

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5770096号
(P5770096)

(45) 発行日 平成27年8月26日(2015.8.26)

(24) 登録日 平成27年7月3日(2015.7.3)

(51) Int.Cl.		F I	
GO 1 N 33/50	(2006.01)	GO 1 N 33/50	Z
GO 1 N 33/15	(2006.01)	GO 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/04	(2006.01)	C 1 2 Q 1/04	

請求項の数 4 (全 30 頁)

(21) 出願番号	特願2011-538406 (P2011-538406)	(73) 特許権者	000149837
(86) (22) 出願日	平成22年10月25日(2010.10.25)		富士フイルムR I ファーマ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2010/068812		東京都中央区京橋二丁目14番1号
(87) 国際公開番号	W02011/052522	(74) 代理人	110000084
(87) 国際公開日	平成23年5月5日(2011.5.5)		特許業務法人アルガ特許事務所
審査請求日	平成25年10月9日(2013.10.9)	(74) 代理人	100077562
(31) 優先権主張番号	特願2009-245330 (P2009-245330)		弁理士 高野 登志雄
(32) 優先日	平成21年10月26日(2009.10.26)	(74) 代理人	100096736
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156
			弁理士 村田 正樹
		(74) 代理人	100111028
			弁理士 山本 博人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 感染症診断薬

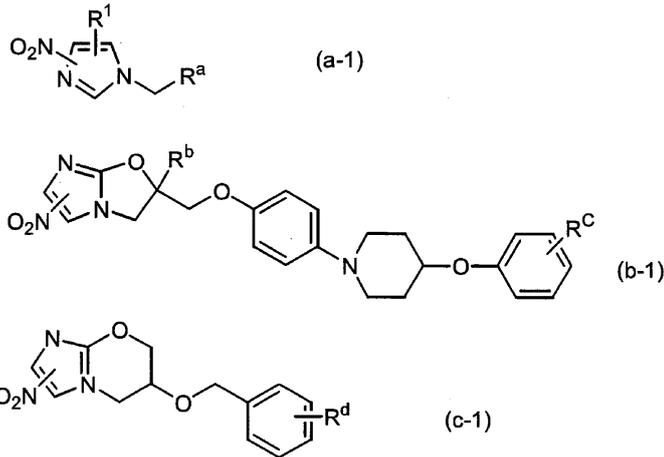
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体を有効成分とする、ニトロイミダゾールに感受性を有する偏性嫌気性菌又は抗酸菌による感染症診断薬であって、

前記有効成分が、次式(a-1)、(b-1)又は(c-1)で表される化合物又はその標識体、

【化1】



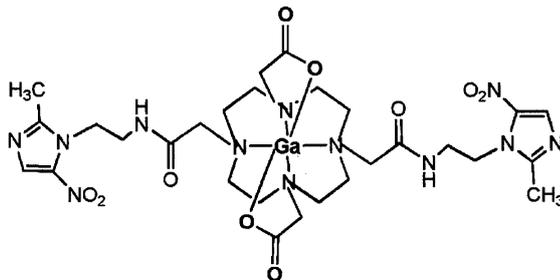
10

(式中、R¹は水素原子又は炭素数1～5のアルキル基を示し、R^aはハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる1～3個が置換していてもよい炭素数1～5のアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる1～3個が置換していてもよい炭素数1～5のアルコキシ基を示し、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイル基から選ばれる1～3個が置換していてもよいベンゾイルアミノメチル基を示し、R^bは炭素数1～5のアルキル基を示し、R^c及びR^dはハロゲノアルコキシ基を示す)、又は

20

次式で表されるGa-DOTA-(メトロニダゾール)₂

【化2】



30

(式中、Gaは⁶⁷Gaを示す。)

である診断薬。

【請求項2】

前記有効成分が、メトロニダゾール、チニダゾール、ベンズニダゾール、フルオロミソニダゾール、オルニダゾール、ニモラゾール、1-[2-(2-メチル-5-ニトロ-1H-1-イミダゾリル)エチル]-3-ヨードベンズアミド、1-[2-(2-ニトロ-1H-1-イミダゾリル)エチル]-3-ヨードベンズアミド、(S)-2-ニトロ-6-((4-トリフルオロメトキシ)-ベンジルオキシ)-6,7-ジヒドロ-5H-イミダゾール[2,1-b][1,3]オキサジン、(R)-2-メチル-6-ニトロ-2-((4-(4-(4-(トリフルオロメトキシ)フェノキシ)-ピペリジン-1-イル)フェノキシ)メチル)-2,3-ジヒドロイミダゾ[2,1-b]オキサゾール、Ga-DOTA-(メトロニダゾール)₂又はそれらの標識体である請求項1記載の診断薬。

40

【請求項3】

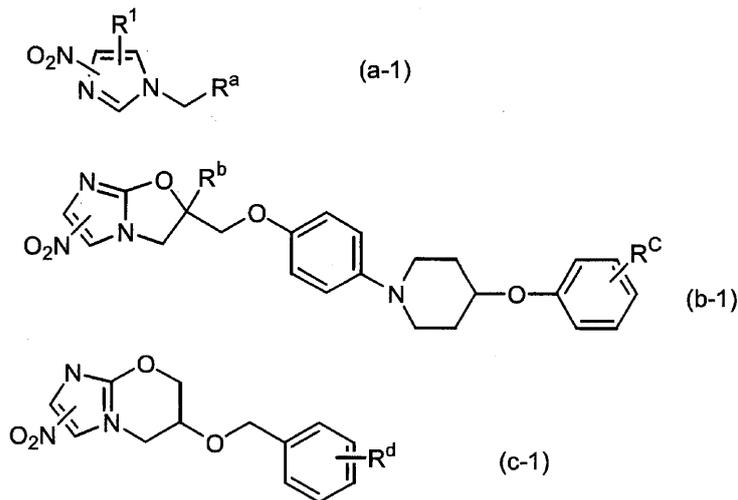
被検体の存在下に、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体と、生存する偏性嫌気性菌又は抗酸菌との結合性を検出することを特徴とする、前記偏性嫌気性菌又は抗酸菌による感染症治療薬のスクリーニング方法であって、

前記イミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体が、次式

50

(a - 1)、(b - 1)又は(c - 1)で表される化合物又はその標識体、

【化 3】



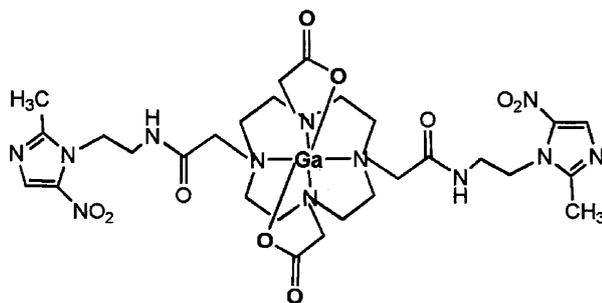
10

(式中、 R^1 は水素原子又は炭素数 1 ~ 5 のアルキル基を示し、 R^a はハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 1 ~ 5 のアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 1 ~ 5 のアルコキシ基を示し、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよいベンゾイルアミノメチル基を示し、 R^b は炭素数 1 ~ 5 のアルキル基を示し、 R^c 及び R^d はハロゲノアルコキシ基を示す)、又は

20

次式で表される Ga - DOTA - (メトロニダゾール)₂

【化 4】



30

(式中、Gaは⁶⁷Gaを示す。)

である、前記方法。

【請求項 4】

前記イミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体が、メトロニダゾール、チニダゾール、ベンズニダゾール、フルオロミソニダゾール、オルニダゾール、ニモラゾール、1 - { 2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル } - 3 - ヨードベンズアミド、1 - { 2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル } - 3 - ヨードベンズアミド、(S) - 2 - ニトロ - 6 - ((4 - トリフルオロメトキシ) - ベンジルオキシ) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - イミダゾール [2 , 1 - b] [1 , 3] オキサジン、(R) - 2 - メチル - 6 - ニトロ - 2 - ((4 - (4 - (4 - (トリフルオロメトキシ) フェノキシ) - ピペリジン - 1 - イル) フェノキシ) メチル) - 2 , 3 - ジヒドロイミダゾ [2 , 1 - b] オキサゾール、Ga - DOTA - (メトロニダゾール)₂又はそれらの標識体である請求項 3 記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、ニトロイミダゾール感受性微生物の検出が可能な感染症診断薬に関する。

【背景技術】

【0002】

感染症の化学療法の基本は、原因微生物を確定し、感受性のある抗微生物薬を用いて、迅速に治療を開始し、十分量を短期間で投与することである（非特許文献1）。

【0003】

原因微生物を確定するためには、通常培養検査を行う。しかし現状は、原因微生物を確定することが困難な場合がある。例えば、培養検査法による検出感度が低い微生物の場合である。また、培養で常在菌が検出された場合、その細菌が疾患に關与しているのか、或いは常在菌による汚染（混入）なのか判断することは難しい。手技的にも、微生物の培養検査には多くの時間を要するという問題点がある。微生物の種類にもよるが、数日から数週間必要である。さらに分離培養した微生物を用いて薬剤感受性試験の結果を得るには、さらに時間を要するため、適切な治療を迅速に実施することは困難である。また、生体深部に感染がある場合には、培養するための検体採取が侵襲性をともなうため、実施することが困難な場合がある。

10

【0004】

感染症の治療においては、上記診断法の諸問題により、医師の経験に頼りがちになり、治療の難治化や重症化を招く原因になっている。しかも、薬剤感受性の抗微生物薬を使用しても、感染病巣に十分な治療量が移行しないことがあり、また、菌交代現象などの副作用等の問題もあるため、抗微生物薬の使用は適量を用い短期間で行う必要がある。

20

【0005】

以上のことから感染症の治療に際して、生存微生物を非侵襲的に簡便な操作で短時間に測定できる診断法が望まれている。

【0006】

感染症の中でも特に、偏性嫌気性菌感染症の診断は長時間を要し、操作は極めて繁雑である（非特許文献2）。

【0007】

偏性嫌気性菌感染症診断は、嫌気培養検査が必要である。この検査には、検体採取時に大気に触れると急速に死滅する菌種や発育が悪い菌種も多いため、分離培養による検出率が低い。また、偏性嫌気性菌感染症の多くは、ヒトの常在菌叢を構成する菌種が多い。そのため、現在の分離培養法等の診断法では、擬陽性が多く、原因菌として關与しているのか判断することは困難である。

30

【0008】

さらに困難なことに、偏性嫌気性菌は、通性嫌気性菌などの好気性菌と混合感染や複数の菌種が同時に感染していることが多い。嫌気培養は、通性嫌気性菌も良く発育するため、偏性嫌気性菌の存在を確認することが必要になり、熟練した技術者でも1週間以上を要する。また、検査技師の技術力の差により検査結果が変わることも多い。

【0009】

また、深部に感染がある場合には検体採取に侵襲性をともない、患者にとって苦痛であり、感染範囲を拡大する危険を伴う問題点もある。

40

【0010】

偏性嫌気性菌感染症患者で、偏性嫌気性菌が血液培養から検出された患者において、偏性嫌気性菌に対して適切な治療を実施できた群の死亡率は17%、適切な治療ができなかった群の死亡率は55%と報告され、偏性嫌気性菌の診断・治療の重要性が示されている（非特許文献3）。

【0011】

一方、従来、放射性同位体で標識されたニトロイミダゾール誘導体を用いた放射性画像診断薬に関する多くの報告がある（特許文献1、非特許文献4、5）。癌患者において、

50

低酸素耐性を獲得し、低酸素環境下で生存している癌細胞の存在部位をニトロイミダゾール誘導体を用いて画像にする技術が知られている（非特許文献6）。また、ニトロイミダゾール誘導体である、フッ素-18で標識されたフルオロミソニダゾール（ $[^{18}\text{F}] \text{MISO}$ ）を用いて、陽電子放射断層画像により歯性感染症患者の低酸素な病巣部位の可視化が報告されている（非特許文献7）。

【0012】

また、ニトロイミダゾール誘導体は抗微生物作用を有することが知られており、その中で、数種類の5-ニトロイミダゾールが抗微生物薬として治療に使用されている。5-ニトロイミダゾール誘導体であるメトロニダゾールは、半世紀前から世界的に感染症治療に用いられている代表的な抗微生物薬である。メトロニダゾールは、全ての偏性嫌気性菌、微好気性菌、例えばヘリコバクター・ピロリ菌、ある種の寄生原虫、例えばトリコモナス、赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫等に対して活性を有し、現在においても優れた抗微生物薬である（特許文献2～6、非特許文献8～10）。また、メトロニダゾールは偏性嫌気性菌と同様に嫌氣的（低酸素）環境下でも増殖できる通性嫌気性菌に対しては、嫌氣的環境下においても耐性であるという特徴を有することが知られている（非特許文献11）。

10

【0013】

さらに最近、ニトロイミダゾール誘導体は、既存の抗結核薬にはない分裂休止期の結核に対しても作用する特徴が見出され（非特許文献8、12）、現在新しい結核治療薬としての開発が進んでいる（特許文献2、7、8、非特許文献13、14）。

【0014】

以上のように、ニトロイミダゾール誘導体は低酸素の病巣部位へ集積する特徴に加え、感染症治療に有効な抗微生物薬としての側面をもつが、その有効性は低酸素環境下においても、病原微生物によって異なり、選択的な感受性を備えているという特徴を有することが知られている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0015】

【特許文献1】特表2003-509413号公報

【特許文献2】特表2009-521464号公報

【特許文献3】特開昭57-181066号公報

【特許文献4】特公平4-56031号公報

【特許文献5】特表平11-508270号公報

【特許文献6】特開平9-143071号公報

【特許文献7】特開2005-330266号公報

【特許文献8】特開2004-149527号公報

【非特許文献】

【0016】

【非特許文献1】抗菌薬使用のガイドライン：日本感染症学会、日本化学療法学会

【非特許文献2】嫌気性菌感染症診断・治療ガイドライン2007：日本化学療法学会、日本嫌気性菌感染症研究会

40

【非特許文献3】Salonen JH, *Clinical Infectious Diseases* 26:1413-1417 (1998)

【非特許文献4】Chu T, *Bioorg Med Chem Lett* 9;14(3):747-749 (2004)

【非特許文献5】Mukai T, *Bioorg Med Chem* 1;17(13):4285-4289 (2009)

【非特許文献6】Cherk MH, *J Nucl Med* 47(12):1921-1926 (2006)

【非特許文献7】Liu RS, *Eur J Nucl Med* 23(10):1384-1387 (1996)

50

【非特許文献8】Samuelson J、Antimicrob Agents Chemother. 43(7):1533-1541(1999)

【非特許文献9】Prince HN、Appl Microbiol. 18(5):728-730(1969)

【非特許文献10】メルクママニュアル第18版日本語版

【非特許文献11】Cowan and Steel's 医学細菌同定の手びき第3版:29

【非特許文献12】Sun Z、Tuber Lung Dis. 79(5):319-320(1999)

【非特許文献13】Singh R、Science. 28;322(5906):1392-1395(2008) 10

【非特許文献14】Kim P、J Med Chem. 52:1317-1328(2009)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

本発明は、異なる種類の菌種を鑑別することができ、非侵襲的に短時間で簡便に測定及び/又は画像化できる感染症診断薬の提供を課題とする。また、本発明は微生物に起因する感染症の治療薬のスクリーニング方法の提供を課題とする。

【課題を解決するための手段】

20

【0018】

そこで本発明者は、上記目的を達成するため種々検討した結果、ニトロイミダゾール誘導体が予想に反して、嫌氣的(低酸素)環境下においてもニトロイミダゾール非感受性微生物よりニトロイミダゾール感受性微生物に選択的に集積し、かつ生存微生物が関与しない炎症には集積しない特徴を有し、ニトロイミダゾール感受性微生物の感染症診断薬として有用であること、さらにこのニトロイミダゾール誘導体の微生物集積性を利用すれば、新たな感染症治療薬のスクリーニングが可能になることを見出し、本発明を完成した。

【0019】

すなわち、本発明は、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体を有効成分とする、ニトロイミダゾールに感受性を有する微生物による感染症診断薬を提供するものである。

30

また、本発明は、ニトロイミダゾールに感受性を有する微生物による感染症の診断に使用するための、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体を提供するものである。

また、本発明は、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体の、ニトロイミダゾールに感受性を有する微生物による感染症診断薬製造のための使用を提供するものである。

また、本発明は、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体を使用することを特徴とする、ニトロイミダゾールに感受性を有する微生物による感染症の診断方法を提供するものである。

40

また、本発明は、被検体の存在下に、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体と、生存微生物との結合性を検出することを特徴とする、微生物による感染症治療薬のスクリーニング方法を提供するものである。

【発明の効果】

【0020】

本発明の感染症診断薬を用いれば、炎症患者に投与するだけで、非侵襲的にニトロイミダゾールの構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ微生物の感染部位画像が迅速に得られ、同時に感染部位への移行評価から治療効果予測をすることが可能になる。さらに、得られ

50

た画像から生存微生物量を非侵襲的に評価できるため、治療効果判定、抗微生物薬による治療終了時期を迅速に且つ客観的に判断できる。また、本発明スクリーニング方法は、ニトロイミダゾール感受性微生物に起因した感染症の予防及び/または治療薬のスクリーニングに有用である。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】メトロニダゾールの各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図2】〔¹⁹F〕MISOの各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図3】化合物1の各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図4】化合物2の各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

10

【図5】〔¹⁸F〕MISOの各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図6】化合物3の各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図7】化合物3のバクテロイデス・フラジリスの嫌気環境下における取り込み量と偏性嫌気性菌の生存菌数との関係を示す。

【図8】ラット各微生物の感染症モデルにおける化合物1及び化合物2の集積を示す。

【図9】化合物2の各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【図10】〔¹⁹F〕FMISOの各微生物の嫌気環境下における取り込みを示す。

【発明を実施するための形態】

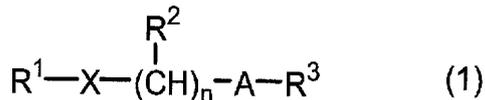
【0022】

本発明の感染症診断薬の有効成分は、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール誘導体若しくは縮合イミダゾール誘導体又はそれらの標識体である。当該イミダゾール誘導体又は縮合イミダゾール誘導体は、例えば次式(1)

20

【0023】

【化1】



【0024】

(式中、Xは、イミダゾール環上に少なくとも1つのニトロ基を有するイミダゾール環又は縮合イミダゾール環を示し、R¹は水素原子又はアルキル基を示し、n個のR²は同一でも異なってもよく、水素原子、ヒドロキシ基又はアルキル基を示し、nは0~5の数を示し、Aは単結合、酸素原子、硫黄原子、SO₂、NH、CO、NHCO又はCONHを示し、R³は水素原子、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、置換基を有していてもよいアラルキル基又は置換基を有していてもよい複素環式基を示す。)

30

で表される化合物又はその標識体が挙げられる(特許文献1~8、非特許文献4~13参照)。

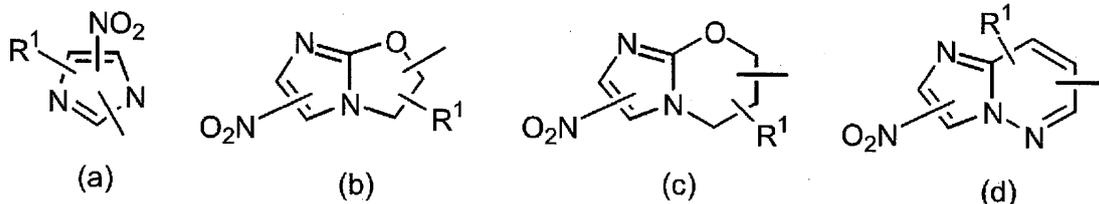
【0025】

式(1)中、Xとしては、次の構造(a)~(d)が挙げられる。

40

【0026】

【化2】



【0027】

50

(式中、 R^1 は前記と同じ)

上記構造(a)~(d)のうち、構造(a)、(b)及び(c)が特に好ましい。

【0028】

R^1 は、イミダゾール環又は縮合イミダゾール環上の置換基であり、水素原子又は炭素数1~5のアルキル基が好ましく、水素原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基等がより好ましく、水素原子又はメチル基が特に好ましい。

【0029】

n 個の R^2 は同一でも異なってもよく、水素原子、ヒドロキシ基又はアルキル基を示すが、水素原子、ヒドロキシ基又は炭素数1~5のアルキル基が好ましい。ここでアルキル基の例としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基等が挙げられる。10
 n は0~5の数を示すが、0又は1~3がより好ましい。 $-(CH(R^2))_n-$ の例としては、単結合、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 等が挙げられる。

【0030】

Aは単結合、酸素原子、硫黄原子、NH、 SO_2 、CO、NHCO又はCONHを示すが、このうち、単結合、酸素原子、NH、NHCOが特に好ましい。

【0031】

R^3 で示される置換基を有していてもよいアルキル基としては、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アミノ基、アルカノイル基、アルカノイルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、カルボキシル基、置換基を有していてもよいアルコキシ基、置換基を有していてもよいアリール基及び置換基を有していてもよい複素環式基から選ばれる1~3個が置換していてもよい炭素数1~6のアルキル基が挙げられる。ここで炭素数1~6のアルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基等が挙げられる。20

【0032】

R^3 で示される置換基を有していてもよいアリール基としては、炭素数1~5のアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アミノ基、アルカノイル基、アルカノイルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、カルボキシル基、置換基を有していてもよいアルコキシ基、及び置換基を有していてもよい複素環式基から選ばれる1~3個が置換していてもよい炭素数6~14のアリール基が挙げられる。ここで炭素数6~14のアリール基としては、フェニル基、ナフチル基、フェナントリル基等が挙げられる。30

【0033】

R^3 で示される置換基を有していてもよいアラルキル基としては、炭素数1~5のアルキル基、ヒドロキシ基、アミノ基、アルカノイル基、アルカノイルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、カルボキシル基及び置換基を有していてもよいアルコキシ基から選ばれる1~3個が置換していてもよいフェニル- C_{1-5} アルキル基が挙げられる。

【0034】

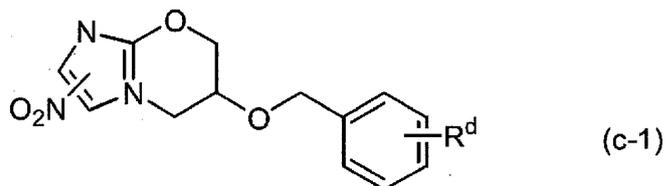
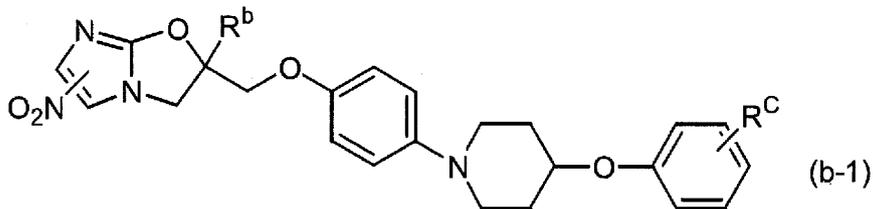
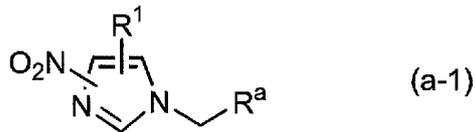
R^3 で示される置換基を有していてもよい複素環式基としては、炭素数1~5のアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アミノ基、アルカノイル基、アルカノイルオキシ基、シアノ基、ニトロ基、カルボキシル基、及び置換基を有していてもよいアルコキシ基から選ばれる1~3個が置換していてもよい飽和又は不飽和の複素環式基が挙げられる。ここで、複素環式基としては、ピロリジニル基、ピペリジニル基、ピペラジニル基、ピロール基、ピリジニル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、ピリダジニル基、イミダゾリル基、ピラジニル基、モルホリノ基等が挙げられる。40

【0035】

式(1)の化合物のうち、より好ましい態様としては、以下の化合物が挙げられる。

【0036】

【化3】



10

【0037】

(式中、 R^1 は水素原子又は炭素数1～5のアルキル基を示し、 R^a はハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる1～3個が置換していてもよい炭素数1～5のアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイルオキシ基から選ばれる1～3個が置換していてもよい炭素数1～5のアルコキシ基を示し、ハロゲン原子、ヒドロキシ基及びアルカノイル基から選ばれる1～3個が置換していてもよいベンゾイルアミノメチル基を示し、 R^b は炭素数1～5のアルキル基を示し、 R^c 及び R^d はハロゲノアルコキシ基を示す)

20

【0038】

上記式中、 R^1 としては水素原子又はメチル基が特に好ましい。 R^a としては、ヒドロキシ-C₁₋₅アルキル基、ハロゲノ-C₁₋₅アルキル基、ハロゲノ-ヒドロキシ-C₁₋₅アルキル基、ヒドロキシ-C₁₋₅アルコキシ基、ハロゲノ-C₁₋₅アルコキシ基、ハロゲノ-ヒドロキシ-C₁₋₅アルコキシ基、ハロゲノ-アルカノイルオキシ-C₁₋₅アルコキシ基、ハロゲノベンゾイルアミノ-C₁₋₅アルキル基が挙げられる。ここでC₁₋₅アルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基等が挙げられる。C₁₋₅アルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基等が挙げられる。

30

【0039】

R^c 及び R^d としては、トリハロゲノメトキシ基、特にトリフルオロメトキシ基が特に好ましい。

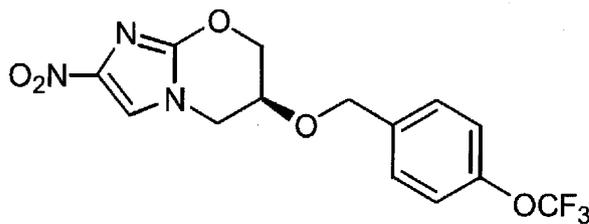
【0040】

より好ましい式(1)のイミダゾール誘導体としては、メトロニダゾール、チニダゾール、ベンズニダゾール、フルオロミソニダゾール、オルニダゾール、ニモラゾール、1-[2-(2-メチル-5-ニトロ-1H-1-イミダゾリル)エチル]-3-ヨードベンズアミド、1-[2-(2-ニトロ-1H-1-イミダゾリル)エチル]-3-ヨードベンズアミド、(S)-2-ニトロ-6-((4-トリフルオロメトキシ)-ベンジルオキシ)-6,7-ジヒドロ-5H-イミダゾール[2,1-b][1,3]オキサジン(化合物4:特許文献5)、(R)-2-メチル-6-ニトロ-2-((4-(4-(4-(トリフルオロメトキシ)フェノキシ)-ピペリジン-1-イル)フェノキシ)メチル)-2,3-ジヒドロイミダゾ[2,1-b]オキサゾール(化合物5:特許文献8)が挙げられる。

40

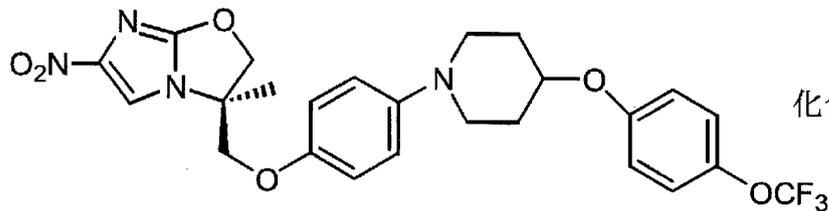
【0041】

【化4】



化合物4

10



化合物5

【0042】

これらの化合物の標識体としては、体外診断用途のための標識体及び体内診断用途のための標識体のいずれでもよい。

20

【0043】

体外診断用途のための標識としては、放射性核種、たとえば ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I であり、蛍光又は化学発光化合物たとえばフルオレセイン、イソチオシアネート、ローダミン、ルシフェリンであり、酵素、たとえばアルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼであってよい。

【0044】

また、体内診断用途のために、画像診断に有用な検出可能部分を含む前記式(1)のニトロイミダゾール誘導体(以下、単にニトロイミダゾール誘導体という)を利用することができる。たとえば、検出可能な部分は放射性核種、放射線不透過性原子、近赤外蛍光化合物、常磁性化合物、原子核スピンをもつ原子等であり、哺乳動物の好ましくは血流中に投与し、前記ニトロイミダゾール誘導体の存在及び位置を外部から検出する。

30

【0045】

より具体的には、前記ニトロイミダゾール誘導体の構造中に放射性核種、たとえば ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 、 ^{34}mCl 、 ^{38}Cl 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 $^{80\text{m}}\text{Br}$ 、 ^{80}Br 、 ^{82}Br 、 ^{121}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{126}I 、 ^{131}I のいずれか1つを有する放射性感染症診断薬、X線を吸収する、すなわち原子番号20以上の原子を1つ以上有するX線感染症診断薬、原子核スピンを持つ原子、たとえば ^{19}F や ^{11}B 等を1つ以上有する核磁気共鳴感染症診断薬、常磁性化合物、たとえばニトロキシドを有する電子常磁性共鳴感染症診断薬、近赤外領域の蛍光をもつ化合物、たとえばBODIPY等の蛍光団を有する近赤外蛍光化合物、あるいは類似の手段によりニトロイミダゾール誘導体の位置を可視化することができる感染症診断薬である。

40

【0046】

また、ニトロイミダゾール誘導体の構造中に、連結基を介し二官能性配位子やカルボニル化合物等を導入した金属錯体からなる誘導体が挙げられる。ここで二官能性配位子としては、ポリアミノポリカルボン酸が好ましい。ポリアミノカルボン酸としては、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、ジエチレントリアミン五酢酸ビスメチルアミド(DTPA-BMA)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)及びこれらの誘導体からなる群より選ばれる。ポリアミノポリカルボン酸以外の二官能性配位子として、例えば6-ヒドラジノニコチンアミド(HYNIC)及びこれらの誘導体からなる群より選ばれる。

50

【 0 0 4 7 】

二官能性配位子の金属錯体が、内殻にある不対電子により常磁性を示す金属イオン、例えばCo、Mn、Cu、Cr、Ni、V、Au、Fe、Eu、Gd、Dy、Tb、Ho及びErからなる群より選ばれる金属元素の常磁性イオンを金属成分とする核磁気共鳴診断薬に有用な錯体も挙げられる。また、二官能性配位子の金属錯体が、X線を吸収する、すなわち原子番号20又はそれ以上の例えば、Re、Sm、Ho、Lu、Pm、Y、Bi、Pb、Os、Pd、Gd、La、Au、Yb、Dy、Cu、Rh、Ag、及びIrからなる群より選ばれる金属元素の金属イオンを金属成分とするX線診断薬に有用な錯体も挙げられる。また、二官能性配位子の金属錯体が、放射性核種である、例えば⁴⁷Sc、⁵²Mn、⁵⁵Co、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁷²As、⁷²Se、⁷³Se、⁷⁵Se、⁷⁶As、⁹⁵Tc、^{99m}Tc、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、¹¹¹In、¹⁵³Sm、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au、²⁰¹Tl、²¹¹At及び²¹²Biからなる群より選ばれる放射性核種の金属イオンを金属成分とする放射性診断薬に有用な錯体も挙げられる。

10

【 0 0 4 8 】

本発明診断薬の対象疾患は、ニトロイミダゾールに感受性をもつ微生物が関与する疾患、あるいはそれらの感染が疑われる疾患である。体外診断の場合には血液、尿、喀痰、組織等が用いられる。

【 0 0 4 9 】

たとえば、偏性嫌気性菌感染症或いはその感染が疑われる疾患であって、特に脳膿瘍、呼吸器感染症、耳鼻咽喉科領域感染症、腹腔内感染症、壊死性筋膜炎、外傷及び口腔内感染症、或いは大腸、子宮及び口腔等及びその周辺の手術後の感染症、不明熱等である。

20

【 0 0 5 0 】

また、たとえば抗酸菌の感染症、特に結核菌感染症或いはその感染が疑われる疾患であって、特に分裂休止期の結核菌、たとえば潜在結核感染症等である。また、結核発症リスクの高いHIV感染患者やリウマチ生物製剤治療患者等の潜在性結核の診断に有効である。

【 0 0 5 1 】

また、たとえば上記以外の微生物が関与する疾患、或いはそれらの感染が疑われる疾患であって、たとえば微好気性菌の感染症、特にヘリコバクター・ピロリ菌による胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃がん及びMALTリンパ腫等である。また、原虫による感染症、特にトリコモナスによる尿生殖路の感染症、赤痢アメーバによる腸アメーバ症と腸外アメーバ症、ランブル鞭毛虫によるジアルジア症等である。

30

【 0 0 5 2 】

本発明感染症診断薬を体外診断薬として用いる場合は、血液、尿、喀痰、組織等における前記化合物又はその標識体を検出すればよい。また、本発明感染症診断薬を体内診断薬として用いる場合には、前記化合物又はその標識体を、必要な患者に投与し、該化合物又はその標識体を検出すればよい。

【 0 0 5 3 】

本発明感染症診断薬を体内診断薬として用いる場合、用途や対象とする疾患に見合った剤形を選択すればよく、例えば経口、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、皮内、関節内、滑液内等に投与が可能であり、静脈注射による投与が最適である。本発明感染症診断薬は、例えば放射性薬剤の場合、その投与量は、患者の体重、年齢、性別及び検出に適した画像化装置（PET、SPECT、MRI、ESR、NIRS、X線CTなど）の諸条件によって適宜決められる。前記イミダゾール誘導体は、画像診断薬に利用する場合、たとえば実施の1時間前から24時間前に投与するのが好ましい。

40

【 0 0 5 4 】

ニトロイミダゾール誘導体は、薬学的に許容される添加物と混合することにより本発明感染症診断薬とすることができる。例としては、プロピレングリコール等の安定化剤；酸、塩基等のpH調整剤；リン酸緩衝液等の緩衝剤；生理食塩水等の等張剤、乳化・分散剤、賦形剤、結合剤、被覆剤、安定剤、マンニトールなどの糖類、アミノ酸などの凍結乾燥

50

助剤を添加し、製剤とすることができる。また、金属錯体からなるニトロイミダゾール誘導体の場合、金属錯体を生成するための還元剤を添加することができる。例えば、塩化第一スズ、酒石酸第一スズ、その他の第一スズ、金属スズ、アスコルビン酸と塩化第二鉄の混合物、ナトリウム・ジチオナイト、硫酸第一鉄などを挙げることができる。これらの還元剤の中でも、スズ系の還元剤、特に塩化第一スズが好ましい。

【0055】

本発明スクリーニング方法を用いて、微生物に起因する感染症の治療薬をスクリーニングするには、体内または体外において、被検体の存在下に对照ニトロイミダゾール誘導体と微生物との結合性を検出すればよい。

【0056】

たとえば、インピトロの場合には被検体の存在下に、微生物と对照ニトロイミダゾール誘導体との結合性を検出する方法、被検体と对照ニトロイミダゾール誘導体の存在下に微生物を検出する方法により行われる。

【0057】

たとえば、インピボの場合には微生物に感染した動物に、对照ニトロイミダゾール誘導体及び被検体を投与し、生存微生物の有無を測定すればよい。被検体が对照ニトロイミダゾール誘導体と微生物との結合を阻害すれば、当該被検体は目的とした微生物に起因する感染症の治療薬として有用であることがわかる。

【実施例】

【0058】

次に実施例を挙げ、本発明を詳細に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら制約されるものではない。

実施例 1

ニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬であるメトロニダゾールに感受性のある微生物と非感受性の微生物を用いて比較した。使用した微生物は、バクテロイデス・フラジリス (ATCC 25285) 及び大腸菌 (ATCC 25922) を用いた。バクテロイデス・フラジリスは、メトロニダゾールに感受性のある代表的な微生物である偏性嫌気性菌である。大腸菌は、メトロニダゾールに非感受性の微生物である通性嫌気性菌である。各微生物の培養法は、バクテロイデス・フラジリスは変法 G A M 培地、大腸菌はミューラーヒントン培地を用いて、37 で1日から2日間培養した各微生物を実験に使用した。嫌気培養はアネロパック (三菱ガス化学) を用いて行った。リン酸緩衝生理食塩水は高圧蒸気滅菌処理後に急冷することで、脱気したものを使用した。また、微生物を取り扱う時は、窒素ガスを充填させた環境下で扱った。大気中で作業する際は、大気中の酸素が溶け込まないように細菌の入った容器を密封し実施した。

【0059】

下記のニトロイミダゾール誘導体を用いて実施した。

【0060】

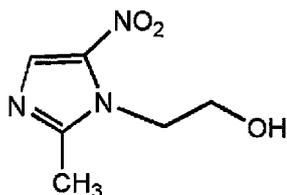
10

20

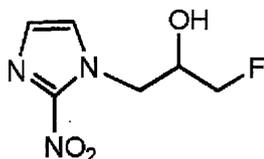
30

【化5】

メトロニダゾール



フルオロミソニダゾール (FMISO)

(式中、Fは ^{18}F 若しくは ^{19}F を示す。)

【0061】

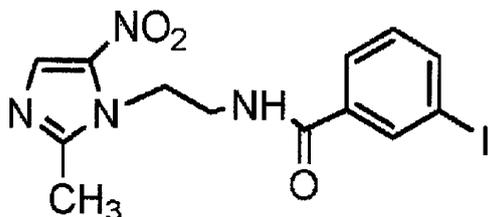
化合物1: [^{125}I]N1 - [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1H - 1 - イミダゾリル)エチル] - 3 - ヨードベンズアミド

10

20

【0062】

【化6】

(式中、Iは ^{125}I を示す。)

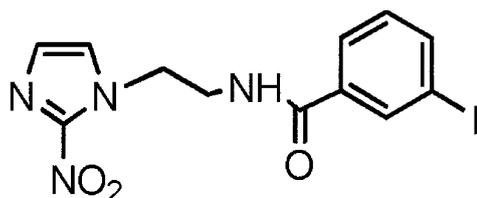
30

【0063】

化合物2: N1 - [2 - (2 - ニトロ - 1H - 1 - イミダゾリル)エチル] - 3 - ヨードベンズアミド

【0064】

【化7】

(式中、Iは ^{125}I 若しくは ^{127}I を示す。)

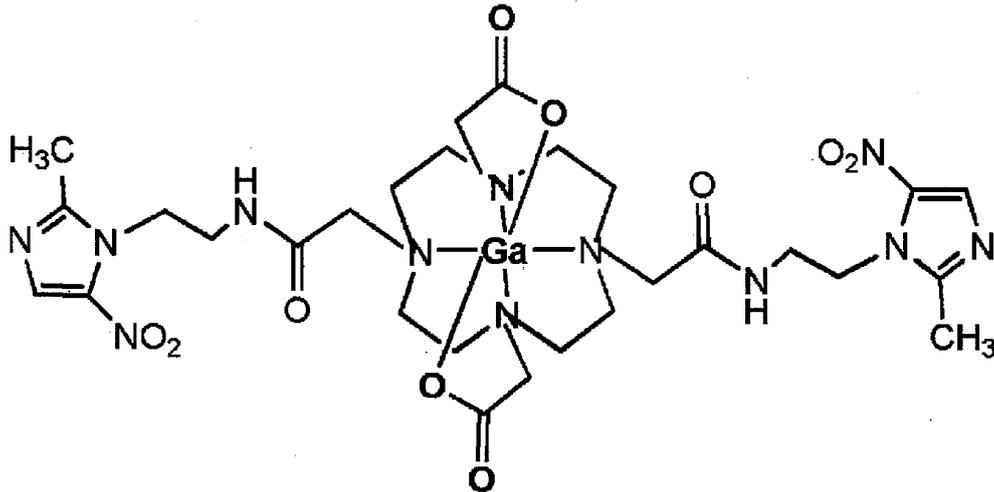
40

【0065】

化合物3: [^{67}Ga]Ga - DOTA - (メトロニダゾール) $_2$

【0066】

【化8】



(式中、Gaは⁶⁷Gaを示す。)

【0067】

ニトロイミダゾール誘導体の代表例として、治療薬として頻繁に用いられているメトロニダゾール、画像診断薬の研究に多く用いられているFMISOを用いて、インビトロ試験を実施した。メトロニダゾールはシグマから、[¹⁹F]FMISOはエービーエクスアドバンスドバイオケミカルコンパウンズから入手した。

【0068】

試験管に、メトロニダゾールは100 μM、[¹⁹F]FMISOは70 μM、各細菌をそれぞれマクファーランド6.0になるようにリン酸緩衝生理食塩水に氷冷しながら加えた。試験管を撹拌した後、水浴37℃で各設定時間までインキュベートした。インキュベート後、直ちに氷冷し、遠心分離(3000 rpm、20分、4℃)により細菌を分離し、上清を得た。その上清をろ過滅菌フィルター(ポアサイズ200 nm)でろ過し、メトロニダゾールは318 nm、[¹⁹F]FMISOは322 nmの吸光度を測定した(上清吸光度)。また、ニトロイミダゾール誘導体を添加していない、つまり、細菌のみの溶液を各設定時間までインキュベートして得られた上清の吸光度(バックグラウンド吸光度)とした。

【0069】

取り込み率(%)を以下の式で求めた。

$$\text{取り込み率}(\%) = 100 - (B / A \times 100)$$

A : ニトロイミダゾール誘導体の最終濃度の吸光度

B : (上清吸光度) - (バックグラウンド吸光度)

各インキュベート時間における生存菌量は、定量培養法により求め、10⁸コロニー形成単位(CFU)当たりの取り込み率を求めた。メトロニダゾールの結果を図1に、[¹⁹F]FMISOの結果を図2に示す。

【0070】

ニトロイミダゾール誘導体で代表的なメトロニダゾールは、偏性嫌気性菌のバクテロイデス・フラジリス(*B. fragilis*)への取り込みが多く、通性嫌気性菌の大腸菌(*E. coli*)にはほとんど取り込みは認められなかった。本結果により、メトロニダゾールは感受性のある微生物に多く取り込まれることを見出した。この新知見を利用することにより、体外診断薬等への利用が可能になる。例えば、検体を嫌気培養した際、通性嫌気性菌と偏性嫌気性菌が培養されるが、その中から偏性嫌気性菌を確認するためには、煩雑な作業が必要になる。このニトロイミダゾール誘導体の集積の特性を利用することで、偏性嫌気性菌の存在を容易に確認でき、迅速に診断することができる。

10

20

30

40

50

【0071】

[¹⁹F] FMISOは、メトロニダゾールと同様に通性嫌気性菌より偏性嫌気性菌に多く取り込まれることを見出した。[¹⁹F] FMISOは、原子核スピンを持つ¹⁹Fを含むので、核磁気共鳴画像装置、又は類似の手段により検出できる。すなわち、原子核スピンを持つニトロイミダゾール誘導体は、核磁気共鳴画像装置又は類似の手段による非侵襲的なニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ微生物の感染症診断法の診断薬として実施することができる。

【0072】

実施例2

化合物1：[¹²⁵I] N1 - [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

10

【0073】

2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩の合成

2 - メチル - 4 - ニトロイミダゾール (1.136 g) のジメチルホルムアミド溶液 (25 mL) に N - (2 - プロモエチル) フタルイミド (2.367 g) と炭酸カリウム (1.284 g) を加え、110 で3時間攪拌した後、ろ過した。ろ液の溶媒を留去した後、残渣に水を加え冷蔵保存した。得られた析出物をろ取り、洗浄後、減圧乾燥した。得られた化合物にエタノールを加え、ヒドラジン水和物 (0.38 mL) を加えて、3時間還流した。エタノールを加えて冷蔵保存して得た析出物をろ過し、溶媒を留去した。得られた残渣に塩酸水溶液を加え、析出物をろ過した。溶媒を留去後、得られた残渣をメタノール溶解し、酢酸エチルを加えた。得られた析出物をろ取り、標題化合物 (0.581 g) を得た。

20

¹H - NMR (400 MHz, D₂O) : 2.47 (3H, s), 3.47 - 3.51 (2H, t, J = 6.1 Hz), 4.40 - 4.43 (2H, t, J = 6.3 Hz), 8.19 (1H, s).

【0074】

N1 [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - (1, 1, 1 - トリブチルスタニル) ベンズアミドの合成

2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩 (17 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (3 mL) にトリエチルアミン (34 μL) と 2, 5 - ジオキソテトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル - 3 - (1, 1, 1 - トリブチルスタニル) ベンゾエート (50 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (2 mL) を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去した後、残渣にジクロロメタンを加え、水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、標題化合物 (38.4 mg) を得た。

30

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) : 0.83 - 1.49 (27H, m), 1.84 (3H, s), 3.81 - 3.85 (2H, m), 4.16 - 4.19 (2H, t, J = 5.1), 7.30 - 7.33 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.57 (1H, d), 7.69 (1H, d), 7.83 (1H, d), 7.89 (1H, s).

40

ESI - MS (m/z) : 565 (M - H⁺)

【0075】

N1 [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩 (50 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (5 mL) にトリエチルアミン (100 μL) と 2, 5 - ジオキソテトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル - 3 - ヨードベンゾエート (100 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (3 mL) を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去した後、残渣にジクロロメタンを加え、水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去し、得られた残渣にジクロロメタンを加え溶解し、不溶物をろ取

50

することにより、標題化合物 (63.4 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , DMSO - d_6) : 2.30 (3 H , s) , 3.58 - 3.63 (2 H , m) , 4.15 - 4.18 (2 H , t , $J = 5.3$) , 7.25 - 7.29 (1 H , t , $J = 7.8$ Hz) , 7.75 - 7.78 (1 H , m) , 7.79 - 7.90 (1 H , m) 8.09 (1 H , d) . 8.29 (1 H , s) .

ESI - MS (m/z) : 400 (M^+)

【 0076 】

[^{125}I] N1 - [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

0.5 mg / mL の N1 [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - (1 , 1 , 1 - トリブチルスタニル) ベンズアミドのメタノール溶液 20 μL 、リン酸ナトリウム緩衝溶液 pH 5.5) 70 μL 、[^{125}I] ヨウ化ナトリウム溶液 (5 mCi) 10 μL の混合溶液に p - トルエンシルホンクロロアミドナトリウム水溶液 20 μL を添加した。2 分間放置した後、二亜硫酸ナトリウム水溶液 100 μL を添加して反応を終了させた。反応混合物を逆相 HPLC (Mightsil RP - 18、6.0 x 150 mm) にて分離精製した。このとき安定化剤としてベンジルアルコールを添加した。分取溶液を減圧下で留去し、水を適量添加した後、濾過して目的物の溶液を調製した。放射化学的純度を TLC で分析した結果、95% 以上であり、比放射能は約 2200 Ci / mmol であった。

【 0077 】

化合物 2 : [^{125}I] N1 - [2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

【 0078 】

2 - (2 - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩の合成

2 - ニトロイミダゾール (0.255 g) のジメチルホルムアミド溶液 (20 mL) に N - (2 - プロモエチル) フタルイミド (0.607 g) と炭酸カリウム (0.330 g) を加え、110 で 3 時間攪拌した後、ろ過した。ろ液の溶媒を留去した後、残渣に水を加え冷蔵保存した。得られた析出物をろ取り、洗浄後、減圧乾燥した。得られた化合物にエタノールを加え、ヒドラジン水和物 (0.22 mL) を加えて、3 時間還流した。エタノールを加えて冷蔵保存して得た析出物をろ過し、溶媒を留去した。得られた残渣に塩酸水溶液を加え、析出物をろ過した。溶媒を留去後、得られた残渣をメタノール溶解し、酢酸エチルを加えた。得られた析出物をろ取り、標題化合物 (0.284 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , D_2O)

: 3.57 - 3.60 (2 H , t , $J = 6.3$ Hz) , 4.81 - 4.84 (2 H , t , $J = 6.3$ Hz) , 7.26 (1 H , d) , 7.55 (1 H , d) .

【 0079 】

N1 [2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - (1 , 1 , 1 - トリブチルスタニル) ベンズアミドの合成

2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩 (16.3 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (3 mL) にトリエチルアミン (34 μL) と 2 , 5 - ジオキソテトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル - 3 - (1 , 1 , 1 - トリブチルスタニル) ベンゾエート (50 mg) のジメチルホルムアミド溶液 (1 mL) を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去した後、残渣にジクロロメタンを加え、水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、標題化合物 (26.8 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , CDCl_3)

: 0.85 - 1.54 (27 H , m) , 3.88 - 3.93 (2 H , m) , 4.71 - 4.74 (2 H , t , $J = 5.8$) , 6.84 (1 H , s) , 7.02 (1 H , d) , 7.32 - 7.36 (1 H , m) 7.59 (1 H , d) , 7.64 (1 H , d) , 7.86 (1 H , d) .

E S I - M S (m / z) : 5 5 1 (M - H ⁺)

【 0 0 8 0 】

N 1 [2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) - 1 - エチルアミン塩酸塩 (2 3 . 3 m g) のジメチルホルムアミド溶液 (5 m L) にトリエチルアミン (5 0 . 3 μ L) と 2 , 5 - ジオキソテトラヒドロ - 1 H - 1 - ピロリル - 3 - ヨードベンゾエート (5 0 m g) のジメチルホルムアミド溶液 (1 m L) を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去した後、残渣にジクロロメタンを加え、水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去し、得られた残渣にジクロロメタンを加え溶解し、不溶物をろ取すること

10

¹H - N M R (4 0 0 M H z , D M S O - d ₆)

: 3 . 6 6 - 3 . 7 0 (2 H , m) , 4 . 5 4 - 4 . 5 7 (2 H , t , J = 6 . 3) , 7 . 1 2 (1 H , t , J = 0 . 9 8 H z) , 7 . 2 4 - 7 . 2 8 (1 H , t , J = 7 . 8 H z) , 7 . 5 2 (1 H , s) , 7 . 7 1 - 7 . 7 3 (1 H , m) , 7 . 8 6 - 7 . 8 9 (1 H , m) 8 . 0 4 (1 H , d) .

E S I - M S (m / z) : 3 8 7 (M - H ⁺)

【 0 0 8 1 】

[¹²⁵I] N 1 - [2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - ヨードベンズアミドの合成

20

0 . 5 m g / m L の N 1 - [2 - (2 - ニトロ - 1 H - 1 - イミダゾリル) エチル] - 3 - (1 , 1 , 1 - トリブチルスタニル) ベンズアミドのメタノール溶液 2 0 μ L 、リン酸ナトリウム緩衝溶液 p H 5 . 5) 7 0 μ L 、 [¹²⁵I] ヨウ化ナトリウム溶液 (5 m C i) 1 0 μ L の混合溶液に p - トルエンシルホンクロロアミドナトリウム水溶液 2 0 μ L を添加した。2 分間放置した後、二亜硫酸ナトリウム水溶液 1 0 0 μ L を添加して反応を終了させた。反応混合物を逆相 H P L C (M i g h t s i l R P - 1 8 、 6 . 0 × 1 5 0 m m) にて分離精製した。このとき安定化剤としてベンジルアルコールを添加した。分取溶液を減圧下で留去し、水を適量添加した後、濾過して目的物の溶液を調製した。放射化学的純度を T L C で分析した結果、9 5 % 以上であり、比放射能は約 2 2 0 0 C i / m m o l であった。

30

【 0 0 8 2 】

[¹⁸F] F M I S O の合成

H₂¹⁸O をターゲットとし、¹⁸O (p , n) ¹⁸F 反応により生成した ¹⁸F イオンを強塩基性陰イオン交換樹脂である Q M A カートリッジに通じて吸着させた後、炭酸カリウム水溶液 (4 . 5 6 m g / m L) 0 . 6 m L で反応容器に溶出させた。クリプトフィックス 2 2 2 無水アセトニトリル溶液 (2 0 m g / m L) 0 . 6 m L を加え、窒素気流下で加熱し、溶媒を留去した。更に、無水アセトニトリル 1 m L を加え、窒素気流下で加熱し、共沸により乾燥させた。1 - (2 ' - ニトロ - 1 ' - イミダゾリル) - 2 - O - テトラヒドロピラニル - 3 - O - トルエンシルホニルプロパンジオール無水アセトニトリル溶液 (1 0 m g / m L) 0 . 5 m L を加え、1 0 0 ° で 1 0 分間加熱し、フッ素化反応を行った。この反応液を濃縮乾固した後、塩酸を加え、加水分解を行った。続いて、酢酸ナトリウムを加え、中和した後に C₁₈ カートリッジを用いて未反応の ¹⁸F イオンを除去した。その後、逆相 H P L C (Y M C - P a c k O D S A A - 3 2 3 、 1 0 m m i . d . × 2 5 0 m m) にて分離精製した。分取液を Q M A カートリッジに通じた溶出液を、ロータリーエバポレータのフラスコ (アスコルビン酸注射液を含む) に分取し、溶媒を留去した後、生理食塩水に溶解し、濾過して目的物の溶液を調製した。

40

【 0 0 8 3 】

試験管に、放射性核種で標識されたニトロイミダゾール誘導体を 2 6 から 3 7 K B q 、各細菌をマクファーランド 1 . 0 から 2 . 0 になるようにリン酸緩衝生理食塩水に氷冷しながら加えた。試験管を攪拌後、水浴 3 7 ° で各設定時間までインキュベートした。イン

50

キュベート後、直ちに氷冷したリン酸緩衝生理食塩液を加え、遠心分離（3000 rpm、20分、4）により細菌を分離した。上清を除去後、分離した細菌に氷冷したリン酸緩衝生理食塩液を加え、遠心分離を行った。その操作を2回繰り返し、分離した細菌の放射能（cpm）をガンマカウンターで測定した。各インキュベート時間における生存菌量は、定量培養法により求め、 10^8 コロニー形成単位（CFU）当たりの取り込み率を求めた。化合物1の結果を図3に、化合物2の結果を図4に、 $[^{18}\text{F}]$ FMISOの結果を図5に示す。

【0084】

化合物1、化合物2及び $[^{18}\text{F}]$ FMISOは、通性嫌気性菌より偏性嫌気性菌に多く取り込まれることを見出した。この結果により、例えばニトロイミダゾール誘導体は、用途に応じた放射性核種で標識することで、ニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ微生物の感染症の体外または体内の放射性診断薬として実施することができる。

【0085】

実施例3

本発明のニトロイミダゾール誘導体がメトロニダゾールと同様な取り込み機序で取り込まれていることを確認するため、メトロニダゾールによる影響について実施した。実施例2の実験法に、37インキュベート前にメトロニダゾール1.5mMになるように加えて行った場合、化合物1の取り込み率は71%減少し、化合物2の取り込み率は42%減少した。すなわち、メトロニダゾールと同様な取り込み機序であることを確認した。

【0086】

実施例4

化合物3： $[^{67}\text{Ga}]$ Ga-DOTA-(メトロニダゾール)₂の合成

【0087】

1,7-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカンの合成

サイクレン(1.05g)をクロロホルム(50mL)に溶解させ、N-(tert-ブトキシカルボニルオキシ)スクシイミド(2.62g)を加え、室温にて攪拌した。48時間攪拌後、減圧下溶媒留去し、得られた残渣をクロロホルム(50mL)に溶解させ、水酸化ナトリウム水溶液で洗い、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去、真空乾燥し、標題化合物(2.27g)を得た。

【0088】

1,7-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-4,10-ビス(ベンジロキシカルボニルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカンの合成

1,7-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(2.40g)を無水アセトニトリル(55mL)に溶解させ、ベンジルプロモアセテート(2.4mL)及び炭酸カリウム(2.13g)を加え、室温にて攪拌した。24時間攪拌後、炭酸カリウムを除去し、ろ液を減圧下溶媒留去し得られた残渣をシリカゲルカラムで分離、精製することで、標題化合物(3.92g)を得た。

【0089】

4,10-(ベンジロキシカルボニルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカンの合成

1,7-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-4,10-ビス(ベンジロキシカルボニルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(49.2mg)をジクロロメタン(1.4mL)に溶解させ、トリフルオロ酢酸(1.4mL)を加えた。90分攪拌後、減圧下溶媒留去し、水酸化ナトリウム水溶液(15mL)に溶解させ、ジエチルエーテルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去、真空乾燥し、標題化合物(33.4mg)を得た。

【0090】

1,7-ビス(ベンジロキシカルボニルメチル)-4,10-ビス(tert-ブトキシ

10

20

30

40

50

カルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカンの合成

4, 10 - (ベンジロキシカルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン (2.32 g) を無水アセトニトリル (40 mL) に溶解させ、tert - ブルプロモアセテート (1.78 mL) 及び炭酸カリウム (1.64 g) を加え、室温にて攪拌した。24時間後、炭酸カリウムを除去し、ろ液を減圧下溶媒留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムで分離、精製することで、標題化合物 (3.20 g) を得た。

【0091】

4, 10 - ビス (tert - ブトキシカルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 7 - 二酢酸の合成

1, 7 - ビス (ベンジロキシカルボニルメチル) - 4, 10 - ビス (tert - ブトキシカルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン (900 mg) を無水エタノール (20 mL) に溶解させ、10%パラジウム炭素 (100 mg) を加え、0.2 MPa の水素気流下、室温にて攪拌した。60時間攪拌後、パラジウム炭素を除去し、ろ液を減圧下溶媒留去、真空乾燥し、標題化合物 (798 mg) を得た。

【0092】

メタンスルホン酸 2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルエステルの合成

メトロニダゾール (2.0 g) を無水ジクロロメタン (40 mL) に溶解させ、トリエチルアミン (2.4 mL) とメタンスルホニルクロライド (1.1 mL) を加え、アルゴン気流下、室温にて攪拌した。4時間後、析出した固体をろ取り、真空乾燥し標題化合物 (2.64 g) を得た。

【0093】

1 - (2 - アジド - エチル) - 2 - メチル - 5 - ニトロ - 1H - イミダゾールの合成

メタンスルホン酸 2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルエステル (2.36 g) をジメチルホルムアルデヒド (30 mL) に溶解させ、アジ化ナトリウム (0.73 g) を加え、100℃にて攪拌した。2時間後室温に戻し、さらに、2時間攪拌後、飽和食塩水を加え、酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去、真空乾燥し、標題化合物 (1.80 g) を得た。

【0094】

2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルアミン二塩酸塩の合成

1 - (2 - アジド - エチル) - 2 - メチル - 5 - ニトロ - 1H - イミダゾール (2.93 g) を無水テトラヒドロフラン (40 mL) に溶解させ、トリフェニルホスフィン (4.87 g) を加え、室温にて攪拌した。20時間後、濃塩酸を加え、加熱還流した。5時間後、減圧下溶媒留去し得られた残渣を精製水に溶解させ、酢酸エチルで洗い、減圧下溶媒留去、真空乾燥した。得られた固体をメタノールにて再結晶し、標題化合物 (2.69 g) を得た。

【0095】

4, 10 - ビス { [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルカルバモイル] メチル } - 1, 7 - ビス (tert - ブトキシカルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカンの合成

4, 10 - ビス (tert - ブトキシカルボニルメチル) - 1, 4, 7, 10 - テトラアザシクロドデカン - 1, 7 - 二酢酸 (60.0 mg) を無水ジクロロメタン (5.0 mL) と無水ジメチルホルムアルデヒド (1.0 mL) に溶解させ、無水トリエチルアミン (132 μL)、エチル - (ジメチル) - カルボジイミド (89.4 mg)、ハイドロキシベンゾトリアゾール (71.4 mg)、2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルアミン二塩酸塩 (112.8 mg) を加え、アルゴン気流下で攪拌した。48時間後、クロロホルムを加え、精製水で激しく洗い、減圧下溶媒留去し得られた残渣を、メタノールで再結晶し、標題化合物 (32.3 mg) を得た。

【0096】

4, 10 - ビス { [2 - (2 - メチル - 5 - ニトロイミダゾール - 1 - イル) エチルカル

10

20

30

40

50

バモイル]メチル}-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,7-二酢酸の合成

4,10-ビス{[2-(2-メチル-5-ニトロイミダゾール-1-イル)エチルカルバモイル]メチル}-1,7-ビス(tert-ブトキシカルボニルメチル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(17.0mg)を濃塩酸に溶解させ、室温にて攪拌した。2時間攪拌後、減圧下溶媒留去し、得られた残渣を少量のメタノールに溶解させ、ジエチルエーテルで固体化した後、真空乾燥し、標題化合物(14.0mg)を得た。

【0097】

[⁶⁷Ga]Ga-DOTA-(メトロニダゾール)₂の合成

10

4,10-ビス{[2-(2-メチル-5-ニトロイミダゾール-1-イル)エチルカルバモイル]メチル}-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,7-二酢酸(7μg)を0.2M酢酸アンモニウム緩衝液(pH5.8)(198μL)で溶解させ、[⁶⁷Ga]塩化ガリウム(富士フィルムRIファーマ)(2μL)を添加し、95℃で60分間、加熱した。反応混合物を逆相カラム(COSMOCIL 5C18-PAQ 4.6×250mm)を用いて分離精製した。分離精製後、減圧下で分取溶液の溶媒を留去し、乾固させた。

【0098】

ニトロイミダゾールの誘導体の連結基として二官能性配位子やカルボニル化合物等を導入し金属錯体からなる化合物3を用いて、実施例2の試験と同じ方法で、インビトロ試験を実施した。また、バクテロイデス・フラジリスの生存菌量を0.43×10⁸CFU/mLから6.75×10⁸CFU/mLの範囲で設定した各生存菌量において、37℃、120分間加熱による化合物3の取り込み率を求めた。

20

【0099】

化合物3は、通性嫌気性菌より偏性嫌気性菌に多く取り込まれることを見出した(図6)。また、化合物3は偏性嫌気性菌の生存菌数に相関して取り込み率が増加した(図7)。

【0100】

ニトロイミダゾール誘導体の連結基として二官能性配位子やカルボニル化合物等を導入し金属錯体からなるニトロイミダゾール誘導体は、ニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ微生物の生存菌数を測定できる体外または体内の放射性診断薬として実施できることを確認した。すなわち、用途に応じて金属錯体を変えることで、放射性診断薬、核磁気共鳴の造影剤、X線造影剤等に利用することができる。

30

【0101】

実施例5

皮下感染症ラットモデルを用いてインビボ試験を実施した。ニトロイミダゾール誘導体は化合物1、又は化合物2を用いた。微生物は、メトロニダゾール感受性であるバクテロイデス・フラジリス(ATCC25285、NCTC10581)の2株、又はメトロニダゾール非感受性である大腸菌(ATCC25922)を用いた。雄性SDラット6週齢の左大腿皮下に、生理食塩液に懸濁した細菌5×10⁹cfu/0.1mlを投与し、その4日後に評価に用いた。化合物1、又は化合物2を外頸静脈から約0.74MBq投与し、3時間後に採血し、組織を摘出した。また、感染症モデルの炎症の評価のため、炎症の放射性診断薬である[⁶⁷Ga]クエン酸ガリウム(富士フィルムRIファーマ)を採血6.5時間前に外頸静脈から約0.15MBq投与した。感染組織中の生存細菌は、感染皮膚組織の一部を培地に擦り、培養により確認した。血液、感染部位皮膚、非感染部位皮膚の⁶⁷Gaおよび¹²⁵Iの各々の放射能(cpm)を測定した。¹²⁵Iの放射能の測定は、⁶⁷Gaの放射能を減衰させてから測定を行った。各組織の集積量、%ID/g(投与放射能に対する組織重量あたりの放射能の割合)を算出した。

40

【0102】

皮下感染症ラットモデルの[⁶⁷Ga]クエン酸ガリウムの集積は、感染部位皮膚集積量

50

ノ血液値で、バクテロイデス・フラジリス (ATCC 25285) : 1.75 ± 0.2 、バクテロイデス・フラジリス (NCTC 10581) : 1.89 ± 0.4 、大腸菌 : 1.73 ± 0.7 、非感染部位皮膚集積量ノ血液 : 0.41 ± 0.06 で、細菌による炎症が認められた。[^{67}Ga]クエン酸ガリウムによる炎症評価は各細菌における炎症に差は認められなかった。

【0103】

皮下感染症ラットモデルの結果を図8に示した。メトロニダゾール非感受性の大腸菌による感染部位とくらべ、メトロニダゾール感受性のバクテロイデス・フラジリスの感染部位に選択的な集積を示した。このインビボ試験においても、インビトロ試験と一致した結果を得ることができた。この実施例より、例えば、ニトロイミダゾール誘導体はニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ微生物の感染症画像診断法の診断薬として実施することができる。

10

【0104】

実施例6

生存微生物が関与しない炎症モデルを用いて、化合物1、又は化合物2の集積評価を実施した。盲腸内容物の約半分は、細菌かその死骸によって構成されている。その構成菌のほとんどは偏性嫌気性菌である。ラットの盲腸内容物をGAM培地で8倍に希釈し、それをガーゼによりろ過した後、その盲腸内容物をオートクレーブ(121、2時間)により滅菌した。滅菌した盲腸内容物は培養法により滅菌されていることを確認した。滅菌盲腸内容物0.1mLを大腿皮下に投与し、その4日後に試験に用いた。化合物1、又は化合物2を外頸静脈から約0.74MBq投与し、3時間後に採血し、組織を摘出した。また、炎症の確認のため、炎症の放射性診断薬である[^{67}Ga]クエン酸ガリウム(富士フィルムRIファーマ)を採血6.5時間前に外頸静脈から約0.15MBq投与した。血液、炎症側皮膚の ^{67}Ga および ^{125}I の各々の放射能(cpm)を測定した。 ^{125}I の放射能の測定は、 ^{67}Ga の放射能を減衰させてから測定を行った。各組織の集積量、%ID/g(投与放射能に対する組織重量あたりの放射能の割合)を算出した。

20

【0105】

滅菌盲腸内容物皮下炎症モデルの[^{67}Ga]クエン酸ガリウムの集積は、炎症部位皮膚集積量ノ血液値で、 1.61 ± 0.16 で、正常皮膚より[^{67}Ga]クエン酸ガリウムの集積が認められ、炎症が確認された。

30

【0106】

化合物1の集積は、炎症部位皮膚集積量ノ血液値で、 0.85 ± 0.25 、及び化合物2の集積は 0.73 ± 0.11 で、バクテロイデス・フラジリスの感染部位より低値であった。この結果により、ニトロイミダゾール誘導体は、ニトロイミダゾール構造を含む抗微生物薬に感受性を持つ生存している微生物に集積することが確認できた。例えば、生存微生物を非侵襲的に短時間で測定することにより、抗微生物薬の短期使用に役立つ等、新しい診断薬として実施することができる。

【0107】

実施例7

ニトロイミダゾール誘導体は分裂休止期(嫌気的環境下)における抗酸菌に対しても抗菌活性が認められる特徴を有している。ニトロイミダゾール誘導体である化合物2の抗酸菌への取り込みについて評価した。ニトロイミダゾール感受性抗酸菌は、ウシ型弱毒結核菌(*Mycobacterium bovis* BCG, ATCC 35734)を使用した。ニトロイミダゾール非感受性菌は、通性嫌気性菌である大腸菌(*Escherichia coli*, ATCC 25922)を使用した。化合物2の嫌気的環境下におけるウシ型弱毒結核菌及び大腸菌への取り込みについて比較した。ウシ型弱毒結核菌は、ミドルブルック7H9ブロス中、37で培養を行い、使用前にメンブランフィルター50 μm により菌塊を取り除いたものを実験に使用した。大腸菌(ATCC 25922)に関しては、実施例1の方法により調整した。本実験は、高圧蒸気滅菌(121、15分)処理により脱気したリン酸緩衝生理食塩水(2%DMSO及び0.05%ポリソルベート80

40

50

含有)中で行った。また、細菌を取り扱う時は、窒素ガスを充填させた環境下で扱った。大気中で作業する際は、大気中の酸素が溶け込まないように細菌の入った容器を密封し実施した。

【0108】

試験管に、化合物2を最終濃度0.1mM、各細菌をマクファーランド3~4になるようにリン酸緩衝生理食塩水に氷冷しながら加えた。試験管を攪拌した後、水浴37℃で各設定時間までインキュベートした。インキュベート後、直ちに氷冷し、遠心分離(3000rpm、20分、4℃)により細菌を分離し、上清を得た。その上清をろ過滅菌フィルター(ポアサイズ200nm)でろ過し、化合物2を325nmの吸光度で測定した(上清吸光度)。また、化合物2を添加していない細菌のみの溶液を各設定時間までインキュ

10

【0109】

取り込み率(%)を以下の式で求めた。

$$\text{取り込み率}(\%) = 100 - (B / A \times 100)$$

A: ニトロイミダゾール誘導体の最終濃度の吸光度

B: (上清吸光度) - (バックグランド吸光度)

各インキュベート時間における生存菌量(コロニー形成単位)は、ウシ型弱毒結核菌はミルブルック7H11寒天培地、大腸菌はミュラーヒントン寒天培地を用いて、定量培養法により求め、 10^7 コロニー形成単位(CFU)当たりの取り込み率を求めた。結果を図9に示す。

20

【0110】

ニトロイミダゾール誘導体である化合物2は、嫌気的環境下において、ニトロイミダゾール誘導体に非感受性である大腸菌よりも、感受性であるウシ型弱毒結核菌に明らかに多く取り込まれることを見出した。この新知見を利用することにより、例えば、化合物2を用途に応じた放射性核種で標識することで、結核感染症の体外または体内の放射性診断薬として実施することができる。特に、分裂休止期の結核菌を検出でき、分裂休止期の結核菌に対する治療効果判定や潜在性結核症等の画像診断薬として有効である。

【0111】

実施例8

画像診断薬の研究に多く用いられているFMISOを用いて、ニトロイミダゾールに感受性のある抗酸菌における取り込みについて評価した。ニトロイミダゾール感受性抗酸菌は、ウシ型弱毒結核菌(ATCC35734)を使用した。ウシ型弱毒結核菌は、ミドルブルック7H9ブロス中、37℃で培養を行い、使用前にメンブランフィルター50μmにより菌塊を取り除いたものを実験に使用した。本実験は、高圧蒸気滅菌(121℃、15分)処理により脱気したリン酸緩衝生理食塩水(0.05%ポリソルベート80含有)中で行った。また、細菌を取り扱う時は、窒素ガスを充填させた環境下で扱った。大気中で作業する際は、大気中の酸素が溶け込まないように細菌の入った容器を密封し実施した。

30

【0112】

試験管に、 $[^{19}\text{F}]$ FMISOを最終濃度0.09mM、ウシ型弱毒結核菌をマクファーランド3~4になるようにリン酸緩衝生理食塩水に氷冷しながら加えた。試験管を攪拌した後、水浴37℃で各設定時間までインキュベートした。インキュベート後、直ちに氷冷し、遠心分離(3000rpm、20分、4℃)により細菌を分離し、上清を得た。その上清をろ過滅菌フィルター(ポアサイズ200nm)でろ過し、 $[^{19}\text{F}]$ FMISOを322nmの吸光度で測定した(上清吸光度)。また、 $[^{19}\text{F}]$ FMISOを添加していない細菌のみの溶液を各設定時間までインキュベートして得られた上清の吸光度(バックグランド吸光度)とした。

40

【0113】

取り込み率(%)は実施例7と同様の方法により求めた。

結果を図10に示す。なお、比較のため実施例1の大腸菌に対する $[^{19}\text{F}]$ FMISO

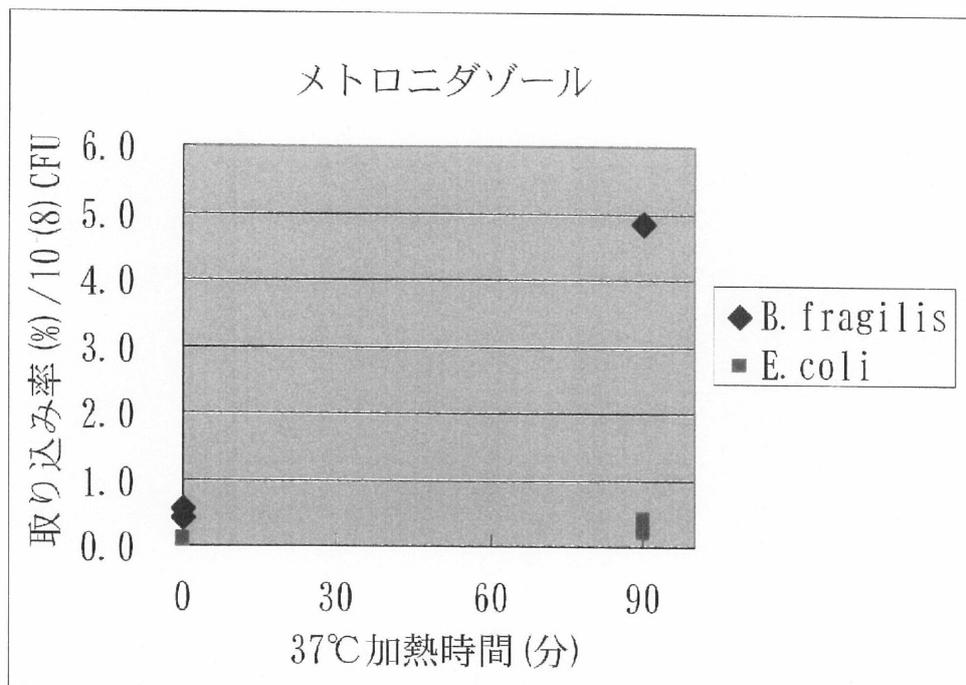
50

Oの取り込み結果も図10に重ねて記載した。

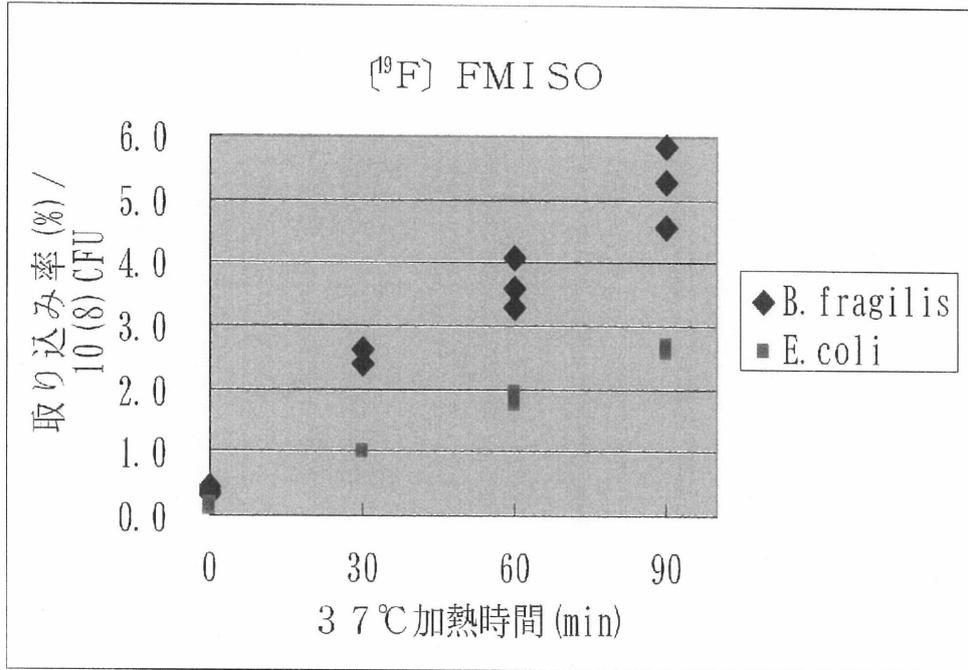
【0114】

[^{19}F] FMISOは、嫌気的環境下において、ニトロイミダゾール誘導体に非感受性である大腸菌よりも、感受性のある分裂休止期の結核菌に多く取り込まれることを見出した。この新知見を利用することにより、例えば、FMISOを用途に応じた放射性核種で標識することで、陽電子放射断層撮影装置(PET)及び核磁気共鳴装置又は類似の手段による非侵襲的な診断法により、分裂休止期の結核菌を検出でき、分裂休止期の結核菌に対する治療効果判定や潜在性結核症等の画像診断薬として実施することができる。

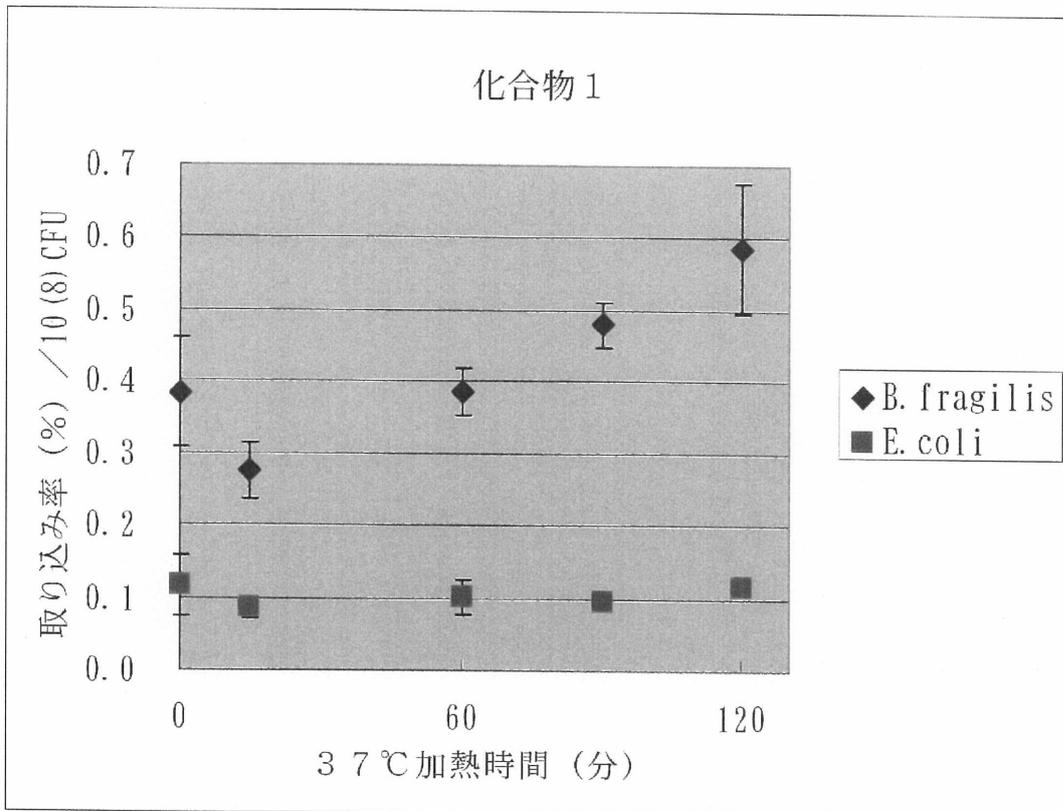
【図1】



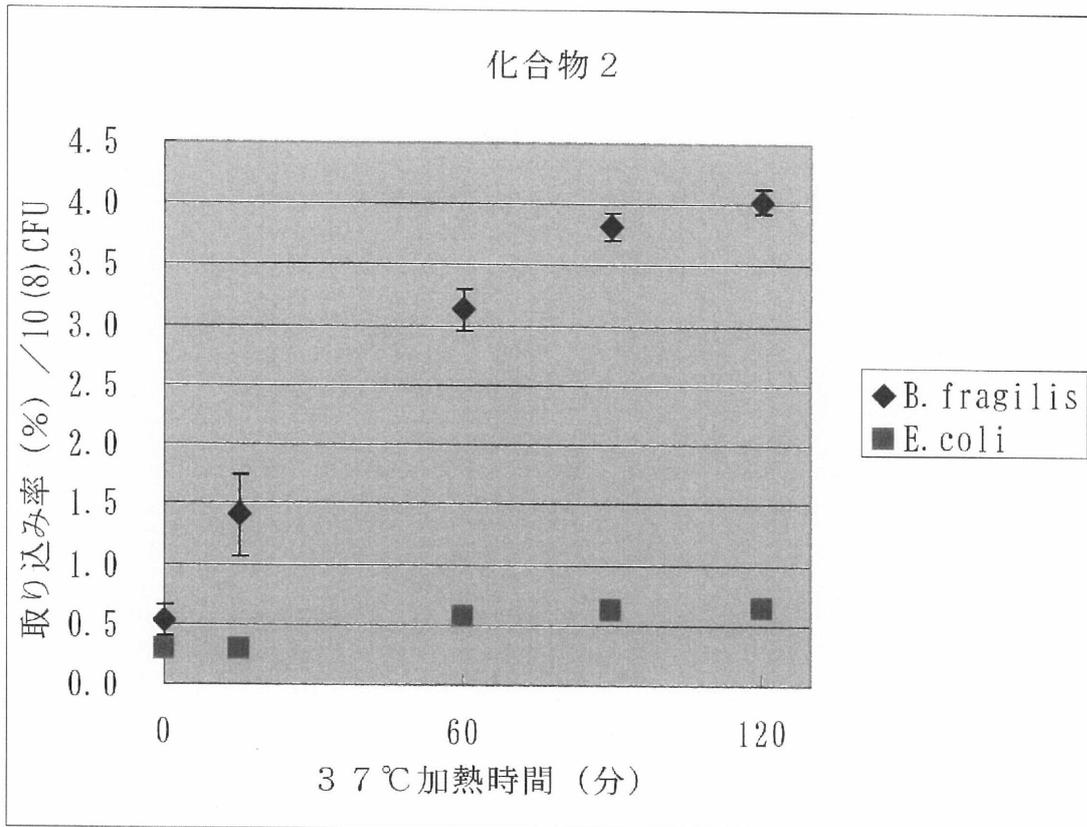
【 図 2 】



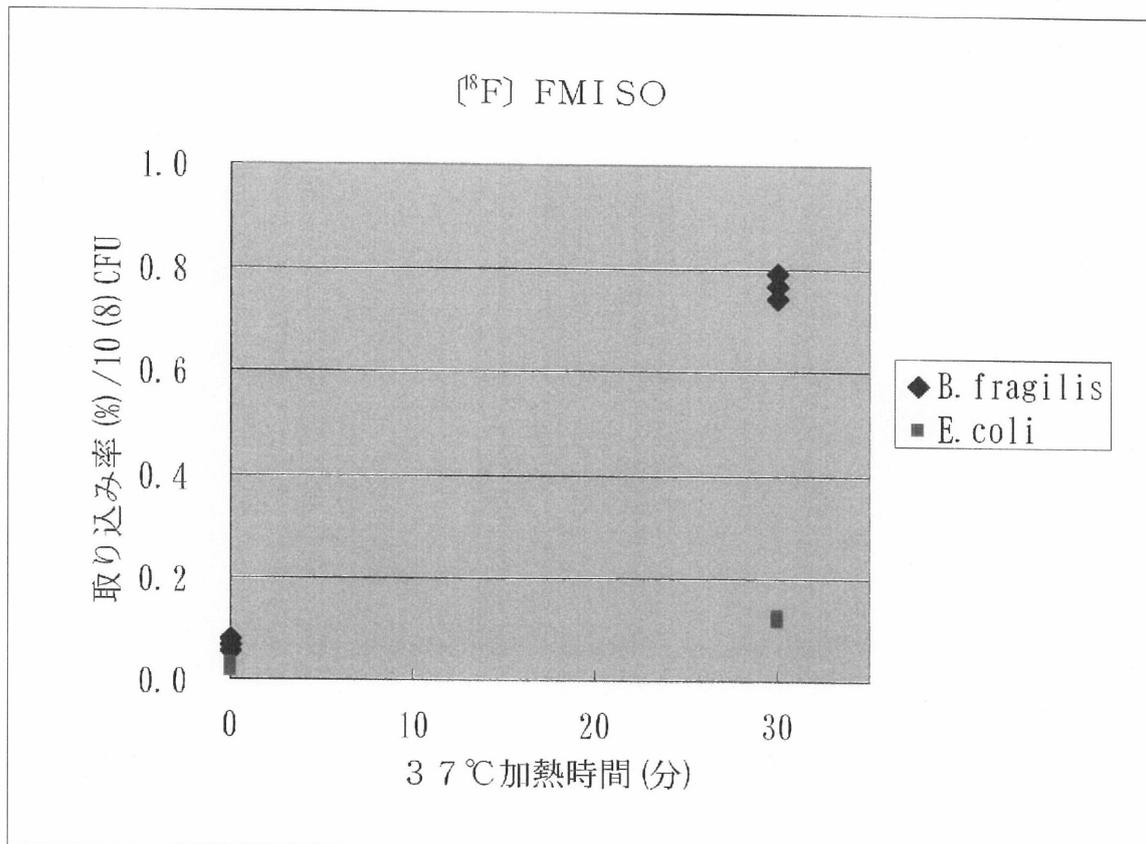
【 図 3 】



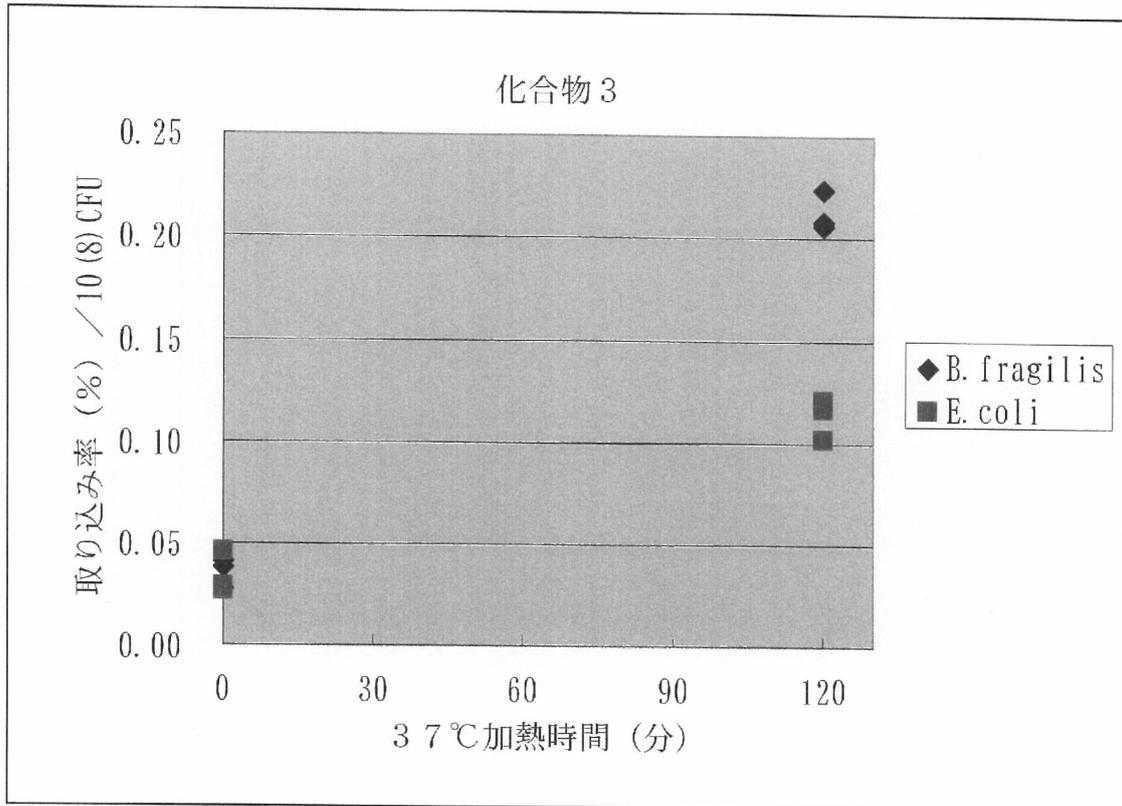
【 図 4 】



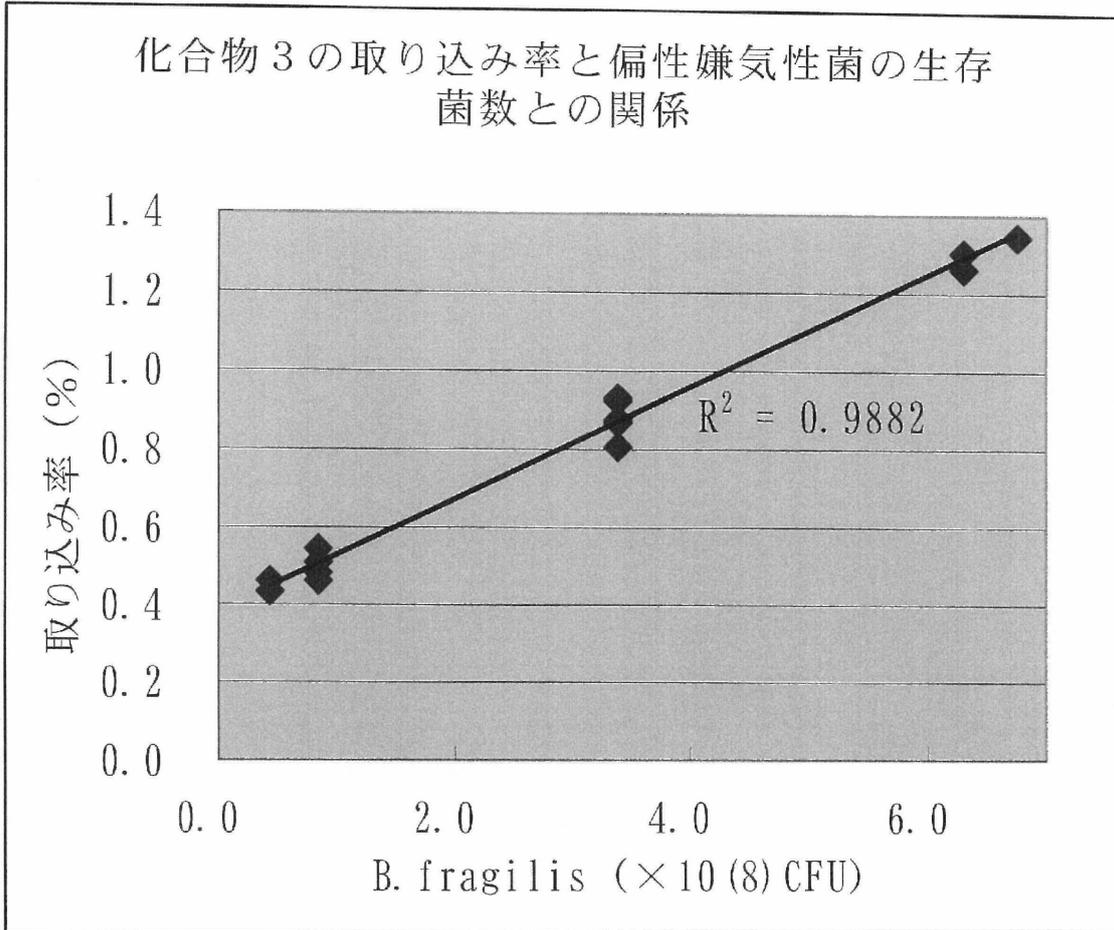
【 図 5 】



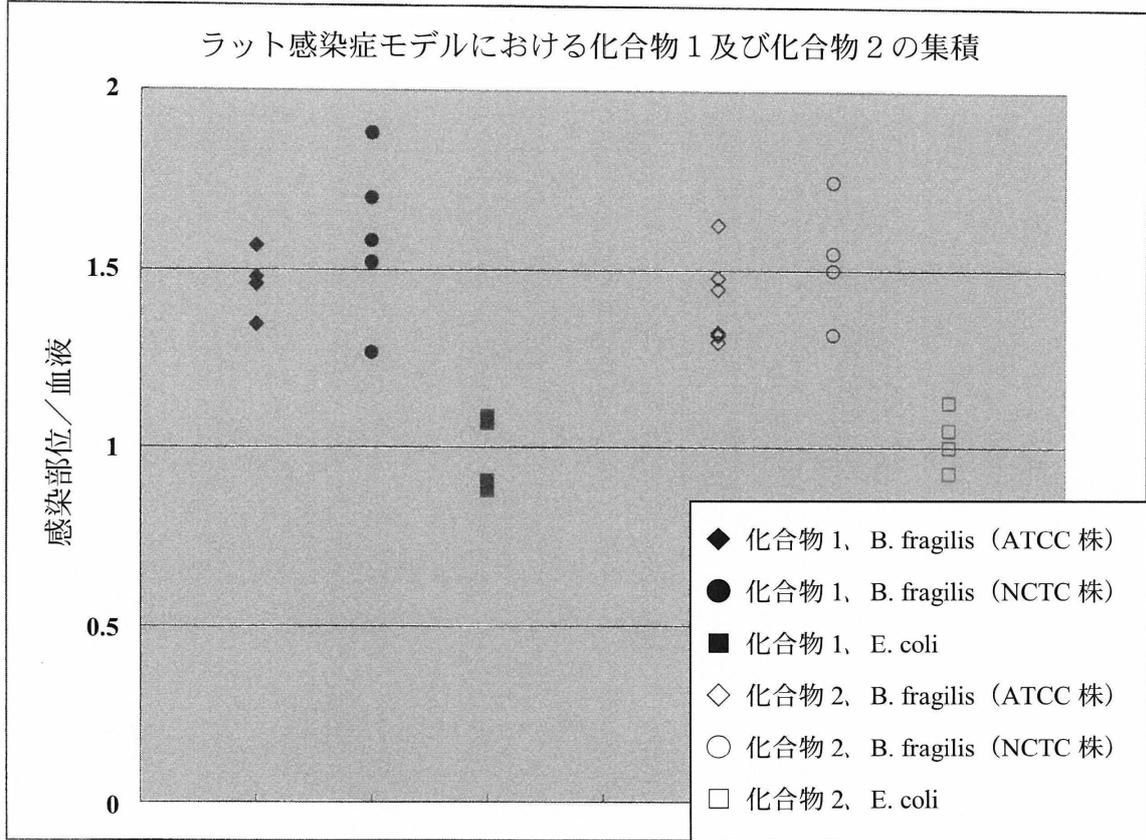
【図6】



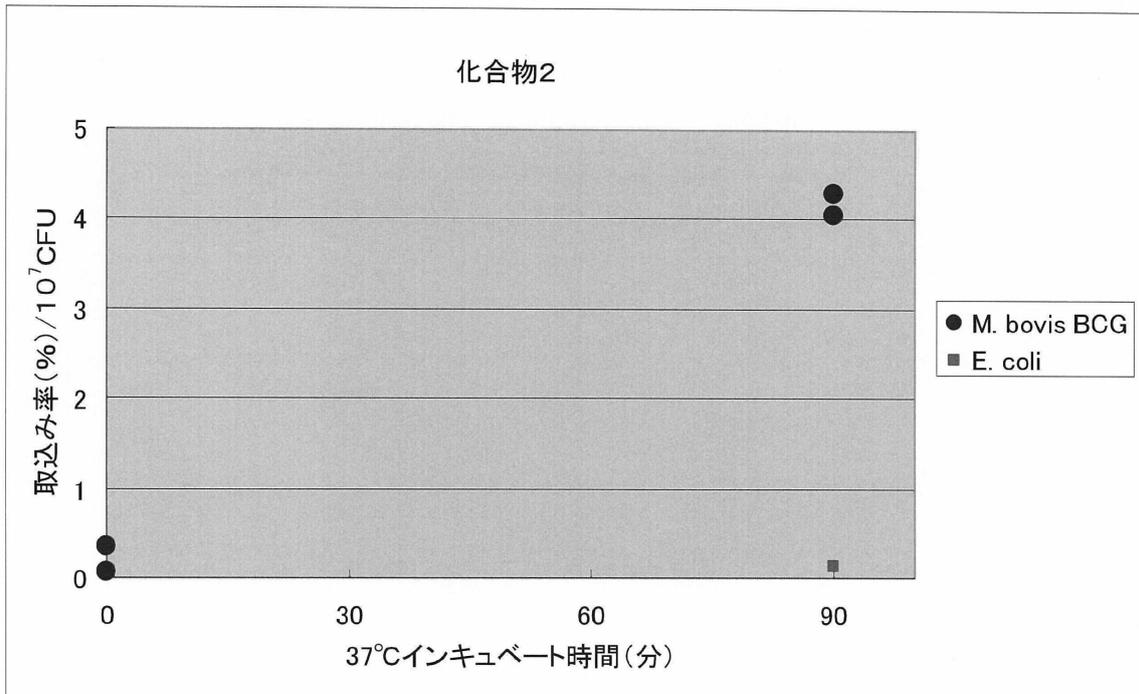
【図7】



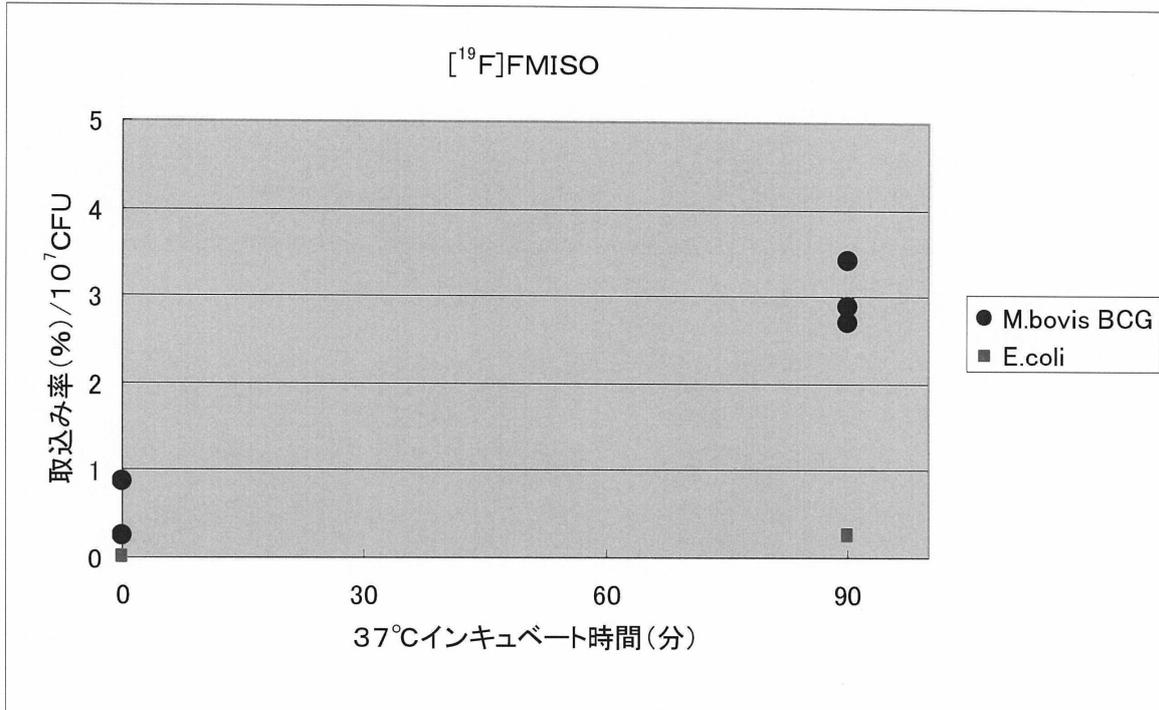
【 図 8 】



【 図 9 】



【図10】



フロントページの続き

(72)発明者 櫻井 和久

千葉県山武市松尾町下大蔵453-1 富士フィルムR Iファーマ株式会社内

(72)発明者 長埜 朗夫

千葉県山武市松尾町下大蔵453-1 富士フィルムR Iファーマ株式会社内

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 特表2003-509413(JP,A)

特表2008-505936(JP,A)

特表2003-507354(JP,A)

Liu RS et al, Detection of anaerobic odontogenic infections by fluorine-18 fluoromisonidazole, Eur J Nucl Med, 1996年10月, 23(10), 1384-1387

Rossouw DD et al, Radiosynthesis and evaluation of two novel 123I-labeled 2-methyl-4-nitroimidazole derivatives as potential infection imaging agents, Nucl Med Biol, 2005年5月, 32(4), 385-394

Aly S et al, Oxygen status of lung granulomas in Mycobacterium tuberculosis-infected mice, J Pathol, 2006年11月, 210(3), 298-305

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/50-33/98

C12Q 1/04

G01N 33/15

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)