これに放射性金属を標識して投与したときに、治療又は診断の対象となる組織に効率よく集積させることができ、治療又は診断の効率を高めることができる。

[0076] 詳細には、下記式(C1)及び(C2)は、CA-IXを標的分子としたときに好適に採用される標的分子結合部の構造の一形態である。

また、下記式(C3)は、PSMAを標的分子としたときに好適に採用される標的分子結合部の構造の一形態である。

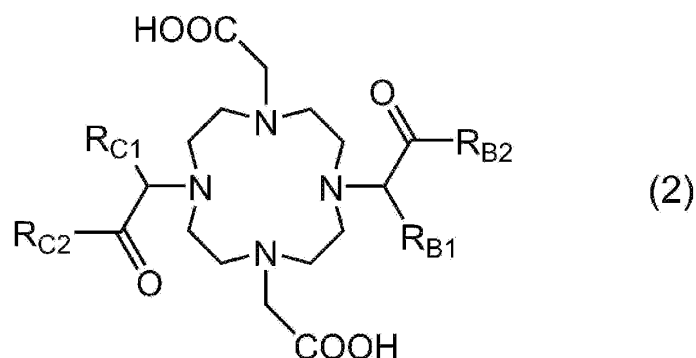
[0077] [化19]



- [0078] 式 (C 3) 中、a 及び b は、それぞれ独立して、1 以上 7 以下の整数である。また、式 (C 1) ~ (C 3) 中、波線で示す部分はいずれも他の構造との結合部分である。
- [0079] 標的分子に結合可能な抗体としては、標的分子に親和性を有する限りにおいて、Ig G、Ig A、Ig M、Ig D 及び Ig E のクラスを有する免疫グロブリンを用いてもよく、抗体断片（例えば、Fab フラグメント）を用いてもよい。肝臓などの意図しない組織への集積を低減する観点から、標的分子に結合可能な抗体を標的分子結合部として用いる場合、分子量が少ない Fab フラグメントを用いることが好ましい。
- [0080] 標的分子に結合可能なペプチドとしては、例えば、GLP-1 受容体に親和性を有する exendin-4 等のペプチド、又は $\alpha v \beta 3$ インテグリン及び $\alpha v \beta 5$ インテグリンに親和性を有する環状 RGD ペプチド (c RGD ペプチド) 等の環状ペプチドが挙げられるがこれらに限られない。
- [0081] 本発明の化合物は、以下の一般式 (2) で表される構造を有することが更に好ましい。
- このような構造を有していることによって、放射性金属を配位可能なヘテロ原子を構造中に十分に有したものとなるので、本発明の化合物に放射性金属を配位させる際に錯体形成効率を高めることができる。これに加えて、アルブミン結合部及び標的分子結合部における分子の動きの自由度が高まるので、アルブミンへの親和性と標的分子の親和性とを高いレベルで両立させることができる。更に、肝臓や腎臓などの正常組織への意図しない集積が低減されたものとなる。

[0082]

[化20]



[0083] 式(2)中、 R_{B1} 及び R_{B2} のうち一方はアルブミン結合部を含む原子団であり、他方は水素原子、水酸基若しくはカルボキシ基であり、 R_{C1} 及び R_{C2} のうち一方は標的分子結合部を含む原子団であり、他方は水素原子、水酸基、若しくはカルボキシ基である。

これらのうち、式(2)中、 R_{B1} はアルブミン結合部を含む原子団であり、 R_{C1} は標的分子結合部を含む原子団であり、 R_{B2} 及び R_{C2} はともに水酸基であることが好ましい。

これに代えて、式(2)中、 R_{B2} はアルブミン結合部を含む原子団であり、 R_{C2} は標的分子結合部を含む原子団であり、 R_{B1} 及び R_{C1} はともに水素原子であるか、又はそれぞれ独立して炭素数1～5のカルボキシアルキル基であることも好ましい。

上述したいずれの態様であっても、アルブミン結合部が化合物の一方の構造末端に配置され、且つ標的分子結合部が化合物の他方の構造末端に配置されていることにより、本発明の化合物の化学構造を巨視的に見た場合に、キレート部と、アルブミン結合部と、標的分子結合部とが、略直線状に配置されていることが好ましい。

[0084] 特に、式(2)中、アルブミン結合部を含む原子団は、アルブミン結合部として上述した式(B1)又は式(B2)で表される構造を含む原子団であることが好ましい。このような化学構造の具体例を、以下の式(2-1)～(2-4)に示す。

以下の式（２－１）及び式（２－２）中、 L_1 は、それぞれ独立して、カルボキシ基を含む炭素数１以上８以下のアルキル基である。

以下の式（２－３）及び式（２－４）中、それぞれ独立して、 g は１以上５以下の整数であり、 h は０又は１である。

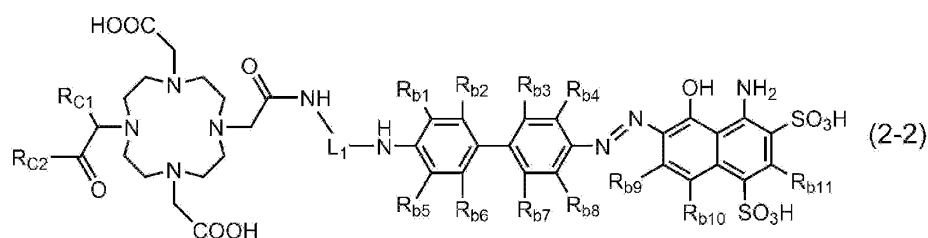
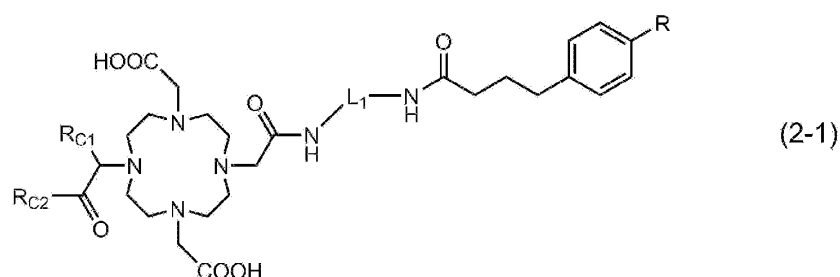
[0085] また、以下の式（２－１）～式（２－４）中、 R 、 R_{b1} ないし R_{b11} 並びに R_{c1} 及び R_{c2} に関する説明は、それぞれ独立して、上述した式（Ｂ１）及び（Ｂ２）、並びに式（２）に関する説明が適宜適用される。

つまり、 R は、水素原子、ハロゲン原子又は炭素数１以上５以下のアルキル基であり、好ましくは R は水素原子、ヨウ素原子、臭素原子又はメチル基である。

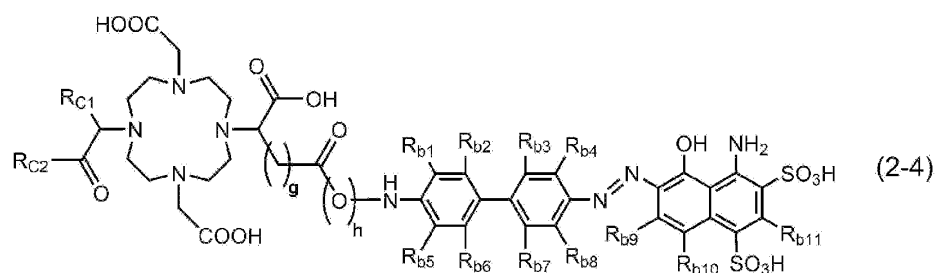
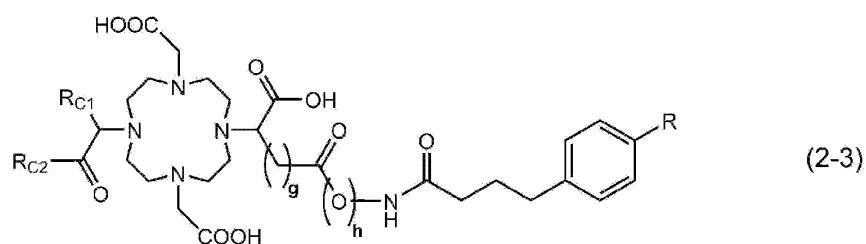
R_{b1} ないし R_{b11} は、それぞれ独立して、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、シアノ基、炭素数が１以上６以下の置換若しくは無置換のアルキル基、又は炭素数が１以上６以下の置換若しくは無置換のアルコキシ基であり、好ましくは R_{b1} 及び R_{b4} はいずれもメチル基であり、 R_{b2} 及び R_{b3} 並びに R_{b5} ないし R_{b11} はすべて水素原子であることが好ましい。

R_{c1} 及び R_{c2} のうち一方は標的分子結合部を含む原子団であり、他方は水素原子、水酸基、若しくは炭素数１～５のカルボキシアルキル基である。

[0086] [化21]



[0087] [化22]

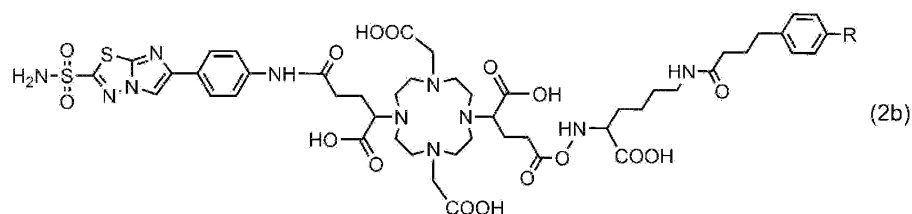
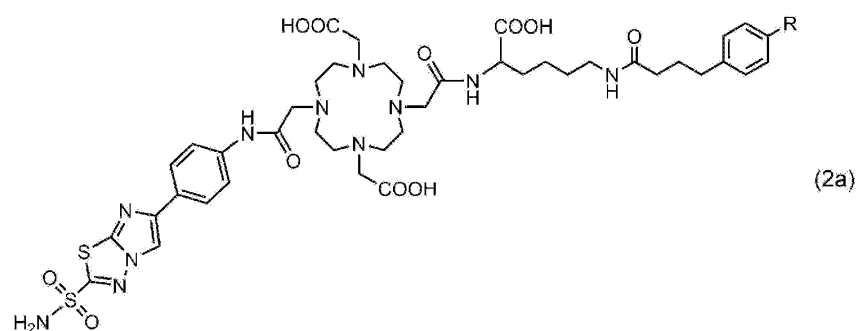


[0088] また、式（２）において、アルブミン結合部として式（Ｂ１）の構造を含み、 $CA-IX$ を標的分子とした場合の化合物の化学構造の具体例を以下の式（２a）～（２d）に示す。

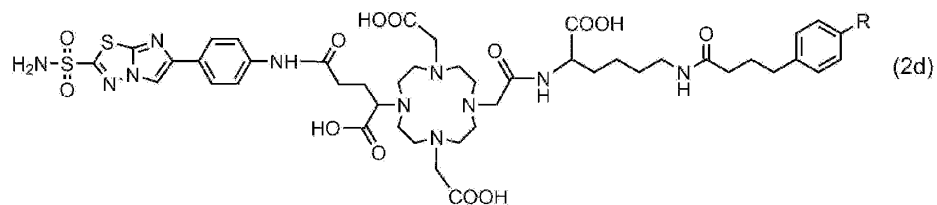
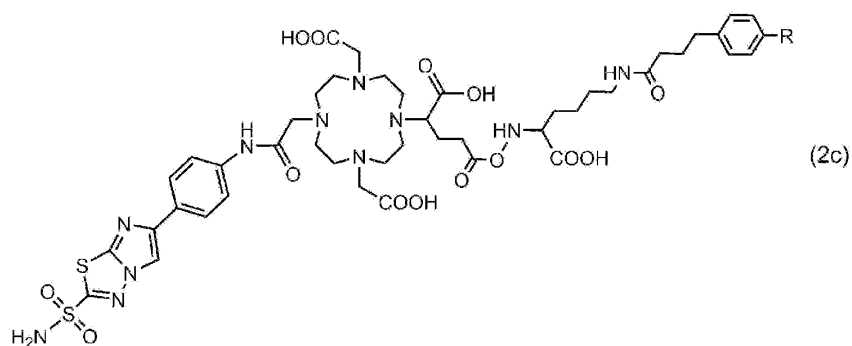
式（２a）～（２d）中、それぞれ独立して、 R は、水素原子、ハロゲン原子又は炭素数１以上５以下のアルキル基であり、好ましくは R は水素原子、ヨウ素原子、臭素原子又はメチル基である。

[0089]

[化23]



[0090] [化24]

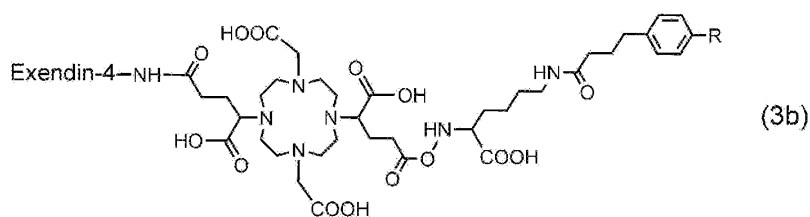
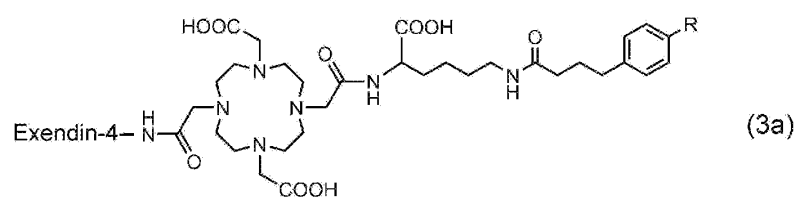


[0091] また、式(2)において、アルブミン結合部として式(B1)の構造を含

み、GLP-1受容体を標的分子とした場合の化合物の化学構造の具体例を以下の式(3a)～(3d)に示す。

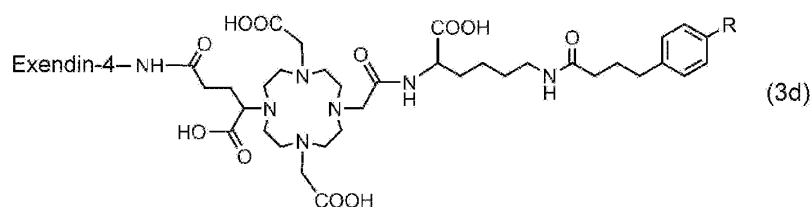
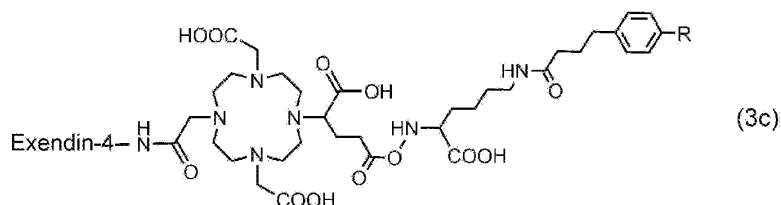
式(3a)～(3d)中、それぞれ独立して、Rは、水素原子、ハロゲン原子又は炭素数1以上5以下のアルキル基であり、好ましくはRは水素原子、ヨウ素原子、臭素原子又はメチル基である。

[0092] [化25]



[0093]

[化26]



[0094] 以上の各構造を有する本発明の化合物は、例えば以下の反応経路（I）又は（I I）に記載の方法、あるいは後述する実施例に記載の方法で製造することができる。

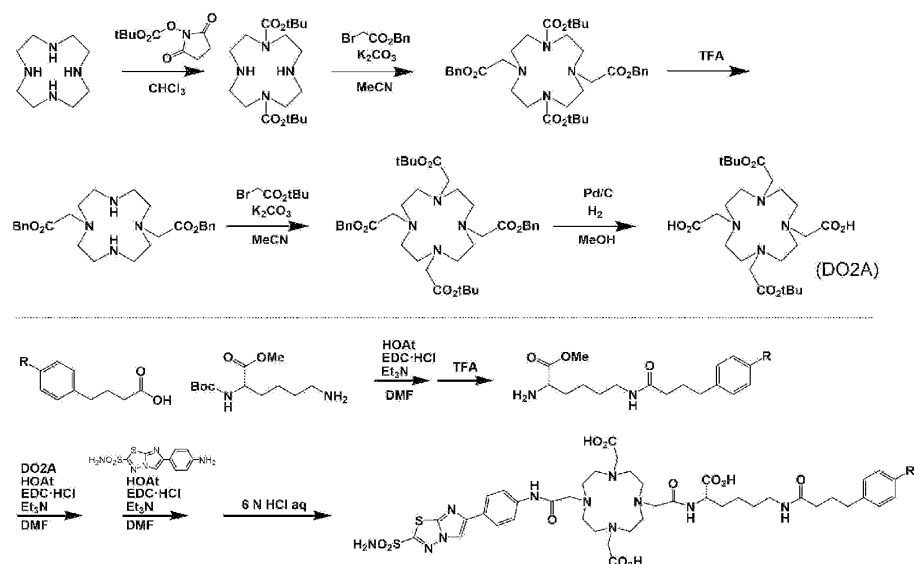
反応経路（I）及び（I I）中、Rは、水素原子、ハロゲン原子又は炭素数1以上5以下のアルキル基であり、好ましくはRは水素原子、ヨウ素原子、臭素原子又はメチル基である。

反応経路（I I）中、「ALB」はアルブミン結合部を示し、「L i g a n d」は標的分子結合部を示す。

[0095]

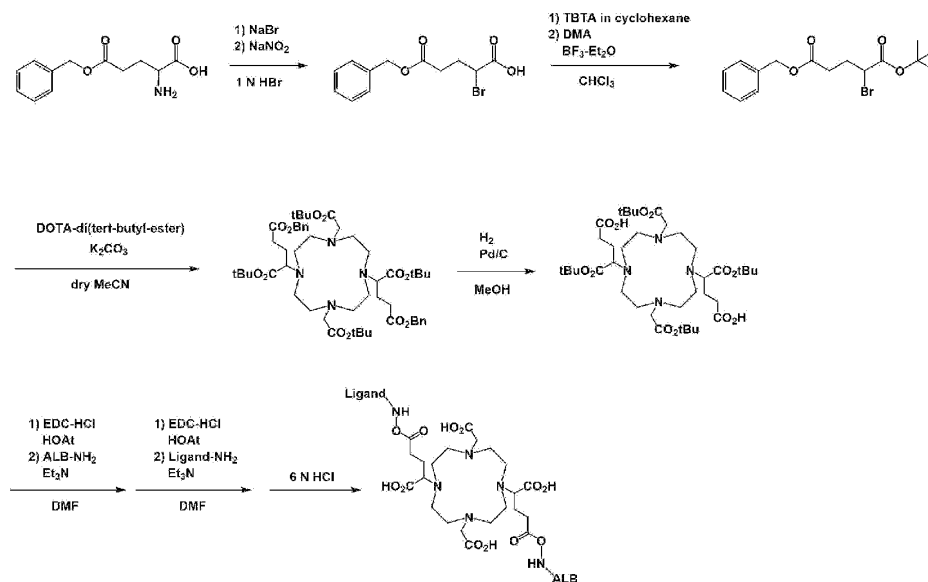
[化27]

Scheme(I)



[0096] [化28]

Scheme(II)



[0097] 本発明の化合物は、これを好ましくは溶媒や緩衝液等の水性液に溶解した状態で、放射性金属と反応させて、放射性金属錯体である放射性標識化合物

を得ることができる。この放射性標識化合物は、化合物におけるキレート部が放射性金属のイオンに配位されてなるものである。

錯体形成効率を高める観点から、化合物と反応させる放射性金属は、電離可能な放射性金属化合物の態様で用いることが好ましく、放射性金属イオンの態様で用いることが更に好ましい（以下、これらの態様を総称して「放射性金属源」ともいう。）。放射性金属源としては、例えば、水を主体とする溶媒に放射性金属イオンが溶解又は分散した放射性金属イオン含有液を用いることができる。

[0098] また、化合物におけるキレート部と放射性金属との組み合わせに依存することなく、放射性金属との錯体形成効率を高める観点から、錯体形成において、化合物と放射性金属とを加熱して反応させることが好ましい。このような反応条件で行うことによって、検出が困難な低エネルギー放射線や、 α 線を放出する放射性金属核種を用いた場合であっても、錯体形成を良好に進行させることができるので、目的とする放射性標識化合物を高い収率で得ることができる。

[0099] 放射性標識化合物を得るにあたり、化合物と放射性金属イオンとの錯体形成が可能であれば、化合物と放射性金属源との添加順序は問わず、例えば、溶媒を収容した反応容器に、化合物及び放射性金属源の一方を添加し、次いで他方を添加して反応させてもよく、化合物及び放射性金属源の一方を溶媒に溶解した溶液に他方を添加して反応させてもよい。あるいは、溶媒を収容した反応容器に、これらを同時に添加して反応させてもよい。

[0100] 放射性標識化合物を得るための反応条件としては、例えば以下の条件とすることができる。本工程で用いられる溶媒としては、例えば水、生理食塩水、又は酢酸ナトリウム緩衝液、酢酸アンモニウム緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水、T r i s 緩衝液、H E P E S 緩衝液、若しくはテトラメチルアンモニウム酢酸緩衝液等の緩衝液等を用いることができる。反応温度としては、例えば室温（25℃）であってもよく、加熱条件下であってもよい。

[0101] 放射性金属源は、例えば、水を主体とする溶媒に、放射性金属イオンが分散した溶液を用いることができる。

[0102] 本工程における反応液量は特に限定されないが、製造工程における実用性の観点から、本工程の開始時において、0.01 mL ~ 100 mL が現実的である。また、化合物及び放射性金属イオンの反応液中の濃度は、それぞれ独立して、本工程の開始時において、 $1 \mu\text{mol/L} \sim 100 \mu\text{mol/L}$ であることが、目的とする放射性標識化合物の収率の観点から好ましい。

[0103] 得られた放射性標識化合物は、これをそのまま用いてもよく、あるいは、ろ過フィルター、メンブランフィルター、種々の充填剤を充填したカラム、クロマトグラフィー等を用いて精製してもよい。

また必要に応じて、以後の工程において、放射性標識化合物に、水を主体とする溶媒及び薬学的に許容される他の成分を加えて、放射性医薬組成物とすることもできる。放射性医薬組成物は、例えば上述の方法で製造された放射性標識化合物を、水を主体とし、且つ生体と略等張の溶媒に溶解させて製造することができる。放射性医薬組成物は、経口的に、又は静脈内、皮下、腹腔内若しくは筋肉内等の非経口的に生体に投与され、疾患の治療、疾患の診断、あるいは病巣の検出等に用いられる。

[0104] 放射性標識化合物にイオンの状態で配位されている放射性金属は、 α 線、 β 線若しくは γ 線又はこれらの組み合わせの放射線を放出する金属核種を用いることができる。このような放射性金属の核種としては、例えばアルカリ金属、アルカリ土類金属、ランタノイド、アクチノイド、遷移金属若しくはこれらの金属以外の金属の放射性同位体等が挙げられる。

これらのうち、商業利用可能であり且つ錯体形成性の向上を図る観点から、放射性金属の核種として、 ^{44}Sc 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{60}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{89}Sr 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{103}Ru 、 ^{111}In 、 ^{153}Sm 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{198}Au 、 ^{201}Tl 、 ^{197}Hg 、 ^{203}Hg 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{227}Th 又は ^{225}Ac を用いることが好ましい。これらの放射性金属は、常法に従って製造することができる。これらの放射性核種は、放射性金属が電離状態で含有される溶液として得る

ことが好ましい。

[0105] 放射性標識化合物を疾患の治療を目的として用いる場合には、治療効果を高める観点から、放射性金属として α 線放出核種又は β^- 線放出核種を用いることが好ましい。 α 線放出核種は、放射性金属の壊変過程で α 線を放出する核種であればよく、詳細には、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{227}Th 又は ^{225}Ac 等が好ましく用いられ、より好ましくは ^{227}Th 又は ^{225}Ac であり、更に好ましくは ^{225}Ac である。

β^- 線放出核種は、放射性金属の壊変過程で β^- 線を放出する核種であればよく、詳細には、 ^{60}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{89}Sr 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{103}Ru 、 ^{153}Sm 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{198}Au 、 ^{203}Hg 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 又は ^{212}Pb 等が好ましく用いられ、より好ましくは ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{89}Sr 又は ^{90}Y が用いられ、更に好ましくは ^{90}Y が用いられる。

[0106] また、放射性標識化合物を疾患の診断や病巣の検出を目的として用いる場合には、診断性能を高める観点から、放射性金属として β^+ 線放出核種、電子捕獲壊変核種、又は γ 線放出核種を用いることが好ましい。 β^+ 線放出核種は、放射性金属の壊変過程で陽電子を放出する核種であればよく、 ^{44}Sc 、 ^{58}Co 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 又は ^{89}Zr 等が好ましく用いられ、より好ましくは ^{64}Cu 又は ^{89}Zr である。

電子捕獲壊変核種は、放射性金属の壊変過程でオージェ電子又は特性X線を放出する核種であればよく、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{89}Zr 、 ^{111}In 、 ^{186}Re 、 ^{201}Tl 又は ^{197}Hg 等が好ましく用いられる。

γ 線放出核種は、 γ 崩壊によって γ 線を放出する核種であればよく、 γ 崩壊によって γ 線を放出する核種としては、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{68}Ga 又は ^{201}Tl が好ましく用いられる。

[0107] 放射性金属錯体にイオンの状態で配位されている放射性金属を、イオン半径に基づいて選択する場合、イオン半径が70～130 pm程度の放射性金属として、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{103}Ru 、 ^{111}In 、 ^{153}Sm 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{198}Au 、 ^{201}Tl 、 ^{197}Hg 、 ^{203}Hg 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{225}Ac 等が挙げられ、これらは好ましくは前記式(A1)～(A9)で示される構造のキレート部を有する本発明の化合物と放射性金属イオンとの錯体を形成でき

る。

[0108] 例えば、放射性標識化合物を疾患の治療を目的として用いる場合に、放射性金属として ^{225}Ac を用いる場合は、本発明の化合物として、好ましくは前記式(A 1)、(A 3)～(A 5)又は(A 7)のいずれかで示される構造のキレート部を有する化合物を用い、更に好ましくは前記式(A 1)で示される構造のキレート部を有する化合物を用いる。また、放射性金属として ^{90}Y を用いる場合は、本発明の化合物として、好ましくは前記式(A 1)～(A 3)又は(A 8)のいずれかで示される構造のキレート部を有する化合物を用い、更に好ましくは前記式(A 1)で示される構造のキレート部を有する化合物を用いる。

また、放射性標識化合物を疾患の診断や病巣の検出を目的として用いる場合に、放射性金属として ^{89}Zr を用いる場合は、本発明の化合物として、好ましくは前記式(A 1)、(A 3)又は(A 4)のいずれかで示される構造のキレート部を有する化合物を用い、更に好ましくは前記式(A 1)で示される構造のキレート部を有する化合物を用いる。また、放射性金属として ^{68}Ga 又は ^{111}In を用いる場合は、本発明の化合物として、好ましくは前記式(A 1)～(A 4)又は(A 9)のいずれかで示される構造のキレート部を有する化合物を用い、更に好ましくは前記式(A 1)で示される構造のキレート部を有する化合物を用いる。

[0109] キレート部とアルブミン結合部を含む原子団との結合は、キレート部とアルブミン結合部とが後述するリンカー構造を介さずに直接的に結合していてもよく、あるいは、キレート部とアルブミン結合部を含む原子団とが後述するリンカー構造を介して間接的に結合していてもよい。

同様に、キレート部と標的分子結合部を含む原子団との結合は、キレート部と標的分子結合部とが後述するリンカー構造を介さずに直接的に結合していてもよく、あるいは、キレート部とアルブミン結合部を含む原子団とが後述するリンカー構造を介して間接的に結合していてもよい。

上述した「直接的に」あるいは「間接的に」のいずれの態様であっても、

アミド結合を介して結合していることが、合成の容易性と化学構造の安定性とを両立する観点から好ましい。

[0110] リンカー構造としては、アミド結合を形成可能な化合物に由来する構造であることが好ましい。その具体例としては、グルタミン酸やアスパラギン酸等の酸性アミノ酸並びにリシン等の塩基性アミノ酸等のL体又はD体のアミノ酸、シュウ酸やマロン酸などのジカルボン酸、エチレンジアミン等のジアミン等に由来する構造とすることができる。

上述のリンカー構造としてアミノ酸等に由来する構造を含む場合、例えば、生体内での動態を制御する目的で、国際公開2017/150549号パンフレット、国際公開2019/065774号パンフレット、国際公開2019/221269号パンフレット、国際公開2020/075746号パンフレット、国際公開2020/145227号パンフレット、国際公開2020/145228号パンフレット等に記載のペプチドリンカーを用いることができる。

[0111] また、上述のリンカー構造としてエチレングリコールに由来する構造を含む場合、以下の式(P)に示すリンカー構造によって間接的に結合していることも好ましい。当該構造はエチレングリコール由来の構造であり、式(P)中、nは、好ましくは2以上10以下の整数、より好ましくは2以上8以下の整数、更に好ましくは2以上5以下の整数である。

[0112] [化29]



[0113] これらのリンカー構造は、一種のリンカー構造で構成されていてもよく、あるいは一種のリンカー構造を繰り返して、若しくは複数種のリンカー構造を組み合わせ、これらを直鎖状に又は分枝鎖状に結合させて用いてもよい。

[0114] 上述したキレート部とアルブミン結合部が「間接的に」結合している場合、又はキレート部と標的分子結合部が「間接的に」結合している場合の他の

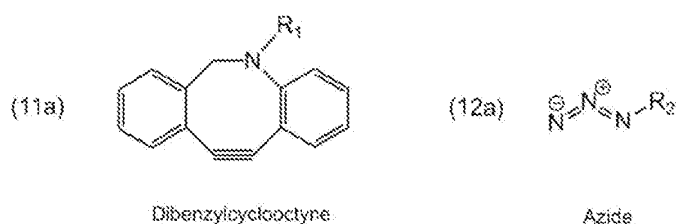
態様としては、公知のカップリング方法で連結させるものであってもよく、例えばクリック反応を用いることができる。以下、キレート部と標的分子結合部の結合にクリック反応を用いる場合を例に説明する。この場合、キレート部及び標的分子結合部がクリック反応可能な原子団をそれぞれ有しており、これらの原子団が互いに反応して、キレート部と標的分子結合部とを互いに結合できるようになっている。つまり、キレート部が備える第1原子団と、標的分子結合部が備える第2原子団との間で実行されるものである。

[0115] 本発明において、クリック反応可能な原子団の組み合わせとしては、クリック反応の種類に応じて適切なものが選択され、例えば、アルキンとアジドとの組み合わせ、1, 2, 4, 5-テトラジンとアルケンとの組み合わせ等が挙げられる。これらの原子団は、第1原子団が前記原子団のうち一つを有し、第2原子団が第1原子団の組み合わせとなる原子団を有していればよい。キレート部及び標的分子結合部の安定性と、これらの結合効率の向上とを両立する観点から、第1原子団がアルキンであり且つ第2原子団がアジドであるか、又は第1原子団が1, 2, 4, 5-テトラジンであり且つ第2原子団がアルケンであることが好ましい。このような原子団の組み合わせによるクリック反応の具体例として、ヒュスゲン環化付加反応、あるいは逆電子要請型ディールスアルダー反応等が挙げられる。

[0116] クリック反応可能な原子団の組み合わせの具体例としては、以下の式に示すように、第1原子団のアルキンとしてジベンジルシクロオクチン（DBCO）を含む原子団（式（11a））と、第2原子団のアジドとしてアジド基を含む原子団（式（12a））との組み合わせ、あるいは、第1原子団が1, 2, 4, 5-テトラジンを含む原子団（式（11b））と、第2原子団のアルケンとしてtrans-シクロオクテン（TCO）を含む原子団（式（12b））との組み合わせが挙げられる。

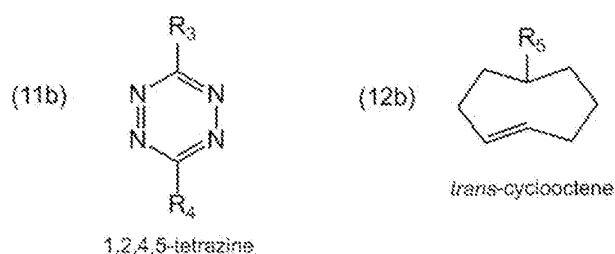
[0117]

[化30]



[0118] (式(11a)中、 R_1 は、キレート部との結合部位を示し、式(12a)中、 R_2 は、標的分子結合部との結合部位を示す。)

[0119] [化31]



[0120] (式(11b)中、 R_3 及び R_4 のうち一方がキレート部又は標的分子結合部との結合部位を示し、他方が水素原子、メチル基、フェニル基又はピリジル基を示し、式(12b)中、 R_5 は、キレート部又は標的分子結合部との結合部位を示す。)

[0121] 本発明でキレート部と標的分子結合部がクリック反応で結合させる場合は、クリック反応が進行可能であれば、これらの添加順序は問わず、例えば、溶媒を収容した反応容器に、キレート部及び標的分子結合部の一方を添加し、次いで他方を添加して反応させてもよく、キレート部及び標的分子結合部の一方を溶媒に分散した分散液に他方を添加して反応させてもよい。あるいは、溶媒を収容した反応容器に、これらを同時に添加して反応させてもよい。

[0122] 上述した各実施形態において、A、B及びC並びに化合物及び放射性標識化合物の各化学構造において置換されうる置換基としては、例えばハロゲン原子、飽和又は不飽和のアルキル基、ヒドロキシ基、アルデヒド基、カルボ

キシ基、アシル基、アミノ基、ニトロ基、エステル基、イソチオシアネート基、チオキシ基、シアノ基、アミド基、イミド基、リン酸基、フェニル基、ベンジル基、ピリジル基等が挙げられる。これらの置換基は、一種を単独で又は、二種以上の置換基が組み合わされた基であってもよい。

[0123] 以上、本発明をその好ましい実施形態に基づき説明したが、本発明は上述した実施形態に限定されない。例えば、上述した各実施形態では、キレート部、アルブミン結合部及び標的分子結合部をそれぞれ一つずつ有する化合物について説明したが、本発明が奏される限りにおいて、アルブミン結合部及び標的分子結合部のうち少なくとも一つは、一つの化学構造中に複数部位有していてもよい。

実施例

[0124] 以下、実施例により本発明を更に詳細に説明する。しかしながら本発明の範囲は、かかる実施例に制限されない。

以下の実施例において、特に断りのない限り、NMRはいずれも日本電子株式会社のJNM-AL400 FT-NMR装置にて、内部標準物質としてテトラメチルシラン（TMS）を用い、TMS共鳴を0.00 ppmに設定した。すべての化学シフトはデルタスケール（ δ ）上のppmであり、そしてシグナルの微細分裂については、略号（s：シングレット、d：ダブルット、t：トリプレット、m：マルチプレット、br：ブロード）を用いて示した。

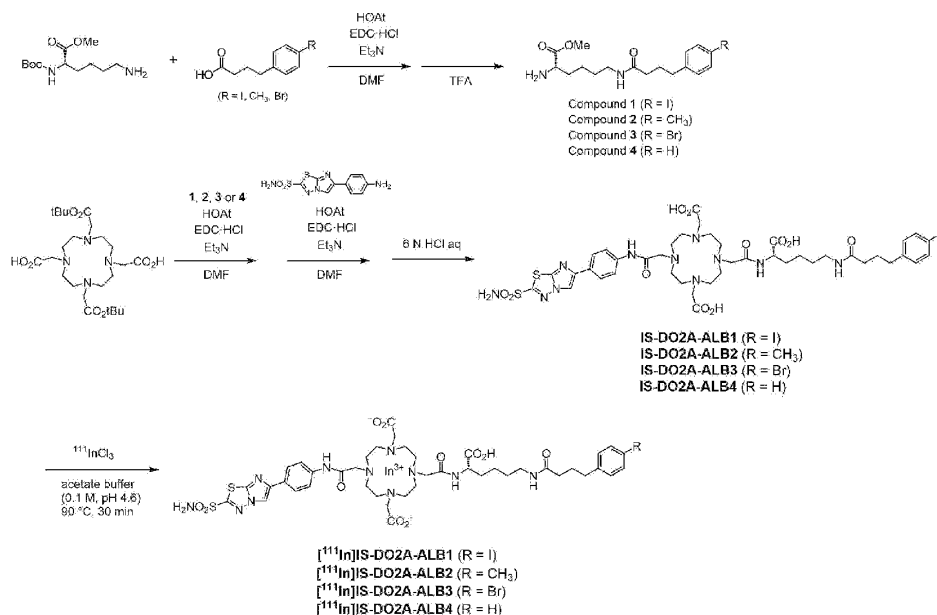
また質量分析においては、MSを行う場合はLCMS 2020（株式会社島津製作所製）、HRMSを行う場合LCMS-IT-TOF（株式会社島津製作所製）を用いて行った。

[0125] 〔実施例1ないし4〕

本実施例では、式（2a）に示すように、CA-IXを標的分子とし、Rをヨウ素原子（実施例1）、メチル基（実施例2）、臭素原子（実施例3）又は水素原子（実施例4）とした化合物を合成し、次いで、各化合物に放射性金属として¹¹¹Inイオンを配位させた放射性標識化合物を得た。以下に各実施例における反応経路の概略を反応経路（III）として示す。

[0126] [化32]

Scheme(III)



[0127] <実施例 1>

(1) 化合物の合成

まず、メチルN⁶-(4-(4-ヨードフェニル)ブタノイル)-L-リジネート(化合物1))を以下の方法で合成した。

[0128] Boc-Lys(OMe)-OH (118 mg, 0.40 mmol) を無水N,N-ジメチルホルムアミド(DMF) 20 mL に溶解させ、4-(4-ヨードフェニル)酪酸(116 mg, 0.40 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl) (153 mg, 0.80 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOAt) (109 mg, 0.80 mmol)、トリエチルアミン(150 μL, 1.1 mmol) を添加し、混合液とした。

この混合液を室温、アルゴン雰囲気下で終夜攪拌し、その後、該混合液を凍結乾燥させて残渣を得た。この残渣にトリフルオロ酢酸(TFA) 2 mL を添加した混合液を室温で3時間攪拌後、濃縮し、残渣を中圧シリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール)で精製し、目的物172 mg

g (収率100%)を淡黄色の油状物質として得た。

[0129] 化合物1の ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.57 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.91 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.20 (s, 2H), 2.54 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 2.18 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 1.98 (s, 2H), 1.87 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 1.50–1.40 (m, 4H)。

化合物1の ^{13}C -NMR (100MHz, CDCl_3) δ 173.9, 170.0, 141.1, 137.2 (2C), 130.5 (2C), 90.9, 53.1, 52.8, 38.7, 35.4, 34.5, 29.6, 28.4, 27.0, 21.7。

化合物1のMS (ESI) m/z $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{I}\text{N}_2\text{O}_3$ 、計算値: 433.1; 実測値: 433.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0130] 次いで、化合物として、IS-DO2A-ALB1 ((S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-(4-ヨードフェニル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を以下の方法で合成した。

[0131] 上述した化合物1 (86mg, 0.20mmol)を無水DMF (5mL)に溶解させ、次いで、2, 2'-(4, 10-ビス(2-(tert-ブトキシ)-2-オキソエチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸 (103mg, 0.20mmol)、EDC·HCl (38mg, 0.20mmol)、HOAt (27mg, 0.20mmol)、及びトリエチルアミン (27 μL , 0.20mmol)を添加し、混合液とした。この混合液を室温、アルゴン雰囲気下で24時間攪拌した。

その後、混合液に6-(4-アミノフェニル)イミダゾ[2,1-b][1,3,4]チアジアゾール-2-スルホンアミド(59mg, 0.20mmol), EDC·HCl(38mg, 0.20mmol)、H0At(27mg, 0.20mmol)、及びトリエチルアミン(27μL, 0.20mmol)を更に添加し、室温、アルゴン雰囲気下で更に24時間撹拌した。

反応終了後、混合液を凍結乾燥して得られた残渣に6規定の塩酸を氷浴下でゆっくり加え、室温で12時間撹拌した。その後、反応液を濃縮し、逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて以下の条件で精製して、目的とする化合物(IS-DO2A-ALB1)を得た。収量は、2.5mg(収率1.2%)であった。

[0132] IS-DO2A-ALB1のHRMS(ESI) m/z $C_{42}H_{56}IN_{11}NaO_{11}S_2$ 、計算値: 1104.2539; 実測値: 1104.2458 ([M+Na]⁺)。

[0133] HPLC精製条件(1回目): Cosmosil 5C₁₈-AR-IIカラム(20×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA[15/85/0.1(体積%, 0分)~45/55/0.1(体積%, 60分)のグラジエント], 流速: 5mL/min。

HPLC精製条件(2回目): Cosmosil 5C₁₈-AR-IIカラム(4.6×150mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA[15/85/0.1(体積%, 0分)~45/55/0.1(体積%, 120分)のグラジエント], 流速: 1mL/min。

[0134] (2) 放射性標識化合物の合成

最後に、目的とする放射性標識化合物として、^{[111]In} IS-DO2A-ALB1 (^{[111]In} インジウム(III)(S)-2,2'-(4-(2-(1-カルボキシ-5-(4-(4-ヨードフェニル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2,1-b][1,3,4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1,4,7,10-テトラアザシ

クロドデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を得た。

[0135] 配位させる放射性金属として¹¹¹Inを用いた。酢酸ナトリウム緩衝液(0.1 M, pH 4.6, 200 μL)と、放射性金属源として [¹¹¹In] 塩化インジウム(100 μL)とをタンパク質低吸着チューブ(1.5 mL)内で室温下10分間静置した後、IS-D02A-ALB1のDMSO溶液(1 mM, 10 μL)を緩衝液中に添加して混合し、90℃で30分間反応させた。その後、反応液を逆相HPLCにて上述と同様の条件で精製し、化合物に放射性金属イオンが配位した放射性標識化合物である [¹¹¹In] IS-D02A-ALB1を得た。放射化学的収率は31%であり、放射化学的純度は99%超であった。

[0136] <実施例2>

(1) 化合物の合成

メチルN⁶-(4-(4-トリル)ブタノイル)-L-リジネート(化合物2)を以下の方法で合成した。

[0137] 実施例1において、4-(4-ヨードフェニル)酪酸に代えて、4-(4-トリル)酪酸(71 mg, 0.40 mmol)を用いた以外は、実施例1と同様の反応を行い、128 mg(収率100%)の化合物2を淡黄色の油状物質として得た。

化合物2の¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.58 (s, 2H), 7.06 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.02 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.43 (s, 1H), 4.02 (t, J=6.0 Hz, 1H), 3.73 (s, 1H), 3.17 (d, J=5.2 Hz, 2H), 2.54 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.17 (t, J=7.4 Hz, 2H), 1.97 (d, J=6.4 Hz, 2H), 1.90-1.82 (m, 2H), 1.48 (br, 4H)。

化合物2の¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 174.0, 169.9, 138.3, 135.2, 128.9 (2C), 128.1 (2C), 53.0, 52.8, 38.6, 35.6, 34.6, 29.6, 2

8. 4, 27. 3, 21. 8, 20. 8。

化合物2のMS (ESI) m/z $C_{18}H_{29}N_2O_3$ 、計算値：321. 2；実測値：321. 2 ([M+H]⁺)。

[0138] 次いで、化合物2を用いて実施例1と同様の方法で反応及び精製を行い、
IS-DO2A-ALB2 ((S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-(4-トリル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を合成した。収量は1. 3 mg、収率は0. 6%であった。

[0139] IS-DO2A-ALB2のHRMS (ESI) m/z $C_{43}H_{60}N_{11}O_{11}S_2$ 、計算値：970. 3910；実測値：970. 3911 ([M+H]⁺)。

[0140] (2) 放射性標識化合物の合成

IS-DO2A-ALB2を用いて、実施例1と同様の方法にて反応及び精製を行い、化合物に放射性金属イオンが配位した放射性標識化合物である
[¹¹¹I n] IS-DO2A-ALB2 ([¹¹¹I n] インジウム (III) (S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-(4-トリル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を得た。放射化学的収率は44%であり、放射化学的純度は99%超であった。

[0141] <実施例3>

(1) 化合物の合成

メチル N⁶-(4-(4-ブロモフェニル)ブタノイル)-L-リジネート (化合物3) を以下の方法で合成した。

[0142] 実施例1において、4-(4-ヨードフェニル)酪酸に代えて、4-(4

ーブロモフェニル) 酪酸 (97 mg, 0.40 mmol) を用いた以外は、実施例 1 と同様の反応を行い、154 mg (収率 100%) の化合物 3 を淡黄色の油状物質として得た。

[0143] 化合物 3 の ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.58 (s, 1H), 7.36 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.02 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 6.58 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.02 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.17 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.54 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.16 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.00 (s, 2H), 1.89–1.84 (m, 2H), 1.48 (br, 4H)。

化合物 3 の ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 170.0, 140.5, 131.2 (2C), 130.1 (2C), 119.5, 53.0, 52.9, 38.7, 35.4, 34.4, 29.6, 28.4, 27.0, 21.7。

化合物 3 の MS (ESI) m/z $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ 、計算値: 385.1; 実測値: 385.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

[0144] 次いで、化合物 3 を用いて実施例 1 と同様の方法で反応及び精製を行い、
IS-DO2A-ALB3 ((S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-(4-ブロモフェニル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を合成した。収量は 3 mg、収率は 1.5%であった。

[0145] IS-DO2A-ALB3 の HRMS (ESI) m/z $\text{C}_{42}\text{H}_{56}\text{BrN}_{11}\text{NaO}_{11}\text{S}_2$ 、計算値: 1056.2678; 実測値: 1056.2665 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$)。

[0146] (2) 放射性標識化合物の合成

IS-DO2A-ALB3を用いて、実施例1と同様の方法にて反応及び精製を行い、化合物に放射性金属イオンが配位した放射性標識化合物である $[^{111}\text{In}]$ IS-DO2A-ALB3 ($[^{111}\text{In}]$ インジウム (III) (S)-2, 2'-(4-(2-(1-カルボキシ-5-(4-(4-ブロモフェニル)ブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-(4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を得た。放射化学的収率は32%であり、放射化学的純度は99%超であった。

[0147] <実施例4>

(1) 化合物の合成

メチル N⁶-(4-4-フェニルブタノイル)-L-リジネート (化合物4) を以下の方法で合成した。

[0148] 実施例1において、4-(4-ヨードフェニル)酪酸に代えて、4-フェニル酪酸 (66 mg、0.40 mmol) を用いた以外は、実施例1と同様の反応を行い、109 mg (収率89%) の化合物4を淡黄色の油状物質として得た。

[0149] 化合物4の¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.53 (s, 2H), 7.25-7.11 (m, 5H), 6.74 (t, 1H), 4.00 (t, 1H), 3.69 (s, 1H), 3.14 (d, 2H), 2.57 (t, 2H), 2.15 (t, 2H), 1.94 (d, 2H), 1.97 (d, 2H), 1.90-1.82 (m, 2H), 1.45 (br, 4H)。

化合物4の¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.9, 170.0, 141.5, 128.3 (2C), 128.2 (2C), 125.8, 53.0, 52.8, 38.6, 35.6, 35.1, 29.6, 28.4, 27.2, 21.8。

化合物4のMS (ESI) m/z C₁₇H₂₇N₂O₃、計算値: 307.2; 実

測値：307.2 ([M+H]⁺)。

[0150] 次に、化合物4を用いて実施例1と同様の方法で反応及び精製を行い、
 IS-DO2A-ALB4 ((S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-フェニルブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を合成した。収量は3mg、収率は1.7%であった。

[0151] IS-DO2A-ALB4のHRMS(ESI) m/z C₄₂H₅₈N₁₁O₁₁S₂、計算値：956.3753；実測値：956.3760 ([M+H]⁺)。

[0152] (2) 放射性標識化合物の合成

IS-DO2A-ALB4を用いて、実施例1と同様の方法にて反応及び精製を行い、化合物に放射性金属イオンが配位した放射性標識化合物である
 [¹¹¹I n] IS-DO2A-ALB4 ([¹¹¹I n] インジウム(III) (S)-2, 2'-(4-(2-((1-カルボキシ-5-(4-フェニルブタナミド)ペンチル)アミノ)-2-オキソエチル)-10-(2-オキソ-2-((4-(2-スルファモイルイミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-6-イル)フェニル)アミノ)エチル)-1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 7-ジイル)二酢酸)を得た。放射化学的収率は44%であり、放射化学的純度は99%超であった。

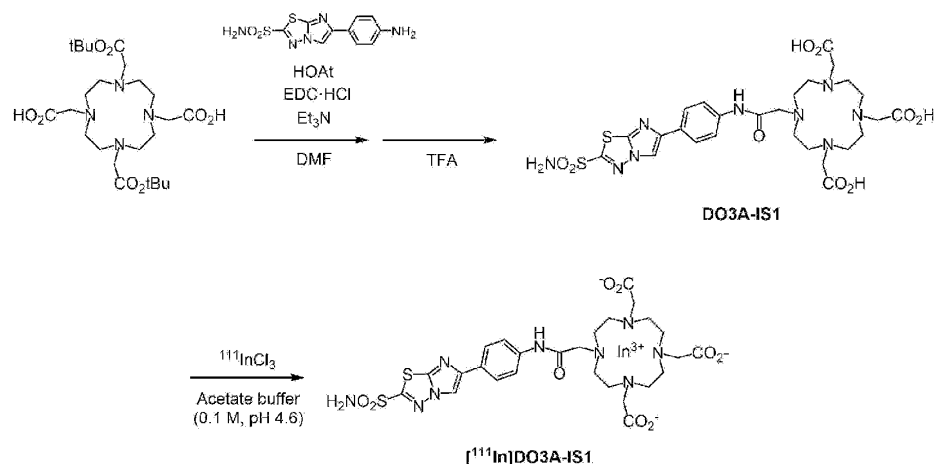
[0153] <比較例1>

以下に示す方法で、[¹¹¹I n] DO3A-IS1を合成した。本比較例における反応経路の概略を反応経路(IV)として示す。

[0154]

[化33]

Scheme(IV)



[0155] (1) 化合物の合成

DO3A-IS1を以下の方法で合成した。具体的には、2, 2' - (4, 10-ビス(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, 7-ジイル) 二酢酸(103 mg, 0.20 mmol)を無水DMF(4 mL)に溶解させ、次いで、6-(4-アミノフェニル)イミダゾ[2, 1-b][1, 3, 4]チアジアゾール-2-スルホンアミド(59 mg, 0.20 mmol)、EDC·HCl(38 mg, 0.20 mmol)、HOAt(27 mg, 0.20 mmol)、及びトリエチルアミン(27 μL, 0.20 mmol)を添加し、混合液とした。この混合液を室温、アルゴン雰囲気下で48時間撹拌した。

反応終了後、混合液を凍結乾燥して得られた残渣にトリフルオロ酢酸を氷浴下でゆっくり加え、室温で7時間撹拌した。その後、反応液を濃縮し、逆相HPLCにて以下の条件で精製して、目的とする化合物(DO3A-IS1)を得た。収量は、52 mg(収率19%)であった。

HPLC精製条件(1回目): Cosmosil 5C₁₈-AR-11カラム(20×250 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA[10/90/0.1(体積%, 5分)~25/75/0.1(体積%, 75分)のグラジエント]

，流速：5 mL/min。

HPLC精製条件（2回目）：Cosmosil 5C₁₈-AR-IIカラム（10×250mm），移動相：MeCN/H₂O/TFA[15/85/0.1（体積%）]，流速：2.8 mL/min。

使用NMR装置：JNM-ECS-400（日本電子株式会社製）

DO3A-IS1の¹H-NMR（400MHz，DMSO-d₆）δ 10.59（s，1H），8.81（s，1H），8.75（s，2H），7.86（d，2H，J=21.5Hz），7.65（d，2H，J=21.5Hz），3.9-4.1（br，16H），3.3-3.1（br，8H）。

DO3A-IS1のHRMS（ESI）m/z C₂₆H₃₆N₉NaO₉S₂、計算値：682.2072；実測値：682.2107（[M+H]⁺）。

[0156] （2）放射性標識化合物の合成

[¹¹¹In] DO3A-IS1を以下の方法で得た。具体的には、酢酸ナトリウム緩衝液（0.1M，pH4.6，200μL）と、放射性金属源として [¹¹¹In] 塩化インジウム（100μL）とをタンパク質低吸着チューブ（1.5mL）内で室温下10分間静置した後、DO3A-IS1のDMSO溶液（20mM，10μL）を緩衝液中に添加して混合し、90℃で30分間反応させた。その後、反応液を逆相HPLCにて以下の条件で精製して、化合物に放射性金属イオンが配位した放射性標識化合物である [¹¹¹In] DO3A-IS1を得た。放射化学的収率は76%であり、放射化学的純度は99%超であった。

HPLC精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-IIカラム（4.6×150mm），移動相：MeCN/H₂O/TFA[10/90/0.1（体積%、0分）～40/60/0.1（体積%、30分）のグラジエント]，流速：0.6 mL/min。

[0157] <評価1：分配係数>

PBS（3mL、pH7.4（20℃））及び1-オクタノール（3mL

）の混合液に、実施例又は比較例の放射性標識化合物（740 kBq）を加え、2分間ボルテックスした後、4000×gで5分間遠心分離した。その後、1-オクタノール層から1 mL、PBS層から500 μLをそれぞれ回収し、各層の放射エネルギーをガンマカウンターにて測定した（n=5）。

分配係数の計算式は、「 $\log_{10} \left[\left(\text{1-オクタノール層の放射エネルギー} \right) / \left(\text{PBS層の放射エネルギー} \times 2 \right) \right]$ 」とした。結果を平均値±標準偏差（mean ± SD）にて以下の表1に示す。

[0158] [表1]

	放射性標識化合物	分配係数 (mean±SD)
比較例1	[¹¹¹ In]DO3A-IS1	-3.72±0.05
実施例1	[¹¹¹ In]IS-DO2A-ALB1	-1.70±0.01
実施例2	[¹¹¹ In]IS-DO2A-ALB2	-2.16±0.04
実施例3	[¹¹¹ In]IS-DO2A-ALB3	-1.90±0.01
実施例4	[¹¹¹ In]IS-DO2A-ALB4	-2.36±0.01

[0159] <評価2：細胞結合阻害実験>

本評価では、[¹¹¹In]IS-DO2A-ALB1～4及び[¹¹¹In]DO3A-IS1のCA-IXに対する結合性の評価を行った。

詳細には、12ウェルプレートにHT-29細胞（CA-IX高発現細胞、大日本住友製薬株式会社から購入）を4.0×10⁵個/ウェルにて培地とともに播種し、5%二酸化炭素の雰囲気下で、37℃にて24時間培養した。

次いで、培地を除去し、実施例1ないし4又は比較例1の放射性標識化合物を含む培地（37 kBq/mL）を、阻害剤としてアセタゾラミド濃度が50000～0.00512 nMとなるように1 mLずつ各ウェルに加え、5%二酸化炭素の雰囲気下で、37℃にて2時間培養した。また、放射性標識化合物を含み、アセタゾラミド非含有のサンプルも同様の条件で培養した。各濃度群は、n=6にて行った。

続いて、培地を除去し、PBS (1 mL) で洗浄し、1 規定水酸化ナトリウム水溶液 (200 μ L $\times$ 2) で細胞を溶解し、細胞溶解液を得た。そして、細胞溶解液中の放射エネルギーと、放射性標識化合物を含む培地とをそれぞれガンマカウンター (型名: Wallac 2470 Wizard, PerkinElmer, Massachusetts, U. S. A. 製) で測定した。またこれとは別に、BCA法により、細胞溶解液中の総タンパク質量 (mg protein) を定量した。添加放射エネルギーに対するサンプルの放射エネルギーの百分率 (% ID) を、総タンパク質量で除した値 (% ID / mg protein) を各サンプルごとに算出し、アセタゾラミド非含有のサンプルにおける総タンパク質量に対する放射エネルギー (% ID / mg protein) を 100% としたときの、各アセタゾラミド濃度のサンプルにおける総タンパク質量に対する放射エネルギー (% ID / mg protein) の百分率に基づいて、GraphPad Prismにて 50% 阻害濃度 (IC_{50}) を算出した。結果を平均値 $\pm$ 標準偏差 (mean $\pm$ SD) にて以下の表 2 に示す。

[0160] [表2]

	放射性標識化合物	IC_{50} (nM, mean $\pm$ SD)
比較例 1	[111 In]DO3A-IS1	126.7 $\pm$ 19.6
実施例 1	[111 In]IS-DO2A-ALB1	571.4 $\pm$ 2.6
実施例 2	[111 In]IS-DO2A-ALB2	165.1 $\pm$ 60.6
実施例 3	[111 In]IS-DO2A-ALB3	288.0 $\pm$ 45.7
実施例 4	[111 In]IS-DO2A-ALB4	105.4 $\pm$ 8.0

[0161] 本実験では、実施例 1 ないし 4 又は比較例 1 の放射性標識化合物の濃度範囲を変更するのではなく、阻害剤の濃度範囲を変更しているので、算出される IC_{50} が大きいほど、放射性標識化合物と CA-IX との結合を阻害するために、高濃度の阻害剤が必要となることを示している。つまり、算出される IC_{50} が大きいほど、放射性標識化合物と CA-IX との親和性が高いことを示す。

表 1 に示すように、実施例 1 ないし 4 の放射性標識化合物は、比較例 1 のものと比較して、算出される IC_{50} の値が大きい。したがって、実施例 1 ないし 4 の放射性標識化合物は、標的分子である CA-IX との親和性が高いことが判る。

[0162] <評価 3 : HT-29 担がんマウスにおける体内放射能分布実験>

2%イソフルラン麻酔下にて、5週齢の雄性BALB/cヌードマウス（清水実験材料株式会社から購入）の左肩に、CA-IXが発現しているHT-29細胞（ 5×10^6 細胞/匹）の懸濁液を皮下接種した。懸濁液の組成は、HT-29細胞/DMEM培地（サーモフィッシャー製）と、マトリックス製品（Geltrix（登録商標）、サーモフィッシャー製）とを、1:1の体積割合で混合したものとした。

その後、皮下接種したマウスを、12時間ごとの昼夜変更式飼育室にて14日間、通常飼料及び水道水にて飼育し、HT-29腫瘍担がんマウスを得た。

そして、実施例 1 ないし 3 の放射性標識化合物の生理食塩水溶液（259 kBq, 100 μ L, アスコルビン酸 3 mg 含有）、又は比較例 1 の放射性標識化合物の生理食塩水溶液（259 kBq, 100 μ L, アスコルビン酸 1 mg 含有）をそれぞれ、各マウスの尾静脈より投与した。投与 1、4、8、24、48、96、192 時間後にマウス（各群 n = 5）を安楽死させ、血液及び各臓器並びに腫瘍部位を回収し、これらの質量を測定した。また、放射エネルギーをガンマカウンターで測定した。

放射性標識化合物の集積度合は、投与放射エネルギー（injected dose）に対する放射エネルギーの百分率（%ID）を血液質量又は臓器質量（g）で除した値（%injected dose/g）として示す。%ID/g の値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の標的臓器への集積が高いことを示す。結果を図 1 に示す。

[0163] 図 1 に示すように、実施例 1 ないし 3 の放射性標識化合物は、該化合物が長時間にわたって血液中に存在し、血中半減期が長いことが判る。また、実

施例 1 ないし 3 の放射性標識化合物は、腎臓への集積が少ないが、CA-IX が発現している腫瘍への集積が高いので、特に標的分子である CA-IX の結合に起因して、腫瘍へ特異的に集積しやすいことが判る。

これに対して、比較例 1 の放射性標識化合物は、各実施例の結果と比較して、腎臓への集積が非常に高く、またこれに伴って、腫瘍への集積が悪いことが判る。

したがって、本発明の化合物及びこれを用いた放射性標識化合物によれば、標的組織への集積の向上と、標的でない組織、特に腎臓への集積の低減とを両立することができる。

[0164] <評価 4 : MDA-MB-231 担がんマウスにおける体内放射能分布実験>

評価 3 と同様の方法で、5 週齢の雄 BALB/c ノードマウスの左肩に、CA-IX の発現が少ない MDA-MB-231 細胞 (1×10^7 細胞/マウス) の懸濁液を皮下接種し、MDA-MB-231 腫瘍担がんマウスを得た。

そして、実施例 1 の放射性標識化合物の生理食塩水溶液 (40 kBq, 100 μ L, アスコルビン酸 3 mg 含有) を各マウスの尾静脈より投与した。投与 24 時間後にマウス (各群 $n = 5$) を安楽死させ、血液及び各臓器並びに腫瘍部位を回収し、これらの質量を測定した。また、放射エネルギーをガンマカウンターで測定した。

放射性標識化合物の集積度合は、投与放射エネルギー (injected dose) に対する放射エネルギーの百分率 (%ID) を血液質量又は臓器質量 (g) で除した値 (%ID/g) として示す。%ID/g の値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の標的臓器への集積が高いことを示す。結果を平均 ± 標準偏差で ($n = 5$) で表 3 に示す。

[0165]

[表3]

放射能集積量 (24時間後) [%ID/g]	血液	5.50±1.17
	脾臓	2.04±0.45
	膵臓	2.27±0.30
	胃[%ID]	4.44±0.48
	腸	4.65±0.48
	腎臓	11.42±0.65
	肝臓	2.64±0.47
	心臓	3.12±0.25
	肺	7.28±0.85
	脳	0.34±0.03
	腫瘍 (MDA-MB-231)	5.05±0.59
	筋肉	1.21±0.22
腫瘍/血液 放射能比		0.94±0.17
腫瘍/筋肉 放射能比		4.22±0.47
腫瘍/腎臓 放射能比		0.44±0.05

[0166] 表3に示すように、実施例1の放射性標識化合物のMDA-MB-231腫瘍への集積は、評価3のHT-29腫瘍(10.73%ID/g)における集積と比較して低かった。したがって、放射性標識化合物はCA-IX高発現腫瘍への集積が高いことが判る。

[0167] <評価5：HT-29担がんマウスにおけるSPECT/CT>

評価3の方法と同様の方法でHT-29腫瘍担がんマウスを得た後、実施例1の放射性標識化合物の生理食塩水溶液(7.6~8.0MBq, 150μL, 3mgアスコルビン酸含有)を尾静脈より投与した。投与4、24、48時間後にGamma Medica-Ideas社製FX3300 pre-clinical imaging systemにてSPECT/CTを行った。SPECT/CTは、担がんマウスを2%イソフルラン麻酔下にて、回転半径35mm、投影時間70秒、投影回数32回にて直径1.0mmのピンホールコリメーターを用いて撮像した。SPECT後、同麻酔下にて、CT(管電圧：60kV, 管電流：350μA)を更に行った。SP

ECTの投影データについて3次元ordered subset expectation maximization法(8 subsets, 5 iterations)による画像再構成を行った。結果を図2に示す。図2中、矢印で示す部分がHT-29腫瘍の存在位置であり、丸印で示す部分が腎臓の存在位置である。

[0168] <評価6:MDA-MB-231担がんマウスにおけるSPECT/CT>

評価4の方法と同様の方法でMDA-MB-231腫瘍担がんマウスを得た後、評価5と同様の条件でSPECT/CTを行った。結果を図3に示す。図3中、矢印で示す部分がMDA-MB-231腫瘍の存在位置であり、丸印で示す部分が胃腸管の存在位置である。

[0169] 図2及び図3に示すように、CA-IXが高発現しているHT-29腫瘍の放射能シグナル(図2参照)は、MDA-MB-231腫瘍の放射能シグナル(図3参照)と比較して高いことが判る。したがって、本発明の放射性標識化合物は、CA-IXが高発現している腫瘍を明瞭に描出できることが判る。

[0170] [実施例5-1~5-3、並びに比較例2-1~2-3]

本実施例では、PSMAを標的分子とする二種類の化合物(PSMA-DA1及びPSMA-DB)を合成した。次いで、各化合物に放射性金属として¹¹¹Inイオン、⁹⁰Yイオン又は²²⁵Acイオンをそれぞれ配位させた放射性標識化合物を得た。以下に詳細を示す。

実施例5-1~5-3にて用いたPSMA-DA1は構造中にキレート部、標的分子結合部及びアルブミン結合部を含むものである。比較例2-1~2-3で用いたPSMA-DBは構造中にキレート部及び標的分子結合部を含むが、アルブミン結合部を含まないものである。

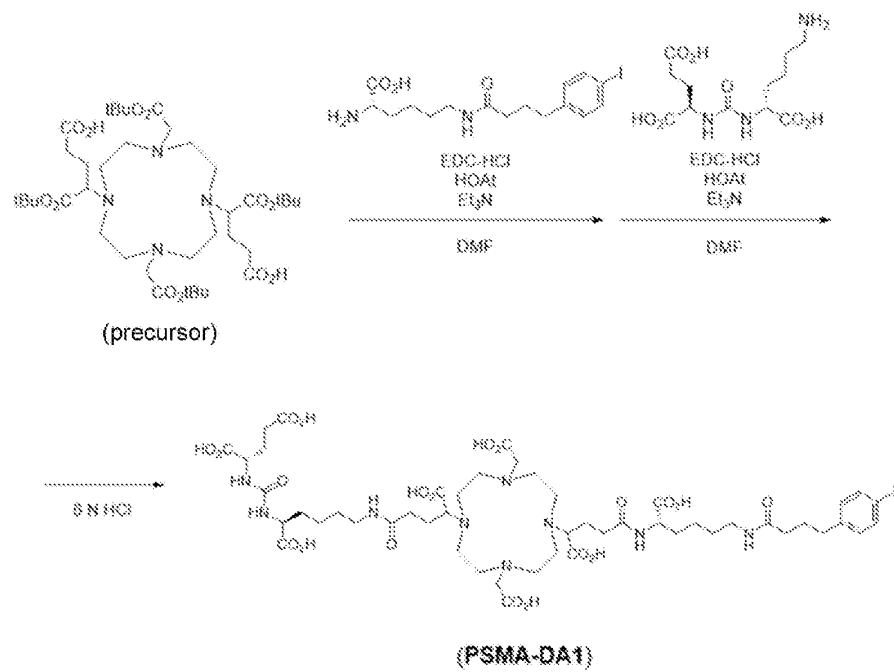
[0171] <実施例5-1~5-3>

実施例5-1~5-3における反応経路の概略を反応経路(V-1)及び(V-2)とし以下に示す。

[0172]

[化34]

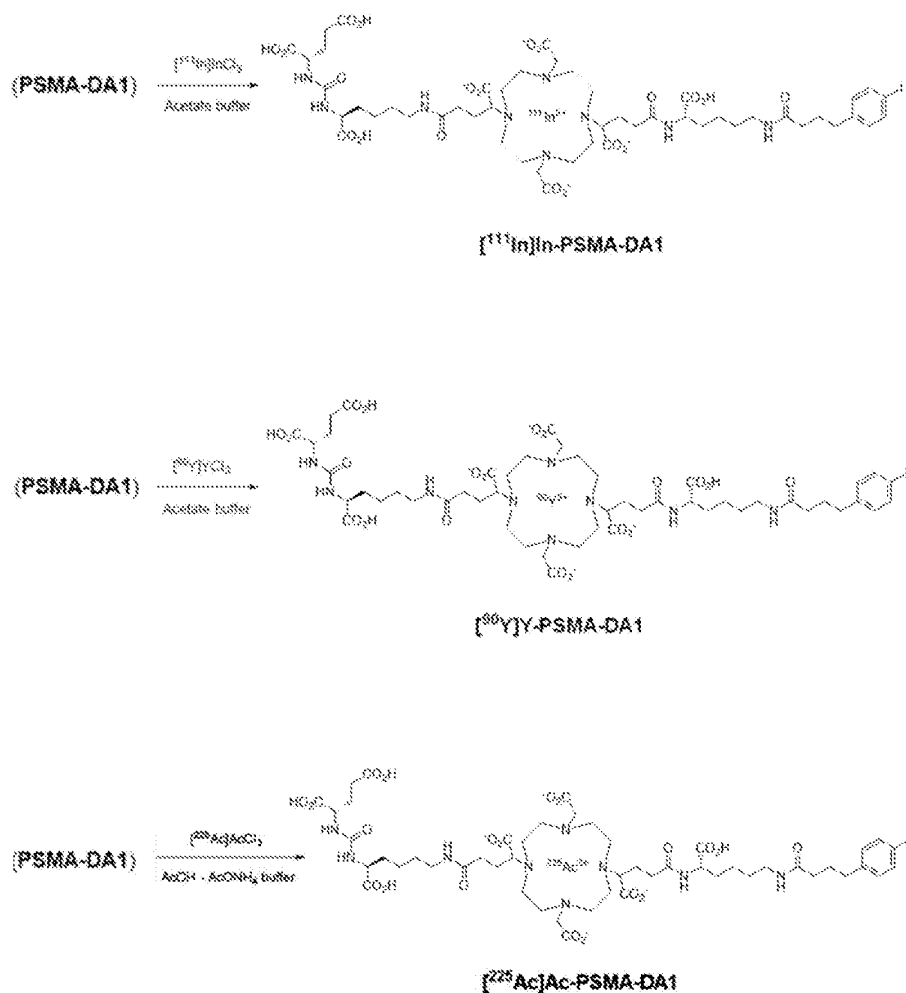
Scheme (V-1)



[0173]

[化35]

Scheme(V-2)



[0174] (1) PSMA-DA1の合成

Chem Commun. 2008, 28, 3248-3250の方法に従って、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカンから3段階で合成した前駆体化合物を得た。この前駆体化合物 (20 mg, 0.026 mmol) をN, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (2 mL) に溶解させ、メチル-N⁶-(4-(4-ヨードフェニル)ブタノイル)-L-リジネート (1 mg, 0.0254 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ

プロピル) -カルボジイミド (EDC) 塩酸塩 (7.0 mg, 0.037 mmol)、1-ヒドロキシー-7-アザベンゾトリアゾール (HOAt) (5.0 mg, 0.037 mmol)、およびトリエチルアミン (5 μ L, 0.036 mmol) を加え、室温で24時間攪拌した。その後、(S)-di-tert-butyl 2-(3-((S)-6-amino-1-tert-butoxy-1-oxohexan-2-yl)ureido)pentanedioate (13 mg, 0.0267 mmol)・EDC 塩酸塩 (7.0 mg, 0.037 mmol)、HOAt (5.0 mg, 0.037 mmol)、およびトリエチルアミン (5 μ L, 0.036 mmol) を加え、室温で72時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣に6規定塩酸 (3 mL) を加え、40℃で24時間攪拌後、逆相HPLCで以下の条件で精製し、目的とする化合物 (PSMA-DA1) を得た。収量及びMSは以下のとおりであった。

[0175] 精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 $\times$ 250 mm), 移動相: MeCN/H₂O/トリフルオロ酢酸 (TFA) [10/90/0.1 (0分) ~ 100/0/0.1 (90分)], 流速: 4 mL/min.

収量: 1.0 mg (3%)。

MS (ESI) m/z 1250.5 [M+H]⁺.

[0176] (2) ¹¹¹In 標識 (実施例5-1)

酢酸緩衝液 (0.1 M, pH 5.5, 200 μ L) に、[¹¹¹In] InCl₃ 溶液 (3.7 MBq, 100 μ L) と、PSMA-DA1 の DMSO 溶液 (1 mM, 10 μ L) とを加え、90℃で30分間静置した。その後、反応液を逆相HPLCによって以下の条件で精製し、目的とする放射性標識化合物 ([¹¹¹In] In-PSMA-DA1) を得た。

その結果、放射化学的収率は61~90%, 放射化学的純度は95%以上であった。

[0177] ¹¹¹In 標識での精製条件: Cosmosil 5C₁₈-PAQ colu

mn (4.6×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [20/80/0.1 (0分) ~ 50/50/0.1 (30分) または 5/95/0.1 (0~10分), 5/95/0.1 (10分) ~ 35/65/0.1 (40分)], 流速: 1 mL/min.

[0178] なお、PSMA-DA1を非放射性のInに配位させた化合物は、例えば以下の方法で製造することができる。

PSMA-DA1 (1mg) と塩化インジウム (III) 無水和物 (2mg) をジメチルスルホキシド (DMSO) (100 μL) に溶解させ、2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid 緩衝液 (0.1M, pH 5.6, 900 μL) を加えた。反応液を60℃で12時間攪拌後、溶液を逆相HPLCによって以下の方法で精製し、以下のMSを有する化合物を得た。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 100/0/0.1 (90分)], 流速: 4 mL/min.

MS (ESI): m/z 1362.4 [M+H]⁺.

[0179] (3) ⁹⁰Y標識 (実施例5-2)

酢酸緩衝液 (0.1M, pH 5.5, 200 μL) に [⁹⁰Y] YCl₃ 溶液 (65-118 MBq, 10 μL) と PSMA-DA1 の DMSO 溶液 (1 mM, 10 μL) とを加え、90℃で30分間静置した。その後、反応液を逆相HPLCによって以下の条件で精製し、目的とする放射性標識化合物 ([⁹⁰Y] Y-PSMA-DA1) を得た。

その結果、放射化学的収率は49~79%, 放射化学的純度は95%以上であった。

[0180] ⁹⁰Y標識での精製条件: Cosmosil 5C₁₈-PAQ column (4.6×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [20/80/0.1 (0分) ~ 50/50/0.1 (30分) または 5/95/0.1 (0~10分), 5/95/0.1 (10分) ~ 35/65/0.1 (40分)

)] , 流速 : 1 mL / min .

[0181] (4) ^{225}Ac 標識 (実施例 5-3)

^{225}Ac AcCl_3 の 0.2 M 塩酸溶液 (1.5 MBq, 10 μL) に 0.1 M 酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 5.5, 170 μL) と PSMA-DA1 の DMSO 溶液 (2.0 M, 10 μL) を加え, 70°C で 1 時間静置した. 反応液に H_2O (800 μL) を加え, Oasis HLB Light カラムに通液した. カラムに H_2O (10 mL) を通液後, 70% EtOH (0.5 mL) を通液し, 目的とする放射性標識化合物 (^{225}Ac Ac-PSMA-DA1) を得た.

その結果、放射化学的収率は 48~49%, 放射化学的純度は 83~87% であった。

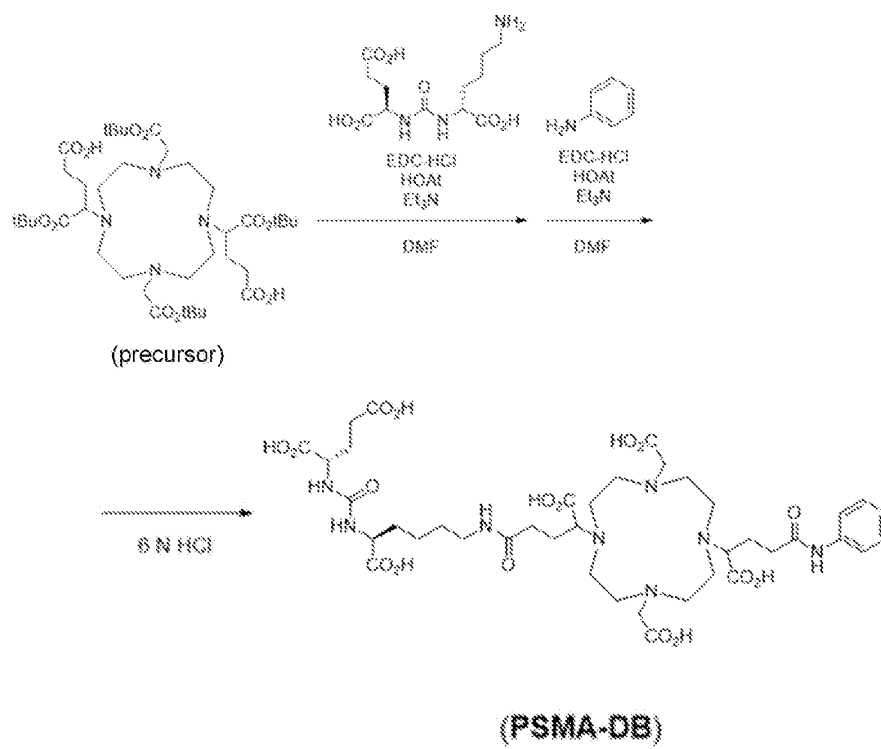
[0182] <比較例 2-1~2-3>

比較例 2-1~2-3 における反応経路の概略を反応経路 (VI-1) 及び (VI-2) として以下に示す。

[0183]

[化36]

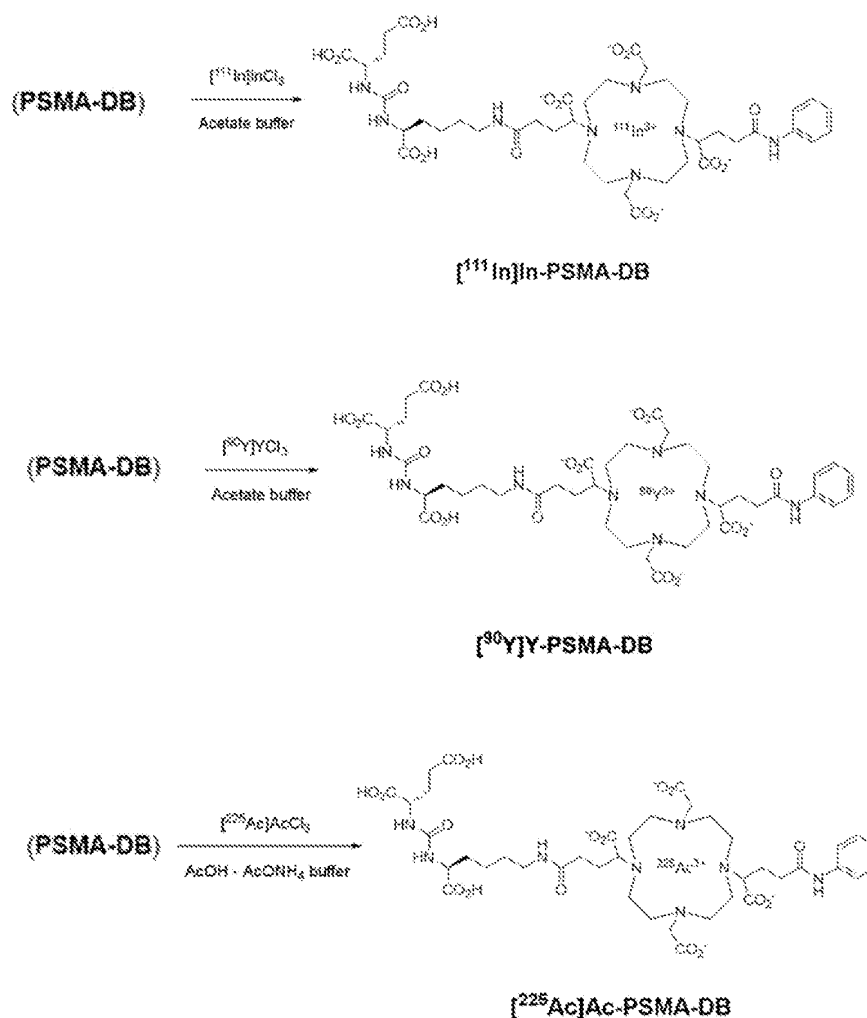
Scheme (VI-1)



[0184]

[化37]

Scheme (VI-2)



[0185] (1) PSMA-DBの合成

実施例5と同様に合成した前駆体化合物 (35 mg, 0.045 mmol) をDMF (2 mL) に溶解させ, (S)-di-tert-butyl 2-(3-((S)-6-amino-1-tert-butoxy-1-oxohexan-2-yl)ureido)pentanedioate (22 mg, 0.045 mmol), EDC塩酸塩 (10 mg, 0.052 mmol), HOAt (7.0 mg, 0.051 mmol), トリエチルア

ミン ($7 \mu\text{L}$, 0.050 mmol) を加え、室温で24時間攪拌した。その後、アニリン ($5 \mu\text{L}$, 0.055 mmol)、EDC塩酸塩 (10 mg , 0.052 mmol)、HOAt (7.0 mg , 0.051 mmol)、トリエチルアミン ($7 \mu\text{L}$, 0.050 mmol) を加え、室温で24時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣にTFA (1.8 mL)、トリイソプロピルシラン ($100 \mu\text{L}$)、および H_2O ($100 \mu\text{L}$) を加え、室温で24時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣を逆相HPLCで以下の条件で精製し、目的とする化合物 (PSMA-DB) を得た。収量及びMSは以下のとおりであった。

[0186] 精製条件: Cosmosil $5\text{C}_{18}\text{-AR-III}$ column ($10 \times 250 \text{ mm}$)、移動相: MeCN/ H_2O /TFA [$5/95/0.1$ ($0 \sim 10$ 分), $5/95/0.1$ (10 分) $\sim 35/65/0.1$ (40 分)], 流速: 4 mL/min .

収量: 5.0 mg (12%).

MS (ESI) m/z 925.3 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

[0187] (2) ^{111}In 標識 (比較例 2-1)

PSMA-DA1 に代えて、PSMA-DB を用いた以外は、実施例 5-1 と同様の方法によって、目的とする放射性標識化合物 (^{111}In -PSMA-DB) を得た。

その結果、放射化学的収率は $61 \sim 90\%$ 、放射化学的純度は 95% 以上であった。

[0188] なお、PSMA-DB を非放射性のInに配位させた化合物は、例えば以下の方法で製造することができる。

PSMA-DB (1等量) の H_2O /MeCN/TFA ($49.95/49.95/0.1$, $300 \mu\text{L}$) 溶液に塩化インジウム (III) 無水和物 (10等量) を加えた。室温で18時間攪拌後、溶液を逆相HPLCで精製した。

精製条件: Cosmosil $5\text{C}_{18}\text{-AR-III}$ column ($4.$

6×150mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [5/95/0.1 (0~10分), 5/95/0.1 (10分)~35/65/0.1 (40分)], 流速: 1mL/min.

[0189] (3) ⁹⁰Y標識 (比較例2-2)

PSMA-DA1に代えて、PSMA-DBを用いた以外は、実施例5-2と同様の方法によって、目的とする放射性標識化合物 ([⁹⁰Y] Y-PSMA-DB) を得た。

その結果、放射化学的収率は49~79%, 放射化学的純度は95%以上であった。

[0190] (4) ²²⁵Ac標識 (比較例2-3)

PSMA-DA1に代えて、PSMA-DBを用いた以外は、実施例5-3と同様の方法によって、目的とする放射性標識化合物 ([²²⁵Ac] Ac-PSMA-DB) を得た。

その結果、放射化学的収率は48~49%, 放射化学的純度は83~87%であった。

[0191] <血漿中安定性評価>

マウス血漿 (200μL) に [¹¹¹In] In-PSMA-DA1 (370kBq) または [⁹⁰Y] Y-PSMA-DA1 (3.7MBq) の生理食塩水 (20μL) 溶液を加え、37℃で24時間静置した (n=3)。その後、MeCN (200μL) を加え、10000×gで5分間遠心分離した。上清をろ過し、ろ液を逆相HPLCで以下の条件にて分析した。

(分析条件: Cosmosil 5C₁₈-PAQ column (4.6×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [20/80/0.1 (0分)~50/50/0.1 (30分)], 流速: 1mL/min.)

その結果、いずれの標識化合物もマウス血漿中37℃で24時間静置後も95%以上が安定して存在した。

[0192] <培養細胞を用いた結合評価>

LNCaP細胞 (PSMA陽性, ヒト前立腺がん) およびPC-3細胞 (

PSMA陰性、ヒト前立腺がん）を用いた。これらの細胞はそれぞれ American Type Culture Collection 社および DS Biomedical 社より購入した。各細胞は抗生物質（ペニシリンおよびストレプトマイシン）と非働化ウシ胎児血清 10% を含むナカライテスク株式会社製 RPMI 1640 中、37℃、5%CO₂ 下で培養した。

[0193] LNCaP 細胞と、PC-3 細胞とをそれぞれ、 4.0×10^5 cells/well にて 12 ウェルプレートに播種し、37℃、5%CO₂ 下で 48 時間静置した。

培養培地を除去し、[¹¹¹In] In-PSMA-DA1 または [¹¹¹In] In-PSMA-DB (37 kBq) を含むアッセイ用培地 (0.5% FBS 含有 RPMI 1640 培地) 溶液 (1 mL) を加えた。その後、プレートを 37℃、5%CO₂ 下で 1 時間静置した。

阻害実験では、培養培地を除去後、[¹¹¹In] In-PSMA-DA1 または [¹¹¹In] In-PSMA-DB (37 kBq) と 2-(phosphonomethyl) pentanedioic acid (2-PMPA) (終濃度 100 μM) を含むアッセイ用培地 (1 mL) 溶液を加えた。その後、プレートを 37℃、5%CO₂ 下で 1 時間静置した。

アッセイ用培地を除去後、各ウェルを放射性標識化合物及び 2-PMPA 非含有のアッセイ用培地 (1 mL) で洗浄し、1 規定水酸化ナトリウム水溶液 (200 μL × 2) で細胞を溶解させた。

アッセイ用培地及び細胞溶解液の各放射能をガンマカウンターで測定した。これとは別に、細胞溶解液中の総タンパク質濃度を Thermo Fisher Scientific 社製 BCA Protein Assay Kit を用いて算出した。添加放射能に対するサンプルの放射能の百分率 (%ID) を、総タンパク質量で除した値 (%ID/mg protein) をサンプルごとに算出した。

データは平均値 ± 標準偏差で表した。有意差検定は Student's t-test を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

[0194] 培養細胞への結合評価の結果を図4に示す。値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の集積が高いことを示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 および $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB は PC-3 細胞と比較して LNCaP 細胞に対する高い結合性を示し、その結合は過剰量の PSMA 阻害剤 (2-PMPA) の添加により有意に低減した。これらの結果から、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 および $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB は PSMA 高発現細胞に特異的に結合することが示された。

[0195] <アルブミンへの結合評価>

$[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 または $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB の PBS 溶液 (37 kBq, 50 μL) を、200 μL の PBS, マウス血漿, ヒト血漿, またはヒト血清アルブミン (HSA) の PBS 溶液 (45 mg/mL) にそれぞれ加え、37°C で10分間静置した。その後、反応液をスピンカラム (サイティバ社製 Sephadex G-100) に添加し、1500 $\times g$, 4°C で2分間遠心分離した。分離後、カラム及び溶出液の放射能をそれぞれガンマカウンターで測定した。

データは平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。有意差検定は Student's t -test を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

[0196] アルブミンへの結合評価の結果を図5に示す。値が高いほど、アルブミンへの結合性が高いことを示す。

評価対象となる化合物がアルブミンに結合し複合体を形成すると、分子サイズの増加によりカラムを通過するが、アルブミンに結合しなかった際には、カラム内のゲルに保持される。

$[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 および $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB を PBS 中で静置後、カラムに付したところ、溶出液において顕著な放射能は観測されなかった。一方、マウス血漿, ヒト血漿, および HSA 溶液中で静置した際には、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB と比較して $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 の溶出液における放射能は有意に高く、 $[^{111}\text{In}]$

n] In-PSMA-DA1が血漿アルブミンに結合することが示された。

[0197] <LNCaPまたはPC-3腫瘍移植マウスを用いた体内放射能分布評価
>

動物実験は京都大学動物実験委員会の指針を遵守して行った。雄性CB17/ICrJc1-Prkdc^{scid}マウスは日本クレア株式会社より購入した。動物は12時間/12時間の昼夜サイクル条件下で飼育し、飼料と水は自由に与えた。PBSとCorning Life Sciences社製Matrigelの混合液(1:1, 150 μ L)にLNCaP細胞(1.0×10^7 cells/mouse)またはPC-3細胞(1.0×10^7 cells/mouse)を懸濁させ、イソフルラン麻酔下、マウスの右肩に皮下移植した。その後、当該マウスを40~60日間飼育した。

LNCaPまたはPC-3腫瘍移植マウスに、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1、または $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DBの生理食塩水溶液(185 kBq, 100 μ L)を尾静脈より投与した(各n=3)。投与1, 4, 24, 48, 96, および192時間後にマウスを安楽死させた。その後、血液及び各臓器を回収し、臓器の質量及び放射能を測定した。

投与放射能量(injected dose)に対する放射能量の百分率(%ID)を血液質量又は臓器質量(g)で除した値(%ID/g)として示す。%ID/gの値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の標的臓器への集積が高いことを示す。

[0198] LNCaP腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1における結果(平均±標準偏差、各n=3)を以下の表4及び図6に示す。

LNCaP腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DBにおける結果(平均±標準偏差、各n=3)を以下の表5及び図6に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1はLNCaP腫瘍への高い集積を示した(投与1~24時間後に9.41~12.6 %ID/g)。また、血液での滞留性を示し(投与24時間後に14.0 %ID/g)、腫瘍/腎臓比は投与48時間後以降で1を上回った。一方、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-D

Bはいずれのタイムポイントにおいても、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA 1より低い腫瘍集積が認められるとともに、低い腫瘍／腎臓比が示された。

これらの結果から、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA 1はPSMA高発現腫瘍に対する高い集積性を有するとともに、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-D Bと比較して優れた体内分布を有することが明らかとなった。

[0199]

[表4]

	1時間	4時間	24時間	48時間	96時間	192時間
血液	31.1±3.99	26.9±9.56	14.0±3.27	4.18±0.56	0.76±0.58	0.16±0.03
脾臓	8.56±2.90	9.52±4.28	6.01±2.33	4.28±0.79	2.42±1.54	2.69±0.83
脾臓	3.34±0.40	2.48±1.03	2.12±0.49	1.06±0.12	0.64±0.24	0.46±0.08
胃(%ID)	0.52±0.02	0.51±0.05	0.40±0.09	0.25±0.05	0.08±0.03	0.05±0.01
腸	2.63±0.42	3.17±0.73	1.53±0.44	0.96±0.25	0.75±0.44	0.12±0.03
腎臓	34.3±7.79	63.5±13.9	27.1±9.25	9.04±2.70	3.51±2.54	1.33±0.42
肝臓	4.95±0.27	4.20±1.51	2.64±0.38	1.59±0.14	1.10±0.27	0.69±0.12
心臓	7.93±2.10	7.10±1.82	4.26±0.89	1.66±0.23	0.75±0.33	0.41±0.08
肺	16.2±3.86	17.9±6.62	10.5±2.58	4.17±0.26	1.55±0.86	0.75±0.22
脳	0.56±0.06	0.52±0.15	0.36±0.11	0.16±0.01	0.07±0.03	0.05±0.01
筋肉	2.02±0.17	2.15±1.09	1.38±0.39	0.54±0.10	0.23±0.09	0.15±0.05
LNCaP腫瘍	9.41±2.30	12.1±4.04	12.6±2.15	8.82±1.26	5.98±1.87	4.69±1.32

[0200] [表5]

	1時間	4時間	24時間	48時間	96時間	192時間
血液	3.33±0.21	2.00±0.29	0.68±0.17	0.27±0.16	0.14±0.04	0.07±0.03
脾臓	3.05±0.53	2.39±0.05	3.37±0.75	2.63±0.83	2.82±0.87	3.46±0.32
脾臓	0.74±0.25	0.54±0.22	0.71±0.10	0.71±0.17	0.85±0.39	1.04±0.18
胃(%ID)	0.10±0.04	0.13±0.03	0.16±0.05	0.07±0.02	0.10±0.03	0.05±0.00
腸	0.59±0.14	1.05±0.10	1.00±0.44	0.79±0.21	0.41±0.17	0.13±0.02
腎臓	59.2±35.2	22.7±9.69	13.2±2.41	8.58±2.02	7.04±3.28	3.47±1.24
肝臓	0.91±0.20	0.95±0.05	1.55±0.32	1.28±0.16	1.59±0.57	1.20±0.09
心臓	0.87±0.33	0.60±0.08	0.43±0.07	0.32±0.05	0.40±0.12	0.33±0.01
肺	2.24±0.60	1.56±0.07	0.97±0.15	0.66±0.24	0.70±0.15	0.67±0.05
脳	0.06±0.01	0.05±0.00	0.07±0.02	0.03±0.02	0.09±0.05	0.04±0.00
筋肉	0.23±0.68	0.21±0.04	0.21±0.07	0.15±0.06	0.14±0.08	0.14±0.09
LNCaP腫瘍	3.36±0.04	2.50±0.50	2.09±0.39	1.69±0.77	1.05±0.03	0.83±0.11

[0201] PC-3 腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ -PSMA-DA1 における結果（平均±標準偏差、各 $n=3$ ）を以下の表 6 に示す。

PC-3 腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ -PSMA-DB における結果（平均±標準偏差、各 $n=3$ ）を以下の表 7 に示す。

$[^{111}\text{In}]$ -PSMA-DA1 および $[^{111}\text{In}]$ -PSMA-DB とともに、PC-3 腫瘍への集積は同タイムポイントにおける LNCaP 腫瘍への集積の結果よりも低いものであり、両放射性標識化合物が PSMA 陽性腫瘍へ選択的に集積することが示された。

[0202] [表6]

	24時間
血液	5.73±0.67
脾臓	2.52±0.12
膵臓	1.37±0.04
胃(%ID)	0.27±0.08
腸	1.37±0.22
腎臓	9.56±1.55
肝臓	1.60±0.12
心臓	1.90±0.22
肺	4.74±0.67
脳	0.17±0.04
筋肉	0.59±0.02
PC-3腫瘍	2.69±0.30

[0203]

[表7]

	1時間
血液	1.92±0.27
脾臓	2.57±0.39
膵臓	0.44±0.06
胃(%ID)	0.12±0.04
腸	0.48±0.04
腎臓	49.5±12.6
肝臓	0.62±0.03
心臓	0.49±0.05
肺	1.36±0.23
脳	0.06±0.00
筋肉	0.21±0.08
PC-3腫瘍	0.61±0.06

[0204] <LNCaP腫瘍移植マウスを用いたSPECT/CT>

上述の方法で作製したLNCaP腫瘍移植マウスに、 $[^{111}\text{In}]$ In-P SMA-DA1または $[^{111}\text{In}]$ In-P SMA-DBの生理食塩水溶液（1.9～3.0MBq，150 μL ）を尾静脈から投与した。投与24および48時間後にGamma Medica-Ideas社製FX3300 pre-clinical imaging systemにてSPECT/CTを行った。イソフルラン麻酔下，回転半径35mm，投影時間70秒，投影回数32回にて直径1.0mmのピンホールコリメーターを用いて撮像した。SPECT後，CT（管電圧：60kV，管電流：350 μA ）を行った。SPECTの投影データについて3次元ordered subset expectation maximization法（8 subsets，5 iterations）による画像再構成を行った。

[0205] SPECT/CTの結果を図7に示す。同図中、矢印で示す部分が腫瘍の存在位置であり、丸印で示す部分が腎臓の存在位置である。SUVが高いほど放射能集積が高い。

$[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 を用いたSPECT/CT撮像では、投与24および48時間後においてLNCaP腫瘍（図中矢印）に顕著な放射能集積が認められた。腎臓（図中円）にも高い放射能集積が認められたが、投与48時間後には腫瘍と同程度の放射能シグナルであった。一方、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB を用いたSPECT/CT撮像においてもLNCaP腫瘍（図中矢印）に放射能集積が認められたが、その集積は腎臓（図中円）と比較して低かった。

これらの結果から、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DA1 はPSMA高発現腫瘍をSPECTにより明瞭に描出することが可能であるとともに、 $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-DB よりも優れていることが示された。

[0206] < ^{90}Y 標識化合物による腫瘍増大抑制の評価>

上述の方法で得られた $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DA1 （3.7MBq）または $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DB （3.7MBq）の生理食塩水溶液（100 μL ）をLNCaP腫瘍移植マウスに尾静脈から投与した（ $n=7$ ）。対照群として、100 μL の生理食塩水をLNCaP腫瘍移植マウスに尾静脈から投与した（ $n=7$ ）。

^{90}Y 標識化合物を投与後、腫瘍容積及び体重を1週間あたり3回測定した。腫瘍容積は「（腫瘍容積）＝〔（長辺）×（短辺）²／2〕」の算出式に基づいて算出した。

^{90}Y 標識化合物の投与開始日における腫瘍容積は $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DA1 、 $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DB 、および生理食塩水投与群において、それぞれ 63.1 ± 8.7 、 66.1 ± 30.7 、および $66.7 \pm 25.7 \text{ mm}^3$ であった。

[0207] 本評価の結果を図8に示す。

LNCaP腫瘍移植マウスに $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DA1 および $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DB を投与したところ、生理食塩水投与群と比較して、それぞれ投与9日後および33日後以降に腫瘍容積に有意な差が認められた。

$[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DB と比較して、 $[^{90}\text{Y}]$ Y-PSMA-DA1 は

腫瘍成長を抑制する傾向が観察された。[^{90}Y] Y-PSMA-DA1の投与によりマウスの体重がわずかに減少したが、その後、生理食塩水投与群と同等な値まで回復した。

[0208] < ^{225}Ac 標識化合物による腫瘍増大抑制の評価>

上述の方法で得られた [^{225}Ac] Ac-PSMA-DA1 (20 kBq) または [^{225}Ac] Ac-PSMA-DB (20 kBq) を5%エタノール含有酢酸緩衝液 (158 mM, pH 6.5, 100 μL) に溶解させ、LNC a P 腫瘍移植マウスに尾静脈より投与した (n=6 または 5)。対照群として、100 μL の5%エタノール含有酢酸緩衝液 (158 mM, pH 6.5) をLNC a P 腫瘍移植マウスに尾静脈より投与した (n=4)。

^{225}Ac 標識化合物を投与後、腫瘍容積及び体重を1週間あたり3回測定した。 ^{225}Ac 標識化合物投与開始日における腫瘍容積は [^{225}Ac] Ac-PSMA-DA1, [^{225}Ac] Ac-PSMA-DB, および5%エタノール含有酢酸緩衝液投与群において、それぞれ 75.3 ± 26.0 , 80.6 ± 20.8 , および $91.1 \pm 15.9 \text{ mm}^3$ であった。

[0209] 本評価の結果を図9に示す。

LNC a P 腫瘍移植マウスに [^{225}Ac] Ac-PSMA-DA1 および [^{225}Ac] Ac-PSMA-DB を投与したところ、生理食塩水投与群と比較して腫瘍成長が顕著に抑制された。特に [^{225}Ac] Ac-PSMA-DA1 投与群では、腫瘍はほとんど成長せず、投与後6週間まで継続的な成長抑制が認められた。

[^{225}Ac] Ac-PSMA-DA1 の投与の影響と思われる体重の減少は一過性のものであった。[^{225}Ac] Ac-PSMA-DB の投与の影響と思われる体重の減少は一時的に加速したが、その後回復する様子は認められなかった。

[0210] [実施例6及び比較例3]

本実施例では、GLP-1 受容体を標的分子とする二種類の化合物 (E4 DA1 及び E4D) を合成した。次いで、この化合物に放射性金属として ^{111}In

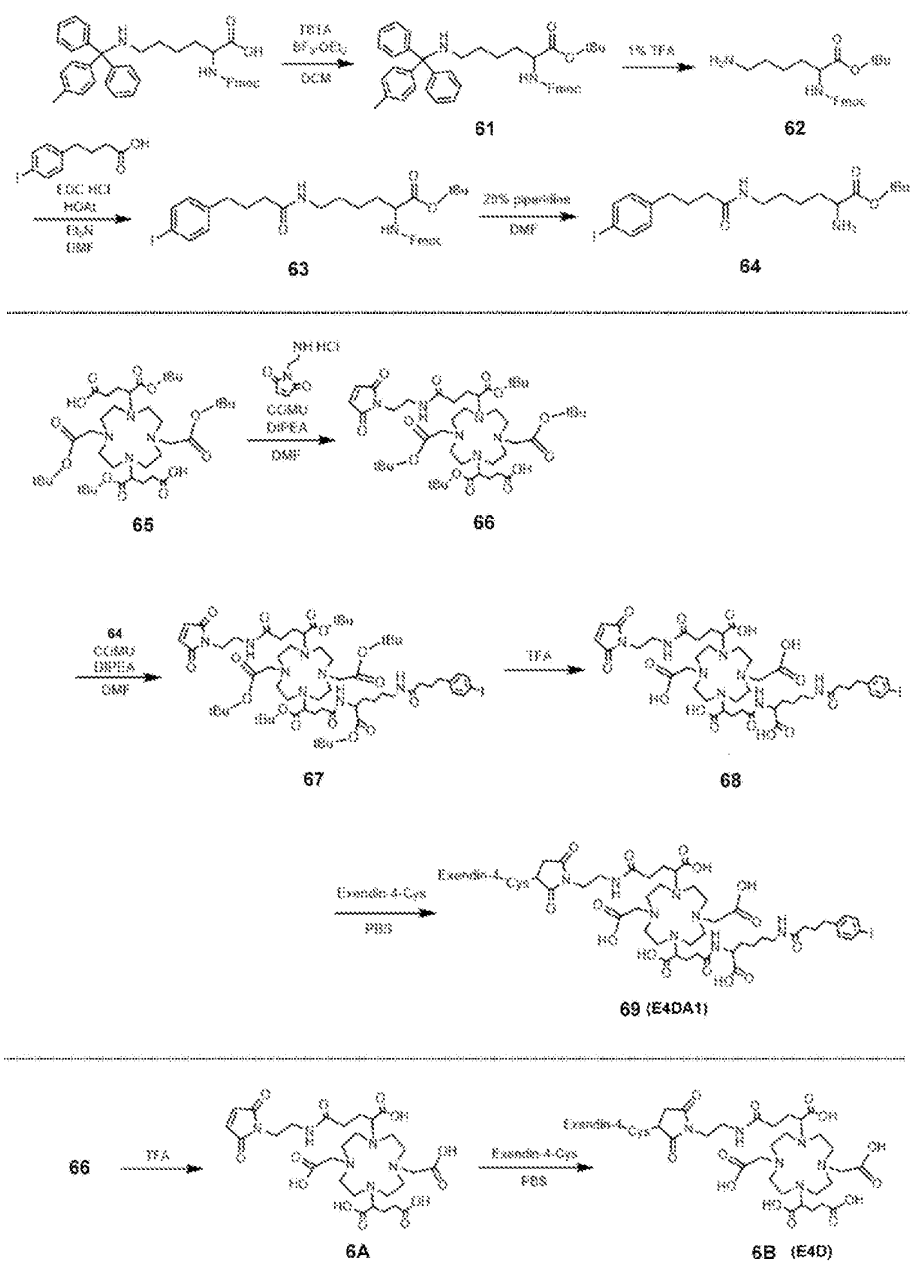
イオンを配位させた放射性標識化合物を得た。反応経路の概略を反応経路（VII-1）及び（VII-2）として以下に示す。

実施例6で用いたE4DA1は構造中にキレート部、標的分子結合部及びアルブミン結合部を含むものである。比較例3で用いたE4Dは構造中にキレート部及び標的分子結合部を含むが、アルブミン結合部を含まないものである。

[0211]

[化38]

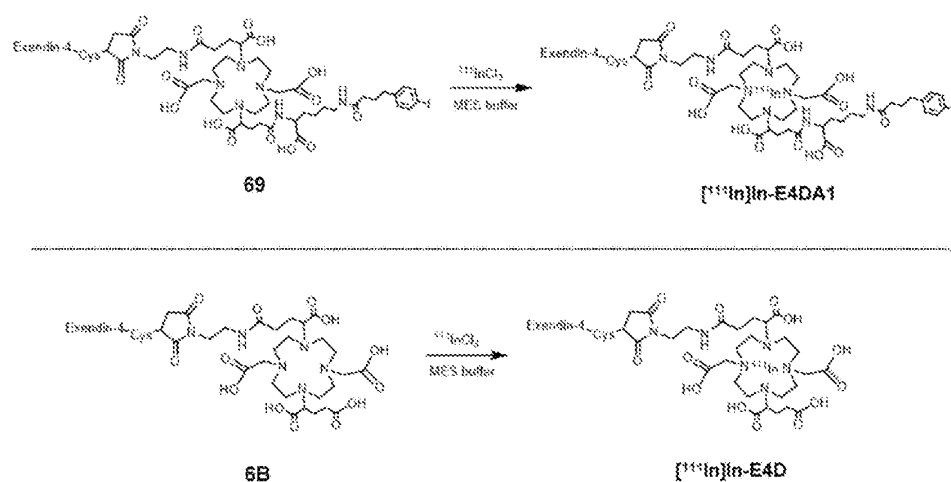
Scheme (VII-1)



[0212]

[化39]

Scheme (VII-2)



[0213] <化合物61の合成>

Fmoc-Lys(Mtt)-OH (200mg, 0.32mmol) をジクロロメタン (5mL) に溶解させ, *tert*-butyl trichloroacetimidate (140mg, 0.64mmol) をゆっくり加えた. さらに $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (10 μL) を加え, 室温で24時間攪拌した後, 溶媒を減圧留去した. 残渣にヘキサンを加え, ろ過した後, ろ液に H_2O を加え分液し, 有機層を減圧留去した. その後, 残渣を中圧カラムクロマトグラフィーによって精製した (ヘキサン/酢酸エチル). 収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0214] 収量: 47.3mg (22%)。

$^1\text{H-NMR}$: (400MHz, CDCl_3) δ 7.90 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.30 (t, 17H), 7.09 (s, 2H), 4.70 (d, 2H), 4.46 (t, 2H), 4.16 (s, 1H), 2.

5.3 (t, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.88 (t, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.39 (t, 2H), 1.25 (t, 2H). ^{13}C -NMR: (100MHz, CDCl_3) δ 171.5, 155.9, 145.0 (2C), 143.6 (2C), 142.6 (2C), 142.0, 135.9, 129.2 (6C), 127.0 (4C), 126.7 (2C), 126.2 (2C), 125.2 (2C), 120.5 (2C), 82.1, 78.3, 67.3, 58.6, 47.0, 44.3, 30.8 (2C), 28.7 (3C), 25.0, 21.3.

MS (ESI): m/z 681.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0215] <化合物62の合成>

化合物61 (100mg, 0.147mmol) をトリフルオロ酢酸 (TFA) / トリイソプロピルシラン / ジクロロメタン混合溶液 (1/5/94, 5mL) に加え、室温で攪拌した。48時間後、溶媒を減圧留去した。その後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した (クロロホルム / メタノール)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0216] 収量: 50.3mg (81%)。

^1H -NMR: (400MHz, CDCl_3) δ 7.90 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.38 (t, 3H), 4.51 (t, 1H), 4.46 (t, 2H), 2.69 (t, 2H), 1.88 (t, 2H), 1.53 (t, 2H), 1.50 (d, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.25 (t, 2H). ^{13}C -NMR: (100MHz, CDCl_3) δ 171.5, 155.9, 143.6 (2C), 142.6 (2C), 126.7 (2C), 126.2 (2C), 125.2 (2C), 120.5 (2C), 82.1, 67.3, 42.0, 30.8, 29.0, 28.7 (3C), 22.7.

MS (ESI): m/z 425.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0217] <化合物63の合成>

4-(4-ヨードフェニル)ブチリル酸(42.5mg, 0.1mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解させ、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド(EDC)塩酸塩(38.3mg, 0.2mmol), 1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール(HOAt)(27.2mg, 0.2mmol)を加え0℃で攪拌した。15分後, DMF(5mL)に溶解させた化合物62(29.0mg, 0.1mmol)を加え, 0℃で攪拌した。10時間後, DMFを減圧留去した。その後, 残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した(クロロホルム/メタノール)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0218] 収量: 41.7mg (60%)。

$^1\text{H-NMR}$: (400MHz, CDCl_3) δ 7.90 (d, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.38 (t, 3H), 7.28 (t, 2H), 6.97 (d, 2H), 4.70 (d, 2H), 4.51 (t, 1H), 4.46 (t, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.63 (t, 2H), 2.34 (t, 2H), 1.88 (t, 2H), 1.70 (t, 2H), 1.53 (t, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.25 (t, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$: (100MHz, CDCl_3) δ 172.6, 171.5, 155.9, 143.6 (2C), 142.6 (2C), 140.9, 137.7 (2C), 129.7 (2C), 126.7 (2C), 126.2 (2C), 125.2 (2C), 120.5 (2C), 91.6, 82.1, 67.3, 58.6, 47.0, 42.0, 39.2, 36.1, 34.7, 30.8, 29.7, 28.7 (3C), 27.4, 22.7.

MS (ESI): m/z 697.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0219] <化合物64の合成>

化合物63(34.8mg, 0.050mmol)をDMF(5mL)に溶解させ, 20%ピペリジン(500 μL)を加え, 室温で攪拌した。2時

間後、酢酸エチル／ヘキサン＝１：５（５０ｍＬ）と H_2O （５０ｍＬ）で分液した後、有機層を減圧留去した。その後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した（クロロホルム／メタノール）。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0220] 収量：１７．６ｍｇ（７４％）。

^1H -NMR：（４００MHz， CDCl_3 ） δ ８．７６（s，２H），７．７０（s，１H），７．５７（d，２H），６．９７（d，２H），３．３６（t，１H），３．００（t，２H），２．６３（t，２H），２．３４（t，２H），１．８８（t，２H），１．７０（t，２H），１．５３（t，２H），１．４２（s，９H），１．２５（t，２H）。 ^{13}C -NMR：（１００MHz， CDCl_3 ） δ １７４．０，１７２．６，１４０．９，１３７．７（２C），１２９．７（２C），９１．６，８２．１，５２．９，３９．２，３６．１，３４．７，３１．３，２９．７，２８．７（３C），２７．４，２２．７。

MS（ESI）： m/z ４７５．２ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0221] ＜化合物６５の合成＞

実施例５と同様に、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカンから３段階で合成した（Chem Commun. ２００８，２８，３２４８－３２５０）。

[0222] ＜化合物６６の合成＞

化合物６５（５０ｍｇ，０．０６５mmol）と N －（２－アミノエチル）マレイミド塩酸塩（１１．４ｍｇ，０．０６５mmol）をDMF（１０ｍＬ）に加え、室温で攪拌した。１０分後、 N －[１－（cyano－２－ethoxy－２－oxoethylideneaminoxy）dimethylamino（morpholino）]uronium hexafluorophosphate（COMU）（１３７．０ｍｇ，０．３２mmol）および N ， N －ジイソプロピルエチルアミン（DIPEA）（４．８０ μL ，０．３２mmol）を加え、室温で攪拌した。３６時間後、

逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 × 250 mm)，移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)]，流速：5 mL/min。

収量：20.8 mg (36%)。

MS (ESI)：m/z 895.4 [M+H]⁺。

[0223] <化合物67の合成>

化合物66 (20.0 mg, 0.022 mmol) と、後述する化合物68 (10.6 mg, 0.022 mmol) をDMF (5 mL) に加え、室温で10分間攪拌した後、COMU (47.1 mg, 0.11 mmol) およびDIPEA (1.65 μL, 0.11 mmol) を加えた。室温にて4時間攪拌後、逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 × 250 mm)，移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)]，流速：5 mL/min。

収量：5.8 mg (20%)。

MS (ESI)：m/z 1351.4 [M+H]⁺。

[0224] <化合物68の合成>

化合物67 (5.75 mg, 4.2 μmol) にTFA (2 mL) を加え、室温にて1時間攪拌後、逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 × 250 mm)，移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)]，流速：5 mL/min。

収量：4.3 mg (95%)。

MS (ESI)：m/z 1071.1 [M+H]⁺。

[0225] <化合物69 (E4DA1) の合成>

化合物68 (4.27 mg, 3.99 μmol) と Exendin-4-Cys (17.1 mg, 3.99 μmol) をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (pH 7.5, 2 mL) に溶解させ、3℃で攪拌した。24時間後、逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った [H_2O (0.1% TFA) / MeCN (0.1% TFA) = 90/10 ~ 40/60 のグラジエント, 30分間]。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 × 250 mm), 移動相: MeCN/ H_2O /TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)], 流速: 5 mL/min.

収量: 3.8 mg (18%)。

MS (ESI): m/z 1787.5 [M+3H]³⁺, 1072.8 [M+5H]⁵⁺.

[0226] <化合物6Aの合成>

化合物66 (20 mg, 0.022 mmol) にTFA (2 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。その後、逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 × 250 mm), 移動相: MeCN/ H_2O /TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)], 流速: 5 mL/min.

収量: 13.2 mg (90%)。MS (ESI) m/z 671.2 [M+H]⁺.

[0227] <化合物6B (E4D) の合成>

化合物6A (2.4 mg, 3.58 μmol) と Exendin-4-Cys (15.3 mg, 3.58 μmol) をPBS (pH 7.5, 2 mL) に溶解させ、3℃で攪拌した。24時間後、逆相HPLCにて以下の条件で精製を行った。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10

×250mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (30分)], 流速: 5 mL/min.

収量: 1.8 mg (10%).

MS (ESI): m/z 827.4 [M+6H]⁶⁺.

[0228] <¹¹¹In 標識 (実施例 6 及び比較例 3)>

0.1% Tween 80 含有 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) 緩衝液 (0.1 M, pH 5.6, 200 μL) に [¹¹¹In] InCl₃ 溶液 (74 kBq, 20 μL) を混合し, 室温で 10 分間静置した. 反応溶液に前駆体化合物 (化合物 69 または化合物 6B) のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液 (10 μM, 30 μL) を加え, 90°C で 30 分間静置した. その後, 反応液を逆相 HPLC によって以下の条件で精製し, 目的とする放射性標識化合物 ([¹¹¹In] In-E4DA1、または [¹¹¹In] In-E4D) を得た.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 × 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 60/40/0.1 (40分)], 流速: 1 mL/min.

その結果、[¹¹¹In] In-E4DA1 の放射化学的収率は 11.6%, 放射化学的純度 95% 以上であった。また、[¹¹¹In] In-E4D の放射化学的収率は 4.6%, 放射化学的純度 95% 以上であった。

[0229] <培養細胞株を用いた結合評価>

INS-1 細胞 (ラットインスリノーマ) を用いた。INS-1 細胞はピルビン酸 Na (1 mM), β-メルカプトエタノール (50 μM), HEPES, 炭酸水素ナトリウム (1.5 g/L), 抗生物質 (ペニシリンおよびストレプトマイシン) と非働化ウシ胎児血清 10% を含むナカライテスク株式会社製 RPMI 1640 中, 37°C, 5% CO₂ 下で培養した。

[0230] INS-1 細胞 (4.0 × 10⁵ cells/well) を 12 ウェルプレートに播種し, 37°C, 5% CO₂ 下で 48 時間静置した. 培養培地を除去し, その後、アッセイ用培地として、[¹¹¹In] In-E4DA1 (9.8 k

Bq)を含むRPMI 1640溶液(1 mL), または $[^{111}\text{In}]$ In-E4D (9.8 kBq)を含むRPMI 1640溶液(1 mL)を加えた。

阻害実験では, 培養培地を除去後, アッセイ用培地として, $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1 (9.8 kBq) 及びExendin-4-Cys (終濃度 $10\text{ }\mu\text{M}$)を含むRPMI 1640溶液(1 mL), または $[^{111}\text{In}]$ In-E4D (9.8 kBq) 及びExendin-4-Cys (終濃度 $10\text{ }\mu\text{M}$)を含むRPMI 1640溶液(1 mL)を加えた。その後, プレートを 37°C , $5\text{ }\%\text{CO}_2$ 下で2時間静置した。

アッセイ用培地を除去後, 各ウェルをPBS (1 mL) で洗浄し, 1 規定水酸化ナトリウム水溶液($200\text{ }\mu\text{L}\times 2$)で細胞を溶解させた。

細胞溶解液の各放射能をガンマカウンターで測定した。これとは別に, 細胞溶解液中の総タンパク質濃度を上述の方法と同様にBCA法にて算出した。

添加放射エネルギーに対するサンプルの放射エネルギーの百分率(%ID)を, 総タンパク質量で除した値(%ID/mg protein)をサンプルごとに算出した。

データは平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。有意差検定はStudent's t-testを用いて行い, $p<0.05$ を有意差ありとした。

[0231] 培養細胞への結合評価の結果を図10に示す。値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の集積が高いことを示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1はINS-1細胞に対する結合性を示し($16\text{ }\%\text{ dose}/\text{mg protein}$), その結合は過剰量のExendin-4-Cysの添加により有意に低下した($1.0\text{ }\%\text{ dose}/\text{mg protein}$)。同様に, $[^{111}\text{In}]$ In-E4DのINS-1細胞に対する結合性($5.4\text{ }\%\text{ dose}/\text{mg protein}$), およびExendin-4-Cys添加による結合量の低下($1.2\text{ }\%\text{ dose}/\text{mg protein}$)が認められた。

これらの結果から, $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1はGLP-1受容体高発現細胞に特異的に結合することが示され, アルブミン結合部の導入によりG

LP-1受容体高発現細胞への結合性の向上が示された。

[0232] <アルブミンへの結合評価>

$[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1のPBS溶液(37kBg, 50 μL), または $[^{111}\text{In}]$ In-E4DのPBS溶液(37kBg, 50 μL)をPBSおよびヒトアルブミン(HSA)溶液(45mg/mL)に加え, 37℃で10分間静置した。

その後, 反応液をスピンカラム(サイティバ社製Sephadex G-100)に添加し, 1500g, 4℃で2分間遠心分離した。遠心分離後, カラムと溶出液との放射能をそれぞれガンマカウンターで測定した。

データは平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。有意差検定はStudent's *t*-testを用いて行い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

[0233] アルブミンへの結合評価の結果を表8に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1をPBSまたはHSA溶液中で静置後, カラムに付したところ, HSA溶液における溶出液の放射能割合(65.6%)は, PBSにおける溶出液の放射能割合(5.9%)に比べて有意に高かった。また, $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1のHSA溶液における溶出液の放射能割合は $[^{111}\text{In}]$ In-E4D(20.2%)より有意に高かった。これらの結果から, $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1はアルブミンに対する結合性を有しており, Exendin-4のような分子量の大きいペプチドを含む構造とともにアルブミン結合部が導入された場合にも, アルブミンに対する結合性は保持されることが示された。

[0234] [表8]

%アルブミン結合	PBS	HSA
実施例6 ($[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1)	5.9 $\pm$ 0.4	65.6 $\pm$ 1.6
比較例3 ($[^{111}\text{In}]$ In-E4D)	6.6 $\pm$ 2.2	20.2 $\pm$ 3.0

[0235] <INS-1腫瘍移植マウスを用いた体内放射能分布評価>

動物実験は京都大学動物実験委員会の指針を遵守して行った。雄性BALB/c-nu/nuヌードマウスは日本エスエルシー株式会社から購入した。動物は12時間/12時間の昼夜サイクル条件下で飼育し、飼料と水は自由に与えた。PBSとCorning Life Sciences社製Matrigelの混合液(1:1, 100 μ L)にINS-1細胞(5.0×10^6 cells/mouse)を懸濁させ、イソフルラン麻酔下、BALB/c-nu/nuヌードマウスの右肩に皮下移植した。腫瘍移植マウスは腫瘍径が10 mmに達した時点で用いた。

INS-1腫瘍移植マウスに $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1の生理食塩水溶液(37 kBq, 100 μ L), または $[^{111}\text{In}]$ In-E4Dの生理食塩水溶液(30 kBq, 100 μ L)を尾静脈から投与した($n=4$)。投与1, 4, 24, 48, および96時間後にマウスを安楽死させた。その後、血液及び各臓器を回収し、臓器の質量及び放射能を測定した。

投与放射能量(injected dose)に対する放射能量の百分率(%ID)を血液質量又は臓器質量(g)で除した値(%ID/g)として示す。%ID/gの値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の標的臓器への集積が高いことを示す。

[0236] INS-1腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1における結果(平均±標準偏差、各 $n=4$)を以下の表9及び図11に示す。

INS-1腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ In-E4Dにおける結果(平均±標準偏差、各 $n=4$)を以下の表10及び図11に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-E4DA1はINS-1腫瘍への高い集積を示した(投与1-24時間後に66.1-132% ID/g)。また、血液での滞留性を示し(投与24時間後に6.01% ID/g)、腫瘍/腎臓比は高値を示した(投与1-96時間後に1.96-2.80)。 $[^{111}\text{In}]$ In-E4Dについても同様の実験を行い、腫瘍、血液、および腎臓における放射能集積と、腫瘍/血液集積比および腫瘍/腎臓集積比を比較した。いずれのタイムポイントにおいても、 $[^{111}\text{In}]$ In-E4Dと比較して、 $[^{111}\text{In}]$

n] I n-E 4 D A 1 の低い腎集積が認められるとともに、高い腫瘍集積が示された。これらの結果から、 $[^{111}\text{In}]$ I n-E 4 D A 1 は G L P-1 受容体高発現腫瘍に対する高い集積性を有するとともに、 $[^{111}\text{In}]$ I n-E 4 D よりも優れた体内分布を有することが明らかとなった。

[0237] [表9]

	1時間	4時間	24時間	48時間	96時間
血液	24.5±2.86	13.8±1.24	6.01±0.46	1.80±0.10	0.47±0.05
脾臓	4.77±0.25	3.71±0.51	3.24±0.16	2.61±0.16	1.81±0.13
脾臓	11.83±3.40	22.9±2.80	25.0±2.63	18.1±1.48	10.4±1.03
胃(%ID)	0.88±0.16	0.74±0.08	0.78±0.21	0.42±0.04	0.22±0.05
腸	3.34±0.47	2.77±0.33	2.33±0.42	1.49±0.13	0.70±0.10
腎臓	33.99±3.20	49.3±2.61	67.7±6.22	37.4±3.21	13.9±1.83
肝臓	7.04±0.62	5.10±0.41	4.31±0.21	3.46±0.17	2.51±0.15
心臓	6.67±0.69	4.48±0.37	2.40±0.41	1.32±0.15	1.41±0.67
肺	24.8±3.06	16.2±0.78	12.2±1.74	5.74±0.92	3.08±0.55
脳	0.86±0.17	1.38±0.93	0.64±0.19	0.23±0.02	0.52±0.23
筋肉	1.62±0.24	1.60±0.44	0.61±0.17	0.42±0.10	0.25±0.06
INS-1腫瘍	66.1±4.71	109±2.51	132±8.49	71.9±7.96	38.3±4.11

[0238] [表10]

	1時間	4時間	24時間	48時間	96時間
血液	1.97±0.10	1.86±0.28	0.30±0.02	0.15±0.03	0.03±0.01
脾臓	0.76±0.08	2.29±0.40	0.93±0.07	0.81±0.07	0.58±0.04
脾臓	11.3±1.28	12.4±1.12	6.40±0.75	7.30±0.23	3.35±0.12
胃(%ID)	0.44±0.09	0.68±0.13	0.21±0.02	0.22±0.02	0.12±0.01
腸	0.74±0.03	1.00±0.24	0.63±0.05	0.69±0.10	0.32±0.03
腎臓	173±12.6	152±8.67	73.4±12.8	66.6±5.23	30.2±6.17
肝臓	1.25±0.03	1.63±0.13	1.07±0.02	1.81±0.69	0.91±0.08
心臓	0.78±0.03	3.47±1.99	0.44±0.10	0.35±0.06	0.20±0.07
肺	6.54±0.61	5.07±0.44	2.35±0.31	1.49±0.15	0.81±0.16
脳	0.08±0.02	0.55±0.03	0.07±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01
筋肉	0.14±0.03	2.48±0.80	0.15±0.06	0.16±0.04	0.07±0.01
INS-1腫瘍	36.0±1.53	28.9±0.98	12.2±1.35	17.5±0.68	7.30±1.19

[0239] <INS-1腫瘍移植マウスを用いたSPECT/CT>

上述の方法で作製したINS-1腫瘍移植マウスに、 $[^{111}\text{In}]$ In-E
4DA1の生理食塩水溶液(0.30MBq, 100 μL)または $[^{111}\text{In}]$

] ^{111}In -E4Dの生理食塩水溶液 (1.2 MBq , $100\text{ }\mu\text{L}$) を尾静脈より投与した。投与6時間後にGamma Medica-Ideas社製FX3300 pre-clinical imaging systemにてSPECT/CTを行った。イソフルラン麻酔下、回転半径35mm、投影時間70秒、投影回数32回にて直径1.0mmのピンホールコリメーターを用いて撮像した。SPECT後、CT (管電圧: 60 kV , 管電流: $350\text{ }\mu\text{A}$) を行った。SPECTの投影データについて3次元ordered subset expectation maximization法 (8 subsets, 5 iterations) による画像再構成を行った。

[0240] SPECT/CTの結果を図12に示す。同図中、矢印で示す部分が腫瘍の存在位置であり、丸印で示す部分が腎臓の存在位置である。SUVが高いほど放射能集積が高い。

^{111}In] ^{111}In -E4DA1を用いたSPECT/CT撮像では腫瘍に高い放射能集積が認められたが、腎臓での放射能シグナルはほとんど観測されなかった。一方、 ^{111}In] ^{111}In -E4Dでは、腫瘍に比べ腎臓での高い放射能集積が認められた。これらの結果から、アルブミン結合部を有することによって体内分布が改善され、 ^{111}In] ^{111}In -E4DA1はGLP-1受容体高発現腫瘍の明瞭な描出が可能であることが示された。

[0241] [実施例7]

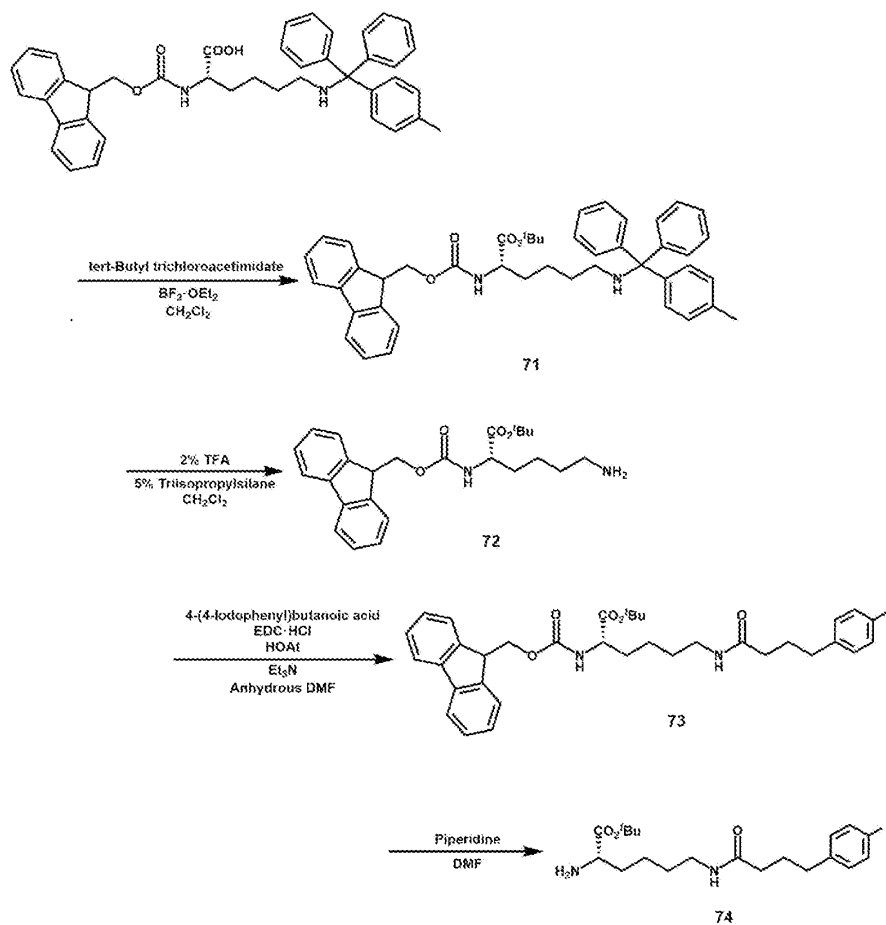
本実施例では、PSMAを標的分子とする(((S)-5-amino-1-carboxypentyl)carbamoyl)-L-glutamic acid (上記式(C3)中、aが2、bが4である構造)を標的分子結合部として構造中に含み、キレート部と標的分子結合部との結合に、アジド基とジベンジルシクロオクチン(DBCO)とのクリック反応を用いた化合物(PtDA)を合成した。次いで、これらの化合物に放射性金属として ^{111}In イオンを配位させた放射性標識化合物をそれぞれ得た。反応経路の概略を反応経路(VIII-1)～(VIII-4)として以下に示す。

実施例7で用いた化合物は構造中にキレート部、標的分子結合部及びアルブミン結合部を含むものである。

また、 ^{111}In イオンに配位させるにあたり2つの反応経路（反応経路（VIII-4）参照）があるが、いずれの経路であっても、得られる放射性標識化合物は同一である。

[0242] [化40]

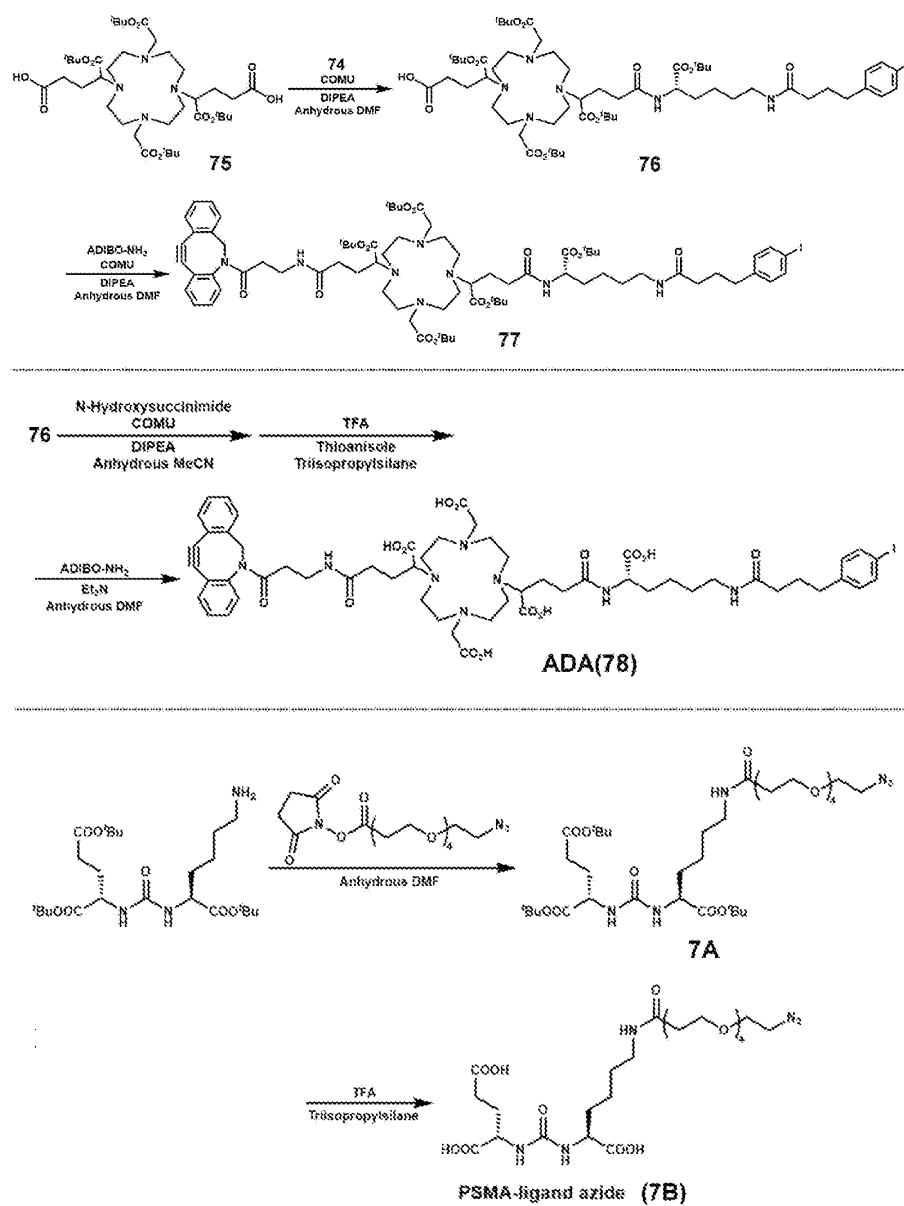
Scheme (VIII-1)



[0243]

[化41]

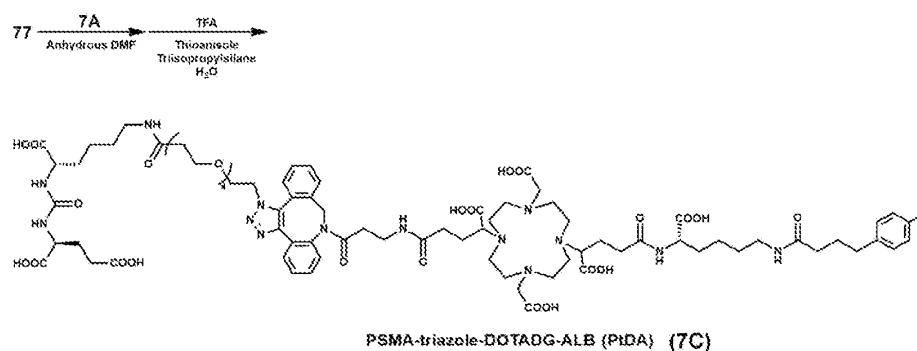
Scheme (VIII-2)



[0244]

[化42]

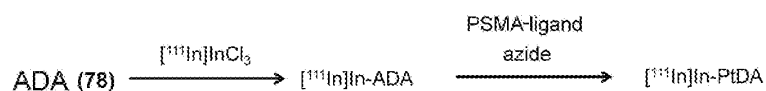
Scheme (VIII-3)



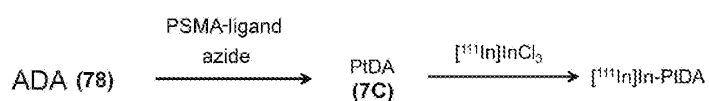
[0245] [化43]

Scheme (VIII-4)

<Route A>



<Route B>



[0246] <化合物 71 の合成>

$\text{N}^2 - [(9\text{H-fluoren-9-ylmethoxy})\text{carbonyl}] - \text{N}^6 - [(4\text{-methylphenyl})\text{diphenylmethyl}] - \text{L-lysine}$ (1000mg, 1.6mmol) をジクロロメタン (10mL) に溶解させ, *tert*-butyl trichloroacetimidate (699.5mg, 3.2mmol) と $\text{BF}_3 \cdot \text{O}$

Et₂ (25 μL) を加えた。反応溶液を室温で42時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣をH₂O (100 mL) で洗い、酢酸エチル／ヘキサン (1／5, 100 mL × 2) で抽出した。有機層を硫化ナトリウムで乾燥させ、ろ過した。ろ液を減圧留去した後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した (酢酸エチル／ヘキサン)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0247] 収量：569 mg (52%)。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 7.8 Hz, 4H), 7.33 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.23 (m, 6H), 7.13 (m, 2H), 7.04 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 5.39 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.35 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 4.25 (m, 1H), 4.18 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.12 (m, 2H), 1.77 (m, 1H), 1.59 (m, 1H), 1.49 (m, 4H), 1.44 (s, 9H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 155.7, 146.3 (2C), 143.7 (2C), 143.2, 141.1 (2C), 135.4, 128.4–128.3 (8C), 127.6–127.5 (6C), 126.9 (2C), 126.0 (2C), 125.0 (2C), 119.8 (2C), 81.7, 70.5, 66.7, 60.2, 47.1, 43.2, 32.7, 30.4, 27.8 (3C), 22.8, 20.7.

HRMS (ESI) : m/z 681.3677 [M+H]⁺.

[0248] <化合物72の合成>

化合物71 (569 mg, 0.84 mmol) をトリフルオロ酢酸 (TFA) (100 μL), トリイソプロピルシラン (250 μL)、ジクロロメタン (4.65 mL) の混合液に溶解させ、室温で6時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した (メタノール)。

ール／クロロホルム)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0249] 収量：355 mg (100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J=7.1$ Hz, 2H), 7.35 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.27 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 5.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J=7.1$ Hz, 2H), 4.16 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 3.38 (s, 2H), 1.77–1.56 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.27–1.13 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 171.5, 156.2, 143.6 (2C), 141.1 (2C), 127.6 (2C), 127.0 (2C), 125.0 (2C), 119.8 (2C), 82.3, 66.9, 54.1, 50.0, 46.9, 39.5, 31.1, 27.7 (3C), 26.8, 22.1.

HRMS (ESI) : m/z 425.2437 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0250] <化合物73の合成>

4-(4-ヨードフェニル)ブタン酸 (364 mg, 1.25 mmol) をN,N-ジメチルホルムアミド (DMF) (3 mL) に溶解させ、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド (EDC) 塩酸塩 (320 mg, 1.7 mmol), 1-ヒドロキシー-7-アザベンゾトリアゾール (HOAt) (228 mg, 1.7 mmol) を加え0℃で15分間攪拌した。その後、化合物72 (355 mg, 0.84 mmol) とトリエチルアミン (169 mg, 1.7 mmol) を加え、0℃で攪拌した。15時間後、反応溶液を H_2O (100 mL) で洗い、酢酸エチル／ヘキサン (1/5, 100 mL $\times$ 2) で抽出した。有機層を硫化ナトリウムで乾燥させ、ろ過した。ろ液を減圧留去した後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した (酢酸エチル／ヘキサン)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0251] 収量：226 mg (39%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.60–7.50 (m, 6H), 7.37 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.28 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 4.38–4.27 (m, 2H), 4.25–4.16 (m, 2H), 3.21–3.14 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.08 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.91–1.84 (m, 2H), 1.73–1.57 (m, 2H), 1.47–1.29 (m, 13H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 171.5, 156.0, 143.5 (2C), 141.0–140.9 (3C), 137.1 (2C), 130.3 (2C), 127.5 (2C), 126.9 (2C), 124.9 (2C), 119.8 (2C), 90.8, 82.0, 66.8, 53.9, 46.9, 38.9, 35.4, 34.4, 32.1, 28.6, 27.9 (3C), 26.7, 22.2.

HRMS (ESI) : m/z 697.2130 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0252] <化合物74の合成>

化合物73のDMF (4 mL) 溶液にピペリジン (1 mL) を加えた。室温で2時間攪拌後、溶液を H_2O (100 mL) で洗い、酢酸エチル／ヘキサン (1／5, 100 mL×2) で抽出した。有機層を硫化ナトリウムで乾燥させ、ろ過した。ろ液を減圧留去した後、残渣を中圧カラムクロマトグラフィーにより精製した (メタノール／クロロホルム)。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0253] 収量：133 mg (87%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.58 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 3.31–3.27 (m, 1H), 3.23 (m, 2H), 2.58 (m, 2H), 2.13 (m, 2H), 1.96–1.88 (m, 2H), 1.74–1.65 (m, 2H), 1.56–1.48 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.4

3-1.40 (m, 2H). ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175.2, 172.3, 141.1, 137.3 (2C), 130.5 (2C), 90.9, 80.9, 54.7, 39.1, 35.6, 34.6, 34.3, 29.2, 28.0 (3C), 26.8, 22.9.

HRMS (ESI): m/z 475.1453 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0254] <化合物75の合成>

上述の実施例と同様に、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカンから3段階で合成した (Chem Commun. 2008, 28, 3248-3250)。

[0255] <化合物76の合成>

化合物75 (317 mg, 0.41 mmol) のDMF (2 mL) 溶液に N -[1-(cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminoxy) dimethylamino (morpholino)] uronium hexafluorophosphate (COMU) (176 mg, 0.41 mmol) を加え、0℃で15分間攪拌した。反応液に N , N -ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (53 mg, 0.41 mmol) を加え、0℃でさらに15分間攪拌した後、化合物74 (163 mg, 0.34 mmol) を加えた。室温で12時間攪拌後、溶液を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (20 × 250 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [30/70/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (40分)], 流速: 5 mL/min.

収量: 229 mg (55%)。

HRMS (ESI) m/z 1229.6182 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0256] <化合物77の合成>

化合物76 (106 mg, 0.086 mmol) のDMF (0.6 mL) 溶液にCOMU (147 mg, 0.34 mmol) を加え、0℃で15分間

攪拌した。反応液にDIPEA (89 mg, 0.69 mmol) を加え, 0℃でさらに15分間攪拌した後, ジベンゾシクロオクチンアミン (ADIBO-NH₂) (36 mg, 0.22 mmol) を加えた。室温で12時間攪拌後, 溶液を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (20 × 250 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [20/80/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (35分)], 流速: 5 mL/min.

収量: 51 mg (40%)。

HRMS (ESI): m/z 1487.7351 [M+H]⁺.

[0257] <化合物78 (ADA) の合成>

化合物76 (50 mg, 0.041 mmol) のMeCN (0.4 mL) 溶液にCOMU (70 mg, 0.16 mmol) を加え, 0℃で15分間攪拌した。反応液にDIPEA (89 mg, 0.69 mmol) を加え, 0℃でさらに15分間攪拌した後, N-ヒドロキシスクシンイミド (19 mg, 0.16 mmol) を加えた。室温で24時間攪拌後, 溶液をH₂O (100 mL) で洗い, 酢酸エチル/ヘキサン (1/5, 100 mL × 2) で抽出した。有機層を硫化ナトリウムで乾燥させ, ろ過した。ろ液を減圧留去した後, 残渣の半量をTFA/チオアニソール/トリイソプロピルシラン混合液 (95/3/2, 2 mL) に溶解させ, 室温で11時間攪拌した。溶媒を除去後, 残渣をDMF (0.4 mL) とトリエチルアミン (10 μL) に溶解させ, ADIBO-NH₂ (6.2 mg, 0.023 mmol) を加えた。反応液を室温で24時間攪拌後, 溶液を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 × 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (40分)], 流速: 1 mL/min.

収量: 6.7 mg (27%)。

HRMS (ESI) : m/z 1207.4213 $[M+H]^+$.

[0258] <化合物7Aの合成>

(S)-di-tert-butyl 2-(3-((S)-6-amino-1-tert-butoxy-1-oxohexan-2-yl)ureido)pentanedioate (31mg, 0.064mmol) をDMF (0.5mL) に溶解させ、2,5-dioxopyrrolidin-1-yl 1-azido-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-oate1 (25mg, 0.064mmol) を加えた。室温で12時間攪拌後、溶液を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

[0259] 精製条件 : Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10×250mm), 移動相 : MeCN/H₂O/TFA [30/70/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (30分)], 流速 : 4mL/min.

収量 : 35mg (72%)。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 4.26–4.23 (m, 2H), 3.75 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.69–3.61 (m, 14H), 3.41 (t, J=5.2Hz, 2H), 3.38–3.16 (m, 2H), 2.59 (t, J=5.2Hz, 2H), 2.34 (dt, J=2.3, 7.5Hz, 2H), 2.11–1.60 (m, 4H), 1.54 (t, J=7.0Hz, 2H), 1.48–1.40 (m, 27H), 1.39–1.26 (m, 2H). ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ 174.3 (2C), 172.8 (2C), 158.4, 82.7, 82.4, 81.2, 70.4 (2C), 70.3, 70.1, 70.0 (2C), 69.9, 66.8, 53.7, 53.3, 50.5, 39.2, 35.8, 31.5, 31.3, 28.2, 27.9 (3C), 27.8 (7C), 21.9.

HRMS (ESI) : m/z 761.4656 $[M+H]^+$.

[0260] <化合物7Bの合成>

化合物7A (23 mg, 0.030 mmol) をTFA (950 μ L) とトリイソプロピルシラン (50 μ L) に溶解させ、室温で4時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量、NMRスペクトル及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (10 $\times$ 250 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 40/60/0.1 (30分)], 流速: 4 mL/min.

収量: 11 mg (63%)。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (s, 1H), 6.37 (s, 2H), 4.39 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.66 (m, 16H), 3.40 (s, 2H), 2.53–1.23 (m, 14H)。

HRMS (ESI): 593.2779 [M+H]⁺.

[0261] <化合物7C (PtDA) の合成>

化合物77 (20 mg, 0.013 mmol) をDMF (0.6 mL) に溶解させ、化合物7A (35 mg, 0.046 mmol) を加えた。室温で12時間攪拌後、溶媒を除去した。残渣にTFA (1.9 mL), チオアニソール (60 μ L), トリイソプロピルシラン (20 μ L), およびH₂O (20 μ L) を加え、室温で10時間攪拌した。溶媒を除去した後、残渣を逆相HPLCで以下の条件で精製した。収量及びMSは以下のとおりであった。

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (40分)], 流速: 1 mL/min.

収量: 1.0 mg (4.2%)。

HRMS (ESI): m/z 900.3488 [M+2H]²⁺.

[0262] <ルートAによる [¹¹¹In] In-ADAの合成>

2-(N-morpholino) ethanesulfonic ac

id (MES) 緩衝液 (0.1 M, pH 5.7, 100 μ L) に $[^{111}\text{In}]$ InCl_3 溶液 (9.2 MBq, 100 μ L) と化合物 78 のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液 (0.60 mM, 7 μ L) を加え, 90°C で 5 分間静置した. その後, 反応溶液を逆相 HPLC により以下の条件で精製した.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 70/30/0.1 (30分)], 流速: 1 mL/min.

放射化学的転換率 ($[^{111}\text{In}]$ InCl_3 の放射能に対する $[^{111}\text{In}]$ In-ADA の放射能の割合) 及び放射化学的収率を以下の表 11 に示す.

[0263] <ルート A による $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA の合成>

リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) / DMSO 混合液 (9/1, 200 μ L) または DMSO (200 μ L) に $[^{111}\text{In}]$ In-ADA (0.80 MBq) を加え, 化合物 7B (0, 2 mg) をさらに加えた. 37°C で 10 または 30 分間静置後, 反応溶液を逆相 HPLC により以下の条件で精製した.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 70/30/0.1 (30分)], 流速: 1 mL/min.

放射化学的転換率 ($[^{111}\text{In}]$ In-ADA の放射能に対する $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA の放射能の割合) 及び放射化学的収率を以下の表 11 に示す.

[0264] <ルート B による $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA の合成>

MES 緩衝液 (0.1 M, pH 5.7, 150 μ L) に $[^{111}\text{In}]$ InCl_3 溶液 (2.1 MBq, 100 μ L) と化合物 7C の DMSO 溶液 (0.56 mM, 2 μ L) を加え, 90°C で 5 分間静置した. その後, 反応溶液を逆相 HPLC により以下の条件で精製した.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 70/30/0.1 (30分)], 流速: 1 mL/min.

放射化学的転換率（ $[^{111}\text{In}] \text{InCl}_3$ の放射能に対する $[^{111}\text{In}] \text{In-PtDA}$ の放射能の割合）及び放射化学的収率を以下の表11に示す。

[0265] [表11]

	化合物	溶媒	反応条件	放射化学的 転換率(%)	放射化学的 収率(%)
ルートA	$[^{111}\text{In}]\text{In-ADA}$	MES buffer	90° C, 5 min	>95	54.9 ± 9.3
	$[^{111}\text{In}]\text{In-PtDA}$	PBS	37° C, 10 min	>95	55.3 ± 1.6
		DMSO	37° C, 30 min	>95	66.7 ± 7.2
ルートB	$[^{111}\text{In}]\text{In-PtDA}$	MES buffer	90° C, 5 min	>95	47.4 ± 14.7

[0266] なお、非放射性のInを配位させた In-ADA 及び In-PtDA は以下の方法で製造することができる。

＜非放射性 In-ADA の合成＞

化合物78（1等量）を酢酸緩衝液（1.0M, pH5.0, 100 μL ）に溶解させ、塩化インジウム（III）無水和物（10等量）を加えた。反応液を90°Cで5分間攪拌後、溶液を逆相HPLCで精製した。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-III column（4.6×150mm），移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/30.1（0分）～90/10/0.1（40分）]，流速：1mL/min。

MS（ESI）：m/z 1319.3 [M+H]⁺。

[0267] ＜非放射性 In-PtDA の合成＞

化合物7C（0.5mg, 1.25mmol）のH₂O/MeCN/TFA（49.95/49.95/0.1, 300 μL ）溶液に塩化インジウム（III）無水和物（0.62mg, 2.8 μmol ）を加えた。室温で18時間攪拌後、溶液を逆相HPLCで精製した。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-III column（4.6×150mm），移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1（0分）～90/10/0.1（40分）]，流速：1mL/min。

収量：0.05mg（9.4%）。

HRMS (ESI) : m/z 956. 2893 $[M+2H]^{2+}$.

[0268] <分配係数の評価>

PBS (pH 7. 4, 3 mL) および 1-オクタノール (3 mL) の混合液に, $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA (111 kBq) を加え, 2 分間ボルテックスによる分散を行った後, $4000\times g$ で 5 分間遠心分離した。1-オクタノール層および PBS 層から 1 mL ずつ回収し, 各層の放射能をガンマカウンターで測定した ($n=3$)。

計算式は, 「(分配係数) = $\text{Log}_{10} [(1\text{-オクタノール層の放射能 [kBq]}) / (\text{PBS 層の放射能 [kBq]})]$ 」を用いた。

その結果, $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA の $\text{Log} P$ は「 $-3. 08 \pm 0. 02$ 」であった。

[0269] <血漿中安定性評価の評価>

マウス血漿 (200 μL) に $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA (259 kBq) の生理食塩水 (20 μL) 溶液を加え, 37°C で 24 時間静置した ($n=3$)。MeCN (400 μL) を加え, $10000\times g$ で 5 分間遠心した。上清をろ過し, ろ液を逆相 HPLC で以下の条件で分析した。

分析条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4. 6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0. 1 (0 分) ~ 70/30/0. 1 (30 分)], 流速: 1 mL/min.

その結果, 図 13 に示すように, $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA はマウス血漿中 37°C で 24 時間静置後も 95% 以上が安定に存在した。

[0270] <培養細胞株を用いた結合評価>

上述の実施例 5-1 と同様に, LNCaP 細胞および PC-3 細胞を培養し, 細胞結合実験を行った。アッセイ用培地として, $[^{111}\text{In}]$ In-PtDA (37 kBq) を含む 0. 5% FBS 含有 RPMI 1640 培地 (1 mL) を用いた以外は, 実施例 5-1 と同様の実験手順及び統計手法で評価を行った。

[0271] 結果を図 14 に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PtDAはPC-3細胞(0.15%ID/mg protein)と比較してLNCaP細胞(15%ID/mg protein)に対する高い結合性を示し、その結合は過剰量のPSMA阻害剤(2-PMPA)の添加により有意に低減した(0.36%ID/mg protein)。これらの結果から、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAはPSMA陽性細胞に特異的に結合することが示された。

[0272] <アルブミンへの結合評価>

上述の実施例5-1と同様に、PBS、マウス血漿、ヒト血漿及びヒトアルブミンを用いて、アルブミンへの結合評価を行った。 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAのPBS溶液(37kBq, 50 μ L)を用いた以外は、実施例5-1と同様の実験手順及び統計手法で評価を行った。

[0273] 結果を図15に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PtDAをPBS中で静置後、カラムに付したところ、溶出液において放射能があまり検出されなかった(6.9%)。一方、マウス血漿、ヒト血漿、およびヒトアルブミン溶液中で静置した際には溶出液に高い放射能が観測され(それぞれ67.2, 79.0, および92.4%)、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAが血漿アルブミンに結合することが示された。

[0274] <LNCaP腫瘍移植マウスを用いた体内放射能分布評価>

実施例5-1と同様の方法で作製したLNCaP腫瘍移植マウスに、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAの生理食塩水溶液(241kBq/100 μ L)を尾静脈から投与し(n=3)、投与1, 24, および48時間後にマウスを安楽死させた。その後、血液及び各臓器を回収し、臓器の質量及び放射能を測定した。

投与放射能量(injected dose)に対する放射能量の百分率(%ID)を血液質量又は臓器質量(g)で除した値(%ID/g)として示す。%ID/gの値が高いほど、放射性標識化合物の存在量が多く、該化合物の標的臓器への集積が高いことを示す。

[0275] LNCaP腫瘍移植マウス及び $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAにおける結果(

平均±標準偏差、各 $n = 3$) を以下の表 12 に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PtDA は LNCaP 腫瘍への高い集積を示し (投与 24 および 48 時間後にそれぞれ 16.0 および 18.7% ID/g), 血液での滞留性を示した (投与 1~48 時間後に 6.33~19.8% ID/g)。また, 投与 1 時間後における腎臓集積は 37.2% ID/g であり, 既知の PSMA を標的分子とした放射性標識化合物である $[^{111}\text{In}]$ In-PSMA-I&T (腎臓: 191% ID/g)、および $[^{68}\text{Ga}]$ Ga-PSMA-11 (腎臓: 139% ID/g) よりも顕著に低かった (例えば、EJNMIRes, 2012, 2, 23, J Nucl Med, 2017, 58, 235-242)。

[0276] [表12]

	1時間	24時間	48時間
血液	19.8±2.74	12.5±1.47	6.33±1.53
脾臓	15.3±4.89	9.69±0.92	10.5±5.62
膵臓	2.31±0.14	2.03±0.48	1.12±0.39
胃(%ID)	0.79±0.19	0.46±0.23	0.29±0.20
腸	2.66±0.28	1.52±0.41	0.74±0.28
腎臓	37.2±6.85	68.0±2.82	55.9±6.39
肝臓	3.51±0.38	3.36±0.77	2.28±0.75
心臓	5.49±0.77	3.95±0.87	1.98±0.41
肺	11.9±1.57	8.63±1.31	6.16±1.56
脳	0.36±0.05	0.30±0.05	0.20±0.07
筋肉	1.95±0.30	1.28±0.34	0.81±0.40
LNCaP腫瘍	2.18±0.17	16.0±9.49	18.7±5.21

[0277] <腫瘍移植マウスを用いた SPECT/CT 評価>

実施例 5-1 と同様の方法で飼育した雄性 CB17/ICrJc1-Prkdc^{scid} マウスに、PBS と Matrigel の混合液 (1:1, 150 μL) に LNCaP 細胞 (1.0×10^7 cells/mouse) を懸濁させ、イソフルラン麻酔下、マウスの右肩に皮下移植した。これに加えて、同

一のマウスに、PBSとMatrigelの混合液（1：1，150 μ L）にPC-3細胞（ 1.0×10^7 cells/mouse）を懸濁させたものをイソフルラン麻酔下、マウスの左肩に皮下移植した。その後、当該マウスを40～60日間飼育した。このようにして、1匹のマウスにLNCaP細胞とPC-3細胞とが同時に移植された腫瘍移植マウスを得た。

[0278] 次いで、この腫瘍移植マウスに、 $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAの生理食塩水溶液（2.7 MBq，100 μ L）を尾静脈から投与した。投与24および48時間後にGamma Medica-Ideas社製FX3300 pre-clinical imaging systemにてSPECT/CTを行った。イソフルラン麻酔下、回転半径35 mm，投影時間70秒，投影回数32回にて直径1.0 mmのピンホールコリメーターを用いて撮像した。SPECT後，CT（管電圧：60 kV，管電流：350 μ A）を行った。SPECTの投影データについて3次元ordered subset expectation maximization法（8 subsets，5 iterations）による画像再構成を行った。

[0279] SPECT/CTの結果を図16に示す。

$[^{111}\text{In}]$ In-PtDAを用いたSPECT/CT撮像では投与24および48時間後において，LNCaP腫瘍に高い放射能集積が認められたが，PC-3腫瘍からはほとんど放射能シグナルが認められなかった。この結果から， $[^{111}\text{In}]$ In-PtDAはPSMA陽性腫瘍の明瞭な描出が可能であることが示された。

[0280] 〔実施例8〕

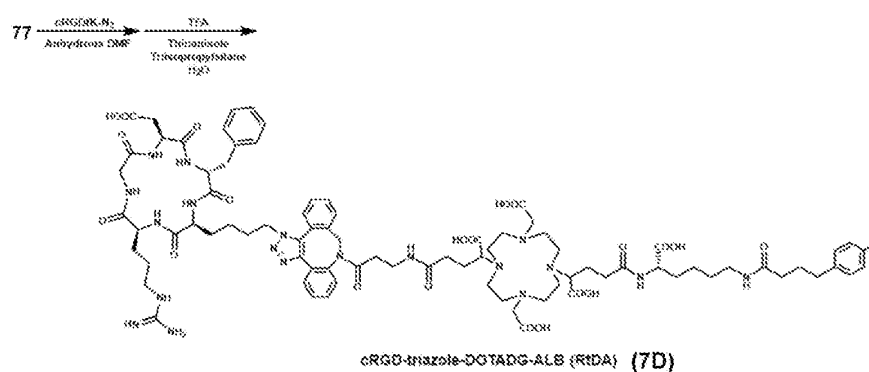
本実施例では、cRGDペプチドを標的分子結合部として構造中に含み、キレート部と標的分子結合部との結合に、アジド基とジベンジルシクロオクチン（DBCO）とのクリック反応を用いた化合物（PtDA）を合成した。次いで、これらの化合物に放射性金属として ^{111}In イオンを配位させた放射性標識化合物をそれぞれ得た。反応経路の概略を反応経路（IX-1）～（IX-2）として以下に示す。

実施例 8 で用いた化合物は構造中にキレート部、標的分子結合部及びアルブミン結合部を含むものである。

また、 ^{111}In イオンに配位させるにあたり 2 つの反応経路（反応経路（IX-2）参照）があるが、いずれの経路であっても、得られる放射性標識化合物は同一である。なお、化合物 77 及び化合物 78（ADA）の合成方法は実施例 7 と同様である。

[0281] [化44]

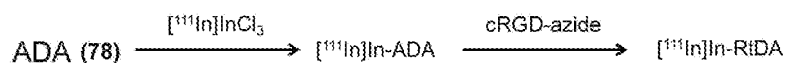
Scheme (IX-1)



[0282] [化45]

Scheme (IX-2)

<Route A>



<Route B>



[0283] <化合物7D (RtDA) の合成>

化合物77 (3.9 mg, 2.6 μ mol) をDMF (0.4 mL) に溶解させ, cyclo [Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys (azide)] (1.7 mg, 2.6 μ mol) を加えた. 室温で12時間攪拌後, 溶媒を除去した. 残渣にTFA (1.9 mL), チオアニソール (60 μ L), トリイソプロピルシラン (20 μ L), およびH₂O (20 μ L) を加え, 室温で10時間攪拌した. 溶媒を除去した後, 残渣を逆相HPLCで以下の条件で精製した. 収量及びMSは以下のとおりであった.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (40分)], 流速: 1 mL/min.

収量: 2.8 mg (58%).

HRMS (ESI) m/z 918.8662 [M+2H]²⁺.

[0284] <ルートAによる [¹¹¹In] In-RtDAの合成>

PBS/DMSO混合液 (9/1, 200 μ L) に [¹¹¹In] In-ADA (1.5 MBq) を加え, cyclo [Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys (azide)] (0.2 mg) をさらに加えた. 37°Cで10分間静置後, 反応溶液を逆相HPLCにより以下の条件で精製した.

精製条件: Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 $\times$ 150 mm), 移動相: MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 70/30/0.1 (30分)], 流速: 1 mL/min.

放射化学的転換率 ([¹¹¹In] In-ADAの放射能に対する [¹¹¹In] In-RtDAの放射能の割合) 及び放射化学的収率を以下の表13に示す.

[0285] <ルートBによる [¹¹¹In] In-RtDAの合成>

MES緩衝液 (0.1 M, pH 5.7, 150 μ L) に [¹¹¹In] InCl₃溶液 (2.1 MBq, 80 μ L) と化合物7DのDMSO溶液 (0.27 mM, 2 μ L) を加え, 90°Cで5分間静置した. その後, 反応溶液を逆相H

PLCにより精製した。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 × 150 mm)，移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 70/30/0.1 (30分)]，流速：1 mL/min。

放射化学的転換率 ([¹¹¹In]InCl₃の放射能に対する [¹¹¹In]In-RtDAの放射能の割合) 及び放射化学的収率を以下の表13に示す。

[0286] [表13]

	化合物	溶媒	反応条件	放射化学的 転換率(%)	放射化学的 収率(%)
ルートA	[¹¹¹ In]In-RtDA	PBS	37° C, 10 min	>95	63.1 ± 20.3
ルートB	[¹¹¹ In]In-RtDA	MES buffer	90° C, 5 min	>95	52.9 ± 9.4

[0287] なお、非放射性のInを配位させたIn-RtDAは以下の方法で製造することができる。

[0288] <非放射性In-RtDAの合成>

化合物7D (0.8 mg, 0.40 μmol) のH₂O/MeCN/TFA (49.95/49.95/0.1, 300 μL) 溶液に塩化インジウム (III) 無水和物 (1.0 mg, 4.0 μmol) を加えた。室温で18時間攪拌後、溶液を逆相HPLCで精製した。

精製条件：Cosmosil 5C₁₈-AR-II column (4.6 × 150 mm)，移動相：MeCN/H₂O/TFA [10/90/0.1 (0分) ~ 90/10/0.1 (40分)]，流速：1 mL/min。

収量：0.06 mg (7.7%)。

HRMS (ESI) : m/z 974.7980 [M+2H]²⁺。

産業上の利用可能性

[0289] 本発明によれば、標的組織への集積の向上と、標的でない組織、特に腎臓への集積の低減とを両立することができる。