(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-503679
(P2018-503679A)
(43)公表日　平成30年2月8日(2018.2.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07D 213/65	***(2006.01)***	C07D	213/65	ZNA	4C031
C07D 215/20	***(2006.01)***	C07D	215/20		4C055
A61K 51/12	***(2006.01)***	A61K	51/12	100	4C084
A61K 51/04	***(2006.01)***	A61K	51/04	100	4C085
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61K	39/395	D	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 76 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-545878 (P2017-545878)
(86)(22)出願日　平成27年11月24日 (2015.11.24)
(85)翻訳文提出日　平成29年7月21日 (2017.7.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/062502
(87)国際公開番号　WO2016/086036
(87)国際公開日　平成28年6月2日 (2016.6.2)
(31)優先権主張番号　62/084,366
(32)優先日　平成26年11月25日 (2014.11.25)
(33)優先権主張国　米国(US)

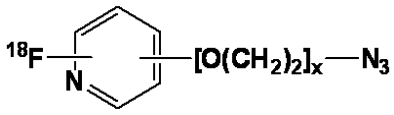
(71)出願人　391015708
ブリストル－マイヤーズ　スクイブ　カンパニー
ＢＲＩＳＴＯＬ－ＭＹＥＲＳ　ＳＱＵＩＢＢ　ＣＯＭＰＡＮＹ
アメリカ合衆国０８５４３ニュージャージー州　プリンストン、ルート２０６アンド・プロビンス・ライン・ロード
(74)代理人　100100158
弁理士　鮫島　睦
(74)代理人　100126778
弁理士　品川　永敏
(74)代理人　100162684
弁理士　呉　英燦

最終頁に続く

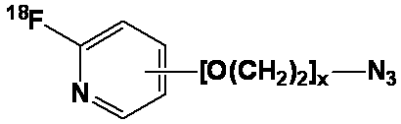
(54)【発明の名称】生物学的製剤の１８Ｆ－放射性標識方法および組成物

(57)【要約】
本発明は水溶性の^{18}Ｆ－補欠分子族に関し、体内の様々な過程をイメージングし、疾患病状に関連する分子の位置を検出し、疾患の進行をモニターするのための、^{18}Ｆ－補欠分子族を含む^{18}Ｆ－標識生体分子の合成および使用が開示される。

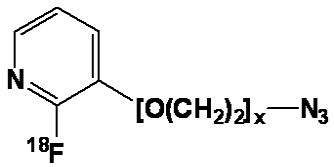
【特許請求の範囲】
【請求項１】
構造：
【化１】



[式中、
ｘは１～８の整数であり、
^{18}Ｆ－放射性標識はピリジンのＮ原子に対してオルト位に結合する]
を有する、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族を含む化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項２】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が構造：
【化２】

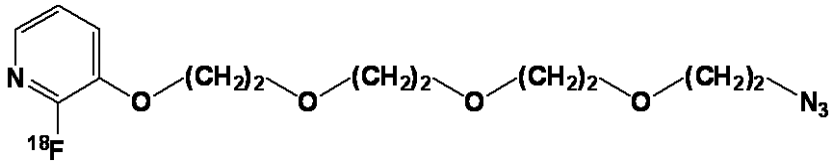


を有する、請求項１記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項３】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～３位に存在する、請求項１記載の化合物。
【請求項４】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～２位に存在する、請求項１または２記載の化合物。
【請求項５】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～４位に存在する、請求項１または２記載の化合物。
【請求項６】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が構造：
【化３】



を有する、請求項１記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項７】
ｘが２～６の整数である、前述の請求項のいずれか１つに記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項８】
ｘが３～５の整数である、請求項４記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項９】
ｘが４である、請求項４記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項１０】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が構造：

【化４】



を有する、請求項１記載の化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項１１】

ピリジン環がフッ素化反応に干渉しないさらなる置換基を含む、前述の請求項のいずれか１つに記載の化合物。

【請求項１２】

ピリジン環上の置換基がC_{1-6}アルキルである、請求項１１記載の化合物。

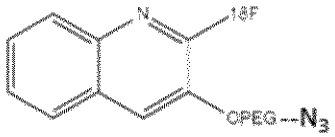
【請求項１３】

置換基がメチル、エチルまたはプロピルである、請求項１２記載の化合物。

【請求項１４】

構造：

【化５】



［式中、

「ＯＰＥＧ」は［Ｏ（CH_2）$_2$］$_x$であり、

ｘは１～８の整数である］

を有する^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族を含む化合物、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項１５】

ｘが２～６の整数である、請求項１４記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項１６】

ｘが３～５の整数である、請求項１４記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項１７】

ｘが４である、請求項１５記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項１８】

水溶性である、前述の請求項のいずれか１つに記載の化合物または薬学的に許容可能な塩。

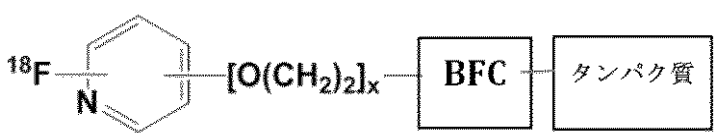
【請求項１９】

揮発性ではない、前述の請求項のいずれか１つに記載の化合物または薬学的に許容可能な塩。

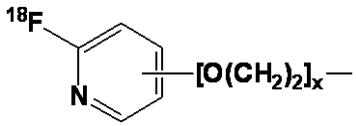
【請求項２０】

^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族、二価結合性（Ｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ｃｏｎｊｕｇａｔｉｎｇ）（ＢＦＣ）基および以下の構造：

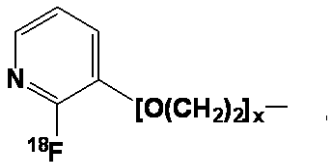
【化６】



［式中、
^{18}ＦはＮ原子に対してオルト位であり、
ｘは１～８の整数である］
を有するタンパク質を含む、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項２１】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が以下の構造：
【化７】

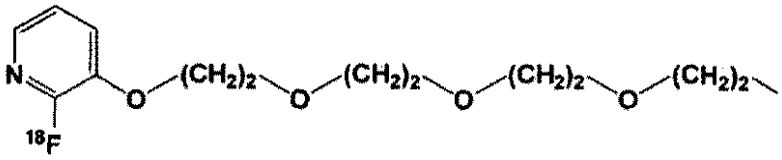


を有する、請求項２０記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２２】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～３位に存在する、請求項２０または２１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２３】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～２位に存在する、請求項２０または２１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２４】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～４位に存在する、請求項２０または２１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２５】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が以下の構造：
【化８】

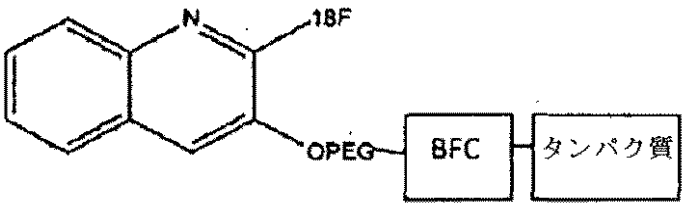


を有する、請求項２０記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２６】
ｘが２～６の整数である、請求項２０～２５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２７】
ｘが３～５の整数である、請求項２６記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２８】
ｘが４である、請求項２６記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項２９】
［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～３位に存在する、請求項２０～２８のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項３０】
ピリジン環がフッ素化反応に干渉しないさらなる置換基を含む、請求項２０～２９のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。

【請求項３１】
ピリジン環上の置換基がC_{1-6}アルキルである、請求項３０記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項３２】
置換基がメチル、エチルまたはプロピルである、請求項３１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項３３】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が構造：
【化９】

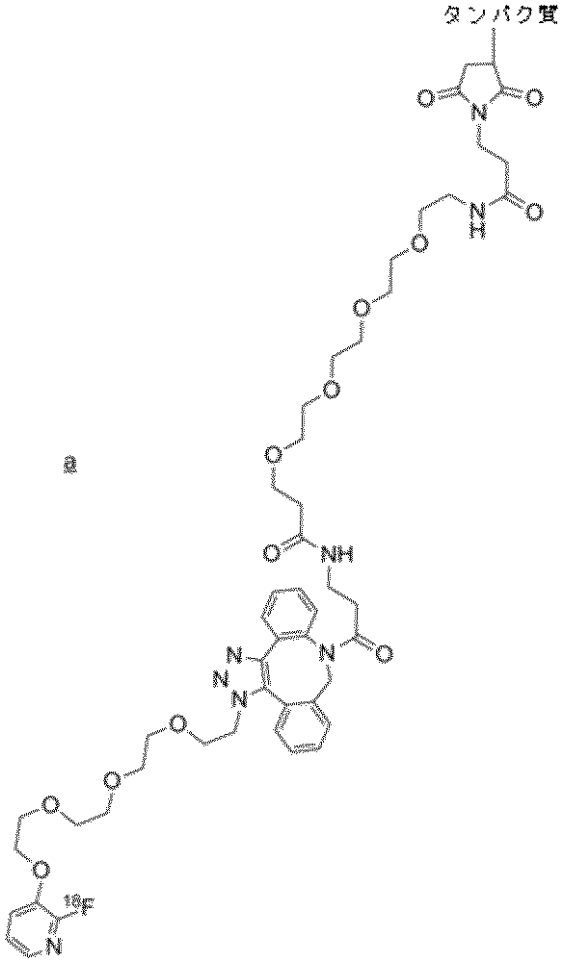


を有する、請求項２０記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項３４】
^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族、二価結合性（ＢＦＣ）基および下記の構造：
【化１０】



［式中、
「ＯＰＥＧ」は［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$であり、
ｘは１～８の整数である］
を含むタンパク質を含む、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項３５】
ｘが２～６の整数である、請求項３４記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項３６】
ｘが３～５の整数である、請求項３４記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項３７】
ｘが４である、請求項３４記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、またはその薬学的に許容可能な塩。
【請求項３８】
ＢＦＣが、タンパク質上のアミン、カルボキシル、カルボニルまたはチオール官能基と共有結合を形成する反応基を含むシクロオクチンである、請求項２０～３７のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項３９】
シクロオクチンがジベンゾシクロオクチン（ＤＩＢＯ）、ビアリールアザシクロオクチノン（ＢＡＲＡＣ）、ジメトキシアザシクロオクチン（ＤＩＭＡＣ）およびジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）から成る群から選択される、請求項３８記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。

【請求項４０】
シクロオクチンがＤＢＣＯである、請求項３９記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４１】
ＢＦＣがポリエチレングリコール（ＰＥＧ）$_y$スペーサーアームをさらに含み、ここでｙは１～８の整数である、請求項２０～３９のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４２】
ｙが２～６の整数である。請求項４１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４３】
ｙが４または５である、請求項４１記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４４】
ＢＦＣがＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－ＮＨＳ－エステル、ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ－エステル、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－酸、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－アミンまたはＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである、請求項３９記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４５】
ＢＦＣがＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである、請求項４４記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４６】
以下の構造：
【化１１】

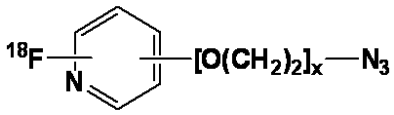


[式中、

ＢＦＣのマレイミド基はタンパク質のシステイン残基のチオール基に共有結合している
]
を有する、請求項４５記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４７】
システイン残基がタンパク質のＣ末端に位置する、請求項４６記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４８】
プローブのタンパク質部位が疾患に関係する生体分子に結合する、請求項２０～４７のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項４９】
疾患が固形癌、造血癌、血液癌、自己免疫性疾患、神経変性疾患、心血管疾患、および病原性感染から成る群から選択される、請求項４８記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５０】
プローブのタンパク質部位がリガンドを含む、請求項２０～４９のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５１】
プローブのタンパク質部位が抗体または抗体フラグメントを含む、請求項２０～５０のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５２】
プローブのタンパク質部位がフィブロネクチンベースのスキャホールド（ＦＢＳ）を含む、請求項２０～５０のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５３】
プローブが腫瘍関連抗原に結合する、請求項２０～５２のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５４】
プローブが病原体に存在するタンパク質に結合する、請求項２０～５２のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５５】
病原体がウイルス、細菌または真菌である、請求項５４記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ。
【請求項５６】
（ａ）^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを患者に投与すること；および
（ｂ）陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）スキャンによって、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのインビボでの分布をイメージングすること
を含む、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの画像を得る方法。
【請求項５７】
^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの分布の画像が、疾患の存在または非存在を示す、請求項５６記載の方法。
【請求項５８】
対象における疾患の存在を診断する方法であって、
（ａ）疾患の存在に関係する標的分子に結合する、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを、それを必要とする対象に投与すること；および
（ｂ）当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの存在または非存在を検出するために、対象の少なくとも１部分の放射線画像を得ること；
を含み、前記^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの存在および位置がバックグラウンドに対して疾患の存在および位置を示す方法。

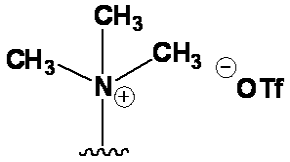
【請求項５９】
対象における疾患の進行をモニターする方法であって、
（ａ）疾患の存在に関係する標的分子に結合する、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを最初の時点において、それを必要とする対象に投与すること、および疾患細胞または組織の量を決定するために、対象の少なくとも１部分の画像を得ること；および
（ｂ）当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブをその後の１回以上の時点において、対象に投与すること、およびそれぞれの時点において、対象の少なくとも１部分の画像を得ること
を含み、それぞれの時点における疾患細胞または組織の体積および位置が疾患の進行を示す方法。
【請求項６０】
対象の疾患細胞または組織を定量する方法であって、
（ａ）疾患細胞または組織を有する患者に対して、当該疾患細胞または組織と共に存在する標的分子に結合する、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを投与すること；および
（ｂ）当該疾患細胞または組織において、^{18}Ｆの放射性放射を検出すること
を含み、疾患細胞または組織における放射性放射の量および分布が疾患細胞または組織の定量的な測定基準である方法。
【請求項６１】
疾患が固形癌、造血癌、血液癌、自己免疫性疾患、神経変性疾患、心血管疾患、および病原性感染から成る群から選択される、請求項５８～６０のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６２】
標的タンパク質を発現する組織または細胞の定量画像を得る方法であって、当該標的タンパク質に結合する、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブに、当該細胞または組織が接触すること、および陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）を用いて、当該標的タンパク質が発現している組織の検出または定量を行うことを含む方法。
【請求項６３】
疾患を治療する薬剤のスクリーニング方法であって、以下のステップ：
（ａ）疾患に関連する標的タンパク質を発現する細胞が、候補薬剤の存在下または非存在下において当該標的タンパク質と結合する、請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブと接触すること；および
（ｂ）当該候補薬剤の存在下または非存在において、陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）を用いて当該細胞のイメージングを行うこと
を含み、当該候補薬剤の存在において放射性放射量の減少が、当該薬剤が当該標的タンパク質に結合していることを示す方法。
【請求項６４】
^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブがリガンドを含む、請求項５６～６３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６５】
^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが抗体または抗体フラグメントを含む、請求項５６～６３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６６】
^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブがフィブロネクチンベースのスキャホールド（ＦＢＳ）を含む、請求項５６～６３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６７】
^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが、腫瘍関連抗原に結合する、請求項５６～６６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６８】

^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが、病原体に存在するタンパク質に結合する、請求項５６～６６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６９】
病原体がウイルス、細菌または真菌である、請求項６８に記載の方法。
【請求項７０】
請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを含む医薬組成物。
【請求項７１】
請求項２０～５５のいずれか１つに記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの生成において使用するための反応前駆体、および^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを生成するための説明書を含むキット。
【請求項７２】
以下の構造：
【化１２】



[式中、
ｘは１～８の整数]
を有する^{18}Ｆ－放射性標識化合物を製造するための方法であって、以下のステップ：
（ａ）以下の構造：
【化１３】

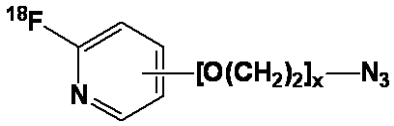
［式中、
ｘは１～８の整数であり、
ＲはＮＯ$_2$、Ｂｒ、Ｆまたは
【化１４】



であり、
ピリジン環のＮ原子に対してオルト位である］
を有する化合物ａの溶液を生成すること；
（ｂ）^{18}Ｆの^{18}Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、および弱塩基中の混合物を生成すること；
（ｃ）ステップｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成すること；および
（ｄ）ステップａ）の溶液をステップｃ）の固形物と反応させ、^{18}Ｆ－標識化合物を生成すること
を含む方法。
【請求項７３】

^{18}Ｆ－放射性標識化合物が構造：

【化１５】



を有する、請求項７２記載の方法。

【請求項７４】

［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～３位に存在する、請求項７２または７３記載の化合物。

【請求項７５】

［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～２位に存在する、請求項７２または７３記載の化合物。

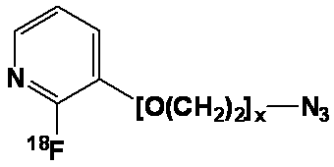
【請求項７６】

［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位がピリジン環の窒素に対して１～４位に存在する、請求項７２または７３記載の化合物。

【請求項７７】

^{18}Ｆ－放射性標識化合物が構造：

【化１６】



を有する、請求項７３記載の方法。

【請求項７８】

ｘが２～６の整数である、請求項７２～７７のいずれか１つに記載の方法。

【請求項７９】

ｘが３～５の整数である、請求項７８記載の方法。

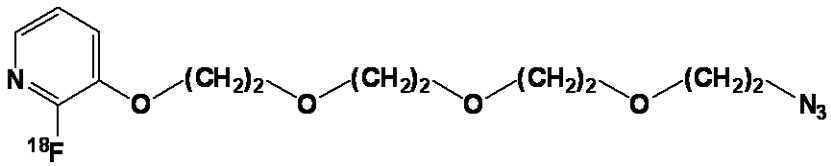
【請求項８０】

ｘが４である、請求項７８記載の方法。

【請求項８１】

^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族が構造：

【化１７】

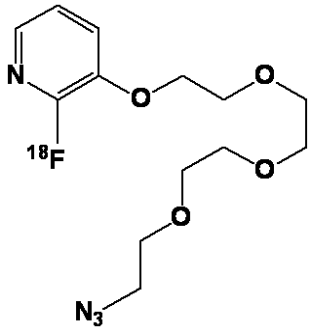


を有する、請求項７７記載の方法。

【請求項８２】

以下の構造：

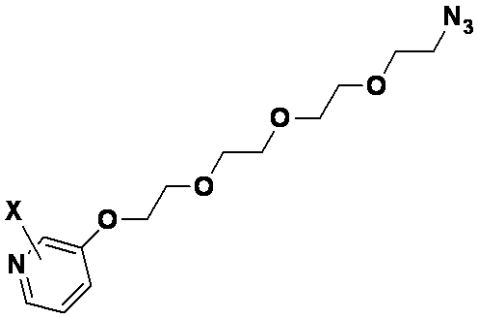
【化１８】



を有する１８Ｆ－標識化合物を製造する方法であって、

ａ）以下の構造：

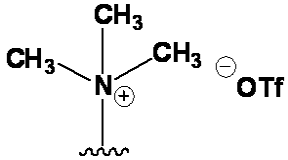
【化１９】



［式中、

ＸはＮＯ$_2$、Ｂｒまたは

【化２０】



である］

で示される化合物の溶液を供すること；

ｂ）１８Ｆの１８Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、および弱塩基中の混合物を供すること；

ｃ）ステップｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成すること；および

ｄ）ステップａ）の溶液をステップｃ）の固形物と反応させ、１８Ｆ－標識化合物を生成すること

を含む方法。

【請求項８３】

Ｒがステップａ）の出発化合物中のＮＯ$_2$である、請求項７２記載の方法。

【請求項８４】

請求項２０～５５のいずれか１つに記載の１８Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを製造する方法であって、請求項１～１９のいずれか１つに記載の１８Ｆ放射性標識補欠分子族を、生体直交性クリック反応を用いて、二価結合性（ＢＦＣ）基を有するタンパク質と結合させることを含む方法。

【請求項８５】

生体直交性クリック反応が金属フリーである、請求項８４記載の方法。

【請求項８６】
タンパク質に結合させるＢＦＣがシクロオクチンを含む、請求項８４または８５記載の方法。
【請求項８７】
シクロオクチンがＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである、請求項８６記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【関連出願】
【０００１】
（関連出願の相互参照）
本願は、米国仮出願第６２／０８４，３６６号、表題「生物学的製剤の^{18}Ｆ－放射性標識のための方法および組成物」（２０１４年１１月２５日出願）の優先権を主張し、その内容は引用により本明細書に援用される。
【技術分野】
【０００２】
本発明は^{18}Ｆ－補欠分子族に関し、体内の様々なプロセスをイメージングするため、疾患病状に関連する分子の位置を検出するため、および疾患の進行をモニターするための、^{18}Ｆ－標識組成物の合成および使用に関する。
【背景技術】
【０００３】
陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）は、高い感受性（フェムトモル）および高分解能（４－１０ｍｍ）を有し、組織成長を定量化することができる、診断医学および創薬において最も広く用いられる方法のうちの１つになっている非侵襲性のイメージング技術である。ＰＥＴイメージングによって得られる生体内の生物学的プロセスに関する有益なインビボ機能の情報によって、前臨床および臨床の両方において同じ手段を用いることができるという、固有の翻訳可能な医療上の利点もまた得られる。
【０００４】
ＰＥＴは^{18}Ｆ、^{64}Ｃｕ、^{11}Ｃ、^{15}Ｏ、^{13}Ｎ、^{66}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{76}Ｂｒ、^{89}Ｚｒ、^{94}ｍＴｃ、^{86}Ｙおよび^{124}Ｉなどの陽電子放出放射性同位体によって標識される分子の設計および合成を利用する。インビボにおいて、これらの放射性トレーサーまたは放射性リガンドは同位体の核から、用いられる同位体に応じてエネルギーの異なる陽電子を放出する。放出された陽電子のエネルギーは、陽電子が電子と衝突して反対方向に５１１ｋｅＶの２つのガンマ線を放出する前に、陽電子が移動する平均距離を制御する。この陽電子消滅によって生じるガンマ線がＰＥＴイメージングスキャナーによって検出され、放射性トレーサーの分布を時間関数として明らかにする平面および断層画像が得られる。そのため、ＰＥＴイメージングにおいて、対消滅の前の陽電子の移動距離および、ガンマ線、アルファ粒子またはベータ粒子など他の放出によって起こる線量測定問題を最小化するためには、低い放出エネルギーを持つ同位体の純粋な陽電子放射体である同位体が好ましい。
【０００５】
さらに、ＰＥＴイメージングに用いられる同位体の半減期は、放射性トレーサー分子の合成および解析、患者への注入、インビボでの局在化、非標的組織からのクリアランス、および鮮明な画像の取得に耐えうる十分な長さでなければならない。^{18}Ｆ（β^{+} ６３５ｋｅＶ ９７％、$t_{1/2}$ １１０分）は、陽電子放出エネルギーが低く、副次的な放出がなく、適切な半減期であるため、最も広く用いられるＰＥＴ放出同位体の１つである。
【０００６】
昔から、ペプチドおよびタンパク質などの生体分子を^{18}Ｆによってラベル化することは、当該放射性核種のラベル化に必要とされる厳しい反応条件（高温、有機溶媒、および強塩基条件）による困難があった。^{18}Ｆによってタンパク質をラベル化するための１つの方法は、厳しいフッ素付加条件に耐えることができる補欠分子族を用いることである。多数の補欠分子族が報告されてきたが（例えば、Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏ．３４：５，

２００７において総括される）、これらの^{18}Ｆ－標識補欠分子族の多くは有機溶媒を必要とし、水性媒体でのタンパク質またはタンパク質のような分子のラベル化に適切でない、または他の望ましくない性質を有する。

【０００７】

そのため、タンパク質およびペプチドなどの^{18}Ｆ－標識標的部位において、インビボイメージング方法に用いるために十分な特異的活性および安定性を保った放射性トレーサー組成物を生成するための迅速で簡単な方法の継続的な需要は未だに存在する。

【発明の概要】

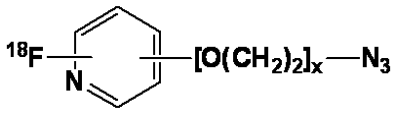
【０００８】

本発明は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部位および末端アジドに結合したニトロ－ピリジンを含む^{18}Ｆ－標識補欠分子族の発明の少なくとも１部に基づき、ここで、補欠分子族は水溶性であり^{18}Ｆ－標識に用いられる他の薬剤よりも揮発性が少なく、当該^{18}Ｆ－標識補欠分子族を生体分子（例えば、ペプチドおよびタンパク質）に導入する反応はＵＶによってモニターされうる。これらの有利な特徴によって、生体分子の生物学的な活性を維持する条件下において高効率、迅速および再現可能な^{18}Ｆ－標識－生体分子の生成方法がもたらされる。いくつかの実施態様において、二価結合性（ｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ｃｏｎｊｕｇａｔｉｎｇ）基（例えば、二価性キレーターなどの環束縛アルキン基）を含む生体分子（例えば、ペプチドおよびタンパク質）は、^{18}Ｆ－標識補欠分子族の末端アジドと「クリック」生体直交性反応を介して共有結合を形成し、生理学的条件下で安定な放射性標識プローブを生成する。最終産物のＵＶ吸光度はさらに、生成物の放射化学的純度を決定するための実用的、好感度および迅速な解析方法につながる。

【０００９】

ある局面において、本明細書では、以下の構造：

【化１】



［式中、

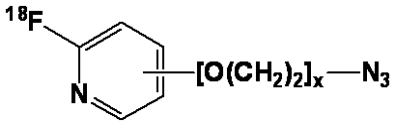
ｘは１～８の整数である］

を有する^{18}Ｆ－標識補欠分子族、またはその薬学的に許容可能な塩が示される。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～２、１～３または１～４位に存在する。関連する実施態様において、^{18}ＦはＮ原子に対してピリジン環のオルト位に結合する。いくつかの実施態様において、薬学的に許容可能な塩はフッ化物塩、臭化物塩、塩化物塩およびヨウ化物塩から成る群から選択される。ある実施態様において、塩はトリフルオロメタンスルホン酸塩である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族または薬学的に許容可能な塩は水溶性である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族または薬学的に許容可能な塩は不揮発性である。

【００１０】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は構造：

【化２】



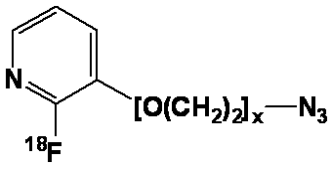
［式中、

ｘは１～８の整数である］
またはその薬学的に許容可能な塩を有する。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～２、１～３または１～４位に存在する。いくつかの実施態様において、薬学的に許容可能な塩はフッ化物塩、臭化物塩、塩化物塩およびヨウ化塩から成る群から選択される。ある実施態様において、塩はトリフルオロメタンスルホン酸塩である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族または薬学的に許容可能な塩は不揮発性である。

【００１１】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は構造：

【化３】

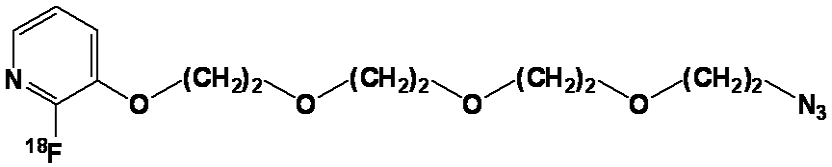


［式中、
ｘは１～８の整数である］
またはその薬学的に許容可能な塩を有する。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。いくつかの実施態様において、薬学的に許容可能な塩はフッ化物塩、臭化物塩、塩化物塩およびヨウ化塩から成る群から選択される。ある実施態様において、塩はトリフルオロメタンスルホン酸塩である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族または薬学的に許容可能な塩は不揮発性である。

【００１２】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は構造：

【化４】



またはその薬学的に許容可能な塩を有する。

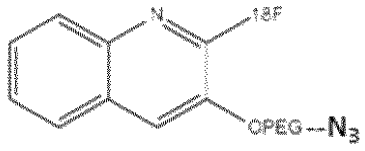
【００１３】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－標識補欠分子族のピリジン環は、当該分子のフッ素化反応に干渉しない１つ以上のさらなる置換基を含む。いくつかの実施態様において、さらなる置換基はＣ$_{1-6}$アルキルであり、例えばメチル、エチルまたはプロピルである。

【００１４】

関連する局面において、本明細書では、構造：

【化５】

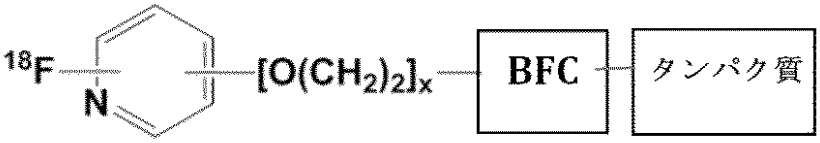


［式中、
「ＯＰＥＧ」は［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$であり、
ｘは１～８の整数である］
を有する^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族、またはその薬学的に許容可能な塩が示される。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。ある実施態様において、ｘは４である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族または薬学的に許容可能な塩は不揮発性である。

【００１５】

いくつかの局面において、本明細書では、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族、二価性のキレーターまたは結合（ＢＦＣ）基、およびタンパク質を含む、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが示され、ここで当該放射性標識タンパク質ベースのプローブは以下の構造：

【化６】

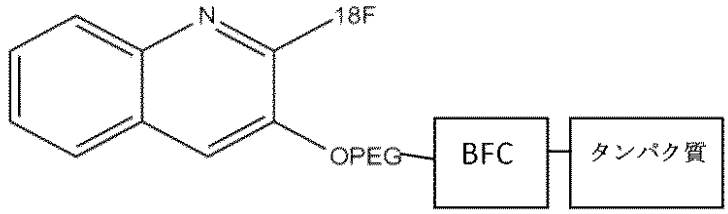


またはその薬学的に許容可能な塩を有する。

【００１６】

いくつかの局面において、本明細書では、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族、二価性のキレーターまたは結合（ＢＦＣ）基、およびタンパク質を含む、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが示され、ここで当該放射性標識タンパク質ベースのプローブは以下の構造：

【化７】



またはその薬学的に許容可能な塩を有する。

【００１７】

いくつかの実施態様において、ＢＦＣはタンパク質上のアミン、カルボキシル、カルボニルまたはチオール官能基と共有結合を形成する反応基を含むシクロオクチンである。いくつかの実施態様において、当該シクロオクチンは、ジベンゾシクロオクチン（ＤＩＢＯ）、ビアリールアザシクロオクチノン（ＢＡＲＡＣ）、ジメトキシアザシクロオクチン（ＤＩＭＡＣ）およびジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）から成る群から選択される。いくつかの実施態様において、当該シクロオクチンはＤＢＣＯである。

【００１８】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）ｙスペーサーアームをさらに含み、ここでｙは１～８の整数である。いくつかの実施態様において、ｙは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｙは４または５である。

【００１９】

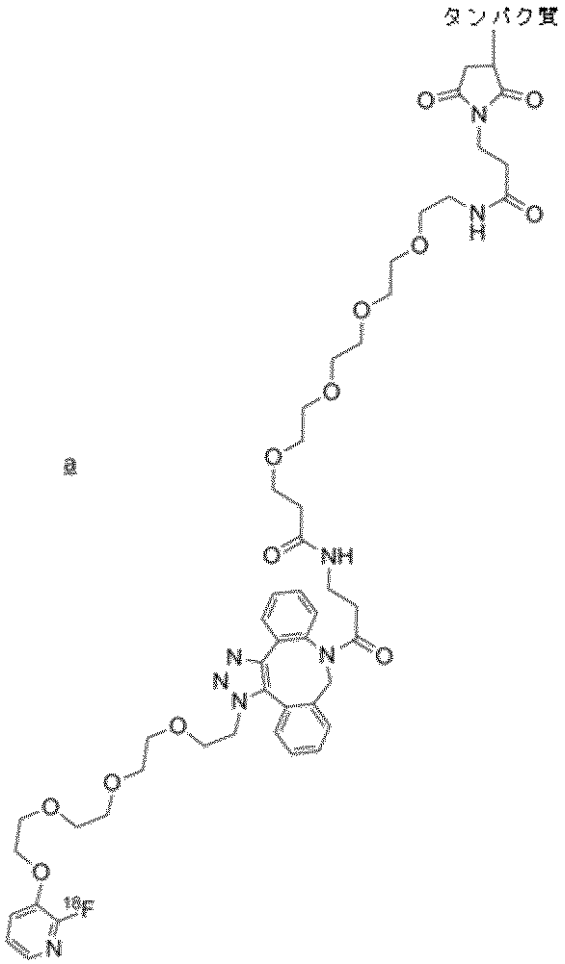
いくつかの実施態様において、ＢＦＣはＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－ＮＨＳ－エステル、ＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ－エステル、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－酸、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－アミ

ンまたはＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである。いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣはＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである。

【００２０】

いくつかの実施態様において、本明細書では、以下の構造：

【化８】



を有する１８Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが示され、ここで当該ＢＦＣのマレイミド基はタンパク質のシステイン残基のチオール基に共有結合している。いくつかの実施態様において、システイン残基はタンパク質のＣ末端に位置する。

【００２１】

関連する実施態様において、１８Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのタンパク質部位はリガンドを含む。いくつかの実施態様において、当該プローブのタンパク質部位は抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施態様において、当該プローブのタンパク質部位はフィブロネクチンベースのスキャホールド（ＦＢＳ）を含む。

【００２２】

関連する実施態様において、１８Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのタンパク質部位は疾患に関連する生体分子に結合する。いくつかの実施態様において、当該疾患は固形癌、造血癌、血液癌、自己免疫性疾患、神経変性疾患、心血管疾患および病原性感染から成る群から選択される。いくつかの実施態様において、当該プローブは腫瘍関連抗原に結合する。いくつかの実施態様において、当該プローブは病原体、例えばウイルス、細菌または真菌に存在するタンパク質に結合する。

【００２３】

いくつかの実施態様において、本明細書で示される１８Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブは医薬組成物の形態でありうる。

【００２４】

関連する局面において、本明細書では、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの画像を得る方法であって、以下のステップ：（ａ）^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを対象に投与すること；および（ｂ）陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）スキャンによって、当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのインビボでの分布をイメージングすることを含む方法が示される。いくつかの実施態様において、当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの画像分布は、疾患の存在または非存在を示す。

【００２５】

関連する局面において、本明細書では、対象の疾患の存在を診断する方法であって、以下のステップ：（ａ）疾患の存在に関係する標的分子に結合する、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを、それを必要とする対象に投与すること；および（ｂ）当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの存在または非存在を検出するために、対象の少なくとも１部分の放射線画像を得ることを含む方法が示され、ここで、バックグラウンドに対する前記^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの存在および位置は、疾患の存在および位置を示す。

【００２６】

関連する局面において、本明細書では、対象の疾患の進行をモニターする方法であって、以下のステップ：（ａ）疾患の存在に関係する標的分子に結合する、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを最初の時点において、それを必要とする対象に投与すること、および疾患細胞または組織の量を決定するために、対象の少なくとも１部分の画像を得ること；および（ｂ）当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブをその後の１回以上の時点において、対象に投与すること、およびそれぞれの時点において、対象の少なくとも１部分の画像を得ることを含む方法が示され、ここでそれぞれの時点における疾患細胞または組織の体積および位置は疾患の進行を示す。

【００２７】

関連する局面において、本明細書では、対象の疾患細胞または組織を定量する方法であって、以下のステップ：（ａ）疾患細胞または組織を有する対象に対して、疾患細胞または組織に位置する標的分子に結合する、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを投与すること；および（ｂ）当該疾患細胞または組織において、^{18}Ｆの放射性放射を検出することを含む方法が示され、ここで、疾患細胞または組織の放射性放射の量および分布は、疾患細胞または組織の定量的な測定基準である。

【００２８】

関連する局面において、本明細書では、疾患を治療するための薬剤のスクリーニング方法であって、以下のステップ：（ａ）疾患に関連する標的タンパク質を発現する細胞が、候補薬剤の存在下または非存在下において当該標的タンパク質と結合する、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブと接触すること；および（ｂ）当該候補薬剤の存在下または非存在下において、陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）を用いて細胞のイメージングを行うことを含む方法が示され、ここで、当該候補薬剤の存在において放射性放射量の減少は、当該薬剤が当該標的タンパク質に結合していることを示す。

【００２９】

これらの方法のいくつかの実施態様において、疾患は固形癌、造血癌、血液癌、自己免疫性疾患、神経変性疾患、心血管疾患および病原性感染（例えば、ウイルス、細菌、または真菌感染）から成る群から選択される。

【００３０】

関連する局面において、本明細書では、標的タンパク質を発現している組織または細胞の定量画像を得る方法であって、細胞または組織を、標的タンパク質に結合する、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブと接触させるステップ、および、陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）を用いて、標的タンパク質を発現している組織を検出するまたは定量するステップを含む方法が示される。

【００３１】

本明細書に記載の方法のいくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブはリガンドを含む。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブは抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブはフィブロネクチンベースのスキャホールド（ＦＢＳ）を含む。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブは、腫瘍関連抗原に結合する。さらに別の実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブは病原体（例えば、ウイルス、細菌または真菌）に存在するタンパク質に結合する。

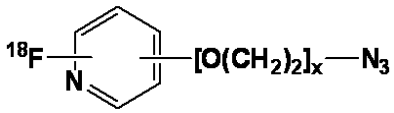
【００３２】

本明細書において、本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを生成するための反応前駆体（例えば、非放射性標識補欠分子族、ＢＦＣ結合タンパク質プローブおよび生体直交性クリック反応を行うための試薬）、および当該^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを生成するための説明書を含むキットもまた示される。

【００３３】

そのため、ある局面において、本明細書では以下の構造：

【化９】



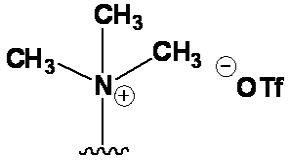
［式中、
ｘは１～８の整数］
を有する^{18}Ｆ－標識補欠分子族を製造する方法であって、以下のステップ：（ａ）以下の構造：

【化１０】

a

［式中、
ｘは１～８の整数であり、
ＲはＮＯ$_2$、Ｂｒ、Ｆまたは

【化１１】



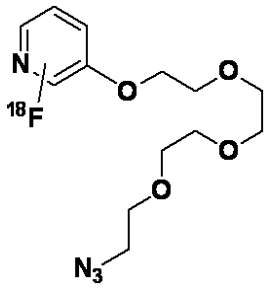
であり、ピリジン環のＮ原子に対しオルト位に存在する］
を有する化合物ａの溶液を生成すること；（ｂ）^{18}Ｆの^{18}Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、および弱塩基中の混合物を生成すること；（ｃ）ステップ（ｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成すること；および（ｄ）ステップ（ａ）の溶液をステップ（ｃ）の固形物と反応させ、^{18}Ｆ－標識化合物を生成すること、を含む方法が示される。

【００３４】

いくつかの実施態様において、当該方法によって、以下の構造ｂ：

【化１２】

b

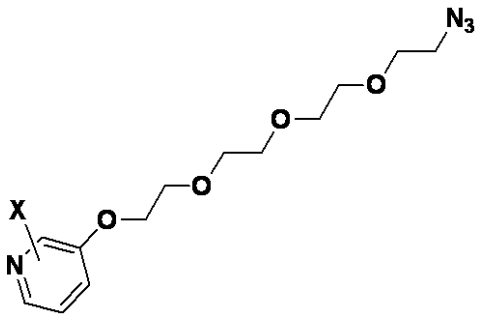


［式中、
^{18}ＦはＮ原子に対しオルト位である］

を有する^{18}Ｆ－ピリジン補欠分子族が製造され、その方法は以下のステップ（ａ）以下の構造：

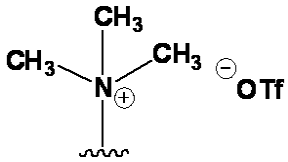
【化１３】

c



［式中、
ＸはＮ原子に対しオルト位であり、
ＸはＮＯ$_2$、Ｂｒまたは

【化１４】



である］

を有する化合物の溶液を生成すること；（ｂ）^{18}Ｆの^{18}Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、および弱塩基中の混合物を生成すること；（ｃ）ステップ（ｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成すること；および（ｄ）ステップ（ａ）の溶液をステップ（ｃ）の固形物と反応させ、^{18}Ｆ－標識化合物を生成すること、を含む。

【００３５】

いくつかの実施態様において、前記ステップａ）の出発化合物において、ＸはＮＯ$_2$である。いくつかの実施態様において、ＸはＮ原子およびＰＥＧ－Ｎ$_3$側鎖に対しオルト位の炭素原子に結合している。いくつかの実施態様において、ステップｂ）の弱塩基はＫ$_2$ＣＯ$_3$、炭酸セシウムまたは水酸化テトラブチルアンモニウムである。ある実施態様において、ステップｂ）の弱塩基はＫ$_2$ＣＯ$_3$である。

【００３６】

関連する局面において、タンパク質の^{18}Ｆ－標識方法が示され、その方法は式ｂの^{1}

^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族を、放射性標識をすべきタンパク質と「クリック反応」によって結合させ、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質を生成するステップを含む。いくつかの実施態様において、生体直交性クリック反応は金属フリーである（例えば、銅フリークリック反応）。いくつかの実施態様において、タンパク質は二価結合性（ｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ｃｏｎｊｕｇａｔｉｎｇ）（ＢＦＣ）基（例えば、二価性キレーター）を含む。いくつかの実施態様において、タンパク質はシクロオクチンＢＦＣを含む。いくつかの実施態様において、タンパク質はＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドを含み、またはそれに共有結合している。

【００３７】

本開示の別の特徴および利点は以下の詳細な説明および実施例から明らかであり、これらは限定するものとして解釈されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【００３８】

【図１】図１は［^{18}Ｆ］－Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡの化学合成のためのスキームである。当該分子のＥ０１部位は配列番号１に記載された配列を有する。

【００３９】

【図２】図２は、ガンマ計測器によってエクスビボで測定された、両側性のＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７およびＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９の異種移植片を有するマウスにおける、^{18}Ｆ－Ａ０２放射性トレーサーの組織分布を表す棒グラフである。

【００４０】

【図３】図３はカニクイサルにおける、^{18}Ｆ－Ｅ０１の分布を表す合成画像である。

【００４１】

【図４】図４ＡおよびＢは異種移植片およびヒトの肺組織における、^{18}Ｆ－Ａ０２のインビトロオートラジオグラフィー画像を表す。

【００４２】

【図５】図５は金属フリーの「クリック反応」を用いた［^{18}Ｆ］－放射性標識－Ａ０２－ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡの合成のためのスキームである。

【００４３】

【図６】図６は［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡの自動合成のためのＧＥ　ＴＲＡＣＥＲｌａｂ　ＦＸ２　Ｎ合成モジュールのスキームである。

【００４４】

【図７】図７は［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡの自動合成のためのＳｙｎｔｈｅｒａ合成モジュール（ＩＢＡ）のスキームである。

【発明を実施するための形態】

【００４５】

（詳細な説明）

本明細書において、^{18}Ｆ－補欠分子族および当該^{18}Ｆ－補欠分子族を製造するための方法が記述される。本明細書において、^{18}Ｆ－補欠分子族を含む放射性標識組成物、並びに疾患細胞および／または組織および関連する生物学的状態の診断、局在化、モニターおよび／または評価のための、これらの放射性標識組成物の使用もまた記述される。

【００４６】

（定義）

本開示がさらに容易に理解されうるために、いくつかの用語を最初に定義する。さらなる定義は詳細な説明に記載される。特に定義されない限り、本明細書で用いられる全ての技術および科学用語は、当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を持ち、質量分析、ＮＭＲ、ＨＰＬＣ、タンパク質化学、生化学、ＤＮＡ組み換え技術および薬理学の従来の方法が用いられる。

【００４７】

本明細書で用いられる単数形「ａ」「ａｎ」および「ｔｈｅ」は、文脈上明らかに他を指していない限り、複数の指示対象を含む。「または」または「および」の使用は、特に

明示されていない限り、「および／または」を意味する。さらに、用語「例えば（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」並びに「など（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」および「含まれる（ｉｎｃｌｕｄｅｄ）」などの他の形態の使用は、限定的なものではない。

【００４８】

本明細書で用いられる「約」は、数字の１０％増減以内であることを意味する。例えば、「約１００」は９０から１１０の間のいずれかの数字を指す。

【００４９】

本明細書で用いられる「医療用イメージング」は、臨床的目的（疾患を解明し、診断し、モニターしようとする医療処置）または医学（通常の解剖学または生理学の研究など）のために、対象の体（またはその一部）の画像を得るのに用いられる技術およびプロセスをいう。

【００５０】

本明細書で用いられる「陽電子放出断層撮影」または「ＰＥＴ」は、体内のトレーサーの位置の３次元画像を得る、非侵襲性の核医学技術をいう。当該方法は、体内の生物学的に活性な分子に導入された陽電子放出核種（トレーサー）によって、間接的に放出されるガンマ線の対を検出する。ＰＥＴイメージング方法は前臨床的および臨床的な両方の創薬において、様々な種類の用途があり、助けとなる。応用例としては、標的のインビボでの飽和の直接的な可視化；毒性または患者ごとの変動を予測するための、正常組織における取り込みのモニター；疾患組織の定量化；腫瘍の転移；および薬剤の経時的な効果または経時的な耐性のモニターが挙げられる。

【００５１】

用語「生体直交性化学」は、従来の生化学的プロセスに干渉せずに、生物系の内部で起こりうるいずれかの化学反応をいう。当該用語は、生理学的ｐＨまたは水の存在下におけるインビトロで起こる化学反応である化学反応を含む。生体直交性であるためには、反応は選択的であり、出発化合物に存在する他の官能基との副反応を避ける必要がある。さらに、反応相手との間に形成された共有結合は強く、生物学的反応に化学的に不活性でなければならず、目的分子の生物学的活性に影響してはならない。

【００５２】

用語「クリックケミストリー」は、新たな化合物および組み合わせライブラリーの迅速な合成のための、確実で選択的な生体直交性反応をいう。クリック反応の性質としては、生理学的条件下で安定な化合物を生成するための、モジュール性、範囲の広さ、高収率、立体選択性、および簡単な生成物の単離（不活性な副生成物の、非クロマトグラフィー的な方法による分離）が挙げられる。放射化学および放射性薬学において、クリック反応は選択的でモジュール式の構成要素を利用し、触媒なしで放射性標識された生物学的に関連のある化合物の化学選択的な連結を可能にする、一連の標識化反応の総称である。「クリック反応」は銅を用いてもよく、または銅フリーのクリック反応でもありうる。

【００５３】

用語「補欠分子族」または「二価性標識薬剤」は、ペプチドまたはタンパク質に結合させることのできる放射性核種（例えば、^{18}Ｆ）を含む小さな有機分子をいう。

【００５４】

本明細書で、放射性医薬品化学に関して用いられる用語「キレーターリガンド」は、放射性標識補欠分子族を生物学的に活性な標的分子（例えば、ペプチドまたはタンパク質）と共有結合的に結合させる二価性キレーターまたは二価結合性（ＢＦＣ）基（本明細書において交互に用いられる）をいう。ＢＦＣはカルボン酸またはアミドカップリングのための活性化エステル、チオ尿素カップリングのためのイソチオシアネート、およびチオールカップリングのためのマレイミドなどの官能基を利用する。

【００５５】

本明細書で用いられる、一般的に「生物学的標的」と呼ばれる「標的」は、細胞、組織（例えば、癌または腫瘍）、病原性微生物（例えば、細菌、ウイルス、真菌、植物、プリ

オン、原生生物またはその一部）または組織の炎症、プラーク形成などの生物学的経路もしくは生物学的現象に関連する他の分子をいう。

【００５６】

用語「標的リガンド」、「標的薬剤」または「標的分子」は、他の分子に結合する、ペプチド、タンパク質、糖タンパク質などの分子を指すために交互に用いられる。いくつかの実施態様において、標的薬剤は、特定の細胞、組織、病原体または生物学的経路に関連する分子を「標的」にするために、当該^{18}Ｆ－補欠分子族に結合している。

【００５７】

本明細書で用いられる「ポリペプチド」は、長さ、翻訳後修飾、または機能を問わない２つ以上のアミノ酸のいずれかの配列をいう。「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は本明細書において交互に用いられる。ポリペプチドは天然アミノ酸および引用により本明細書に援用される、米国特許第６，５５９，１２６号において記述されるもののような、非天然アミノ酸を含みうる。ポリペプチドはまた、様々な一般的な化学的手法のいずれかによって修飾されうる（例えば、アミノ酸は保護基によって修飾されうる；アミノ酸のカルボキシ末端は末端のアミド基を形成しうる；末端のアミノ基は、例えば親油性を上昇させるような基によって修飾されうる；またはポリペプチドは化学的に糖化されうるか、そうでなければ安定性もしくはインビボでの半減期を上昇させるような修飾を受けうる）。ポリペプチドの修飾は環状化合物または他の分子などの他の構造をポリペプチドに結合させることを含み得、立体配置の変化した（すなわち、ＲもしくはＳ；またはＬもしくはＤ）１つ以上のアミノ酸もまた含みうる。

【００５８】

「単離された」ポリペプチドは自然環境の一成分から同定、分離および／または回収されたものである。自然環境からの混入成分は、ポリペプチドの診断または治療的使用に干渉しうる物質であり、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質を含みうる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは（１）ローリー法によって決定されるポリペプチドの重量が、９５％より大きく、最も好ましくは重量が９９％より大きく、（２）少なくともＮ末端または内部のアミノ酸配列の残基を、スピニング・カップ・シークエネーターを用いて得るのに十分な程度であり、または（３）クーマシーブルーまたは好ましくは銀染色を用いて、還元または非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによって均一化されるまで精製される。単離されたポリペプチドは、当該ポリペプチドの自然環境の少なくとも１つの成分が存在しないので、組み換え細胞内の原位置のポリペプチドを含む。通常は、しかしながら、単離されたポリペプチドは少なくとも１回の精製ステップによって得られる。

【００５９】

本明細書で交互に用いられる用語「特異的に結合」、「特異的結合」、「選択的結合」、および「選択的に結合」は、これらに限定はされないが、スキャチャード解析および／または競合結合測定（例えば、競合ＥＬＩＳＡ、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ）などの当技術分野において利用可能な技術を用いて測定される、生物学的標的に対する親和性を発揮するが、他の分子に対する有意な結合を示さない（例えば、約１０％未満の結合）ペプチドまたはポリペプチドをいう。

【００６０】

本明細書で用いられる用語「選択的な結合」は、これらに限定はされないが、スキャチャード解析および／または競合結合測定（例えば、競合ＥＬＩＳＡ、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ）などの当技術分野において利用可能な技術を用いて測定される、ペプチドまたはタンパク質が異なる生物学的標的に結合するよりも少なくとも約２０％より多く、選択された生物学的標的に結合することをいう。

【００６１】

本明細書で用いられる用語「K_D」は、表面プラズモン共鳴アッセイまたは細胞結合アッセイを用いて測定される、タンパク質－タンパク質相互作用（例えば、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ－標的分子）の平衡解離定数、または^{18}Ｆ－放射性標

識タンパク質ベースのプローブの標的タンパク質に対する親和性をいうことが意図される。本明細書で用いられる「望ましいK_D」は想定された目的にとって十分でである^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのK_Dをいう。例えば、望ましいK_Dは、インビボイメージングアッセイまたはインビトロアッセイ、例えば、細胞ベースのルシフェラーゼアッセイにおいて、機能効果を導き出すのに必要な^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのK_Dを指しうる。

【００６２】

本明細書で用いられる用語「k_{ass}」は、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ／標的タンパク質の複合体を形成するための結合速度定数をいうことが意図される。

【００６３】

本明細書で用いられる用語「k_{diss}」は、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブが^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ／標的タンパク質の複合体から解離するための解離速度定数をいうことが意図される。

【００６４】

本明細書で用いられる用語「IC_{50}」は、インビトロまたはインビボアッセイのいずれかにおいて、最大の阻害反応の５０％、すなわち最大の阻害反応および未反応の中間の水準まで反応を阻害する、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの濃度をいう。

【００６５】

用語「ＰＫ」は「薬物動態」の頭文語であり、例えば対象による吸収、分布、代謝および排出などの化合物の性質を含む。本明細書で用いられる「ＰＫ調節タンパク質」または「ＰＫ部位」は、生物学的に活性な分子に結合している、またはそれと併用投与される場合に、生物学的に活性な分子の薬物動態特性に影響するいずれかのタンパク質、ペプチドまたは部位をいう。ＰＫ調節タンパク質またはＰＫ部位の例としては、ＰＥＧ、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）結合剤（米国出願第２００５／０２８７１５３号および２００７／０００３５４９号、ＰＣＴ出願第ＷＯ２００９／０８３８０４号およびＷＯ２００９／１３３２０８号に開示される）、ヒト血清アルブミンおよびそのバリアント、トランスフェリンおよびそのバリアント、ＦｃまたはＦｃフラグメントおよびそれらのバリアント、並びに糖（例えば、シアル酸）が挙げられる。

【００６６】

タンパク質または化合物の「血中半減期」は、例えば、自然機構による、配列もしくは化合物の分解、および／または配列もしくは化合物のクリアランスもしくは隔離などによって、インビボでのポリペプチドの血清濃度が５０％まで減少するのに必要な時間と一般に定義されうる。当該半減期は薬物動態解析などのそれ自体が周知のいずれかの方法によって決定されうる。適切な技術は当業者にとって明らかであり、例えば、本明細書のアミノ酸配列または化合物の適切な用量を対象に適切に投与するステップ；対象から定期的に血液サンプルまたは他のサンプルを回収するステップ；前記の血液サンプルにおいて、本明細書のアミノ酸配列または化合物の量または濃度を決定するステップ；および前記で得られたデータ（の一部）から、本明細書のアミノ酸配列または化合物の量または濃度が、投与時の初期量と比較して５０％まで減少するまでの時間を計算するステップを一般的に含みうる。例えば、Ｋｅｎｎｅｔｈ，Ａ．ｅｔ．ａｌ．，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｔａｂｉｌｉｔｙ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ：Ａ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｆｏｒ ｐｈａｒｍａｃｉｓｔｅｓ、およびＰｅｔｅｒｓ ｅｔ．ａｌ．，Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ（１９９６）などの標準的な便覧を参照されたい。Ｇｉｂａｌｄｉ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．，２ｎｄ Ｒｅｖ．Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒもまた参照されたい。

【００６７】

半減期は$t_{1/2}$－アルファ、$t_{1/2}$－ベータ、ＨＬ＿ラムダ＿ｚ、および血中濃度時間曲線下面積（ＡＵＣ）などを用いて表されうる。本明細書において、「半減期の増加

」とはこれらのパラメーターのいずれか１つ、これらのパラメーターのいずれか２つ、これらのパラメーターのいずれか３つ、またはこれらのパラメーターの４つ全てにおける増加をいう。「半減期の増加」は特に、$t_{1/2}$－ベータ、および／またはＨＬ＿ラムダ＿ｚの増加をいい、$t_{1/2}$－アルファおよび／またはＡＵＣまたはその両方の増加を伴っても伴わなくてもよい。

【００６８】

本明細書で用いられる用語「結合した」は２つ以上の分子の結合をいう。当該結合は共有結合または非共有結合でありうる。当該結合はまた、遺伝子的（例えば、遺伝子組み換えによって結合されたもの）でもありうる。このような結合は、化学的接合および組み換えタンパク質生成などの当技術分野で認められる様々な種類の技術を用いて達成されうる。

【００６９】

用語「診断」または「検出」は交互に用いられうる。診断は通常、組織の特定の組織学的状態を定義することをいう一方で、検出は、特定の検出可能な標的を含む組織、病変または生物を認識し、見つけ出す。

【００７０】

用語「検出可能」はバックグラウンドのシグナルに対して、シグナルを検出することができることをいう。本明細書でイメージング剤および診断の文脈において用いられる用語「検出可能なシグナル」は、これに限定はされないが、陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）などの非侵襲性のイメージング技術によって生じるシグナルである。検出可能なシグナルは検出可能であり、対象から発生しうる他のバックグラウンドシグナルと区別できる。言い換えれば、検出可能シグナルとバックグラウンドの間に、測定可能および統計的に有意な違いが存在する（例えば、統計的に有意な違いは、検出可能なシグナルおよびバックグラウンドを区別するのに十分な違いであり、例えば検出可能なシグナルおよびバックグラウンドの違いが約０．１％、１％、３％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、または４０％またはそれ以上である）。検量線および／または較正曲線が、検出可能なシグナルおよび／またはバックグラウンドの相対強度を決定するために用いられうる。

【００７１】

本明細書に記載のイメージング剤を含む組成物の「検出可能な有効量」は、臨床的使用が可能な装置を用いて、許容可能な画像を得るのに十分な分量と定義される。本明細書で提供されるイメージング剤の検出可能な有効量は、１回以上の注射によって投与されうる。検出可能な有効量は、個体の感受性の程度、個体の年齢、性別および体重、個体の特異体質反応などの因子によって変化しうる。イメージング組成物の検出可能な有効量はまた、用いられる機器および方法に従って変化しうる。このような因子の最適化は、十分に当分野の技術の範囲内である。

【００７２】

本明細書においてイメージング剤に関連して用いられる「投与する」は、当業者にとって周知の様々な方法および送達システムのいずれかを用いて、イメージング剤を含む組成物を対象に物理的に導入することをいう。本明細書に記載のイメージング剤の好ましい投与経路としては、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄または、例えば注射もしくは点滴などによる他の非経口経路による投与が挙げられる。本明細書で用いられる用語「非経口投与」は、経腸および局所投与以外の、通常は注射による投与方法を意味し、例として、これら限定はされないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ内、病巣内、関節内、眼窩内、心臓内、皮内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および点滴、並びにインビボエレクトロポーションが挙げられる。あるいは、本明細書に記載のイメージング剤は、局所、上皮または粘膜経路による投与など、例えば鼻腔内、経口、膣内、直腸内、舌下または局所投与などの、非－非経口投与（ｎｏｎ－ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ）によって投与されうる。投与はまた、例えば、１回、複数回で、および／または１回以上の長期間にわたって実行されうる。

【００７３】

本明細書で用いられる用語「併用投与」などは、選択された医薬品を１人の患者に投与すること含むことを意味し、当該薬剤が同じもしくは異なる投与経路によって、または同じもしくは異なる時点において投与されるレジメンを含むことが意図される。

【００７４】

用語「患者」および「対象」は、本明細書に記載のイメージング剤を含む組成物を与えられるヒトまたは非ヒト動物のいずれかをいう。インビトロ診断および応用研究などのインビトロでの応用のために、前記の対象の血液、尿または組織サンプルなどの、体液および細胞サンプルは使用に適している。

【００７５】

用語「サンプル」は組織サンプル、細胞サンプル、液体サンプルなどを表しうる。当該サンプルは対象から採取されうる。組織サンプルとしては、髪（毛根を含む）、口腔粘膜検体、血液、唾液、精液、筋肉、またはいずれかの内臓からのサンプルが挙げられる。液体サンプルは、これらに限定はされないが、尿、血液、腹水、胸膜液、髄液などでありうる。体内組織としては、これらに限定はされないが、皮膚、筋肉、子宮内膜、子宮、および頸部組織が挙げられる。

【００７６】

用語「同位体的に純粋な」とは、ある同位体が他の同位体に対してより多くの割合で含まれる成分、化合物または組成物を意味する。いくつかの実施態様において、当該成分、化合物、または組成物は約４０％、５０％、または６０％を超えて同位体的に純粋である。

【００７７】

本明細書で用いられるように、標的分子の画分を出発混合物と比較して濃縮するために、標的分子が部分的にまたは全体的に非標識分子から分離される場合に、標的分子が「精製」される。「精製」された標的分子は、標識および非標識分子を、これらに限定はされないが、約５：９５；１０：９０；１５：８５；２０：８０；２５：７５；３０：７０；４０：６０；５０：５０；６０：４０；７０：３０；７５：２５；８０：２０；８５：１５；９０：１０；９５：５；９７：３；９８：２；９９：１または１００：０などのほとんどいずれかの割合で有する混合物を含みうる。

【００７８】

「ＯＴｆ」基は式CF_3SO_3またはトリフルオロメタンスルホン酸を有するトリフラートをいう。

【００７９】

用語「ハロ」または、その代わりの「ハロゲン」もしくは「ハライド」はフルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードを意味する。

【００８０】

本明細書全体にわたって、基およびその置換基は、安定な部位および化合物、並びに薬学的に許容可能な化合物として利用可能な化合物、並びに／または薬学的に許容可能な化合物の製造において利用可能な中間化合物を提供するように、当業者によって選択されうる。

【００８１】

本明細書に記載の様々な局面は、下記のサブセクションにおいてさらに詳細に記載される。

Ｉ．^{18}Ｆ放射性標識補欠分子族

【００８２】

ある局面において、本明細書では、アジドおよびシクロオクチン間の１，３－双極性環化付加に関する、耐水性条件下で選択的に進行する生体直交性反応に用いるための補欠分子族を含む^{18}Ｆ－放射性標識化合物が示される。本発明の^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族は、１００％の水に可溶であり、当該補欠分子族をペプチドまたはタンパク質分子に結合させるために有機相を必要としない。多くの生体分子（例えば、ペプチドまたはタンパク質）は少量の有機溶媒に対してであっても持ちこたえることができず、分解および凝集

の問題が生じるため、この特徴は特に有利である。

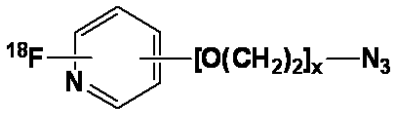
【００８３】

さらに、脂肪族補欠分子族と異なり、本補欠分子族を用いて、^{18}Ｆフッ素化反応をＵＶによってモニターすることができる。本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族は揮発性ではない。さらに、記載される^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族は、例えば、実施例に記載されるような、銅フリーのクリックケミストリーを用いて、生体分子に導入され得、それによって銅介在クリックケミストリーが用いられる場合に、いくつかの生体分子において観測される安全性の問題を回避することができる。

【００８４】

ある局面において、本明細書では、以下の構造：

【化１５】

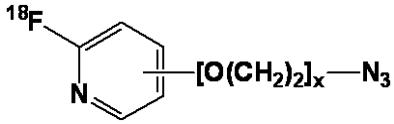


［式中、
ｘは１～８の整数である］
を有する、アジドに対して共有結合的に付加されたＰＥＧ化^{18}Ｆ－ピリジン、またはその薬学的に許容可能な塩が示される。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。関連する実施態様において、^{18}Ｆはピリジンの窒素原子に対してオルト位に結合している。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素原子に対して１～３位に存在する。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～２位に存在する。別の実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～４位に存在する。

【００８５】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は、構造：

【化１６】

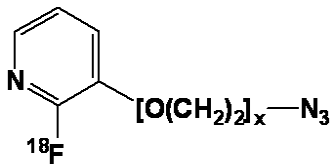


［式中、
ｘは１～８の整数である］
またはその薬学的に許容可能な塩を有する。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素原子に対して１～３位に存在する。いくつかの実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～２位に存在する。別の実施態様において、［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$部位はピリジン環の窒素に対して１～４位に存在する。

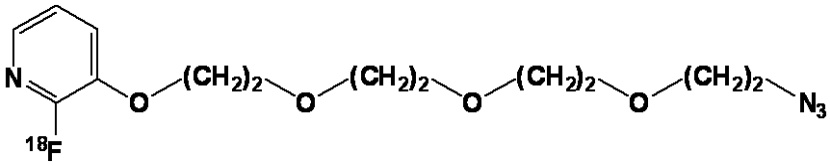
【００８６】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は、構造：

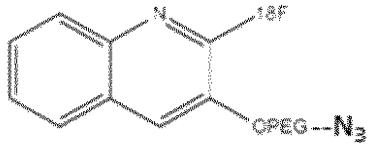
【化１７】



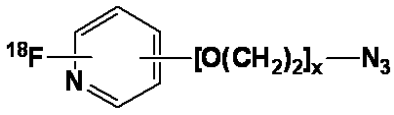
［式中、
ｘは１～８の整数である］
を有する。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。
【００８７】
いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識化合物は［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン（^{18}Ｆ－ＦＰＰＥＧＡ）であり、構造：
【化１８】



を有する。
【００８８】
別の実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族は、ピリジン環上にフッ素化反応に干渉しないさらなる基を含みうる。いくつかの実施態様において、ピリジン環への付加物としては、Ｃ$_{1-6}$アルキル基、例えばメチル、エチルおよびプロピルが挙げられる。
【００８９】
さらに別の実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識補欠分子族は環系に結合し、以下の構造：
【化１９】



［式中、
「ＯＰＥＧ」は［Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$］$_x$であり、
ｘは１～８の整数である］
を有する。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。
【００９０】
関連する局面において、本明細書では、以下の構造：
【化２０】

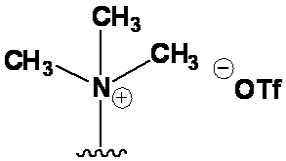


［式中、
ｘは１～８の整数である］
を有する、アジドに対して共有結合的に付加されたＰＥＧ化^{18}Ｆ－ピリジンの製造方法であって、以下のステップを含む方法が示される：
（ａ）以下の構造：

【化２１】

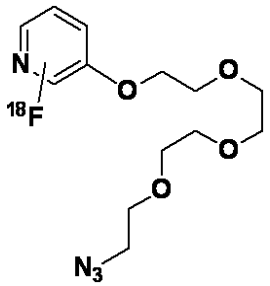
a

［式中、
ｘは１～８の整数であり、
ＲはＮＯ$_2$、Ｂｒ、Ｆまたは
【化２２】



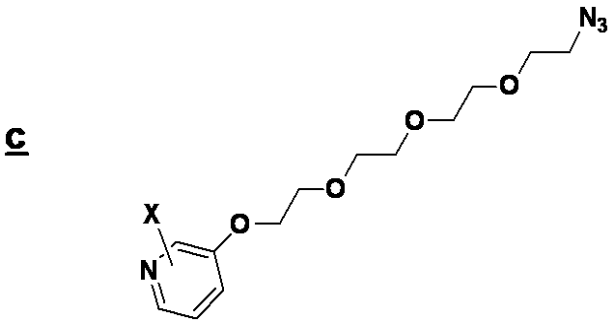
であり、ピリジン環のＮ原子に対してオルト位である］
を有する化合物ａの溶液を生成する；
（ｂ）^{18}Ｆの^{18}Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、および弱塩基中の混合物を供する；
（ｃ）ステップ（ｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成する；および
（ｄ）ステップ（ａ）の溶液をステップ（ｃ）の固形物と反応させ、^{18}Ｆ－標識化合物を生成する。
【００９１】
いくつかの実施態様において、当該方法によって、以下の構造ｂ：
【化２３】

b

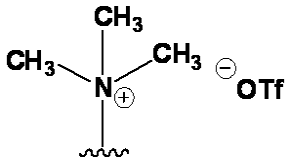


［式中、
^{18}ＦはＮ原子のオルト位である］
を有する^{18}Ｆ－ピリジン補欠分子族が製造され、その方法は以下のステップを含む：
（ａ）構造：

【化２４】



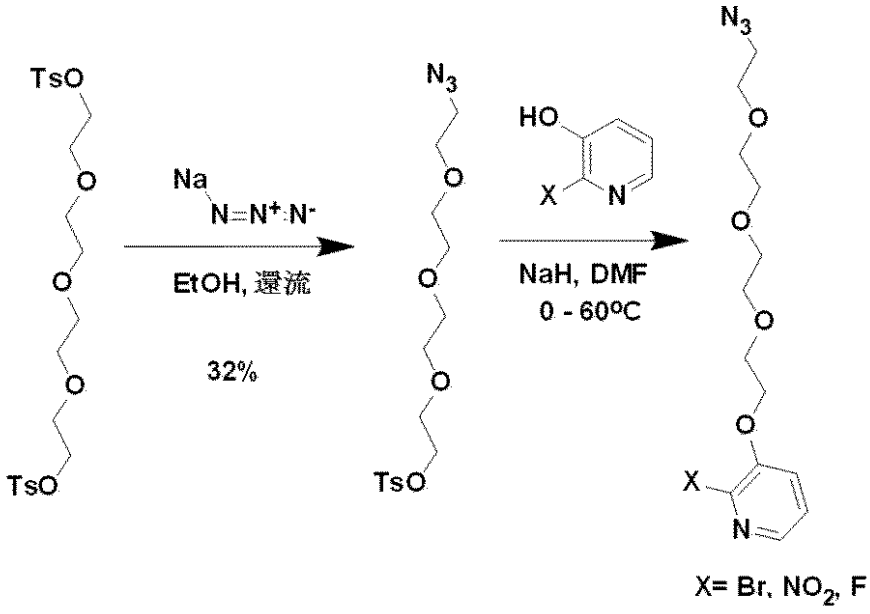
［式中、
ＸはＮ原子に対してオルト位であり、
ＸはＮＯ$_2$、Ｂｒまたは
【化２５】



である］
の化合物の溶液を生成する；
（ｂ）^{18}Ｆの^{18}Ｏ水、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン、およびＫ$_2$ＣＯ$_3$などの弱塩基中の混合物を生成する；
（ｃ）ステップ（ｂ）の混合物を乾燥させ、固形物を生成する；および
（ｄ）ステップ（ａ）の溶液をステップ（ｃ）の固形物と反応させ、^{18}Ｆ－標識化合物を得る。
【００９２】
いくつかの実施態様において、当該方法は以下の構造ａ：
【化２６】

を有する化合物を、下記のスキームＩ：

【化２７】

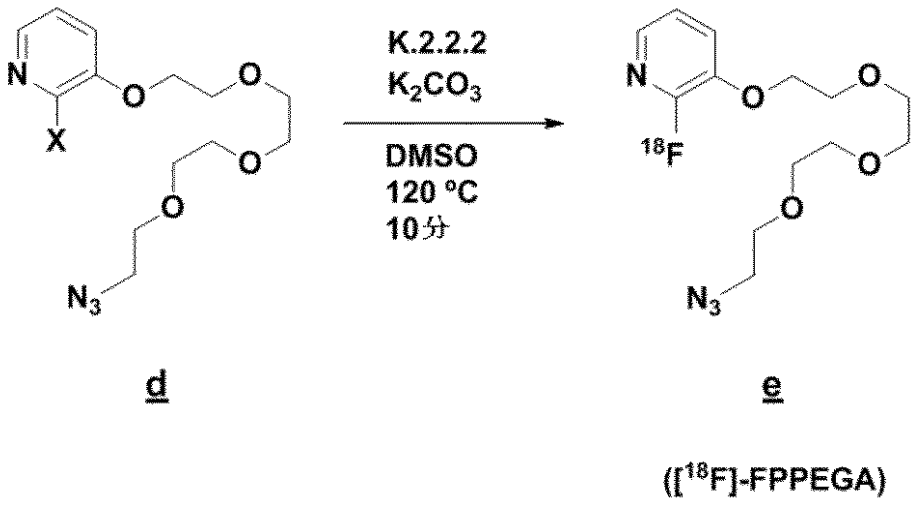


に従って製造するステップをさらに含む。

【００９３】

いくつかの実施態様において、当該方法は１８Ｆ－ピリジン補欠分子族である、［１８Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン（１８Ｆ－ＦＰＰＥＧＡ）、すなわちｅをｄから、以下の反応条件：

【化２８】



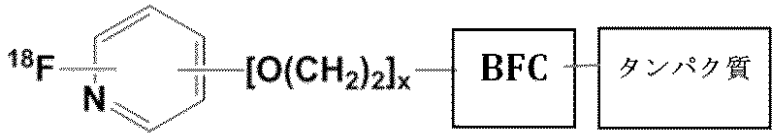
に従って製造することを含む。

【００９４】

ＩＩ．１８Ｆ－放射性標識生物学的プローブ

いくつかの局面において、本明細書では、以下の構造：

【化２９】



［式中、
ｘは１～８の整数である］
を有する^{18}Ｆ－放射性標識プローブまたは薬剤が示される。いくつかの実施態様において、ｘは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは３～５の整数である。いくつかの実施態様において、ｘは４である。

【００９５】

ＢＦＣ

本明細書において開示される放射性標識組成物において用いられうる二価性キレーターまたは結合性（ＢＦＣ）基は、市販（例えば、Ｓｉｇｍａ Ａｌｄｒｉｃｈ；クリックケミストリーツール）であるか、または周知の化学反応に従って合成されうる。

【００９６】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣはシクロオクチンに基づく化合物（例えば、ＤＢＣＯ、ＤＩＢＯ）、ＤＦＯ、ＤＯＴＡおよびその誘導体（ＣＢ－ＤＯ２Ａ、３ｐ－Ｃ－ＤＥＰＡ、ＴＣＭＣ、Ｏｘｏ－ＤＯ３Ａ）、ＴＥ２Ａ、ＣＢ－ＴＥ２Ａ、ＣＢ－ＴＥ１Ａ１Ｐ、ＣＢ－ＴＥ２Ｐ、ＭＭ－ＴＥ２Ａ、ＤＭ－ＴＥ２Ａ、ジアムサル（ｄｉａｍｓａｒ）およびその誘導体、ＮＯＤＡＳＡ、ＮＯＤＡＧＡ、ＮＯＴＡ、ＮＥＴＡ、ＴＡＣＮ－ＴＭ、ＤＴＰＡ、１Ｂ４Ｍ－ＤＴＰＡ、ＣＨＸ－Ａ’’－ＤＴＰＡ、ＴＲＡＰ（ＰＲＰ９）、ＮＯＰＯ、ＡＡＺＴＡおよびその誘導体（ＤＡＴＡ）、H_2デドパ（H_2ｄｅｄｐａ）、H_4オクタパ（H_4ｏｃｔａｐａ）、H_2アザパ（H_2ａｚａｐａ）、H_5デカパ（H_5ｄｅｃａｐａ）、H_6ホスパ（H_6ｐｈｏｓｐａ）、ＨＢＥＤ、ＳＨＢＥＤ、ＢＰＣＡ、ＣＰ２５６、ＰＣＴＡ、ＨＥＨＡ、ＰＥＰＡ、ＥＤＴＡ、ＴＥＴＡ、並びにＴＲＩＴＡに基づくキレート剤、並びにそれらの近縁の類似体および誘導体から選択される。キレート剤および放射性核種の適切な組み合わせは、Ｐｒｉｃｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ Ｒｅｖ ２０１４；４３：２６０－９０において広範囲にわたって記述される。

【００９７】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣは標的タンパク質またはペプチド上のアミン、カルボキシル、カルボニルまたはチオール官能基と共有結合を形成する反応基を含むシクロオクチンである。シクロオクチン上の反応基としては、エステル、酸、ヒドロキシル基、アミノオキシ基、マレイミド、α－ハロゲンケトンおよびα－ハロゲンアセトアミドが挙げられる。

【００９８】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣはジベンゾシクロオクチン（ＤＩＢＯ）、ビアリールアザシクロオクチノン（ＢＡＲＡＣ）、ジメトキシアザシクロオクチン（ＤＩＭＡＣ）およびジベンゾシクロオクチン（ＤＢＣＯ）などのシクロオクチンである。いくつかの実施態様において、当該シクロオクチンはＤＢＣＯである。

【００９９】

いくつかの実施態様において、当該シクロオクチンは親水性のポリエチレングリコール（ＰＥＧ）$_y$スペーサーアームを含み、ここで、ｙは１～８の整数である。いくつかの実施態様において、ｙは２～６の整数である。いくつかの実施態様において、ｙは４または５である。

【０１００】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣは１級アミン（例えば、リシン残基の側鎖ま

たはアミノシラン被覆表面）と選択的および効率的に反応する、ＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－ＮＨＳ－エステルまたはＤＢＣＯ－スルホ－ＮＨＳ－エステルである。いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣは、安定なアミド結合を形成する活性剤（例えばＥＤＣ）の存在下で、１級または２級アミンと反応しうる末端カルボン酸（－ＣＯＯＨ）を有するＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－酸である。いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣは活性剤（例えばＥＤＣまたはＤＤＣ）の存在下でカルボキシル基と、または安定なアミド結合を形成する活性化エステル（例えばＮＨＳエステル）と反応するＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－アミンである。

【０１０１】

いくつかの実施態様において、当該ＢＦＣはシステイン残基、例えばポリペプチドのＣ末端付近のシステイン残基において、スルフヒドリル基と反応するＤＢＣＯ－ＰＥＧ４－マレイミドである。

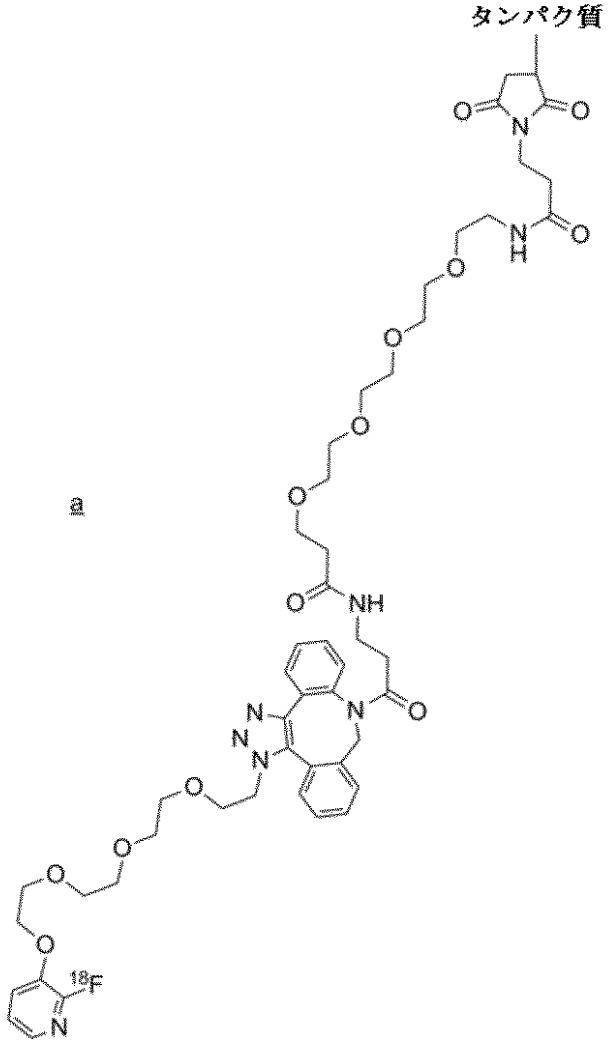
【０１０２】

いくつかの実施態様において、タンパク質を標識するために、当該タンパク質は補欠分子族を結合させるためのシステインを組み込むようにあらかじめ改変されている。例えば、システインはタンパク質のＣ末端に付加されうる。いくつかの実施態様において、ＰｘＣｙがタンパク質のＣ末端に付加され、ここで、Ｐはプロリン、Ｃはシステイン、ｘは少なくとも０である整数（例えば、０、１または２）、およびｙは少なくとも１である整数である。タンパク質を改変する方法は当技術分野において周知である。

【０１０３】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識プローブまたは薬剤は以下の構造ａ：

【化３０】



を有し、ここで、ＢＦＣはシステイン残基においてタンパク質に結合する。

【０１０４】

本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識標的薬剤は、インビボで直接使用するのに適切な溶媒（例えば生理食塩水）において、本明細書に記載の手順に従い、生体直交性で金属フリーのクリックケミストリーを用いて製造されうる。

【０１０５】

ＩＩＩ．タンパク質／ペプチド標的分子

本明細書に示される^{18}Ｆ－補欠分子族は、標的分子とインビボでの生物学的標的（例えば細胞または組織）の間の相互作用に影響することなしに改変されうる誘導体化基を含むものであれば、実質的にあらゆる標的分子に結合されうる。

【０１０６】

いくつかの実施態様において、当該標的分子は、これらに限定はされないが、抗体、抗体フラグメント、フィブロネクチンベースの分子、およびリガンド（例えば、ホルモン、増殖因子、サイトカイン、ケモカイン、インターロイキンおよび血管新生因子）などのペプチドまたはタンパク質である。いくつかの実施態様において、当該標的分子は、関連腫瘍もしくは自己免疫性抗原などの疾患もしくは病状に関連する標的、またはウイルス、細菌、真菌もしくは原生生物などの病原体が提示するタンパク質に対する、１つ以上の結合部位を含む。

【０１０７】

いくつかの実施態様において、当該^{18}Ｆ－標識ペプチドまたはタンパク質は、イメージングおよび／または検出のための標的細胞、組織、病原体または他の標的に対して直接結合するように選択されうる。別の実施態様において、^{18}Ｆ標識タンパク質またはペプチドはインビボの標的分子に直接または間接的に結合するように選択されうる。例えば、第一タンパク質またはペプチドが対象に投与され、次いで第一タンパク質またはペプチドに結合する第二^{18}Ｆ－標識分子が投与されてもよい。

【０１０８】

ペプチド

わずか２個のアミノ酸残基、好ましくは２から１０個の残基を有するペプチドが用いられてもよく、また他の部位に結合されてもよい。標的可能な構築物はまた、当該ペプチドのインビボでの安定性を向上させるため、骨格構造に非天然アミノ酸、例えばＤ－アミノ酸を含みうる。別の実施態様では、非天然アミノ酸またはペプトイドから構築されるような、他の骨格構造が用いられうる。

【０１０９】

いくつかの実施態様において、用いられうるペプチドとしては、リガンド、ペプチドワクチンおよびエピトープが挙げられる。標的可能な構築物として用いられるペプチドは、固相担体並びに反復直交性の脱保護およびカップリングの標準的な技術を用いて、ペプチド自動合成器によって便利に合成される。Ｎ末端残基は血清中の安定性を向上させるためにアセチル化されうる。このような保護基は当業者にとって周知である。Ｇｒｅｅｎｅ ａｎｄ Ｗｕｔｓ Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，１９９９（Ｊｏｈｎ ＷｉｌｅｙおよびＳｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．）を参照されたい。

【０１１０】

抗体

いくつかの実施態様において、本明細書に記載の放射性トレーサー組成物に用いられる標的分子は抗体である。本明細書で用いられる用語「抗体」は、抗体全体、およびいずれかの抗原結合性フラグメント（すなわち、「抗原－結合部位」）またはそれらの一本鎖を含みうる。例えば、「抗体」は自然発生的および非自然発生的抗体；モノクローナルおよびポリクローナル抗体；キメラおよびヒト化抗体；ヒトおよび非ヒト抗体；二重特異性抗体；全合成抗体；および１本鎖抗体のいずれをもを指しうる。本明細書で用いられる用語「抗原」は、タンパク質、ペプチドまたはハプテンなどの、いずれかの天然または合成免疫原性物質をいう。

【０１１１】

本明細書に記載の標的分子は、疾患の状態または病状に関連する標的抗原に対する特異的結合力を持つことが当技術分野において周知である、いずれかの抗体またはフラグメントに導入されうる。標的分子として用いることのできる抗体は、様々な供給源（例えば、ＡＴＴＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ）から市販のものを得ることができ、および／または、可変領域の配列が公表されており、組み換え技術として当技術分野において知られている技術に従って製造されうる。いくつかの実施態様において、当該方法において用いるための抗体の例としては、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ－１抗体、抗ＯＸ４０（ＣＤ１３４、ＴＮＦＲＳＦ４、ＡＣＴ３５および／またはＴＸＧＰ１Ｌとしても知られている）抗体、または抗ＬＡＧ－３抗体が挙げられる。

【０１１２】

本明細書に記載の組成物および方法に用いられる抗体は、様々な既知の技術を用いて製造されうる。免疫脾細胞の単離のための免疫方法および技術は、当技術分野において確立されている。ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５（１９７５）において記述された、通常の体細胞融合技術を用いたモノクローナル抗体の生産、並びにＢリンパ球のウイルス性または発癌性形質転換、ヒト抗体遺伝子ライブラリーを用いたファージディスプレイ技術もまた、通常のものである。さらに、キメラおよびヒト化抗体を製造するための標準的な方法は、容易に用いられる（例えば、Ｃａｂｉｌｌｙら

による米国特許第４，８１６，５６７号；Ｗｉｎｔｅｒによる米国特許第５，２２５，５３９号；Ｑｕｅｅｎらによる米国特許第５，５３０，１０１号；５，５８５，０８９号；５，６９３，７６２号および６，１８０，３７０号を参照されたい）。

【０１１３】

いくつかの実施態様において、当該放射性トレーサー組成物に用いられる標的分子は抗原結合性フラグメントである。本明細書で用いられる用語、抗体の「抗原－結合部位」は、抗原に特異的に結合する能力を持つ１つ以上の抗体フラグメントをいう。用語、抗体の「抗原－結合部位」に含まれる結合性フラグメントの例としては、（ｉ）Ｆａｂフラグメント、すなわちV_L、V_H、ＣＬおよびＣＨ１ドメインから成る一価フラグメント；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、すなわちヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって結合した２つのＦａｂフラグメントから成る二価フラグメント；（ｉｉｉ）V_HおよびＣＨ１ドメインから成るＦｄフラグメント；（ｉｖ）抗体の１本鎖のV_LおよびV_Hドメインから成るＦｖフラグメント、（ｖ）V_Hドメインから成るｄＡｂフラグメント（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）；および（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）または（ｖｉｉ）適宜、合成リンカーに結合されていてもよい、２つ以上の単離されたＣＤＲの組み合わせが挙げられる。さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメインであるV_LおよびV_Hは別の遺伝子にコードされているが、組み換え技術を用いた、V_LおよびV_H領域の対が１本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる一価の分子を形成する、１つのタンパク質鎖を生産することが可能な合成リンカーによって、結合されうる；例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照されたい。このような１本鎖抗体もまた、用語、抗体の「抗原結合部位」に含まれることが意図される。これらおよび他の可能性のある構成体は、Ｃｈａｎ＆Ｃａｒｔｅｒ（２０１０）Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１０：３０１において記述される。これらの抗体フラグメントは当業者に周知の通常の技術を用いて得られ、当該フラグメントは完全な抗体の場合と同様の方法によって、有用性をスクリーニングされる。抗原結合部位はＤＮＡ組み換え技術によってまたは、完全な免疫グロブリンを酵素的もしくは化学的に切断することによって製造されうる。

【０１１４】

いくつかの実施態様において、用いられる抗体は、本明細書に記載の医療用イメージングに用いるために、例えば抗体の半減期を減少させるまたはクリアランスを迅速にするなどの調節のために改変される。Ｉ２５３Ａ（Ｈｏｒｎｉｃｋ ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４１：３５５）およびＨ４３５Ａ／Ｒ Ｉ２５３ＡまたはＨ３１０Ａ（Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９：２８１９）などのヒトＩｇＧ１のＦｃにおける改変は、ＦｃＲｎの結合を減少させうる。Ｋｅｎａｎｏｖａ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６５：６２２もまた参照されたい。クリアランスを向上させるための別の方法としては、本発明の抗原結合部位を、Ｆａｂフラグメントなどの、ＦｃＲｎに結合する能力が欠如した抗体フラグメントの形態にすることが挙げられる。このような改変は、抗体の循環半減期を数週間から数時間減少させうる。そのため、抗体フラグメントの選択的ＰＥＧ化は、必要に応じて抗体フラグメントの半減期を微調節する（少しずつ増やす）ために用いられうる。Ｃｈａｐｍａｎ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１７：７８０。

【０１１５】

抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む放射性トレーサー組成物は、インビトロおよび／またはインビボにおける特異的結合性の保持について評価されうる。様々な抗体組成物の結合親和性、交差反応性、および結合反応速度を解析する方法としては、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、およびＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）２０００ ＳＰＲ機器（Ｂｉａｃｏｒｅ ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を用いたＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）解析などの当

技術分野において周知の通常のアッセイが挙げられる。

【０１１６】

本明細書に記載の放射性標識プローブに用いられるタンパク質の例としては、アドネクチンなどの、標的に特異的に結合し、無関係の標的に有意に交差反応する既知の抗体または別の足場タンパク質が挙げられる。

【０１１７】

フィブロネクチンベースのタンパク質（ＦＢＳ）

いくつかの実施態様において、本明細書に記載の放射性トレーサー組成物に用いられる標的分子はＦＢＳタンパク質である。一般に、ＦＢＳタンパク質分子は本質的に急速な血液クリアランス速度を示すため、非関連組織からのプローブのバックグラウンドシグナルに必要な時間を最小化することによって、^{18}Ｆイメージング技術の使用に有利でありうる。急速にクリアランスされるプローブによって、プローブが注入されるのと同じ日に高コントラスト画像を得ることが可能になり、特に重要なことには、対象に対する全体の放射線被曝を軽減させることができる。

【０１１８】

本明細書で用いられる「フィブロネクチンベースのスキャホールド」または「ＦＢＳ」タンパク質または部位は、フィブロネクチンＩＩＩ型（「Ｆｎ３」）繰り返しに基づくタンパク質または部位をいう。Ｆｎ３は、免疫グロブリン（Ｉｇ）フォールド構造（すなわち、７つのβ－ストランドおよび６つのループから成る、Ｉｇ様β－サンドイッチ構造）を有する、小さな（約１０ｋＤａ）ドメインである。フィブロネクチンは１８個のＦｎ３繰り返しを有し、当該繰り返し間の配列相同性は低い一方で、それらは全て三次構造において高い類似性を共有している。Ｆｎ３ドメインはまた、接着分子、細胞表面分子、例えばサイトカイン受容体および糖結合ドメインなどの、フィブロネクチン以外の多くのタンパク質内にも存在する。総括として、Ｂｏｒｋ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９（１９）：８９９０－８９９４（１９９２）；Ｂｏｒｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２４２（４）：３０９－３２０（１９９４）；Ｃａｍｐｂｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，２（５）：３３３－３３７（１９９４）；Ｈａｒｐｅｚ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２３８（４）：５２８－５３９（１９９４）を参照されたい。用語「ＦＢＳ」タンパク質または部位は、他のタンパク質（すなわち、非フィブロネクチン分子）のＦｎ３ドメインに基づくスキャホールドを含むことが意図される。

【０１１９】

Ｆｎ３ドメインは小さく、単量体、可溶性および安定である。ジスルフィド結合を持たず、そのため還元条件下で安定である。Ｆｎ３ドメインは、Ｎ末端からＣ末端の順に、ベータまたはベータ様ストランド、Ａ；ループ、ＡＢ；ベータまたはベータ様ストランド、Ｂ；ループ、ＢＣ；ベータまたはベータ様ストランド、Ｃ；ループ、ＣＤ；ベータまたはベータ様ストランド、Ｄ；ループ、ＤＥ；ベータまたはベータ様ストランド、Ｅ；ループ、ＥＦ；ベータまたはベータ様ストランド、Ｆ；ループ、ＦＧ；およびベータまたはベータ様ストランドＧ、を含む。７つの逆平行β－ストランドは、安定なコアを形成する２つのベータシートに配置され、同時に、ベータまたはベータ様ストランドに連結するループから成る２つの「面」が生じる。ループＡＢ、ＣＤおよびＥＦは１つの面（「南極」）に位置し、ループＢＣ、ＤＥ、およびＦＧは反対の面（「北極」）に位置する。ヒトフィブロネクチンには少なくとも１５個の異なるＦｎ３モジュールが存在し、当該モジュール間の配列相同性は低い一方で、それらは全て三次構造において高い類似性を共有している。

【０１２０】

Ｆｎ３分子におけるループは、抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ）に構造的に類似しており、改変された場合、Ｆｎ３分子が標的、例えば標的タンパク質に対して結合することに関与しうる。ベータまたはベータ様ストランド、およびＮ末端またはＣ末端領域などの、Ｆｎ３分子の他の領域もまた、改変された場合、標的に対する結合に関与しうる。ループＡＢ、ＢＣ、ＣＤ、ＤＥ、ＥＦおよびＦＧのいずれかまたは全てが、標的に対する結合に

関与しうる。ベータまたはベータ様ストランドのいずれかが、標的に対する結合に関与しうる。Ｆｎ３ドメインはまた、１つ以上のループおよび１つ以上のベータまたはベータ様ストランドを介して標的に結合しうる。結合にはまた、Ｎ末端またはＣ末端領域が必要とされうる。タンパク質において使用するためのＦＢＳドメインは、全てのループ、全てのベータもしくはベータ様ストランド、またはそれらの一部のみを含み得、ここで、ＦＢＳドメインが標的特異的に結合する場合には、いくつかのループおよび／またはベータもしくはベータ様ストランドおよび／またはＮ－もしくはＣ末端領域は改変（または変更）されている。例えば、ＦＢＳドメインは１、２、３、４、５または６個のループ、１、２、３、４、５、６、７、または８個のベータストランド、並びに適宜Ｎ末端および／またはＣ末端領域を含み得、ここで、１つ以上のループ、１つ以上のベータストランド、Ｎ末端領域および／またはＣ末端領域は、野生型ＦＢＳドメインに対して改変されている。

【０１２１】

ヒト^{10}Ｆｎ３ドメインに基づくＦＢＳタンパク質の例としては、アドネクチン（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂの子会社が完全に所有する、Ａｄｎｅｘｕｓ）が挙げられる。アドネクチンは、^{10}Ｆｎ３ドメインのＣＤＲ様ループ領域、β－ストランド、Ｎ末端および／またはＣ末端領域が、目的の化合物に結合できるタンパク質を進化させるために改変された、^{10}Ｆｎ３分子である。例えば、米国特許第７，１１５，３９６号において、ＢＣ、ＤＥ、およびＦＧループの改変によってＴＮＦα結合剤に対する高い親和性を生じる、^{10}Ｆｎ３ドメインタンパク質が記述される。米国特許第７，８５８，７３９号において、ＢＣ、ＤＥ、およびＦＧループの改変がＶＥＧＦＲ２結合剤に対する高い親和性を生じる、Ｆｎ３ドメインタンパク質が記述される。

【０１２２】

いくつかの実施態様において、ＦＢＳ部位は、フィブロネクチン、例えばヒトフィブロネクチンのＩＩＩ型ドメインの１０回目の繰り返し以外の、Ｆｎ３繰り返しである。例えば、ＦＢＳ部位は、他のフィブロネクチンＩＩＩ型の繰り返し、例えば１、２、３、４、５、６、７、８、９、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７および１８回目のＦｎ３繰り返しのいずれかに類似しうる。さらに別の実施態様において、ＦＢＳ部位は、フィブロネクチン以外の分子に由来しうる。例えば、ＦＢＳ部位は、フィブロネクチンにおいて見られるものと同様の配列類似性を互いに有する、１５個のＦｎ３ドメインから成るタンパク質であるテネイシンに由来しうる。これらの繰り返しは、例えば、Ｊａｃｏｂｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ＆Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，２５：１０７（２０１２）において記述される。フィブロネクチン分子およびテネイシン分子における繰り返しの相同性に基づき、これらの相同性に基づく人工分子が創造されている。フィブロネクチン分子中のドメインの相同性に基づくアミノ酸の共通配列を含むタンパク質は、フィブコン（Ｆｉｂｃｏｎ）およびフィブコンＢ（ＷＯ２０１０／０９３６２７およびＪａｃｏｂｓ ｅｔ ａｌ．（２０１２）ｓｕｐｒａ．）と称され、テネイシン分子中のドメインの相同性に基づくものは、テンコン（Ｔｅｎｃｏｎ）（ＷＯ２０１０／０５１２７４、ＷＯ２０１０／０５１３１０およびＷＯ２０１１／１３７３１９、これらは引用により本明細書に明確に援用される）と称される。フィブコン、フィブコンＢまたはテンコン部位、またはそれらのバリアントに結合する標的は、それ自体であっても、または異なる部位に結合していても、本明細書に記載されるように融合されうる。他のタンパク質、例えば細胞表面ホルモンおよびサイトカイン受容体、シャペロニンおよび糖結合ドメインなどに由来するＦｎ３ドメインは、本明細書に記載のように結合されうる。

【０１２３】

目的の標的分子のいずれかに特異的なＦＢＳタンパク質は、当技術分野において承認されている方法を用いて製造および評価されうる。ＦＢＳタンパク質の結合特性を評価するための方法もまた既知である。例えば、特異的結合特性を有するＦｎ３ドメインを迅速に製造および評価するための方法の１つは、Ａｄｎｅｘｕｓ，Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｒ＆Ｄ Ｃｏｍｐａｎｙによる核酸－タンパク質融合技術である。本開示

は、タンパク質への結合に重要な、新たなポリペプチドおよびアミノ酸モチーフを特定するために、核酸－タンパク質融合体（ＲＮＡ－およびＤＮＡ－タンパク質融合体）を用いる、「プロフュージョン（ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ）」と称されるインビトロ発現および標識技術を利用する。核酸－タンパク質融合技術は、タンパク質とそれをコードする遺伝情報を共有結合させる技術である。ＲＮＡ－タンパク質融合技術およびフィブロネクチンベースのスキャホールドタンパク質ライブラリースクリーニング方法に関する詳細な記述については、以下を参照されたい：Ｓｚｏｓｔａｋらによる、米国特許第６，２５８，５５８号、６，２６１，８０４号、６，２１４，５５３号、６，２８１，３４４号、６，２０７，４４６号、６，５１８，０１８号および６，８１８，４１８号；Ｒｏｂｅｒｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９７；９４：１２２９７－１２３０２；およびＫｕｒｚ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０００；５：１２５９－６４、これのすべては引用によって本明細書に援用される。

【０１２４】

ＦＢＳタンパク質または部位の例としては、これらに限定はされないが、メソテリアン（ｍｅｓｏｔｈｅｌｉａｎ）、グリピカン（ｇｌｙｐｉｃａｎ）、ＴＬ１Ａ、ＣＤ８、ミオスタチン、ＬＰＡ１受容体、ＴＮＦ－アルファ、ＶＥＧＦＲ２、ＰＣＳＫ９、ＩＬ－２３、ＥＧＦＲまたはＩＧＦ１Ｒに結合するもの、および、例えば、ＷＯ２０１０／０９３６２７、ＷＯ２０１１／１３０３２４、ＷＯ２００９／０８３８０４、ＷＯ２００９／１３３２０８、ＷＯ０２／０４５２３、ＷＯ２０１２／０１６２４５、ＷＯ２００９／０２３１８４、ＷＯ２０１０／０５１３１０、ＷＯ２０１１／０２００３３、ＷＯ２０１１／０５１３３３、ＷＯ２０１１／０５１４６６、ＷＯ２０１１／０９２２３３、ＷＯ２０１１／１００７００、ＷＯ２０１１／１３０３２４、ＷＯ２０１１／１３０３２８、ＷＯ２０１１／１３７３１９、ＷＯ２０１０／０５１２７４、ＷＯ２００９／０８６１１６、ＷＯ０９／０５８３７９、ＷＯ２０１３／０６７０２９およびＷＯ２０１２／０１６２４５において記述されるものが挙げられる（これらの全ては引用によって本明細書に具体的に援用される）：これらの公表文献に記述されるＦＢＳタンパク質または部位のいずれかは、本明細書に記載されるように用いられうる。

【０１２５】

いくつかの実施態様において、ＦＢＳタンパク質はＰＤＬ－１に結合する。いくつかの実施態様において、ＦＢＳタンパク質は配列番号：１または配列番号：２のアミノ酸配列を含む。

【０１２６】

いくつかの実施態様において、例えばＦＢＳタンパク質を含むイメージング剤は、例えばイメージングのコントラストを少し増強させることによって血液のＰＫを上昇させる、または^{18}Ｆ－標識標的薬剤の親和性を向上させるなどの、調節を行う部位に結合している。いくつかの実施態様において、哺乳動物（例えば、マウス、ラットまたはヒト）におけるポリペプチドのクリアランス速度は、未修飾ＦＢＳタンパク質に対して、２倍以上、３倍以上、４倍以上または５倍である、または上昇する。タンパク質の血液からのクリアランスを減速させる部位、本明細書においては「ＰＫ部位」と称されるが、この部位としては、ポリオキシアルキレン部位（例えば、ポリエチレングリコール）、糖（例えば、シアル酸）、および耐容性良好なタンパク質部位（例えば、Ｆｃおよびフラグメントおよびそれらのバリアント、トランスフェリンまたは血清アルブミン）が挙げられる。当該ＦＢＳタンパク質はまた、米国出願第２００７／００４８２８２号に記載のように、アルブミンまたはアルブミンのフラグメント（一部）もしくはバリアントに融合されていてもよく、または本明細書に記載のように、ＦＢＳタンパク質に結合した１つ以上の血清アルブミンに融合されていてもよい。

【０１２７】

本発明に用いることのできる他のＰＫ部位は、Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０１１；２２：８６８－７６において記述されるものを含み、引用により本明細書に援用される。このよう

なＰＫ部位としては、これらに限定はされないが、ヒト血清アルブミン融合体、ヒト血清アルブミン複合体、ヒト血清アルブミン結合剤（例えば、アドネクチンＰＫＥ、ＡｌｂｕｄＡｂ、ＡＢＤ）、ＸＴＥＮ融合体、ＰＡＳ融合体（すなわち、プロリン、アラニン、およびセリンの３つのアミノ酸に基づく組み換えＰＥＧ模倣体）、炭水化物複合体（例えば、ヒドロキシエチルデンプン（ＨＥＳ））、糖鎖付加体、ポリシアル酸複合体、および脂肪酸複合体が挙げられる。

【０１２８】

いくつかの実施態様において、本発明はポリマー糖であるＰＫ部位に融合された^{18}Ｆ－標識ＦＢＳタンパク質を示す。いくつかの実施態様において、ＰＫ部位はポリエチレングリコール部位である。ＰＥＧは、周知の水溶性ポリマーであり、市販されている、または当技術分野において周知の方法（Ｓａｎｄｌｅｒ ａｎｄ Ｋａｒｏ，Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｖｏｌ．３，ｐａｇｅｓ １３８－１６１）に従い、エチレングリコールの開環重合によって製造されうる。

【０１２９】

用語ＰＥＧは、大きさまたはＰＥＧの末端の修飾に関わらず、あらゆるポリエチレングリコール分子を広く含むように用いられ、式：Ｘ－Ｏ（CH_2CH_2O）$_{n-1}$$CH_2CH_2OH$によって示され得、ここで、ｎは２以上、例えば２０から２３００であり、Ｘは Ｈまたは末端の修飾、例えば、C_{1-4}アルキルである。ＰＥＧは、当該分子の化学合成に由来する；または当該分子の一部を最善の距離に保つためのスペーサーとして働く、結合反応に必要なさらなる化学基を含みうる。さらに、このようなＰＥＧは、互いに結合された１つ以上のＰＥＧ側鎖から成りうる。１つ以上のＰＥＧ鎖を有するＰＥＧは、多岐または分岐型ＰＥＧと称されうる。分岐型ＰＥＧは、例えば、欧州公開出願第４７３０８４Ａ号、および米国特許第５，９３２，４６２号において記述される。

【０１３０】

１つ以上のＰＥＧ分子は、タンパク質の異なる部位に結合されていてもよく、このような結合はアミン、チオールまたは他の適切な反応基との反応によって達成されうる。アミン部位は、例えば、ポリペプチドのＮ末端に存在する１級アミン、またはリシンまたなアルギニンなどのアミノ酸に存在するアミン基でありうる。いくつかの実施態様において、ＰＥＧ部位は、以下から成る群から選択されるポリペプチド上の部位に結合される：ａ）Ｎ末端；ｂ）Ｎ末端と、最もＮ末端側のベータストランドまたはベータ様ストランドの間；ｃ）標的結合部位の反対側のポリペプチド面に位置するループ；ｄ）Ｃ末端と、最もＣ末端側にあるベータストランドまたはベータ様ストランドの間；およびｅ）Ｃ末端。

【０１３１】

ＰＥＧ化は、部位特異的なＰＥＧ化によって達成され得、ここで、ＰＥＧ化が選択的に生じる部位を創出するために、適切な反応基が当該タンパク質に導入される。いくつかの実施態様において、当該タンパク質は目的の部位にシステイン残基を導入するように改変され、これによってシステイン上での部位特異的なＰＥＧ化が可能になる。変異は、システイン残基を生じるようにタンパク質コード配列に導入されうる。これは、例えば、１つ以上のアミノ酸残基をシステインに変異させることによって達成されうる。システイン残基に変異されるのに好ましいアミノ酸としては、セリン、スレオニン、アラニンおよび他の親水性残基が挙げられる。好ましくは、システインに変異される残基は、表面に露出された残基である。一次配列またはタンパク質に基づき、残基の表面への到達性を予測するためのアルゴリズムは当技術分野において周知である。あるいは、結合性ポリペプチドの設計および進化の基盤となる骨格の結晶構造が解明され（Ｈｉｍａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２００１；４１４：９３３－８を参照されたい）、そのため表面に露出している残基が特定されたことから考えれば、表面の残基は結合性ポリペプチドのアミノ酸配列を比較することによって予測されうる。システイン残基のＰＥＧ化は、例えばＰＥＧ－マレイミド、ＰＥＧ－ビニルスルホン、ＰＥＧ－ヨードアセトアミド、またはＰＥＧ－オルトピリジルジスルフィドを用いて実行されうる。

【０１３２】
ＰＥＧは一般に、ポリペプチドの目的の部位に結合させるのに適切な、適当な活性基によって活性化される。ＰＥＧ化方法は当技術分野において周知であり、さらに以下において記述される：Ｚａｌｉｐｓｋｙ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｕｓｅ ｏｆ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｚｅｄ Ｐｏｌｙ（Ｅｔｈｙｌｅｎｅ Ｇｌｙｃｏｌｓ）ｆｏｒ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｐｏｌｙｐｅｐｔｉｄｅｓ”ｉｎ Ｐｏｌｙｅｔｈｙｌｅｎｅ Ｇｌｙｃｏｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｃａｌ ａｎｄ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｊ．Ｍ．Ｈａｒｒｉｓ，Ｐｌｅｎｕｓ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９２），およびＺａｌｉｐｓｋｙ（１９９５）Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｄｒｕｇ Ｒｅｖｉｅｗｓ １６：１５７－１８２。

【０１３３】
ＰＥＧは分子量においてばらつきが大きくてもよく、分岐または直鎖状でありうる。一般に、ＰＥＧの重量平均分子量は約１００ダルトンから約１５０，０００ダルトンである。ＰＥＧの重量平均分子量の例としては、約１，０００ダルトン、約２，０００ダルトン、約５，０００ダルトン、約１０，０００ダルトン、約２０，０００ダルトン、約４０，０００ダルトン、約６０，０００ダルトン、および約８０，０００ダルトンが挙げられる。いくつかの実施態様において、ＰＥＧの分子量は約５，０００ダルトンである。前記のいずれかの総分子量を有する分岐型ＰＥＧもまた用いられうる。いくつかの実施態様において、ＰＥＧは２つの分岐を有する。別の実施態様において、ＰＥＧは４つの分岐を有する。ある実施態様において、ＰＥＧはビス－ＰＥＧ（ＮＯＦ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，ＤＥ－２００ＭＡ）である。

【０１３４】
抗体と同様に、アドネクチンの選択的ＰＥＧ化は、必要に応じてアドネクチンの半減期を微調節する（少しずつ増やす）ために用いられうる。

【０１３５】
サイズ排除（例えば、ゲル濾過）およびイオン交換クロマトグラフィーなどの、当技術分野において周知の通常の分離および精製技術は、ＰＥＧ化ＦＢＳタンパク質を精製するために用いられうる。生成物はまた、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによっても分離されうる。分離されうる生成物としては、モノ－、ジ－、トリ－、ポリ－および非ペグ化アドネクチン、並びに遊離のＰＥＧが挙げられる。当該組成物中のモノ－ＰＥＧの割合を増加させるために、モノ－ＰＥＧ化複合体の割合は、溶出ピーク周辺の広範な画分を回収することによって制御されうる。約９０％のモノ－ＰＥＧ化複合体は、収率および活性の良好なバランスを示す。

【０１３６】
ＩＶ．標的
本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識プローブに結合する、インビボでの標的分子の例は、悪性疾患、心血管疾患、感染性疾患、炎症性疾患、自己免疫性疾患、または神経性疾患などの様々な疾患または病状に関連するものである。

【０１３７】
^{18}Ｆ標識イメージング剤、例えば［^{18}Ｆ］－基－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡが本明細書に示され、ここで、当該基はヒト細胞の表面の標的タンパク質などの標的分子に特異的に結合する。いくつかの実施態様において、当該基はペプチド；抗体、またはその抗原結合部位、または抗体のバリアント；ＦＢＳ、例えばヒト^{10}Ｆｎ３ドメイン、などのＦｎ３（例えばヒトＦｎ３）のような、別のスキャホールドである。いくつかの実施態様において、当該基は、例えば腫瘍細胞、または腫瘍内に存在する腫瘍浸潤リンパ球などの腫瘍内の細胞における細胞表面分子などの、細胞表面分子に結合する。いくつかの実施態様において、当該基は免疫細胞、例えばＴ細胞（例えば、Ｔｒｅｇ細胞）、Ｔｅｆｆ細胞、Ｂ細胞、マクロファージ、樹状細胞、ＮＫ細胞またはランゲルハンス細胞などにおける、細胞表面分子に結合する。

【０１３８】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ標識イメージング剤は、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞）上の共刺激性受容体または、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞）上の阻害剤などの、癌免疫標的（受容体またはリガンド）に特異的に結合する部位を含み、その部位は免疫応答を調節することを目的とする。ある実施態様において、当該部位は以下の分子またはリガンドまたはそれらの受容体のうちの１つに結合する：免疫グロブリンスーパーファミリー（ＩｇＳＦ）のメンバー；Ｂ７ファミリーのメンバー、例えば、Ｂ７－１、Ｂ７－２、Ｂ７－Ｈ１（ＰＤ－Ｌ１）、Ｂ７－ＤＣ（ＰＤ－Ｌ２）、Ｂ７－Ｈ２（ＩＣＯＳ－Ｌ）、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、Ｂ７－Ｈ５（ＶＩＳＴＡ）、およびＢ７－Ｈ６；ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバーまたはそのリガンド、例えばＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＯＸ－４０、ＯＸ－４０Ｌ、ＣＤ７０、ＣＤ２７Ｌ、ＣＤ３０、ＣＤ３０Ｌ、４－１ＢＢＬ、ＣＤ１３７、ＧＩＴＲ、ＴＲＡＩＬ／Ａｐｏ２－Ｌ、ＴＲＡＩＬＲ１／ＤＲ４、ＴＲＡＩＬＲ２／ＤＲ５、ＴＲＡＩＬＲ３、ＴＲＡＩＬＲ４、ＯＰＧ、ＲＡＮＫ、ＲＡＮＫＬ、ＴＷＥＡＫＲ／Ｆｎ１４、ＴＷＥＡＫ、ＢＡＦＦＲ、ＥＤＡＲ、ＸＥＤＡＲ、ＴＡＣＩ、ＡＰＲＩＬ、ＢＣＭＡ、ＬＴβＲ、ＬＩＧＨＴ、ＤｃＲ３、ＨＶＥＭ、ＶＥＧＩ／ＴＬ１Ａ、ＴＲＡＭＰ／ＤＲ３、ＥＤＡＲ、ＥＤＡ１、ＸＥＤＡＲ、ＥＤＡ２、ＴＮＦＲ１、リンホトキシンα／ＴＮＦβ、ＴＮＦＲ２、ＴＮＦα、ＬＴβＲ、リンホトキシンα１β２、ＦＡＳ、ＦＡＳＬ、ＲＥＬＴ、ＤＲ６、ＴＲＯＹ、ＮＧＦＲ（例えば、Ｔａｎｓｅｙ（２００９）Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｔｏｄａｙ ００：１を参照されたい）；免疫細胞を阻害するタンパク質（例えば、免疫チェックポイント阻害剤）、例えばＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、およびＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ガレクチン９、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＢＴＬＡ、ＣＤ６９、ガレクチン－１、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ１１３、ＧＰＲ５６、ＶＩＳＴＡ、２Ｂ４、ＣＤ４８、ＧＡＲＰ、ＣＤ７３、ＰＤ１Ｈ、ＬＡＩＲ１、ＴＩＭ－１、ＴＩＭ－４、ＣＤ３９；免疫応答を促進するタンパク質、例えば、Ｂ７－１、Ｂ７－２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、４－１ＢＢＬ、ＧＩＴＲ、ＧＩＴＲＬ、ＩＣＯＳ、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＯＸ４０、ＯＸ４０Ｌ、ＣＤ７０、ＣＤ２７、ＣＤ４０、ＤＲ３およびＣＤ２８Ｈ；以下の細胞表面分子のいずれか：ＫＩＲ、サイトカインまたはインターロイキン受容体、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＴＧＦ－β、ＶＥＧＦ、ＣＳＦ－１Ｒ、ＣＤ２５およびＩＤＯ。

【０１３９】

いくつかの実施態様において、標的分子は、これらに限定はされないが、真菌、ウイルス、寄生虫および細菌などの病原体の抗原または受容体に結合する。本明細書に記載の方法によって検出可能な病原性ウイルスの例としては、ＨＩＶ、肝炎（Ａ、Ｂ、またはＣ）、ヘルペスウイルス（例えば、ＶＺＶ、ＨＳＶ－１、ＨＡＶ－６、ＨＳＶ－ＩＩ、およびＣＭＶ、エプスタイン・バーウイルス）、アデノウイルス、インフルエンザウイルス、フラビウイルス、エコーウイルス、ライノウイルス、コクサッキーウイルス、コロナウイルス、呼吸器多核体ウイルス、ムンプスウイルス、ロタウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、パルボウイルス、ワクチニアウイルス、ＨＴＬＶウイルス、デングウイルス、パピローマウイルス、軟属腫ウイルス、ポリオウイルス、ラブドウイルス、ＪＣウイルスおよびアルボウイルス性脳炎性ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、インフルエンザウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、セイダイウイルス、ネコ白血病ウイルス、レオウイルス、ポリオウイルス、ヒト血清パルボ型ウイルス、シミアンウイルス４０、呼吸器多核体ウイルス、マウス乳癌ウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルス、ヒトＴ－細胞白血病ウイルス、エプスタイン－バールウイルス、マウス白血病ウイルス、ムンプスウイルス、水胞性口炎ウイルス、シンドビスウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、イボウイルス、ブルータングウイルスが挙げられる。細菌および真菌の例としては、ストレプトコッカス・アガラクティアエ、レジオネラ・ニューモフィラ、ストレプトコッカス・ピオゲネス、大腸菌、淋菌、髄膜炎菌、肺炎レンサ球菌、ヘモフィルス・インフルエンザ菌Ｂ、梅毒トレポネーマ、ライム病スピロヘータ、緑膿菌、らい菌、ウシ流産菌、結核菌および破傷風菌が挙げられる。

本明細書に記載の方法によって検出可能な感染を引き起こす病原性細菌のいくつかの例としては、クラミジア、リケッチア細菌、マイコバクテリア、ブドウ球菌、レンサ球菌、肺炎球菌、髄膜炎菌および淋菌、クレブシエラ菌、プロテウス菌、セラチア菌、シュードモナス菌、レジオネラ菌、ジフテリア菌、サルモネラ菌、桿菌、コレラ菌、破傷風菌、ボツリヌス菌、炭疽菌、ペスト菌、レプトスピラ、およびライム病細菌が挙げられる。

【０１４０】

本明細書に記載の方法によって検出可能な感染を引き起こす病原性真菌のいくつかの例としては、カンジダ（アルビカンス、クルセイ、グラブラータ、トロピカリス、など）、クリプトコッカス・ネオフォルマンス、アスペルギルス（フミガーツス、ニジェール、など）、ムコラーレス属（ムコール、アブシジア、リゾプス）、スポロトリックス・シェンキイ、ブラストマイセス・デルマチチジス、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス、コクシジオイデス・イミティスおよびヒストプラスマ・カプスラーツムが挙げられる。

【０１４１】

本明細書に記載の方法によって検出可能な感染を引き起こす病原性寄生虫のいくつかの例としては、赤痢アメーバ、大腸バランチジウム、ネグレリアフォーレリ、アカントアメーバｓｐ．、ランブル鞭毛虫、クリプトスポリジウムｓｐ．、ニューモシスチス・カリニ、三日熱マラリア原虫、ババシア・ミクロチ、ブルーストリパノソーマ、クルーズトリパノソーマ、リーシュマニア・ドノバンリ、トキソプラズマ原虫、ブラジル鉤虫が挙げられる。

【０１４２】

Ｖ．生物物理学的および生物化学的特性

本明細書に記載のタンパク質標的分子の標的分子への結合は、平衡定数（例えば、解離、K_D）から、および速度定数（例えば、結合速度定数、k_{on}および解離速度定数、k_{off}）から評価されうる。k_{off}が十分に小さい、またはk_{on}が十分に大きい場合には、大きなK_D値は許容されうるが、タンパク質標的分子は一般にK_Dが５００ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ、５００ｐＭ、２００ｐＭ、または１００ｐＭ未満で標的分子に結合する。

【０１４３】

タンパク質標的分子の結合親和性を決定するためのアッセイの例としては、これらに限定はされないが、結合平衡除外法（ＫｉｎＥｘＡ）（Ｂｌａｋｅ ｅｔ ａｌ．，ＪＢＣ １９９６；２７１：２７６７７－８５；Ｄｒａｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ ２００４；３２８：３５－４３）、Ｂｉａｃｏｒｅシステム（Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を用いた表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）（Ｗｅｌｆｏｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｏｐｔ．Ｑｕａｎｔ．Ｅｌｅｃｔ １９９１；２３：１；Ｍｏｒｔｏｎ ａｎｄ Ｍｙｓｚｋａ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １９９８；２９５：２６８）、および均一性時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）法（Ｎｅｗｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｍｏｌ Ｓｃｒｅｅｎ ２００８；１３：６７４－８２；Ｐａｔｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ａｓｓａｙ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖ Ｔｅｃｈｎｏｌ ２００８；６：５５－６８）などの液相法が挙げられる。

【０１４４】

いくつかの実施態様において、生体分子の相互作用は、表面の屈折率を最大３００ｎｍ変化させるための補助ガラス上の金薄膜上の表面における光の共鳴角の変化を検出するＳＰＲを用いた、Ｂｉａｃｏｒｅシステムによって、リアルタイムでモニターされうる。Ｂｉａｃｏｒｅ解析によって、結合速度定数、解離速度定数、平衡解離定数、および結合定数が得られる。結合親和性は、Ｂｉａｃｏｒｅ表面プラズモン共鳴システム（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．）を用いて、結合および解離速度定数を評価することによって得られる。バイオセンサーチップが標的の共有結合に対して活性化される。次いで、標的を希釈し、チップ上に注入することで、固定化された物質の応答ユニットにおいてシグナルが得られる。応答ユニット（ＲＵ）におけるシグナルは固定化された物質の質量に比例するため、これはマトリックスにおける固定化された標的の密度の範囲を表す。結合および解離データは、１：１の二分子相互作用のための正味の発現率を解明するための網羅的解析に同時

に適応され、k_{on}、k_{off}およびR_{max}（飽和時の最大応答）の最適値が得られる。結合の平衡解離定数、K_DはＳＰＲ測定からk_{off}/k_{on}として計算される。

【０１４５】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載のタンパク質標的分子は、ＳＰＲ親和性アッセイにおいて、５００ｎＭ以下、４００ｎＭ以下、３００ｎＭ以下、２００ｎＭ以下、１５０ｎＭ以下、１００ｎＭ以下、９０ｎＭ以下、８０ｎＭ以下、７０ｎＭ以下、６０ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、４０ｎＭ以下、３０ｎＭ以下、２０ｎＭ以下、１５ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、５ｎＭ以下、または１ｎＭ以下のK_Dを示す。

【０１４６】

当然のことながら、本明細書において上述のアッセイは例示的なものであり、タンパク質間の結合親和性を決定するための当技術分野において周知のあらゆる方法（例えば、蛍光エネルギー移動（ＦＲＥＴ）、酵素結合免疫吸着アッセイ、および競合結合測定（例えば、放射免疫アッセイ））が、本明細書に記載のタンパク質標的分子の結合親和性を評価するために用いられうる。

【０１４７】

ＶＩ．製剤

薬学的に許容可能な担体と共に製剤化される、本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識標的薬剤のうちの１つ、またはそれらの組み合わせを含む、組成物、例えば医薬組成物がさらに示される。このような組成物は、本明細書に記載の薬剤のうちの１つ、またはそれらの組み合わせ（例えば、２つまたはそれ以上）を含みうる。例えば、本明細書に記載の医薬組成物は、^{18}Ｆ－標識標的薬剤および薬物の組み合わせを含みうる。

【０１４８】

本明細書で用いられる「薬学的に許容可能な担体」は、溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌および抗真菌剤、等張化および吸収遅延剤など、生理学的に適合性のあるもののいずれかおよび全てを含む。好ましくは、担体は静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または上皮投与（例えば、注射または点滴による）に適切である。投与経路に従って、^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、当該化合物を酸および、当該化合物を不活性化しうる他の自然条件の働きから保護する物質によってコーティングされうる。

【０１４９】

本明細書に記載の薬学的に許容可能な化合物は、１つ以上の薬学的に許容可能な塩を含みうる。「薬学的に許容可能な塩」は、元の化合物の望ましい生物学的活性を保持し、いずれの望ましくない毒性効果も与えない塩をいう（例えば、Ｂｅｒｇｅ，Ｓ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（１９７７）Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．６６：１－１９を参照されたい）。そのような塩の例としては、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩としては、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などの非毒性無機酸に由来するもの、並びに脂肪族モノ－およびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸などの非毒性有機酸に由来するものが挙げられる。塩基付加塩としては、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどのアルカリ土類金属に由来するもの、並びにＮ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどの非毒性有機アミンに由来するものが挙げられる。

【０１５０】

本明細書に記載の医薬組成物はまた、薬学的に許容可能な抗酸化剤を含みうる。薬学的に許容可能な抗酸化剤の例としては、以下が挙げられる：（１）アスコルビン酸、システイン塩酸、硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、硫酸ナトリウムなどの、水溶性の抗酸化剤；（２）パルミチン酸アスコルビル、ブチルヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチルヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ－トコフェロールなどの、脂溶性の抗酸化剤；および（３）クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸などの、金属キレート剤。

【０１５１】

本明細書に記載の医薬組成物に用いられうる適切な水性および非水性の担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適切な混合物、オリーブ油などの植物油、並びにオレイン酸エチルなどの注入可能な有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レチシンなどのコーティング物質を用いることによって、分散の場合には必要な粒子径を維持することによって、および界面活性剤を用いることによって、維持されうる。

【０１５２】

これらの組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤などのアジュバンドを含みうる。微生物の生存を防ぐことは、前記の滅菌処置、並びに、例えばパラベン、クロロブタノール、ソルビン酸フェノールなどの様々な抗細菌および抗真菌剤を含有することの両方によって確保されうる。また、糖、塩化ナトリウムなどの等張化剤を組成物中に含むことが望ましい。さらに、注入可能な剤形の吸収遅延は、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤を含有することによってもたらされうる。

【０１５３】

薬学的に許容可能な担体としては、無菌水溶液または分散液、および注入可能な無菌溶液または分散液を即時調製するための無菌粉末が挙げられる。薬学的に活性な物質のためのこのような溶媒および薬剤の使用は、当技術分野において既知である。通常の溶媒または薬剤のいずれかが、当該活性化合物に対して不適合である場合を除いて、本明細書に記載の医薬組成物中のこれらを使用することが考慮される。さらなる活性化合物もまた、当該組成物に含まれうる。

【０１５４】

医薬組成物は、一般に製造および保管状態において、無菌および安定でなければならない。当該組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、または、高い薬物濃度に適切な他の秩序構造として製剤化されうる。担体は、例えば水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適切な混合物を含む溶媒または分散媒でありうる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを用いることによって、分散液の場合は必要な粒子径を維持することによって、および界面活性剤を用いることによって維持されうる。多くの場合において、例えば、糖、マンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール、または塩化ナトリウムなどの等張化剤を組成物中に含むことが好ましい。注入可能な組成物の吸収遅延は、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンなどの吸収遅延剤を組成物中に含有することによってもたらされうる。

【０１５５】

注入可能な無菌溶液は、必要な分量の^{18}Ｆ－標識標的薬剤を適切な溶媒中に、必要に応じて前記で列挙される成分のうちの１つまたはそれらの組み合わせと共に加え、精密濾過によって滅菌を行うことによって製造されうる。一般に、分散液は、活性化合物を標準的な分散媒および前記で列挙される他の必要な成分を含む無菌溶媒中に加えることによって製造される。注入可能な無菌溶液を調製するための無菌粉末の場合は、好ましい製造方法は真空乾燥およびフリーズ・ドライ（凍結乾燥）であり、活性成分に加えて、あらかじめ濾過された無菌溶液中のさらに必要ないずれかの成分を含む粉末が得られる。

【０１５６】

単一剤形を生成するために担体物質と組み合わせられうる^{18}Ｆ－標識標的薬剤の分量は、治療される対象および特定の投与方法に応じて変化する。単一剤形を生成するために担体物質と組み合わせられうる^{18}Ｆ－標識標的薬剤の分量は、一般に検出可能な効果が得られる当該組成物の分量である。一般に、百分率で、この分量は薬学的に許容可能な担体との組み合わせにおいて、約０．０１パーセントから約９９パーセントの活性成分、好ましくは約０．１パーセントから約７０パーセント、最も好ましくは約１パーセントから約３０パーセントの活性成分に及ぶ。

【０１５７】

ＶＩＩ．投与およびイメージング

本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、様々なインビボイメージングの応用（例えば、組織または全身のイメージング）において有用である。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、例えば標的発現性腫瘍などの標的－陽性細胞または組織をイメージングするために用いられうる。例えば、標識された^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、対象の組織に^{18}Ｆ－標識標的薬剤が取り込まれるのに十分な分量において、対象に投与される。対象は次いで、ＰＥＴなどのイメージングシステムを用いて、^{18}Ｆ放射性核種に必要な時間にわたってイメージングされる。標的物質を発現している細胞または組織に結合した^{18}Ｆ－標識標的薬剤が、次いでイメージングシステムによって検出される。

【０１５８】

一般に、イメージングのために、単一の静脈内注入として約１ｍｇから２００ｍｇの範囲のタンパク質またはペプチドの用量を患者に投与することが望ましいが、低容量または高容量もまた状況に応じて投与されうる。一般に、典型的な大人に対して、体表面積の平方メートルあたり約１ｍｇから１０ｍｇのタンパク質またはペプチドの範囲の用量を患者に投与することが望ましいが、低容量または高容量もまた状況に応じて投与されうる。イメージングの目的のためにヒトの対象に投与されうるタンパク質またはペプチドの用量の例としては、約１から２００ｍｇ、約１から７０ｍｇ、約１から２０ｍｇ、約１から１０ｍｇが挙げられるが、高容量または低容量もまた用いられうる。

【０１５９】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識－タンパク質の分量は、１日に約０．００５μｇ／体重ｋｇから約５０μｇ／体重ｋｇの間、通常は０．０２μｇ／体重ｋｇから約３μｇ／体重ｋｇの間で投与される。ＰＥＴトレーサーに関連する質量は、自然同位体の形態、すなわち^{18}Ｆ ＰＥＴトレーサーにおいて^{19}Ｆのものである。本発明の組成物の特定の分析用量としては、約０．５μｇから約１００μｇの^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質が挙げられる。用量は通常は約１μｇから約５０μｇの^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質である。

【０１６０】

用量レジメンは、^{18}Ｆ－標識標的薬剤を取り込む組織または細胞の鮮明なイメージを得るために最適化された検出可能な分量を提供するように調整される。特に有利であるのは、簡便な投与および用量の均一性のために、非経口組成物を単位剤形として製剤化することである。本明細書で用いられる単位剤形は、^{18}Ｆ－標識標的薬剤が投与される対象に対して均一な用量として適合された、物理的に個別の単位をいう。本明細書に記載の単位剤形のための仕様（ｓｐｅｃｉｆｉｃａｔｉｏｎ）は、以下によって決定および直接影響される：（ａ）^{18}Ｆ－標識標的薬剤の標的部位固有の特性；（ｂ）標的とされる組織または細胞；（ｃ）用いられるイメージング技術固有の制約。

【０１６１】

^{18}Ｆ－標識標的薬剤の投与のために用いられる用量は、疾患の種類、用いられる標的化合物、対象の年齢、健康状態および性別、疾患の程度、診察される部位などによって変化する。特に、対象の照射線量についての十分な配慮を行わなければならない。好ましくは、$^{18-}$Ｆの飽和用量が患者に投与される。例えば、^{18}Ｆ－標識標的薬剤の放射線量は通常、３．７メガベクレルから３．７ギガベクレル、好ましくは、１８メガベクレルから７４０メガベクレルに及ぶ。あるいは、用量は、例えばミリキュリーによって測定されうる。いくつかの実施態様において、イメージング実験のために投与される^{18}Ｆイメージング剤の分量は、５から１０ｍＣｉである。別の実施態様において、有効量は約１－５ｍＣｉの範囲の放射を生じるのに十分な化合物の分量である。

【０１６２】

本明細書に記載の医薬組成物における活性成分の実際の用量段階は、特定の患者の細胞または組織、組成物、および投与方法において、患者に毒性がなく、^{18}Ｆ－標識標的薬剤の望ましい取り込みが生じるのに有効な活性成分の分量を得るために変化しうる。当然のことながら、しかしながら、本開示の^{18}Ｆ－標識標的薬剤の１日の総用量は、健全な医学的判断の範囲で、主治医または他の担当の専門家によって決定される。いずれかの特

定の対象に固有の有効な用量段階は、例えば、用いられる特定の組成物の活性；用いられる特定の組成物；患者の年齢、体重、全体的な健康状態、性別、および食生活；投与時間；投与経路；用いられる特定の化合物の排出率；治療の継続時間；用いられる特定の組成物との組み合わせにおいて使用される、他の薬剤、化合物および／または物質、治療患者の年齢、性別、体重、病状、全体的な健康状態、および以前の病歴、並びに医療分野において周知の因子などの、様々な因子によって変化する。いくつかの実施態様において、ヒトの対象に投与される、イメージングに必要な^{18}Ｆ－放射性標識プローブの分量は、処方医によって決定され、一般に当該用量は^{18}Ｆ－放射性核種からの放射量に従って変化する。

【０１６３】

本明細書に記載の組成物は、当技術分野において周知の様々な方法の１つ以上を用いて、１つ以上の投与経路によって投与されうる。当業者によって理解されるように、投与経路および／または方法は、求められる結果に従って変化する。本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識標的薬剤の好ましい投与経路としては、例えば注射もしくは点滴による、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄または他の非経口投与が挙げられる。本明細書で用いられる用語「非経口投与」は、通常は注射による、経腸および局所投与以外の投与方法を意味し、例として、これらに限定はされないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、関節内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管の、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および点滴が挙げられる。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物は静脈内投与される。

【０１６４】

あるいは、本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、局所、上皮または粘膜、例えば、鼻腔内、経口、膣内、直腸内、舌下または局所などの投与経路によって非－非経口（ｎｏｎ－ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ）投与されうる。

【０１６５】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載の^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、インビボで適切に分布されるように製剤化されうる。例えば、血液脳関門（ＢＢＢ）は多くの高親水性化合物を排除する。薬剤は、例えばリポソーム内に製剤化されることによってＢＢＢを通過しうる。リポソームを製剤化する方法としては、例えば、米国特許第４，５２２，８１１号；５，３７４，５４８号；および５，３９９，３３１号を参照されたい。リポソームは、特定の細胞または臓器に選択的に輸送される１つ以上の部位を含み得、そのため薬物の標的送達を向上させうる（例えば、Ｖ．Ｖ．Ｒａｎａｄｅ（１９８９）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．２９：６８５を参照されたい）。標的部位の例としては、葉酸またはビオチン（例えば、米国特許第５，４１６，０１６号、Ｌｏｗ ｅｔ ａｌ．を参照されたい）；マンノシド（Ｕｍｅｚａｗａ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．１５３：１０３８）；抗体（Ｐ．Ｇ．Ｂｌｏｅｍａｎ ｅｔ ａｌ．（１９９５）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．３５７：１４０；Ｍ．Ｏｗａｉｓ ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．３９：１８０）；サーファクタントタンパク質Ａ受容体（Ｂｒｉｓｃｏｅ ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．１２３３：１３４）；ｐ１２０（Ｓｃｈｒｅｉｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６９：９０９０）が挙げられ、Ｋ．Ｋｅｉｎａｎｅｎ；Ｍ．Ｌ．Ｌａｕｋｋａｎｅｎ（１９９４）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．３４６：１２３；Ｊ．Ｊ．Ｋｉｌｌｉｏｎ；Ｉ．Ｊ．Ｆｉｄｌｅｒ（１９９４）もまた参照されたい。

【０１６６】

以下の実施手順は、診療所において、ＰＥＴイメージングを用いて患者を診察する際に用いられうる。患者は実施日のしばらく前に、非標識タンパク質を前投与され、少なくとも１２時間は絶食し、水を自由摂取することは許可される。放射性トレーサーの投与を血液内に集中させるため、２０Ｇ２－インチ静脈カテーテルが対側尺骨静脈に挿入される。

【０１６７】

患者をＰＥＴカメラに配置し、［^{18}Ｆ］実施例９化合物（＜２０ｍＣｉ）などの、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのＰＥＴトレーサーのトレーサー量が静脈カテーテルを通して投与される。未代謝のＰＥＴトレーサーである、血漿中の［^{18}Ｆ］実施例２化合物の割合を解析および定量するために、動脈または静脈血液サンプルのいずれかが、ＰＥＴスキャンの間の適切な時間間隔において採取される。画像は最大で１２０分にわたって得られる。放射性トレーサーの注射の１０分以内およびイメージング時間の終わりに、ＰＥＴトレーサーの前に投与され得た非標識タンパク質の血漿濃度を決定するため、１ｍＬの血液サンプルが採取される。

【０１６８】

画像再構成から断層画像が得られる。放射性トレーサーの分布を決定するため、関心領域（ＲＯＩ）が、これらに限定はされないが、肺、肝臓、心臓、腎臓、皮膚または他の臓器または組織などの再構成画像上に描かれる。これらの領域における放射性トレーサーの経時的な取り込みは、試験される様々な投与パラダイムにおいて、あらゆる治療介入の非存在下、または非標識タンパク質の存在化で得られる時間放射能曲線（ＴＡＣ）を作成するために用いられる。データは、単位容量あたりの単位時間あたりの放射能（μＣｉ／ｃｃ／注入用量のｍＣｉ）として表される。ＴＡＣデータは当技術分野において周知の様々な方法によって処理され、非占有標的陽性組織の密度に比例する結合能（ＢＰ）または体積分布（V_T）などの定量パラメーターが得られる。

【０１６９】

ＶＩＩＩ．キットおよび製品

本明細書に記載の^{18}Ｆ－放射性標識標的組成物の生成のためのキットおよび使用のための説明書もまた示される。キットには、一般に、所定量の試薬と説明書のパッケージ化された組み合わせおよびキットの内容物の意図される用途を表すラベルが含まれる。用語ラベルには、キットに組み込まれたまたはキットに含まれる、またはそうでなければ、キットに付随する、あらゆる文書または記録されたものが含まれる。

【０１７０】

例えば、いくつかの実施態様において、キットは補欠分子族が^{18}Ｆによって当該部位でフッ素化され、次いで投与前に放射性標識補欠分子族がＢＦＣ－結合標的分子（例えば、タンパク質またはペプチド）に結合する条件において必要な試薬を含む。

【０１７１】

いくつかの実施態様において、キットは、本明細書においてさらに記述されるＰＤ－Ｌ１アドネクチン－ＰＥＧ４－ＤＢＣＯ－^{18}Ｆなどの、^{18}Ｆ標識抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチンインビボイメージング剤を形成するのに必要な１つ以上の試薬を含む。例えば、キットは抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチン－ＰＥＧ－４－ＤＢＣＯを含む第一のバイアル、および［^{18}Ｆ］ＦＰＰＥＧＡを含む第二のバイアルを含みうる。キットは、抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチン－ＰＥＧ－４－ＤＢＣＯを含む第一バイアル、４－ＰＥＧ－トシル－アジドを含む第二バイアル、およびＯ^{18}水中の^{18}Ｆを含む第三バイアルを含みうる。キットはさらに、バイアル、溶液および適宜ＰＤ－Ｌ１アドネクチン－ＰＥＧ４－ＤＢＣＯ－^{18}Ｆの生成に必要な追加の試薬を含みうる。

【０１７２】

いくつかの実施態様において、キットはさらに、少なくとも１つの追加の試薬（例えば、薬学的に許容可能な担体）を含みうる。いくつかの実施態様において、当該キットは、本明細書において開示される方法に従って標識プローブを生成するために用いられる反応前駆体を含む。キットの成分は、本明細書に記載されるような、モニターされる特定の生物学的条件に合わせて調整されうる。宿主細胞または宿主生物に、前記で列挙される成分の様々な組み合わせを投与するために、キットはさらに当技術分野において周知の適切な緩衝液および試薬を含みうる。イメージング剤および担体は、溶液または凍結乾燥された形態で提供されうる。キットのイメージング剤および担体が凍結乾燥された形態である場合、キットは適宜、水、生理食塩水、緩衝生理食塩水などの、無菌および生理学的に許容可能な再構成溶媒を含んでもよい。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シ

リンジおよび試験管が挙げられる。容器は、ガラスまたは樹脂などの様々な物質から形成されうる。さらに、商業上および利用者の観点から望ましい他の物質、例えば、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、シリンジおよび使用説明書に付随する添付文書もまた挙げられる。

【０１７３】

ＩＸ．使用

^{18}Ｆ－標識標的薬剤を用いたイメージング方法が本明細書において示される。^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのＰＥＴプローブなどの陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）トレーサーは、インビトロおよびインビボでの画像診査および診断の応用において使用するための、現在利用可能なＰＥＴ技術と共に用いられうる。ＰＥＴスキャンによる^{18}Ｆイメージングのためのイメージング技術および装置は、当技術分野において周知であり（例えば、米国特許第６，３５８，４８９号；６，９５３，５６７号；Ｐａｇｅ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅａｒ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２１：９１１－９１９，１９９４；Ｃｈｏｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５５：５３２３－５３２９，１９９５；Ｚａｌｕｔｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｕｃｌｅａｒ Ｍｅｄ．，３３：５７５－５８２，１９９２を参照されたい）、このような周知のＰＥＴイメージング技術または装置のいずれかが用いられうる。

【０１７４】

本明細書に示されるイメージング方法のインビボでの応用としては、疾患の診断、疾患の進行のモニター、予後、対象の治療への応答の可能性の決定、治療への適格性の決定、治療への臨床的応答のモニター、治療化合物の臨床的評価および用量選択、動物モデルにおける潜在的な候補薬物の前臨床試験、並びに、組織および臓器における標的分子の局所分布および濃度の観測が挙げられる。インビトロでの応用としては、細胞アッセイ（例えば、競合アッセイ、親和性アッセイ、など）における候補薬物のスクリーニングが挙げられる。

【０１７５】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－標識標的薬剤は、候補治療化合物による組織占有度と患者の臨床効果の関係を決定するため；長期間の臨床試験の開始前に、候補薬物の臨床試験のための用量選択を決定するため；および、異なる候補薬物の有効性を比較するために用いられうる。

【０１７６】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物は、正常または疾患組織および／または臓器（例えば、肺、心臓、腎臓、肝臓、および皮膚）のインビボイメージングのための方法において用いられる。例えば、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物は、対象の細胞または組織に^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物の取り込みが生じるのに有効な分量において、対象に投与される。対象は次いで、適切なイメージングシステム（例えば、ＰＥＴシステム）を、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物を検出できる十分な時間にわたって受ける。^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物から検出されたシグナルの位置は、対象の細胞または組織の位置に関連しうる。いくつかの実施態様において、当該位置の範囲もまた決定されうる。インビボイメージングは本明細書において記述される。以下もまた参照されたい：米国特許第６，１２６，９１６号；６，０７７，４９９号；６，０１０，６８０号；５，７７６，０９５号；５，７７６，０９４号；５，７７６，０９３号；５，７７２，９８１号；５，７５３，２０６号；５，７４６，９９６号；５，６９７，９０２号；５，３２８，６７９号；５，１２８，１１９号；５，１０１，８２７号；および４，７３５，２１０号、それぞれは引用により本明細書に援用される。

【０１７７】

そのため、いくつかの局面において、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの画像を得る方法であって、対象に^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを投与すること、およびＰＥＴによる^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブのインビボでの分布をイメージングすることを含む方法が示される。

【０１７８】
いくつかの実施態様において、対象は哺乳動物、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、類人猿、サル、ラットまたはマウスである。
【０１７９】
いくつかの局面において、対象における疾患の存在を診断する方法であって、疾患の存在に関係する標的分子に結合する、^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを、それを必要とする対象に投与すること、および^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブの存在または非存在を検出するために、対象の少なくとも１部分の放射線画像を得ることを含む方法が示される。
【０１８０】
いくつかの実施態様において、疾患は固形癌、造血癌、血液癌、自己免疫性疾患、神経変性疾患、心血管疾患または病原性感染である。
【０１８１】
^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物を用いたＰＥＴイメージングは、標的化合物を定性的または定量的に検出するために用いられうる。^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物イメージング剤はバイオマーカーとして用いられ得、対象の陽性シグナルの存在もしくは非存在は、例えば、対象が癌治療などの所定の治療に対して応答すること、または対象が治療に応答するかどうかを示しうる。
【０１８２】
いくつかの実施態様において、当該方法のステップは、疾患の位置および／または大きさが、時間および／または治療に応じてモニターされうるように、所定の間隔において繰り返されうる。いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物は、治療（例えば、化学療法など）を受けている対象の、治療に対する応答を可視化することを補助するために用いられうる。例えば、患者の疾患の進行または退縮をモニターするために、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物は一般に、治療前、および治療中定期的に（例えば、毎日、毎週、毎月、それらの間の間隔、など）、可視化および測定される。
【０１８３】
そのため、いくつかの実施態様において、それを必要とする対象における疾患の進行をモニターする方法であって、疾患の存在に関係する標的分子に結合する^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブを、最初の時点において対象に投与すること、および疾患細胞または組織の分量を決定するために、対象の少なくとも１部分の画像を得ること、および^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブをその後の１回以上の時点において、対象に投与すること、およびその後のそれぞれの時点において、対象の少なくとも１部分（例えば、最初の時点と同じ部分）の画像を得ることを含む方法が示される。
【０１８４】
いくつかの実施態様において、癌治療（例えば、化学療法、放射線療法）を受けている対象において、腫瘍の大きさがモニターされ得、腫瘍の退縮度合いが、^{18}Ｆ－放射性標識腫瘍標的の検出に基づいてリアルタイムでモニターされうる。
【０１８５】
いくつかの実施態様において、本明細書の方法は、治療に対する患者の応答を評価するために用いられる。いくつかの実施態様において、当該方法は、治療化合物の用量を選択または修正するために用いられる。いくつかの実施態様において、当該方法は、毒性または患者ごとの差異を分析するために、正常組織における^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物の取り込みをモニターするために用いられる。いくつかの実施態様において、当該方法は、薬効をモニターするため、または薬物耐性を検出するために用いられる。
【０１８６】
いくつかの実施態様において、放射性標識化合物は、標準的な薬務に従って、単体でまたは薬学的に許容可能な担体または希釈剤との組み合わせのいずれかの医薬組成物において、哺乳動物、好ましくはヒトに投与される。このような組成物は、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下、直腸および局所投与経路などの、経口または非経口投与されうる。いくつか

の実施態様において、投与は静脈内投与である。いくつかの実施態様において、当該放射性標識化合物は、合成から１時間未満の間に静脈内注射される。

【０１８７】

いくつかの実施態様において、^{18}Ｆ－放射性標識標的薬剤のインビボでの生物学的活性は、臓器特異的な取り込みに関して、生体内分布観測、および適切な動物モデルにおける小動物ＰＥＴ動的イメージングによって測定されうる。例えば、生体内分布観測のために、動物群は^{18}Ｆ－放射性標識標的薬剤を注射され、その小集団を１回以上の時間間隔（例えば、５分、１０分、３０分、６０分、２時間）において犠死させる。対象の臓器および組織は迅速に切除および重量測定され、放射能が決定される。臓器および選択された組織において蓄積された放射能は、注入量の割合（％ＩＤ）として算出される。

【０１８８】

いくつかの実施態様において、本明細書において示される^{18}Ｆ－放射性標識標的薬剤は、治療組織または細胞において用いるための化合物を選択するスクリーニング手段としてインビトロで用いられる。例えば、いくつかの実施態様において、疾患細胞は、１つ以上の候補薬物に晒される間またはその後に、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物と共に培養される。候補薬物が疾患に作用する能力は、^{18}Ｆ－放射性標識標的化合物を用いて経時的にイメージングされうる。

【０１８９】

例えば、インビトロでの^{18}Ｆ－放射性標識標的薬剤の生物学的活性の統合性は、選択された標的分子への特異的結合および放射性標識組成物の取り込みに関して、標的分子を発現している細胞株において評価される。結合および細胞結合アッセイのために、細胞は４℃または３７℃において、適切な時間にわたり、^{18}Ｆ－放射性標識標的組成物と共に培養される。過剰の非標識標的薬剤を加えることによって、非特異的結合が観測される。特異的結合の程度は、全結合から非特異的結合を差し引くことによって算出される。取り込みは、タンパク質のマイクログラムあたりの、細胞へ添加された標的薬剤の総用量の割合（％ＩＤ／μｇ細胞タンパク質）として表される。

【０１９０】

関連する局面において、本発明は^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質ベースのプローブ、および薬学的に許容可能な担体を含む、インビボまたはインビトロのための診断または放射性医薬組成物を提供する。

【０１９１】

引用による援用

特許文献およびウェブサイトなどの、本明細書に記載の全ての文書および参考文献は、本明細書において全体または一部が記載された場合と同じ程度に、引用により個別に本明細書に援用される。

【０１９２】

本発明は以下の実施例を参照することによって記述され、実施例は例証するのみであり、本発明を限定するものではない。本発明は詳細に、およびそれらの特定の実施態様に関連して記述されているが、様々な変化および変更が、それらの趣旨および範囲から逸脱することなくなされうることが当業者には明らかであろう。

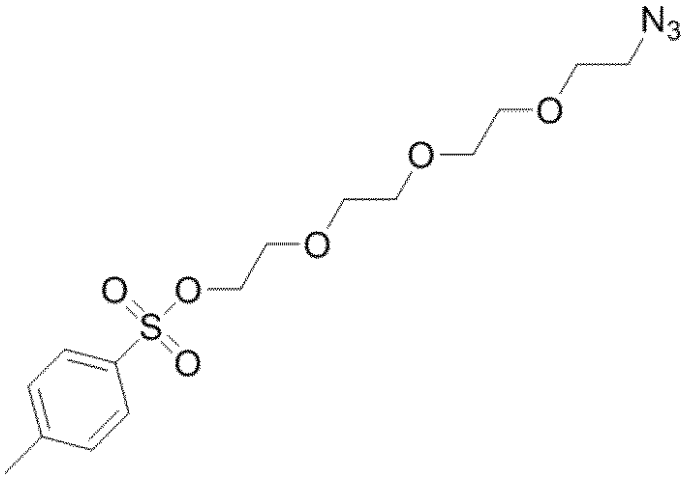
【実施例】

【０１９３】

実施例１

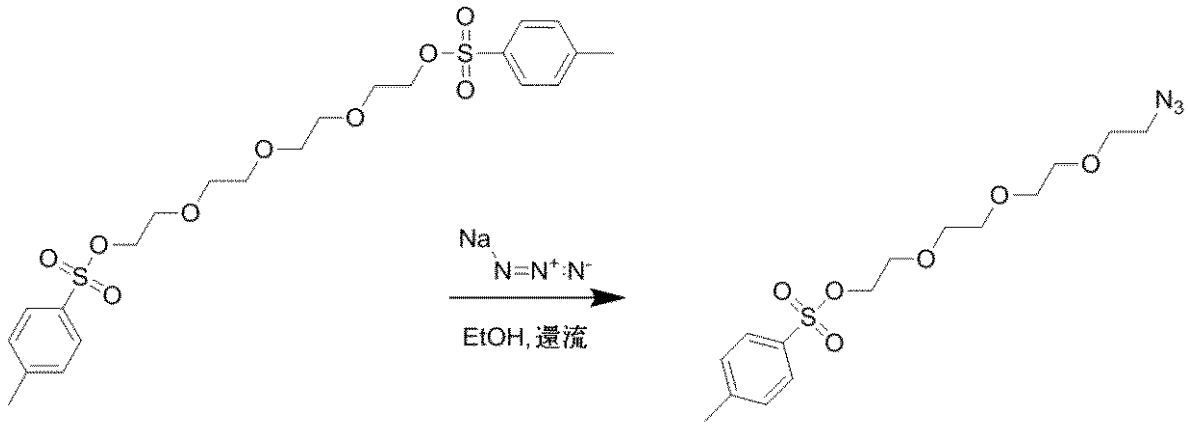
２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネートの合成

【化３１】



２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート

【化３２】



２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート

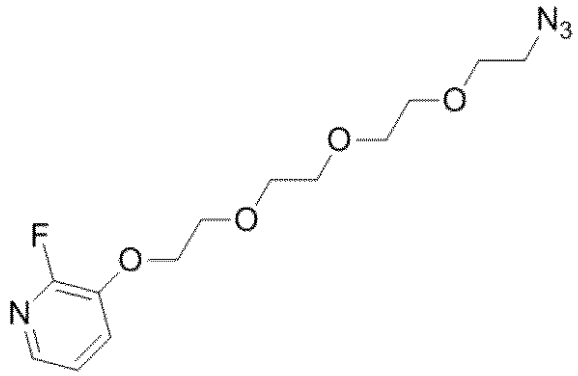
（（オキシビス（エタン－２，１－ジイル））ビス（オキシ））ビス（エタン－２，１－ジイル）ビス（４－メチルベンゼンスルホネート）（５ｇ、９．９５ｍｍｏｌ）およびアジ化ナトリウム（０．６４７ｇ、９．９５ｍｍｏｌ）の混合物を、エタノール（５０ｍＬ）に溶解し、反応液を９０℃で１７時間にわたり還流した。溶媒を部分真空によって留去し、次いで４０グラムのシリカカートリッジに加え、フラッシュクロマトグラフィー（ＩｓｃｏＣｏｍｂｉＦｌａｓｈ－ヘキサン中の１０％酢酸エチルからヘキサン中の９０％酢酸エチルまでの、４５分間の直線状勾配によって溶出）を用いて精製した。回収した画分をＴＬＣによって確認し、合わせて、２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネートを無色の油状物として得た。２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート生成物の反応特性によって、当該物質はさらなる特性評価をすることなく、そのままで用いられた。

【０１９４】

実施例２

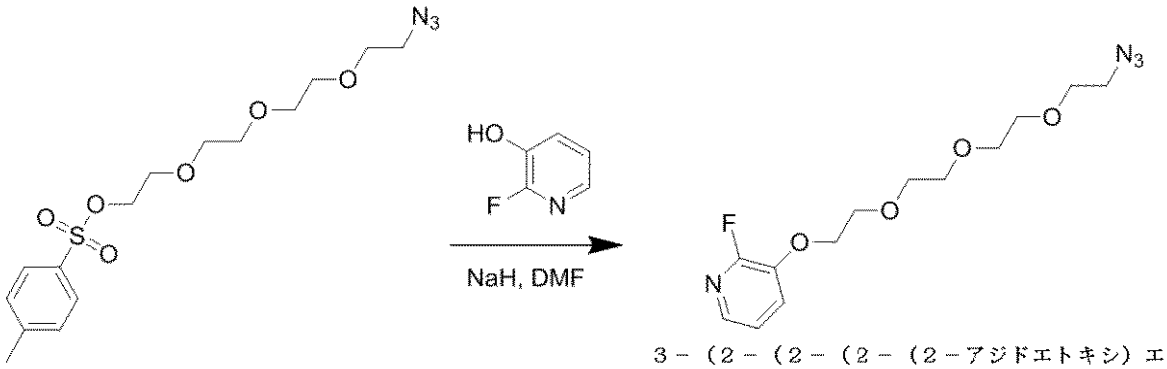
３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの合成

【化３３】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン

【化３４】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン

０℃の水素化ナトリウム（０．１２９ｇ、３．２１ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１０ｍＬ）中の懸濁液に、２－フルオロピリジン－３－オール（０．３６３ｇ、３．２１ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（５ｍＬ）中の撹拌溶液を滴下によって加え、次いで２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート（１．００ｇ、２．６８ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（５ｍＬ）溶液を滴下によって加えた。懸濁液を０℃で１０分間保ち、次いで１時間常温まで昇温させ、次いで６０℃で４時間加熱した。溶媒を真空で留去した。１００ｍＬの酢酸エチルを加え、次いで濃縮ブライン溶液によって３回に分けて洗浄抽出を行った。有機層を硫酸ナトリウムによって乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィー（ＩｓｃｏＣｏｍｂｉＦｌａｓｈ－ヘキサン中の１０－５０％ＥｔＯＡｃによって溶出）によって精製し、無色の油状物を得た。３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン（７０２ｍｇ、２．２３３ｍｍｏｌ、収率８３％）を透明な油状物として単離した。^{1}Ｈ ＮＭＲ （４００ＭＨｚ、クロロホルム－ｄ）δ ７．７５（ｄｔ，Ｊ＝４．９，１．６Ｈｚ，１Ｈ）、７．３３（ｄｄｄ，Ｊ＝１０．０，８．１，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．１０（ｄｄｄ，Ｊ＝７．９，４．９，０．７Ｈｚ，１Ｈ）、４．３０－４．１６（ｍ，２Ｈ）、３．９５－３．８３（ｍ，２Ｈ）、３．８０－３．６１（ｍ，１０Ｈ）、３．３８（ｔ，Ｊ＝５．１Ｈｚ，２Ｈ）１３Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，クロロホル

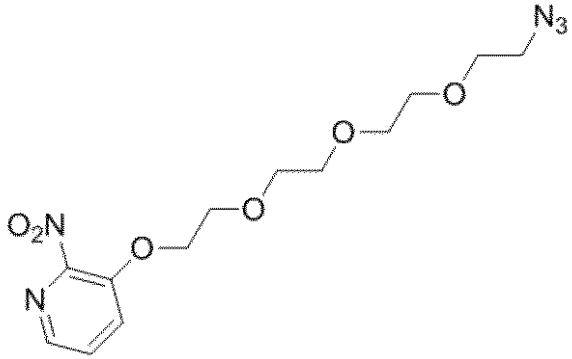
ム－ｄ）ｄ １４２．３，１３７．７，１３７．５，１２３．４，１２３．４，１２１．７，１２１．６，７７．３，７６．７，７０．９，７０．７，７０．６，７０．０，６９．４，６９．０，５０．６ １９Ｆ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ －８３．５５．ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）理論値：Ｃ１３Ｈ２０ＦＮ４Ｏ４＋ ｍ／ｚ ３１５．４６４；観測値 ３１５．１４６３

【０１９５】

実施例３

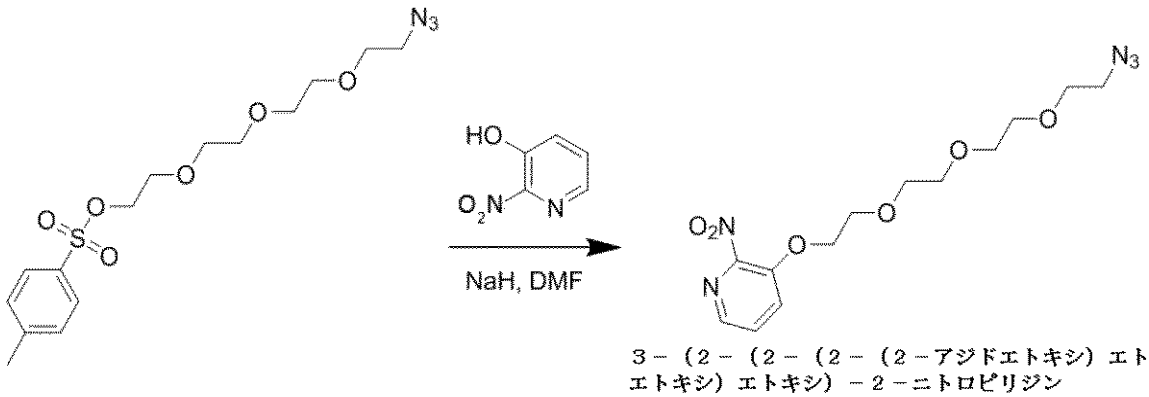
３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジンの合成

【化３５】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン

【化３６】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン

水素化ナトリウム（０．１２１ｇ、３．０１ｍｍｏｌ）（オイル中の６０％懸濁液）をＤＭＦ（７．０ｍＬ）に溶解し、得られた懸濁液を０℃に冷却した。２－ニトロピリジン－３－オール（０．３８４ｇ、２．７４ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１．５ｍＬ）溶液をゆっくりと加え、次いでＤＭＦ（１．５ｍＬ）中の２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート（１．０２３ｇ、２．７４ｍｍｏｌ）を滴下によって加えた。懸濁液を０℃で１０分間保ち、次いで常温まで２時間昇温させ、次いで６０℃で７２時間加熱した。反応を１０ｍＬのＤＩ水でクエンチし、次いで酢酸エチル抽出を行った（３×１０ｍＬ）。回収したＥｔＯＡｃ抽出物を、濃縮ブライン溶液（１０ｍＬ）によって洗浄し、硫酸ナトリウムによって乾燥させ、濾過し、減圧下で留去し、淡黄色の油状物を得た。粗製物をフラッシュクロマトグラフィーによって精製した。２４ｇのシリカカートリッジを用い、２５ｍＬ／分で、ヘキサン中の１０％酢酸エチルから始め、ヘキサン中の５０％酢酸エチルにまで２５分間で直線的に変化させた。その後、勾配を当該溶媒組成において１０分間保ち、次いで１０分間で１００％酢酸エチ

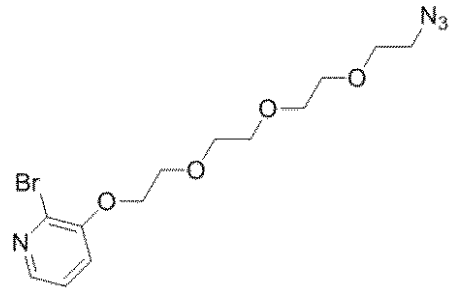
ルに変化させた。３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジンは、クロマトグラムの３０－４０分の間に溶出し、回収した画分を減圧、次いで真空で２時間留去し、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン（６８７ｍｇ、１．９７３ｍｍｏｌ、収率７２．０％）を淡黄色の油状物として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ ８．１１（ｄｔ，Ｊ＝４．９，１．６Ｈｚ，１Ｈ）、７．６０（ｄｄｄ，Ｊ＝１０．０，８．１，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．５２（ｄｄｄ，Ｊ＝７．９，４．９，０．７Ｈｚ，１Ｈ）、４．３０－４．１６（ｍ，２Ｈ）、３．９５－３．８３（ｍ，２Ｈ）、３．８０－３．６１（ｍ，１０Ｈ）、３．３８（ｔ，Ｊ＝５．１Ｈｚ，２Ｈ）１３Ｃ ＮＭＲ（１０１ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）ｄ １４７．３，１３９．５，１２８．４，１２４．４．７１．１，７０．７，７０．６，７０．０，６９．９，６９．３，５０．７．ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）理論値：Ｃ１３Ｈ２０Ｎ５Ｏ６＋ ｍ／ｚ ３４２．１４０８；観測値３４２．１４０９

【０１９６】

実施例４

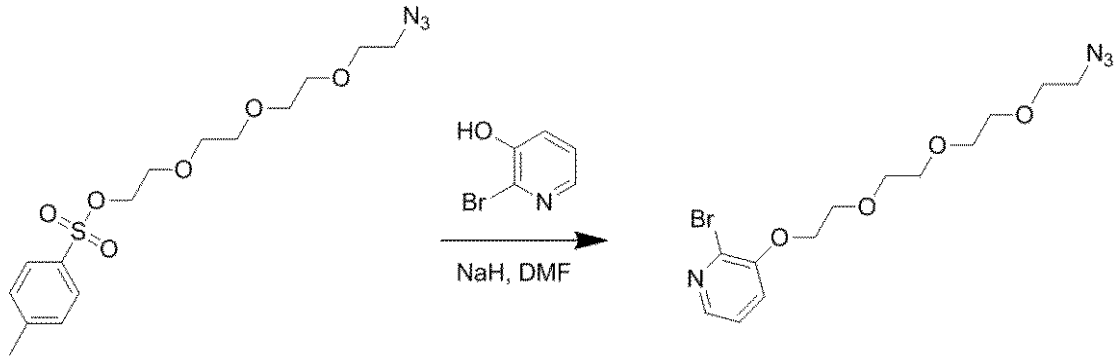
３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ブロモピリジンの合成

【化３７】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ブロモピリジン

【化３８】



０℃の水素化ナトリウム（ＮａＨ、２５．７ｍｇ、０．６４３ｍｍｏｌ）のジメチルホルムアミド（ＤＭＦ、５ｍＬ）中の懸濁液に、２－ブロモピリジン－３－オール（１１２ｍｇ、０．６４３ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍＬ）溶液を滴下によって加え、次いで２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エチル ４－メチルベンゼンスルホネート（２００ｍｇ、０．５３６ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍＬ）溶液を滴下によって加えた。懸濁液を０℃で１０分間保ち、次いで常温に昇温させ１時間保ち、次いで６０℃で４時間加熱した。加熱が完了すると、粗製反応混合液の溶媒を真空で留去した。粗製反応物を、５０ｍＬの酢酸エチルに再溶解し、２×５０ｍＬのブライン溶液で洗浄し、有機

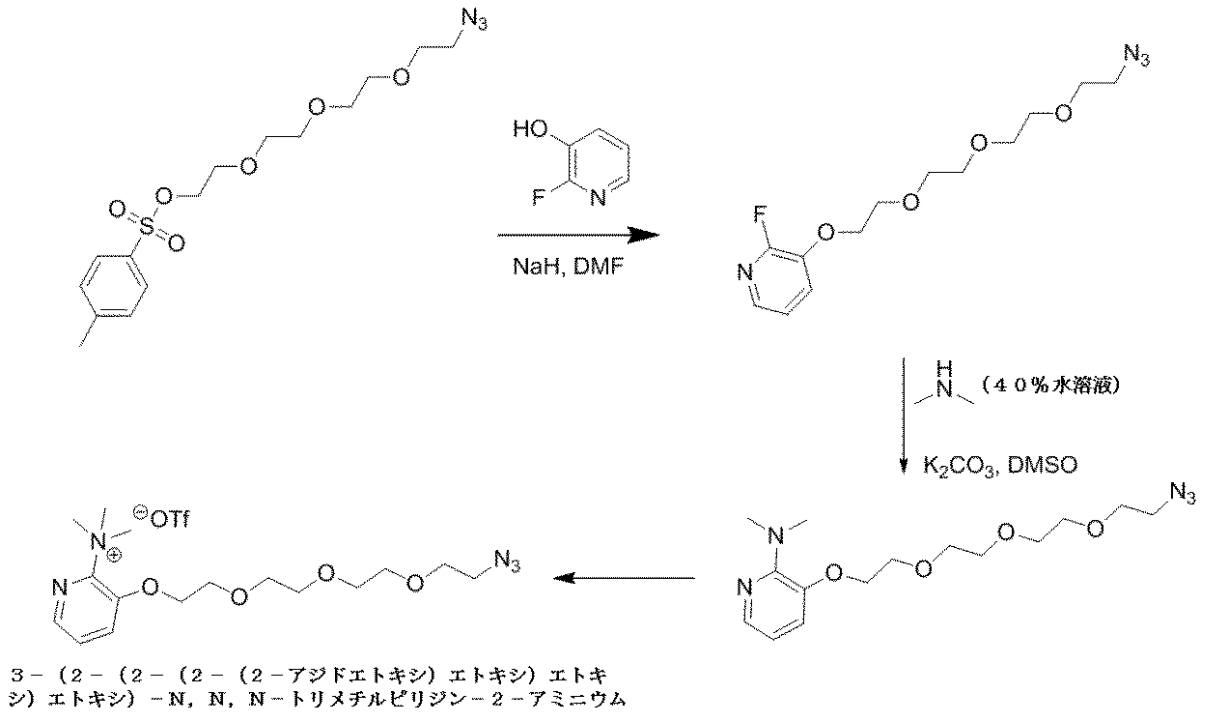
層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗製反応物を、逆相ＨＰＬＣを用いて精製し、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ブロモピリジン、ＴＦＡ（１１２ｍｇ、０．２２９ｍｍｏｌ、収率４２．７％）を淡黄色の油状物として得た。ＨＲＭＳ ＥＳＩ ｍ／ｚ（Ｍ＋Ｈ）、理論値 Ｃ１３Ｈ２０ＢｒＮ４Ｏ４ ３７５．０６６４ 観測値 ３７５．０６６２；^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ ７．９７（ｄｄ，Ｊ＝４．６，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．５４（ｄｄ，Ｊ＝８．２，１．６Ｈｚ，１Ｈ）、７．４０（ｄｄ，Ｊ＝８．１，４．６Ｈｚ，１Ｈ）、４．２４（ｄｄ，Ｊ＝５．３，３．９Ｈｚ，２Ｈ）、３．８５－３．７８（ｍ，２Ｈ）、３．６８－３．６２（ｍ，２Ｈ）、３．６２－３．５２（ｍ，８Ｈ）、３．４２－３．３４（ｍ，２Ｈ）。

【０１９７】

実施例５

トリメチルアニリウム（ｔｒｉｍｅｔｈｙｌａｎｉｌｉｕｍ）化合物の合成のためのスキーム

【化３９】

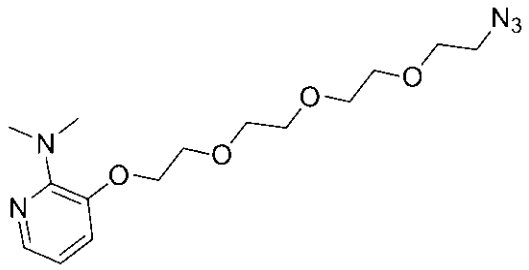


３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム

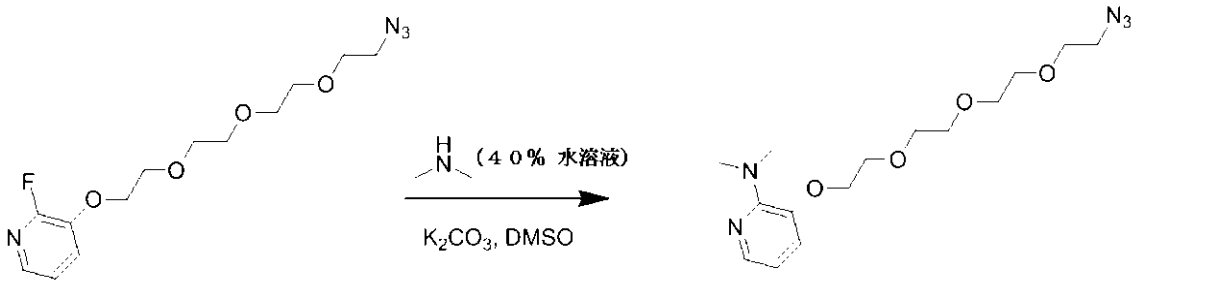
実施例６

３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチルピリジン－２－アミンの合成

【化４０】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチルピリジン－２－アミン



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチルピリジン－２－アミン

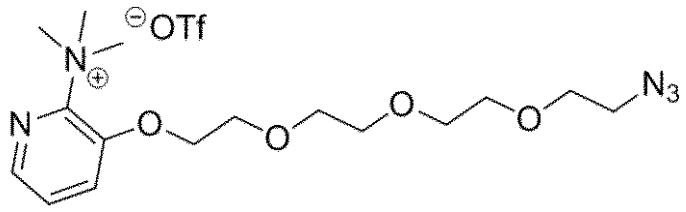
３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン（１６０ｍｇ、０．５０９ｍｍｏｌ）、炭酸カリウム（K_2CO_3、８４ｍｇ、０．６１１ｍｍｏｌ）、およびジメチルアミン（水中４０％、０．０９７ｍＬ、０．７６４ｍｍｏｌ）のジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ、２．５ｍＬ）中の混合物を、密閉された耐圧容器において１１０℃で１４時間加熱した。加熱が完了すると、粗製反応混合物の溶媒を真空で留去した。粗製反応物を５０ｍＬの酢酸エチルに再溶解し２×５０ｍＬのブライン溶液で洗浄し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。粗製反応物を、順相クロマトグラフィーを用いて精製し、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチルピリジン－２－アミン（１４０ｍｇ、０．４１３ｍｍｏｌ、収率８１％）を無色の油状物として得た。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ ７．８６（ｄｄ，Ｊ＝４．９，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、７．０２（ｄｄ，Ｊ＝７．８，１．５Ｈｚ，１Ｈ）、６．７３（ｄｄ，Ｊ＝７．８，４．９Ｈｚ，１Ｈ）、４．２０－４．０７（ｍ，２Ｈ）、３．９８－３．８６（ｍ，２Ｈ）、３．８１－３．６１（ｍ，９Ｈ）、３．３８（ｔ，Ｊ＝５．１Ｈｚ，２Ｈ）、３．１３－２．９４（ｍ，６Ｈ）、１．６９（ｓ，２Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）理論値：Ｃ１５Ｈ２６Ｎ５Ｏ４＋ ｍ／ｚ ３４０．１９８０；観測値 ３４０．１９７９。

【０１９８】

実施例７

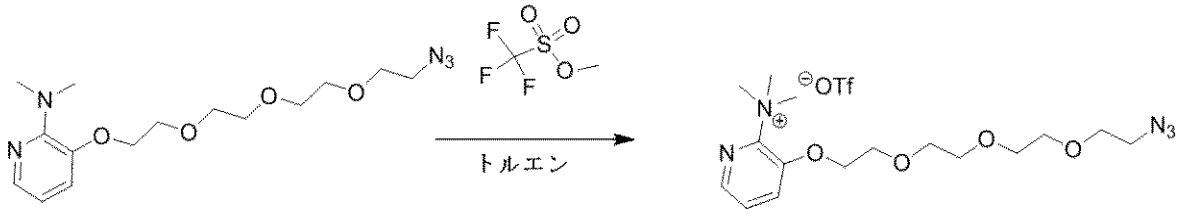
３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウムの合成

【化４１】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム

【化４２】



３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム

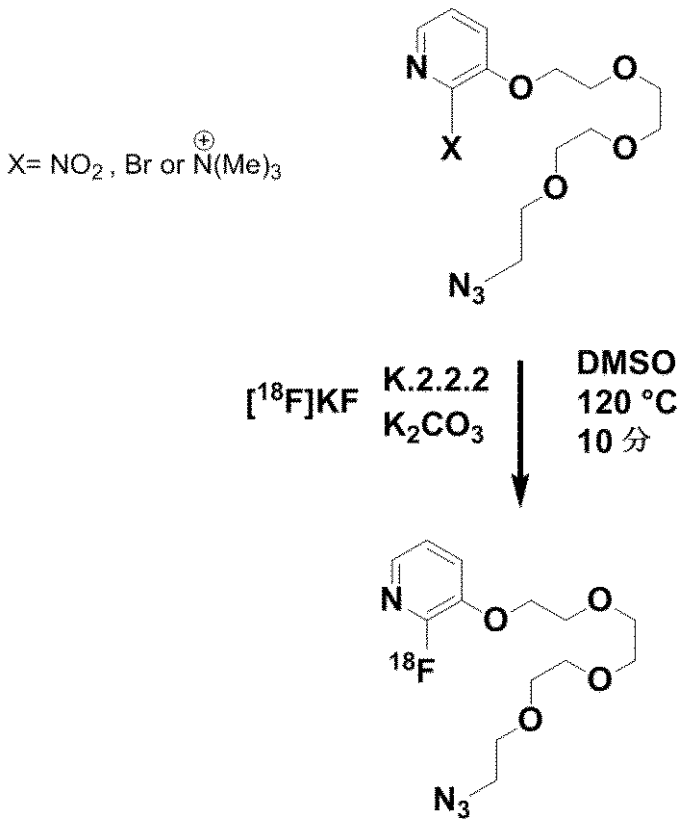
トリフルオロメタンスルホン酸メチル（０．０６５ｍＬ、０．５８９ｍｍｏｌ）を、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ－ジメチルピリジン－２－アミン（４０ｍｇ、０．１１８ｍｍｏｌ）のトルエン（１．５ｍＬ）溶液に、窒素の安定気流の下で密閉された容器において加えた。反応混合物を室温で１４時間にわたり攪拌した。溶媒を除去し、生じた残留物を２×１０ｍＬのエーテルで洗浄し、２×１ｍＬのジクロロメタンによって共沸によって乾燥させ、高圧真空下で一晩乾燥させ、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム、トリフルオロメタンスルホン酸塩を、無色の高粘度の油状物として定量的収率で得た。ＬＣＭＳ ｍ／ｚ ３５４．３３；^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ ８．２４－８．１７（ｍ，１Ｈ）、７．９８（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，１Ｈ）、７．７５（ｄｄｄ，Ｊ＝８．２，４．６，３．２Ｈｚ，１Ｈ）、４．４４（ｂｒ．ｓ．，２Ｈ）、３．８８（ｄ，Ｊ＝３．９Ｈｚ，２Ｈ）、３．６９－３．４５（ｍ，２１Ｈ）。

【０１９９】

実施例８

３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム、トリフルオロメタンスルホン酸塩を用いた、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの合成

【化４３】



［１８Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの合成

［１８Ｆ］－フルオライドの水溶液（２．０ｍｌ，３３．３ＧＢｑ／９００ｍＣｉ）を、ペンシルベニア州ウエスト・ポイント、Ｐ．Ｅ．Ｔ．Ｎｅｔ（登録商標）Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓから購入し、直接Ｓｅｐ－Ｐａｋ ｌｉｇｈｔ ＱＭＡに移した［Ｓｅｐ－Ｐａｋ ｌｉｇｈｔ ＱＭＡカートリッジは、使用前に、５ｍｌの０．５Ｍの炭酸水素カリウム、５ｍｌの脱イオン水、および５ｍｌのＭｅＣＮの順で前処理を行った］。移行が終了すると、炭酸カリウム（１５ｍｇ／ｍｌ；０．１ｍｌ）、次いで、炭酸カリウム（３０ｍｇ／ｍｌ、０．１ｍｌ）、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン（１５ｍｇ、０．０４ｍｍｏｌ）および１．２ｍｌのＭｅＣＮの混合物を逐次添加することによって、［１８Ｆ］フルオライド水溶液がＱＭＡ Ｓｅｐ－Ｐａｋから溶出した。溶媒を９０℃の窒素の緩やかな気流の下でおよび真空で留去した。共沸乾燥を、１ｍｌのアセトニトリルによって２回繰り返し、無水Ｋ．２．２．２／Ｋ［１８Ｆ］Ｆ複合体を得た。３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルピリジン－２－アミニウム、トリフルオロメタンスルホン酸塩（２ｍｇ、５．６μｍｏｌ）を、５００マイクロリットルのＤＭＳＯに溶解し、乾燥クリプタンドに加えた。この溶液を１２０℃で１０分間加熱した。その後、粗製反応混合物を３ｍｌのＤＩ水で希釈した。次いで、粗製反応混合物の全量を、逆相ＨＰＬＣに移し、ロードし、以下の条件で精製した：ＨＰＬＣカラム：Ｌｕｎａ Ｃ１８ ２５０×１０ 溶媒Ａ：０．１％ＴＦＡを含むＤＩ水；溶媒Ｂ：０．１％ＴＦＡを含むアセトニトリル、流速４．６ｍｌ／分、３２％のＢの定組成メソッドを用い、ＵＶは２８０ｎｍにおいてモニターされた。［１８Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンを、クロマトグラムの２４分のピークにおいて単離し、２分間回収した。この生成物を１０ｍｌのＤＩ水を含む１００ｍｌのフラスコに回収し、全ての内容物をＷａｔｅｒｓのＳｅｐ－Ｐａｋ ＶａｃｔＣ１８ ６ｃｃ １ｇ ｓｅｐ ｐａｃｋに移した。６．１ＧＢｑ／

１６４ｍＣｉの［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンをこの反応液から単離した。これは３ｍｌのエタノールによってｓｅｐ－ｐａｋから回収され、この溶液を９８Ｃ熱源、窒素の安定な気流、および真空によって１５分間、当該バイアルにフィルムのみが残るまで蒸発させた。最終生成物を１００％の１×ＰＢＳ緩衝液に再溶解し、３７℃で１時間以上は当溶媒に安定である。

【０２００】

［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンは、^{18}Ｆ標識生物学的製剤を生成するために、アルキンを含む適切な生物製剤との「クリック」アジド－アルキン反応を利用することで用いられうる。

【０２０１】

実施例９

「クリックケミストリー」を用いた^{18}Ｆ－放射性標識タンパク質の製造

本例において、図１および５に説明されるように、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンは、標的タンパク質を放射性標識するために用いられた。

【０２０２】

４－ＰＥＧ－トシル－アジド前駆体のフッ素化による、［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡの生成

９００ｍＣｉの^{18}Ｆの^{18}Ｏ水（３ｍｌ）の放射能（ＩＢＡ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒから購入）を、４，７，１３，１６，２１，２４－ヘキサオキサ－１，１０－ジアザビシクロ［８．８．８］ヘキサコサン（２．８ｍｇ、７．４４μｍｏｌ）および炭酸カリウム（１．７ｍｇ、０．０１２ｍｍｏｌ）を含むマイクロバイアル（ｎｏ ＱＭＡ）に直接移した。追加の２．０ｍｌのアセトニトリルをこの粗製反応混合物に加え、全ての混合物を共沸によって乾燥させた。９８℃のオイルバスを用いて溶液を蒸発させることによって、並びにN_2の穏やかな気流を加えることおよび部分真空によって、乾燥を完了させた。溶液の体積は約２ｍｌに減少した。追加の２ｍｌのアセトニトリルを加え、このプロセスを４０分にわたり３回繰り返した。液体の体積が０．３ｍｌ未満まで減少した時、０．７ｍｌの分取量のアセトニトリルを加え、溶液をさらに共沸蒸留することで体積を～０．１ｍｌにまで減少させた。追加の０．９ｍｌのアセトニトリルを加え、このプロセスを白色の固形物が生成するまで行った。このプロセスには～５５分要した。最後の手順の間は、溶液が乾燥する前にバイアルをオイルバスから外し、バイアル中の残留物を２０分間室温で、完全真空（窒素気流なし）下に設置した。［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡクリプタンド混合物の移行および乾燥に要した合計時間は６５分であった。

【０２０３】

乾燥［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡクリプタンド混合物に、３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン（２ｍｇ、５．８６μｍｏｌ）の、５００マイクロリットルのＤＭＳＯ溶液を加え、この混合物を１２０℃で１０分間加熱した。その後、粗製反応混合物を３ｍｌのＤＩ水で希釈し、次いで全ての溶液を、以下のＨＰＬＣカラムおよび条件において、移行およびロードした：ＨＰＬＣカラム：Ｌｕｎａ Ｃ１８ ２５０×１０ｍｍ；溶媒Ａ：０．１％ＴＦＡを含むＤＩ水；溶媒Ｂ：０．１％ＴＦＡを含むアセトニトリル；流速４．６ｍｌ／分；圧力１８２０ＰＳＩ；定組成メソッド ３２％Ｂ；ＵＶ－２８０ｎｍ。［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジン（［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡ）生成物を、クロマトグラムの２４分のピークにおいて単離し、２分間回収した。この生成物を、１５ｍＬのＤＩ水を含む１００ｍｌフラスコに回収し、全ての内容物をＳｅｐ ＰａｋＶａｃ ｔＣ１８ ６ｃｃ １ｇ ｓｅｐ ｐａｃｋに移した。ＰＮ ＷＡＴ０３６７９５。２．５ｍｌのエタノールを用いて［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡをＳｅｐ Ｐａｋから回収し、この溶液を乾燥するまで、９８℃のN_2および真空によって１５分間留去した。この化合物を０．１ｍｌの１×ＰＢＳ（リン酸緩衝化食塩水）に溶解

させた。この生成物をＶａｒｉａｎ ＨＰＬＣを用いて解析した：ＨＰＬＣカラム Ｌｕｎａ Ｃ１８（２）４．６×１５０ｍｍ 溶媒Ａ：０．１％ＴＦＡを含むＤＩ水；溶媒Ｂ：０．１％ＴＦＡを含むアセトニトリル；流速１．０ｍｌ／分；勾配メソッド ０分 ９０％Ａ １０％Ｂ；１５分 ３０％Ａ ７０％Ｂ；１７分 ３０％Ａ ７０％Ｂ；１８分 ９０％Ａ １０％Ｂ；２０分 ９０％Ａ １０％Ｂ；ＵＶ－２８０ｎｍ。２２０ｍＣｉの［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡが単離された。

【０２０４】

Ｂ．Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯの合成

Ｃ末端アミノ酸ＰＣを含む、以下のアミノ酸配列；

ＧＶＳＤＶＰＲＤＬＥＶＶＡＡＴＰＴＳＬＬＩＳＷＲＡＱＬＳＰＳＦＹＹＲＩＴＹＧＥＴＧＧＮＳＰＶＱＥＦＴ

ＶＰＮＤＶＭＴＡＴＩＳＧＬＫＰＧＶＤＹＴＩＴＶＹＡＶＴＴＨＧＶＹＦＹＳＰＩＳＩＮＹＲＴＰＣ（Ｅ０１；配列番号：１）

を有するＦＢＳタンパク質、Ｅ０１アドネクチンが用いられた。

【０２０５】

標的タンパク質をＰＥＧ４－ＤＢＣＯに結合させるために、マレイミドケミストリーが用いられたため、Ｅ０１アドネクチンは、最初にプロリンを追加することで改変され、次いで所定の組み換え技術を用いてＣ末端のシステインを生成した。４等量以上のマレイミド－ＰＥＧ４－ＤＢＣＯ（Ｃｌｉｃｋ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｔｏｏｌｓ）をＤＭＳＯに溶解し、精製された改変Ｅ０１アドネクチンを、１ｍＭ ＴＣＥＰの存在下で加えた。ＤＭＳＯの最終濃度は、結合混合物中の５％を超えていなかった。質量スペクトル解析の前に、結合混合物を室温で１時間放置した。結合をＭＳで確認した後、ＰＢＳ ｐＨ７．２で平衡化されたＨｉＬｏａｄ ２６／６０ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ７５ カラム（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を用いて、サンプルをサイズ－排除クロマトグラフィーによって精製した。

【０２０６】

Ｃ．［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡのアドネクチンへの結合

０．２ｍｌの５．４ｍｇ／ｍｌのＥ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯアドネクチン溶液（セクションＢで記述されるように生成された）を、１×ＰＢＳ緩衝液中の２００ｍＣｉの０．１ｍｌの［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡ（実施例１）と共にインキュベートした。粗製反応液を上下に数回ピペッティングすることによって溶液を穏やかに混合させ、４５℃または室温で４５分間共にインキュベートした。この粗製反応混合液の内容物を、ＳＥＣカラムを用いて精製した。Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ ０．５ｍｌ／分 １×ＰＢＳ緩衝液および［^{18}Ｆ］－Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡ生成物を、クロマトグラムの３７分のピークにおいて２分間単離した。

【０２０７】

［^{18}Ｆ］－Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡは、非放射性スタンダードの同時注入を伴うＳＥＣ、ＰＬＲＰＳカラムを用いたＲＰ ＨＰＬＣ、およびゲル電気泳動によって解析された。

【０２０８】

サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）は、以下のパラメーターを用いて行われた：Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００ カラム；溶媒 １００％１×ＰＢＳ緩衝液；０．５ｍｌ／分 ２８０ ＵＶ；

逆相ＨＰＬＣ

カラム：ＰＬＲＰＳ ８ ｍｉｃｒｏｎ １０００ Ａ ４．６×２５０ｍｍ

溶媒Ａ：ＤＩ水中の０．１％ギ酸

溶媒Ｂ：アセトニトリル

流速：１ｍｌ／分

圧力：１３５１ ＰＳＩ

勾配：

０分　９０％Ａ　１０％Ｂ
３０分　４５％Ａ　５５％Ｂ
３２分　２５％Ａ　７５％Ｂ
３６分　２５％Ａ　７５％Ｂ
５０分　９０％Ａ　１０％Ｂ

【０２０９】

１５ｍＣｉの［^{18}Ｆ］－Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ－ＦＰＰＥＧＡが単離され、反応が４５℃で行われた場合に、ＳＥＣおよびＲＰ　ＨＰＬＣの計算によって＞９９％の放射化学的純度（ＲＣＰ）、および０．６ｍＣｉ／ｎｍｏｌの特異的活性を有した。反応が室温で行われた場合、５．７２ｍＣｉが得られた。反応が４５℃または室温で行われた場合はそれぞれ、合成の３時間において、［^{18}Ｆ］－ＦＰＰＥＧＡの特異的活性は０．５１２ｍＣｉ／ｎｍｏｌおよび８５．７％のＲＣＰであった。特異的活性はＮａｎｏｄｒｏｐ（http://www.nanodrop.comを参照されたい）によって測定した。生成物はＳＥＣおよびＰＬＲＰＳの両方において、非放射性スタンダードと共に溶出した。ゲル電気泳動によって、^{18}Ｆ生成物が１１ｋＤａの分子量標準と一致することを確認した。

【０２１０】

^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯは、診断イメージング、基礎研究および放射性治療応用などの様々なインビトロおよび／またはインビボイメージング応用において用いられうる。診断イメージングおよび放射性治療応用の可能な特定の例としては、哺乳動物、またはそれらの臓器もしくは組織サンプルにおける、ＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の位置、相対的な活性および／または定量化の決定、ＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の放射免疫アッセイ、並びにＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の分布を決定するためのオートラジオグラフィーが挙げられる。

【０２１１】

特に、^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯは、ヒトおよび実験動物の肺、心臓、腎臓、肝臓および皮膚および他の臓器における、ＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の陽電子放出断層撮影（ＰＥＴ）イメージングに有用である。^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯを用いたＰＥＴイメージングは、以下の情報を得るために用いられうる：ＰＤ－Ｌ１腫瘍－候補治療剤の組織占有度および患者の臨床効果の関係；長期間の臨床試験の開始前に、ＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤の臨床試験のための用量選択；構造的に新しいＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤の相対的な有効性；ＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤を用いた臨床的標的の治療の間の、ＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤のインビボでの輸送体親和性および密度への影響の調査；有効および非有効治療の間の、ＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の密度および分布の変化。

【０２１２】

例えば、ＰＤ－Ｌ１の阻害は、未治療の状態におけるＢＰまたはV_Tと比較して、様々な用量パラダイムにおけるＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤の存在下での平衡分析によるＢＰまたはV_Tの変化に基づいて計算されうる。阻害曲線は、前記のデータ対ＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤の用量（濃度）をプロットすることによって生成される。ＰＤ－Ｌ１陽性腫瘍の阻害は、次いで、E_{max}、T_{max}またはT_{min}において遮断薬によって得られうるＰＥＴ放射性リガンドV_TまたはＢＰの最大の減少量、並びに、未治療の状態のＢＰまたはV_Tと比較して、様々な用量パラダイムにおけるＰＤ－Ｌ１腫瘍－治療剤の存在下での分布（V_{ND}）の非特異的体積およびＢＰの変化に基づいて計算される。ＩＤ５０値は、用量－速度／阻害曲線のカーブフィッティングによって得られる。

【０２１３】

実施例１０

抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチンイメージング剤を用いた、ＰＤ－Ｌ１－陽性細胞のＰＤ－Ｌ１－陰性細胞とのインビトロでの識別

本実験において、^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯの、インビトロにおけるＰＤ－Ｌ１－陽性細胞およびＰＤ－Ｌ１－陰性細胞を識別する能力について試験した。

【０２１４】
１×１０^{6}のＰＤ－Ｌ１－陽性Ｌ２９８７ヒト肺癌細胞またはＰＤ－Ｌ１－陰性ＨＴ－２９ヒト結腸直腸腺癌細胞を５ｍＬ培養チューブに入れた（条件ごとにｎ＝３チューブ）。^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ溶液を、ＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡ中に、３００ｎＣｉ／２００μＬの濃度で調整した。この溶液の一部を、冷却（非標識）Ｅ０１アドネクチンまたは冷却（非標識）アドネクチン（コントロール）のいずれかに加え、最終濃度を４５０ｎＭにした。細胞サンプルを５分間２００×ｇで遠心分離し、次いで２００μＬの適切な^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯ溶液に再懸濁し、氷上で１時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞サンプルを２００×ｇで遠心分離し、上清を捨てた。細胞ペレットを１ｍＬのＰＢＳ＋０．５％のＢＳＡに再懸濁し、洗浄の手順を合計３回繰り返した。最終の洗浄の後に、細胞を再び２００×ｇで遠心分離し、上清を捨てた。残存する細胞ペレットの放射能を、次いで、ガンマ計測器によって観測した。

【０２１５】
結果は、ＰＤ－Ｌ１－陰性ＨＴ－２９細胞と比較して、ＰＤ－Ｌ１－陽性Ｌ２９８７細胞と^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯの結合が異なることから明らかなように、全ての標識が特異的であることが示された（細胞関連放射能は、ＰＤ－Ｌ１－陽性Ｌ２９８７細胞において４４．６×高かった）。特異性はさらに、過剰量の４５０ｎＭの冷却（非標識）Ｅ０１アドネクチンと共にインキュベートした場合に、細胞関連^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯにおいて顕著な減少（９９．６％減少）が見られたことからも確認された。細胞を４５０ｎＭの冷却（非標識）非ＰＤ－Ｌ１結合性アドネクチンと共にインキュベートした場合には、細胞関連^{18}Ｆ－Ｅ０１は最小の減少（９．９％の減少、非有意）であった。

【０２１６】
まとめると、これらの結果は^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯがインビトロにおいてＰＤ－Ｌ１（＋）とＰＤ－Ｌ１（－）細胞を識別することのできる能力を示す。

【０２１７】
実施例１１
抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチンイメージング剤を用いた、ＰＤ－Ｌ１－陽性腫瘍のＰＤ－Ｌ１－陰性腫瘍とのインビボでの識別
本実験において、以下のアミノ酸配列：
ＥＶＶＡＡＴＰＴＳＬＬＩＳＷＳＹＤＧＰＩＤＲＹＹＲＩＴＹＧＥＴＧＧＮＳＰＶＱＥＦＴＶＰＰＤＱＫＴＡＴＩＳＧＬＫＰＧＶＤＹＴＩＴＶＹＡＶＲＬＥＥＡＨＹＮＲＥＦＰＩＳＩＮＹＲＴＰＣ（Ａ０２；配列番号：２）
を有する^{18}Ｆ－放射性標識ＰＤ－Ｌ１アドネクチンが、実施例９に示されるように合成され、マウスにおけるＰＤ－Ｌ１－陽性腫瘍およびＰＤ－Ｌ１－陰性腫瘍を識別する能力を試験した。

【０２１８】
両側性の異種移植腫瘍を有するマウスは、マウスの両側に１×１０^{6}のＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７ヒト肺癌細胞および１．５×１０^{6}のＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９ヒト結腸癌細胞を皮下注射することによって作られた。腫瘍がおよそ３００ｍｍ^{3}に達すると（細胞移植後、およそ２－３週間）、イメージングのために動物が選択された。イメージングのために、動物は２％イソフルランを用いた麻酔下に置かれ、尾静脈カテーテルが導入された。マウスは次いで、４匹の動物を収容できるカスタム動物ホルダーに入れられ、そこで研究の継続時間の間、麻酔下に保たれた。動物ホルダーをｍｉｃｒｏＰＥＴ（登録商標）Ｆ１２０^{TM}スキャナー（Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｉｓ，Ｋｎｏｘｖｉｌｌｅ，ＴＮ）に移した。この機器の軸方向視野は７．６ｃｍである。この制限によって、動物は、スキャン領域が目の直前からおよそ尾の付け根までであるように配置された。

【０２１９】
最終的なＰＥＴ画像を減衰補正するために、^{57}Ｃｏの点光源を用いて１０－分の透過像を最初に得た。透過スキャンに続いて、あらかじめ導入された尾静脈カテーテルを介して放射性トレーサー溶液を投与し、２時間のエミッション画像を得た。注入された放射性トレーサー溶液は、約２００μＣｉの^{8}Ｆ－放射性標識Ａ０２または、最終濃度が３ｍｇ／ｋｇの冷却、非標識Ａ０２アドネクチン（個々の動物の体重に基づく）を含む２００μＣｉの^{18}Ｆ－放射性標識Ａ０２のいずれかから構成された。全ての注射剤は、注射の前に２００μＬの食塩水中に製剤化された。正確な注入量は、製剤化された用量を直接計測し、シリンジおよび尾静脈カテーテルに残った放射能を差し引くことによって計算した。

【０２２０】
画像は、得られた透過像を用いた減衰補正をした最大事後（ＭＡＰ）アルゴリズムによって再構築し、放射性同位体の崩壊について補正した。最終的な画像において、ＡＳＩＰｒｏソフトウェア（Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ）を用いて、腫瘍の境界付近に関心領域（ＲＯＩ）を引いた。それぞれのＲＯＩについて時間放射曲線を算出し、２時間のエミッション画像の経過における腫瘍体積中の放射性トレーサーの定量画像を得た。最終的な比較のために、個々の時間放射能曲線は、それぞれの特定の動物に対して注入された放射性トレーサーの用量に基づいて標準化した。放射性トレーサーの取り込みを、それぞれの時間放射能曲線の最後の１０分（放射性トレーサーの注入後１時間５０分から２時間）を用いて、腫瘍全域にわたって比較した。この手法を用いて、ＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７異種移植片における放射性トレーサーの取り込みは、^{64}Ｃｕ－Ａ０１放射性トレーサーのみを受けた動物のＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９異種移植片に見られるものに対して３．０５×であった。^{18}Ｆ－放射性標識Ａ０２放射性トレーサーおよび３ｍｇ／ｋｇの非標識Ａ０２アドネクチンを共に注入された動物において、ＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７異種移植片における取り込みは、ＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９異種移植片において見られるものに対してわずか１．０４×であった。

【０２２１】
いくつかの実験において、動物は頸椎脱臼によって犠死され、その直後にイメージングが行われた。当該動物において、次いで解剖が行われ、個々の組織（血液、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、筋肉、胃、骨、Ｌ２９８７腫瘍、およびＨＴ－２９腫瘍）を、あらかじめ秤量したチューブに回収した。全ての組織を、次いで再度秤量し、それぞれの組織の重量を決定した。次いで、それぞれの組織における放射能を、Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ Ｗｉｚａｒｄ３ ガンマ計測器を用いてエクスビボで直接計測した。全ての組織について、カウント毎分（ＣＰＭ）における計測値を、個々の動物に注入された放射性量に対して標準化し、放射性崩壊について補正した。これらの結果をプロットし、図２において示される放射性トレーサーの生体内分布を示した。

【０２２２】
これらの結果は、ＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９異種移植片と比較してＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７異種移植片において、放射性トレーサーの取り込みが明らかに異なることを示す。さらに、ＰＤ－Ｌ１の高い取り込みが見られる唯一の組織は腎臓であったが、これは^{18}Ｆ－放射性標識Ａ０２－４ＰＥＧ－ＤＢＣＯアドネクチンが分子の分子量に基づいて腎臓濾過を通過すると予測されるクリアランスのためだと考えられる。

【０２２３】
まとめると、これらの結果は、インビボにおいてＰＤ－Ｌ１（＋）とＰＤ－Ｌ１（－）の異種移植腫瘍を識別する直接的な可視化を示す。特異性は、さらに、３ｍｇ／ｋｇの非標識、抗ＰＤ－Ｌ１Ａ０２アドネクチンを共に注入することによって検証され、ＰＤ－Ｌ１（＋）腫瘍における放射性トレーサーの取り込みは、ＰＤ－Ｌ１（－）異種移植片における程度にまで減少した。最大の放射性トレーサー取り込み比、ｈＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７異種移植片対ｈＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９異種移植片において３．５３：１が、^{18}Ｆ－Ａ０２アドネクチン放射性トレーサーを用いて得られた。このことはさらに、ＰＥＴイメージングを用いてＰＤ－Ｌ１の組織発現を可視化するために、抗ＰＤ－Ｌ１アド

ネクチンを使用することの正当性を立証する。放射性核種として^{18}Ｆを用いる同様の実験がマウスにおいて行われ、同様の結果が得られた。reaching

【０２２４】

実施例１２

カニクイサルにおけるインビボイメージング

カニクイサルにおいて行われた場合、^{18}Ｆ－放射性標識Ｅ０１イメージング剤はまた同様の結果を示した。これらの実験において、実施例９に記載されるように合成された^{18}Ｆ－Ｅ０１抗ＰＤ－Ｌ１は、カニクイサルにおいて高コントラスト画像が得られるかを試験された。本明細書に記載の抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチンは、カニクイサルＰＤ－Ｌ１に対して高い親和性を維持する（しかし、齧歯類ＰＤ－Ｌ１に対しては低い親和性を持つ）。さらに、カニクイサルは、マウスモデルにおいて見られるようなＰＤ－Ｌ１（＋）腫瘍を有していないため、イメージング性能は、内因性ＰＤ－Ｌ１発現（バックグラウンドが低いため、ＰＤ－Ｌ１（＋）組織の高感度検出が可能になる）に関連する画像において測定される、バックグラウンド量に基づいて第一に評価される。これらの実験において、得られたＰＥＴ画像におけるバックグラウンド量は極めて低く、顕著な放射性トレーサーの蓄積は主に腎臓、脾臓、および膀胱に見られた。

【０２２５】

あらかじめ血管アクセスポート（ＶＡＰ）を導入したオスのカニクイサルを、０．０２ｍｇ／ｋｇのアトロピン、５ｍｇ／ｋｇのテラゾールおよび０．０１ｍｇ／ｋｇのブプレノルフィンＩ．Ｍ．によって麻酔した（全てを単一のシリンジから注入した）。次いで、イメージング手順の間水和を維持する点滴投与のために、静脈カテーテルを頭部血管に設置した。動物を気管内チューブ－通常は３．０ｍｍと共にインキュベートし、ｍｉｃｒｏＰＥＴ（登録商標）Ｆ２２０^{TM} ＰＥＴ機器（Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ、Ｋｎｏｘｖｉｌｌｅ、ＴＮ）の撮影台に移した。イメージング処置の間、麻酔をイソフルランおよび酸素によって維持し、静脈内輸液（ＬＲＳ）を６ｍｌ／ｋｇ／時間の速度で投与した。ｍｉｃｒｏＰＥＴ（登録商標）Ｆ２２０^{TM}機器の軸方向視野はわずか７．６ｃｍであるため、心臓の直上からおよそ骨盤までの動物の合成画像を作成するために、５つの異なる台の位置における画像が得られた。

【０２２６】

それぞれの視野において、最終的なＰＥＴ画像を減衰補正するために、^{57}Ｃｏの点光源を用いて１０分の透過像を最初に得た。全ての台の位置において透過像が得られた後、およそ１．５ｍＣｉ（およそ０．０１５ｍｇ／ｋｇ）の^{18}Ｆ－Ｅ０１アドネクチン放射性トレーサーを、導入されたＶＡＰを介して投与した。次いで、動物の心臓の中心付近のポジション１から始まり、骨盤に向かって動く、５分の継続したエミッションスキャンを、それぞれの台の位置で順に行った。それぞれの位置（１から５）において画像を得た後、撮影台をポジション１の台に戻し、手順を繰り返した。この手順を用いて、イメージング実験の継続時間にわたって、それぞれの台の位置について合計５つの異なる画像を得た。

【０２２７】

個々の画像は、得られた透過像を用いて減衰補正したフィルター逆投影（ＦＢＰ）アルゴリズムを利用して再構築およびし、補正された放射性同位体崩壊を用いる減衰補正と共に、フィルター逆投影（ＦＢＰ）アルゴリズムを利用して再構築されたについて補正した。最終的な合成画像は、次いで、イメージング実験の継続時間の間、１回の通過によって得られた全ての５つの台の位置の画像を整列させることによって得られた（すなわち、１つの合成画像は、台の位置１から５の逐次的な画像のそれぞれのセットから生成された）（図３）。最終的な画像は、放射性トレーサーの取り込みが可視の領域（すなわち、脾臓、腎臓、膀胱）およびバックグランド組織（筋肉）を指摘するために、視覚的に調査された。^{18}Ｆ－Ｅ０１アドネクチンのバックグラウンドの蓄積は極めて低く、筋肉などのバックグラウンド組織において、わずかなシグナルしか可視化されなかった。さらに、ＰＤ－Ｌ１（＋）がｍＲＮＡ発現に基づくと考えられる脾臓において、取り込みが検証された

。このように、カニクイサルにおける実験によって、内因性ＰＤ－Ｌ１に関連する、高－感度のＰＤ－Ｌ１イメージングの可能性が示される。

【０２２８】

概して、齧歯類およびカニクイサルにおけるＰＥＴ実験において、本明細書に記載の方法によって生成される^{18}Ｆ標識タンパク質は、標的の発現量が低い組織の高－感度検出を可能にする、インビボでの標的陽性組織の標識のための強力で特異的なプローブを提供することが示される。

【０２２９】

実施例１３

［^{18}Ｆ］－Ａ０２抗ＰＤ－Ｌ１アドネクチンを用いたインビトロオートラジオグラフィー

ヒトの肺腫瘍組織をＯＣＴに設置し、２－メチルブタン中で２－５分間、冷凍するまで冷却した。使用までサンプルを－８０℃の冷凍庫に保存した。ヒトの異種移植片組織もまた、当該アッセイにおいてインキュベートした。両側性の異種移植片を有するマウスは、４×１０^{6}のＰＤ－Ｌ１（＋）Ｌ２９８７細胞および１．５×１０^{6}のＰＤ－Ｌ１（－）ＨＴ－２９ｔ細胞を、ｎｕ／ｎｕマウスの両側に皮下投与することで生成した。異種移植腫瘍が適切な大きさ（およそ２００－３００ｍｍ^{3}）に到達した後に、マウスを２％イソフルランによって麻酔し、頸椎脱臼によって犠死させた。新たな腫瘍組織を切除し、ＯＣＴに浸し、２－メチルブタン中で２－５分間、冷凍するまで冷却した。次いで組織をｆｏｉｌ／ＺＩＰＬＯＣ（登録商標）袋に包み、使用まで－８０℃で保存した。全ての組織（ヒトの肺腫瘍および異種移植片）について、５μｍの厚さの切片（２切片／スライドを回収した）を低温保持装置を用いて切り取り、顕微鏡のガラススライド上で解凍し、およそ３０分間空気乾燥させた。

【０２３０】

０．０２５ｎＭ、０．２５ｎＭ、２．５ｎＭおよび２５ｎＭのそれぞれの冷却（非標識）Ａ０２アドネクチン、並びに２５ｎＭの非ＰＤ－Ｌ１結合性アドネクチンを用いたブロッキング実験が、以下の条件を用いて行われた。濃度につき１つの個々のスライドをプラスチック性スライドカセットに設置し、Ｄａｋｏの血清－フリータンパク質ブロック溶液中で３０分間、前－培養した。スライドを次いで、ガラススライドインキュベーションチャンバーに移し、さらにインキュベートした。これとは別に、０．２５ｎＭの^{18}Ｆ－Ａ０２アドネクチンのストック溶液を、１０．６μＬの元の放射性リガンドのストック溶液（実験時に７０６４ｎＭ）を３００ｍｌのＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡで希釈することで生成した。このストック溶液から、４０ｍＬをそれぞれのインキュベーションチャンバーに加えた。これらのチャンバーのうちの１つは、放射性リガンド緩衝溶液のみを含み、これは総結合切片と称される。他のインキュベーションチャンバーは４０ｍＬの当該ストック溶液を、関連濃度（０．０２５ｎＭ、０．２５ｎＭ、２．５ｎＭ、もしくは２５ｎＭの非標識Ａ０２アドネクチン、または２５ｎＭの非標識アドネクチン）のブロッキング化合物と共に加えた。スライドを、最大の結合に達するまで、室温で１時間、個々の緩衝溶液中でインキュベートした。インキュベートの後、それぞれの処理群のスライドを培養溶液から取り出し、氷冷された洗浄緩衝液（ＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡ）中に、３分間設置し、４回に分けて浸した。スライドを次いで、冷気流下で、およそ３０分間乾燥させた。空気乾燥したスライドを、イメージングプレート（ＢＡＳ－ＳＲ ３５４５Ｓ）上に設置し、室温で一晩曝露した。イメージングプレートを、バイオイメージングアナライザー（Ｆｕｊｉｆｉｌｍ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｉｍａｇｅ Ａｎａｌｙｚｅｒ、ＦＬＡ－９０００）を用いてスキャンした。オートラジオグラム画像の画素サイズは１００μｍであった。マルチ－ゲージソフトウェアを用いて、画像解析を行った。全ての試験群において、腫瘍組織全体を包囲するように、関心領域（ＲＯＩ）を引いた。組織に関連する放射能によるオートラジオグラフィーシグナルを、これらのＲＯＩから定量した。

【０２３１】

ヒトの肺腫瘍切片並びにヒトの異種移植片切片の両方において、非標識Ａ０２アドネク

チンの４つの異なる濃度（０．０２５ｎＭ、０．２５ｎＭ、２．５ｎＭおよび２５ｎＭ）について、総結合切片と比較した場合の^{18}Ｆ－Ａ０２アドネクチン放射性リガンドの明らかな転移が測定された。非標識Ａ０２アドネクチンの添加に伴う、用量に依存した^{18}Ｆ－Ａ０２の転移が、全ての組織切片において観測された。全ての組織において、２５ｎＭの非ＰＤ－Ｌ１結合性アドネクチンは、総結合切片と比較して最小の阻害を示した（図４）。

【０２３２】

当該サンプルにおけるＰＤ－Ｌ１抗原の発現量を確認するために、それぞれの組織からの一連の５μｍの組織切片を、抗ヒト－ＰＤ－Ｌ１免疫組織化学的方法に用いた（図４Ｂ）。

【０２３３】

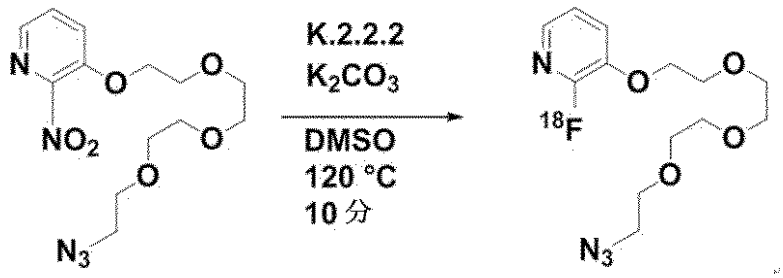
まとめると、これらの結果は、ヒトの肺腫瘍サンプル並びにヒトの異種移植片組織の両方において、ＰＤ－Ｌ１の直接的な可視化を示す。個々の組織に結合する放射性リガンドの量は、ＩＨＣによって冷凍切片を染色されたＰＤ－Ｌ１の量と一致する。さらに、非標識抗ＰＤ－Ｌ１　Ａ０２アドネクチンを用いた、用量に依存した受容体の阻害（および、非標識非ＰＤ－Ｌ１結合性アドネクチンを用いた阻害の欠如）は、ＰＥＴイメージングを用いたＰＤ－Ｌ１組織発現の可視化のための^{18}Ｆ－Ａ０２の使用の正当性をさらに立証する。

【０２３４】

実施例１４

市販のＧＥ　ＴＲＡＣＥＲｌａｂ　ＦＸ２　Ｎ合成ユニットを用いた、放射性合成のための一般的な方法による、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの自動合成

【化４４】



手順：

非カセット型のＧＥ　ＴＲＡＣＥＲｌａｂ　ＦＸ２　Ｎ合成モジュールを用いて、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの自動合成を行った。合成ユニットの配置は表１および図６にまとめられる。[^{18}Ｆ]－フルオライド水溶液（２．０ｍｌ、２９．６ＧＢｑ／８００ｍＣｉ）が、Ｓｅｐ－Ｐａｋ　ｌｉｇｈｔ　ＱＭＡに移された［Ｓｅｐ－Ｐａｋ　ｌｉｇｈｔ　ＱＭＡカートリッジは使用前に、５ｍｌの０．５Ｍの炭酸水素カリウム、５ｍｌの脱イオン水、および５ｍｌのアセトニトリルの順で前処理を行った］。この移動が完了すると、反応容器に溶出混合液を加えることによって（「Ｖ１」から）、［^{18}Ｆ］フルオライド水溶液をＱＭＡ　Ｓｅｐ－Ｐａｋから溶出させた。溶媒を窒素の穏やかな気流および真空下で留去した。前駆体の溶液を（「Ｖ３」から）乾燥クリプタンド残留物に加え、この反応混合物を１２０℃で１０分間加熱した。次いで、４ｍｌの蒸留水を（「Ｖ４」から）反応容器中の粗製反応混合物に加え、混合物を、ローディングの終わりを制御する液体センサーを介して、セミ－分取ＨＰＬＣの５ｍｌサンプル注入ループに移した。混合物をセミ－分取ＨＰＬＣカラム（Ｌｕｎａ　Ｃ１８（２）．２５０ｘ１０ｍｍ、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ）にロードした。０．１％トリフルオロ酢酸水溶液中の３５％アセトニトリルの混合液

を、毎分４．６ｍｌの速度でカラムに通した。生成物をこのＨＰＬＣカラムから、１５ｍｌの蒸留水を含む希釈フラスコに回収し、全ての内容物を、ｔＣ１８ １グラムの固相抽出カートリッジに移した。３ｍｌのエタノールによって、このカートリッジから３５２ｍＣｉ（１３ＧＢｑ）の［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンが溶出され（「Ｖ１４」から）、アルキンを含む適切な生体分子との「クリック」アジド－アルキン反応を利用した^{18}Ｆ標識生物学的製剤の生成に用いられうる。

【表１】

表１

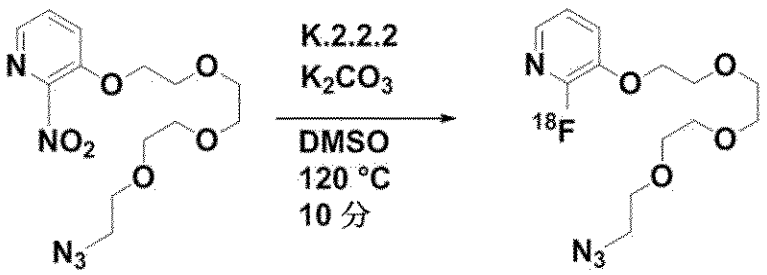
バイアル１（Ｖ１）	０．１ｍｌの蒸留水および１．４ｍｌのアセトニトリルに溶解した、１６ｍｇのＫ．２．２．２、３ｍｇの炭酸カリウム
バイアル３（Ｖ３）	０．５ｍｌのＤＭＳＯ中の、２ｍｇの３－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン
バイアル４（Ｖ４）	４ｍｌの蒸留水
バイアル１４（Ｖ１４）	３ｍｌの１００％エタノール
希釈フラスコ	１５ｍｌの蒸留水
カートリッジ１（Ｃ１）	ｔＣ１８ ６ｃｃ １ｇのｓｅｐ ｐａｃｋ
ＨＰＬＣカラム	Ｌｕｎａ Ｃ１８（２）、２５０×１０ｍｍ、５μｍ、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ
ＨＰＬＣ溶媒	０．１％トリフルオロ酢酸水溶液中の、３５％アセトニトリル
ＨＰＬＣ流速	４．６ｍｌ／分

【０２３５】

実施例１５

市販のＩＢＡ Ｓｙｎｔｈｅｒａ合成ユニットを用いた、放射性合成のための一般的な方法による、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの自動合成

【化４５】



手順：

カセット型のＩＢＡ Ｓｙｎｔｈｅｒａ合成モジュールおよび適切に組み立てられた流体プロセッサー積算キットを用いて、［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンの自動合成を行った。この合成のために、流体プロセッサー積算（ＩＦＰ）キットは適切な前駆体とともにロードされ、表２にまとめられる。精製は、ＶａｒｉａｎのＨＰＬＣユニットにおいて行わ

れた。ＨＰＬＣの注入ループの充填は、ＨＰＬＣユニットの安定窒素気流によってコントロールされた。両方の自動装置の組み立ては、表２にまとめられる。［^{18}Ｆ］－フルオライド水溶液（２．０ｍｌ、２９．６ＧＢｑ／８００ｍＣｉ）が、Ｓｅｐ－Ｐａｋ ｌｉｇｈｔ ＱＭＡに移された［Ｓｅｐ－Ｐａｋ ｌｉｇｈｔ ＱＭＡカートリッジは使用前に、５ｍｌの０．５Ｍの炭酸水素カリウム、５ｍｌの脱イオン水、および５ｍｌのアセトニトリルの順で前処理を行った］。この移動が完了すると、反応容器に溶出混合液を加えることによって（「Ｖ１」から）、［^{18}Ｆ］フルオライド水溶液をＱＭＡ Ｓｅｐ－Ｐａｋから溶出させた。溶媒を窒素の穏やかな気流および真空下で留去した。前駆体の溶液を（「Ｖ２」から）乾燥クリプタンド残留物に加え、この反応混合物を１２０℃で１０分間加熱した。次いで、３ｍｌの蒸留水を（「Ｖ４」から）反応容器中の粗製反応混合物に加え、混合物を、ローディングの終わりを制御する液体センサーを介して、セミ－分取ＨＰＬＣの５ｍｌサンプル注入ループに移した。混合物をセミ－分取ＨＰＬＣカラム（Ｌｕｎａ Ｃ１８（２）．２５０ｘ１０ｍｍ、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ）にロードした。０．１％トリフルオロ酢酸水溶液中の３５％アセトニトリルの混合液を、毎分４．６ｍｌの速度でカラムに通した。生成物をこのＨＰＬＣカラムから、１５ｍｌの蒸留水を含む希釈フラスコに回収し、全ての内容物を、ｔＣ１８ １グラムの固相抽出カートリッジに移した。３ｍｌのエタノールによって、このカートリッジから３５２ｍＣｉ（１２ＧＢｑ）の［^{18}Ｆ］－３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－フルオロピリジンが溶出され、アルキンを含む適切な生体分子との「クリック」アジド－アルキン反応を利用した^{18}Ｆ標識生物学的製剤の生成に用いられうる。

【表２】

表２

バイアル１（Ｖ１）	０．３ｍｌの蒸留水および０．３ｍｌのアセトニトリルに溶解した、２２ｍｇのＫ．２．２．２、４ｍｇの炭酸カリウム
バイアル２（Ｖ２）	０．５ｍｌのＤＭＳＯ中の、２ｍｇの３－（２－（２－（２－（２－アジドエトキシ）エトキシ）エトキシ）エトキシ）－２－ニトロピリジン
バイアル４（Ｖ４）	３ｍｌの蒸留水
希釈フラスコ	１５ｍｌの蒸留水
カートリッジ１（Ｃ１）	ｔＣ１８ ６ｃｃ １ｇのｓｅｐ ｐａｃｋ
ＨＰＬＣカラム	Ｌｕｎａ Ｃ１８（２）、２５０×１０ｍｍ、５□ｍ、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ
ＨＰＬＣ溶媒	０．１％トリフルオロ酢酸水溶液中の、３５％アセトニトリル
ＨＰＬＣ流速	４．６ｍｌ／分

均等

当業者は、本明細書に記載の特定の実施態様の多くの均等物を認識し、単なる通常の実験だけで確認することができる。このような均等物は、以下の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【図１】

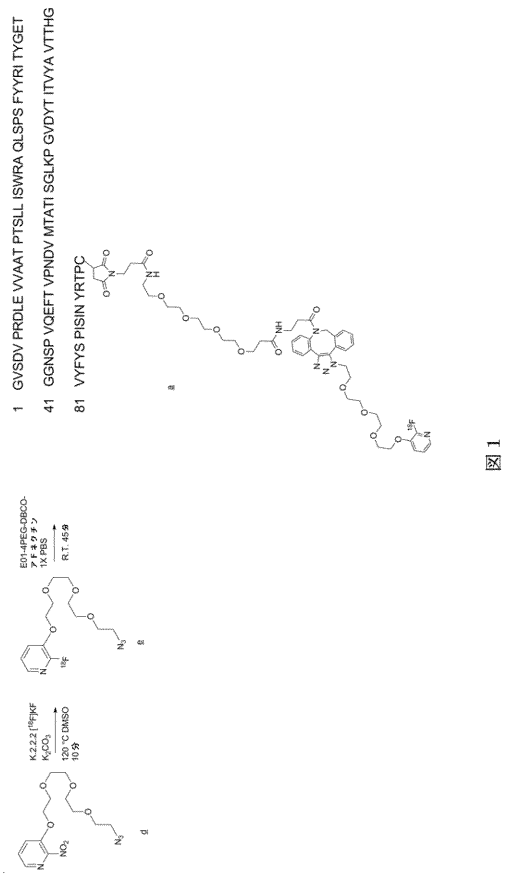


図１

【図２】

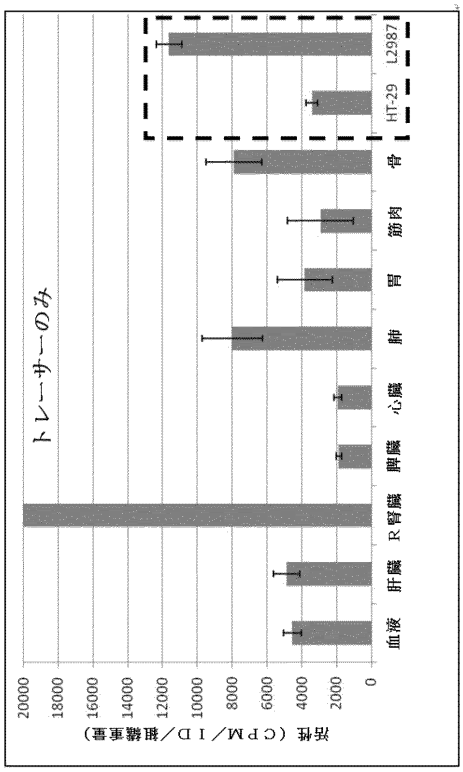


図２

【図３】

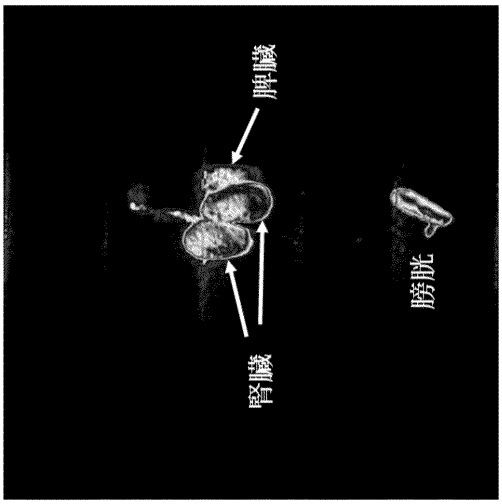


図３

【図４】

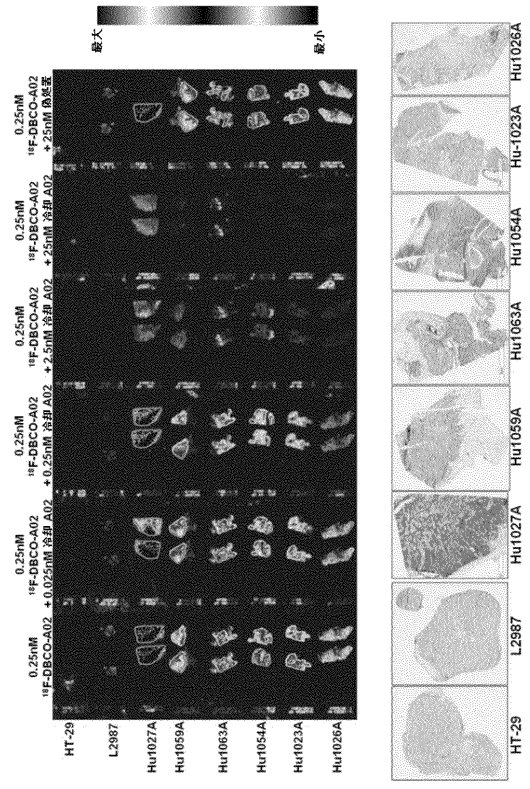


図４

【図５】

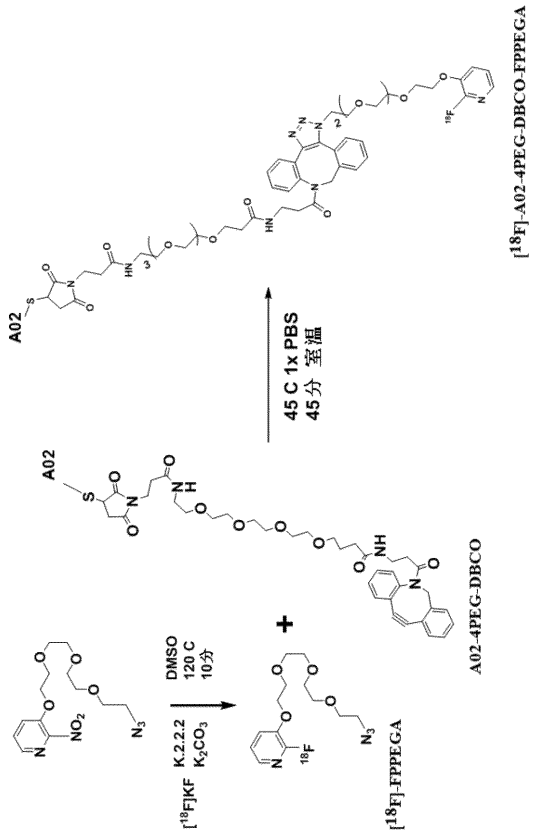


図５

【図６】

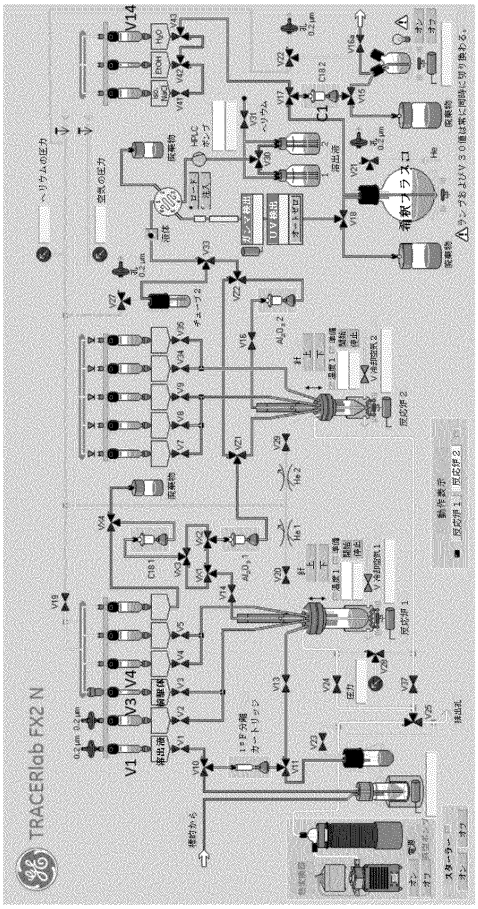


図６

【図７】

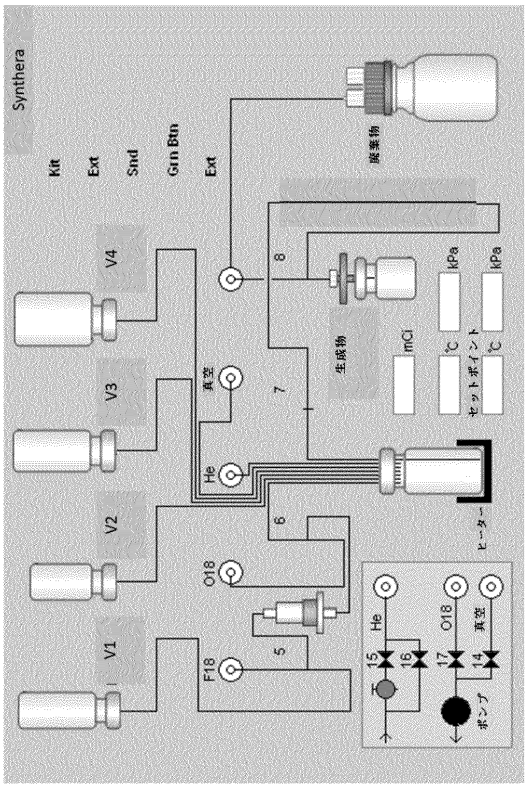


図７

【配列表】
2018503679000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/062502

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K51/04 A61K51/08 C07B59/00
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07B

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	B Kuhnast ET AL: "PEG-[18F]FPyZIDE AND PEG-[18F]FPyKYNE, TWO NEW FLUOROPYRIDINE-BASED REAGENTS FOR THE FLUORINE-18 LABELING OF MACROMOLECULES USING CLICK CHEMISTRY", Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 17 June 2009 (2009-06-17), page S184, XP055250504, Retrieved from the Internet: URL:http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/jlcr.1640/asset/1640_ftp.pdf?v=1&t=ikpgmdsg&s=e9ba4c2af16fa5105e6dcb8955514fcc1ee23567 [retrieved on 2016-02-16]	1-37, 48-85
Y	abstract	38-47, 86,87

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
8 June 2016	15/06/2016

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

3

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/062502

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LACHLAN S. CAMPBELL-VERDUYN ET AL: "Strain-Promoted Copper-Free "Click" Chemistry for 18F Radiolabeling of Bombesin", ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, vol. 50, no. 47, 18 November 2011 (2011-11-18), pages 11117-11120, XP55250606, DE ISSN: 1433-7851, DOI: 10.1002/anie.201105547 abstract schemes 1-4	38-47, 86,87
Y	KALME SACHIN ET AL: "F-18 Labeling Protocol of Peptides Based on Chemically Orthogonal Strain-Promoted Cycloaddition under Physiologically Friendly Reaction Conditions", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 23, no. 8, 15 August 2012 (2012-08-15), pages 1680-1686, XP55043362, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc3002425 abstract figures 3,5	38-47, 86,87
A	BERTRAND KUHNAST ET AL: "[18 F]FPyKYNE, a fluoropyridine-based alkyne reagent designed for the fluorine-18 labelling of macromolecules using click chemistry", JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 51, no. 9, 1 August 2008 (2008-08-01) , pages 336-342, XP55250465, CHICHESTER; GB ISSN: 0362-4803, DOI: 10.1002/jlcr.1533 abstract	1-87
A	ANA C. VALDIVIA ET AL: "A fast, simple, and reproducible automated synthesis of [18F]FPyKYNE-c(RGDyK) for [alpha]v[beta]3 receptor positron emission tomography imaging", JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 55, no. 2, 16 November 2011 (2011-11-16), pages 57-60, XP55250449, CHICHESTER; GB ISSN: 0362-4803, DOI: 10.1002/jlcr.1948 abstract	1-87

3

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

International application No.
PCT/US2015/062502

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2015/062502

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-13, 20-33, 46, 47, 72-83(completely); 38-45, 48-71, 84-87(partially)

A compound comprising the 18F-radiolabeled prosthetic group having the structure outlined in claim 1 and an 18F-labeled protein-based probe prepared using said compound.

---

2. claims: 14-19, 34-37(completely); 38-45, 48-71, 84-87(partially)

A compound comprising the 18F-radiolabeled prosthetic group having the structure outlined in claim 14 and an 18F-labeled protein-based probe prepared using said compound.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ	
Ａ６１Ｐ	*35/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｒ	
Ａ６１Ｐ	*37/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｓ	
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	*9/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02		
Ａ６１Ｐ	*31/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/02		
Ａ６１Ｐ	*31/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28		
Ａ６１Ｐ	*31/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10		
Ａ６１Ｐ	*31/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00		
Ｃ０７Ｋ	*1/13*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	51/12	２００	
Ｇ０１Ｎ	*33/534*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	51/04	２００	
Ｇ０１Ｎ	*33/574*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04		
Ｇ０１Ｎ	*33/15*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12		
Ｃ０７Ｋ	*16/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/10		
			Ｃ０７Ｋ	1/13		
			Ｇ０１Ｎ	33/534		
			Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	
			Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ	
			Ｃ０７Ｋ	16/00		

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

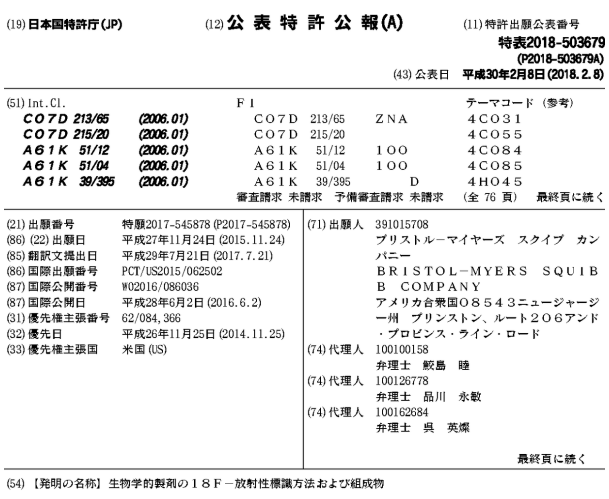
(74)代理人 100156155
弁理士 水原 正弘
(72)発明者 デイビッド・ドネリー
アメリカ合衆国０８５４３ニュージャージー州プリンストン、ルート２０６アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストルーマイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

Ｆターム(参考) 4C031 DA04
4C055 AA01 BA02 BA39 CA02 CA41 CB08 DA01 GA10
4C084 AA12 NA14 ZA151 ZA361 ZB071 ZB261 ZB271 ZB321 ZB331 ZB351
ZC782
4C085 AA13 AA14 AA21 AA24 BB01 CC23 EE01 HH03 KA29 KB20
KB56 KB74 KB82 LL07 LL13 LL18
4H045 AA10 AA11 AA30 BA51 BA70 EA50

专利名称(译)	18 F-放射性标记方法和生物制剂的组合物		
公开(公告)号	JP2018503679A	公开(公告)日	2018-02-08
申请号	JP2017545878	申请日	2015-11-24
[标]申请(专利权)人(译)	百时美施贵宝公司		
申请(专利权)人(译)	布里斯托尔 - 迈尔斯宝公司		
[标]发明人	デイビッドドネリー		
发明人	デイビッド·ドネリー		
IPC分类号	C07D213/65 C07D215/20 A61K51/12 A61K51/04 A61K39/395 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P25/28 A61P9/10 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/10 C07K1/13 G01N33/534 G01N33/574 G01N33/15 C07K16/00		
CPC分类号	A61K51/0455 A61K51/088 C07B59/002 C07B59/008 C07B2200/05 C07D213/65 G01T1/2985 A61P9/00 A61P9/10 A61P25/28 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02		
FI分类号	C07D213/65.ZNA C07D215/20 A61K51/12.100 A61K51/04.100 A61K39/395.D A61K39/395.T A61K39/395.R A61K39/395.S A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P25/28 A61P9/10 A61P31/00 A61K51/12.200 A61K51/04.200 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/10 C07K1/13 G01N33/534 G01N33/574.A G01N33/15.Z C07K16/00		
F-TERM分类号	4C031/DA04 4C055/AA01 4C055/BA02 4C055/BA39 4C055/CA02 4C055/CA41 4C055/CB08 4C055/DA01 4C055/GA10 4C084/AA12 4C084/NA14 4C084/ZA151 4C084/ZA361 4C084/ZB071 4C084/ZB261 4C084/ZB271 4C084/ZB321 4C084/ZB331 4C084/ZB351 4C084/ZC782 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA21 4C085/AA24 4C085/BB01 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/HH03 4C085/KA29 4C085/KB20 4C085/KB56 4C085/KB74 4C085/KB82 4C085/LL07 4C085/LL13 4C085/LL18 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA51 4H045/BA70 4H045/EA50		
代理人(译)	品川EiSatoshi		
优先权	62/084366 2014-11-25 US		
其他公开文献	JP2018503679A5 JP6701217B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及水溶性18F-假体基团，其用于成像体内的各种过程，定位与疾病病理学有关的分子并监测疾病的进展18。 公开了含有（Ｆ）-修复基团的18F-标记的生物分子的合成和用途。



(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号 特表2018-503679 (P2018-503679A)

(43)公表日 平成30年2月8日(2018.2.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07D 213/65	(2006.01)	C07D	213/65	ZNA	4C031
C07D 215/20	(2006.01)	C07D	215/20		4C055
A61K 51/12	(2006.01)	A61K	51/12	100	4C084
A61K 51/04	(2006.01)	A61K	51/04	100	4C085
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	D	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 76 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号 特願2017-545878 (P2017-545878)
(86)(22)出願日 平成27年11月24日 (2015.11.24)
(85)翻訳文提出日 平成29年7月21日 (2017.7.21)
(86)国際出願番号 PCT/US2015/062502
(87)国際公開番号 WO2016/086036
(87)国際公開日 平成28年6月2日 (2016.6.2)
(31)優先権主張番号 62/084,366
(32)優先日 平成26年11月25日 (2014.11.25)
(33)優先権主張国 米国 (US)

(71)出願人 391015708
ブリストル－マイヤーズ　スクイブ　カンパニー
BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY
アメリカ合衆国０８５４３ニュージャージー州　プリンストン、ルート２０６アンド・プロビンス・ライン・ロード
(74)代理人 100100158
弁理士　鮫島　睦
(74)代理人 100126778
弁理士　品川　永敏
(74)代理人 100162684
弁理士　呉　英燦

最終頁に続く

(54)【発明の名称】生物学的製剤の１８Ｆ－放射性標識方法および組成物