

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202391093** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.06.19**

(22) Дата подачи заявки  
**2021.10.14**

(51) Int. Cl. **C07D 257/02** (2006.01)  
**A61K 47/60** (2017.01)  
**A61K 47/62** (2017.01)  
**A61K 47/64** (2017.01)  
**A61K 47/68** (2017.01)  
**A61K 51/04** (2006.01)

---

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА РАДИОАКТИВНОГО ЦИРКОНИЯ**

---

(31) **2020-177566**

(32) **2020.10.22**

(33) **JP**

(86) **PCT/JP2021/038135**

(87) **WO 2022/085570 2022.04.28**

(71) Заявитель:  
**НИХОН МЕДИ-ФИЗИКС КО., ЛТД.**  
**(JP)**

(72) Изобретатель:  
**Такемори Хидеаки, Итикава Хироаки,**  
**Каватани Минору, Идзава Акихиро,**  
**Имаи Томоюки (JP)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Изобретение относится к способу получения комплекса, меченного радиоактивным цирконием, который может обеспечить высокий индекс мечения в реакции между ионом радиоактивного циркония и лигандным соединением. Способ получения по настоящему изобретению включает стадию взаимодействия иона радиоактивного циркония с лигандным соединением в реакционном растворе, содержащем воду, для координации иона радиоактивного циркония. Эту стадию осуществляют в состоянии, когда pH реакционного раствора находится в кислотной области. Реакционный раствор не содержит органического растворителя, но содержит водорастворимое органическое соединение, имеющее в своей структуре одну или две сульфогруппы или карбоксигруппы, отдельно от лигандного соединения.

**A1**

**202391093**

**202391093**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577146EA/085

### СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА РАДИОАКТИВНОГО ЦИРКОНИЯ

#### Область техники, к которой относится изобретение

[0001]

Настоящее изобретение относится к способу получения комплекса радиоактивного циркония.

#### Предпосылки создания изобретения

[0002]

С целью использования в реагентах и диагностических средствах для детекции молекул-мишеней или в фармацевтических препаратах для лечения заболеваний были проведены исследования выхода комплекса радиоактивного металла, в котором лигандное соединение координируется с радиоактивным металлом.

[0003]

Патентная литература 1 раскрывает, что использовались радиоактивный цирконий и ДТРА, которая является своего рода лигандным соединением, и что ДТРА взаимодействует с радиоактивным цирконием, который является радиоактивным металлом, в кислотном физиологическом растворе с образованием комплекса Zr.

[0004]

Патентная литература 2 раскрывает, что радиоактивный цирконий и DOTA, которая является своего рода лигандным соединением, нагревали и подвергали взаимодействию друг с другом в нейтральном буферном растворе HEPES с образованием комплекса Zr.

[0005]

Кроме того, непатентная литература 1 раскрывает способ, в котором  $^{89}\text{Zr}$ , который представляет собой радиоактивный металл, и DOTA, которая представляет собой лигандное соединение, реагируют друг с другом в буферном растворе с образованием комплекса радиоактивного металла.

#### Перечень ссылочных документов

Патентная литература

[0006]

Патентная литература 1: US 2014/147381 A

Патентная литература 2: US 2019/038785 A

Непатентная литература

[0007]

Непатентная литература 1: Pandya et al, Chem Sci. 2017;8(3):2309-14.

#### Сущность изобретения

[0008]

Однако из полученных авторами настоящего изобретения результатов стало ясно, что при условиях, раскрытых в Патентной литературе 1 и 2 и Непатентной литературе 1, комплексообразование между DOTA и ионом радиоактивного циркония протекает плохо,

и в некоторых случаях не удастся достичь достаточного индекса мечения. В свете этих результатов желательны условия реакции, способные обеспечивать стабильное достижение высокого индекса мечения.

[0009]

Таким образом, настоящее изобретение предназначено для обеспечения способа получения комплекса радиоактивного циркония, который может стабильно обеспечивать высокий индекс мечения в реакции между ионом радиоактивного циркония и лигандным соединением.

[0010]

Настоящее изобретение обеспечивает способ получения комплекса радиоактивного циркония, при этом способ включает стадию взаимодействия иона радиоактивного циркония и лигандного соединения друг с другом в реакционном растворе, содержащем воду, для координации иона радиоактивного циркония с лигандным соединением,

в котором реакционный раствор не содержит органического растворителя, и реакционный раствор содержит лигандное соединение и водорастворимое органическое соединение, имеющее одну или две сульфогруппы, или водорастворимое органическое соединение, имеющее одну или две карбоксигруппы, и

в котором рН реакционного раствора находится в кислотной области.

#### **Описание варианта осуществления**

[0011]

Далее будет описан способ получения комплекса радиоактивного циркония по настоящему изобретению на основе его предпочтительного варианта осуществления. Способ получения по настоящему изобретению включает стадию (далее также просто называемую “стадия”, если не указано иное) взаимодействия иона радиоактивного циркония, в качестве иона радиоактивного металла, и лигандного соединения друг с другом в реакционном растворе, содержащем воду, для координации иона радиоактивного циркония с лигандным соединением. Данную стадию осуществляют в состоянии, когда рН реакционного раствора находится в кислотной области. На данной стадии можно получить комплекс радиоактивного циркония.

Этот комплекс радиоактивного циркония представляет собой соединение, в котором атом радиоактивного циркония связан с лигандным соединением посредством комбинации ковалентной связи, ионной связи и т.п. в дополнение к координационной связи, и включает соединение, с которым связана реакционноспособная атомная группа, описанная ниже, или нацеливающий агент.

[0012]

В настоящем описании “координирование иона радиоактивного циркония с лигандным соединением с образованием комплекса” и “мечение лигандного соединения ионом радиоактивного циркония” являются синонимами, и “эффективность комплексообразования” и “индекс мечения” являются синонимами.

В последующем описании, если не указано иное, “радиоактивный цирконий”

обозначен просто как “радиоактивный Zr”.

[0013]

С точки зрения увеличения индекса мечения, радиоактивный Zr, используемый на данной стадии, предпочтительно используют в форме соединения, способного ионизироваться в воде, более предпочтительно используют в форме Zr иона (в дальнейшем эти формы совместно указаны как “источник радиоактивного Zr”). В качестве источника радиоактивного Zr можно использовать, например, раствор, содержащий ион радиоактивного Zr, в котором ионы радиоактивного Zr растворены или диспергированы в растворителе, состоящем в основном из воды.

Нуклид радиоактивного Zr предпочтительно представляет собой  $^{89}\text{Zr}$ .  $^{89}\text{Zr}$  представляет собой нуклид  $\beta^+$ -распада и является нуклидом распада по типу электронного захвата.  $^{89}\text{Zr}$  можно получить, например, путем ядерной реакции  $^{89}\text{Y}(p, n)^{89}\text{Zr}$  с использованием циклотрона. В частности, раствор, полученный растворением мишени  $^{89}\text{Y}$  после протонного облучения с использованием кислоты, пропускают через картридж колонки или т.п., поддерживающий коллектор, способный адсорбировать  $^{89}\text{Zr}$ . После этого картридж колонки промывают растворителем, таким как вода, а затем через картридж колонки пропускают водный раствор щавелевой кислоты, так что ионы  $^{89}\text{Zr}$  могут быть элюированы и собраны в виде раствора.

[0014]

Лигандное соединение, используемое на данной стадии, конкретно не ограничивается при условии, что оно представляет собой соединение, способное координироваться с радиоактивным Zr, и его примеры включают следующие органические соединения и соединения, содержащие структуры, производные от этих соединений.

[0015]

СВ-ТЕ2А(1,4,8,11-Тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,11-диуксусная кислота)

СДТА(Циклогексан-транс-1,2-диаминтетрауксусная кислота)

СДТРА(4-циано-4-[[[(додецилтио)тиоксометил]тио]-пентановая кислота)

[0016]

ДОТА(1,4,7,10-Тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

ДОТМА((1R,4R,7R,10R)- $\alpha, \alpha', \alpha'', \alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

ДОТАМ(1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан)

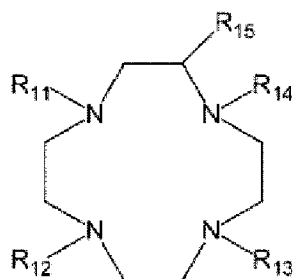
ДОТА-GA( $\alpha$ -(2-Карбоксиэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

ДОТР(((1,4,7,10-Тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраил)тетракис(метилен))тетрафосфоновая кислота)

ДОТМР(1,4,7,10-Тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(метиленфосфоновая кислота))

ДОТА-4АМР(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидометиленфосфоновая кислота)

- DO2P(Тетраазациклододекадиметанфосфоновая кислота)  
[0017]  
Дефероксамин (DFO)  
DTPA(N, N-бис[2-[бис(карбоксиметил)амино]этил]-глицин)  
DTPA-BMA(5,8-Бис(карбоксиметил)-11-[2-(метиламино)-2-оксоэтил]-3-оксо-2,5,8,11-тетраазатридекан-13-овая кислота)  
EDTA(2,2',2'',2'''-(этан-1,2-диилбис(азантриил))тетрауксусная кислота)  
NOTA(1,4,7-Триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота)  
OTP(1,4,7-Триазациклононан-1,4,7-триилтрис(метиленфосфоновая кислота)  
[0018]  
ТЕТРА(1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовая кислота)  
ТЕТА(1,4,8,11-Тетраазациклотетрадекан-N, N',N'',N'''-тетрауксусная кислота)  
ТТНА(3,6,9,12-Тетракис(карбоксиметил)-3,6,9,12-тетраазатетрадекандиовая кислота)  
НЕНА(1,2,7,10,13-гексаазациклооктадекан-1,4,7,10,13,16-гексауксусная кислота)  
1,2-НОРО(N, N',N'',N'''-тетра(1,2-дигидро-1-гидрокси-2-оксопиридин-6-карбонил)-1,5,10,14-тетраазатетрадекан)  
РЕРА(1,4,7,10,13-пентаазациклопентадекан-N, N',N'',N''',N''''-пентауксусная кислота)  
[0019]  
Н4остара(N, N'-бис(6-карбокси-2-пиридилметил)-этилендиамин-N, N'-диуксусная кислота)  
Н2bispa2(6,6'-({9-гидрокси-1,5-бис(метоксикарбонил)-2,4-ди(пиридин-2-ил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-3,7-диил}бис(-метилен))дипиколиновая кислота)  
Н2dedpa(1,2-[{6-(карбокси)-пиридин-2-ил}-метиламино]этан)  
Н2масгора(6-(1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-N, N'-метил)пиколиновая кислота)  
Н5decapa(N, N''-бис(6-карбокси-2-пиридилметил)-диэтиленстриамин-N, N',N''-триуксусная кислота)  
Н6phospa(N, N'-(метиленфосфонат)-N, N'-[6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил]-метил-1,2-диаминоэтан)  
НР-D03A(Гидроксипропилтетраазациклододекантриуксусная кислота)  
[0020]  
Из числа этих соединений лигандное соединение, используемое на данной стадии, предпочтительно представляет собой органическое соединение, имеющее структуру, представленную формулой (1) ниже.  
[0021]



(1)

[0022]

В формуле (1)  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  и  $R_{13}$  каждый независимо представляет собой группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$ , или группу  $-(CH_2)_pCONH_2$ .

$p$ , каждый независимо, представляет собой целое число 0 или более и 3 или менее.

[0023]

В формуле (1) один из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой атом водорода, группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$ , группу  $-(CH_2)_pCONH_2$  или группу  $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ .

В формуле (1) другой из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$ , группу  $-(CH_2)_pCONH_2$ , реакцию способную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом.

$p$ , каждый независимо, представляет собой целое число 0 или более и 3 или менее.

Подробное описание нацеливающего агента и реакцию способной атомной группы, подлежащей связыванию с нацеливающим агентом, или группы, связанной с нацеливающим агентом, представлено ниже.

[0024]

Лигандное соединение, используемое на данной стадии, более предпочтительно представляет собой соединение, имеющее структуру, полученную из 1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (DOTA) или ее производного, и, в частности, оно более предпочтительно включает одно из соединений, показанных ниже, или структуру, производную от такого соединения. Лигандное соединение, используемое на данной стадии, предпочтительно является водорастворимым.

[0025]

DOTA(1,4,7,10-Тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

DOTMA((1R,4R,7R,10R)- $\alpha, \alpha', \alpha'', \alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

DOTAM(1,4,7,10-тетраакис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан)

DOTA-GA( $\alpha$ -(2-Карбоксиэтил)-1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота)

DOTP(((1,4,7,10-Тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетраил)тетраакис(метилен))тетрафосфоновая кислота)

DOTMP(1,4,7,10-Тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетраакис(метиленфосфоновая

кислота))

DOTA-4AMP(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраакис(ацетамидометиленфосфоновая кислота)

DO2P(Тетраазациклододекадиметанфосфоновая кислота)

[0026]

Реакционный раствор на данной стадии представляет собой водный реакционный раствор, содержащий воду и водорастворимое органическое соединение, имеющее заданную структуру. Реакционный раствор не содержит органического растворителя.

Вышеописанное водорастворимое органическое соединение представляет собой органическое соединение, которое растворяется в воде, и является соединением, отличным от описанного выше лигандного соединения и описанного ниже органического растворителя. Следовательно, водорастворимое органическое соединение в настоящем описании не включено в лигандное соединение или органический растворитель. Водорастворимое органическое соединение, используемое на данной стадии, конкретно не ограничивается при условии, что оно имеет одну или две сульфогруппы или одну или две карбоксигруппы.

Далее в описании водорастворимое органическое соединение, которое имеет заданную структуру и не включено в лигандное соединение или органический растворитель, также указано как “второе органическое соединение”.

[0027]

Что касается воды, то можно применять воду, обычно используемую в данной области техники, и, например, можно использовать дистиллированную воду или воду после ионообменной очистки.

[0028]

Реакционный раствор, используемый на данной стадии, не содержит органического растворителя. Примеры органического растворителя, который не содержится, включают водорастворимые органические растворители, такие как полярные растворители, такие как протонные растворители, такие как метанол и этанол, и протонные растворители, такие как ацетонитрил, N, N-диметилформамид, тетрагидрофуран, диметилсульфоксид и ацетон; и нерастворимые в воде органические растворители, такие как гексан, толуол и этилацетат. Отсутствие такого органического растворителя устраняет необходимость стадии отделения органического растворителя, такой как твердофазная экстракция, и, таким образом, можно стабильно достигать высокого индекса мечения при избежании радиолиза путем концентрирования.

Фраза “не содержит органического растворителя” означает, что органический растворитель намеренно не содержится в реакционном растворе, но допустимо неизбежное смешивание органического растворителя в реакционном растворе.

[0029]

Второе органическое соединение, содержащееся в реакционном растворе, представляет собой соединение, которое проявляет рН-буферное действие в заданном

диапазоне рН, когда соединение растворено в воде, но не обязательно проявляет буферное действие в реакционном растворе данной стадии. То есть сам реакционный раствор, содержащий второе органическое соединение, используемое на данной стадии, может не проявлять рН-буферного действия или может проявлять рН-буферное действие в зависимости от рН всего реакционного раствора.

[0030]

Одной из характеристик второго органического соединения, содержащегося в реакционном растворе, является то, что второе органическое соединение имеет в своей структуре определенную функциональную группу. В частности, в качестве варианта осуществления второго органического соединения второе органическое соединение имеет в своей структуре одну или две сульфогруппы. Сульфогруппа представляет собой одновалентную функциональную группу, представленную формулой “-SO<sub>3</sub>H” или “-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>”. То есть второе органическое соединение в данном варианте осуществления может представлять собой моносulfоновую кислоту или дисulfоновую кислоту.

В случае, когда сульфогруппа(группы) включена в структуру, общее число атомов углерода второго органического соединения предпочтительно составляет 4 или более и 10 или менее, более предпочтительно 6 или более и 8 или менее.

В случае, когда сульфогруппа(группы) включена в структуру, второе органическое соединение предпочтительно имеет гетероатом в структуре, предпочтительно имеет по меньшей мере атом азота в структуре, более предпочтительно имеет циклогексановое кольцо или гетероциклическое кольцо в структуре, еще более предпочтительно имеет в структуре два атома азота или содержит насыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее атом азота и атом кислорода, и еще более предпочтительно содержит морфолиновое кольцо или пиперазиновое кольцо в структуре.

В случае, когда сульфогруппа(группы) включена в структуру, также предпочтительно, чтобы была включена в структуру группа алкансульфоновой кислоты, также предпочтительно, чтобы группа алкансульфоновой кислоты была связана с гетероатомом, и более предпочтительно, чтобы в структуру была включена аминокансульфоновая кислота.

В любом из описанных выше случаев второе органическое соединение, имеющее в своей структуре сульфогруппу(группы), предпочтительно представляет собой цвиттер-ионное соединение, более предпочтительно производное аминокансульфоновой кислоты.

[0031]

Примеры второго органического соединения, имеющего в своей структуре одну сульфогруппу, включают аминокансульфоновые кислоты цепочечной структуры, такие как N-трис(гидроксиметил)метил-2-аминоэтансульфоновая кислота (TES); моносulfоновые кислоты, имеющие морфолиновое кольцо, такие как 2-морфолиноэтансульфоновая кислота (MES) и 3-морфолинопропансульфоновая кислота (MOPS); и/или их соли.



Примеры второго органического соединения, имеющего в своей структуре две сульфогруппы, включают дисульфоновую кислоту, имеющую в структуре пиперазиновое кольцо, такую как 2-[4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил]этансульфоновая кислота (HEPES) и пиперазин-1,4-бис(2-этансульфоновая кислота) (PIPES); и/или их соли.

Примеры противоиона второго органического соединения, имеющего сульфогруппу(группы) в своей структуре, включают ионы щелочных металлов, таких как натрий и калий, катионы, например, первичного - четвертичного аммония, например аммония и тетраметиламмониевой соли, и анионы галогенов и т.п., таких как хлор.

[0032]

В качестве другого варианта осуществления второго органического соединения, содержащегося в реакционном растворе, в структуру включены одна или две карбоксигруппы. Карбоксигруппа представляет собой одновалентную функциональную группу, представленную формулой “-COOH” или “-COO<sup>-</sup>”. То есть второе органическое соединение в данном варианте осуществления может быть монокарбоновой кислотой или дикарбоновой кислотой.

В случае, когда карбокси группа(группы) включена в структуру, общее число атомов углерода второго органического соединения предпочтительно составляет 2 или более и 10 или менее, более предпочтительно 2 или более и 8 или менее.

В случае, когда карбоксигруппа(группы) включена в структуру, второе органическое соединение предпочтительно представляет собой насыщенную или ненасыщенную алифатическую карбоновую кислоту или ароматическую карбоновую кислоту, более предпочтительно насыщенную алифатическую карбоновую кислоту.

[0033]

Примеры второго органического соединения, имеющего в своей структуре одну карбоксигруппу, включают линейные алифатические монокарбоновые кислоты, такие как уксусная кислота и молочная кислота; ароматические монокарбоновые кислоты, такие как бензойная кислота и салициловая кислота; и/или их соли.

Примеры второго органического соединения, имеющего в своей структуре две карбоксигруппы, включают линейные алифатические монокарбоновые кислоты, такие как малоновая кислота и винная кислота; ароматические дикарбоновые кислоты, такие как фталевая кислота; и/или их соли.

Примеры противоиона второго органического соединения, имеющего в своей структуре карбокси группу(группы), включают ионы щелочных металлов, таких как натрий и калий, катионы, например, первичного - четвертичного аммония, например аммония и тетраметиламмониевой соли, и анионы галогенов и т.п., таких как хлор.

[0034]

Из них в качестве второго органического соединения, имеющего в своей структуре сульфогруппу(группы) или карбокси группу(группы), более предпочтительно использовать одну из уксусной кислоты, фталевой кислоты и малоновой кислоты, или 2-[4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил]этансульфоновой кислоты, N-трис(гидроксиметил)метил-2-

аминоэтансульфоновой кислоты и 2-морфолиноэтансульфоновой кислоты, еще более предпочтительно использовать уксусную кислоту или 2-[4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил]этансульфоновую кислоту.

Поскольку такое органическое соединение относительно легко доступно, индекс мечения может быть дополнительно увеличен при одновременном снижении стоимости производства. Реакционный раствор, содержащий подходящее второе органическое соединение, можно использовать на данной стадии в состоянии, приготовленном заранее, в виде водного раствора, содержащего эти органические соединения. Они могут быть в форме буферных растворов, которые проявляют рН-буферное действие, или в форме жидкостей, которые не проявляют рН-буферного действия на данной стадии.

[0035]

С точки зрения дальнейшего повышения эффективности мечения, концентрация второго органического соединения в реакционном растворе предпочтительно составляет 0,01 моль/л или более и 2,0 моль/л или менее, более предпочтительно 0,1 моль/л или более и 1,0 моль/л или менее.

[0036]

На данной стадии порядок добавления источника радиоактивного Zr и лигандного соединения не ограничивается при условии, что возможно осуществление реакции мечения лигандного соединения ионом радиоактивного Zr, в частности возможно осуществление комплексообразования между ионом радиоактивного Zr и лигандным соединением. Например, один из источника радиоактивного Zr и лигандного соединения можно добавить в реакционный сосуд, в котором уже присутствует смешанный растворитель, содержащий воду и второе органическое соединение, составляющие реакционный раствор, и не содержащий органического растворителя, а затем можно добавить другой из них и осуществить взаимодействие. Альтернативно, один из источника радиоактивного Zr и лигандного соединения можно добавить к раствору, полученному путем растворения другого в смешанном растворителе, чтобы вызвать реакцию. Альтернативно, источник радиоактивного Zr и лигандное соединение можно одновременно добавить в реакционный сосуд, уже содержащий смешанный растворитель, чтобы вызвать реакцию.

[0037]

На данной стадии реакцию в реакционном растворе осуществляют в состоянии, когда рН реакционного раствора находится в кислотной области. На данной стадии реакцию осуществляют в состоянии, при котором кислотный уровень рН поддерживается от начала до конца реакции. Тот факт, что рН реакционного раствора находится в кислотной области, означает, что рН реакционного раствора на этой стадии меньше 7.

С точки зрения уменьшения взаимодействия с ионами радиоактивного Zr, которые могут неблагоприятно повлиять на радиомечение, и дальнейшего повышения эффективности мечения данную стадию осуществляют в состоянии, когда рН реакционного раствора составляет предпочтительно 2,0 или более и 6,0 или менее.

Как описано выше, реакционный раствор, содержащий второе органическое

соединение, используемое на данной стадии, может быть буферным раствором, который проявляет рН-буферное действие от начала до конца реакции, или может быть жидкостью, которая не проявляет рН-буферного действия.

[0038]

рН реакционного раствора регулируют заранее так, чтобы он находился в кислотной области до начала реакции, то есть перед осуществлением данной стадии, в результате чего рН реакционного раствора может поддерживаться в кислотной области даже во время данной стадии.

рН реакционного раствора можно регулировать, например, путем добавления водного раствора второго органического соединения, рН которого был отрегулирован заранее, в реакционный раствор. Кроме того, рН реакционного раствора можно регулировать путем приготовления заранее каждого из растворов, содержащего ион радиоактивного Zr, водного раствора лигандного соединения и водного раствора второго органического соединения и смешивания этих водных растворов при установленном соотношении. Альтернативно, рН реакционного раствора можно регулировать путем добавления неорганической кислоты, такой как хлористоводородная кислота, или гидроксида металла, такого как гидроксид натрия, к жидкости, в которой смешаны ион радиоактивного Zr, лигандное соединение и второе органическое соединение.

[0039]

Реакционные условия на данной стадии могут представлять собой, например, следующие.

В качестве реакционного раствора, используемого на данной стадии, используют водную жидкость, содержащую воду и второе органическое соединение и не содержащую органического растворителя.

рН реакционного раствора, используемого на данной стадии, доводят до кислотного уровня.

Давление реакции может быть атмосферным давлением.

[0040]

На данной стадии, с точки зрения достижения дальнейшего повышения эффективности мечения за короткое время осуществления данного процесса, предпочтительно осуществлять реакцию путем нагревания реакционного раствора. Нагревание означает подачу тепла извне реакционной системы таким образом, чтобы температура реакционного раствора становилась выше 25°C исходя из 25°C. В качестве способа подвода тепла извне реакционной системы можно соответствующим образом использовать известный способ, примеры которого включают водяную баню, масляную баню, блочный нагреватель и колбонагреватель.

[0041]

В случае, когда реакционный раствор нагревают для осуществления реакции, реакционный раствор нагревают до температуры реакции предпочтительно 30°C или выше и 100°C или ниже, более предпочтительно 50°C или выше и 80°C или ниже, с точки зрения

достижения как подавления разложения лигандного соединения, так и дальнейшего повышения эффективности мечения.

Время реакции предпочтительно составляет 15 минут или более и 150 минут или менее, более предпочтительно 30 минут или более и 120 минут или менее, при условии, что температура реакции является такой, как описано выше.

[0042]

Количество реакционного раствора на данной стадии может быть соответствующим образом изменено в соответствии с производственным масштабом, но практически составляет 0,01 мл или более и 100 мл или менее в начале данной стадии с точки зрения практичности на стадии получения.

[0043]

С точки зрения увеличения выхода целевого соединения, меченного радиоактивным Zr, концентрации ионов радиоактивного Zr и лигандного соединения в реакционном растворе независимо друг от друга предпочтительно составляют 1 мкмоль/л или более и 1000 мкмоль/л или менее, более предпочтительно 10 мкмоль/л или более и 900 мкмоль/л или менее, еще более предпочтительно 30 мкмоль/л или более и 600 мкмоль/л или менее, наиболее предпочтительно 50 мкмоль/л или более и 500 мкмоль/л или менее в начале данной стадии.

[0044]

В способе получения по настоящему изобретению, включающем стадию, описанную выше, поскольку радиоактивный Zr и лигандное соединение легко растворяются в реакционном растворе, реакция мечения может равномерно протекать в жидкой фазе. В дополнение к этому, на данной стадии реакцию осуществляют в состоянии, когда в реакционной системе присутствует водорастворимое органическое соединение, имеющее заданную структуру, и в состоянии, поддерживаемом в кислотных условиях, при этом индекс мечения может быть дополнительно увеличен по сравнению с предшествующим уровнем техники, и может происходить стабильное образование целевого комплекса радиоактивного Zr. Кроме того, поскольку выход полученного комплекса радиоактивного Zr высок, это также выгодно тем, что комплекс можно подвергать последующим стадиям без отделения и очистки непрореагировавшего радиоактивного Zr.

[0045]

Авторы настоящего изобретения предполагают следующую причину, по которой индекс мечения может быть стабильно улучшен путем осуществления реакции в состоянии, при котором в реакционной системе присутствует второе органическое соединение, имеющее заданную структуру, и в состоянии, поддерживаемом в кислотных условиях.

В реакционном растворе, поддерживаемом на кислотном уровне, лигандное соединение сохраняет химическую структуру, способную взаимодействовать с ионом радиоактивного Zr, и ион радиоактивного Zr также сохраняет степень окисления, которая делает возможной реакцию с лигандным соединением. С другой стороны, второе органическое соединение, имеющее заданную структуру, имеет химическую структуру в

реакционном растворе, которая не оказывает неблагоприятного эффекта, такого как непредусмотренная координация с ионом радиоактивного Zr в кислотной области, или имеет скорость реакции, при которой неблагоприятный эффект возникает значительно медленнее, чем скорость реакции с лигандным соединением, что обеспечивает возможность успешного осуществления реакции мечения, которая является основной реакцией. Таким образом, предполагается, что протекает реакция между ионом радиоактивного Zr и лигандным соединением, и индекс мечения может стабильно увеличиваться.

Как показано в примерах, описанных ниже, поскольку второе органическое соединение, имеющее заданную структуру, обеспечивает хорошее протекание реакции мечения даже в условиях рН, значительно отклоняющихся от диапазона рН, в котором проявляется рН-буферное действие, предполагают, что стабильное протекание реакции мечения в настоящем изобретении не вызвано проявлением рН-буферного действия в жидкости, которым потенциально обладает водорастворимое органическое соединение. В этом отношении, как показано в примерах, описанных ниже, авторы настоящего изобретения подтвердили, что индекс мечения ниже, чем у способа получения по настоящему изобретению в случае, когда в качестве реакционного раствора используют кислотный физиологический раствор, не содержащий второе органическое соединение, что соответствует условиям, раскрытым в Патентной литературе 1. Поэтому также предполагают, что второе органическое соединение в реакционном растворе играет роль, заключающуюся в выгодном продвижении реакции мечения между ионом радиоактивного Zr и лигандным соединением за счет поддержания рН реакционного раствора в кислотной области.

[0046]

С точки зрения улучшения как обрабатываемости используемого лигандного соединения, так и стабильности образующегося комплекса радиоактивного Zr, в частности стабильности комплексообразования, каждый из  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  и  $R_{13}$  предпочтительно представляет собой карбоксиалкильную группу, представленную группой  $-(CH_2)_pCOOH$ , где  $p$  представляет собой целое число 1 или более и 3 или менее.

В этом случае также предпочтительно, чтобы один из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представлял собой атом водорода или карбоксиалкильную группу, представленную группой  $-(CH_2)_pCOOH$ , где  $p$  представляет собой целое число 1 или более и 3 или менее. В этом случае также предпочтительно, чтобы другой из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представлял собой карбоксиалкильную группу, представленную группой  $-(CH_2)_pCOOH$ , где  $p$  представляет собой целое число 1 или более и 3 или менее, или реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или связанную группу.

В случае, когда  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  и  $R_{15}$  содержат вышеописанные подходящие группы и когда один из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой атом водорода, другой из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  предпочтительно представляет собой реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с

нацеливающим агентом.

То есть в случае, когда  $R_{14}$  представляет собой реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом,  $R_{15}$  предпочтительно представляет собой атом водорода, а в случае, когда  $R_{15}$  представляет собой реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом,  $R_{14}$  предпочтительно представляет собой атом водорода.

[0047]

В случае, когда используют лигандное соединение, содержащее группу, связанную с нацеливающим агентом, в Формуле (1), нацеливающий агент предпочтительно представляет собой один вид или два или более видов из числа атомных групп, включая те, которые выбраны из группы, состоящей из цепочечных пептидов, циклических пептидов или их комбинации, белков, антител или их фрагментов, пептидных аптамеров, факторов роста, Affibody, UniBody, Nanobody, моносахаридов, полисахаридов, витаминов, антисмысловых нуклеиновых кислот, миРНК, микроРНК, аптамеров нуклеиновых кислот, нуклеиновых кислот-ловушек, сРG олигонуклеиновых кислот, пептидных нуклеиновых кислот, липосом, мицелл, углеродных нанотрубок и наночастиц.

“Нацеливающий агент” в настоящем описании относится к химической структуре, которая обеспечивает направленность на орган или ткань-мишень в живом организме или специфичность к молекуле-мишени. В настоящем описании орган или ткань-мишень и молекула-мишень также совместно указаны как “сайт-мишень”.

Эти нацеливающие агенты могут быть непосредственно связаны с лигандным соединением или опосредованно связаны через другие известные линкерные структуры, такие как PEG.

[0048]

Кроме того, эти нацеливающие агенты могут быть сконфигурированы таким образом, чтобы они были способны связываться с лигандным соединением с использованием модифицированной реакционноспособной атомной группы, которая может быть связана с другой структурой. Например, для достижения связи с лигандным соединением можно использовать известную реакцию, такую как клик-реакция.

В случае, когда для связывания используют клик-реакцию, например, и реакционноспособная атомная группа нацеливающего агента и реакционноспособная атомная группа лигандного соединения, подлежащего связыванию с нацеливающим агентом, могут быть группами, содержащими клик-реактивные атомные группы.

При использовании лигандного соединения, имеющего такую химическую структуру, можно легко достичь связывания с нацеливающим агентом, обладающим специфичностью к сайту-мишени или направленностью на сайт-мишень, и можно получить комплекс радиоактивного Zr, обладающий специфичностью к сайту-мишени или направленностью на сайт-мишень, с высоким выходом в состоянии, когда специфичность нацеливающего агента к сайту-мишени или направленность на сайт-мишень сохраняется в

достаточной степени.

[0049]

В случае, когда нацеливающий агент включает пептид, атомная группа предпочтительно включает цепочечный пептид, циклический пептид или их комбинацию, белок или антитело или его фрагмент, который специфически связан со специфической молекулой.

Примеры такой атомной группы включают пептиды, имеющие три или более составляющих их аминокислотных остатка, такие как антитела (иммуноглобулины) классов IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, фрагменты антител, такие как Fab фрагменты и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты, и пептидные аптамеры. Кроме того, аминокислота, составляющая такое нацеливающий агент, может быть природной или синтетической.

Молекулярная масса указанной выше атомной группы, включающей пептид, конкретно не ограничена.

[0050]

Различные пептиды, которые могут быть использованы в качестве нацеливающего агента, можно синтезировать общеизвестными методами, такими как метод жидкофазного синтеза, метод твердофазного синтеза, метод автоматизированного синтеза пептидов, метод рекомбинации генов, метод фагового дисплея, перепрограммирование генетического кода и метод случайного нестандартного пептидного интегрированного обнаружения (RaPID). При синтезе различных пептидов функциональные группы используемых аминокислот могут быть защищены по мере необходимости.

[0051]

В случае, когда нацеливающий агент представляет собой атомную группу, содержащую нуклеиновую кислоту, атомная группа предпочтительно представляет собой атомную группу, содержащую антисмысловую нуклеиновую кислоту, миРНК, микроРНК, аптамер нуклеиновой кислоты, нуклеиновую кислоту-ловушку, сРГ олигонуклеиновую кислоту или пептидную нуклеиновую кислоту, которая специфически связана со специфической молекулой. Кроме того, нуклеоснования, составляющие такой нацеливающий агент, могут быть природными, такими как дезоксирибонуклеиновая кислота и рибонуклеиновая кислота, или синтетическими.

[0052]

Атомную группу, содержащую вышеописанную нуклеиновую кислоту, которую можно использовать в настоящем изобретении, можно получить общеизвестным способом. Например, в случае аптамера нуклеиновой кислоты, аптамер нуклеиновой кислоты, который специфически связан с конкретным целевым веществом, таким как белок, может быть получен с использованием систематической эволюции лигандов путем экспоненциального обогащения (SELEX).

[0053]

В случае, когда лигандное соединение, содержащее клик-реактивную атомную группу, используют в качестве лигандного соединения, содержащего

реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, используемым в настоящем изобретении, можно использовать подходящим образом клик-реактивную атомную группу, полученную из известного реагента, который можно использовать для клик-реакции.

“Реакционноспособная атомная группа” в настоящем описании относится к химической структуре, которая непосредственно подвергается реакции для связывания одного соединения с другим соединением. Примеры такой реакционноспособной атомной группы включают, но не ограничиваются этим, клик-реактивные атомные группы.

[0054]

С точки зрения упрощения реакционного процесса клик-реактивная атомная группа в качестве реакционноспособной атомной группы предпочтительно представляет собой атомную группу, которую можно использовать для клик-реакции без металлического катализатора. Примеры такой структуры включают алкинильную группу, азидную группу и диен или диенофил, такой как 1,2,4,5-тетразин и алкенильная группа.

[0055]

Клик-реакция представляет собой реакцию комбинации алкина и азиды или комбинации диена и диенофила, например 1,2,4,5-тетразина и алкена. Конкретные примеры клик-реакции такой комбинации атомных групп включают реакцию циклоприсоединения Хьюсгена и реакцию Дильса-Альдера с обратной потребностью электронов.

[0056]

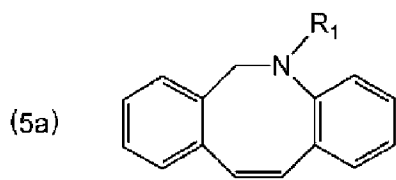
Как правило, химическая структура, полученная в результате клик-реакции комбинации алкина и азиды, содержит триазольный скелет, а химическая структура, полученная в результате клик-реакции комбинации 1,2,4,5-тетразина и алкена в качестве комбинации диена и диенофила содержит пиридазиновый скелет. Следовательно, триазольный скелет может быть образован клик-реакцией в том случае, когда клик-реактивная атомная группа, которая может содержаться в реакционноспособной атомной группе, подлежащей связыванию с нацеливающим агентом, представляет собой атомную группу, содержащую алкин или азид. Альтернативно, пиридазиновый скелет может быть образован клик-реакцией в случае, когда клик-реактивная атомная группа, которая может содержаться в реакционноспособной атомной группе, подлежащей связыванию с нацеливающим агентом, представляет собой атомную группу, содержащую 1,2,4,5-тетразин или алкен в качестве диена или диенофила.

[0057]

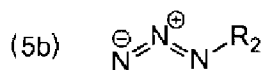
Конкретные примеры клик-реактивной атомной группы включают атомную группу, содержащую дибензилциклооктин (DBCО) в качестве алкина (Формула (5a)), атомную группу, содержащую азидную группу в качестве азиды (Формула (5b)), атомную группу, содержащую 1,2,4,5-тетразин (Формула (5c)), и атомную группу, содержащую транс-циклооктен (ТСО) в качестве алкена (Формула (5d)), как показано в следующих формулах.

[0058]



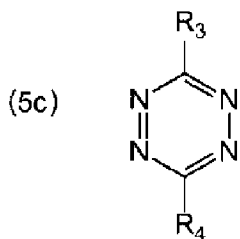


Дибензилциклооктин

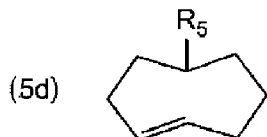


Азид

[0059]



1,2,4,5-тетразин



транс-циклооктен

[0060]

В формуле (5a)  $R_1$  представляет собой сайт связывания с атомной группой, включающей лигандное соединение или нацеливающий агент.

В формуле (5b)  $R_2$  представляет собой сайт связывания с атомной группой, включающей лигандное соединение или нацеливающий агент.

В формуле (5c) один из  $R_3$  и  $R_4$  представляет собой сайт связывания с атомной группой, включающей лигандное соединение или нацеливающий агент, а другой представляет собой атом водорода, метильную группу, фенильную группу или пиридинильную группу.

В формуле (5d)  $R_5$  представляет собой сайт связывания с атомной группой, включающей лигандное соединение или нацеливающий агент.

[0061]

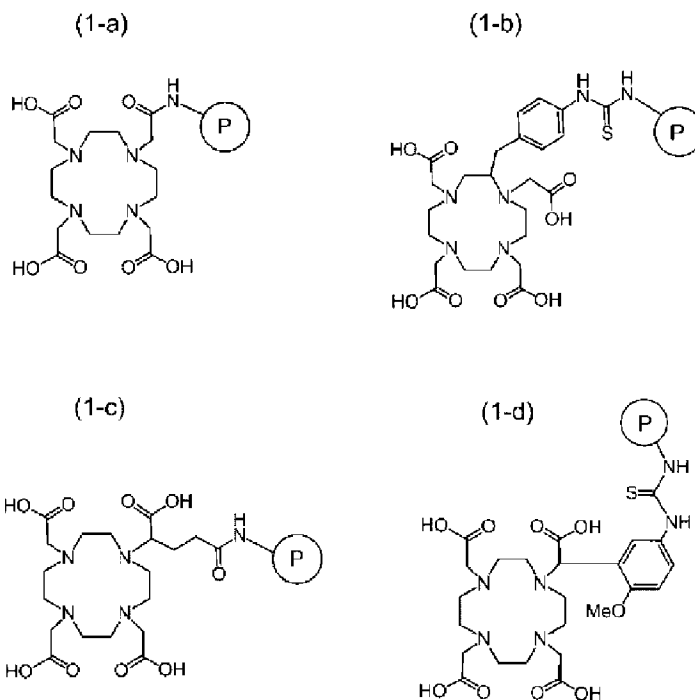
В случае, когда клик-реактивную атомную группу вводят в лигандное соединение, ее можно ввести с использованием различных коммерчески доступных реагентов. В частности, в случае, когда атомную группу, содержащую дибензилциклооктин (DBCO), вводят в виде клик-реактивной атомной группы, можно использовать DBCO реагенты, такие как, например, DBCO-С6-кислота, DBCO-Амин, DBCO-Малеимид, DBCO-PEG кислота, DBCO-PEG-NHS сложный эфир, DBCO-PEG-спирт, DBCO-PEG-амин, DBCO-PEG-NH-Вос, Карбоксиродамин-PEG-DBCO, Сульфородамин-PEG-DBCO, TAMRA-PEG-DBCO, DBCO-PEG-Биотин, DBCO-PEG-DBCO, DBCO-PEG-Малеимид, TCO-PEG-DBCO и DBCO-mPEG.

[0062]

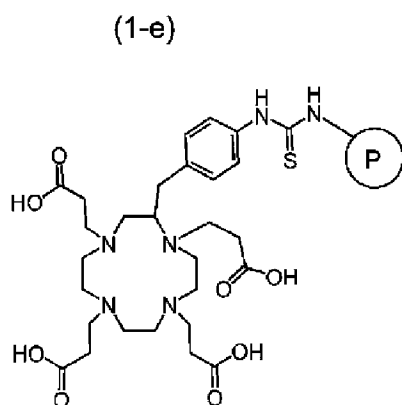
В случае, когда структуру Формулы (1) используют в качестве лигандного соединения, например, можно использовать лигандное соединение, имеющее структуру, представленную любой из следующих Формул (1-a)-(1-e), в качестве подходящего

лигандного соединения, используемого в настоящем изобретении, но лигандное соединение не ограничивается этим. Даже с лигандным соединением, имеющим любую структуру, в достаточной степени проявляется эффект стабильного улучшения индекса мечения. В каждой из следующих формул Р представляет собой атомную группу, содержащую реакционноспособную атомную группу, или атомную группу, содержащую нацеливающий агент. С точки зрения стабильного улучшения индекса мечения более предпочтительно использовать лигандное соединение, имеющее структуру, представленную приведенной выше Формулой (1-b), (1-d) или (1-e).

[0063]



[0064]



[0065]

В случае, когда в качестве лигандного соединения используют лигандное соединение, имеющее структуру Формулы (1) и содержащее реакционноспособную атомную группу, реакционноспособная атомная группа предпочтительно представляет собой клик-реактивную атомную группу, и также предпочтительно, чтобы лигандное

соединение и клик-реактивная атомная группа были ненапрямую связаны линкерной структурой, представленной следующей Формулой (P). Такая структура представляет собой структуру, полученную из этиленгликоля, и в Формуле (P)  $n$  предпочтительно представляет собой целое число 2 или более и 10 или менее, более предпочтительно целое число 2 или более и 8 или менее.

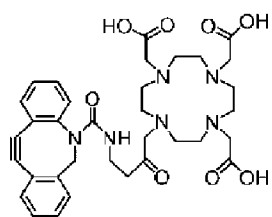
[0066]



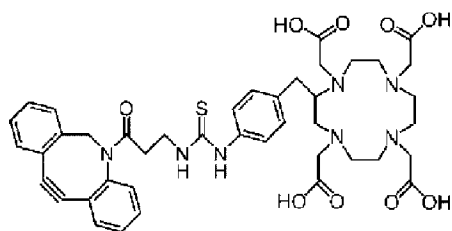
[0067]

Структура лигандного соединения, содержащего клик-реактивную атомную группу, конкретно не ограничивается при условии, что проявляется эффект настоящего изобретения, но более предпочтительно, чтобы оно имело следующую структуру. То есть лигандное соединение более предпочтительно содержит по меньшей мере один из показанных ниже DO3A-DBCO, DOTA-DBCO, DO3A-PEG4-DBCO, DO4A-PEG7-Tz и DOTAGA-DBCO.

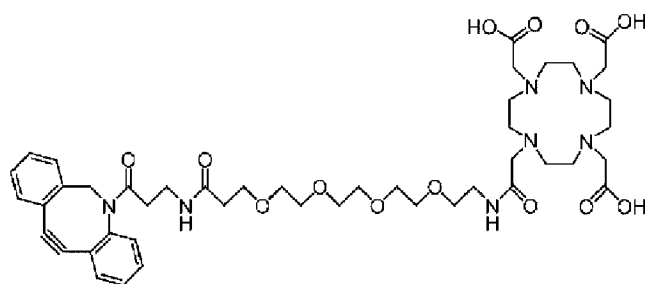
[0068]



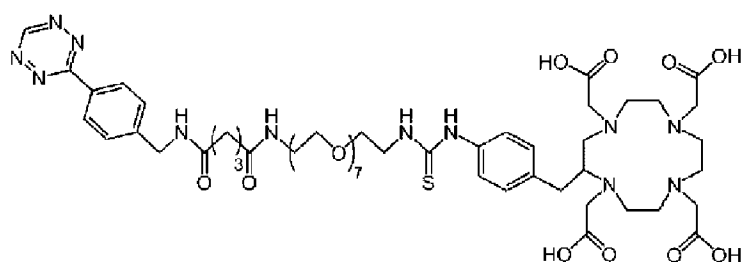
DO3A-DBCO



DOTA-DBCO

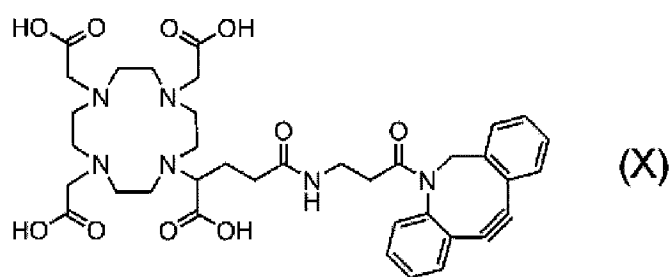


DO3A-PEG4-DBCO



DO4A-PEG7-Tz

[0069]



DOTAGA-DBCO

[0070]

В случае, когда используют лигандное соединение, содержащее клик-реактивную атомную группу в качестве реакционноспособной атомной группы, например, ион радиоактивного Zr координируют с лигандным соединением вышеописанным способом и затем осуществляют клик-реакцию или подобную реакцию клик-реактивной атомной

группы лигандного соединения, с которым был скоординирован ион радиоактивного Zr, и клик-реактивной атомной группы нацеливающего агента, в результате чего можно получить комплекс радиоактивного Zr.

В этом случае в качестве нацеливающего агента можно использовать соединение, модифицированное клик-реактивной атомной группой, которая специфически связана с реакционноспособной атомной группой в лигандном соединении.

В качестве клик-реактивной атомной группы для модификации нацеливающего агента можно использовать ту же группу, что и описанные выше. При использовании такого соединения можно получить комплекс радиоактивного Zr, обладающий специфичностью или направленностью к сайту-мишени.

[0071]

Комплекс радиоактивного Zr, образованный путем осуществления вышеописанных стадий, существует в растворенном состоянии в реакционном растворе. То есть комплекс радиоактивного Zr можно получить в виде водной жидкости. Водную жидкость, содержащую комплекс радиоактивного Zr, можно использовать как таковую или можно очистить с использованием фильтрующего фильтра, мембранного фильтра, колонки, заполненной различными наполнителями, хроматографии и т.п.

[0072]

Примеры стадии после получения комплекса радиоактивного Zr включают стадию формулирования композиции для получения радиоактивного лекарственного средства, содержащего комплекс радиоактивного Zr в качестве активного ингредиента. Стадию формулирования композиции можно осуществить путем соответствующего добавления различных добавок, таких как регулирующий pH агент, такой как цитратный буферный раствор, фосфатный буферный раствор и боратный буферный раствор, солюбилизующий агент, такой как полисорбат, стабилизатор и антиоксидант, или регулированием концентрации радиоактивности путем разбавления водой или изотоническим раствором, например физиологическим раствором. Кроме того, стадия формулирования композиции может включать стадию добавления различных добавок или регулирования концентрации, а затем выполнения стерилизующей фильтрации при помощи мембранного фильтра или т.п. с получением композиции для инъекций.

### **Примеры**

[0073]

Далее настоящее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на примеры. Однако объем настоящего изобретения не ограничивается такими примерами. Все следующие примеры осуществляли при атмосферном давлении. В последующем описании, если не указано иное, pH при осуществлении стадии просто указан как "pH", а обозначение "-" в графе следующей таблицы означает "не выполняли".

[0074]

### **Примеры 1-4**

<sup>89</sup>Zr использовали в качестве радиоактивного элемента Zr. DOTA (в формуле (1)

выше, все R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> и R<sub>14</sub> представляют собой группы “-CH<sub>2</sub>COOH”, а R<sub>15</sub> представляет собой атом водорода) использовали в качестве лигандного соединения.

[0075]

Вышеуказанное лигандное соединение растворяли в воде для инъекций с получением водного раствора, содержащего 20 ммоль/л указанного выше лигандного соединения (Примеры 1-3), или водного раствора, содержащего 0,2 ммоль/л указанного выше лигандного соединения (Пример 4).

Что касается Примеров 1-3, в реакционном сосуде (стеклянный флакон) 1,5 мкл водного раствора лигандного соединения, 100 мкл раствора, содержащего ион <sup>89</sup>Zr (растворитель: 0,1 моль/л водный раствор хлористоводородной кислоты, концентрация радиоактивности: 1,57-6,51 МБк/мл) в качестве источника радиоактивного Zr, и 198,5 мкл 0,1 моль/л водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия (рН: 4,0-6,0) в качестве второго органического соединения смешивали для приготовления каждого из реакционных растворов, имеющих разные концентрации и значения рН, показанные в Таблице 1 ниже. Все эти реакционные растворы не содержали органического растворителя.

Что касается Примера 4, реакционный раствор, имеющий различные концентрации и значения рН, показанные в Таблице 1 ниже, получали путем смешивания таким же образом, как в Примере 1, за исключением того, что добавляли 150 мкл водного раствора лигандного соединения и 50 мкл 0,78 моль/л водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия (рН: 6,0) в качестве второго органического соединения. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя.

[0076]

Затем, поддерживая рН каждого реакционного раствора, реакционный раствор нагревали при температуре нагревания и времени нагревания, показанных в Таблице 1 ниже, с получением раствора, содержащего комплекс <sup>89</sup>Zr в качестве меченного радиоактивным Zr соединения.

[0077]

С использованием тонкослойной хроматографии (производство Merck & Co., Inc., номер модели: RP-18, проявляющий растворитель: 10 об.% водный раствор хлорида аммония/метанол (1:1)), 2 мкл полученного раствора комплекса <sup>89</sup>Zr проявляли при длине пробега фронта растворителя 10 см.

ТСХ-хроматограмму после проявления вводили в анализатор ТСХ (GITA Star) и измеряли общее количество радиоактивности <sup>89</sup>Zr, включая непрореагировавший <sup>89</sup>Zr, и количество радиоактивности комплекса <sup>89</sup>Zr в растворе комплекса <sup>89</sup>Zr. Затем рассчитывали процент радиоактивности комплекса <sup>89</sup>Zr по отношению к общему количеству радиоактивности <sup>89</sup>Zr в качестве индекса мечения (%). Индекс мечения указывает степень развития реакции мечения, и более высокий индекс мечения означает, что образуется большее количество целевого меченного радиоактивным Zr соединения, и что реакция мечения протекает хорошо. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0078]

Отдельно от этого измеряли количество оставшейся радиоактивности в реакционном сосуде, и процент оставшейся радиоактивности по отношению к общему количеству радиоактивности (полученной радиоактивности) в реакционном растворе рассчитывали как коэффициент адсорбции (%). Кроме того, радиохимический выход (%; далее также указан как RCU) рассчитывали с использованием следующей расчетной формулы (I). Чем меньше коэффициент адсорбции и чем выше RCU, тем больше целевого меченного радиоактивным Zr комплекса можно использовать на последующих стадиях, а это значит, что повышается производительность. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

Радиохимический выход (%) = индекс мечения  $\times$  (100 - коэффициент адсорбции) / 100... (I)

[0079]

Примеры 5 и 6 и Сравнительные Примеры 1 и 2

0,1 моль/л водного раствора HEPES-NaOH (pH: 6,0-8,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения соответствующих реакционных растворов, имеющих различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Все эти реакционные растворы не содержали органического растворителя. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0080]

Пример 7

0,1 моль/л водного раствора фталата натрия (pH: 4,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Затем время нагревания реакционного раствора изменяли, как показано в Таблице 1 ниже. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0081]

Пример 8

0,1 моль/л водного раствора малоната натрия (pH: 4,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Затем время нагревания реакционного раствора изменяли, как показано в Таблице 1 ниже. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0082]

Пример 9

0,1 моль/л водного раствора MES (pH: 4,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для

получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Затем время нагревания реакционного раствора изменяли, как показано в Таблице 1 ниже. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0083]

#### Пример 10

0,1 моль/л водного раствора TES (pH: 4,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Затем время нагревания реакционного раствора изменяли, как показано в Таблице 1 ниже. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0084]

#### Пример 11

DOTAGA-DVCO (Формула (X) выше) использовали в качестве лигандного соединения вместо DOTA.

Лигандное соединение растворяли в 0,1 моль/л водном растворе уксусной кислоты-ацетата натрия (pH: 5,0) с получением раствора, содержащего 300 ммоль/л лигандного соединения.

Что касается Примера 11, в реакционном сосуде (стеклянный флакон) 150 мкл водного раствора лигандного соединения, 100 мкл раствора, содержащего  $^{89}\text{Zr}$  ион (растворитель: раствор 0,1 моль/л хлороводородной кислоты, концентрация радиоактивности: 62 МБк/мл) в качестве источника радиоактивного Zr, и 100 мкл 0,1 моль/л водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия (pH: 5,0) в качестве второго органического соединения смешивали для приготовления реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0085]

#### Сравнительные Примеры 3 и 4

0,1 моль/л водного раствора Tris-HCl (pH: 8,0-9,0) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия с получением реакционных растворов, имеющих различные концентрации и значения pH, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0086]



#### Сравнительный Пример 5

0,1 моль/л водного раствора цитрата натрия (рН: 4,5) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения рН, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0087]

#### Сравнительный Пример 6

Физиологический раствор (0,154 моль/л водный раствор хлорида натрия) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора, имеющего различные концентрации и значения рН, показанные в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Затем реакцию осуществляли без нагревания, при этом реакционный раствор поддерживали при комнатной температуре (25°C). Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0088]

#### Сравнительный Пример 7

Физиологический раствор (0,154 моль/л водный раствор хлорида натрия) использовали в качестве второго органического соединения вместо водного раствора уксусной кислоты-ацетата натрия для получения реакционного раствора с концентрацией и рН, показанными в Таблице 1 ниже. Этот реакционный раствор не содержал органического растворителя. Процедуру и оценку осуществляли так же, как в Примере 1, за исключением отмеченного выше. Результаты показаны в Таблице 1 ниже.

[0089]

Таблица 1

|              | Композиция реакционного раствора        |                                 |                                |                       |                      |                         | Условия нагревания |                  |             | Результат мечения радиоактивным Zr |                           |         |
|--------------|---|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|------------------------------------|---------------------------|---------|
|              | Концентрация радиоактивности Zr [МБк/л] | Концентрация ионов Zr [пмоль/л] | Второе органическое соединение |                       | Лигандное соединение |                         | pH                 | Температура [°C] | Время [мин] | Индекс мечения [%]                 | Коэффициент адсорбции [%] | RCY [%] |
|              |   |                                 | Тип                            | Концентрация [моль/л] | Тип                  | Концентрация [мкмоль/л] |                    |                  |             |                                    |                           |         |
| Пр. 1        | 2133                                    | 1443                            | Уксусная кислота-ацетат Na     | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,0                | 70               | 30          | 93                                 | 9                         | 85      |
| Пр. 2        | 2143                                    | 1450                            | Уксусная кислота-ацетат Na     | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,7                | 70               | 30          | 92                                 | 16                        | 77      |
| Пр. 3        | 523                                     | 354                             | Уксусная кислота-ацетат Na     | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 5,8                | 70               | 30          | 79                                 | 57                        | 34      |
| Пр. 4        | 2170                                    | 1468                            | Уксусная кислота-ацетат Na     | 0,13                  | DOTA                 | 100                     | 4,7                | 70               | 30          | 83                                 | 27                        | 61      |
| Пр. 5        | 2157                                    | 1459                            | HEPES                          | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 2,0                | 70               | 30          | 93                                 | 9                         | 84      |
| Пр. 6        | 2163                                    | 1463                            | HEPES                          | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 3,0                | 70               | 30          | 96                                 | 8                         | 89      |
| Сравн. Пр. 1 | 513                                     | 347                             | HEPES                          | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 7,0                | 70               | 30          | 0                                  | 40                        | 0       |
| Сравн. Пр. 2 | 2143                                    | 1450                            | HEPES                          | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 8,0                | 70               | 30          | 8                                  | 39                        | 5       |
| Пр. 7        | 2507                                    | 1695                            | Фталат Na                      | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,0                | 70               | 60          | 83                                 | -                         | -       |
| Пр. 8        | 2627                                    | 1777                            | Малонат Na                     | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,0                | 70               | 60          | 80                                 | -                         | -       |
| Пр. 9        | 2630                                    | 1779                            | MES                            | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,0                | 70               | 60          | 83                                 | -                         | -       |
| Пр. 10       | 2497                                    | 1689                            | TES                            | 0,07                  | DOTA                 | 100                     | 4,0                | 70               | 60          | 94                                 | -                         | -       |
| Пр. 11       | 17714                                   | 11980                           | Уксусная кислота-ацетат Na     | 0,07                  | DOTAG A-DBCO         | 129                     | 4,0                | 70               | 30          | 89                                 | 27                        | 65      |

|              |      |      |           |       |      |     |     |    |    |    |    |    |
|--------------|------|------|-----------|-------|------|-----|-----|----|----|----|----|----|
| Сравн. Пр. 3 | 2120 | 1434 | Tris      | 0,07  | DOTA | 100 | 2,0 | 70 | 30 | 50 | 16 | 42 |
| Сравн. Пр. 4 | 2150 | 1454 | Tris      | 0,07  | DOTA | 100 | 8,5 | 70 | 30 | 58 | 78 | 13 |
| Сравн. Пр. 5 | 1007 | 681  | Цитрат Na | 0,07  | DOTA | 100 | 4,5 | 70 | 30 | 10 | -  | -  |
| Сравн. Пр. 6 | 9167 | 6200 | NaCl      | 0,154 | DOTA | 100 | 1,0 | 25 | 30 | 6  | -  | -  |
| Сравн. Пр. 7 | 9067 | 6133 | NaCl      | 0,154 | DOTA | 100 | 1,0 | 70 | 30 | 53 | -  | -  |

[0090]

Как описано выше, обнаружено, что в способе получения Примеров, в которых используют второе органическое соединение с заданной структурой и в которых реакционный раствор, имеющий рН, поддерживаемый в кислотной области, нагревают, чтобы вызвать реакцию, реакция мечения протекает хорошо, и высокий индекс мечения может быть достигнут в реакции Zr ионов с лигандным соединением, содержащим DOTA или производное DOTA, по сравнению со способом получения Сравнительных примеров.

[0091]

Кроме того, в Примерах 1, 2, 5 и 6, в которых реакционный раствор, имеющий рН, поддерживаемый в приемлемой кислотной области, нагревали, высокий RCY может быть достигнут с меньшей адсорбцией в реакционном сосуде при достижении высокого индекса мечения. В результате производительность комплекса Zr может быть дополнительно увеличена.

Кроме того, сравнение между Примером 2 и Примером 4 показывает, что как индекс мечения, так и RCY могут быть дополнительно улучшены в примере, в котором концентрация второго органического соединения ниже.

[0092]

Как описано выше, настоящее изобретение обеспечивает способ получения, который может обеспечить высокий индекс мечения в реакции иона радиоактивного циркония с лигандным соединением.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения комплекса радиоактивного циркония, включающий: стадию взаимодействия иона радиоактивного циркония и лигандного соединения друг с другом в реакционном растворе, содержащем воду, для координации иона радиоактивного циркония с лигандным соединением,

при этом реакционный раствор не содержит органического растворителя,

реакционный раствор содержит:

лигандное соединение; и

водорастворимое органическое соединение, имеющее одну или две сульфогруппы, или водорастворимое органическое соединение, имеющее одну или две карбоксигруппы, и рН реакционного раствора находится в кислотной области.

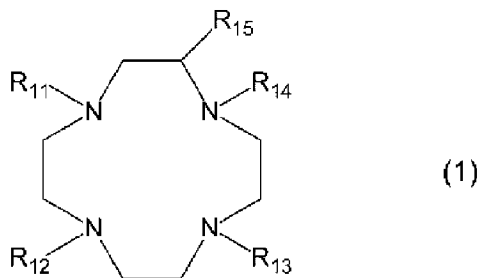
2. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по п. 1, в котором рН реакционного раствора составляет 2,0 или более и 6,0 или менее.

3. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по п. 1 или 2, в котором концентрация водорастворимого органического соединения, содержащегося в реакционном растворе, составляет 0,01 моль/л или более и 2,0 моль/л или менее.

4. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по любому из пп. 1-3, в котором водорастворимое органическое соединение включает уксусную кислоту, фталевую кислоту или малоновую кислоту, или 2-[4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил]этансульфоновую кислоту, N-трис(гидроксиэтил)метил-2-аминоэтансульфоновую кислоту или 2-морфолиноэтансульфоновую кислоту.

5. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по любому из пп. 1-4, в котором реакционный раствор нагревают до 30°C или выше и 100°C или ниже для взаимодействия иона радиоактивного циркония с лигандным соединением.

6. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по любому из пп. 1-5, в котором лигандное соединение представлено Формулой (1) ниже:



где  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  и  $R_{13}$  каждый независимо представляет собой группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$  или группу  $-(CH_2)_pCONH_2$ ,

один из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой атом водорода, группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$ , группу  $-(CH_2)_pCONH_2$  или группу  $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ , а другой представляет собой группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , группу  $-(CH_2)_pC_5H_5N$ , группу  $-(CH_2)_pPO_3H_2$ , группу  $-(CH_2)_pCONH_2$ , реакционноспособную атомную

группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом, и каждый  $p$  независимо представляет собой целое число 0 или более и 3 или менее.

7. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по п. 6, где в формуле все из  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  и  $R_{13}$  представляют собой группы  $-(CH_2)_pCOOH$ , один из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой атом водорода или группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , другой из  $R_{14}$  и  $R_{15}$  представляет собой группу  $-(CH_2)_pCOOH$ , реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом,

$R_{15}$  представляет собой атом водорода в случае, когда  $R_{14}$  представляет собой реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом, и

$R_{14}$  представляет собой атом водорода в случае, когда  $R_{15}$  представляет собой реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, или группу, связанную с нацеливающим агентом.

8. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по п. 6 или 7, в котором нацеливающий агент включает атомную группу, содержащую один или два или более, выбранных из группы, состоящей из цепочечного пептида, циклического пептида или их комбинации, белка, антитела или его фрагмента, фактора роста, Affibody, UniBody, Nanobody, моносахарида, полисахарида, витамина, антисмысловой нуклеиновой кислоты, миРНК, микроРНК, аптамера нуклеиновой кислоты, нуклеиновой кислоты-ловушки, сРГ олигонуклеиновой кислоты, пептидной нуклеиновой кислоты, липосомы, мицеллы, углеродной нанотрубки и наночастицы.

9. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по п. 6 или 7, в котором реакционноспособная атомная группа, подлежащая связыванию с нацеливающим агентом, включает азидогруппу, алкинильную группу, диен или диенофил.

10. Способ получения комплекса радиоактивного циркония по любому из пп. 6-9, в котором ион радиоактивного циркония координируют с лигандным соединением с использованием лигандного соединения, имеющего реакционноспособную атомную группу, подлежащую связыванию с нацеливающим агентом, и затем

осуществляют взаимодействие реакционноспособной атомной группы с нацеливающим агентом.