

明 細 書

発明の名称：放射性ジルコニウム錯体の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、放射性ジルコニウム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化合物が配位した放射性金属錯体の収率に関する検討が進められている。

[0003] 特許文献1及び2には、放射性ジルコニウムと、配位子化合物の一種であるデフェロキサミン（DFO）が結合した抗体を用い、ゲンチジン酸を含む液中でZr錯体の形成を行ったことが開示されている。

[0004] また非特許文献1には、放射性金属である⁸⁹Zrと、DFOが結合した抗体とを、ゲンチジン酸を含みpH7程度に調整された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。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：米国特許出願公開第2007/092940号明細書

特許文献2：米国特許出願公開第2020/181196号明細書

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Wei et al, J Labelled Comp Radiopharm. 57(1): 25-35, 2004.

発明の概要

[0007] しかし、特許文献1及び2や非特許文献1では、DOTAと放射性ジルコニウムイオンとの錯形成に関する条件は何ら検討されていない。またこれらの文献に開示された条件では、いずれものDOTAと放射性ジルコニウムイオンとの間の錯形成がうまく進行せず、十分な標識率を達成でき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。特に、仕込み放射能量

を多くした場合に、高い標識率を達成できる反応条件が望まれていた。

[0008] したがって、本発明は、D O T A又はD O T A誘導体を含む配位子化合物との反応において、高い標識率を達成できる放射性ジルコニウム錯体の製造方法に関する。

[0009] 本発明は、放射性ジルコニウムイオンと、
下記式（１）で表される配位子化合物と、
を反応液中で反応させて、放射性ジルコニウム錯体を形成させる工程を備え、

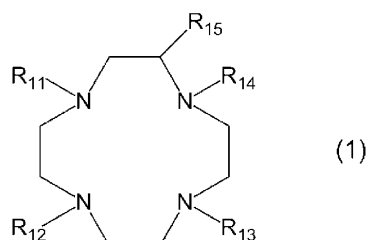
前記反応液として、

前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギーが反応開始時において60MBq以上であり、かつ、

前記配位子化合物1nmolあたり、前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギーが反応開始時において5MBq以上であるものを用い、

下記式（２）で表される添加剤又はその塩の存在下で前記工程を行う、放射性ジルコニウム錯体の製造方法を提供するものである。

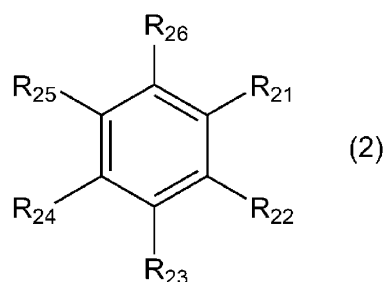
[0010] [化1]



（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 $-(CH_2)_pCONH_2$ からなる基であり、 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、又はターゲティン

グ剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基であり、 p はそれぞれ独立して 0 以上 3 以下の整数である。)

[0011] [化2]



(式 (2) 中、 R_{21} は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOR}_{28}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CONHR}_{28}$ であり、 $R_{22} \sim R_{26}$ のうち 1 つ以上 3 つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子であり、 R_{28} は、置換又は無置換のアルキル、置換又は無置換のアリール、置換又は無置換のアルキルアリールである。)

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の放射性ジルコニウム錯体の製造方法を、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、放射性金属イオンとしての放射性ジルコニウムイオンと、後述する式 (1) で表される配位子化合物と、後述する式 (2) で表される添加剤又はその塩とを含む反応液中で反応させて、放射性ジルコニウムイオンを該配位子化合物に配位させ、放射性ジルコニウム錯体を形成させる工程（以下、単に「工程」ともいう。）を備える。

本工程を経て得られる放射性ジルコニウム錯体は、放射性ジルコニウム原子が、配位結合に加えて、共有結合、イオン結合などの組み合わせにより配位子化合物と結合した化合物である。放射性ジルコニウム錯体には、後述する反応原子団あるいはターゲティング剤が更に結合されている化合物も包含される。

[0013] 本明細書において、放射性ジルコニウムイオンと配位子化合物とを錯体形成させることと、放射性ジルコニウムイオンで配位子化合物を標識すること

は同義であり、錯体形成効率と標識率とは同義である。

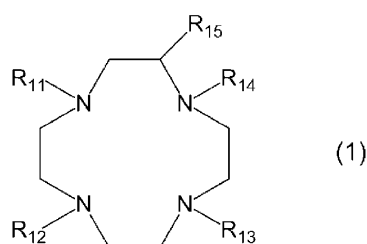
また以下の説明では、特に断りのない限り、「放射性ジルコニウム」を単に「放射性Zr」と表記する。

[0014] 本工程に用いられる放射性Zrは、標識率を高める観点から、水中で電離可能な化合物の態様で用いることが好ましく、Zr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Zr源」ともいう。）。放射性Zr源としては、例えば、水を主体とする溶媒に放射性Zrイオンが溶解又は分散した放射性Zrイオン含有液を用いることができる。

放射性Zrの核種としては、好ましくは ^{89}Zr である。 ^{89}Zr は、 β^+ 線壊変核種であるとともに、電子捕獲壊変核種である。 ^{89}Zr は、例えばサイクロトロンを用いて ^{89}Y （p、n） ^{89}Zr の核反応により製造することができる。詳細には、プロトン照射後の ^{89}Y ターゲットを酸で溶解した溶解液を、 ^{89}Zr を吸着可能な捕集剤を担持したカラムカートリッジ等に通液する。その後、該カラムカートリッジを水などの溶媒で洗浄したのちに、シュウ酸水溶液を通液することで、 ^{89}Zr イオンを溶出させて溶液として回収することができる。

[0015] 本工程に用いられる配位子化合物は、以下の式（1）で表される構造を有するものである。

[0016] [化3]



[0017] 式（1）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。

[0018] 式（1）中、 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、 $-(\text{CHCOOH})(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ からなる基である。

式(1)中、 R_{14} 又は R_{15} の他方が、 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ 、若しくは、 $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ からなる基であるか、又は、ターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤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。

ターゲティング剤、及びターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基の詳細については後述する。

[0019] より具体的には、本工程に用いられる配位子化合物は、以下に示される1つの化合物又は該化合物に由来する構造を含むことが更に好ましい。本工程に用いられる配位子化合物は、好ましくは水溶性である。

[0020] DOTA (1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid)

DOTMA ((1R, 4R, 7R, 10R)- α , α' , α'' , α''' -tetramethyl-1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid)

DOTAM (1, 4, 7, 10-tetrakis(carbamoylmethyl)-1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane)

DOTA-GA (α -(2-Carboxyethyl)-1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid)

DOTP (((1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetrayl) tetrakis(methylene)) tetraphosphonic acid)

DOTMP (1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododec

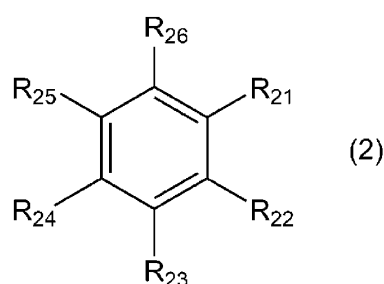
ane-1, 4, 7, 10-tetrakis (methylenephosphonic acid))

DOTA-4AMP (1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetrakis (acetamidomethylenephosphonic acid))

DO2P (Tetraazacyclododecane dimethanephosphonic acid)

[0021] 本工程に用いられる添加剤は、以下の式(2)で表される構造を有するもの又はその塩である。添加剤は、単独で用いてもよく、複数種を組み合わせで用いてもよい。このような添加剤を反応液中に含有させることによって、商業生産等を目的として、反応開始時の放射エネルギー（仕込み放射エネルギー）を多くした場合であっても、標識率を高くすることができる。その結果、目的とする放射性Zr錯体の収量を高めることができる。

[0022] [化4]



[0023] 式(2)中、 R_{21} は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOR}_{28}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CONHR}_{28}$ である。

式(2)中、 $R_{22} \sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基($-\text{OH}$)であり且つそれ以外の基は水素原子である。

式(2)中、 R_{21} に R_{28} を含む場合、 R_{28} は、置換又は無置換のアルキル、置換又は無置換のアリール、置換又は無置換のアルキルアリールである。 R_{28} は、直鎖又は分枝鎖であってもよく、飽和又は不飽和であってもよい。

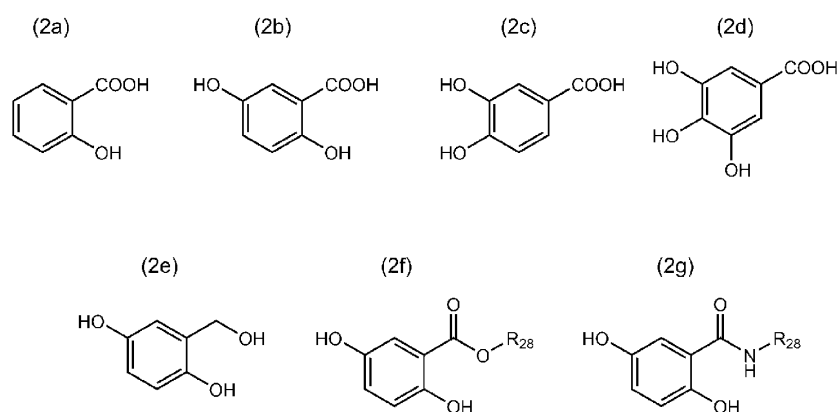
R_{28} は、その総炭素数が、好ましくは1以上10以下であり、更に好ましく

は 1 以上 8 以下である。

式 (2) で表される添加剤を塩として用いる場合、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、塩素等のハロゲン等の陰イオンが挙げられる。

[0024] 式 (2) で表される添加剤の構造として、例えば以下の式 (2 a) ~ (2 g) のいずれかで表される構造が挙げられるが、これらに限られない。

[0025] [化5]



[0026] 式 (2) で表される添加剤の一実施形態として、R₂₁がカルボキシ基 (—COOH) である形態が挙げられる。すなわち、本形態における添加剤は、ヒドロキシ安息香酸である。

式 (2) で表されるヒドロキシ安息香酸としては、モノヒドロキシ安息香酸、ジヒドロキシ安息香酸、及びトリヒドロキシ安息香酸が挙げられる。

[0027] モノヒドロキシ安息香酸としては、例えば以下の形態が挙げられる。

- ・ 2-ヒドロキシ安息香酸 (サリチル酸) : 式 (2) 中、R₂₁が—COOHであり、R₂₂が—OHであり、R₂₃~R₂₆はいずれも水素原子である。本形態は、式 (2 a) に相当する。

- ・ 3-ヒドロキシ安息香酸 : 式 (2) 中、R₂₁は—COOHであり、R₂₃が—OHであり、R₂₂、R₂₄~R₂₆はいずれも水素原子である。

- ・ 4-ヒドロキシ安息香酸 : 式 (2) 中、R₂₁は—COOHであり、R₂₄が

—OHであり、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{25} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。

[0028] ジヒドロキシ安息香酸としては、以下の形態が挙げられる。

・ 2, 3-ジヒドロキシ安息香酸 (2-ピロカテク酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{22} 及び R_{23} はいずれも—OHであり、 $R_{24} \sim R_{26}$ はいずれも水素原子である。

・ 2, 4-ジヒドロキシ安息香酸 (β -レゾルシン酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{22} 及び R_{24} はいずれも—OHであり、 R_{23} 、 R_{25} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。

・ 2, 5-ジヒドロキシ安息香酸 (ゲンチジン酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{22} 及び R_{25} はいずれも—OHであり、 R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。本形態は、式 (2 b) に相当する。

・ 2, 6-ジヒドロキシ安息香酸 (γ -レゾルシン酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{22} 及び R_{26} はいずれも—OHであり、 R_{23} 、 R_{24} 及び R_{25} はいずれも水素原子である。

・ 3, 4-ジヒドロキシ安息香酸 (プロトカテク酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{23} 及び R_{24} はいずれも—OHであり、 R_{22} 、 R_{25} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。本形態は、式 (2 c) に相当する。

・ 3, 5-ジヒドロキシ安息香酸 (α -レゾルシン酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{23} 及び R_{25} はいずれも—OHであり、 R_{22} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。

[0029] トリヒドロキシ安息香酸としては、例えば以下の形態が挙げられるが、この形態に限られない。

・ 3, 4, 5-トリヒドロキシ安息香酸 (没食子酸) : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 $R_{23} \sim R_{25}$ はいずれも—OHであり、 R_{22} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。本形態は、式 (2 d) に相当する。

・ 2, 4, 6-トリヒドロキシ安息香酸 : 式 (2) 中、 R_{21} が—COOHであり、 R_{22} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも—OHであり、 R_{23} 及び R_{25} はいずれも水素原子である。

[0030] 式(2)で表される添加剤の別の実施形態として、 R_{21} が $-CH_2OH$ 、 $-COOR_{28}$ 、又は $-CONHR_{28}$ である形態が挙げられる。本形態に該当する化合物としては、例えば以下の形態が挙げられるが、この形態に限られない。

・ゲンチジルアルコール：式(2)中、 R_{21} が $-CH_2OH$ であり、 R_{22} 及び R_{25} はいずれも $-OH$ であり、 R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも水素原子である。本形態は、式(2e)に相当する。

・ゲンチジン酸アルキルエステル：式(2)中、 R_{21} が $-COOR_{28}$ であり、 R_{22} 及び R_{25} はいずれも $-OH$ であり、 R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも水素原子であり、 R_{28} は炭素数1以上8以下の飽和直鎖アルキル基である。本形態は、式(2f)に包含される一形態である。

・ゲンチジン酸エタノールアミド：式(2)中、 R_{21} が $-CONHR_{28}$ であり、 R_{22} 及び R_{25} はいずれも $-OH$ であり、 R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} はいずれも水素原子であり、 R_{28} は $-CH_2-CH_2OH$ である。本形態は、式(2g)に包含される一形態である。

[0031] これらのうち、配位子化合物や生成物の放射能による分解を低減して、標識率を更に高くする観点から、添加剤として、式(2a)～(2g)で表される構造を有する化合物又はその塩を用いることが好ましく、式(2a)～(2d)のいずれかで表される構造を有する化合物又はその塩を用いることがより好ましく、式(2b)で表される構造を有する化合物又はその塩を用いることが更に好ましい。つまり、添加剤は、サリチル酸、ゲンチジン酸、プロトカテク酸若しくは没食子酸又はその塩であることがより好ましく、ゲンチジン酸又はその塩であることが更に好ましい。

[0032] 本工程における反応液は、上述した放射性Zr源、配位子化合物及び添加剤に加えて、水を更に含む水系の反応液である。

水としては、本技術分野で通常用いられるものを採用することができ、例えば、蒸留水やイオン交換水を用いることができる。

[0033] 本工程は反応液を加熱して反応させるものであるところ、本工程の開始時

における反応液中の放射エネルギー、及び放射エネルギーと配位子化合物量との割合を所定の値以上にすることを特徴の一つとしている。

詳細には、反応開始時における反応液中の放射エネルギーとして、放射性Zrイオンの放射エネルギーを60MBq以上、好ましくは100MBq以上、更に好ましくは150MBq以上とする。

これに加えて、反応開始時における反応液中の配位子化合物と放射エネルギーとの割合として、配位子化合物1nmol当たりの放射性Zrイオンの放射エネルギーを5MBq以上、好ましくは10MBq以上、更に好ましくは20MBq以上とする。上限は特にないが、例えば10000MBq以下とする。

また、反応開始時における反応液中の放射エネルギーの上限は、商業生産規模にて実現可能な放射エネルギーであれば特に限定されないが、例えば、1000GBq以下とすることができる。

このような放射エネルギーを反応液中で達成するためには、例えば上述のようにして得られた放射性Zrを含むシュウ酸溶液を、陰イオン交換樹脂を担持するカラムカートリッジに通液し、水等で洗浄後に酸性溶液を通液して該カラムから溶出させる。次いで不活性ガス気流下で加熱乾固させる。このようにして得られた放射性Zrを含有する乾固物を所望の液量の酸で溶解して放射エネルギー濃度を適宜調整することで行うことができる。

[0034] 上述した反応液中の放射エネルギー、及び放射エネルギーと配位子化合物量との割合を達成することで、例えば、放射性Zr錯体を有効成分とする放射性医薬組成物を商業生産するにあたり製造スケールを大きくした場合であっても、高い標識率を達成でき、それに伴って、収量が増大する。その結果、放射性Zr錯体の生産効率を高めることができる。

[0035] 本工程は、上述した反応液中の放射エネルギー、及び放射エネルギーと配位子化合物量との割合の関係を満たすことを条件として、放射性Zrイオンの配位子化合物への標識反応が進行可能であれば、詳細には放射性Zrイオンと配位子化合物との錯体形成が可能であれば、放射性Zr源、配位子化合物及び添加剤の添加順序は問わない。例えば、反応液を構成する水等の溶媒及び添加剤を

混合した混合液を予め収容した反応容器に、放射性Zr源及び配位子化合物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い。あるいは、放射性Zr源及び配位子化合物のうち一方を混合液に予め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、水等の溶媒を予め収容した反応容器に、放射性Zr源、配位子化合物及び添加剤を同時に添加して反応させてもよい。

[0036] 本工程に用いられる反応液は、有機溶媒を非含有としてもよく、配位子化合物及び添加剤の物性に応じて有機溶媒を添加してもよい。このような有機溶媒としては、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-ジメチルホルミアミド、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等の水溶性有機溶媒等が挙げられる。このような有機溶媒を含むことによって、配位子化合物及び添加剤として難水溶性のものを用いた場合でも、溶媒中に十分に溶解又は分散させることができ、高い標識率を安定的に達成することができる。

「有機溶媒を非含有」とは、反応液中に意図的に有機溶媒を含有させないが、反応液中に不可避免的に有機溶媒が混入することは許容することを意味する。

[0037] 本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液として、水、配位子化合物、添加剤及び放射性Zr源を含み、必要に応じて有機溶媒を添加した水溶液を用いる。このとき、反応液中の放射性Zrイオンの放射エネルギー、及び該放射エネルギーと配位子化合物量との割合について、上述した所定の関係を満たすように反応液を調製する。

反応圧力は、大気圧とすることができる。

[0038] 本工程においては、短い製造時間で標識効率のさらなる向上を達成する観点から、反応液を加熱して反応させることが好ましい。なお加熱とは、25

℃を基準として、反応液の温度が25℃よりも高くなるように反応系外部から熱を付与することを指す。反応系外部から熱を付与する方法としては公知の方法を適宜用いることができ、例えば、水浴、油浴、ブロックヒーター、マントルヒーター等が挙げられる。

[0039] 反応液を加熱して反応させる場合、反応温度としては、配位子化合物の分解抑制と標識効率のさらなる向上とを両立する観点から、好ましくは30℃以上100℃以下、更に好ましくは50℃以上80℃以下に反応液を加熱して反応させる。

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。

[0040] 本工程における反応液量は、製造スケールに応じて適宜変更することができる。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以上が現実的である。反応液量については特に制限はないが、100mL以下程度が現実的である。

[0041] 上述した工程を有する本発明の製造方法は、放射性Zrと配位子化合物とが反応液中に容易に溶解するので、液相で均一に標識反応を進行させることができる。これに加えて、本工程は、反応系に上述した特定の構造を有する添加剤を存在させた状態で加熱して反応させることによって、本工程の反応開始時での使用放射エネルギーを従来技術よりもはるかに高い値とした場合であっても、標識率を更に高めて、目的とする放射性Zr錯体を大量に生成することができる。このことは、商業規模での生産において製造スケールを大きくした場合であっても、目的とする放射性Zr錯体の収量を多くすることができるので、生産効率を向上させることができる点で有利である。

上述した構造を有する添加剤は、放射線が配位子化合物や放射性Zr錯体の化学構造を破壊したり、意図しない化学反応が生じたりする放射線分解を低減する化合物であると考えられる。したがって、このような添加物を反応液中に含有させることによって、反応に使用する反応開始時における放射エネルギー（仕込み放射エネルギー）を高めた場合であっても、配位子化合物が放射線分解

することなく本工程の反応が良好に進行し、また生成物である放射性Zr錯体も分解しづらくなっていると本発明者は推測している。このことは、後述する実施例に示すように、反応液中の添加剤の含有量を多くすることによって標識率が高まることから支持される。

[0042] 本工程は、反応液のpHが酸性領域にある状態で、該反応液を加熱して反応させることが好ましい。すなわち、本工程では、反応開始から終了までの間において、pHの酸性状態が維持された状態で反応させることが好ましい。反応液のpHが酸性領域であるとは、反応液のpHが7未満であることを意味する。反応液のpHを酸性領域とした状態で反応させることによって、放射性Zrと相互作用する配位子化合物の官能基、及び／又は放射性Zrをイオンの状態に適切に維持して反応液中で互いに配位しやすい状態を維持することができる。その結果、放射性Zr錯体の生産性を更に高めることができる。

より具体的には、反応液のpHは、好ましくは2.0以上6.0以下、更に好ましくは3.0以上5.0以下にある状態で本工程を行う。

[0043] 反応液のpHは、反応開始前に、すなわち本工程の実施前に、酸性領域となるように予め調整しておくことによって、本工程中でも反応液のpHを酸性領域に維持することができる。

反応液のpHは、例えば添加剤の水溶液を反応液中に混合して調整することができる。また、放射性Zrイオン含有液、配位子化合物の水溶液及び添加物の水溶液をそれぞれ予め調製して、これらの水溶液の混合比を調整して混合して、反応液のpHを調整することができる。あるいは、放射性Zrイオン、配位子化合物及び添加剤を混合した液体に対して、塩酸などの無機酸や、水酸化ナトリウム等の金属水酸化物を添加して、反応液のpHを調整することもできる。

[0044] 標識効率を一層高める観点から、反応液中の添加剤の濃度は、本工程の開始時において、好ましくは0.1mmol/L以上500mmol/L以下、より好ましくは1mmol/L以上400mmol/L、更に好ましくは

1 mmol/L以上300 mmol/Lである。また、反応液中の添加剤の濃度は、反応液中の放射性Zrイオン濃度及び配位子化合物濃度よりも高いことが、放射線分解を防いで、標識効率をより一層向上できる観点から好ましい。

[0045] 目的とする放射性Zr錯体の収率を更に高める観点から、配位子化合物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、好ましくは1 μmol/L以上100 μmol/L以下、より好ましくは10 μmol/L以上9000 μmol/L以下、更に好ましくは30 μmol/L以上600 μmol/L以下、一層好ましくは50 μmol/L以上500 μmol/L以下である。

[0046] 添加剤と反応液のpHとの関係においては、添加剤として、前記式(2)中、 R_{21} が-COOHであり、 $R_{22} \sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子である化合物又はその塩、すなわちヒドロキシ安息香酸又はその塩を用いることに加えて、反応液のpHが好ましくは2.0以上6.0以下、更に好ましくは3.0以上5.0以下にある状態で本工程を行うことが好ましく、反応液のpHが前記添加剤によって調整されていることも好ましい。

本形態の場合、添加剤として、式(2a)～(2d)のいずれかで表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることがより好ましく、式(2b)で表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることが更に好ましい。

[0047] 反応液中の添加剤量と放射エネルギーとの関係においては、添加剤として、前記式(2)中、 R_{21} が-COOHであり、 $R_{22} \sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子である化合物又はその塩、すなわちヒドロキシ安息香酸又はその塩を用いることに加えて、反応液中の放射性Zrイオンの単位放射エネルギー(1 MBq)当たりの前記添加剤の含有量、すなわち放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギー(MBq)に対する添加剤の含有量の比を、本工程の開始時において、下限として好ましくは5 nmol/MBq以上、より好ましくは20 nmol/MBq以上とする。前記

比の上限は、反応液のpHを所定の酸性条件に維持する点と、ヒドロキシ安息香酸又はその塩の反応液への溶解性の点とを考慮して、適宜設定することができる。

放射エネルギー当たりの添加剤含有量の比を上述の所定の範囲とすることによって、反応液中の放射エネルギーが増加した場合であっても、標識効率を更に高めることができる。

本形態の場合、添加剤として、式(2a)～(2d)のいずれかで表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることがより好ましく、式(2b)で表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることが更に好ましい。

[0048] 特に、添加剤として、前記式(2)中、 R_{21} が $-COOH$ であり、 R_{22} 及び R_{25} がともにヒドロキシ基であり且つ R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} がいずれも水素原子である添加剤又はその塩、すなわちゲンチジン酸又はその塩を用いる場合、反応液中の放射性Zrイオンの単位放射エネルギー(1MBq)当たりの添加剤の含有量、すなわち放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギー(MBq)に対する添加剤の含有量の比を、本工程の開始時において、下限として好ましくは5nmol以上、より好ましくは7nmol以上とする。また前記比の上限は、反応液のpHを所定の酸性条件に維持するとともに、ゲンチジン酸の反応液への十分な溶解性を両立する観点から、好ましくは125nmol以下、より好ましくは100nmol以下、更に好ましくは30nmol以下とする。

ゲンチジン酸の含有量を放射性Zrイオンの放射エネルギーに基づいて適切に制御することによって、反応液のpHを所望の範囲に維持しつつ、標識効率をより一層高めることができる。

[0049] 反応液中の配位子化合物量と添加剤量との関係においては、添加剤として、前記式(2)中、 R_{21} が $-COOH$ であり、 $R_{22} \sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子である化合物又はその塩、すなわちヒドロキシ安息香酸又はその塩を用いることに加えて、反応液中の配位子化合物のモル量(nmol)に対する、反応液中の添加剤の

モル量 (nmol) の比を、本工程の開始時において、好ましくは60以上1400以下、より好ましくは70以上700以下、更に好ましくは250以上500以下とする。

配位子化合物に対する添加剤のモル比を上述の範囲とすることによって、反応液のpHを所望の範囲に維持しつつ、標識効率を更に高めることができる。

本形態の場合、添加剤として、式(2a)～(2d)のいずれかで表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることがより好ましく、式(2b)で表される構造を有する添加剤又はその塩を用いることが更に好ましい。

[0050] 特に、添加剤として、前記式(2)中、 R_{21} が $-COOH$ であり、 R_{22} 及び R_{25} がともにヒドロキシ基であり且つ R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} がいずれも水素原子である添加剤又はその塩、すなわちゲンチジン酸又はその塩を用いる場合、反応液中の配位子化合物のモル量 (nmol) に対する、反応液中の添加剤のモル量 (nmol) の比を、本工程の開始時において、好ましくは60以上1500以下、より好ましくは100以上700以下、更に好ましくは300以上500以下とする。

[0051] 本工程に用いられる反応液は、水と、水溶性有機化合物とを更に含むことが好ましい。本明細書における水溶性有機化合物は、所定のpH範囲で緩衝作用を発揮するものであるが、錯形成の反応液中で現に緩衝作用を発揮していなくてもよい化合物であり、上述した配位子化合物及び有機溶媒とは別の化合物である。また、本明細書において本工程に用いられる水溶性有機化合物を含む反応液自体は、反応液全体のpHに応じて、pH緩衝作用を発揮していなくてもよく、pH緩衝作用を発揮していてもよい。

[0052] このような水溶性有機化合物としては、例えば酢酸及びその塩、リン酸及びその塩、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挙げられる。水溶性有機化合物の対イオンとしては、例えば、上述した各種陽

イオン又は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。これらの水溶性有機化合物は、配位子化合物や添加剤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。

[0053] これらのうち、水溶性有機化合物としては、酢酸及びその塩、又はH E P E Sを用いることがより好ましく、酢酸及びその塩を用いることが更に好ましい。すなわち、水溶性有機化合物を水に溶解させた水溶液として、酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液、又はH E P E S緩衝液を反応液に用いることが好ましく、酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液を反応液に用いることが好ましい。

[0054] 反応時の意図しないpH変化を抑制して、標識効率を一層高める観点から、反応液中の水溶性有機化合物の濃度は、 0.01 mol/L 以上 5.0 mol/L 以下であることが好ましく、 0.05 mol/L 以上 2.0 mol/L 以下であることが更に好ましい。例えば、水溶性有機化合物として酢酸及びその塩を含む場合、反応液中の濃度が、 0.05 mol/L 以上 2.0 mol/L 以下であることが好ましく、 0.1 mol/L 以上 1 mol/L 以下であることが更に好ましい。

[0055] 用いる配位子化合物の取扱い性向上と、得られる放射性Zr錯体の安定性向上とを兼ね備える観点から、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、いずれも $-(CH_2)_pCOOH$ からなる基で表され、 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好ましい。

この場合、 R_{14} 及び R_{15} のうち一方が、水素原子であるか、又は $-(CH_2)_pCOOH$ からなる基で表され、 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も好ましい。またこの場合、 R_{14} 及び R_{15} の他方が、 $-(CH_2)_pCOOH$ からなる基で表され、 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か、又はターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基であることも好ましい。

R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 及び R_{15} が上述した好適な基を有する場合、 R_{14} 及び R_{15} のうち一方が水素原子である場合には、 R_{14} 及び R_{15} の他方はターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基

であることが好ましい。

つまり、 R_{14} がターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基である場合は R_{15} が水素原子であり、 R_{15} がターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基である場合は R_{14} が水素原子であることが好ましい。

[0056] 式(1)において、ターゲティング剤と連結している基を含む配位子化合物を用いる場合、ターゲティング剤としては、鎖状ペプチド、環状ペプチド、若しくはこれらの組み合わせ、タンパク質、抗体若しくはそのフラグメント、ペプチドアプタマー、成長因子、アフィボディ、ユニボディ、ナノボディ、単糖類、多糖類、ビタミン、アンチセンス核酸、siRNA、miRNA、核酸アプタマー、デコイ核酸、cPGオリゴ核酸、ペプチド核酸、リポソーム、ミセル、カーボンナノチューブ、又はナノ粒子から選ばれるものを含む原子団のうち一種又は二種以上であることが好ましい。

本明細書における「ターゲティング剤」は、生体内の標的臓器若しくは組織に対する指向性又は標的分子に対する特異性を発現させるための化学構造を指す。本明細書では、標的臓器若しくは組織又は標的分子を総称して「標的部位」ともいう。

これらのターゲティング剤は、配位子化合物と直接結合していてもよく、PEGなどの他の公知のリンカー構造を介して間接的に結合していてもよい。

[0057] また、これらのターゲティング剤は、他の構造と結合可能な反応原子団を修飾させたものを用いて、配位子化合物と連結可能に構成されていてもよい。配位子化合物と連結するためには、例えばクリック反応等の公知の反応を採用することができる。

連結にクリック反応を用いる場合は、例えば、ターゲティング剤が有する反応原子団、及び配位子化合物が有するターゲティング剤と連結するための反応原子団は、いずれもクリック反応可能な原子団を含む基とすることができる。

このような化学構造を有する配位子化合物を用いることによって、標的部位に対する特異性又は指向性を有するターゲティング剤と容易に結合させやすくでき、またターゲティング剤の標的部位に対する特異性又は指向性を十分維持した状態で、標的部位に対する特異性又は指向性を有する放射性Zr錯体を収率高く得ることができる。

[0058] ターゲティング剤がペプチドを含む場合、当該原子団は特定の分子と特異的に結合する鎖状ペプチド、環状ペプチド、若しくはこれらの組み合わせ、タンパク質、抗体若しくはそのフラグメントを含むことが好ましい。

このような原子団の例としては、構成するアミノ酸残基が3残基以上であるペプチドであればよく、例えばIgG、IgA、IgM、IgD及びIgEのクラスを有する抗体（免疫グロブリン）、Fabフラグメント、Fab' 2フラグメント等の抗体断片、ペプチドアプタマーが挙げられる。また、このようなターゲティング剤を構成するアミノ酸は天然のものであってもよく、合成されたものであってもよい。

またペプチドを含む上記原子団の分子量は特に限定されない。

[0059] ターゲティング剤に用いられ得る各種ペプチドは、従来公知の方法、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。各種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。

[0060] ターゲティング部分が核酸を含む原子団である場合、当該原子団は特定の分子と特異的に結合するアンチセンス核酸、siRNA、miRNA、核酸アプタマー、デコイ核酸、cPGオリゴ核酸、ペプチド核酸を含む原子団であることが好ましい。また、このようなターゲティング剤を構成する核酸塩基は、デオキシリボ核酸やリボ核酸などの天然のものであってもよく、合成されたものであってもよい。

[0061] 本発明に用いられ得る上述の核酸を含む原子団は、従来公知の方法で製造することができる。例えば核酸アプタマーの場合は、タンパク質などの特定の標的物質に特異的に結合する核酸アプタマーをSEL EX法 (S y s t e m a t i c E v o l u t i o n o f L i g a n d s b y E x p o n e n t i a l E n r i c h m e n t) を用いて製造することができる。

[0062] 本発明に用いられるターゲティング剤と連結するための反応原子団を含む配位子化合物として、クリック反応可能な原子団を含むものを用いる場合、クリック反応可能な原子団は、クリック反応に使用できる公知の試薬に由来するものを適宜用いることができる。

本明細書における「反応原子団」とは、一方の化合物と他方の化合物とを結合させる際の反応が直接生じる化学構造を指す。このような反応原子団としては、例えばクリック反応可能な原子団が挙げられるが、これに限られない。

[0063] 反応工程の簡便性を図る観点から、反応原子団としてのクリック反応可能な原子団は、金属触媒フリーのクリック反応に用いることができる原子団であることが好ましく、例えば、アルキニル基若しくはアジド基、又は1, 2, 4, 5-テトラジンもしくはアルケニル基等のジエン若しくはジエノフィルが挙げられる。

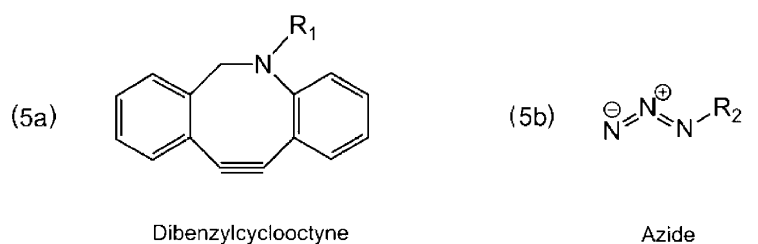
[0064] クリック反応は、アルキンとアジドとの組み合わせ、又は1, 2, 4, 5-テトラジンとアルケン等のジエンとジエノフィルとの組み合わせによって生じる反応である。このような原子団の組み合わせによるクリック反応の具体例として、ヒュスゲン環化付加反応、あるいは逆電子要請型ディールスアルダー反応等が挙げられる。

[0065] 典型的には、アルキンとアジドとの組み合わせでのクリック反応により生成する化学構造はトリアゾール骨格を含むものであり、ジエンとジエノフィルとの組み合わせとして1, 2, 4, 5-テトラジンとアルケンとの組み合わせでのクリック反応により生成する化学構造はピリダジン骨格を含む。したがって、ターゲティング剤と連結するための反応原子団に含まれ得るクリ

ック反応可能な原子団として、アルキン又はアジドを含む原子団であれば、クリック反応によりトリアゾール骨格を形成可能である。また、ターゲティング剤と連結するための反応原子団に含まれ得るクリック反応可能な原子団として、ジエン又はジエノフィルである 1, 2, 4, 5-テトラジン又はアルケンを含む原子団が含まれば、クリック反応によりピリダジン骨格を形成可能である。

[0066] クリック反応可能な原子団の具体例としては、以下の式に示すように、アルキンとしてジベンジルシクロオクチン (D B C O) を含む原子団 (式 (5 a))、アジドとしてアジド基を含む原子団 (式 (5 b))、1, 2, 4, 5-テトラジンを含む原子団 (式 (5 c))、又はアルケンとして *t r a n s*-シクロオクテン (T C O) を含む原子団 (式 (5 d)) が挙げられる。

[0067] [化6]



[0068] [化7]



[0069] 式 (5 a) 中、 R_1 は、配位子化合物又はターゲティング剤を含む原子団との結合部位を示す。

式 (5 b) 中、 R_2 は、配位子化合物又はターゲティング剤を含む原子団との結合部位を示す。

式 (5 c) 中、 R_3 及び R_4 のうち一方が配位子化合物又はターゲティング

剤を含む原子団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す。

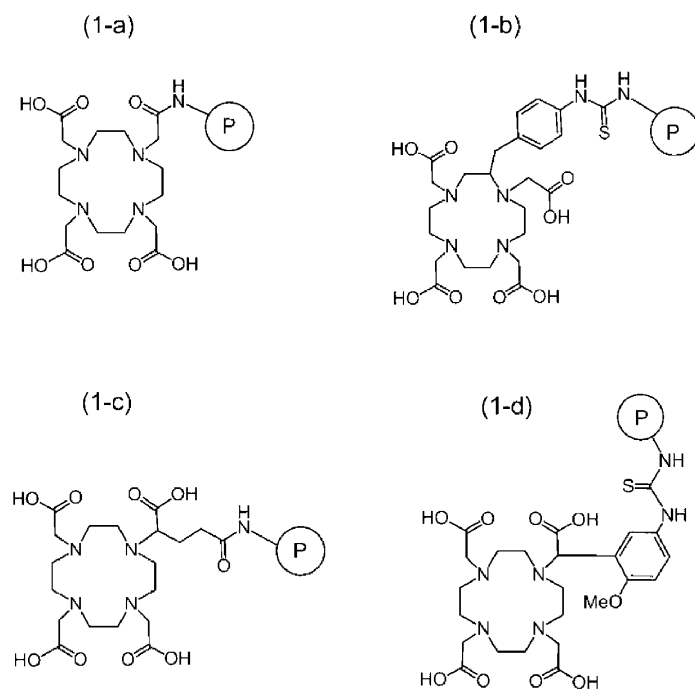
式（5 d）中、 R_5 は、配位子化合物又はターゲティング剤を含む原子団との結合部位を示す。

[0070] クリック反応可能な原子団を配位子化合物に導入する場合には、市販されている種々の試薬を用いて導入することができる。具体的には、クリック反応可能な原子団として、ジベンジルシクロオクチン（DBCO）を含む原子団を導入する場合は、例えば、DBCO-C6-Acid、DBCO-Amine、DBCO-Maleimide、DBCO-PEG acid、DBCO-PEG-NHS ester、DBCO-PEG-Alcohol、DBCO-PEG-amine、DBCO-PEG-NH-Boc、Carboxyrhodamine-PEG-DBCO、Sulforhodamine-PEG-DBCO、TAMRA-PEG-DBCO、DBCO-PEG-Biotin、DBCO-PEG-DBCO、DBCO-PEG-Maleimide、TCO-PEG-DBCO、DBCO-mPEGなどのDBCO試薬を用いることができる。

[0071] 本発明に用いられる好適な配位子化合物として、例えば以下の式（1-a）～（1-e）に示す構造を有するものを用いることができるが、これらに限られない。いずれの構造を有する配位子化合物であっても、標識率の安定的な向上という効果は十分に奏される。以下の各式中、Pは反応原子団を含む原子団、またはターゲティング剤を含む原子団を表す。標識率の安定的な向上を図る観点から、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化合物がより好ましく用いられる。

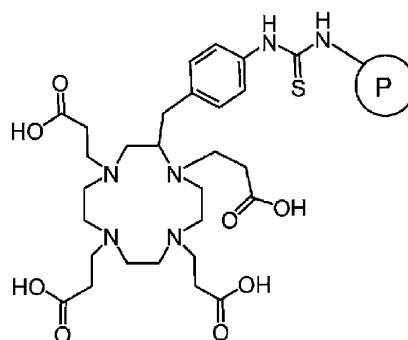
[0072]

[化8]



[0073] [化9]

(1-e)



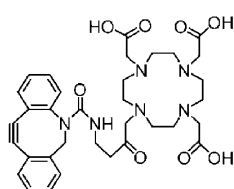
[0074] 式(1)において、クリック反応可能な原子団を含む配位子化合物を用いる場合、配位子化合物とクリック反応可能な原子団とは、以下の式(P)に示すリンカー構造によって間接的に結合していることも好ましい。当該構造はエチレングリコール由来の構造であり、式(P)中、nは、好ましくは2以上10以下の整数、更に好ましくは2以上8以下の整数である。

[0075] [化10]

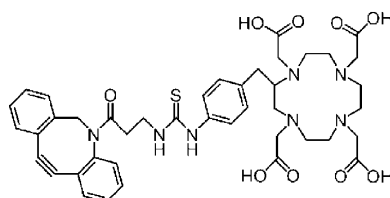


[0076] クリック反応可能な原子団を含む配位子化合物は、本発明の効果が奏される限りにおいて、その構造は特に限定されないが、以下に示す構造を有することが更に好ましい。すなわち、配位子化合物は、以下に示すDO3A-DBCO、DOTA-DBCO、DO3A-PEG4-DBCO及びDO4A-PEG7-Tz、DOTAGA-DBCOのうち少なくとも一種を有することが更に好ましい。

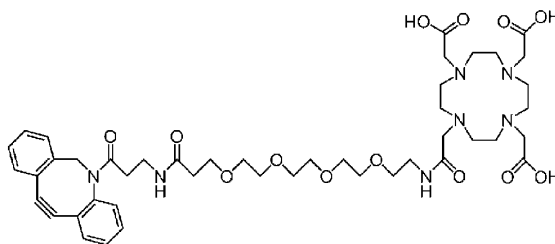
[0077] [化11]



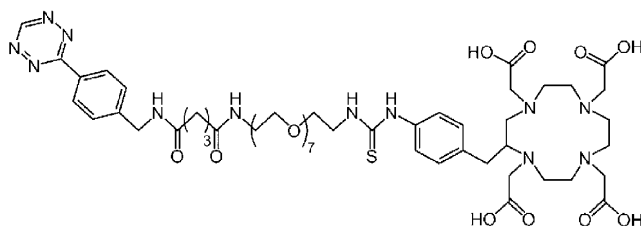
DO3A-DBCO



DOTA-DBCO

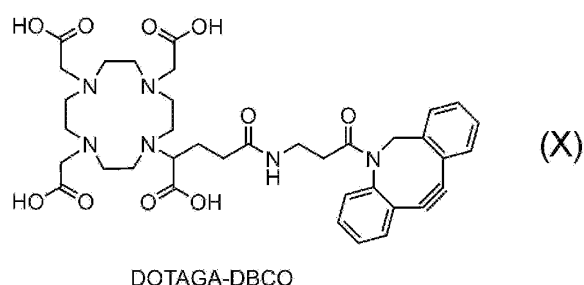


DO3A-PEG4-DBCO



DO4A-PEG7-Tz

[0078] [化12]



[0079] 反応原子団としてクリック反応可能な原子団を含む配位子化合物を用いた場合、例えば、上述の方法で放射性Zrイオンを該配位子化合物に配位させ、その後、放射性Zrイオンが配位した配位子化合物が有するクリック反応可能な原子団と、ターゲティング剤におけるクリック反応可能な原子団とをクリック反応等で反応させて、放射性Zr錯体を製造することができる。

この場合、ターゲティング剤は、配位子化合物における反応原子団と特異的に結合するクリック反応可能な原子団で修飾されている化合物を用いることができる。

ターゲティング剤を修飾するクリック反応可能な原子団としては上述のものと同様のものを用いることができる。このような化合物を用いることで、標的部位に対する特異性又は指向性を備えた放射性Zr錯体を製造できる。

[0080] 上述の工程を経て生成した放射性Zr錯体は、反応液中に溶解した状態で存在する。つまり、放射性Zr錯体は水性液として得ることができる。放射性Zr錯体を含む水性液は、これをそのまま用いてもよく、あるいは、ろ過フィルター、メンブレンフィルター、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。

[0081] 放射性Zr錯体が得られた後の工程としては、例えば、放射性Zr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などの各種添加剤を添加したり、水や生理食塩液等の等張液で希釈して放射能濃度を調整し

たりすることにより行うことができる。また、製剤化工程として、各種添加剤の添加あるいは濃度調整を行った後、メンブレ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。

- [0082] 上記式(2)において、 R_{28} に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、一種が単独で置換していてもよく、これらの置換基が二種以上組み合わされて置換していてもよい。

実施例

- [0083] 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。以下の実施例はすべて大気圧にて実施した。表1中、「－」で示す欄は非含有であることを示す。

- [0084] [実施例1及び比較例1]

放射性Zr元素として ^{89}Zr を用いた。また配位子化合物として、DOTA(上記式(1)中、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 及び R_{14} が全て「 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 」基であり、 R_{15} が水素原子である。)を用いた。

- [0085] 上記配位子化合物を注射用水に溶解させて、上記配位子化合物を10mmol/L含む水溶液を調製した。

配位子化合物水溶液を7.5 μL と、放射性Zr源として ^{89}Zr イオン含有溶液(溶媒:0.1mol/L塩酸水溶液、放射能濃度:3.4GBq/mL、比放射能:11.4MBq/nmol)を25 μL と、緩衝剤含有水溶液として0.13mol/L酢酸-酢酸ナトリウム緩衝(pH:5.5)を12.5 μL とを反応容器(ガラスバイアル)内でそれぞれ混合した。

実施例1では、添加剤としてゲンチジン酸(上記式(2b))を注射用水に溶解した300mmol/L水溶液を、以下の表1に示す最終濃度となるように更に添加した。

比較例 1 では、ゲンチジン酸を添加しなかった。

このようにして、以下の表 1 に示す各種濃度及び pH を有する反応液をそれぞれ調製した。これらの反応液はいずれも有機溶媒が非含有のものである。

[0086] そして、各反応液の pH を維持した状態で、加熱温度を 70℃、加熱時間を 1 時間として反応液を加熱して、放射性 Zr 標識化合物としての ^{89}Zr 錯体を含む溶液を得た。

[0087] 得られた ^{89}Zr 錯体溶液のうち 2 μL を薄層クロマトグラフィー (Agilent 社製、型番: iTLC-SG、展開溶媒: 水/アセトニトリル (1:1)) を用いて、展開距離を 10 cm として展開した。

展開後の薄層クロマトグラムを TLC 解析装置 (GITA Star) に導入して、 ^{89}Zr 錯体溶液中の未反応の ^{89}Zr を含む全 ^{89}Zr 放射能カウント及び ^{89}Zr 錯体の放射能カウントをそれぞれ測定した。そして、全 ^{89}Zr 放射能カウントに対する ^{89}Zr 体の放射能カウントの百分率を標識率 (%) として算出した。標識率は、標識反応の進行度合いを示すものであり、標識率が高いほど、目的とする放射性 Zr 標識化合物が多く生成しており、標識反応が良好に進行していることを意味する。結果を以下の表 1 に示す。

[0088] [実施例 2 及び比較例 2]

本実施例では、配位子化合物として、p-SCN-Bn-DOTA に、鎖状ペプチドとしてフィサレミン (分子量: 1265 Da) を常法によって結合させた配位子化合物を用いた。この配位子化合物は、上記式 (1-b) に包含される形態である。この配位子化合物の化学構造の詳細を以下の式 (E1) に示す。

実施例 2 では、添加剤としてゲンチジン酸 (上記式 (2b)) を注射用水に溶解した 300 mmol/L 水溶液を、以下の表 1 に示す最終濃度となるように更に添加した。

比較例 2 では、ゲンチジン酸を添加しなかった。

このようにして、以下の表 1 に示す各種濃度及び pH を有する反応液をそ

れぞれ調製した。実施例 2 及び比較例 2 の反応液はいずれも、有機溶媒として DMSO を最終濃度 50 体積%含むものであった。

これ以外は実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を以下の表 1 に示す。

[0089] [実施例 3～7 及び比較例 3～4]

本実施例では、配位子化合物として、 $p\text{-SCN-Bn-DOTA}$ に、環状ペプチドとしてダプトマイシン（分子量：1619Da）を常法によって結合させた配位子化合物を用いた。この配位子化合物は、上記式（1-b）に包含される形態である。この配位子化合物の化学構造の詳細を以下の式（E2）に示す。

実施例 3～7 では、添加剤としてゲンチジン酸（上記式（2b））を注射用水に溶解した 300mmol/L 水溶液を、以下の表 1 に示す反応液中最終濃度となるように更に添加した。

比較例 3～4 ではいずれも、ゲンチジン酸を添加しなかった。

このようにして、以下の表 1 に示す各種濃度及び pH を有する反応液をそれぞれ調製した。実施例 3～7 及び比較例 3～4 の反応液はいずれも、有機溶媒として DMSO を最終濃度 50 体積%含むものであった。

これ以外は実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を以下の表 1 に示す。

[0090] [実施例 8]

反応液中のゲンチジン酸の濃度を以下の表 1 に示す濃度となるように、且つ DMSO を最終濃度 50 体積%含むように調整した以外は、実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を表 1 に示す。

[0091] [実施例 9]

添加剤としてサリチル酸（上記式（2a））を用い、反応液中のサリチル酸の濃度を以下の表 1 に示す濃度となるように、且つ DMSO を最終濃度 50 体積%含むように調製した以外は、実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を表 1 に示す。

[0092] [実施例 10]

添加剤としてプロトカテク酸（上記式（2c））を用い、反応液中のプロトカテク酸の濃度を以下の表 1 に示す濃度となるように、且つ DMSO を最終濃度 50 体積％含むように調製した以外は、実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を表 1 に示す。

[0093] [実施例 11]

配位子化合物として DOTAGA-DBCO（上記式（X））を用い、0.156 mol/L 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝（pH：5.5）に溶解させて、配位子化合物を 0.3 mmol/L 含む溶液を調製した。

上記の配位子化合物溶液を 128.9 μ L と、放射性 Zr 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：8.0 GBq/mL、比放射能：25.4 MBq/nmol）を 85.9 μ L とを反応容器（ガラスバイアル）内でそれぞれ混合した。

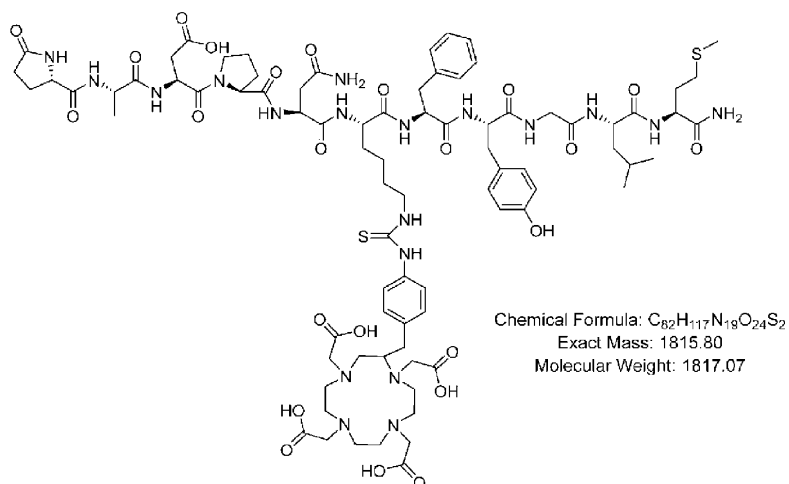
実施例 11 では、添加剤としてゲンチジン酸を 0.156 mol/L 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝（pH：5.5）に溶解した 150 mmol/L 溶液を以下の表 1 に示す最終濃度となるように更に添加した。

これ以外は、実施例 1 と同様の方法で実施、評価した。結果を表 1 に示す。

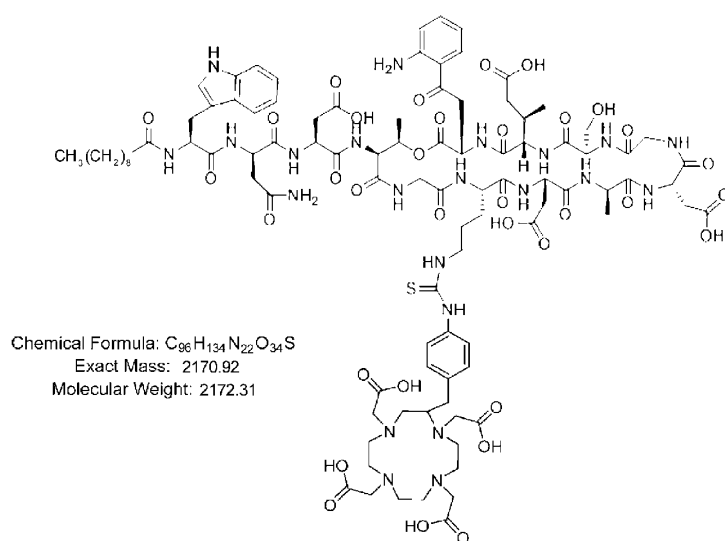
[0094]

[化13]

(E1) DOTA-Physalemine



(E2) DOTA-Daptomycin



[0095]

[表1]

反応液組成													
配位子化合物				放射性Zr			添加剤			水溶性有機化合物		DMSO	
種類	濃度 [μmol/L]	モル量 A [nmol]	開始時 放射能 B [MBq]	Zr-イオン 濃度 [nmol/L]	Zr-イオン量 [nmol]	種類	濃度 [nmol/L]	モル量 C [nmol]	種類	濃度 [μmol/L]	DMSO	pH	C/A比 [nmol /MBq]
比較例1	100	7.5	85.7	772.9	0.058	-	-	-	-	-	なし	5.50	-
実施例1	100	7.5	84.9	765.7	0.057	ゲンチジン酸	8.5	637.5	-	-	あり	4.00	85
比較例2	100	7.5	85.2	768.4	0.058	-	-	-	-	-	なし	6.00	-
実施例2	100	7.5	73.5	662.9	0.050	ゲンチジン酸	7.4	555	-	-	あり	5.50	74
比較例3	100	7.5	75.7	682.7	0.051	-	-	-	-	-	なし	6.00	-
比較例4	100	7.5	96.3	868.5	0.065	-	-	-	-	-	なし	6.00	-
実施例3	100	7.5	69.3	625.0	0.047	ゲンチジン酸	6.9	517.5	酢酸ナトリウム	0.13	あり	5.50	69
実施例4	100	7.5	95.3	859.5	0.064	ゲンチジン酸	10	750	-	-	あり	5.50	100
実施例5	100	7.5	171.2	1544.0	0.116	ゲンチジン酸	17.1	1282.5	-	-	あり	5.20	171
実施例6	100	7.5	93.7	845.0	0.063	ゲンチジン酸	30	2250	-	-	あり	5.20	300
実施例7	100	7.5	170.9	1541.3	0.116	ゲンチジン酸	50	3750	-	-	あり	5.00	500
実施例8	100	7.5	93.7	845.0	0.063	ゲンチジン酸	28.8	2163	-	-	あり	5.18	288.4
実施例9	100	7.5	122.0	1100.3	0.083	サリチル酸	138.4	10377	-	-	あり	5.27	1383.6
実施例10	100	7.5	101.4	914.5	0.069	プロトカテク酸	69.2	5190	-	-	あり	4.98	692
実施例11	DOTAGA-DBCO	129	27.09	689.0	0.466	ゲンチジン酸	42.9	12885	-	0.11	なし	4.00	475.6

反応液組成

[0096] 以上のとおり、特定の構造を有する添加剤を含む反応液を加熱反応させる実施例の製造方法は、比較例の製造方法と比較して、反応開始時の放射エネルギーが高い状態でも標識反応が良好に進行し、ZrイオンとDOTA又はDOTA誘導体を含む配位子化合物との反応において、高い標識率を達成できることが判る。また、反応液のpHを好適な酸性領域の範囲として加熱反応させた各実施例の製造方法は、高い標識率を達成できることも判る。特に、反応液中の添加剤の含有量を多くした実施例6～10は、Zrの標識率を更に高めることができる。

[0097] なお、表には示していないが、25℃の0.78mol/L酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液（pH5.5）中にゲンチジン酸は900mmol/Lの濃度まで溶解し、pHは3.59であった。また、同緩衝液中にサリチル酸は500mmol/Lの濃度まで溶解し、pHは4.36であった。また、同緩衝液中にプロトカテク酸は400mmol/Lの濃度まで溶解し、pHは4.77であった。

そして、これらの緩衝液を反応液として用いたときに、薄層クロマトグラフィーにより測定したときにおけるDOTAに対する標識率が50%以上であることも本発明者は確認している。また、酸を添加剤に用いることによって、反応液のpHの調整と添加剤の所定量の添加とを一度の工程で行うことができ、且つ標識率を向上できる点で有利である。

[0098] 以上、本発明によれば、放射性ジルコニウムイオンとDOTA又はDOTA誘導体を含む配位子化合物との反応において、高い標識率を達成できる製造方法が提供される。

請求の範囲

[請求項1]

放射性ジルコニウムイオンと、

下記式（１）で表される配位子化合物と、

を反応液中で反応させて、放射性ジルコニウム錯体を形成させる工程を備え、

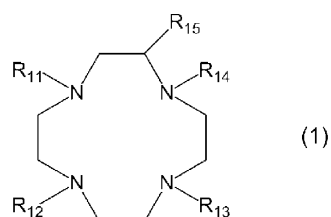
前記反応液として、

前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギーが反応開始時において 60 MBq 以上であり、かつ、

前記配位子化合物 1 mmol あたり、前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギーが反応開始時において 5 MBq 以上であるものを用い、

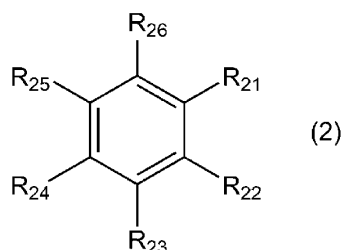
下記式（２）で表される添加剤又はその塩の存在下で前記工程を行う、放射性ジルコニウム錯体の製造方法。

[化1]



（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 $-(CH_2)_pCONH_2$ からなる基であり、 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、又はターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基であり、 p はそれぞれ独立して 0 以上 3 以下の整数である。）

[化2]



(式(2)中、 R_{21} は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOR}_{28}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CONHR}_{28}$ であり、 $R_{22}\sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子であり、 R_{28} は、置換又は無置換のアルキル、置換又は無置換のアリール、置換又は無置換のアルキルアリールである。)

[請求項2] 前記反応液のpHが酸性領域である状態で前記工程を行う、請求項1に記載の製造方法。

[請求項3] 前記反応液のpHが2.0以上6.0以下にある状態で前記工程を行う、請求項2に記載の製造方法。

[請求項4] 前記式(2)中、 R_{21} が $-\text{COOH}$ であり、 $R_{22}\sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子である前記添加剤又はその塩を用い、

前記反応液のpHが2.0以上6.0以下にある状態で前記工程を行う、請求項1～3のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項5] 前記式(2)中、 R_{21} が $-\text{COOH}$ であり、 $R_{22}\sim R_{26}$ のうち1つ以上3つ以下の基はヒドロキシ基であり且つそれ以外の基は水素原子である前記添加剤又はその塩を用い、

反応開始時において前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギー(MBq)に対する前記添加剤の含有量の比が、 $5\text{nmol}/\text{MBq}$ 以上である、請求項1～4のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項6] 前記式(2)中、 R_{21} が $-\text{COOH}$ であり、 R_{22} 及び R_{25} がともにヒドロキシ基であり且つ R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} がいずれも水素原子である前

記添加剤又はその塩を用い、

反応開始時において、前記放射性ジルコニウムイオンの放射エネルギー（MBq）に対する前記添加剤の含有量の比が、 $5\text{ nmol} / \text{MBq}$ 以上 $125\text{ nmol} / \text{MBq}$ 以下である、請求項1～5のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項7] 前記式（2）中、 R_{21} が $-\text{COOH}$ であり、 R_{22} 及び R_{25} がともにヒドロキシ基であり且つ R_{23} 、 R_{24} 及び R_{26} がいずれも水素原子である前記添加剤又はその塩を用い、

前記配位子化合物のモル量（nmol）に対する前記添加剤のモル量（nmol）の比が60以上1500以下である、請求項1～6のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項8] 前記反応液は、水と、水溶性有機化合物と、を更に含み、
前記水溶性有機化合物は、酢酸及びその塩、リン酸及びその塩、2-アミノ-2-（ヒドロキシメチル）プロパン-1, 3-ジオール、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、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少なくとも一種である、請求項1～7のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項9] 前記反応液に含まれる前記水溶性有機化合物の濃度が、 $0.01\text{ mol} / \text{L}$ 以上 $5.0\text{ mol} / \text{L}$ 以下である、請求項8に記載の製造方法。

[請求項10] 前記反応液は、前記水溶性有機化合物として酢酸及びその塩を含む、請求項8又は9に記載の製造方法。

[請求項11] 30°C 以上 100°C 以下に前記反応液を加熱して、前記放射性ジルコニウムイオンと前記配位子化合物とを反応させる、請求項1～10のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項12] 前記式（1）中、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} はいずれも、 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ からなる基であり、

R_{14} 又は R_{15} の一方が、水素原子であるか、又は $-(CH_2)_pCOOH$ からなる基であり、

R_{14} 又は R_{15} の他方が、 $-(CH_2)_pCOOH$ からなる基であるか、又は、ターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基であり、

R_{14} がターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基である場合は、 R_{15} は水素原子であり、

R_{15} がターゲティング剤と連結するための反応原子団若しくはターゲティング剤と連結している基である場合は、 R_{14} は水素原子である、請求項1～11のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項13] 前記式(1)中、前記ターゲティング剤が、鎖状ペプチド、環状ペプチド若しくはこれらの組み合わせ、タンパク質、抗体若しくはそのフラグメント、成長因子、アフィボディ、ユニボディ、ナノボディ、単糖類、多糖類、ビタミン、アンチセンス核酸、siRNA、miRNA、核酸アプタマー、デコイ核酸、cPGオリゴ核酸、ペプチド核酸、リポソーム、ミセル、カーボンナノチューブ、ナノ粒子から選ばれる一種又は二種以上含む原子団である、請求項1～12のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項14] 前記式(1)中、前記ターゲティング剤と連結するための反応原子団が、アジド基若しくはアルキニル基、または、ジエン若しくはジエノフィルである、請求項12に記載の製造方法。

[請求項15] 前記式(1)中、ターゲティング剤と連結するための反応原子団を有する前記配位子化合物を用いて、前記放射性ジルコニウムイオンを該配位子化合物に配位させ、然る後に、

前記反応原子団と、前記ターゲティング剤とを反応させる、請求項1～14のいずれか一項に記載の製造方法。