

明 細 書

発明の名称：放射性金属錯体の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、放射性金属錯体の製造方法に関する。

背景技術

[0002] 標的分子の検出のための試薬及び診断薬、あるいは、疾患の治療のための医薬品への利用を目的として、放射性金属に配位子が配位した放射性金属錯体に関する検討が進められている。特許文献1には、抗体とコンジュゲートさせるキレート剤として、DOTAを用い、これと放射性金属とを配位させて、抗体への⁹⁰Y標識を行っている。また非特許文献1には、放射性金属である⁸⁹Zrと、配位子であるDOTAとを緩衝液中で反応させて、放射性金属錯体を形成する方法が記載されている。

非特許文献2には、⁶⁸Ga又は⁴⁴Scと、配位子としてDOTA誘導体であるDOTATOCとを緩衝液中で反応させて、放射性金属錯体を形成する方法が記載されている。

非特許文献3には、⁶⁸Ga又は⁴⁴Scと、DOTAとをエタノール含有生理食塩水中で反応させて、放射性金属錯体を形成する方法が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：US 2005/191239 A1

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Pandya et al., Chem Sci. 2017;8(3):2309-14.

非特許文献2：Eppard et al., EJNMMI Radiopharm. Chem. 2017; 1,6.

非特許文献3：Perez-Malo et al., Inorg. Chem. 2018, 57(10), 6107-6117.

発明の概要

[0005] しかしながら、配位子として、DOTAにペプチドなどの抗体以外の標的分子を結合させた誘導体を用いた場合に、特許文献1や非特許文献1～3に

開示された条件では、DOTAと特定の放射性金属との間の錯形成がうまく進行しないことがあることが本発明者らの知見により明らかとなった。このような問題は、DOTAに限らず、DOTAGAなどDOTAに類似する誘導体においても同様に生じる問題である。

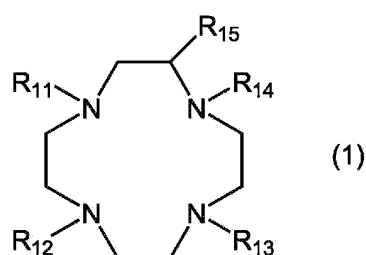
[0006] したがって、本発明の課題は、DOTA、その誘導体、又はDOTAに類似する構造を含む配位子において、錯形成効率に優れる放射性金属錯体の製造方法を提供することにある。

[0007] 本発明は、放射性金属と、下記式(1)で表される配位子とを反応液中で反応させて、放射性金属錯体を形成させる工程を備え、

前記反応液が、水、緩衝剤及び水溶性有機溶媒を含み、

前記放射性金属が ^{89}Zr 又は ^{225}Ac である、放射性金属錯体の製造方法を提供するものである。

[化1]



(式中、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、それぞれ独立して、 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ 、又は $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ からなる基であり、 R_{14} 又は R_{15} の一方が、水素原子、 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ 、又は、 $-(\text{CHCOOH})(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ からなる基であり、他方が、 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ 、若しくは、 $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ からなる基であるか、又は、ペプチドと連結している基であり、 p が0以上3以下の整数である。)

発明を実施するための形態

[0008] 本出願は、2019年8月21日に出願された日本国特許出願2019-151480号に基づく優先権を主張する出願であり、日本国特許出願2019-151480号のすべての内容は、本明細書の一部として本明細書に組み入れられる。

[0009] 本発明によれば、DOTA、その誘導体、又はDOTAに類似する構造を含む配位子において、錯形成効率に優れる放射性金属錯体の製造方法を提供することができる。本発明は、特に、難水溶性の配位子を用いた場合に効果的である。

[0010] 以下、本発明の放射性金属錯体の製造方法を、その好ましい実施形態に基づき説明する。本発明の製造方法は、放射性金属と、配位子とを、水、緩衝剤及び水溶性有機溶媒を含む反応液中で反応させて、放射性金属錯体を形成させる工程（錯体形成工程）を備える。

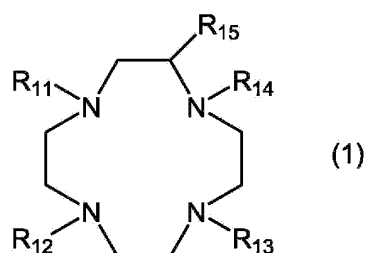
[0011] 本工程において、放射性金属と配位子とを錯体形成させることと、放射性金属で配位子を標識することは同義であり、錯形成効率と標識率とは同義である。

本工程における放射性金属は、錯形成効率を高める観点から、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より好ましい（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。放射性金属の具体的な核種は後述する。

[0012] 本工程に用いられる配位子は、以下の式（1）で表される構造を有するものである。すなわち、本工程に用いられる配位子は、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-テトラ酢酸（DOTA）若しくはその誘導体、又はDOTAに類似する構造を含む配位子である。

[0013]

[化2]



[0014] 式(1)中、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、それぞれ独立して、 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、又は $-(CH_2)_pCONH_2$ からなる基である。上記 p は、それぞれ独立して、0以上3以下の整数である。

[0015] 式(1)中、 R_{14} 又は R_{15} の一方が、水素原子、 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 、又は、 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ からなる基であり、他方が、 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、若しくは、 $-(CH_2)_pCONH_2$ からなる基であるか、又は、ペプチドと連結している基である。上記 p は、それぞれ独立して、0以上3以下の整数である。ペプチドの詳細については後述する。

[0016] 本工程においては、錯体形成にあたり、難水溶性の配位子を用いた場合に、錯形成効率を更に高めることができる。「難水溶性」とは、以下の(i)又は(ii)のうち少なくとも一方の条件を満たす性質を有し、好ましくは少なくとも(ii)の条件を満たす性質を有することをいう。難水溶性には、配位子が水に実質的に溶解しない水不溶性の意味も包含する。なお、以下の(i)及び(ii)の双方を満たす場合も同様に「難水溶性」とする。

(i) 配位子のオクタノール-水分配係数($\log P$ 値)が正の値である。

(ii) 配位子の水への溶解性を示す指標($\log S$ 値)が負の値である。

[0017] 難水溶性の指標の一つである「オクタノールー水分配係数」は、化合物の疎水性を表す指標であり、*n*-オクタノールおよび水からなる二相溶媒系の各相へのある物質の分配濃度の比の数値の常用対数として定義される。この常用対数の値は、測定対象となる被験物質の水相中濃度 C_w に対する該被験物質の *n*-オクタノール相（油相）中濃度 C_o の比（ C_o / C_w ）に基づく数値である。つまり、当該数値は、被験物質としての配位子が油相と水相とのどちらに溶けやすいかを表す。したがって、当該数値が大きいほど、配位子は疎水性が高い、すなわち難水溶性であることを示す。

オクタノールー水分配係数の算出は、例えば、JIS Z-7260-107:2000のフラスコ振盪法、若しくはOECD Test Guideline 117のHPLC法によって実測する方法、又は、物質の部分構造や構成原子を基にした計算化学的に推定する方法によって行うことができる。

本発明では、測定対象となる配位子のオクタノールー水分配係数として実測 $\log P$ 値を求めた場合にはその実測値が正の値であるときに、又は、計算化学的に $\log P$ 値を推定した場合はその計算 $\log P$ 値が正の値と算出されたときに、「配位子が難水溶性である」とする。

[0018] オクタノールー水分配係数を計算化学的に推定する場合には、市販のソフトウェアを用いることができ、例えばPerkinelmer社製の「Chemdraw Professional」や、Daylight Chemical Information Systems社製の「CLOGP」などを用いて算出した数値（計算 $\log P$ 値）を、本発明のオクタノールー水分配係数として用いることが好ましい。

[0019] 難水溶性の別の指標である「 $\log S$ 値」は、被験物質の水への溶解性を示す指標である。 $\log S$ 値が低ければ低いほど、被験物質すなわち配位子が難水溶性であることを示す。 $\log S$ 値は、例えばPerkinelmer社製の「Chemdraw Professional」などの市販のソフトウェアを用いて、計算化学的に推定した値（計算 $\log S$ 値）を本発明

のLogS値として用いることができる。

[0020] 上記式(1)において、 R_{14} 又は R_{15} に含まれ得るペプチドは、分子量が500Da以上10000Da以下であることが好ましい。また錯形成反応時におけるペプチドの意図しない分解や反応を防ぐ観点から、該ペプチドは、例えば、D-アミノ酸や、N-メチル基等のN-脂肪族炭化水素基が修飾されたアミノ酸などの生体内タンパク質を構成しないアミノ酸を含むペプチドであってもよい。生体内タンパク質を構成しないアミノ酸を含むペプチドは、一般的に難水溶性であり、該ペプチドが結合した配位子は、配位子全体として難水溶性を発現する。また、このようなペプチドは、一般的に、ペプチダーゼ耐性を有し生体内で分解されにくく、これに起因して、血中等の生体内安定性が高いので、このペプチドを含む放射性金属錯体を生体に適用したときに、標的部位に送達しやすくすることができる。特に、このようなペプチドは環状ペプチドであることが好ましい。環状ペプチドは、鎖状ペプチドに比べて化学的に強固な構造を有しているので、生体内安定性を更に高めることができる。

R_{14} 又は R_{15} に含まれ得るペプチドは、上記分子量の範囲であり、かつ難水溶性を示すものであれば特に限定されないが、例えばフィサレミン等の直鎖状ペプチドや、ダプトマイシン等の環状構造を有するペプチド等が挙げられる。

[0021] 上述のとおり、錯体形成工程における反応液は、水、緩衝剤及び水溶性有機溶媒を含む水系の反応液である。水としては、例えば、蒸留水やイオン交換水を用いることができる。

[0022] 本工程に用いられる緩衝剤としては、酢酸及びその塩、リン酸及びその塩、リン酸塩、2-アミノ-2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオール(Tris)、2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-エタンスルホン酸(HEPES)、並びに塩基性アミノ酸のうち一種が好ましく用いられる。緩衝剤の対イオンとしては、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属イオン、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム

塩等の第1級ないし第4級アンモニウムなどの陽イオンや、各種ハロゲンイオン等の陰イオンが挙げられる。これに加えて、塩化ナトリウム等の中性塩を更に添加してもよい。これらの緩衝剤は、放射性金属核種や配位子の種類及び組み合わせに応じて選択することも好ましい。

[0023] これらのうち、緩衝剤としては、酢酸及びその塩、リン酸及びその塩、T r i s、H E P E S、テトラメチルアンモニウム酢酸、並びに塩基性アミノ酸のうち一種を用いることが更に好ましい。すなわち、緩衝剤を水に溶解させた緩衝液として、酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液（以下、単に酢酸緩衝液ともいう。）、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更に好ましい。

[0024] 反応液は、水溶性有機溶媒を更に含む。本工程における水溶性有機溶媒は、配位子の反応液への溶解性を高めて、錯体形成反応に供される配位子の量を増加させることを目的として用いられ、特に、難水溶性の配位子の溶解性を高めるために好適である。水溶性有機溶媒における水溶性とは、任意の体積の水と、任意の体積の有機溶媒とを混合したときに、互いの溶媒の界面が観察されることなく自由に混和することをいう。

[0025] 水溶性有機溶媒としては、例えばメタノール及びエタノール等のプロトン性溶媒や、アセトニトリル、N，N－ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシド及びアセトン等のプロトン性溶媒等の極性溶媒が好ましく用いられる。これらのうち、アセトニトリル、N，N－ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド及びエタノールから選ばれる少なくとも一種を水溶性有機溶媒として用いることが、錯体形成反応を良好に進行させることができる観点から更に好ましい。

[0026] 錯体形成工程は、放射性金属イオンと、配位子との錯体形成が可能であれば、放射性金属源と配位子との添加順序は問わず、例えば、反応液を構成する水、緩衝剤及び水溶性有機溶媒を含む混合溶媒を予め収容した反応容器に、放射性金属源及び配位子のうち一方を添加し、次いで他方を添加して反応

させてもよく、放射性金属源及び配位子のうち一方を混合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、混合溶媒を予め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。

[0027] 錯体形成工程における反応条件としては、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反応溶媒としては、水、緩衝剤及び水溶性有機溶媒を含む混合溶媒を用いる。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が、配位子の分解抑制と錯体の形成効率向上とを両立する観点から、好ましくは30℃以上80℃以下、更に好ましくは50℃以上80℃以下に加熱する。反応時間は、上述の反応温度であることを条件として、好ましくは15分以上150分以下、更に好ましくは30分以上120分以下である。

[0028] 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、0.01mL以上100mL以下が現実的である。また、放射性金属イオン及び配位子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、1μmol/L以上100μmol/L以下であることが、目的とする放射性金属錯体の収率を高める観点から好ましく、10μmol/L以上9000μmol/L以下であることがより好ましく、30μmol/L以上600μmol/L以下であることが更に好ましく、50μmol/L以上500μmol/L以下であることが一層好ましい。反応液のpHは、用いる放射性金属、配位子及び緩衝剤の物性に依じて適宜変更可能であるが、4.0以上7.0以下が好ましく、4.5以上6.5以下がより好ましく、5.0以上6.0以下が更に好ましい。

[0029] 得られた放射性金属錯体は、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。

[0030] 上述した工程を有する本発明の製造方法によれば、配位子の反応液への溶解性を高めて、錯体形成反応を十分に進行させることができる。これにより

、錯形成率の高い放射性金属錯体を得ることができる。本発明は、反応系に水溶性有機溶媒を含有させることを特徴の一つとしているので、例えば、水溶性を示す配位子の構造の一部が置換あるいは修飾されて難水溶性の性質が発現した配位子や、もともと難水溶性である配位子等の、従来技術では錯体形成反応が進行しなかった難水溶性の配位子を用いた場合であっても、放射性金属と配位子との錯形成反応が良好に進行し、優れた収率で放射性金属錯体を得ることができる。特に本工程は、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、錯形成が良好に進行し、錯体の収率が高いので、該放射性金属核種を含む錯体を未精製の状態で以後の工程に供することができる点で有利である。

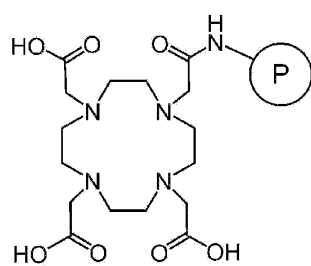
[0031] 錯形成後の工程としては、例えば、該放射性金属核種を含む錯体を有効成分とする放射性薬剤を得るための製剤化工程が挙げられる。製剤化工程は、適宜、クエン酸緩衝液、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等のpH調節剤、ポリソルベート等の可溶化剤、安定剤若しくは酸化防止剤を添加し、又は水や生理食塩液等の等張液で希釈することにより実行することができる。また、該製剤化工程は、その後、メンブランフィルター等で滅菌ろ過を行って注射剤として調製する工程を含んでいてもよい。

[0032] 上述した効果を一層顕著なものとする観点から、本発明に用いられる配位子は、以下の式(1-a)～(1-h)に示すいずれかの構造を有するものを用いることが好ましい。これらの構造は、後述する放射性金属や、水溶性有機溶媒の種類に応じて、適宜選択することができる。いずれの構造を有する配位子であっても、本発明の効果は十分に奏される。以下の各式中、Pはペプチドを表し、好ましくは上述した構成を有する難水溶性ペプチドである。各式に示される配位子は、難水溶性ペプチドを構造中に有することで、配位子全体として難水溶性の性質を示している。

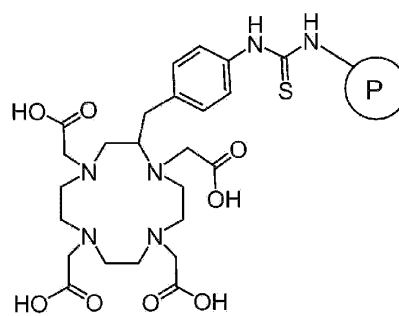
[0033]

[化3]

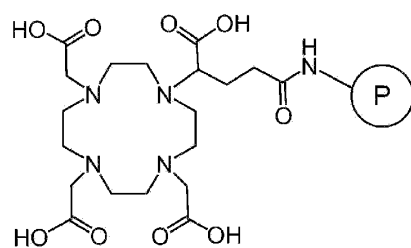
(1-a)



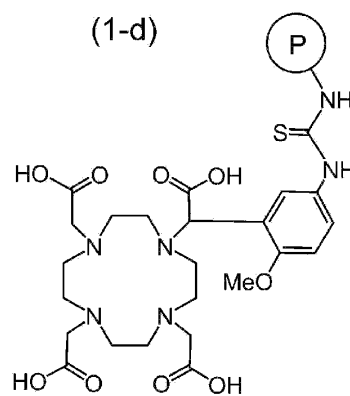
(1-b)



(1-c)



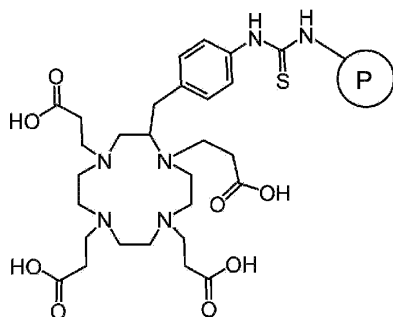
(1-d)



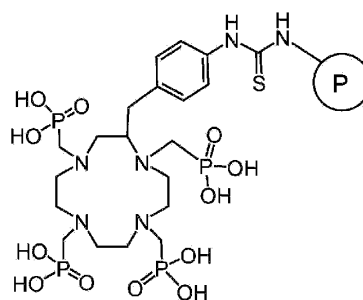
[0034]

[化4]

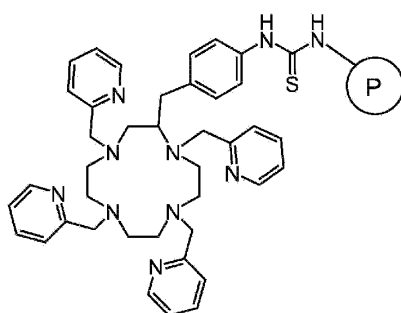
(1-e)



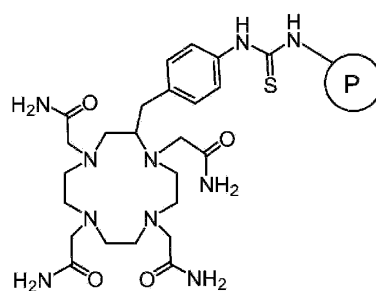
(1-f)



(1-g)



(1-h)



[0035] 特に、上述した効果に加えて、用いる配位子の取扱い性と、得られる放射性金属錯体の錯体安定性とを両立する観点から、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、いずれも $-(CH_2)_pCOOH$ で表され、 p が1以上3以下の整数であるカルボキシアルキル基であることが更に好ましい。この場合、 R_{14} 及び R_{15} のうちの一方が $-(CH_2)_pCOOH$ で表され、 p が1以上3以下の整数であるカルボキシアルキル基であり、他方が難水溶性ペプチドを含む化学構造であることが好ましい。

[0036] 反応液への配位子の溶解性及び分散性を高めつつ、高い錯形成効率を達成する観点から、反応液中に含まれる水溶性有機溶媒の含有量は、2体積%以

上であることが好ましく、5体積%以上70体積%以下であることが好ましく、5体積%以上50体積%以下であることが更に好ましい。

例えば、水溶性有機溶媒としてエタノール又はアセトニトリルを用いた場合、反応液中の含有量が2体積%以上であることが好ましく、5体積%以上70体積%以下であることがより好ましく、5体積%以上40体積%以下であることが更に好ましく、また2体積%以上20体積%以下であることがより更に好ましく、5体積%以上15体積%以下であることが一層好ましい。

また、水溶性有機溶媒としてジメチルスルホキシドを用いた場合、反応液中の含有量が20体積%以上70体積%以下であることが好ましく、30体積%以上60体積%以下であることが更に好ましい。

[0037] 配位子の反応液への溶解性を考慮して、用いる水溶性有機溶媒の種類を選択し、且つ、用いる水溶性有機溶媒の種類に応じて、反応液中の水溶性有機溶媒の含有量を上述の範囲に変更することによって、配位子を反応液中に適度に分散又は溶解させつつ、放射性金属と配位子の錯形成効率を高めることができる利点があり、この利点は難水溶性の配位子を用いた場合に顕著となる。

[0038] 反応時の意図しないpH変化を抑制して、錯形成効率を一層高める観点から、反応液中の緩衝剤の濃度は、0.05mol/L以上5.0mol/L以下であることが好ましく、0.05mol/L以上2.0mol/L以下であることが更に好ましい。例えば、緩衝剤として酢酸ナトリウム又は酢酸アンモニウムを含む場合、反応液中の濃度が、0.05mol/L以上2.0mol/L以下であることが好ましく、0.1mol/L以上1mol/L以下であることが更に好ましい。また、緩衝剤としてテトラメチルアンモニウム酢酸を含む場合、反応液中の濃度が、0.01mol/L以上2.0mol/L以下であることが好ましく、0.1mol/L以上1.0mol/L以下であることが更に好ましい。

[0039] 放射性金属錯体にイオンの状態で配位される放射性金属は、 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形成性の向上を図る観点から、放射性金属の核種として、⁴⁴Sc、⁵¹Cr、⁵⁷Co、⁵⁸Co、⁶⁰Co、⁵⁹Fe、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁸⁹Sr、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、^{99m}Tc、¹⁰³Ru、¹¹¹In、¹⁵³Sm、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、²⁰¹Tl、¹⁹⁷Hg、²⁰³Hg、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹²Pb、²²⁷Th又は²²⁵Ac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、放射性金属が電離した態様で含む溶液として得ることが好ましい。

[0040] 放射性金属錯体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、²¹²Bi、²¹³Bi、²²⁷Th又は²²⁵Ac等が好ましく用いられ、より好ましくは²²⁷Th又は²²⁵Acであり、更に好ましくは²²⁵Ac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、⁶⁰Co、⁵⁹Fe、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁸⁹Sr、⁹⁰Y、^{99m}Tc、¹⁰³Ru、¹⁵³Sm、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、²⁰³Hg、²¹²Bi、²¹³Bi又は²¹²Pb等が好ましく用いられ、より好ましくは⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁸⁹Sr又は⁹⁰Yが用いられる。

[0041] また、放射性金属錯体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、⁴⁴Sc、⁵⁸Co、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu又は⁸⁹Zr等が好ましく用いられ、より好ましくは⁶⁴Cu又は⁸⁹Zr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、⁵¹Cr、⁵⁷Co、⁵⁸Co、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu、⁸⁹Zr、¹¹¹In、¹⁸⁶Re、²⁰¹Tl又は¹⁹⁷Hg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、^{99m}Tc、⁶⁸Ga又は²⁰¹Tlが好ましく用いられる。

[0042] 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 等が挙げられる。

[0043] 例えば、放射性金属錯体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、上記式(1-a)～(1-h)で示される構造を有する配位子のいずれであっても、放射性金属錯体を好適に形成することができる。また、放射性金属標識抗体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、上記式(1-b)又は(1-d)～(1-h)で示される構造を有する配位子のいずれかを用いることが好ましく、上記式(1-b)、(1-d)又は(1-e)で示される構造を有する配位子を用いることがより好ましい。

[0044] また、疾患の治療と、疾患の診断や病巣の検出との双方を目的として放射性金属錯体を用いる場合には、疾患の治療を目的として製造される放射性金属錯体と、疾患の診断や病巣の検出を目的として製造される放射性金属錯体とは、これらを構成する配位子が同一の構造であることが一層好ましい。すなわち、この場合において、同一の構造を有する配位子を用いて放射性金属錯体を製造することが一層好ましい。

[0045] 放射性金属、緩衝剤及び水溶性有機溶媒の好適な組み合わせとしては、例えば、以下の組み合わせが挙げられるが、これに限られず適用可能である。

(a) 放射性金属を β^+ 線放出核種とし、反応液中に、緩衝剤として0.05 mol/L以上2.0 mol/L以下の濃度の酢酸ナトリウム又は酢酸アンモニウムと、水溶性有機溶媒として20体積%以上50体積%以下のジメチルスルホキシドとを含む。この場合、 β^+ 線放出核種は ^{89}Zr がより好ましく用いられ、配位子は、上記式(1-b)、(1-d)又は(1-e)で示される構造を有する配位子がより好ましく用いられる。

[0046] (b-1) 放射性金属を α 線放出核種とし、反応液中に、緩衝剤として0

． 1 m o l / L 以上 2 . 0 m o l / L 以下の濃度のテトラメチルアンモニウム酢酸と、水溶性有機溶媒として 2 体積 % 以上 3 0 体積 % 以下のエタノール又はアセトニトリルとを含む。この場合、 α 線放出核種は ^{225}Ac がより好ましく用いられ、配位子は、上記式 (1 - a) ~ (1 - h) で示される構造を有する配位子のいずれかがより好ましく用いられる。

上記 (b - 1) の条件において、放射性金属として ^{225}Ac を用い、且つ水溶性有機溶媒としてエタノールを用いる場合、本製造方法によれば、エタノールの濃度が比較的低い場合でも、放射性金属錯体の形成効率を高めることができる。これに加えて、水溶性有機溶媒の使用量を低減して、製造コストを低減できる点で有利である。

上記 (b - 1) の条件において、水溶性有機溶媒としてエタノールを用いる場合、反応液中のエタノールの含有量は、好ましくは 2 体積 % 以上 3 0 体積 % 以下、より好ましくは 2 体積 % 以上 2 0 体積 % 以下である。

[0047] (b - 2) 放射性金属を α 線放出核種とし、反応液中に、緩衝剤として 0 . 0 5 m o l / L 以上 2 . 0 m o l / L 以下の濃度の酢酸ナトリウム又は酢酸アンモニウムと、水溶性有機溶媒として 2 体積 % 以上 3 0 体積 % 以下のエタノール又はアセトニトリルとを含む。この場合、 α 線放出核種は ^{225}Ac がより好ましく用いられ、配位子は、上記式 (1 - a) ~ (1 - h) で示される構造を有する配位子のいずれかがより好ましく用いられる。

上記 (b - 2) の条件において放射性金属として ^{225}Ac を用い、且つ水溶性有機溶媒としてエタノールを用いる場合、本製造方法によれば、エタノールの濃度が比較的低い場合でも、かつ、配位子濃度を高くした場合でも、放射性金属錯体の形成効率を高めることができる。水溶性有機溶媒の使用量を低減して、製造コストを低減できるとともに、放射性金属錯体の商業生産において多量の配位子を用いた場合でもその反応液中への溶解性を維持しながら高い放射性金属錯体の形成効率を達成できる点で有利である。

[0048] (b - 3) 放射性金属を α 線放出核種とし、反応液中に、緩衝剤として 0 . 0 5 m o l / L 以上 2 . 0 m o l / L 以下の濃度の酢酸ナトリウム又は酢

酸アンモニウムと、水溶性有機溶媒として10体積%以上50体積%以下のジメチルスルホキシドとを含む。この場合、 α 線放出核種は ^{225}Ac がより好ましく用いられ、配位子は、上記式(1-a)～(1-h)で示される構造を有する配位子のいずれかがより好ましく用いられる。

上記(b-3)の条件において、放射性金属として ^{225}Ac を用い、且つ水溶性有機溶媒としてジメチルスルホキシドを用いる場合、本製造方法によれば、配位子濃度を高くした場合でも、放射性金属錯体の形成効率を高めることができる。これは放射性金属錯体の商業生産において多量の配位子を用いた場合でもその反応液中への溶解性を維持しながら高い放射性金属錯体の形成効率を達成できる点で有利である。

[0049] 本発明に用いられ得るペプチドは、例えば、液相合成法、固相合成法、自動ペプチド合成法、遺伝子組み換え法、ファージディスプレイ法、及び遺伝暗号リプログラミング、RAPID (Random non-standard Peptide Integrated Discovery) 法等の手法により合成することができる。ペプチドの合成にあたっては、必要に応じて、用いられるアミノ酸の官能基の保護を行ってもよい。

[0050] 配位子として、難水溶性のペプチドを構造中に含む配位子を用いる場合には、難水溶性のペプチドと、配位子前駆体とが、アミド結合又はチオウレア結合で互いに連結されて、難水溶性の配位子を形成していることが好ましい。アミド結合は、例えば、該ペプチドを構成するアミノ酸の側鎖に由来するアミノ基と、配位子前駆体の有するカルボキシ基を反応させて形成することができる。このような配位子として、上述の式(1-a)又は(1-c)で示される構造を有する配位子が挙げられる。

[0051] また、チオウレア結合は、例えば、該ペプチドを構成するアミノ酸の側鎖に由来するアミノ基と、配位子前駆体の有するイソチオシアネート基とを反応させるか、又は該ペプチドを構成するアミノ酸の側鎖に由来するチオール基と、配位子前駆体の有するマレイミド基とを反応させることで形成することができる。このような配位子として、上述の式(1-b)又は(1-d)

～（１－ｈ）で示される構造を有する配位子が挙げられる。

実施例

[0052] 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。

[0053] [実施例１－１～１－４：⁸⁹Zr標識検討（有機溶媒の種類）]

[実施例１－１]

放射性金属元素として⁸⁹Zrを用いた。また配位子として、DOTA（上記式（１）中、R₁₁、R₁₂、R₁₃及びR₁₄が全て「-CH₂COOH」基であり、R₁₅が水素原子である。）を用いた。

[0054] 上記配位子を、有機溶媒としてジメチルスルホキシドを９０体積％含む水に溶解させて、上記配位子を２００μmol/L含む溶液とした。この溶液０．０２９mLと、放射性金属源として⁸⁹Zrイオン含有溶液（溶媒：０．１mol/L塩酸水溶液、放射能濃度３３．４MBq/mL）０．０２mLと、１．５mol/L酢酸緩衝液（pH５．５）０．０１mLとを混合した反応液を、加熱条件下で反応させて、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。反応液の加熱温度は７０℃、加熱時間は６０分間とした。薄層クロマトグラフィー（Merck社製、型番：１．１５６８５．０００１、展開溶媒：１０体積％塩化アンモニウム水溶液／メタノール（１：１））を用いて、未反応の⁸⁹Zrを含む全⁸⁹Zr放射能カウントに対する⁸⁹Zr錯体の放射能カウントの百分率を標識率とした。本実施例における⁸⁹Zr錯体の標識率は、８４％であった。

[0055] [実施例１－２]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてアセトニトリルを９０体積％含む水に溶解させた以外は、実施例１－１と同様の条件で行った。⁸⁹Zr錯体の標識率は、５９％であった。

[0056] [実施例１－３]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてエタノールを９０体積％含む水に溶解させた以外は、実施例１－１と同様の条件で行った。⁸⁹Zr錯体の標識率は、５５％であった。

[0057] [実施例 1-4]

配位子として DOTA を用い、該配位子を、有機溶媒として N, N-ジメチルホルムアルデヒドを 90 体積%含む水に溶解させた以外は、実施例 1-1 と同様の条件で行った。 ^{89}Zr 錯体の標識率は、54%であった。

[0058] [実施例 2-1 ~ 2-6 : ^{89}Zr 標識検討 (緩衝剤の濃度)]

[実施例 2-1]

配位子として DOTA を用い、該配位子を、有機溶媒としてジメチルスルホキシドを 90 体積%含む 1.5 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 5.5) に溶解させて、前記配位子を 200 $\mu\text{mol/L}$ 含む溶液とした。この溶液 0.029 mL と、放射性金属源として ^{89}Zr イオン含有溶液 (溶媒: 0.1 mol/L 塩酸水溶液、放射能濃度 25.2 MBq/mL) 0.02 mL 及び 1.5 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 5.5) 0.01 mL とを混合した反応液を、加熱条件下で反応させて、 ^{89}Zr 錯体溶液を得た。反応液中の緩衝剤の最終濃度は、0.33 mol/L であった。反応液の加熱温度は 70°C、加熱時間は 15 分間とした。薄層クロマトグラフィーは実施例 1 と同様の条件で測定した。 ^{89}Zr 錯体の標識率は、60%であった。

[0059] [実施例 2-2]

配位子として DOTA を用い、該配位子を、有機溶媒としてジメチルスルホキシドを 90 体積%含む水に溶解させて、上記配位子を 200 $\mu\text{mol/L}$ 含む溶液とした以外は、実施例 2-1 と同様の条件で行った。反応液中の緩衝剤の最終濃度は、0.25 mol/L であった。この時の ^{89}Zr 錯体の標識率は、55%であった。

[0060] [実施例 2-3]

配位子として DOTA を用い、該配位子を、有機溶媒としてジメチルスルホキシドを 90 体積%含む水に溶解させて、上記配位子を 200 $\mu\text{mol/L}$ 含む溶液とした。この溶液 0.029 mL と、放射性金属源として ^{89}Zr イオン含有溶液 (溶媒: 0.1 mol/L 塩酸水溶液、放射能濃度 25.2 MBq/mL) 0.02 mL 及び 0.75 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 5.5)

0.01 mLとを混合した反応液を、加熱条件下で反応させた以外は、実施例2-1と同様の条件で行った。反応液中の緩衝剤の最終濃度は、0.13 mol/Lであった。⁸⁹Zr錯体の標識率は、66%であった。

[0061] [実施例2-4]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を水に溶解させて、上記配位子を200 μmol/L含む溶液とした以外は実施例2-1と同様の条件で行い、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。反応液中の緩衝剤の最終濃度は、0.25 mol/Lであった。⁸⁹Zr錯体の標識率は、50%であった。

[0062] [実施例2-5]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、1.5 mol/L酢酸緩衝液(pH 5.5)に溶解させて、上記配位子を200 μmol/L含む溶液とした以外は実施例2-1と同様の条件で行い、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。反応液中の緩衝剤の最終濃度は、1.00 mol/Lであった。⁸⁹Zr錯体の標識率は、28%であった。

[0063] [実施例2-6]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、3.0 mol/L酢酸緩衝液(pH 5.5)に溶解させて、上記配位子を200 μmol/L含む溶液とした以外は、実施例2-1と同様の条件で行い、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。⁸⁹Zr錯体の標識率は、10%であった。

[0064] [実施例3-1～3-4：⁸⁹Zr標識検討(配位子濃度)]

[実施例3-1]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてジメチルスルホキシドを90体積%含む水に溶解させて、上記配位子を200 μmol/L含む溶液とした。この溶液0.029 mLと、放射性金属源として⁸⁹Zrイオン含有溶液(溶媒：0.1 mol/L塩酸水溶液、放射能濃度28.5 MBq/mL)0.02 mL及び1.5 mol/L酢酸緩衝液(pH 5.5)0.01 mLとを混合した反応液を、加熱条件下で反応させて、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。反応液中の配位子の最終濃度は、100 μmol/Lであった。反応

液の加熱温度は70℃、加熱時間は60分間とした。薄層クロマトグラフィーは実施例1-1と同様の条件で行った。⁸⁹Zr錯体の標識率は、89%であった。

[0065] [実施例3-2]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、反応液中の配位子の最終濃度として、50μmol/Lとなるように有機溶媒としてジメチルスルホキシドを90体積%含む水に溶解させた以外は実施例3-1と同様の条件で反応させて、⁸⁹Zr錯体溶液を得た。⁸⁹Zr錯体の標識率は、50%であった。

[0066] [実施例3-3]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、反応液中の配位子の最終濃度として、10μmol/Lとなるように有機溶媒としてジメチルスルホキシドを90体積%含む水に溶解させた以外は実施例3-1と同様の条件で反応させて⁸⁹Zr錯体溶液を得た。⁸⁹Zr錯体の標識率は、12%であった。

[0067] [実施例3-4]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、反応液中の配位子の最終濃度として、1μmol/Lとなるように有機溶媒としてジメチルスルホキシドを90体積%含む水に溶解させた以外は実施例3-1と同様の条件で反応させて⁸⁹Zr錯体溶液を得た。⁸⁹Zr錯体の標識率は、9%であった。

[0068] [実施例4-1～4-6：²²⁵Ac標識検討（有機溶媒の種類と濃度）]

[実施例4-1]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてエタノールを10体積%含む水に溶解させて、上記配位子を100μmol/L含む溶液とした。この溶液0.039mLと、放射性金属源として²²⁵Acイオン含有溶液（溶媒：0.2mol/L塩酸水溶液、放射能濃度5MBq/mL）0.02mL及び0.5mol/Lテトラメチルアンモニウム酢酸緩衝液（pH7.8）0.016mLとを混合した反応液を、加熱条件下で反応させて、²²⁵Ac錯体溶液を得た。反応液の加熱温度は70℃、加熱時間は60分間とした。薄層クロマトグラフィーは、実施例1-1と同様の条件で行った。²²⁵Ac錯体の

標識率は、83%であった。

[0069] [実施例4-2]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてアセトニトリルを10体積%含む水に溶解させた以外は実施例4-1と同様の条件で反応させ、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。 ^{225}Ac 錯体の標識率は、86%であった。

[0070] [実施例4-3～4-4]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を、有機溶媒としてエタノールを90体積%又は50体積%含む水に溶解させて、上記配位子を100 μmol / L 含む溶液とした以外は、実施例4-1と同様の条件で反応させて、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。 ^{225}Ac 錯体の標識率は、それぞれ25%、又は67%であった。

[0071] [実施例4-5～4-6]

上記配位子を、有機溶媒としてアセトニトリルを90体積%又は50体積%含む水に溶解させて、上記配位子を100 μmol / L 含む溶液とした以外は、実施例4-1と同様の条件で反応させて、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。この時の ^{225}Ac 錯体の標識率は、それぞれ27%、又は69%であった。

[0072] [比較例1]

配位子としてDOTAを用い、該配位子を0.5 mol / L リン酸緩衝液 (pH 5.5) に溶解させて、上記配位子を2 mol / L 含む溶液とした以外は、実施例1-1と同様の条件で行った。本比較例は反応液中に水溶性有機溶媒を含まないものであった。 ^{89}Zr 錯体の標識率は、0%であり、錯形成反応が全く進行しなかった。

[0073] [実施例5-1及び5-2]

構造中にDOTAと、計算化学的に推定した計算LogS値が負の値であるペプチドとを有し、配位子全体として計算LogS値が負の値である配位子を用いる以外は、実施例1と同様の反応条件で反応させる。この場合、錯形成反応が進行して ^{89}Zr 錯体溶液が得られる。

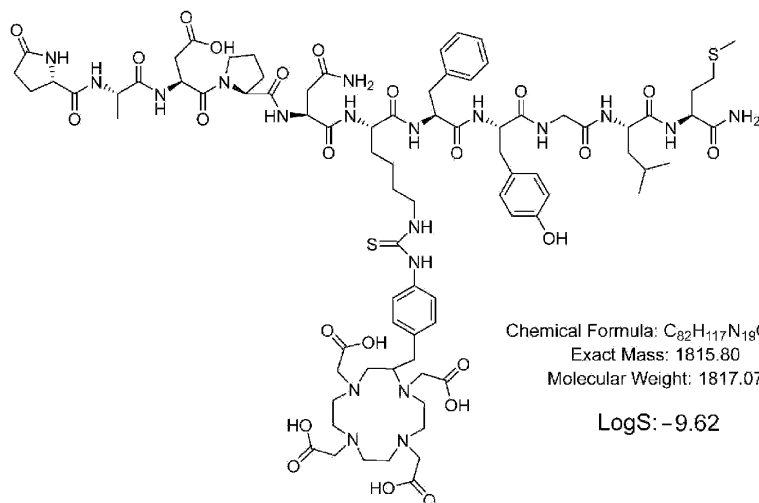
詳細には、本実施例では、p-SCN-Bn-DOTAと、ペプチドとし

てフィサレミン（実施例 5-1；分子量：1265 Da、計算 Log S 値：-6.664）又はダプトマイシン（実施例 5-2；分子量：1619 Da、計算 Log S 値：-9.777）とを常法によって結合させた配位子を用いた。これらの配位子は、上記式（1-b）で表される構造を有し、構造中に DOTA に由来する構造とペプチドとを有する。化学構造の詳細を以下の式（E1）及び（E2）に示す。これらの配位子は、計算 Log S 値が負の値であるので、難水溶性のものである。

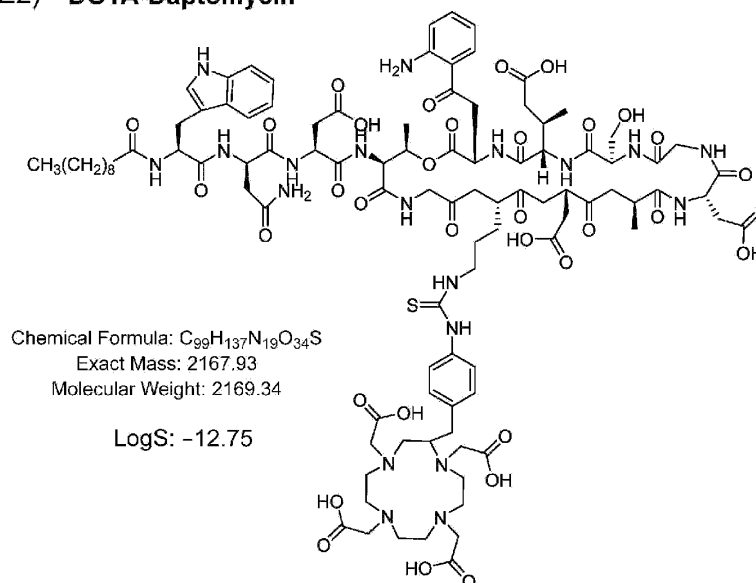
[0074]

[化5]

(E1) DOTA-Physalemine



(E2) DOTA-Daptomycin



[0075] 本実施例における製造方法の詳細は以下のとおりである。まず、水溶性有機溶媒としてジメチルスルホキシド（DMSO）を45体積%含む1.5 mL酢酸緩衝液（pH 5.5）に各配位子を溶解させて、溶液とした。

この溶液と、放射性金属源として ^{89}Zr イオン含有溶液（溶媒：0.1 mol/L 塩酸水溶液、放射能濃度 33.4 MBq/mL）と、1.5 mol/L 酢酸緩衝液（pH 5.5）とを混合した反応液 59 μL を 70°C、2 時間の加熱条件下で反応させて、 ^{89}Zr 錯体溶液を得た。反応開始時における反応液中の配位子濃度及び放射エネルギーは、以下の表 1 に示すとおりとした。

得られた ^{89}Zr 錯体を、薄層クロマトグラフィー（Agilent 社製、iTLC-SG、展開溶媒：水/アセトニトリル（1：1））を用いて、未反応の ^{89}Zr を含む全 ^{89}Zr 放射能カウントに対する ^{89}Zr 錯体の放射能カウントの百分率を標識率（%）とした。 ^{89}Zr 錯体の標識率の結果を以下の表 1 に示す。

[0076] [表1]

	配位子	配位子濃度 [$\mu\text{mol/L}$]	^{89}Zr 放射エネルギー [MBq]	緩衝剤	水溶性有機溶媒	^{89}Zr 錯体標識率[%]
実施例 5-1	DOTA-フィサレミン	450	6.08	0.25mol/L 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.5)	45vol% DMSO	84.0
実施例 5-2	DOTA-ダプトマイシン		5.84			96.8

[0077] [比較例 2]

反応液に水溶性有機溶媒を含まない以外は、実施例 5 と同じ反応条件で反応させる。この場合、錯形成反応が進行しない。

[0078] [実施例 6-1 及び 6-2]

上記式 (E1) 及び (E2) で示す配位子を用い、該配位子を、有機溶媒としてエタノールを含む水に溶解させて、溶液とした。この溶液と、放射性金属源として ^{225}Ac イオン含有溶液（溶媒：0.2 mol/L 塩酸水溶液、放射能濃度 5 MBq/mL）及び 0.5 mol/L テトラメチルアンモニウム酢酸緩衝液（pH 7.8）とを混合した反応液 79 μL を、70°C、1 時間の加熱条件下で反応させて、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。反応開始時における反応液中の配位子濃度及び放射エネルギーは以下の表 2 に示すとおりとした。反応液中の水溶性有機溶媒（エタノール）濃度は 10 体積%とした。

薄層クロマトグラフィーは、実施例 5 - 1 と同様の条件で行った。 ^{225}Ac 錯体の標識率 (%) の結果を以下の表 2 に示す。

[0079] [表2]

	配位子	配位子 濃度 [$\mu\text{mol/L}$]	^{225}Ac 放射能量 [kBq]	緩衝剤	水溶性 有機溶媒	^{225}Ac 錯体 標識率[%]
実施例 6-1	DOTA -フィサレミン	500	358	0.1mol/L テトラメチル アンモニウ ム 酢酸 緩衝液 (pH7.8)	10vol% エタノール	91.2
実施例 6-2	DOTA -ダプトマイシン		359			97.4

[0080] [実施例 7 - 1 ~ 7 - 4]

本実施例は、上記式 (E 2) で示す配位子を用いた。反応開始時における反応液中の配位子濃度及び ^{225}Ac 放射能量は以下の表 3 に示すとおりとした。また、反応液中の水溶性有機溶媒の種類及び濃度を以下の表 3 に示すとおり変更した。これ以外は、実施例 6 - 1 と同様の反応条件で反応させて、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。 ^{225}Ac 錯体の標識率 (%) の結果を以下の表 3 に示す。

[0081] [実施例 7 - 5 ~ 7 - 11]

本実施例は、上記式 (E 2) で示す配位子を用いた。反応開始時における反応液中の配位子濃度及び ^{225}Ac 放射能量は以下の表 3 に示すとおりとした。また、反応液中の緩衝剤の種類、並びに水溶性有機溶媒の種類及び濃度を以下の表 3 に示すとおり変更した。これ以外は、実施例 6 - 1 と同様の反応条件で反応させて、 ^{225}Ac 錯体溶液を得た。 ^{225}Ac 錯体の標識率 (%) の結果を以下の表 3 に示す。

[0082]

[表3]

	配位子	配位子 濃度 [μmol/L]	²²⁵ Ac 放射能量 [kBq]	緩衝剤	水溶性 有機溶媒	水溶性 有機溶媒の 反応液中 濃度[vol%]	²²⁵ Ac錯体 標識率[%]
実施例 7-1	DOTA -ダプトマイシン	500	176	0.1mol/L テトラメチル アンモニウム 酢酸 緩衝液 (pH7.8)	エタノール	2	96.8
実施例 7-2			216			5	96.5
実施例 7-3			165			15	96.6
実施例 7-4			276			20	95.7
実施例 7-5			91	0.1mol/L 酢酸- 酢酸ナトリウム 緩衝液 (pH5.5)		2	98.8
実施例 7-6			76			5	98.1
実施例 7-7			76			15	98.0
実施例 7-8			59			20	96.7
実施例 7-9			76		DMSO	10	98.4
実施例 7-10			79			30	99.5
実施例 7-11			76			50	99.7

[0083] 以上のとおり、反応液に水溶性有機溶媒を使用した場合、錯体形成反応が良好に進行していることが判る。また、水溶性有機溶媒や緩衝剤の種類に応じて、それらの濃度、又は配位子の濃度を適切な濃度範囲に調節することによって錯体形成反応が良好に進行していることがわかる。

⁸⁹Zrと難水溶性の配位子とを用いた製造条件においては、所定濃度のDMSOと酢酸緩衝液の組み合わせを採用することによって、錯体形成率（標識率）が一層優れたものとなることが判る。

²²⁵Acと難水溶性の配位子とを用いた製造条件においては、所定濃度のエタノールと、酢酸緩衝液若しくはテトラメチルアンモニウム酢酸緩衝液との組み合わせを採用するか、又は所定濃度のDMSOと酢酸緩衝液との組み合わせを採用することによって、錯体形成率（標識率）が一層優れたものとなることが判る。

したがって、本発明の製造方法は、錯形成効率に優れ、特に難水溶性の配位子を用いた場合にその効果が顕著となる。