



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 200944239 A1

(43)公開日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：098107446

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl.: A61K51/08 (2006.01)

(30)優先權：2008/03/07 歐洲專利局 08075180.3

(71)申請人：瑞士巴塞爾大學醫院(瑞士) (CH)

瑞士

瑞士伯恩大學(瑞士) (CH)

瑞士

(72)發明人：梅可 海莫 MAECKE, HELMUT (DE)；魯比 尚 克勞德 REUBI, JEAN CLAUDE (CH)；曼西 羅賽巴 MANSI, ROSALBA (IT)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：10 共 112 頁

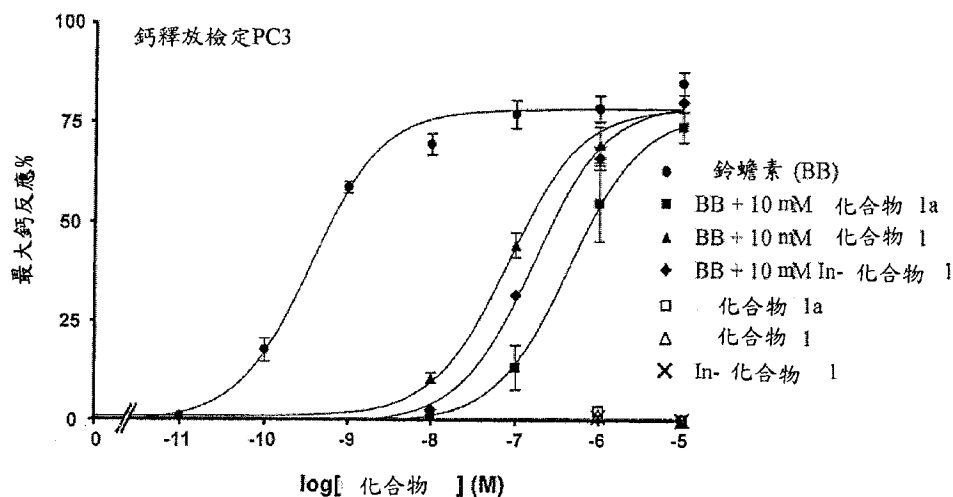
(54)名稱

鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物

BOMBESIN ANALOG PEPTIDE ANTAGONIST CONJUGATES

(57)摘要

本發明提供一種診斷及治療藥物，其為具有通式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中 A 為包含至少一種放射性核種金屬之金屬螯合劑，B 為連接至 C 之 N-末端之間隔基或共價鍵且 C 為具有如所主張之序列的鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中 x 進一步為 1 至 3 之整數且 n 為 1 至 6 之整數。(I)[A-(B)_n]_x-C





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 200944239 A1

(43)公開日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：098107446

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl. : *A61K51/08 (2006.01)*

(30)優先權：2008/03/07 歐洲專利局 08075180.3

(71)申請人：瑞士巴塞爾大學醫院(瑞士) (CH)

瑞士

瑞士伯恩大學(瑞士) (CH)

瑞士

(72)發明人：梅可 海莫 MAECKE, HELMUT (DE)；魯比 尚 克勞德 REUBI, JEAN CLAUDE (CH)；曼西 羅賽巴 MANSI, ROSALBA (IT)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：10 共 112 頁

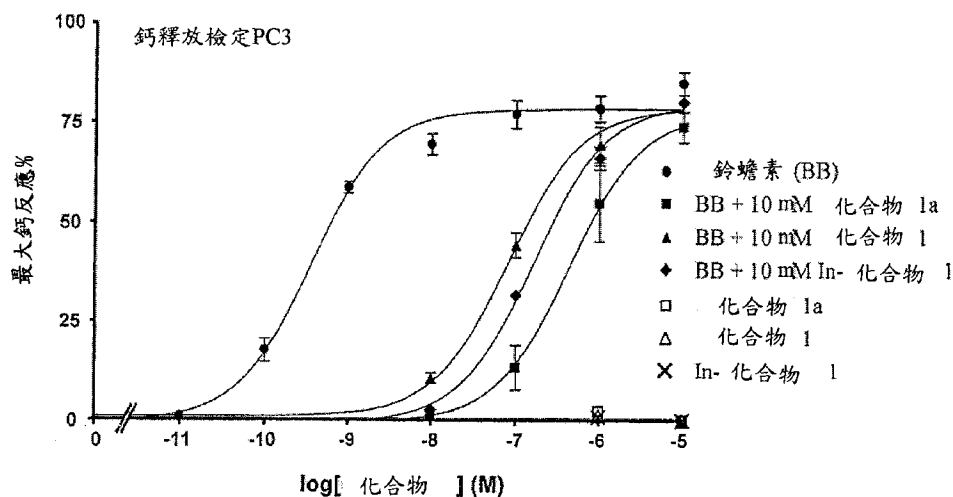
(54)名稱

鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物

BOMBESIN ANALOG PEPTIDE ANTAGONIST CONJUGATES

(57)摘要

本發明提供一種診斷及治療藥物，其為具有通式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中 A 為包含至少一種放射性核種金屬之金屬螯合劑，B 為連接至 C 之 N-末端之間隔基或共價鍵且 C 為具有如所主張之序列的鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中 x 進一步為 1 至 3 之整數且 n 為 1 至 6 之整數。(I)[A-(B)_n]_x-C



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於治療或診斷/成像放射性藥物，其製備及其用途，其中該治療或診斷放射性藥物係定義為對於鈴蟾素受體有親和力且能夠與鈴蟾素受體結合且更特定言之與胃泌素釋放胜肽(GRP)受體結合之結合部分。將結合部分以 α -、 β -、 γ -及正電子發射同位素標記至金屬錯合基團。該用途包括治療患有贅生性疾病之個體，其包含以下步驟：向個體投與有效量之具有與螯合基螯合之金屬的治療放射性藥物，該螯合基連接至能夠與在腫瘤細胞上過度表現之鈴蟾素受體，且更特定言之，胃泌素釋放胜肽(GRP)受體結合之部分。該用途包括使用具有與螯合基螯合之金屬的診斷/成像放射性藥物來診斷患有贅生性疾病之個體或使該個體成像，該螯合基連接至能夠與在腫瘤細胞上過度表現之鈴蟾素受體，且更特定言之，胃泌素釋放胜肽(GRP)受體結合之部分。該方法係由以下步驟組成：自由與能夠結合鈴蟾素受體，且更特定言之，胃泌素釋放胜肽(GRP)受體之部分共價連接之金屬螯合基組成的前驅體化合物形成治療或診斷化合物。

【先前技術】

在設計用作診斷劑之有效放射性藥物示蹤劑時，藥物具有適當的活體內靶向及藥物動力學性質為必要的。Fritzberg等人，(1992, J. Nucl. Med., 33:394)進一步指出放射性核種化學及相關鍵聯強調對於最優化生物分子載劑之

連接及標記化學修飾的需要。因此，放射性核種之類型、生物分子之類型及用於將其相互連接之方法可對放射性示蹤劑性質具有關鍵作用。

胜肽係在許多生理過程中起關鍵作用(包括起神經傳遞質、激素及抗生素作用)的生物分子。研究已顯示其在諸如神經科學、免疫學、藥理學及細胞生物學之領域中的重要性。一些胜肽可充當化學信使。其與靶細胞表面上之受體結合且將配位體之生物效應傳遞至靶組織。因此，該配位體之特異性受體結合性質可藉由用放射性核種標記配位體而得以利用。理論上，配位體對於受體之高親和力有助於使放射性標記之配位體保留在受體表現組織中。然而，仍在研究何種胜肽可有效地經標記且該標記應在何種條件下進行。熟知配位體胜肽之受體特異性可在化學反應期間改變。因此，必須確定最佳胜肽構築體。

腫瘤過度表現胜肽所特異性結合之多種受體類型。以下公開案：Boerman等人，*Seminar in Nuclear Medicine*, 2000, 30(3), 195)；Reubi等人*J. Nucl. Med.*, 2005, 46,(增刊)67S；Reubi, J.C., *Endocrine Reviews*, 2003, 24(4), 389提供特異性結合至贅瘤中之細胞表面受體之胜肽的不完全列表，亦即，生長抑素、血管活性腸胜肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、結合至胃泌素釋放胜肽(GRP)受體之鈴蟾素、胃泌素、膽囊收縮素(CCK)及降血鈣素。

金屬標記之受體特異性胜肽對於閃爍攝影成像及放射性療法之潛在效用係藉由生長抑素類似物(例如分別為 ^{111}In -

DTPA共軛之奧曲肽(Octreotide)，其為一種FDA核准之診斷成像劑；Octreoscan®，由Covidien在美國銷售(Lowbertz等人，*Seminars in Oncology*, 1994, 1)及Reubi等人，*J. Nucl. Med.*, 2005, 46, 67S-75S及其中之文獻)來例示。奧曲肽及其類似物已共價連接至若干成像金屬同位素(^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{68}Ga)及治療金屬同位素(^{105}Rh 、 $^{186/188}\text{Re}$ 、 ^{153}Sm 、 ^{90}Y 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu)。經金屬標記之共軛物特異性結合至受體，且一旦結合至受體，構築體即藉由受體而內在化且經金屬標記之受體特異性胜肽或其代謝物在靶細胞中被捕獲。

上述原則進一步擴展至GRP受體avid胜肽(對受體具有高親和力之胜肽)，其中將金屬共軛之鈴蟾素促效劑用於閃爍攝影成像及放射性療法。(Smith等人，*Anticancer Res.*, 23 (2003), 63-70；Baidoo等人，*Bioconjug. Chem.*, 9 (1998), 218-225；Gali等人，*Bioconjug. Chem.*, 12 (2001), 354-363；Smith等人，*Bioconjug. Chem.*, 14 (2003), 93-102, *Cancer Res.*, 63 (2003), 4082-4088；Rogers等人，在M. Nicolini及U. Mazzi編輯之*Technetium, rhenium and other metals in chemistry and nuclear medicine*, SGE Editoriali, Italy (1999), 519-525中；Zhang等人，*Cancer Res.*, 64 (2004), 6707-6715；Lantry等人，*EANM*, Helsinki (Finland) (2004)；Linder等人，*J. Nucl. Med.*, 45, (2004) (5), 169P [摘要482]。Chen等人，*J. Nucl. Med.*, 45 (2004), 1390-1397；Johnson等人，*Cancer Biother Radiopharm.* 2006,

21(2), 155-66, Smith等人, *Nucl. Med. Biol.*, 2005, 32 733-40)。

在Chen等人(*Appl. Radiat. Isot.*, 2007,(待刊)), Waser等人(*Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007 34, 95-100)及Lantry等人(*J. Nucl. Med.*, 2006, 47, 1144-52)中, 描述鈴蟾素促效劑(偶合至-NH-CH₂-CO-[4-胺基苯甲醯基]-QWAVGHLM-NH₂)之¹⁷⁷Lu-DOTA(¹⁷⁷Lu-AMBA))之成像及放射性療法。

若干專利及專利申請案涉及經金屬標記之鈴蟾素促效劑。Volkert等人(US 2007/0065362 A)主張具有通用結構(金屬標記部分-間隔基-鈴蟾素促效劑)之經金屬標記之鈴蟾素促效劑用於成像及治療用途。同一發明者之其他專利及專利申請案包括: US 6,921,526 B (2005)、US 7,060,247 B、US 7,147,838 B (2006)及WO 2002/087631 A1。

在所有上述公開案中選擇作為放射性藥物之促效劑的根本原則在於其藉由GRP受體對相互作用產生或引起反應, 其中放射性藥物隨後藉由內飲作用進入細胞內。GRP拮抗劑對抗促效劑之作用且並不進入細胞內且因此假定拮抗劑可能不太適用於放射性閃爍攝影成像及放射性治療目的。到目前為止共識為開發具有良好放射性配位體內在化性質之化合物, 造成似乎最佳化觀測及活體內放射性核種治療所需之腫瘤中放射性配位體的高活體內積累。自分子藥理學研究熟知有效內在化作用通常係主要由促效劑提供(Bodei等人, *J. Nucl. Med.*, 2006;47, 375-377; Koenig等

人, *Trends Pharmacol. Sci.*, 1997;18, 276-287; Cescato 等人, *J. Nucl. Med.*, 2006;47, 502-511; Ginja 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103, 16436-16441)且最近, 有證據顯示在生長抑素受體之情況下, 高親和力經金屬標記之生長抑素受體拮抗劑不良內在化至腫瘤細胞中且與大規模內在化之相應促效劑相比, 其在活體內吸收至動物腫瘤模型中之腫瘤方面效能相等或甚至更佳。GRP受體在諸如前列腺癌及癌轉移、乳癌及癌轉移、胃腸基質腫瘤、小細胞肺癌、腎細胞癌、胃腸胰神經內分泌腫瘤、頭部及頸部鱗狀細胞癌、神經母細胞瘤及食道鱗狀細胞癌之若干種贅瘤中過度表現(Cornelio等人, *Ann. Onco.*, 2007, 18, 1457-1466及其中之文獻)。GRP受體亦在人類卵巢癌、子宮內膜癌及胰腺癌之腫瘤相關血管中表現。(Fleischmann等人, *Cell Onc.*, 2007, 29, 421-33)。因此, 非常需要設計具有拮抗劑性質之有效放射性藥物用於成像及放射性療法。

Jensen 等人(*Pharma. Reviews*, 2008(待刊))最近評論了GRP受體屬於亞型2之三種不同鈐蟾素受體亞型的受體藥理學。

在最近Cescato等人(*J. Nucl. Med.*, 2008, 49, 318-26)之公開案中證明對於腫瘤靶向而言經 ^{99m}Tc -N₄-標記之鈐蟾素拮抗劑可優於促效劑。

GRP-受體靶向化合物領域中之先前發明在WO 2007/109475 A2、WO 2007/095443 A2、US 2008/0008649 A1及US 7,226,577 B2中描述, 其中金屬螯合-連接子-鈐蟾

素具有以下所示之通用方案：

金屬-螯合劑-連接子-鈴蟾素類似物。

根據 WO 2007/095443 A2，具有特定序列 ^{177}Lu -DOTA-Gly-4-胺基苯甲醯基-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂之L70樣品係用作促效劑，其中量測1及24小時時之吸收。吸收對於治療目的而言不理想且需經改良。

除此等專利及申請案以外，在以下公開案中包括臨床前及臨床研究(Waser等人，*Eur. J. Nucl. Medicine*, 2007, 34, 95-100；*J. Nucl. Med.*, 2006, 47, 1144-52)。

依靠選擇以高親和力在不同位點靶向GPR受體之拮抗劑，本發明展示間隔基策略之組合得到意想不到之高及持續之腫瘤吸收同時在非靶器官中低吸收且快速清除。在一比較研究中，當使用類似連接子時，觀察到在腫瘤中的顯著較高吸收(>2 X)。由確認鈴蟾素類似物之拮抗性質的活體外檢定開始，發現甚至在添加N-末端之間隔基、螯合劑及金屬之後，此等拮抗作用仍得以保留且將其轉化(translate)為優異的關於腫瘤:背景比率之活體內特性。

【發明內容】

因此，本發明之一目標為提供展示高吸收及高活體內穩定性(人類血清及組織)之新穎鈴蟾素胜肽拮抗劑共軛物。

在第一態樣中，本發明係關於選擇性結合至鈴蟾素受體(且更特定言之GRP受體)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，當在此兩種系統中拮抗促效劑誘發之作用時，其不觸發進入細胞之內在化且不經由鈣動員來發送信號，其中該

鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物具有通式(I)：



其中

x為1至3之整數，

n為1至6之整數，

A為包含至少一種放射性核種金屬之金屬螯合劑，較佳適用於診斷或治療用途，更佳適用於成像或放射性療法，

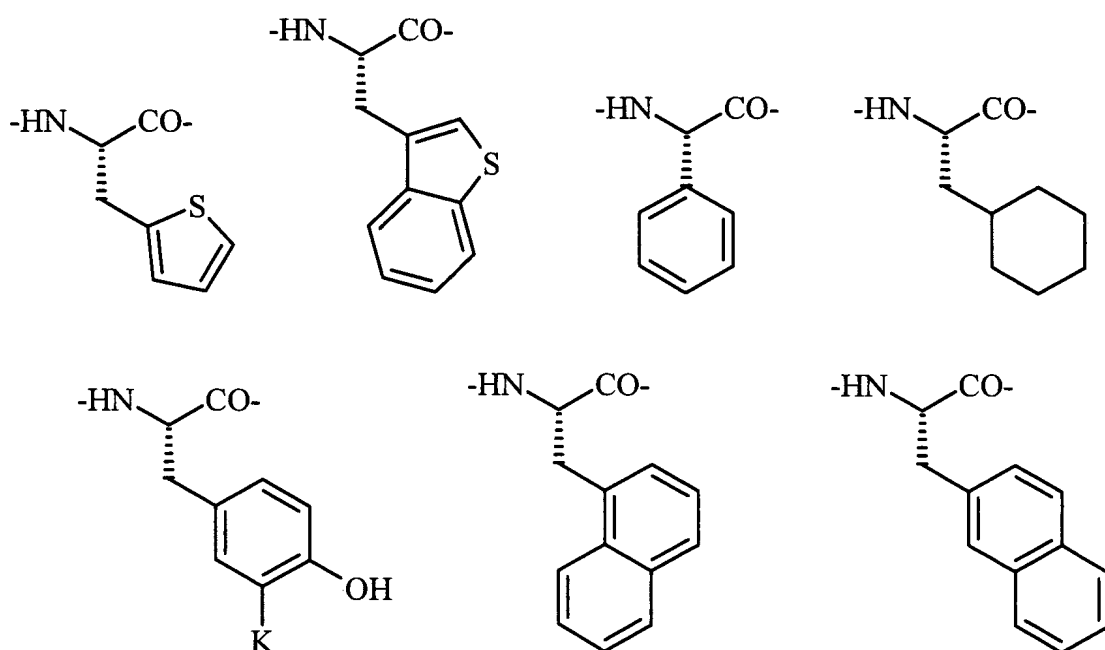
B為連接至C之N-末端之間隔基或一共價鍵，

C為序列C-1至C-4之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中

C-1: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₃¹³-Xaa₄¹⁴-ZH，

其中

Xaa₁為D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp或具有以下所述之式之任一者之殘基：



K為F、Cl、I或NO₂，

Xaa₂為 Gly 或 β-Ala，

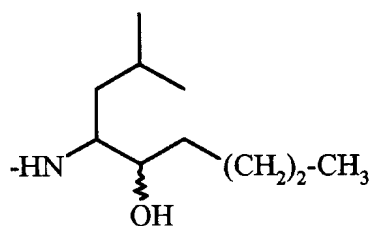
Xaa₃為抑制素(Statine)、抑制素類似物及異構體、4-Am,5-MeHpA、4-Am,5-MeHxA或α-取代胺基酸，

Xaa₄為 Leu、Cpa、Cba、CpnA、Cha、t-buGly、tBuAla、Met、Nle或異-Bu-Gly，且Z為NH或O；

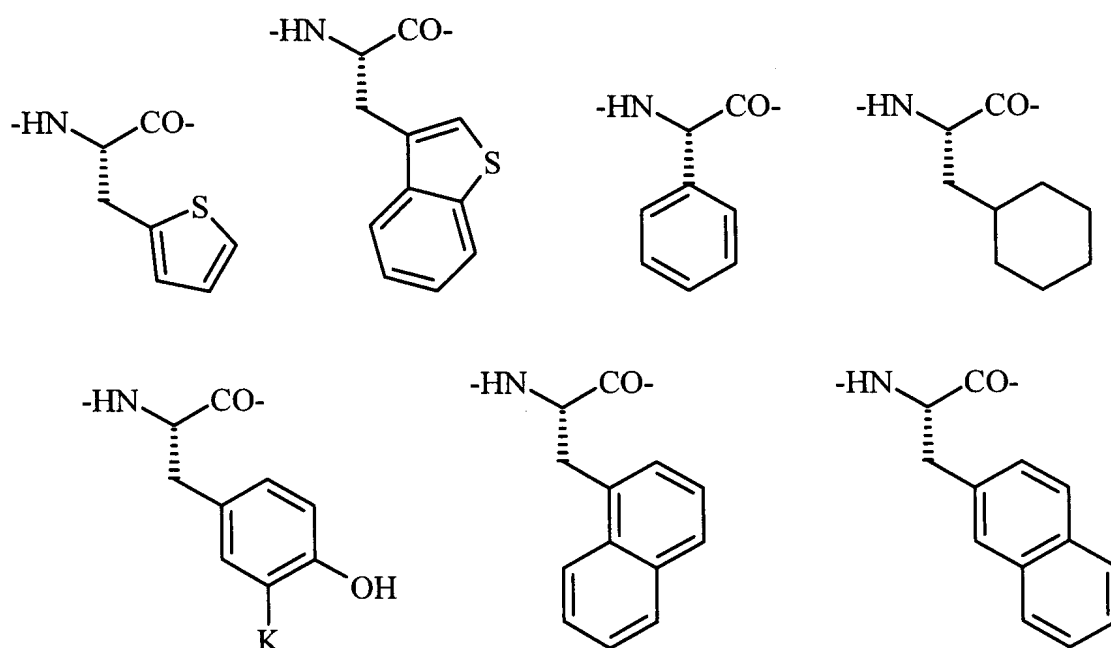
C-2:Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leuψ(CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃，

其中

Leuψ(CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃為



Xaa₁為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp或具有以下所述之式之任一者之殘基：



且

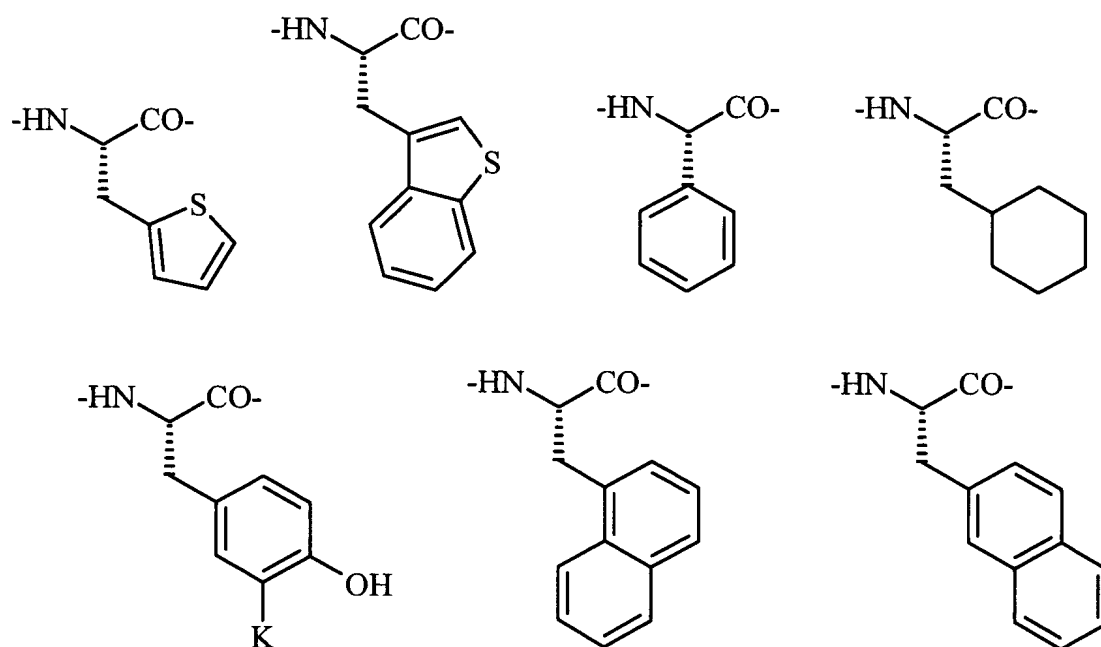
K 為 F、Cl、I 或 NO₂，

Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala；

C-3: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₅¹³-Xaa₆¹⁴-ZH，

其中

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基：



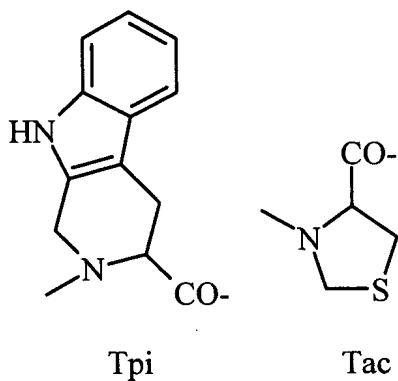
K 為 F、Cl、I 或 NO₂，

Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala，

Xaa₅ 為 Leuψ-CH₂NH-，

Xaa₆ 為 Cys、Phe、Trp、Tpi 或 Tac，

其中 Tpi 及 Tac 具有以下含義：



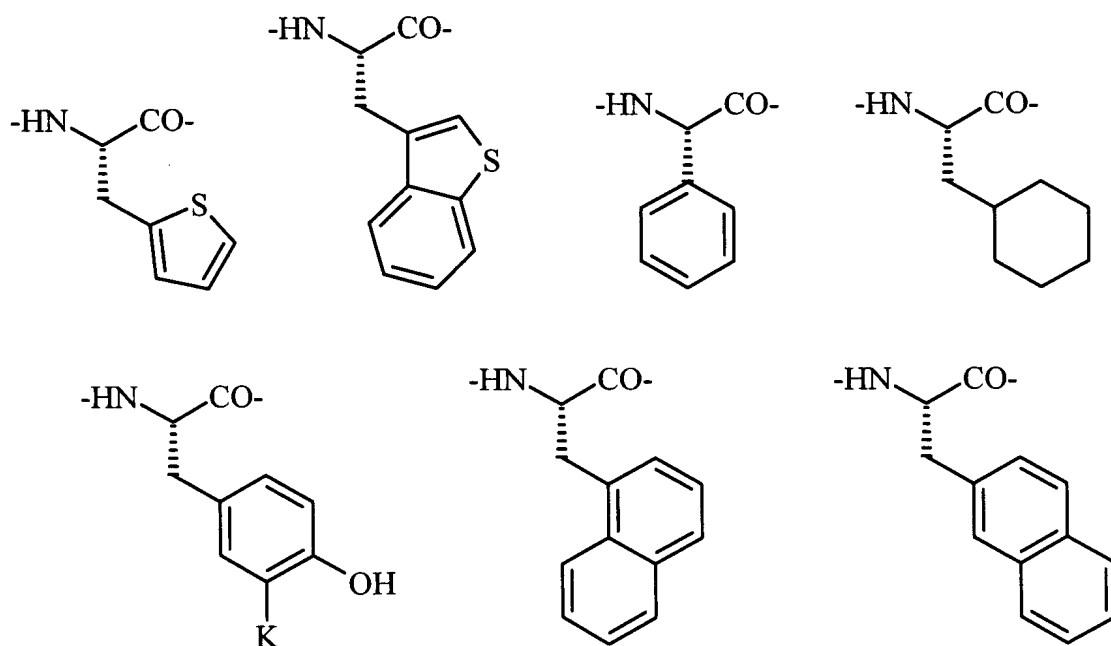
且

Z 為 NH 或 O ；

C-4: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₇ ,

其中

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基：



K 為 F、Cl、I 或 NO₂ ,

Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala ,

Xaa₇ 為 Leu-O-烷基或 Leu-NH-烷基。

本發明進一步係關於此等鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛

物之無機酸或有機酸的醫藥學上可接受之鹽，且進一步係關於具有通用化學式(I)之此等化合物的水合物、錯合物、酯、醯胺、溶劑合物及前藥。

描述 A(金屬螯合劑)：

在本發明之一較佳實施例中，金屬螯合劑(A)為三價金屬或五價金屬之金屬螯合劑及其相近類似物。

三價金屬之金屬螯合劑(A)較佳係選自包含以下各物之群：DOTA-、NODASA-、NODAGA-、NOTA-、DTPA-、EDTA-、TETA-及TRITA-基螯合劑及其相近類似物，

其中

DOTA表示1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N'',N'''四乙酸，

DTPA表示二伸乙三胺五乙酸，

EDTA表示乙二胺-N,N'-四乙酸，

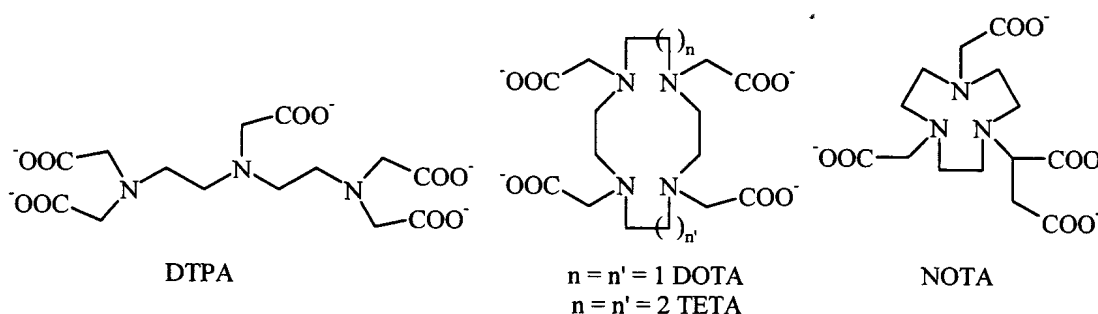
TETA表示1,4,8,11-四氮雜環十二烷-1,4,8,11-四乙酸，且

NOTA表示1,4,7-三氮雜環壬烷三乙酸。

三價金屬之金屬螯合劑(A)更佳係選自包含以下各物之群：

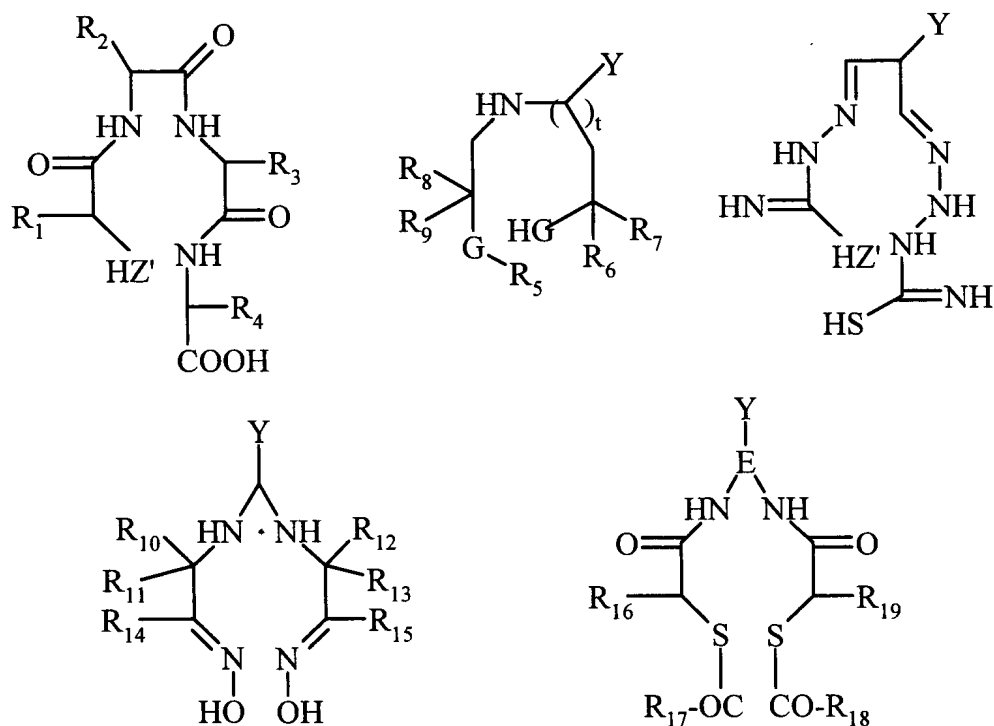
DOTA-、NOTA-、DTPA-及TETA-基螯合劑及其相近類似物。

如下展示此等螯合配位體之完全去質子形式之結構。



三價金屬之金屬螯合劑(A)甚至更佳係選自包含以下各物之群：DTPA(二伸乙三胺五乙酸)及多氮雜-多羧酸鹽巨環，諸如DOTA(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N'',N'''四乙酸)及其相近類似物。

五價金屬之金屬螯合劑(A)較佳係選自包含以下各物之群：2-胍基菸鹼醯胺(HYNIC)、 N_4 -螯合劑、 N_4 -X(N_4 可為直鏈或巨環且X可為疊氮胺，OH，鹵素，鄰-、間-、對-胺基苯甲基，間、對羧基苯甲基及羧基(Nock, B.等人(2003 [^{99m}Tc]Demobesin 1, a novel bombesin analogue for GRP receptor-targeted tumour imaging. *Eur. J. Nucl. Mol. Imaging*, 30, 247-258))，去鐵敏(Desferrioxamin, DFO)及 $N_rS_{(4-r)}$ 螯合劑，
及



其中

R_1 - R_{15} 相互獨立地為氫原子或 (C_1-C_4) 烷基，其中，在上式

之  部分中， t 為1或2或3且在該  部分中之碳原子之至少一者係經 Y 取代或未經 Y 取代，

R_{16} 為氫原子或 $CO_2(C_1-C_4)$ 烷基；

R_{17} 及 R_{18} 相互獨立地為 (C_1-C_4) 烷基或苯基；

R_{19} 為 CH_2-COOH 或其官能衍生物；

E 為 (C_1-C_4) 伸烷基或伸苯基；

視情況 (C_1-C_4) 伸烷基經 CO_2 -烷基、 CH_2-CO 烷基、 $CONH_2$ 或 $CONHCH_2-CO_2$ -烷基取代；

視情況伸苯基經 CO_2 -烷基取代，

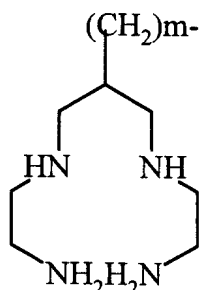
其中烷基具有1至4個碳原子；

G 為 NH 或 S ；

Y 為能夠與胜肽之游離胺基(N -末端)或間隔基結合之官能基；且

Z' 為 S 或 O 。

N_4 -螯合劑較佳為



其中

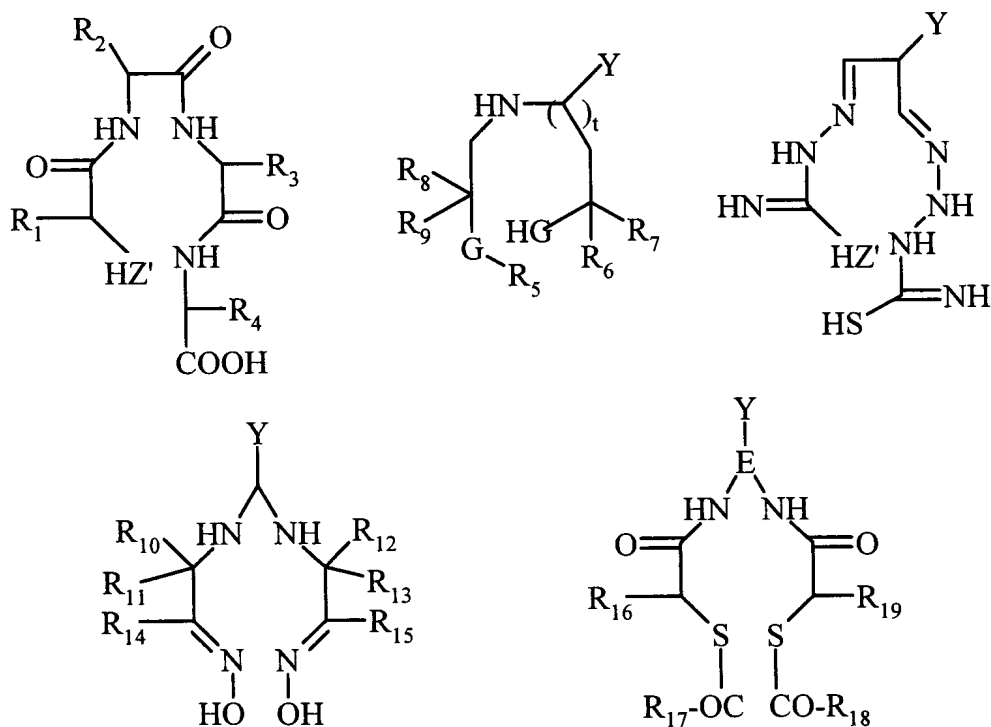
m 意謂1至4之整數。

$N_rS_{(4-r)}$ 螯合劑係定義為其中 r 為1至4之整數。

該官能基Y較佳包含異氰酸基、異硫氰基、甲醯基、鹵代硝基苯基、重氮基(diazonium)、環氧基、三氯聚三嗪基、仲乙亞胺基、氯磺醯基、烷氧基仲亞胺醯基、(經取代或未經取代)烷基羰基氧基羰基、烷基羰基咪唑基、琥珀醯亞胺醯基-氧基羰基；該基團連接於(C₁-C₁₀)烴雙基。烴雙基之適當實例為衍生自苯、(C₁-C₆)烷烴、(C₂-C₆)烯烴及(C₁-C₄)-烷基苯及其相近類似物之雙基。

N_tS_(4-t)螯合劑較佳係選自包含以下各物之群：用於鐳放射性核種金屬之雙胺基雙硫醇(BAT)基螯合劑，用於鐳放射性核種金屬之巰基-乙醯基-甘胺醯基-甘胺醯基-甘胺酸(MAG3)及其相近類似物。

五價金屬之金屬螯合劑(A)更佳係選自包含以下各物之群：



及其相近類似物，

其中 R_1 - R_{19} 、 Z' 、 Y 、 G 及 t 係如上所定義。

r 較佳為2至4之整數且 r 更佳為2或3。

m 較佳意謂1至2之整數， m 更佳為1。

為人所熟知之金屬螯合劑，諸如直鏈、巨環、四吡啶及 N_3S 、 N_2S_2 或 N_4 螯合劑係於US 5,367,080 A、US 5,364,613 A、US 5,021,556 A、US 5,075,099 A、US 5,886,142 A中揭示，該等文獻之揭示內容全文以引用之方式併入本文中。

為人所熟知之金屬螯合劑，諸如 HYNIC、DTPA、EDTA、DOTA、TETA、雙胺基雙硫醇(BAT)基螯合劑係於US 5,720,934 A中揭示，該文獻之揭示內容全文以引用之方式併入本文中。

為人所熟知之金屬螯合劑，諸如去鐵敏(DFO)係於 Doulias 等人 (2003) *Endosomal and lysosomal effects of desferrioxamine: protection of HeLa cells from hydrogen peroxide-induced DNA damage and induction of cell-cycle arrest. Free Radic. Biol. Med.*，第35卷，第7期：719-28中揭示。

Banerjee 等人，(*Nucl. Med. and Biology*, 2005, 32, 1-20 及其中之參考文獻)(其以引用之方式包括於本文中)利用且評論多種螯合劑。

在已廣泛用於 ^{99m}Tc 及 $^{186,188}\text{Re}$ 之合併的共配位體存在下，2-胍基菸鹼鹽胺(HYNIC)為另一類螯合基(A)(Schwartz 等人 *Bioconj. Chem.*, 1991, 2, 333-6；Babich 等人，*J. Nucl.*

Med., 1993, 34, 1964-70 ; *Nucl. Med. Biol.*, 1995, 22, 25-30 ; *Nucl. Med. Biol.*, 1995, 22, 第32頁, 第1-10頁)。

DTPA係以 Octreoscan®(由 Covidian 市售)用於錯合 ^{111}In 且在文獻中描述若干修改(Brechbiel等人, *Biocon. Chem.*, 1991, 2, 187-194 ; Li等人, *Nucl. Med. Biol.*, 2001, 28, 145-154)。

用於放射性療法應用之DOTA型螯合劑係由Tweedle等人之美國專利第48885363號中描述。其他用於與三價同位素金屬螯合之多氮雜巨環係由Maecke等人在*Bioconj. Chem.*, 2002, 13, 530中描述, 且該文獻以引用之方式包括於本文中。

在靶向CCK-2受體之微小胃泌素之情況下, 已將 N_4 -螯合劑、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - N_4 -螯合劑用於胜肽標記(Nock等人, *J. Nucl. Med.*, 2005, 46, 1727-36)。

在本發明之一較佳實施例中, 放射性核種金屬適用於與金屬螯合劑錯合且產生用於成像之放射性金屬螯合劑。放射性核種金屬較佳係選自包含以下金屬之群: $^{133\text{m}}\text{In}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{67}Ga 、 ^{52}Fe 、 ^{68}Ga 、 ^{72}As 、 ^{111}In 、 ^{97}Ru 、 ^{203}Pb 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{51}Cr 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 ^{157}Gd 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{64}Cu 及 ^{82}Br 。放射性核種金屬更佳係選自包含以下金屬之群: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 及 ^{123}I 。放射性核種金屬甚至更佳為 ^{68}Ga 。放射性核種金屬甚至更佳為 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

在本發明之一較佳實施例中, 放射性核種金屬適用於與金屬螯合劑錯合且產生用於放射性療法之放射性金屬螯合

劑。放射性核種金屬較佳係選自包含以下金屬之群：
 ^{186}Re 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{69}Er 、 ^{121}Sn 、 ^{127}Te 、 ^{142}Pr 、
 ^{143}Pr 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{161}Tb 、 ^{109}Pd 、 ^{188}Rd 、 ^{186}Re 、
 ^{188}Re 、 ^{77}As 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{149}Pm 、 ^{151}Pm 、 ^{153}Sm 、
 ^{159}Gd 、 ^{172}Tm 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{105}Rh 、
 ^{111}Ag 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 、 ^{129}I 、 ^{64}Cu 及 $^{177\text{m}}\text{Sn}$ 。放射
 性核種金屬更佳係選自包含以下金屬之群： ^{186}Re 、
 ^{188}Re 、 ^{90}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{68}Ga 及 ^{177}Lu 。

在第一態樣之其他替代中，適當之放射性核種金屬為放射
 性鹵素(碘及溴同位素)，該放射性鹵素直接與胜肽鍵
 結，諸如藉由化學反應鍵結至胜肽內之Tyr或Trp部分或視
 情況A可為Tyr或Trp。

較佳之放射性診斷劑(^{67}Ga 、 ^{111}In)及放射性治療劑
 (^{90}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu)視情況含有經螯合之+3金屬離子，該
 離子係來自稱為鑰系元素之元素類別。此類別中之典型放
 射性金屬包括同位素 $^{90}\text{釷}$ 、 $^{111}\text{銦}$ 、 $^{149}\text{鉅}$ 、 $^{153}\text{釷}$ 、 $^{166}\text{鐳}$ 、
 $^{166}\text{釷}$ 、 $^{175}\text{鐳}$ 及 $^{177}\text{鐳}$ 。所有此等金屬(及鑰系元素中之其他
 者)具有極其類似之化學性質，因為其保持在+3氧化態且
 偏好螯合至帶有硬(氧/氮)供體原子之配位體。

描述B(間隔基)：

B為連接至C之N-末端之間隔基或一共價鍵。

在本發明之一較佳實施例中，B為具有式(II)之化合物：



其中

B_1 為一 共價鍵、天然胺基酸、非天然胺基酸、直鏈二胺或環二胺，

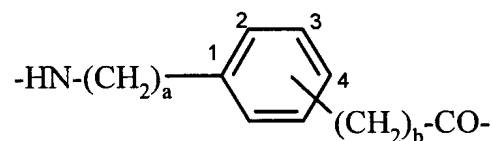
B_2 為一 共價鍵、天然胺基酸、非天然胺基酸、直鏈羧酸或環狀羧酸，

其限制條件為 B_1 及 B_2 不可同時為共價鍵且當 B_1 為二胺時， B_2 為羧酸(亦即在此情況下， B_2 不可為一鍵或天然或非天然胺基酸)。

非天然胺基酸較佳為具有式 (III)、(IV)、(V) 或 (VI) 中任一者之化合物

其中

(III)



其中

a 為 0 至 3 之整數，

b 為 0 至 3 之整數，

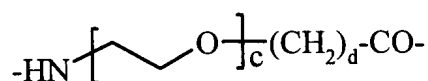
且相對取代模式視情況為 1,2-、1,3- 或 1,4-。

較佳地，

a 為 0 或 1，

b 為 0 或 1，

(IV)



其中

c 為 1 至 24 之整數，

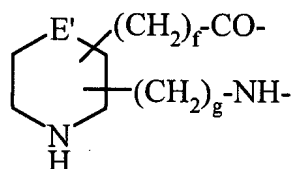
d 為 1 至 6 之整數。

較佳地，

c 為 1 至 15 之整數，c 更佳為 1 至 8，

d 為 1 至 3 之整數，d 更佳為 1。

(V)



其中

E' 為 NH 或 CH₂，

f 為 0 至 6 之整數，

g 為 0 至 6 之整數；

當 E' 為 CH₂ 時，則 6 員環視情況在 6 員環之任何碳位置處在該環之同一碳上或不同碳上經取代，

當 E' 為 NH 時，則 6 員環視情況在 6 員環之任何碳位置處在該環之同一碳原子上或不同碳原子上及 / 或氮原子上經取代，其限制條件為 f 或 g 為等於或大於 1 之整數。

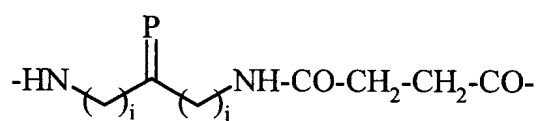
較佳地，

E' 為 NH，

f 為 0 至 3 之整數，

g 為 0 至 3 之整數；

(VI)



其中

i 為 1 至 6 之整數，

j 為 1 至 6 之整數，

P 為 O 或 H₂。

較佳地，

i 為 1 至 3 之整數，

j 為 1 至 3 之整數，

P 為 O。

間隔基更佳係選自包含以下各物之群：4-胺基-1-羧甲基哌啶、(R,S)-二胺基乙酸、PEG₁₋₂₄、Sar₅₋₁₀、8-胺基辛酸、6-胺基己酸、4-(2胺基乙基)-1-羧甲基哌嗪、二胺基丁酸、馬尿酸、4-胺基-1-Boc-哌啶-4-羧酸、Gly-胺基苯甲酸、5-胺基-3-氧雜-戊基-琥珀醯胺酸、Peg₁₋₂₄-4-胺基-1-羧甲基哌啶、Dab(莽草酸)、(D-Gln)_x、(D-Asn)_x。

描述 C(鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑序列)

在本發明之一較佳實施例中，鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑序列係選自包含以下各序列之群：C-1至C-3，較佳C-1至C-2。

鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑序列較佳係選自包含以下各者之群：

化合物 1 序列：D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂；

化合物 9 序列：D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leuψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃；

化合物 12 序列：D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leuψ

$(\text{CH}_2\text{NH})\text{-Phe-NH}_2$;

化合物 13 序列 : $\text{Dphe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu}\psi$
 $(\text{CH}_2\text{NH})\text{-Cys-NH}_2$ 。

包含至少一種放射性核種金屬之具有式(I)的鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物較佳係選自包含以下各物之群：

化合物 1 : $\text{DOTA-Gly-胺基苯甲醯基-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 2 : $\text{DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 3 : $\text{DOTA-4-胺基-1-哌啶-4-羧酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 4 : $\text{DOTA-15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 5 : $\text{DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸)-(4-胺基-1-羧甲基-哌啶)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 6 : $\text{DOTA-二胺基丁酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 7 : $\text{DOTA-4-(2-胺基乙基)-1-羧甲基-哌嗪-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 8 : $\text{DOTA-(5-胺基-3-氧雜-戊基)-琥珀醯胺酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH}_2$;

化合物 9 : $\text{DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu}\psi(\text{CHOH-CH}_2\text{)}-(\text{CH}_2)_2\text{-CH}_3$;

化合物 10：DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃；

化合物 11：DOTA-15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃；

化合物 12：DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂；

化合物 13：DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Cys-NH₂；

化合物 14：N₄-三唑-dPEG₁-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂。

其他較佳實施例：

在本發明之一較佳實施例中，對於具有式(I)之化合物，x為1至2之整數，x較佳為1。

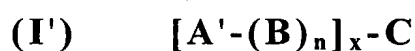
當x等於或大於2時，則(B)_n為連接至鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑(C)之N-末端的直鏈間隔基或支鏈間隔基。

在本發明之一較佳實施例中，對於具有式(I)之化合物，n為1至4之整數，n較佳為1或3，更佳為1。

在本發明之一較佳實施例中，對於具有式(I)之化合物，A另外為包含至少一種對應於或相當於以上所列放射性核種金屬之冷金屬原子的金屬螯合劑。該等化合物適用於活體外活體內結合檢定且係用作參考化合物。以上所列較佳實施例在本文中得以應用。

在本發明之一較佳實施例中，對於具有式(I)之化合物，K另外為H或較佳為H。

在第二態樣中，本發明係關於選擇性結合至鈴蟾素受體，且其更特定言之結合至GRP受體之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物前驅體，當在此兩種系統中拮抗促效劑誘發之作用時，不觸發進入細胞之內在化且不經由鈣動員發送信號，其中該鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物具有通式(I')



其中

x為1至3之整數，

n為1至6之整數；

A'為金屬螯合劑，

B為連接至C之N-末端之間隔基或一共價鍵，

C為序列C-1至C-4之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑。

金屬螯合劑A'為不含如第一態樣中對於A所定義之放射性核種金屬的金屬螯合劑。

間隔基B及鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑C係如上文第一態樣中所定義。

本發明進一步係關於此等鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之無機酸或有機酸的醫藥學上可接受之鹽，且係關於具有通用化學式(I')之此等化合物的水合物、錯合物、酯、醯胺、溶劑合物及前藥。

在本發明之一較佳實施例中，x為1至2之整數，x較佳為

1。當 x 等於或大於 2 時，則 $(B)_n$ 為連接至鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑 (C) 之 N-末端的直鏈間隔基或支鏈間隔基。

在本發明之一較佳實施例中，式 (I') 中， n 為 1 至 4 之整數， n 較佳為 1 或 3，更佳為 1。

在第三態樣中，本發明係關於一種醫藥組合物，其包含具有式 (I) 或 (I') 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物及醫藥學上可接受之載劑。

在第四態樣中，本發明係關於具有式 (I) 或 (I') 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物的用途，其係用於結合至鈴蟾素受體，且更特定言之胃泌素釋放胜肽受體 (GRP)，及/或用於抑制鈴蟾素受體，且更特定言之胃泌素釋放胜肽受體 (GRP)。

在第五態樣中，本發明係關於一種製備具有通式 (I) 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物的方法



其中 n 、 x 、 A 、 B 及 C 係如上所定義，

其包含以下步驟：

- 將具有如上所定義之通式 (I') 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物與適當放射性核種金屬或對應於上列放射性核種金屬之金屬原子放射性螯合。

製備具有通式 (I) 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物的方法較佳包含與適當放射性核種金屬放射性螯合之步驟。

在另一實施例中，製備具有通式 (I) 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物的方法

(II) $[A-(B)_n]_x-C$

其中 n 、 x 、 A 、 A' 、 B 及 C 係如上所定義，

另外包含以下步驟：

a) 使間隔基 B 與鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑 C 偶合以獲得序列 $C-1$ 至 $C-4$ 之間隔基-鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，視情況重複步驟 a)；及

b) 使間隔基-鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑與金屬螯合劑 A' 偶合以獲得具有通式 (I') 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，視情況重複步驟 b)，

上述步驟在具有通式 (I') 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物與適當放射性核種金屬或對應於或相當於上列放射性核種金屬之金屬原子的放射性螯合之前進行。

在本發明之一較佳實施例中， n 、 x 、金屬螯合劑 A 、金屬螯合劑 A' 、間隔基 B 及鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑 C 係如上所定義。

在第六態樣中，本發明係關於一種使患者體內表現腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管之鈴蟾素受體(且更特定言之 GRP 受體)成像之方法，其包含以下步驟：

- 將放射性醫藥有效量的具有式 (I) 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物投與患者；及
- 使患者體內之放射性核種金屬成像。

第六態樣之一較佳實施例係關於使用放射性醫藥有效量的具有式 (I) 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物的用途，其係用於製造用於使表現腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血

管的鈐蟾素受體(且更特定言之GRP受體)成像之成像劑。

在一較佳實施例中，腫瘤細胞係指選自包含以下各者之群之癌：

- 前列腺癌，包括癌轉移，
- 乳癌，包括癌轉移，
- 胃腸基質腫瘤，
- 小細胞肺癌，
- 腎細胞癌，
- 胃腸胰神經內分泌腫瘤，
- 頭部及頸部鱗狀細胞癌，
- 神經母細胞瘤，及
- 食道鱗狀細胞癌。

腫瘤細胞甚至更佳係指選自以下各者之癌：

- 前列腺癌，包括癌轉移，及
- 乳癌，包括癌轉移。

在另一較佳實施例中，腫瘤及腫瘤周圍血管係指選自以下各者之癌：

- 卵巢癌，
- 子宮內膜癌，及
- 胰腺癌。

腫瘤及腫瘤周圍血管較佳係指卵巢癌。

在第七態樣中，本發明係關於一種用於治療或預防腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病的方法，其包含以下步驟：

- 投與治療有效量的具有式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物。

第七態樣之一較佳實施例係關於治療有效量的具有式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之用途，其係供製造用於治療或預防腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病的藥物。

在一較佳實施例中，腫瘤細胞相關之疾病係指選自包含以下各者之群之癌：

- 前列腺癌，包括癌轉移，
- 乳癌，包括癌轉移，
- 胃腸基質腫瘤，
- 小細胞肺癌，
- 腎細胞癌，
- 胃腸胰神經內分泌腫瘤，
- 頭部及頸部鱗狀細胞癌，
- 神經母細胞瘤，及
- 食道鱗狀細胞癌。

腫瘤細胞相關之疾病甚至更佳係指選自包含以下各者之群之癌：

- 前列腺癌，包括癌轉移，及
- 乳癌，包括癌轉移。

在另一較佳實施例中，腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病係指選自包含以下各者之群之癌：

- 卵巢癌，

- 子宮內膜癌，及
- 胰腺癌。

腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病較佳係指卵巢癌。

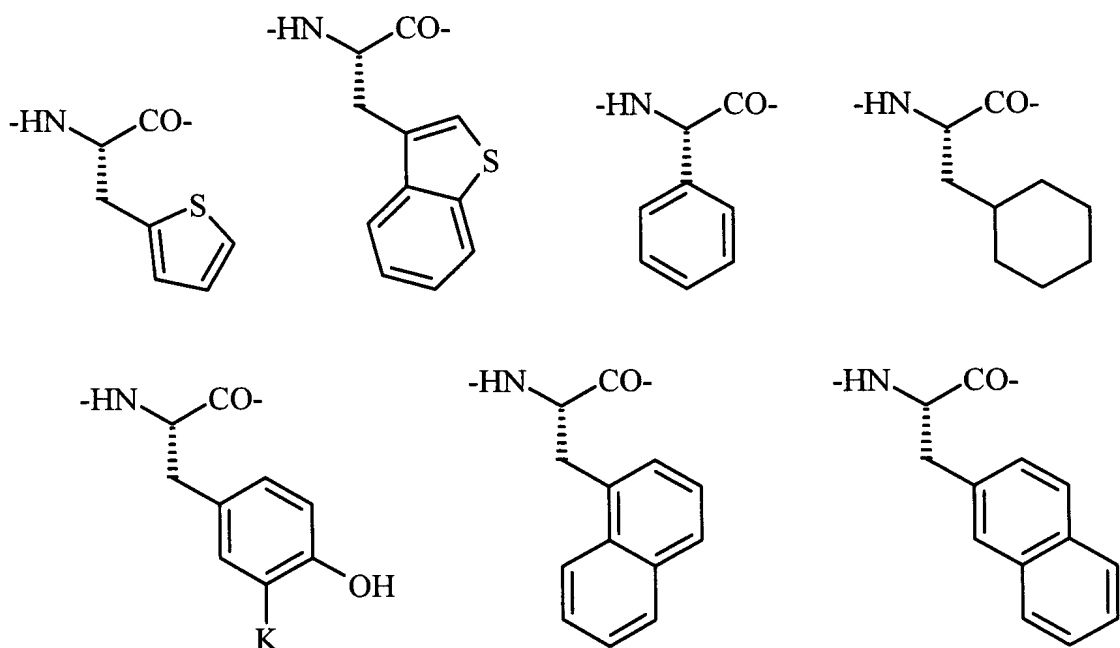
在第八態樣中，本發明係關於一種用於製備具有式(I)之放射性治療劑或放射性醫藥成像劑的套組，該套組包含一含有預定量的式(I')之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物及在放射性標記金屬螯合劑時可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑或佐劑的瓶。

在第九態樣中，本發明係關於序列C-1至C-4之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中

C-1: $\text{Xaa}_1^6\text{-Gln}^7\text{-Trp}^8\text{-Ala}^9\text{-Val}^{10}\text{-Xaa}_2^{11}\text{-His}^{12}\text{-Xaa}_3^{13}\text{-Xaa}_4^{14}\text{-Z}$

其中

Xaa_1 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp或具有以下所述之式之任一者之殘基：



K 為 F、Cl、I 或 NO_2 ，

Xaa₂ 為 Gly 或 β -Ala，

Xaa₃ 為抑制素、抑制素類似物及異構體、4-Am,5-MeHpA、4-Am,5-MeHxA 或 α -取代胺基酸，

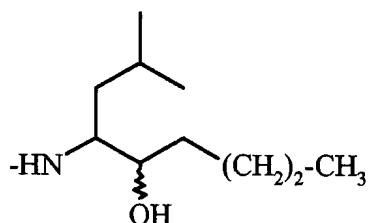
Xaa₄ 為 Leu、Cpa、Cba、CpnA、Cha、t-buGly、tBuAla、Met、Nle 或 異-Bu-Gly，且

Z 為 NH 或 O；

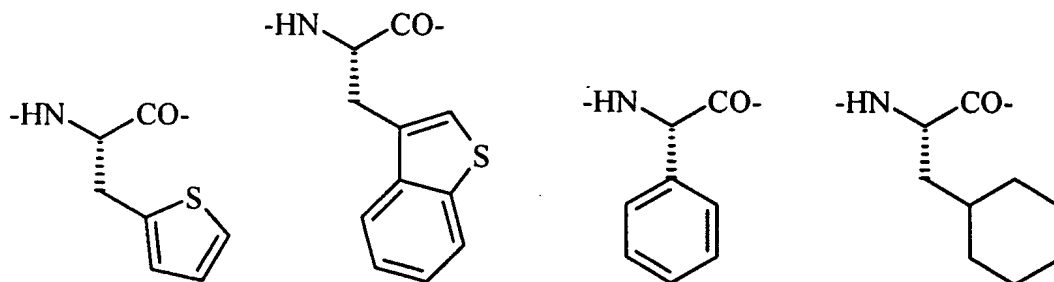
C-2: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃，

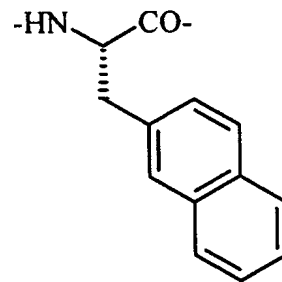
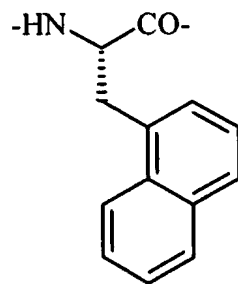
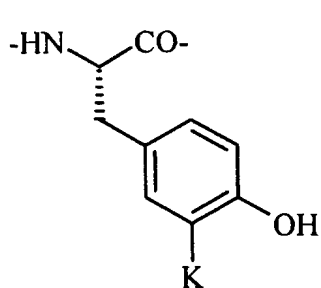
其中

Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃ 為



Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基：





且

K 為 F、Cl、I 或 NO₂，

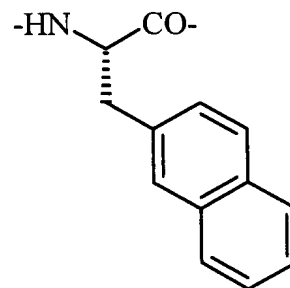
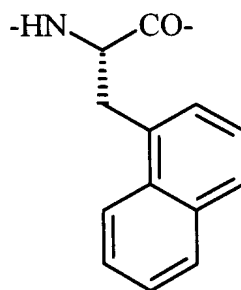
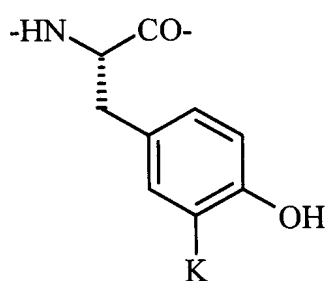
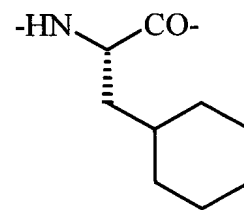
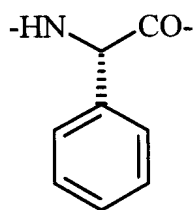
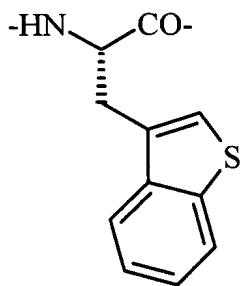
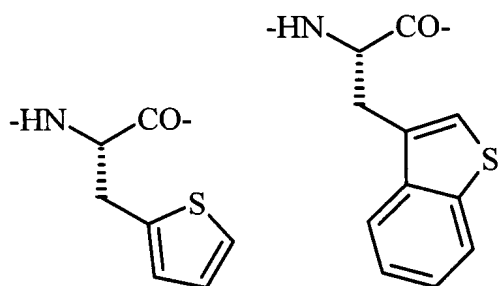
Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala；

C-3: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₅¹³-Xaa₆¹⁴-

ZH，

其中

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基：



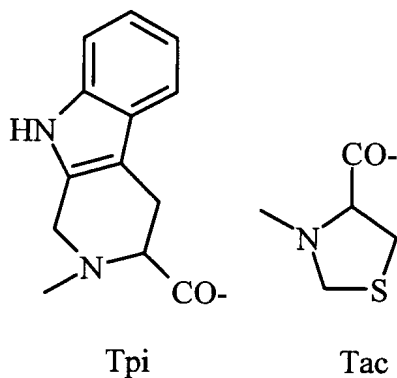
K 為 F、Cl、I 或 NO₂，

Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala，

Xaa₅ 為 Leuψ-CH₂NH- ,

Xaa₆ 為 Cys、Phe、Trp、Tpi 或 Tac ,

其中 Tpi 及 Tac 具有以下含義 :



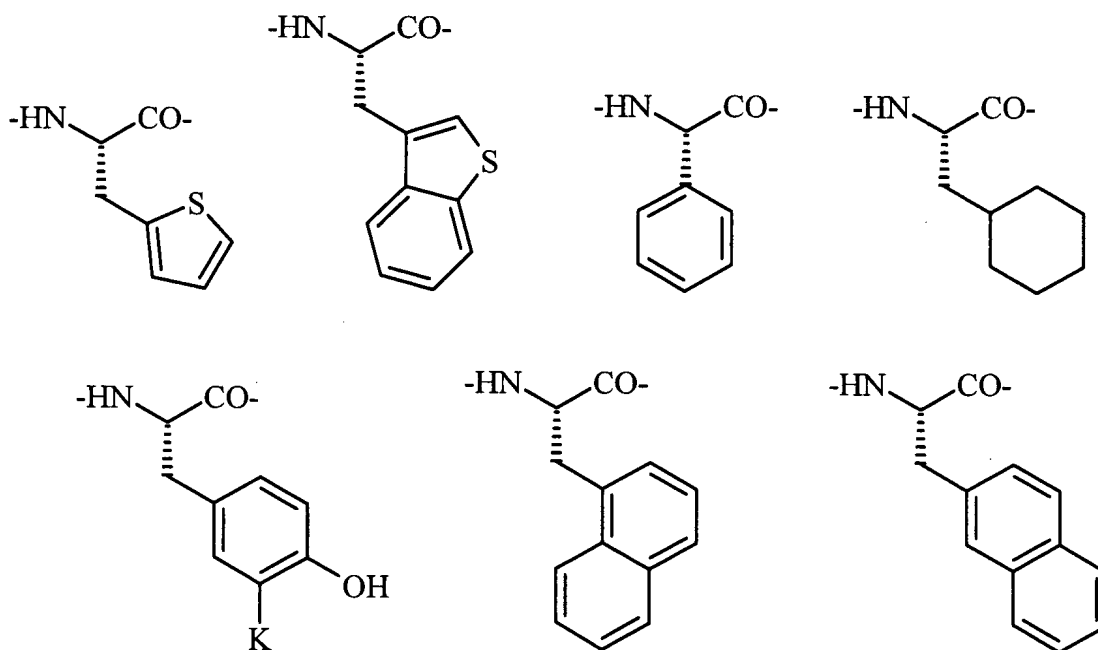
且

Z 為 NH 或 O ;

C-4: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₇ ,

其中

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基 :



K 為 F、Cl、I 或 NO₂ ,

Xaa₂為 Gly 或 β -Ala，

Xaa₇為 Leu-O-烷基 或 Leu-NH-烷基。

定義

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「烷基」單獨或作為另一基團之部分時係指具有1至20個碳原子之直鏈或支鏈烷基，諸如甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第三丁基、戊基、異戊基、新戊基、庚基、己基、癸基。烷基亦可經諸如鹵素原子、羥基、C₁-C₄烷氧基或C₆-C₁₂芳基取代。烷基更佳為C₁-C₁₀烷基、C₁-C₆烷基或C₁-C₄烷基。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「低碳非支鏈或支鏈烷基(alkyl(en))」應具有以下含義：由碳及氫組成之經取代或未經取代，直鏈或支鏈單價、二價或三價基團，其不含有不飽和度且具有1至8個碳原子，例如(但不限於)甲基、乙基、正丙基、正戊基、1,1-二甲基乙基(第三丁基)、正庚基及其類似者。此部分可未經取代或經諸如鹵素原子、羥基原子、C₁-C₄烷氧基或C₆-C₁₂芳基取代。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「伸苯基」係基於二取代苯環或視情況三取代苯環。舉例而言，聚(對伸苯基)為由對伸苯基重複單元構造之聚合物。伸苯基可經取代或未經取代。其可經鹵素、OH、烷氧基，較佳C₁-C₄烷氧基、羧基、酯，較佳C₁-C₄-酯、醯胺、硝基取代。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「烯烴」應具有以下含義：含有至少一個碳碳雙鍵之不飽和脂肪族或脂環族化合物。最簡單之非環狀烯烴，僅具有一個雙鍵且無其他官能基，形成具有通式 C_nH_{2n} 之烴同系物，例如，乙烯(C_2H_4)、丙烯(C_3H_6)。烯烴可經取代或未經取代。若烯烴經取代，其可經鹵素原子、羥基、 C_1 - C_4 烷氧基、 C_6 - C_{12} 芳基或其類似者取代。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「芳基」應具有不飽和環系統，較佳芳環系統，更佳在環骨架中具有6至12個碳原子之含義。其實例為苯基及萘基。芳基部分可未經取代或經諸如鹵素原子、羥基、 C_1 - C_4 烷氧基或 C_6 - C_{12} 芳基取代。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「苯」應具有以下含義：具有式 C_6H_6 之有機化合物。苯為芳族烴及第二 $[n]$ -輪烯($[6]$ -輪烯)，具有連續 π 鍵的環烴。苯可未經取代或經諸如鹵素原子、羥基、 C_1 - C_4 烷氧基或 C_6 - C_{12} 芳基取代。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「烯基」及「炔基」類似地如對於烷基所定義，但分別含有至少一個碳-碳雙鍵或參鍵。烯基更佳可為 C_2 - C_6 烯基且炔基更佳可為 C_2 - C_6 -炔基。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「鹵素」應具有F、Cl、Br或I之含義。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語

「無機酸或有機酸之鹽」、「無機酸」及「有機酸」係指無機酸，包括(但不限於)諸如：碳酸、硝酸、磷酸、鹽酸、過氯酸或硫酸之酸或其酸式鹽，諸如鉀、鈉、鈣、鎂鹽，例如硫酸氫鉀，或係指合適之有機酸，其包括(但不限於)：諸如脂肪酸、環脂肪酸、芳族酸、芳脂族酸、雜環酸、羧酸及磺酸之酸，其實例分別為甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、丁二酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、蘋果酸、反丁烯二酸、丙酮酸、苯甲酸、鄰氨基苯甲酸、甲磺酸、反丁烯二酸、水楊酸、苯乙酸、扁桃酸、恩波酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、泛酸(phantothenic)、甲苯磺酸、三氟甲磺酸及對氨基苯磺酸。同樣，有機酸亦可以如下其鹽形式存在：諸如鉀、鈉、鈣、鎂鹽。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「醫藥學上可接受之鹽」係指無機酸及有機酸之鹽，諸如無機酸，包括(但不限於)諸如碳酸、硝酸或硫酸之酸；或有機酸，包括(但不限於)諸如脂族酸、環脂族酸、芳族酸、芳脂族酸、雜環酸、羧酸及磺酸之酸，其實例為甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、丁二酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、蘋果酸、反丁烯二酸、丙酮酸、苯甲酸、鄰氨基苯甲酸、甲磺酸、水楊酸、苯基乙酸、扁桃酸、恩波酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、泛酸、甲苯磺酸及對氨基苯磺酸。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「前藥」意謂任何共價鍵結之化合物，其釋放式(I)之活性

母體藥物。

如此申請案通篇所使用之術語「前藥」亦包含藥理學上可接受之衍生物，諸如酯、醯胺及磷酸酯，以便該衍生物之所得活體內生物轉化產物為如式(I)中所定義之活性藥物。Goodman 及 Gilman(*The Pharmacological Basis of Therapeutics*，第8版，McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, 「*Biotransformation of Drugs*」，13-15)之參考案描述前藥，其揭示內容以引用之方式併入本文中。本發明之化合物的前藥係藉由以如下方式修飾存在於該化合物中之官能基來製備：以常規操作或活體內裂解該等修飾物從而得到母體化合物。本發明之化合物的前藥包括其中例如羥基(諸如不對稱碳原子上之羥基)或胺基與任何基團鍵結之彼等化合物，當將前藥投予患者時，該基團裂解以分別形成游離羥基或游離胺基。

前藥之典型實例係於(例如)WO 99/33795、WO 99/33815 A、WO 99/33793 A及WO 99/33792 A中描述，該等文獻之揭示內容均以引用之方式全文併入本文中。

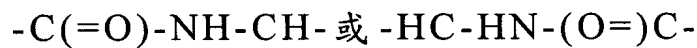
前藥之特徵為水溶性極佳、生物可用性提高且在活體內容易代謝成活性抑制劑。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「胺基酸序列」及「胜肽」在本文中係定義為可藉由至少兩個胺基酸之(聚)縮合反應獲得之聚醯胺。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「胺基酸」意謂包含至少一個胺基及至少一個羧基，但在

分子內無肽鍵之任何分子。換言之，胺基酸為具有羧酸官能基及較佳在其 α 位具有至少一個游離氫之胺氮，但在分子結構內無醯胺鍵之分子。因此，並不將在N末端具有游離胺基及在C末端具有游離羧基之二胜肽視作上文所定義中之單一「胺基酸」。自該縮合反應獲得之介於兩個相鄰胺基酸殘基之間的醯胺鍵係定義為「肽鍵」。

如本文中所使用之醯胺鍵意謂具有以下結構之任何共價鍵



其中羧基係由一個分子提供且NH-基團係由欲連接之其他分子提供。自該聚縮合反應獲得之介於兩個相鄰胺基酸殘基之間的醯胺鍵係定義為「肽鍵」。視情況，聚醯胺主鏈之氮原子(上文表示為NH)可獨立地(例如)經 $-C_1-C_6$ 烷基，較佳經 $-CH_3$ 烷基化。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，胺基酸殘基係藉由與另一胺基酸形成肽鍵而自相應胺基酸獲得。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，胺基酸為天然存在之胺基酸或非天然胺基酸，其中非天然胺基酸為合成/人造胺基酸殘基、蛋白型及/或非蛋白型胺基酸殘基。該等非蛋白型胺基酸殘基可進一步分類為(a)蛋白型胺基酸之高類似物，(b)蛋白型胺基酸殘基之 β -高類似物及(c)其他非蛋白型胺基酸殘基。

因此，胺基酸殘基係自相應胺基酸衍生，例如，自

蛋白型胺基酸，即 Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr 及 Val；或

非蛋白型胺基酸，諸如蛋白型胺基酸之高類似物，其中側鏈已由亞甲基延伸，例如，高丙胺酸(Hal)、高精胺酸(Har)、高半胱胺酸(Hcy)、高麩醯胺酸(Hgl)、高組胺酸(Hhi)、高異白胺酸(Hil)、高白胺酸(Hle)、高離胺酸(Hly)、高甲硫胺酸(Hme)、高苯丙胺酸(Hph)、高脯胺酸(Hpr)、高絲胺酸(Hse)、高蘇胺酸(Hth)、高色胺酸(Htr)、高酪胺酸(Hty)及高纈胺酸(Hva)；

蛋白型胺基酸之 β -高類似物，其中已將亞甲基插入 α -碳與羧基之間，得到 β -胺基酸，例如， β -高丙胺酸(β Hal)、 β -高精胺酸(β Har)、 β -高天冬醯胺酸(β Has)、 β -高半胱胺酸(β Hcy)、 β -高麩醯胺酸(β Hgl)、 β -高組胺酸(β Hhi)、 β -高異白胺酸(β Hil)、 β -高白胺酸(β Hle)、 β -高離胺酸(β Hly)、 β -高甲硫胺酸(β Hme)、 β -高苯丙胺酸(β Hph)、 β -高脯胺酸(β Hpr)、 β -高絲胺酸(β Hse)、 β -高蘇胺酸(β Hth)、 β -高色胺酸(β Htr)、 β -高酪胺酸(β Hty)及 β -高纈胺酸(β Hva)；

其他非蛋白型胺基酸，例如， α -胺基己二酸(Aad)、 β -胺基己二酸(β Aad)、 α -胺基丁酸(Abu)、 α -胺基異丁酸(Aib)、 β 丙胺酸(β Ala)、4-胺基丁酸(4-Abu)、5-胺基戊酸(5-Ava)、6-胺基己酸(6-Ahx)、8-胺基辛酸(8-Aoc)、9-胺基壬酸(9-Anc)、10-胺基癸酸(10-Adc)、12-胺基十二烷酸(12-Ado)、 α -胺基辛二酸(Asu)、吡丁啉-2-羧酸(Aze)、 β -

環己基丙胺酸(Cha)、瓜胺酸(Cit)、脫氫丙胺酸(Dha)、 γ -羧基麩胺酸(Gla)、 α -環己基甘胺酸(Chg)、炔丙基甘胺酸(Pra)、焦麩胺酸(Glp)、 α -第三丁基甘胺酸(Tle)、4-苯甲醯基苯丙胺酸(Bpa)、 δ -羥基離胺酸(Hyl)、4-羥基脯胺酸(Hyp)、別異白胺酸(alIe)、羊毛硫胺酸(Lan)、(1-萘基)丙胺酸(1-Nal)、(2-萘基)丙胺酸(2-Nal)、正白胺酸(Nle)、正纈胺酸(Nva)、鳥胺酸(Orn)、苯基甘胺酸(Phg)、哌啶酸(pipecolic acid, Pip)、肌胺酸(Sar)、硒代半胱胺酸(Sec)、抑制素(Sta)、 β -噻吩基丙胺酸(Thi)、1,2,3,4-四氫異喹啉-3-羧酸(Tic)、別蘇胺酸(aThr)、噻唑烷-4-羧酸(Thz)、 γ -胺基丁酸(GABA)、異半胱胺酸(異-Cys)、二胺基丙酸(Dpr)、2,4-二胺基丁酸(Dab)、3,4-二胺基丁酸($\gamma\beta$ Dab)、二苯丙胺酸(Bip)、對位經-C₁-C₆烷基、-鹵化物、-NH₂、-CO₂H或Phe(4-R)取代之苯丙胺酸(其中R=-C₁-C₆烷基、-鹵化物、-NH₂或-CO₂H)；胜肽核酸(PNA, *cf.*, P.E. Nielsen, *Acc. Chem. Res.*, 32, 624-30)；或其N-烷基化類似物，諸如其N-甲基化類似物。

環狀胺基酸可為蛋白型或非蛋白型，諸如Pro、Aze、Glp、Hyp、Pip、Tic及Thz。

對於其他實例及細節而言，可參考(例如)J.H. Jones, *J. Peptide Sci.*, 2003, 9, 1-8，該文獻之揭示內容全文以引用的方式併入本文中。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「非蛋白型胺基酸」及「非蛋白型胺基酸殘基」亦包括蛋

白型胺基酸之衍生物。舉例而言，蛋白型胺基酸殘基之側鏈可經衍生化，藉此使該蛋白型胺基酸殘基變成「非蛋白型」。上述情況亦適用於終止胺基酸序列之蛋白型胺基酸殘基之C末端及/或N末端的衍生物。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，蛋白型胺基酸殘基係源自選自由以下胺基酸組成之群的蛋白型胺基酸：呈L-構型或D-構型之Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr及Val；Thr及Ile中之第二對掌中心可具有R-構型或S-構型。因此，舉例而言，可能天然產生之胺基酸序列之任何轉譯後修飾(諸如N-烷基化作用)使相應經修飾之胺基酸殘基變成「非蛋白型」，但實質上該胺基酸殘基係併入蛋白質中。較佳地，經修飾之胺基酸係選自N-烷基化之胺基酸、 β -胺基酸、 γ -胺基酸、羊毛硫胺酸、脫氫胺基酸及具有烷基化胍部分之胺基酸。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「羧酸」或「二羧酸」意謂分別具有一個COOH部分或兩個COOH部分之有機化合物，例如，分別為甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、環己烷羧酸、苯甲酸、水楊酸、乳酸(羧酸)或草酸、丙二酸、丁二酸、己二酸、反丁烯二酸、順丁烯二酸、蘋果酸、鄰苯二甲酸(二羧酸)。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「二胺」意謂具有兩個NR'R"部分之有機化合物，其中R'及R"可相互獨立地為烷基、烯基、炔基、芳基。二胺可例

如為乙二胺、1,4-環己烷二胺、哌嗪。

就上文中所指之胺基酸、羧酸、二羧酸或二胺而言，當該等胺基酸、羧酸、二羧酸或二胺分別包含於本發明之化合物中時，此亦特別包括所獲得之個別基團，亦即，例如，-HN-...-CO-(胺基酸)、-OC-...(羧酸)、-OC-...-CO-(二羧酸)、-HN-...-NH-(二胺)。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，術語「金屬螯合劑」係定義為與放射性核種金屬錯合以形成在生理條件下穩定之金屬錯合物的分子，且其亦可經由間隔基與靶向基團共軛。金屬螯合劑與金屬放射性核種錯合或不錯合。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用，措詞「放射性核種金屬」係定義為具有不穩定核之原子的放射性核種，該核之特徵在於將可利用之過量能量賦予核中新產生之放射性粒子或者賦予原子中之電子(參見內轉化)。本文所使用之放射性核種金屬尤其適用於診斷或治療用途，更佳適用於成像或放射性療法。在此過程中，放射性核種經受放射性衰變，且發出(a)γ射線及/或次原子粒子。此等粒子構成游離輻射。放射性核種可天然存在，但亦可人工製造。

此等放射性核種金屬包括(但不限於)鎳(例如⁶⁷Ga、⁶⁸Ga)；銅(例如⁶⁷Cu及⁶⁴Cu)；鐳(例如^{99m}Tc及^{94m}Tc)；銻(例如¹⁸⁶Re及¹⁸⁸Re)；鉛(例如²¹²Pb)；鉍(例如²¹²Bi)；及鈮(例如¹⁰⁹Pd)。製備此等同位素之方法已知。用於生成^{99m}Tc之

鉬/鐳產生器為市售的。生成 ^{186}Re 之程序包括由Deutsch等人, (*Nucl. Med. Biol.*, 第13卷:4:465-477, 1986)及Vanderheyden等人(*Inorganic Chemistry*, 第24卷:1666-1673, 1985)描述之程序, 且生成 ^{188}Re 之方法已由Blachot等人(*Intl. J. of Applied Radiation and Isotopes*, 第20卷:467-470, 1969)及由Klofutar等人(*J. of Radioanalytical Chem*, 第5卷: 3-10, 1970)描述。 ^{212}Pd 之生成係在Fawwaz等人, *J. Nucl. Med*, (1984), 25:796中描述。 ^{212}Pb 及 ^{21}Bi 之生成係在Gansow等人, *Amer. Chem. Soc. Symp*, Ser. (1984), 241:215-217及Kozah等人, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, (1986年1月), 83:474-478中描述。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 較佳係用於診斷用途, 且上列之其他放射性核種具有治療用途。

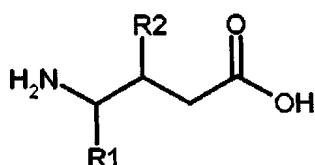
如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用, 術語「間隔基」係定義為金屬螯合劑與鈴蟾素胜肽拮抗劑之間的連接基。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用, 措詞「促效劑」意謂結合至細胞之受體分子處的特異性位點且因此啟動細胞中之信號轉導之物質(配位體)。此造成可測量之效應。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用, 措詞「拮抗劑」意謂結合至受體細胞上對促效劑物質有特異性之位點因此將此位點與促效劑阻斷而無激活作用的物質(配位體)。因此拮抗劑抑制促效劑之作用。

如下文本發明之描述中及申請專利範圍中所使用, 術語

「抑制素類似物」係定義為具有以下通用結構之二肽模
擬物



抑制素 $R_2 = OH$ ， R_1 可顯著變化但通常與胺基酸側鏈相同

抑制素類似物 $R_2 = H$ ， R_1 可顯著變化但通常與胺基酸側
鏈相同

縮寫：

NODASA=1,4,7-三氮雜環壬烷-1-丁二酸-4,7-二乙酸

NODAGA=1,4,7-三氮雜環壬烷-N-戊二酸-N',N''-二乙酸

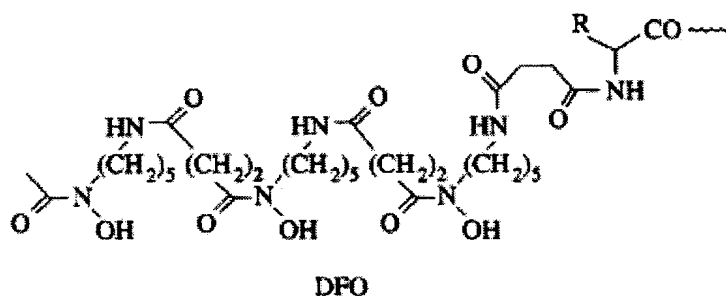
TRITA=1,4,7,10四氮雜環十三烷-1,4,7,10 N,N',N'',N'''-四乙
酸

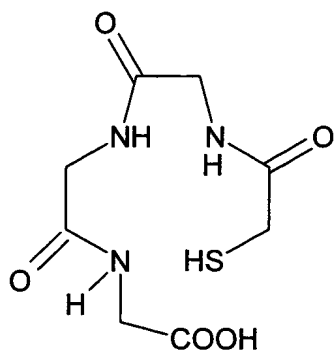
Cpa=(S)-4-甲醯胺基苯丙胺酸

4-Am-5-MeHpA=4-胺基-5-甲基庚酸

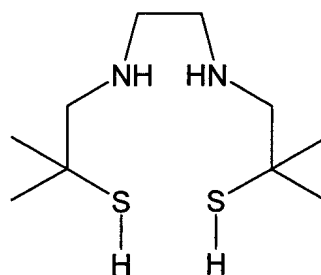
4-Am-5-MeHxA=4-胺基-5-甲基己酸

DFO=N'-[5-(乙醯基-羥基-胺基)戊基]-N-[5-[3-(5-胺基戊
基-羥基-胺甲醯基)丙醯基胺基]戊基]-N-羥基-丁二醯胺

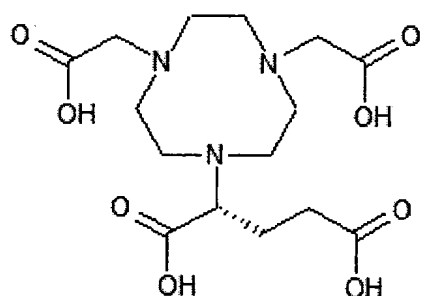




三醯胺單硫醇(MAG3)



雙胺雙硫醇(BAT)



NODAGA

無需進一步詳細描述，咸信熟習此項技術者可使用上文描述最大程度地利用本發明。因此，以下較佳特定實施例應僅視作說明性的，而不以任何方式限制本揭示案之其餘部分。

【實施方式】

本文所引用之所有申請案、專利及公開案之整個揭示內容係以引用的方式全部併入本文中。

藉由用本發明所一般或特定描述之反應物及/或操作條件替換先前實例中所用之彼等者可同樣成功地重複以下實例。

根據上文描述，熟習此項技術者可易於確定本發明之基本特徵且在不悖離本發明之精神及範疇之情況下可對本發明作出各種變化及修改以使其適合於各種用途及條件。

實例

當對於以下所揭示之所有實例合適時，A不僅具有A之含義，亦具有A'之含義。

實例 1(A-B-C)

當對於以下所揭示之所有實例合適時，A不僅具有A之含義，亦具有A'之含義。

a)合成具有通用序列之鈴蟾素胜肽拮抗劑共軛物

(A=DOTA，B=間隔基 B_1 - B_2 ，C=具有N-末端醯胺Z之胜肽 [Z=NH])

DOTA-間隔基- Xaa_1^6 -Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰- Xaa_2^{11} -His¹²-Sta¹³-Leu¹⁴-NH₂

使用Fmoc策略在固體相上手動合成胜肽。為獲得N-末端醯胺，使用Rink醯胺MBHA樹脂LL(100-200目)(4-(2',4'-二甲氧基苯基-Fmoc-胺基甲基)-苯氧基乙醯胺基-降白胺醯基-4-甲基二苯甲基胺樹脂)。一般而言，將具有理論負載為0.34 mmole/g樹脂之Rink醯胺MBHA樹脂供應於反應器中。將N,N-二甲基甲醯胺(DMF)添加至反應器中且震盪30分鐘以使樹脂膨脹。移除溶劑後，添加20%哌啶於DMF中之溶液，且將樹脂震盪15分鐘以移除9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)保護基。將此步驟重複兩次。此程序之後，用DMF將樹脂洗滌3次歷時5 min。收集最後3次洗滌之哌啶溶液及DMF溶液且填充乙醇至100 mL。自此溶液得到等分試樣以使用分光光度法測定所移除之Fmoc-保護基之量。

在與Fmoc-胺基酸衍生物偶合之前，用DMF將樹脂洗滌

兩次歷時 2 min。將用 2 當量 *N,N*-二異丙基碳化二亞胺 (DIC)/*N*-羥基苯并三唑 (HOBt) 預活化之 2 當量 Fmoc-胺基酸添加至樹脂中且藉由添加約 4 當量 *N*-乙基二異丙胺 (DIPEA) 將 pH 值調節至 8-9。在平緩震盪下將反應培育 2 h。反應後，移除溶液且用 DMF 將固相洗滌兩次歷時 5 min。藉由凱撒測試 (Kaiser-test) 監測反應。將特定量之樹脂珠粒用乙醇洗滌 3 次，添加 50 μ L 溶液 1 (將 20 g 苯酚於 10 mL 乙醇中之溶液與 1 mL 0.01 M KCN 於 49 mL 吡啶中之溶液混合) 及 50 μ L 溶液 2 (500 g 節三酮於 10 mL 乙醇中) 且將珠粒在 95°C 下加熱 10 min。藍色珠粒指示未偶合之游離胺基官能基。

所有胺基酸皆以 *N*-末端 Fmoc-保護之衍生物形式使用，且將其以類似方式偶合。將色胺酸以在側鏈上之第三丁氧羰基 (Boc) 保護基形式使用，而組胺酸及麩醯胺酸係經 Trt 保護。若在各胺基酸之偶合後進行凱撒測試，表明胺基官能基之偶合不完全，則重複偶合。

在構建整個確定之胜肽序列之後，將樹脂用 DCM 洗滌 5 次，隨後用乙醚洗滌 5 次，每次歷時 2 分鐘且在真空下乾燥。

b) 與間隔基及前螯合劑 (prochelator) DOTA(^tBu)₃ 偶合

前螯合劑 DOTA(^tBu)₃ 係購自 Macrocyclics Inc., Dallas, USA。在與間隔基偶合前，將 *N*-末端 Fmoc-保護自結合胜肽之樹脂移除。使樹脂在 DMF 中膨脹 15 min，以 DMF 中之 20% 哌啶溶液處理兩次 (15 min)，且用 DMF 洗滌三次。收集來自哌啶處理及隨後之 DMF 洗滌液中之溶液以測定裂解

之Fmoc基團之量。

將用六氟磷酸2-(1H-9-氮雜苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基-銨(HATU)在DMF中預活化20 min之2當量間隔基添加至樹脂中。藉由添加DIPEA將pH值調節至8-9。將反應混合物震盪2 h且藉由凱撒測試監測偶合。如前所述移除Fmoc之後以相同方式使前螯合劑DOTA(^tBu)₃偶合。將DOTA(^tBu)₃偶合震盪隔夜。移除溶液後，將樹脂用DMF洗滌3次，用DCM洗滌5次，隨後用乙醚洗滌5次，每次2分鐘，且在真空下乾燥。

c)去保護，裂解及純化

將胜肽-樹脂放入裝備有玻璃料之注射器中。添加三氟乙酸(TFA)/硫代苯甲醚(TA)/三異丙基矽烷(TIS)/H₂O(94/2/2/1)之溶液且將注射器攪拌2 h。在冰上將該溶液添加至50%二異丙醚與50%乙醚之混合物中以使胜肽沈澱。藉由在3000 rpm下離心5 min收集胜肽且傾析上清液。用乙醚洗滌沈澱若干次且在真空下乾燥。將粗產物溶於水中，且藉由半製備型RP-HPLC在具有Macherey-Nagel VP 250/21 Nucleosil 100-5 C₁₈管柱之Metrohm HPLC系統LC-CaDI 22-14(Herisau, Switzerland)上純化(溶離劑：溶離劑1=水中之0.1%TFA且溶離劑2=乙腈；梯度：0-20 min，90%-50%溶離劑1；流速：15 mL/min)。

將共軛物藉由分析型RP-HPLC分析且藉由質譜法(ESI-MS)表徵。

A-B-C-1

DOTA- 間 隔 基 -Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-
Xaa₃¹³-Xaa₄¹⁴-ZH(Z=NH)

化 合 物 1：A=DOTA，B₁=Gly，B₂=4-胺基苯甲醯基；
Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Sta；Xaa₄=Leu，
DOTA-Gly-胺基苯甲醯基-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-
Sta-Leu-NH₂；C₈₀H₁₁₄N₂₀O₂₀，計算值(m/z)：1675.8，實
驗值[M+K]⁺：1715.1。

化 合 物 2：A=DOTA，B₁=4-胺基-1-羧甲基-哌啶基；B₂=
無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Sta；Xaa₄=Leu
DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-
His-Sta-Leu-NH₂；C₇₉H₁₁₈N₂₀O₁₉；計算值(m/z)：1639.9，
實驗值[M+K]⁺：1678.1

化 合 物 3：A=DOTA，B₁=4-胺基-1-哌啶-4-羧基；B₂=
無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Sta；Xaa₄=Leu
DOTA-4-胺基-1-哌啶-4-羧酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-
His-Sta-Leu-NH₂
C₇₇H₁₁₆N₂₀O₁₉，計算值(m/z)：1624.9，實驗值[M+K]⁺：
1663.7

化 合 物 4：A=DOTA，B₁=15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五
醯基；B₂=無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Sta；
Xaa₄=Leu
DOTA-15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-D-Phe-Gln-Trp-
Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂；C₈₂H₁₂₇N₁₉O₂₃，計算值
(m/z)：1747.8，實驗值[M+K]⁺：1785.1

化合物 5：A=DOTA， B_1 =15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五
 醯基； B_2 =4-胺基-1-哌啶-4-羧基， Xaa_1 =DPhe；
 Xaa_2 =Gly； Xaa_3 =Sta； Xaa_4 =Leu

DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸)-(4-胺基-1-羧
 甲基-哌啶)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂；
 $C_{89}H_{139}N_{21}O_{24}$ ，計算值(m/z)：1886.0，實驗值[M+K]⁺：
 1924.9

化合物 6：A=DOTA， B_1 =二胺基丁酸； B_2 =無，
 Xaa_1 =DPhe； Xaa_2 =Gly； Xaa_3 =Sta； Xaa_4 =Leu
 DOTA-二胺基丁酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-
 Leu-NH₂； $C_{75}H_{114}N_{20}O_{19}$ ，計算值(m/z)：1598.9，實驗值
 [M+K]⁺：1638.4

化合物 7：A=DOTA， B_1 =4-(2-胺基乙基)-1-羧甲基-哌嗪
 基； B_2 =無， Xaa_1 =DPhe； Xaa_2 =Gly； Xaa_3 =Sta； Xaa_4 =Leu
 DOTA-4-(2-胺基乙基)-1-羧甲基-哌嗪-D-Phe-Gln-Trp-Ala-
 Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂； $C_{79}H_{121}N_{21}O_{19}$ ，計算值(m/z)：
 1667.9，實驗值[M+Na]⁺：1691.2

化合物 8：A=DOTA， B_1 =(5-胺基-3-氧雜-戊基)-琥珀醯
 胺酸； B_2 =無， Xaa_1 =DPhe； Xaa_2 =Gly； Xaa_3 =Sta；
 Xaa_4 =Leu
 DOTA-(5-胺基-3-氧雜-戊基)-琥珀醯胺酸-D-Phe-Gln-Trp-
 Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂
 $C_{79}H_{120}N_{20}O_{21}$ ，計算值(m/z)：1685.9，實驗值[M+K]⁺：
 1723.7

實例 2(A-B-C)

a) 合成具有通用序列之鈴蟾素胜肽拮抗劑共軛物

(A=N₄-疊氮基, B=間隔基 B₁-B₂, C=具有N-末端醯胺Z之胜肽 [Z=NH₂])

N₄-三唑-dPEG₁-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Sta¹³-Leu¹⁴-NH₂

a) 合成胜肽: Fmoc-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Sta¹³-Leu¹⁴-NH₂

使用Fmoc策略在固相上手動合成胜肽。為獲得N-末端醯胺, 使用Rink醯胺MBHA樹脂LL(100-200目)。如實例1中所述進行合成。

b) 與烷基炔丙基-dPEG₁-NHS-酯偶合

在與烷基偶合之前, 將N-末端Fmoc保護自結合胜肽之樹脂上移除。使樹脂在DMF中膨脹15 min, 以DMF中之20%哌啶溶液處理兩次(15 min), 且用DMF洗滌三次。收集來自哌啶處理及隨後之DMF洗滌液之溶液用於Fmoc測定。

將2當量炔丙基-dPEG₁-NHS-酯添加至樹脂中。藉由添加DIPEA將pH值調節至8-9。將反應混合物震盪24 h且藉由凱撒測試監測偶合。

c) 去保護, 裂解及純化

將胜肽-樹脂放入裝備有玻璃料之注射器中。添加TFA/TIS/H₂O(94/2.5/2.5)溶液且將注射器攪拌2 h。在冰上將該溶液添加至50%二異丙醚與50%乙醚之混合物中以使

胜肽沈澱。藉由在3000 rpm下離心5 min收集胜肽且傾析上清液。用乙醚洗滌沈澱若干次且在真空下乾燥。將粗產物溶於水中，且如前所述藉由半製備型RP-HPLC來純化。

將共軛物藉由分析型RP-HPLC分析且藉由質譜法(ESI-MS)表徵。

d)合成 N_4 -疊氮基螯合劑。該合成包括3個步驟。

i)合成 N,N',N'',N''' -肆(第三丁氧羰基)-6-(疊氮基)-1,4,8,11-四氮雜十一烷($N_4(\text{Boc})_4\text{-N}_3$) [3]：

a) N,N',N'',N''' -肆(第三丁氧羰基)-6-(羥基)-1,4,8,11-四氮雜十一烷($N_4(\text{Bob})_4\text{-OH}$) [1]：將6-(羥基)-1,4,8,11-四氮雜十一烷(1 g, 3.1 mmol)於DMF(10 mL)中之溶液冷卻至0°C。向其中添加二碳酸二第三丁酯(3.32 mL, 15.5 mmol)於DMF(5 mL)中之溶液，隨後添加DIPEA(2.7 mL, 15.5 mmol)。隨後將反應混合物在室溫下攪拌18 h。在此反應時間之後，使反應混合物在水與乙酸乙酯之間分溶。用乙酸乙酯萃取水層三次，且用氯化鈉溶液洗滌合併之乙酸乙酯相且將其經無水硫酸鈉乾燥。過濾且在減壓下蒸發溶劑得到產率為86%之標題化合物。

ii) N,N',N'',N''' -肆(第三丁氧羰基)-6-(O-甲基磺醯基)-1,4,8,11-四氮雜十一烷 ($N_4(\text{Bob})_4\text{-O-SO}_2\text{CH}_3$) [2]：

向1(300 mg, 0.54 mmol)於吡啶(3 mL)中之溶液中添加甲基磺醯氯(84 μL , 1.08 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC監測到其完全反應。在減壓下蒸發溶劑，將殘餘物吸收於乙酸乙酯中。用10% NaHCO_3 及水將

乙酸乙酯洗滌三次且經無水硫酸鈉乾燥。過濾且在減壓下蒸發溶劑得到粗產物，將其進一步藉由矽膠管柱層析法純化得到產率為84%之標題化合物。

iii) N,N',N'',N''' -肆(第三丁氧羰基)-6-(疊氮基)-1,4,8,11-四氮雜十一烷($N_4(\text{Boc})_4\text{-N}_3$) [3]:

在75°C下將2(250 mg, 0.38 mmol)及疊氮化鈉(100 mg, 1.52 mmol)於DMF(3 mL)中之懸浮液攪拌5 h。之後將反應混合物在室溫下攪拌18 h。接著使反應混合物在水與乙酸乙酯之間分溶。用乙酸乙酯萃取水層三次，且將合併之乙酸乙酯用氯化鈉溶液洗滌並經無水硫酸鈉乾燥。過濾且在減壓下蒸發溶劑得到粗產物，接著藉由管柱層析法純化其(產率88%)。

d)在溶液中偶合

將具有末端烷基之胜肽(6.2 mg, 5 μm)及3(3 mg, 5 μm)溶於水與第三丁醇(1 mL)之1:1混合物中。添加銅粉(10 mg)隨後添加0.1 M硫酸銅(II)五水合物水溶液(60 μL , 6 μm , 1.2當量)且將反應混合物在室溫下攪拌24 h。濾除銅粉，在減壓下移除溶劑。藉由半製備型RP-HPLC純化粗胜肽。

用TFA:TIS:H₂O(95:2:3)處理螯合劑-胜肽共軛物歷時2 h。在減壓下移除溶劑。將粗產物用乙醚濕磨且如前所述藉由半製備型RP-HPLC純化其。

將共軛物藉由分析型RP-HPLC分析且藉由質譜法(ESI-MS)表徵。

化合物 14：A=N₄-疊氮基，B₁=炔丙基-dPEG₁-NHS-酯；
 B₂=無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Sta；Xaa₄=Leu
 N₄-三唑-dPEG₁-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-
 NH₂；C₆₈H₁₀₅N₂₁O₁₃，計算值(m/z)：1424.7，實驗值
 [M+H]⁺：1425.5

實例 3 (A-B-C2)

DOTA-間隔基-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-
 Leuψ(CHOH)-(CH₂)₂-CH₃

在溶液相中藉由使七胜肽 Fmoc-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-
 Xaa₂-His-OH 與經修飾之胺基酸 H-Leuψ(CHOH)-(CH₂)₃-CH₃
 縮合來合成所有偽胜肽。

a) 合成七胜肽 Fmoc-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Xaa₂-His-OH

使用 Fmoc 策略在 2-氯三苯甲基氯化物樹脂上手動合成胜肽。一般而言，將具有理論負載為 1.4 mmole/g 樹脂之 2-氯三苯甲基氯化物樹脂供應於反應器中。使樹脂在 DCM 中膨脹 30 min 且藉由添加與 4-倍莫耳濃度過量的 DCM 中之 DIPEA 混合的 1 當量胺基酸使第一胺基酸偶合。將偶合反應混合物在室溫下攪拌 2 h 且接著將樹脂以 DCM/MeOH/DIPEA(17/2/1)之混合物洗滌兩次，以 DCM 洗滌兩次且最後在 DMF 中膨脹。使用 DMF 中之 20% 哌啶將 Fmoc 去保護，且所移除之 Fmoc-保護基之量係經分光光度法在 300 nm 下測定。藉由添加與等莫耳量之 DIC/HOBt，及 4-倍莫耳濃度過量之 DMF 中之 DIPEA 混合的 2-倍莫耳濃度過量之胺基酸使下一胺基酸偶合。將樹脂在室溫下攪動 2 h 且藉

由凱撒節三酮測試監測該偶合。使用相同策略來偶合各胺基酸。

b) 與間隔基及前螯合劑 DOTA ($t\text{Bu}$)₃ 偶合

如上所述進行偶合。

c) 裂解及純化

藉由將樹脂懸浮於 TFA/TIS/DCM(1/5/94) 之混合物中使完全經保護之胜肽自固體載體上裂解下來。用注射器數次吸取 5 mL 體積之裂解溶液，將其培育 10 min 且將裂解部分收集於 50 mL 燒瓶中。在將所有部分收集起來後，將 3X10 mL 甲苯添加至該燒瓶中，蒸發溶劑且之後將產物在油泵真空下乾燥 1 h。

d) 合成 Boc-Leu ψ (CHOH)-(CH₂)₃-CH₃。該合成包括 3 個步驟。

i) 合成 Boc-Leu-N(OCH₃)CH₃

在 0°C 下將 Boc-Leu-OH(1 g, 4.3 mmol) 溶於 DCM(30 mL) 中且添加四氟硼酸 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基錄(TBTU)(1.380 g, 4.3 mmol)、HOBt(0.581 g, 4.3 mmol) 及 DIPEA(743 μ L, 4.3 mmol)。攪拌 5 min 後，添加 O,N-二甲基羥基胺鹽酸鹽(0.461 g, 4.73 mmol) 及 DIPEA(817 μ L, 4.73 mmol)。所有固體物質在 10 min 內溶解且將該混合物在 RT 下攪拌隔夜。蒸發溶劑，將反應混合物再溶解於 AcOEt 中且以 H₂O、5% 檸檬酸、H₂O、5% NaHCO₃ 水溶液、飽和 NaCl 溶液洗滌若干次。將溶液經 MgSO₄ 乾燥且在真空下移除溶劑。藉由矽膠管柱層析法純化所想要之化合

物。ESI-MS：計算值269；實驗值292 $[M + Na]^+$ 。

ii) 合成 Boc-Leu-(CH₂)₃-CH₃

藉由將鎂(0.330 g, 13.6 mmol)在N₂下懸浮於甲苯中歷時30 min使其活化。移除甲苯且在N₂下將Mg乾燥。向Mg於THF(20 mL)中之懸浮液中逐滴添加溴丁烷(1.46 mL, 13.6 mmol)且將混合物在回流下加熱。當所有鎂溶解後，在0°C下逐滴添加Boc-Leu-N(OCH₃)CH₃於THF中之溶液且將反應物攪拌2 h。添加1M HCl(150 mL)隨後添加乙酸乙酯(100 mL)。用1 M硫酸氫鉀、水洗滌有機層，將其乾燥(Na₂SO₄)且在真空下濃縮。藉由矽膠管柱層析法純化所預期之產物。藉由¹H-NMR及¹³C-NMR表徵產物。ESI-MS：計算值271；實驗值293.3 $[M + Na]^+$ 。

iii) 合成 Boc-Leuψ(CHOH)-(CH₂)₃-CH₃

向Boc-Leu-(CH₂)₃-CH₃(0.190 g, 0.7 mmol)於甲醇(5 mL)中之溶液中添加NaBH₄(0.104 g, 2.8 mmol)。將反應混合物另外攪拌1 h，接著用乙酸中和，且在減壓下移除溶劑。用飽和碳酸氫鹽溶液使所預期之產物沈澱。藉由過濾收集胜肽，將其用水、己烷洗滌且乾燥。藉由¹H-NMR及¹³C-NMR表徵產物。ESI-MS：計算值272；實驗值273 $[M + H]^+$ ；547.7 $[2M + H]^+$ 。

iv) 在溶液中偶合

使用80% TFA於DCM中之溶液使Boc-Leuψ(CHOH)-(CH₂)₃-CH₃去保護。1 h後濃縮溶液，將其用DCM洗滌數次且乾燥。將螯合劑-間隔基-胜肽溶於DMF中，添加

HATU(1.2 當量)且將混合物攪拌 1 h。將 H-Leu ψ (CHOH)-(CH₂)₃-CH₃ 溶於 DMF 中且添加至胜肽中。使用 DIPEA 將 pH 值調節至 8 且在 RT 下將該反應攪拌 4 h。

濃縮溶劑且藉由以 H₂O 在冰上沈澱獲得完全經保護之胜肽。將粗胜肽沈澱、冷卻、離心且藉由傾析與溶劑分離。為得到完全去保護之胜肽，將其溶於 DCM/TFA/TIS/H₂O 10/85/2.5/2.5 之混合物中。4 h 後濃縮溶液且在冰上使用 50% 乙醚與 50% 二異丙醚之混合物使胜肽沈澱。接著藉由在 3000 rpm 下離心 5 min 收集胜肽且傾析上清液。用乙醚洗滌沈澱若干次且將粗產物保持原樣在真空下隔夜以移除殘餘溶劑。將粗產物溶於水中且如前所述藉由製備純化其。

將共軛物藉由分析型 RP-HPLC 分析且藉由質譜法 (ESI-MS) 表徵。

化合物 9：A=DOTA，B₁=4-胺基-1-羧甲基-哌啶；B₂=無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；

DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃，C₇₄H₁₁₂N₁₈O₁₇，計算值(m/z)：1524.8，實驗值[M+K]⁺：1564.3

化合物 10：A=DOTA，B₁=15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五醯基；B₂=4-胺基-1-羧甲基-哌啶，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；

DOTA-PEG₄-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃；C₈₆H₁₃₅N₁₉O₂₂，計算值(m/z)：1786.9，實驗值[M+K]⁺：1811.1

化合物 11：A=DOTA， B_1 =15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五醯基； B_2 =無， Xaa_1 =DPhe； Xaa_2 =Gly；

DOTA-PEG₄-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃

C₇₈H₁₂₁N₁₇O₂₁，計算值(m/z)：1632.8，實驗值[M+K]⁺：1672.2

實例 4 (A-B-C-3)

DOTA-間隔基-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₃¹³-Xaa₄¹⁴-NH₂

合成具有以下通用序列之鈴蟾素共軛物：DOTA-間隔基-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂

a) 合成胜肽：Fmoc-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂

使用 Boc 策略在 MBHA 樹脂 LL(100-200 目)HCl 上手動合成胜肽。一般而言，將具有理論負載為 0.59 mmol/g 之 MBHA 樹脂供應於反應器中且使其在 DCM 中膨脹 30 min。用 10% DIPEA 於 DCM 中之溶液處理樹脂 3 次(10 min)。Boc-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-OH 之第一偶合係使用經 2 當量 HOBt 及 2 當量 DIC 活化之 2 當量 Boc-胺基酸實現。將偶合反應混合物在室溫下攪拌 2 h 且用凱撒節三酮測試監測反應。使用於 DCM 中之 30% TFA 使 Boc 去保護且將此步驟重複兩次。接著將樹脂用 10% DIPEA 於 DCM 中之溶液處理且如上所述進行偶合。

(H-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂ : C₅₆H₇₆N₁₄O₉ , 計算值(m/z) : 1089.3 , 實驗值[M+H]⁺ : 1089.8

b)與間隔基及前螯合劑DOTA('Bu)₃偶合

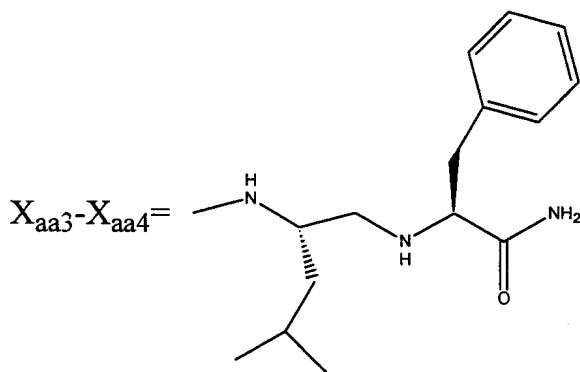
如上所述進行偶合。

c)去保護，裂解及純化

用TFA(1 mL)及TIS(30 μ L)處理胜肽且將混合物在室溫下攪拌5 min。接著將混合物在冰浴中冷卻且在攪拌下逐滴添加三氟甲磺酸(TFMSA)(100 μ L)。以塞子密封燒瓶且將混合物在室溫下攪拌2 h。在真空下使體積減少且添加冷乙醚使胜肽沈澱。用乙醚將沈澱洗滌數次且將粗產物在真空下乾燥。將粗產物溶於水中且如上所述藉由HPLC製備型來純化。

將共軛物藉由分析型RP-HPLC分析且藉由質譜法(ESI-MS)表徵。

化合物 12 : A=DOTA , B₁=4-胺基-1-羧甲基-哌啶 ; B₂=無 , Xaa₁=DPhe ; Xaa₂=Gly ; Xaa₃=Leu ψ (CH₂NH) ; Xaa₄=Phe



DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂

C₇₉H₁₁₄N₂₀O₁₇，計算值(m/z)：1615.9，實驗值[M+K]⁺：1654.9

合成具有以下通用序列之鈴蟾素共軛物：DOTA-間隔基-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CH₂NH)-Cys-NH₂

a) 合成胜肽：Fmoc-Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CH₂NH)-Cys-NH₂

使用Boc-策略藉由在MBHA樹脂(0.59 mmol/g)上之固相手動合成胜肽。使用DIC(2.5 eq.)及HOBt(2.5 eq.)作為活化劑將Boc-Cys(4-MeOBzl)-OH(2.5 eq.)偶合至樹脂。用DIPEA(5 eq.)將pH值調節至8。還原鍵¹³ ψ ¹⁴(CH₂-NH)之引入係使用溶於經酸化之二甲基甲醯胺中之Boc-Leu-醛(2.5 eq.)來進行。在20 min內緩慢添加NaBH₃CN(2.5 eq.)於DMF中之溶液，且將反應在RT下攪拌1 h。在形成還原肽鍵後，使用經N-Boc-保護之胺基酸進行所有偶合反應。

b) 與間隔基及前螯合劑DOTA('Bu)₃偶合

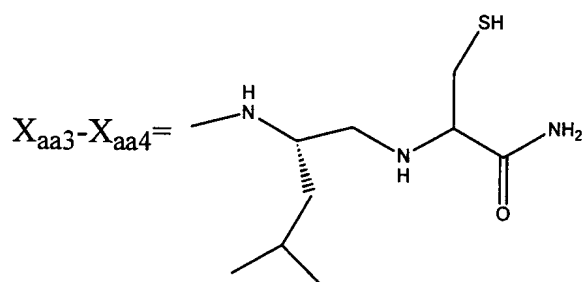
如上所述進行偶合。

c) 去保護，裂解及純化

去保護，裂解及純化係如前所述進行。將共軛物藉由分析型RP-HPLC分析且藉由質譜法(ESI-MS)表徵。

化合物 13：A=DOTA，B₁=4-胺基-1-羧甲基-哌啶；B₂=無，Xaa₁=DPhe；Xaa₂=Gly；Xaa₃=Leu ψ (CH₂NH)-；Xaa₄=

Cys



DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Cys-NH₂ ; C₇₃H₁₁₀N₂₀O₁₇S , 計算值 (m/z) : 1571.8 , 實驗值 [M+Na]⁺ : 1593.6

實例 4

合成之共軛物(化合物 1-13)的放射性標記

一般程序

向螯合劑-鈴蟾素胜肽拮抗劑共軛物於水中之 10 μ g 等分試樣中添加 1-2 mCi(¹¹¹InCl₃ , ¹⁷⁷LuCl₃ 或 ^{67/68}GaCl₃)之水溶液及 250-500 μ L 之 0.4 M 乙酸鈉緩衝液(pH=5)。在 95°C 下將此溶液加熱 30 min 且冷卻至室溫歷時 10 min。將 5 μ l 反應混合物之等分試樣添加至 25 μ l 之 Ca-DTPA 溶液(0.1 M , pH 5.2)中且藉由 HPLC 分析以便測定未標記之放射性核種之量。

實例 5

用 ¹¹⁵In 標記合成之共軛物。

鈴蟾素類似物與^{天然}In 之錯合係遵循相同實驗程序進行。

^{天然}In 係以^{天然}InCl₃ 溶液之形式使用且莫耳比為 1:1。

實例 6(活體外檢定)

GRP 受體拮抗劑之活體外表徵之材料及方法

試劑及胜肽

所有試劑皆為可獲得之最佳等級且係購自普通供應商。小鼠單株血球凝集素(HA)抗原決定基抗體係購自Covance(Berkeley, CA)。二次抗體Alexa Fluor 488山羊抗-小鼠IgG(H+L)係購自Molecular Probes, Inc. (Eugene, OR)。鈴蟾素及拮抗劑[D-Phe⁶, Leu-NHEt¹³, *des*-Met¹⁴]-鈴蟾素(6-14)(GRPR-ANTAG)係購自Bachem(Bubendorf, Switzerland)。RM26、RM1b、In-RM1b及¹⁷⁵Lu-AMBA係由H.R. Mäcke(Basel, Switzerland)提供。Fluo-4NW鈣檢定套組係購自Molecular Probes, Inc.(Eugene, OR)。

細胞株

穩定表現HA-抗原決定基標記之人類GRP受體(HEK-GRPR)的人類胚胎腎293(HEK293)細胞係如先前所述生成(Cescato等人, 2008)且將其在37°C及5% CO₂下在具有含有10%(v/v)胎牛血清(FBS)、100 U/ml盤尼西林(penicillin)、100 µg/ml鏈黴素(streptomycin)及750 µg/ml G418之GlutaMAXTM-I(DMEM)的Dulbecco's改良之Eagle培養基中培養。人類前列腺癌細胞(PC3細胞)係購自DSMZ(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; DSMZ No: ACC465)且將其在37°C及5% CO₂下在含有2 mM L-麩醯胺酸且補充有10%(v/v)FBS、100 U/ml盤尼西林及100 µg/ml鏈黴素之Ham's F12K中培養。所有培養試劑皆購自Gibco BRL(Grand Island, NY)。

結合-親和力量測

藉由對良好表徵之前列腺癌之低溫恆溫器切片或來自如前所述之HEK-GRPR或PC3細胞球粒之切片進行活體外受體自動放射照相法來測定各種化合物之GRP受體結合親和力(Markwalder等人, *Can. Res.*, 1999; 59, 1152-1159; Reubi等人, *Eur. J. Nucl. Med.*, 2000;27: 273-282; Reubi等人, *Clin. Cancer Res.* 2002;8 1139-1146)。所使用之放射性配位體為 ^{125}I -[Tyr⁴]-鈴蟾素, 已知較佳標記GRP受體(Vigna等人, *Gastroenterology*. 1987;93: 1287-1295)且 ^{125}I -[D-Tyr⁶, β -Ala¹¹, Phe¹³, Nle¹⁴]-鈴蟾素(6-14)作為通用鈴蟾素受體配位體(*Gastroenterology*. 1987;93: 1287-1295)。

參見表1中之結果。

免疫螢光顯微法

如前所述進行HEK-GRPR細胞之基於免疫螢光顯微法的內在化檢定(Cescato等人, 2006; Cescato等人, 2008)。簡言之, 將HEK-GRPR細胞在塗佈聚-D-離胺酸(20 $\mu\text{g/ml}$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)之35 mm四孔板(Cellstar, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany)上生長。對於實驗, 在37°C及5% CO₂下於生長介質中在100-倍過量之此等各種類似物存在下以10 nM鈴蟾素或以1 μM 各種鈴蟾素類似物處理細胞30 min, 或為了評估潛在拮抗性, 以10 nM鈴蟾素處理30 min, 且接著使用小鼠單株HA-抗原決定基抗體在1:1,000稀釋度下作為第一抗體且Alexa Fluor 488山羊抗-小鼠IgG (H+L)在1:600稀釋度下作為第二抗體處理以用於免疫螢光顯微法。使用Leica DM RB免疫螢光

顯微鏡及Olympus DP10相機使該等細胞成像。

由鈴蟾素誘發之GRP受體內在化係由鈴蟾素類似物化合物1、In-化合物1、化合物1b及GRPR-ANTAG有效拮抗。用媒劑(無胜肽，a)，或用10 nmol/L鈴蟾素(b)處理HEK-GRPR細胞30 min，該濃度誘發次最大內在化作用。圖(d、f、h、j)展示在1 μ mol/L類似物化合物1b、GRPR-ANTAG、化合物1及In-化合物1存在下用10 nmol/L鈴蟾素處理之細胞。化合物1b、GRPR-ANTAG、化合物1及In-化合物1在1 μ mol/L濃度下單獨之作用展示於圖(c、e、g、i、k)中。以胜肽培育之後，將細胞如上所述處理以用於免疫細胞化學。對於經鈴蟾素處理之細胞可偵測到清晰之點狀核周染色。此點狀染色係藉由過量之類似物化合物1、In-化合物1、化合物1b及GRPR-ANTAG有效消除。單獨提供之化合物-1、In-化合物1、化合物1b及GRPR-ANTAG對於GRP受體內在化無作用。

參見表1及圖2中之結果。

鈣釋放檢定

使用Fluo-4NW鈣檢定套組如前所述在PC3細胞中量測細胞內鈣釋放(Magrys等人，*J. Clin. Immunol.* 2007, 27, 181-192；Michel等人；Cescato等人，*J. Nucl. Med.* 2008；49: 318-326)。簡言之，在96孔板中接種PC3細胞(10,000個細胞/孔)且將其在37°C及5% CO₂下在培養基中培養2日。在實驗當日，用含有2.5 mM丙磺舒(probenecid)之檢定緩衝液(1×HBSS, 20 mM HEPES)洗滌細胞，且接著在37°C及5%

CO₂下以 100 μ L/孔 Fluo-4NW 染料載入含有 2.5 mM 丙磺舒之檢定緩衝液中歷時 30 min 且接著在室溫下再歷時 30 min。為量測在以待測試之鈴蟾素類似物刺激後細胞內鈣動員，將載有染料之細胞轉移至 SpectraMax M2^e (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 中。在指示濃度之類似物存在下，在室溫下於 520 nm (其中 λ_{ex} = 485 nm) 下監控螢光發射以動力學記錄細胞內鈣動員歷時 60 秒。在添加 25 μ M 離子黴素 (ionomycin) 後量測到最大螢光 (F-max)。對於載有染料的未處理之細胞進行基線量測 (F-基線)。如先前報導，資料係以最大鈣反應之百分數 (F-max-F-基線 = 100% 之最大鈣反應) 形式展示 (Magrys 等人, *J. Clin. Immunol.* 2007, 27, 181-192; Michel 等人, Cescato 等人, *J. Nucl. Med.* 2008; 49: 318-326)。所有實驗皆一式三份至少重複三次。

圖 1 展示在鈴蟾素 (BB) 存在下 In-化合物 1 及化合物 1a 表現類似拮抗劑，使鈴蟾素之劑量-反應曲線向右移動。

參見表 1 及圖 1 中之結果。

化合物 1：DOTA-Gly-胺基苯甲醯基-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 2：DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 3：DOTA-4-胺基-1-哌啶-4-羧酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 4：DOTA-15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-D-

Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 5 : DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸)-(4-胺基-1-羧基-甲基-哌啶)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 6 : DOTA-二胺基丁酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 7 : DOTA-4-(2-胺基乙基)-1-羧甲基-哌嗪-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 8 : DOTA-(5-胺基-3-氧雜-戊基)-琥珀醯胺酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

化合物 9 : DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃

化合物 10 : DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-4-胺基-1-羧甲基-哌啶)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃

化合物 11 : DOTA-15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃

化合物 12 : DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Phe-NH₂

化合物 13 : DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu ψ (CH₂NH)-Cys-NH₂

化合物 14 : N₄-三唑-dPEG₁-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂。

表 1. BN 類似物之活體外 GRP 受體結合、發送信號及內在化性質

化合物	結合IC ₅₀ (nM)平均值 ± SEM	發送Ca ⁺⁺ 動員之信號	受體內在化
1	30 ± 4,5	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
¹¹⁵ In-1	16 ± 5,3	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
2	9,7 ± 3,8	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
¹¹⁵ In-2	9,3 ± 1,9	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
3	43 ± 14	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
4	21 ± 6,5	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
5	7,3 ± 0,6	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
6	7,4 ± 2,2	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
7	11 ± 0	NA	NA
8	19 ± 3,0	NA	NA
9	3,2 ± 1,3	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
¹¹⁵ In-9	2,5 ± 0,2	拮抗/無促效劑作用	拮抗/無促效劑作用
10	6,9 ± 0,5	拮抗/無促效劑作用	NA

在與 ¹¹⁵In 非放射性同位素錯合後量測化合物 1、2 及 9 之結合親和力。資料顯示與同位素之錯合併不影響與受體之結合親和力以及拮抗性。

在相關公開案中之標準方法：

Cescato R, Schulz S, Waser B, 等人 *Internalization of sst2, sst3 and sst5 receptors: Effects of somatostatin agonists and antagonists. J. Nucl. Med.*, 2006;47:502-511.

Cescato R, Maina T, Nock B, Nikolopoulou A, Charalambidis D, Piccand V, Reubi JC. *Bombesin Receptor Antagonists May Be Preferable to Agonists for Tumor Targeting. J. Nucl. Med.* 2008 ; 49:318-326.

Magrys, A. ; Anekonda, T. ; Ren, G. ; Adamus, G. *The role of anti-alpha-enolase autoantibodies in pathogenicity*

of autoimmune-mediated retinopathy. J. Clin. Immunol. 2007, 27, 181-192.

Markwalder R, Reubi JC. *Gastrin-releasing peptide receptors in the human prostate: relation to neoplastic transformation. Cancer Res.* 1999;59:1152-1159.

Michel, N. ; Ganter, K. ; Venzke, S. ; Bitzegeio, J. ; Fackler, O. T. ; Kepplet, O. T. *The Nef protein of human immunodeficiency virus is a broad-spectrum modulator of chemokine receptor cell surface levels that acts independently of classical motifs for receptor endocytosis and Galphai signaling. Mol. Biol. Cell.* 2006, 17, 3578-3590

Reubi JC, Schaer JC, Waser B, 等人 *Affinity profiles for human somatostatin receptor sst1-sst5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. Eur. J. Nucl. Med.,* 2000;27:273-282.

Reubi JC, Wenger S, Schmuckli-Maurer J, 等人 *Bombesin Receptor Subtypes in Human Cancers: Detection with the Universal Radioligand (125)I-[D-TYR(6), beta-ALA(11), PHE(13), NLE(14)] Bombesin(6-14). Clin. Cancer Res.,* 2002;8:1139-1146.

Vigna SR, Mantyh CR, Giraud AS, 等人 *Localization of specific binding sites for bombesin in the canine gastrointestinal tract. Gastroenterology.* 1987;93:1287-1295.

實例 7

帶有PC-3腫瘤之裸小鼠之生物分布實驗

將 10,000,000 個在無菌磷酸鹽緩衝生理食鹽水溶液 (PBS, pH 7.4) 中新鮮展開之 PC-3 腫瘤細胞經皮下植入雌性裸小鼠中。接種 11 日後，將 10 pmol 放射性標記之胜肽 (約 0.18 MBq) (在 NaCl 中稀釋 (0.1% 牛血清白蛋白, pH 7.4, 總注射體積 = 100 μ L)) 注射入小鼠之尾部靜脈。為測定腫瘤或受體陽性器官中非特異性吸收，將一組 4 個動物以 0.02 μ mol 未經標記之胜肽於 0.9% NaCl 中之溶液預注射且在 5 min 後注射經放射性標記之胜肽。在 1、4、24、48 及 72 h 時間間隔中，將小鼠 (3-4 個一組) 處死且收集所關注之器官，用過量血液沖洗，稱重並在 γ -計數器中計數。

¹¹¹In-化合物 1

¹¹¹In-DOTA-Gly-胺基苯甲醯基-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

注射量	5 μ Ci / 10 pmol / 100 μ L/小鼠
阻斷化合物	2000倍
動物	帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組
時間點	1 h、4 h、4 h阻斷、24 h、48 h、72 h

器官	1 h	4 h	4 h阻斷	24 h	48 h	72 h
血液	0.86 $\pm$ 0.17	0.04 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
心臟	0.28 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.00 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00
肝臟	1.93 $\pm$ 0.29	0.38 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.08	0.19 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.02
脾臟	0.57 $\pm$ 0.21	0.12 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.00
肺	0.82 $\pm$ 0.13	0.12 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00
腎	3.99 $\pm$ 0.33	1.93 $\pm$ 0.18	2.67 $\pm$ 0.10	1.01 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.09	0.28 $\pm$ 0.02
胃	3.31 $\pm$ 0.63	0.76 $\pm$ 0.14	0.07 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01
腸	1.73 $\pm$ 0.48	0.20 $\pm$ 0.10	0.07 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00
腎上腺	4.14 $\pm$ 1.46	1.20 $\pm$ 0.12	0.10 $\pm$ 0.06	1.24 $\pm$ 0.16	0.38 $\pm$ 0.09	0.36 $\pm$ 0.04
胰腺	21.92 $\pm$ 1.34	1.32 $\pm$ 0.31	0.07 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01
垂體	7.80 $\pm$ 1.90	0.85 $\pm$ 0.45	0.11 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.19	0.03 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.07

肌肉	0.19±0.06	0.03±0.01	0.02±0.00	0.03±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
骨	0.40±0.10	0.18±0.07	0.04±0.01	0.14±0.03	0.03±0.00	0.03±0.01
腫瘤	14.24±1.75	13.46±0.80	0.46±0.00	6.58±1.14	2.08±0.12	1.31±0.23

腫瘤:組織	1 h	4 h	24 h	48 h	72 h
腫瘤:腎	3.6	7.0	6.5	4.2	4.7
腫瘤:肝臟	7.4	35.4	34.6	20.8	14.5
腫瘤:血液	16.5	336.5	658.0	1600.0	1871.4
腫瘤:肌肉	75.0	448.7	219.3	693.3	1091.7

⁶⁸Ga-化合物 1

⁶⁸Ga-DOTA-Gly- 胺基苯甲醯基 -D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

動物

帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組

注射量

1.27 μCi/10 pmol/100 μl/小鼠

阻斷化合物

3000倍化合物1

時間點

1 h、1 h阻斷、2h

器官	1 h	1 h阻斷	2 h
血液	0.86±0.09	0.55±0.30	0.39±0.15
心臟	0.33±0.21	0.30±0.18	0.14±0.02
肝臟	1.14±0.37	1.05±0.60	0.98±0.32
脾臟	1.29±0.53	0.08±0.05	0.08±0.01
肺	0.80±0.33	0.71±0.23	0.21±0.09
腎	2.79±0.39	3.18±1.79	1.21±0.12
胃	3.09±0.51	0.41±0.31	1.68±0.02
腸	2.09±0.17	1.06±0.55	5.39±0.52
腎上腺	3.31±0.78	0.07±0.06	0.89±0.62
胰腺	27.84±4.88	0.96±0.45	10.73±2.76
垂體	13.35±1.32	0.28±0.08	0.22±0.00
肌肉	0.26±0.08	0.07±0.05	0.20±0.02
骨	0.03±0.01	0.18±0.11	0.03±0.01
腫瘤	8.71±0.67	2.04±1.04	10.45±1.61

	1 h	2 h
腫瘤:腎	3.13	8.64
腫瘤:肝臟	7.66	10.68
腫瘤:胰腺	0.31	0.97
腫瘤:血液	10.18	27.08
腫瘤:肌肉	33.74	53.51

¹¹¹In-化合物 2

¹¹¹In-DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

注射量	5 µCi/10 pmol/100 µl/小鼠
阻斷化合物	2000倍
動物	帶有PC3腫瘤之裸小鼠：3個小鼠/組
時間點	1 h、4 h、4 h阻斷、24 h、48 h、72 h

器官	1 h	4 h	4 h阻斷	24 h	48 h	72 h
血液	0.77±0.28	0.05±0.04	0.13±0.02	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
心臟	0.32±0.09	0.04±0.03	0.09±0.01	0.02±0.01	0.01±0.00	0.02±0.02
肝臟	0.49±0.12	0.18±0.06	0.34±0.03	0.09±0.01	0.07±0.01	0.06±0.02
脾臟	0.53±0.20	0.12±0.06	0.16±0.02	0.06±0.02	0.05±0.01	0.06±0.03
肺	0.70±0.30	0.10±0.07	0.19±0.01	0.04±0.03	0.11±0.24	0.04±0.02
腎	4.78±1.11	2.14±0.73	2.98±0.20	1.25±0.16	0.91±0.09	0.74±0.18
胃	3.15±0.78	1.07±0.15	0.12±0.02	0.06±0.02	0.03±0.01	0.05±0.01
腸	2.11±0.47	0.25±0.15	0.11±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
腎上腺	3.46±2.07	1.17±0.54	1.10±0.60	0.71±0.29	0.54±0.29	1.01±0.74
胰腺	22.64±4.71	1.55±0.48	0.10±0.00	0.32±0.09	0.19±0.04	0.19±0.02
垂體	7.00±5.68	0.59±0.55	0.58±0.49	0.07±0.33	0.21±0.33	0.51±0.24
肌肉	0.29±0.17	0.05±0.04	0.06±0.02	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01
骨	0.91±0.68	0.35±0.57	0.35±0.11	0.20±0.18	0.12±0.11	0.15±0.05
腫瘤	15.23±4.78	11.75±2.43	0.45±0.04	6.84±1.02	4.67±0.39	4.07±0.34

腫瘤:組織	1 h	4 h	24 h	48 h	72 h
腫瘤:腎	3.2	5.5	5.5	5.1	5.5
腫瘤:肝臟	30.9	64.6	74.1	67.2	63.0
腫瘤:血液	19.9	243.9	2744.6	3823.7	3391.2
腫瘤:胰腺	0.7	7.6	21.4	24.6	21.4
腫瘤:肌肉	52.0	260.2	436.6	354.5	165.4

⁶⁸Ga-化合物 2

⁶⁸Ga-DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

放射性配位體

動物

注射量

時間點

⁶⁸Ga-化合物 2

帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組

1.27 µCi/10 pmol/100 µl/小鼠

1 h

器官	1h
血液	0.45±0.01
心臟	0.19±0.02
肝臟	0.41±0.04
脾臟	0.36±0.01
肺	0.34±0.03
腎	1.87±0.08
胃	2.13±0.34
腸	1.54±0.22
腎上腺	2.48±0.48
胰腺	11.63±0.19
垂體	0.36±0.19
肌肉	0.13±0.00
骨	0.23±0.03
腫瘤	9.31±1.58

	1 h
腫瘤:腎	4.98
腫瘤:肝臟	22.60
腫瘤:胰腺	0.80
腫瘤:血液	20.85
腫瘤:肌肉	74.02

¹¹¹In-化合物 4

¹¹¹In-DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

注射量	5 μCi/10 pmol/100 μl/小鼠
阻斷化合物	2000倍
動物	帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組
時間點	1 h、4 h、4 h阻斷、24 h、48 h、72 h

器官	1 h	4 h	4 h阻斷	24 h
血液	0.21 ±0.02	0.02±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00
心臟	0.08±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00	0.00±0.00
肝臟	0.22±0.01	0.09±0.01	0.09±0.01	0.03±0.01
脾臟	0.18±0.10	0.07±0.02	0.04 ±0.01	0.01 ±0.00
肺	0.24±0.01	0.07±0.01	0.04 ±0.01	0.01 ±0.01
腎	1.85±0.15	1.38±0.37	1.40±0.29	0.24±0.01
胃	2.01±0.36	0.56±0.18	0.03±0.01	0.01 ±0.01
腸	1.16±0.24	0.10±0.04	0.05±0.04	0.02±0.00
腎上腺	2.18±0.93	0.86±0.17	0.07±0.06	0.59±0.16
胰腺	10.96±0.57	0.52±0.05	0.02±0.00	0.01 ±0.01

垂體	4.23±1.46	0.55±0.20	0.17±0.10	0.00±0.00
肌肉	0.08±0.02	0.02±0.01	0.01±0.00	0.00±0.00
骨	0.16±0.06	0.12±0.04	0.02±0.01	0.04 ±0.02
腫瘤	10.56±0.70	8.63±1.13	0.45±0.06	3.23±0.52

腫瘤:組織	1 h	4 h	24 h
腫瘤:腎	5.71	6.27	13.40
腫瘤:胰腺	0.96	16.71	345.16
腫瘤:血液	49.67	552.10	3457.24
腫瘤:肌肉	140.10	349.48	808.55
腫瘤:骨	64.16	71.75	86.62

¹¹¹In-化合物 5

¹¹¹In-DOTA-(15-胺基-4,7,10,13-四氧雜十五烷酸)-(4-胺基-1-羧基-甲基-哌啶)-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

動物	帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3-4個 小鼠/組 3-4小鼠/組
注射量	5 μCi/10 pmol/100 μl/小鼠
阻斷化合物	2000倍
時間點	1 h、4 h、4 h阻斷、24 h

器官	1 h	4 h阻斷	4 h	24 h
血液	0.75 ±0.21	0.02 ±0.00	0.03 ±0.01	0.01 ±0.00
心臟	0.28 ± 0.06	0.02 ±0.00	0.03 ±0.01	0.02 ±0.00
肝臟	0.40 ± 0.09	0.14 ±0.01	0.15 ±0.05	0.11 ±0.02
脾臟	0.80 ±0.28	0.06 ±0.01	0.09 ±0.03	0.07 ±0.01
肺	0.62 ±0.15	0.05 ±0.01	0.15±0.19	0.51 ±0.73
腎	5.08 ±0.72	1.76 ±0.36	2.04 ±0.15	1.37 ±0.22
胃	3.92 ± 1.26	0.06 ±0.01	0.87 ±0.58	0.05 ±0.01
腸	2.39 ±0.42	0.03 ±0.01	0.17±0.10	0.05 ±0.02
腎上腺	3.63 ± 0.53	0.07 ±0.02	0.68 ±0.31	0.62 ±0.16
胰腺	26.83 ±4.34	0.06 ±0.02	1.36 ± 0.81	0.33 ±0.05
垂體	9.02 ±0.99	0.23±0.14	0.38 ±0.16	0.46 ± 0.52
肌肉	0.19 ±0.07	0.01 ±0.00	0.02 ±0.00	0.02 ±0.00
骨	0.34 ± 0.04	0.03 ±0.03	0.08 ±0.02	0.08 ±0.02
腫瘤	10.27 ±0.36	0.61 ±0.07	9.35 ±0.73	6.33 ±0.76

腫瘤:組織	1 h	4 h	24 h
腫瘤:血液	13.73	319.66	1155.51
腫瘤:腎	2.02	4.59	4.62
腫瘤:胰腺	0.38	6.90	19.16
腫瘤:肌肉	53.65	475.17	364.92
腫瘤:骨	29.93	124.55	76.65

¹¹¹In-化合物 9

¹¹¹In-DOTA-DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leuψ(CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃

注射量	5 μCi/10 pmol/100 μl/小鼠
阻斷化合物	2000倍
動物	帶有PC3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組
時間點	1 h、4 h、4 h阻斷、24 h、48 h、72 h

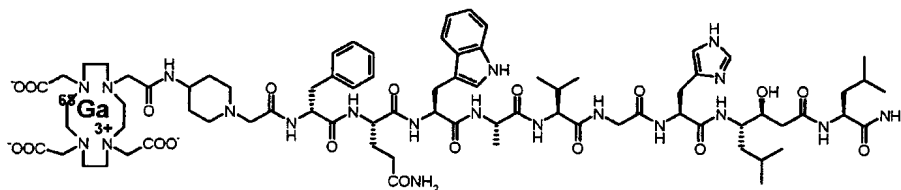
器官	1 h	4 h	4 h阻斷	24 h	48 h	72 h
血液	0.43±0.10	0.12±0.03	0.04±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
心臟	0.17±0.03	0.09±0.02	0.15±0.05	0.03±0.01	0.02±0.00	0.08±0.03
肝臟	0.73±0.12	0.49±0.14	0.40±0.02	0.20±0.02	0.11±0.01	0.10±0.02
脾臟	1.13±0.41	0.57±0.24	0.23±0.03	0.21±0.06	0.15±0.04	0.15±0.04
肺	0.45±0.05	0.21±0.06	0.38±0.06	0.08±0.04	0.05±0.02	0.18±0.07
腎	5.23±3.01	2.43±0.47	2.88±1.52	1.41±0.22	0.97±0.06	0.55±0.15
胃	4.43±2.48	5.72±4.04	0.16±0.03	1.08±0.15	0.43±0.10	0.28±0.09
腸	3.61±0.61	3.31±1.61	0.14±0.02	0.35±0.05	0.16±0.07	0.10±0.01
腎上腺	10.66±2.64	5.16±1.55	1.36±0.56	2.31±0.96	2.24±1.43	1.84±0.36
胰腺	65.69±8.14	39.80±9.25	0.18±0.04	4.52±0.53	2.30±0.19	1.06±0.19
垂體	12.63±3.26	5.54±2.07	3.72±1.62	0.71±0.37	0.56±0.24	2.56±0.28
肌肉	0.22±0.06	0.14±0.04	0.13±0.07	0.05±0.01	0.03±0.01	0.08±0.04
骨	1.31±1.29	0.71±0.25	1.61±0.52	0.29±0.14	0.23±0.13	1.08±0.83
腫瘤	9.18±1.16	13.17±5.01	0.38±0.08	8.39±0.88	5.89±0.351	3.04±1.44

腫瘤:組織	1 h	4 h	24 h	48 h	72 h
腫瘤:腎	1.8	5.4	6.0	6.1	6.2
腫瘤:肝臟	12.7	26.7	42.4	53.0	35.0
腫瘤:血液	21.1	109.7	631.4	803.8	304.0
腫瘤:胰腺	0.2	0.3	1.9	2.6	2.9
腫瘤:肌肉	42.6	94.7	169.2	191.9	42.9

實例 8

Ga-68-DOTA化合物2在帶有PC-3及LNCaP-腫瘤之小鼠中之PET/CT-成像、生物分布實驗、結合親和力及穩定性
成像+生物分布

化合物2：DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂



經驗式：C₇₈H₁₁₅N₂₀O₁₉Ga；分子量：1704.89

在注射 10 MBq 放射性示蹤劑 1 h 後在微型 PET/CT(Inveon, Siemens)上對帶有PC-3及LNCaP腫瘤之小鼠體內之Ga-68-DOTA-化合物2成像。由於此鈴蟾素拮抗劑之快速腎清除率極低，因此背景活性僅在一些腎及膀胱吸收中觀測到。在異種移植物中可視之高腫瘤對比度係由 100 µg 鈴蟾素或非放射性化合物2自身有效阻斷。鈴蟾素受體成功地經鈴蟾素阻斷，造成關鍵的腫瘤信號缺失(圖3a及3b為帶有PC-3腫瘤之小鼠 + 圖4a及4b為帶有LNCaP-腫瘤之小鼠)。

結合親和力

Ga-68-DOTA-化合物2與GRPr之結合親和力係經由兩種不同方法測定，該等方法包含受體在人類組織上之自動放射照相法及使用PC-3細胞進行細胞檢定。兩種方法皆得到高結合親和力之化合物2，其中基於非放射性DOTA-化合物2胜肽之IC₅₀約為8 nM。

小鼠血漿及微粒體中之穩定性

藉由不同活體外及活體內方法所量測，Ga-68-DOTA-化合物2展示良好之代謝穩定性。在不帶有腫瘤之小鼠中研究Ga-68-DOTA-化合物2之活體內血漿穩定性。靜脈內注射約20 MBq之Ga-68-DOTA-化合物2後1、3、5、10及15 min時藉由HPLC分析小鼠血漿及尿(圖8a、b、c、d、e)。數分鐘後，發現放射性示蹤劑之極小血漿降級，在1.3 min及1.5 min滯留時間處展示兩個極小/極性代謝物，其亦在尿中作為主要代謝物出現。化合物自身出現之滯留時間為11.6-11.7，在p.i. 5 min處開始展示雙峰。

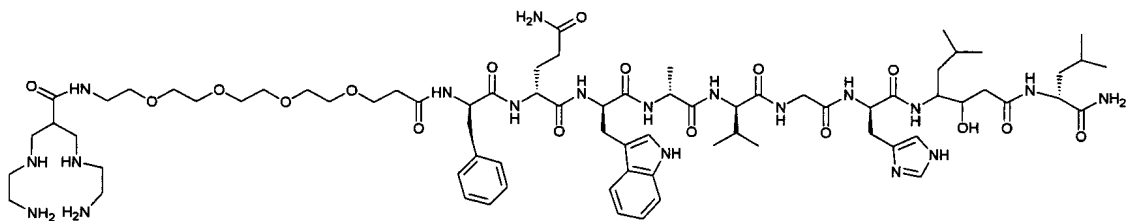
Ga-68-DOTA-化合物2之微粒體穩定性係使用以放射性示蹤劑培育之小鼠及人類微粒體測定，且藉由HPLC分析。未發現小鼠或人類微粒體中Ga-68-DOTA-化合物2之降級。在層析圖上偵測之極少雜質亦無需微粒體輔助因子而存在。

實例9

在帶有PC-3-腫瘤之小鼠中^{99m}Tc-ARN4-06之SPECT/CT-成像及生物分布實驗

參見上述實驗程序

放射性配位體	^{99m} Tc-ARN4-06
動物	帶有PC-3腫瘤之裸小鼠；3個小鼠/組
注射量	10 µCi/10 pmol/100 µl/小鼠
時間點	1 h、4 h及24 h



器官	1 h	標準差	4 h	標準差	24 h	標準差
血液	1.32	0.07	0.33	0.05	0.04	0.01
心臟	0.64	0.15	0.22	0.03	0.10	0.04
肝臟	6.31	1.16	3.62	1.16	1.19	0.36
脾臟	3.91	0.66	1.29	0.53	0.87	0.18
肺	5.11	1.00	3.17	1.51	1.69	0.84
左腎	6.55	0.59	2.73	0.42	1.28	0.30
胃	8.09	1.45	5.44	1.26	0.61	0.19
腸	8.41	2.39	2.02	0.80	0.16	0.08
腎上腺	11.99	1.62	6.31	0.27	1.41	0.45
胰腺	72.50	8.98	11.18	2.89	0.41	0.20
垂體	6.86	2.85	2.12	0.59	0.83	0.31
肌肉	0.27	0.03	0.07	0.00	0.18	0.12
骨	0.78	0.13	0.45	0.18	0.35	0.20
腫瘤	28.66	1.75	34.68	3.71	18.40	2.58
腎	6.26	0.48	2.84	0.49	1.24	0.32

腫瘤:器官比率	1 h	4 h	24 h
腫瘤:血液	20.79	85.11	455.94
腫瘤:心臟	36.75	150.38	176.45
腫瘤:肝臟	4.37	9.50	15.47
腫瘤:脾臟	7.50	20.51	21.05
腫瘤:肺	5.64	11.78	10.88
腫瘤:腎	4.26	12.92	14.35
腫瘤:胃	3.32	5.83	30.02
腫瘤:腸	3.20	16.51	117.53
腫瘤:腎上腺	2.31	2.62	13.07
腫瘤:胰腺	0.38	3.28	44.93
腫瘤:垂體	4.43	4.40	22.14
腫瘤:肌肉	116.82	283.06	99.65
腫瘤:骨	34.10	35.16	52.06
腫瘤:腎	4.25	12.25	14.87

圖 5 展 示 ^{99m}Tc-ARN4-06 之 SPECT/CT 影 像 (15 MBq/200 pmol)

實 例 10

在帶有PC-3-腫瘤之小鼠中 ^{99m}Tc -ARN4-05之SPECT/CT-
成像及生物分布實驗

參見上述實驗程序

放射性配位體

^{99m}Tc -ARN4-05

放射性配位體

^{99m}Tc -ARN4-05

動物

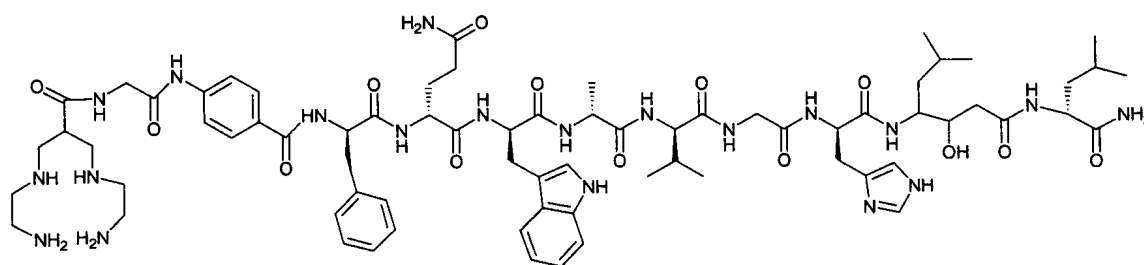
帶有PC-3腫瘤之裸小鼠；6-9個小鼠/組

注射量

10 μCi /10 pmol/100 μl /小鼠

時間點

1 h、4 h、24 h



器官	1 h	標準差	4 h	標準差	24 h	標準差
血液	1.69	0.14	0.40	0.05	0.09	0.02
心臟	0.68	0.02	0.20	0.03	0.14	0.07
肝臟	12.32	1.01	7.75	0.62	3.88	0.40
脾臟	4.00	0.60	1.72	0.34	0.83	0.22
肺	3.11	0.47	1.24	0.41	1.15	1.47
左腎	10.50	1.20	6.12	1.17	1.42	0.13
胃	5.68	0.01	4.86	1.04	0.42	0.15
腸	6.97	1.57	2.12	0.37	0.12	0.01
腎上腺	19.05	3.06	7.91	2.70	2.08	0.31
胰腺	64.86	6.72	19.86	2.35	0.57	0.21
垂體	3.67	2.03	1.15	0.11	1.53	1.33
肌肉	0.43	0.16	0.08	0.02	0.11	0.04
骨	1.34	0.26	0.57	0.11	0.41	0.19
腫瘤	22.50	2.62	29.91	4.00	15.16	0.45

腫瘤:器官比率	1 h	4 h	24 h
腫瘤:血液	13.30	74.77	167.74
腫瘤:心臟	33.19	149.55	105.06
腫瘤:肝臟	1.83	3.86	3.91
腫瘤:脾臟	5.62	17.41	18.21
腫瘤:肺	7.24	24.11	13.21
腫瘤:腎	2.14	4.89	10.71

腫瘤:胃	3.96	6.15	35.99
腫瘤:腸	3.23	14.09	129.43
腫瘤:腎上腺	1.18	3.78	7.30
腫瘤:胰腺	0.35	1.51	26.66
腫瘤:垂體	6.14	25.96	9.93
腫瘤:肌肉	52.54	364.22	133.21
腫瘤:骨	16.80	52.85	37.06

圖 6 展示 ^{99m}Tc -ARN4-05(15 MBq/200 pmol)之 SPECT/CT 影像

實例 11

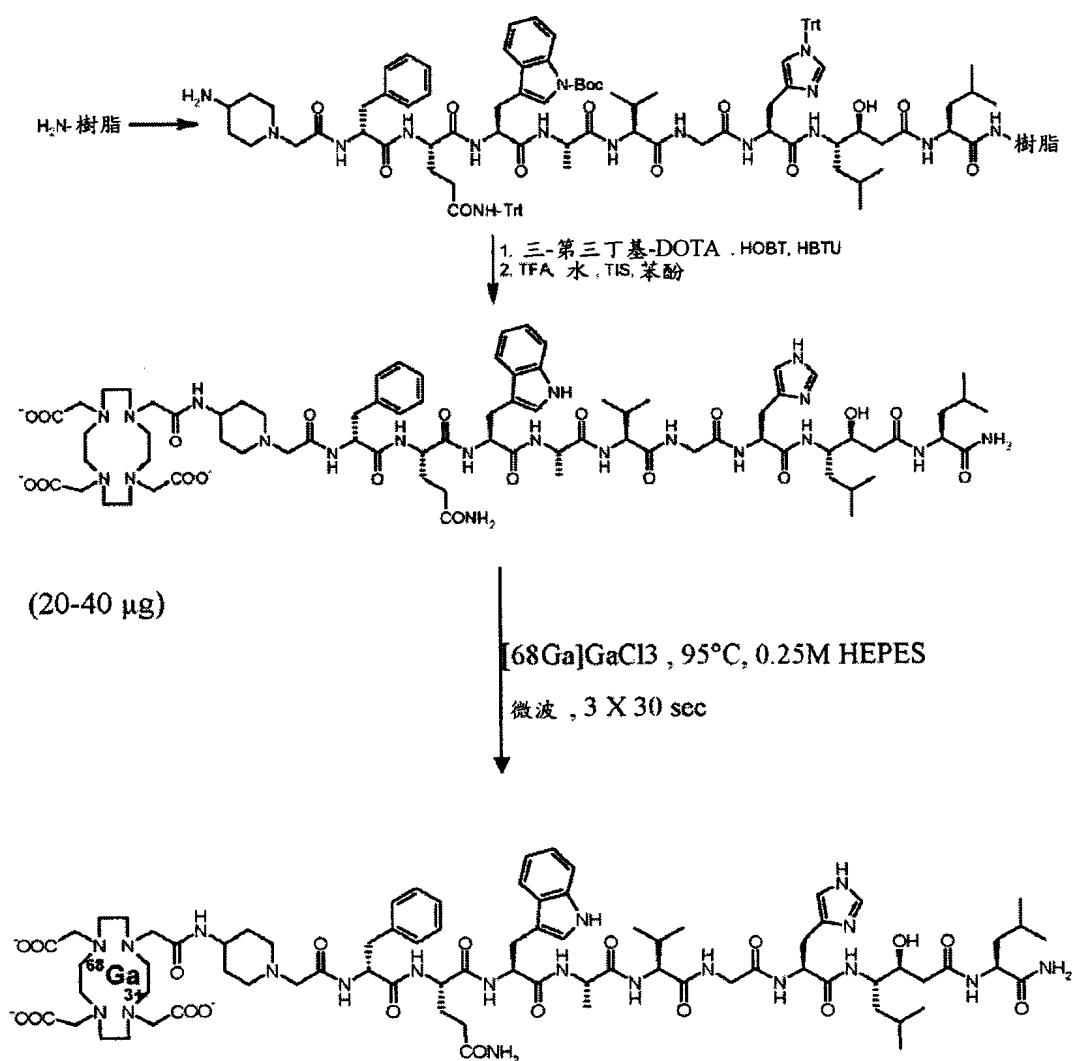
合成 Ga-68-DOTA 化合物 2

步驟 1：藉由固相胜肽合成(SPPS)合成非放射性胜肽，隨後使用聚苯乙烯-支撐之 Rink 醯胺樹脂的標準 Fmoc 策略

步驟 2：

350 μl 0.25 M HEPES 於惠頓 (Wheaton) V 瓶中

- 在 400 μl 97.6% 丙酮 / 0.05 N HCl 中添加 $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$
- 用 0.1 M HCl 將 pH 值調節至約 3.5
- 在 40 μl 水中添加 40 μg 胜肽
- 加熱 75 W (95°C) 歷時 30 s
- 靜置 30 s
- 重複加熱且再靜止三次
- 將 5 ml 水添加至反應混合物中
- 在 tC18 Light SPE 上固定
- 洗滌水 (5 ml)
- 洗提 EtOH (500 μl)



放射性化學產率(未最佳化)	79 -231 MBq (32-60% d.c.)
起始活性	189-593 MBq
標記編號	10
無效	0
放射性化學純度	>98%(藉由HPLC及ITLC)
特異性活性	3,2-11.8 GBq/ μmol

圖 7 展示 Ga-68-DOTA 化合物 2 於逆相管柱上之 HPLC 分析
產物純度

管柱： ACE 5 μ C18 50 $\times$ 4,6 mm

溶劑： 溶劑 A： H₂O+0.1% TFA

溶劑B： MeCN+0.1% TFA

梯度： 7 min內 5-95%

流速： 2 ml/min

實例 12

Lu-177-DOTA化合物2之血清穩定性

化合物2： DOTA-4-胺基-1-羧甲基-哌啶-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂

亦在人類血清中研究經Lu-177放射性標記之Lu-177-DOTA化合物2之血清穩定性。如藉由HPLC方法所分析，在將Lu-177-DOTA化合物2在人類血清中培育96 h後，仍有70%之化合物為完整的(圖9)。向先前已在37°C及5% CO₂環境下平衡之1 mL新鮮製備之人類血清中添加0.03 nmol經¹⁷⁷Lu-標記之胜肽標準溶液。將混合物在5% CO₂、37°C環境下培育。在不同時間點，將100-μL等分試樣(一式三份)移除且用200 μL EtOH處理以沈澱血清蛋白。接著將樣品在5000 rpm下離心15 min。移除50 μL上清液以便在γ-孔計數器中進行活性計數，將沈澱物用1 mL EtOH洗滌兩次且計數，且將上清液中之活性與離心塊中之活性比較以得到未與蛋白或轉移至血清蛋白中之放射性金屬結合之胜肽的百分比。用HPLC(溶離劑：A=0.1%三氟乙酸於水中之溶液及B=乙腈；梯度：0 min 95% A；20 min 50% A)分析上清液以測定胜肽在血清中之穩定性。

圖9展示Lu-177-DOTA化合物2在人類血清中之穩定性

實例 13

比較F18-膽鹼與F18-FDG

Ga-68 RM2之生物分布參見下表

Ga-68-	DOTA-	4-胺基-1-羧甲基-哌啶-	D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂
--------	-------	----------------	---

在 p.i. 1 h 時，在帶有 PC-3 腫瘤之小鼠中，比較用於前列腺癌成像之 F-18 示蹤劑 [¹⁸F] 氟乙基膽鹼 (FEC) 與 FDG (腫瘤學中金標準 F18 示蹤劑)。高的腫瘤:組織比率強調 Ga-68 化合物 RM2 對於 PET 成像之診斷有用性

參見圖 10。

【圖式簡單說明】

圖 1：鈴蟾素類似物之劑量-反應曲線係由鈣釋放檢定來測定。鈣釋放檢定係如材料及方法中所述進行。將 PC3 細胞經濃度範圍介於 0.01 nmol/L 與 10 μmol/L (●) 之間的單獨之鈴蟾素處理，或在 10 μmol/L 鈴蟾素類似物化合物 1 (▲) 或 In-化合物 1 (◆) 或鈴蟾素類似物化合物 1a (■) 存在下處理。化合物 1 (單獨在 1 μmol/L 及 10 μmol/L 化合物 1 (△) 下測試)、In-化合物 1 (×) 及化合物 1a (□) 對於 PC3 細胞中之鈣釋放無影響。化合物 1a 係指無連接子及螯合劑 (D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂) 之結合序列 1。化合物 1 係指螯合劑 (D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂)。In-化合物 1 係指 In-螯合之 (D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂)。

圖 2：HEK-GRPR 細胞免疫螢光顯微法

使用小鼠單株 HA-抗原決定基抗體及 HEK-GRPR 細胞進

行化合物 1、In-化合物 1、化合物 1b 及 GRPR-ANTAG 之免疫螢光顯微法。(a)無胜肽，(b)10 nmol/L 鈴蟾素，(c)化合物 1b，(d)化合物 1b + 10 nmol/L 鈴蟾素，將(d、f、h、j)細胞在 1 μ mol/L 類似物化合物 1b、GRPR-ANTAG、化合物 1 及 In-化合物 1 存在下以 10 nmol/L 鈴蟾素處理，將(c、e、g、i)細胞以化合物 1b、GRPR-ANTAG 及化合物 1 處理。

圖 3a、3b、4a、4b：在 Ga-68-DOTA 化合物 2 之帶有 PC-3 (3) 及 LNCaP (4)-腫瘤小鼠中的 PET-成像。a) 在注射 10 MBq 放射性示蹤劑 1 h 後，b) 以 100 μ g 鈴蟾素阻斷。

圖 5：在帶有 PC-3-腫瘤之小鼠中 ^{99m}Tc -ARN4-06(15 MBq/200 pmol) 之 SPECT/CT 影像。

圖 6：在帶有 PC-3-腫瘤之小鼠中 ^{99m}Tc -ARN4-05(15 MBq/200 pmol) 之 SPECT/CT 影像。

圖 7：在逆相管柱上進行 Ga-68-DOTA 化合物 2 之 HPLC 分析。

圖 8a、b、c、d、e：藉由 HPLC 分析小鼠血漿及尿中 Ga-68-DOTA 化合物 2 之穩定性檢定。

圖 9：Lu-177-DOTA 化合物 2 之人類血清穩定性。

圖 10：比較腫瘤/組織 Ga-68 RM2 之 F18 FDG 與 F18 膽鹼。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：98107446

※申請日：98.3.6

※IPC 分類：~~C07K~~ A61K 51/08 2006.01

一、發明名稱：(中文/英文)

鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物

BOMBESIN ANALOG PEPTIDE ANTAGONIST CONJUGATES

二、中文發明摘要：

本發明提供一種診斷及治療藥物，其為具有通式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中A為包含至少一種放射性核種金屬之金屬螯合劑，B為連接至C之N-末端之間隔基或共價鍵且C為具有如所主張之序列的鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中x進一步為1至3之整數且n為1至6之整數。

(I) $[A-(B)_n]_x-C$

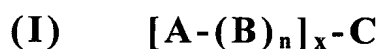
三、英文發明摘要：

To provide a diagnostic and therapeutic medicament, a bombesin analog peptide antagonist conjugate is provided which has general Formula (I), wherein A is a metal chelator comprising at least one radionuclide metal, B is a spacer linked to N-terminal of C or a covalent bond and C is a bombesin analog peptide antagonist having a sequence as claimed, where further x is an integer from 1 to 3 and n is an integer from 1 to 6.

(I) $[A-(B)_n]_x-C$

七、申請專利範圍：

1. 一種具有通式(I)之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物



其中

x為1至3之整數，

n為1至6之整數，

A為包含至少一種放射性核種金屬之金屬螯合劑，

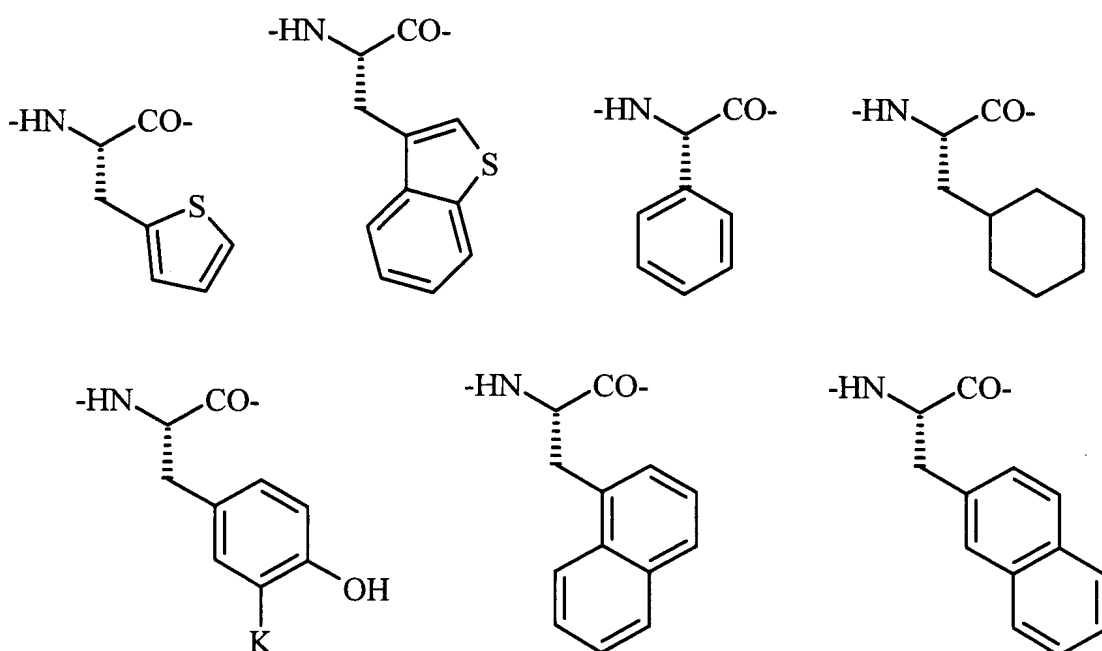
B為連接至C之N-末端之間隔基或一共價鍵，

C為序列C-1至C-4之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑，其中：

C-1: Xaa_1^6 -Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₃¹³-Xaa₄¹⁴-ZH，

其中：

Xaa₁為D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp或具有以下所述之式之任一者之殘基



K 為 F、Cl、I 或 NO_2 ，

Xaa₂ 為 Gly 或 β -Ala，

Xaa₃ 為抑制素、抑制素類似物及異構體、4-Am,5-MeHpA、4-Am,5-MeHxA 或 α -取代胺基酸，

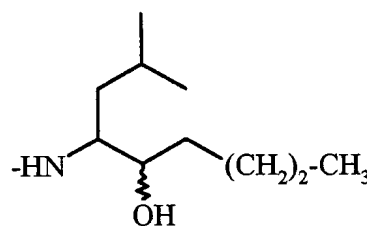
Xaa₄ 為 Leu、Cpa、Cba、CpnA、Cha、t-buGly、tBuAla、Met、Nle 或 異-Bu-Gly，且

Z 為 NH、O；

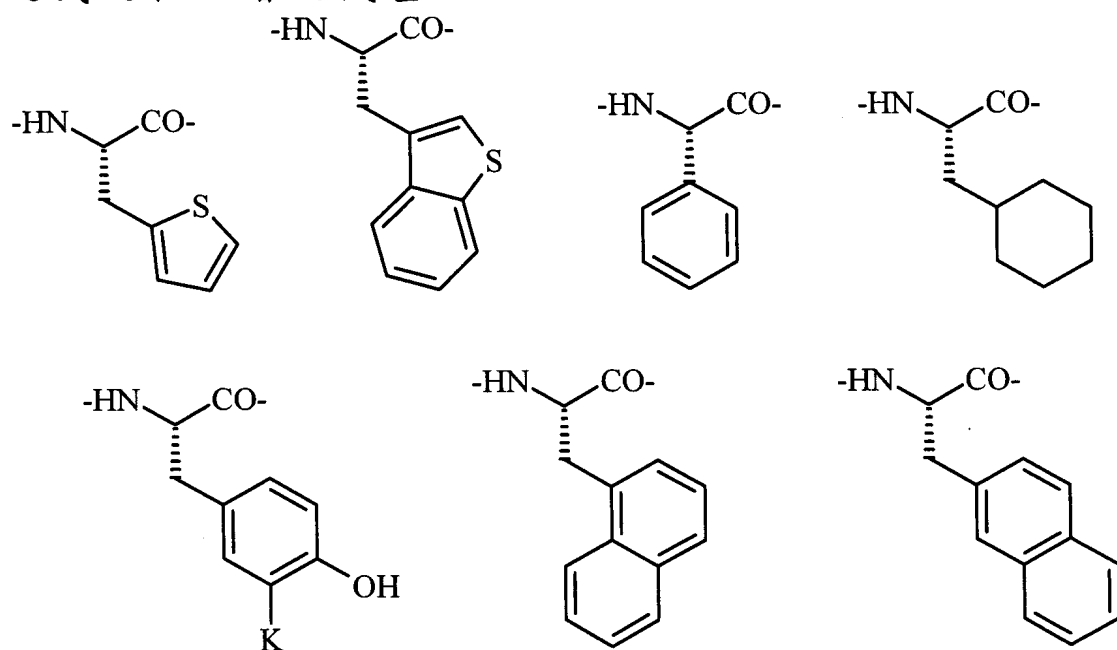
C-2: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃，

其中：

Leu ψ (CHOH-CH₂)-(CH₂)₂-CH₃ 為



Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基



，且

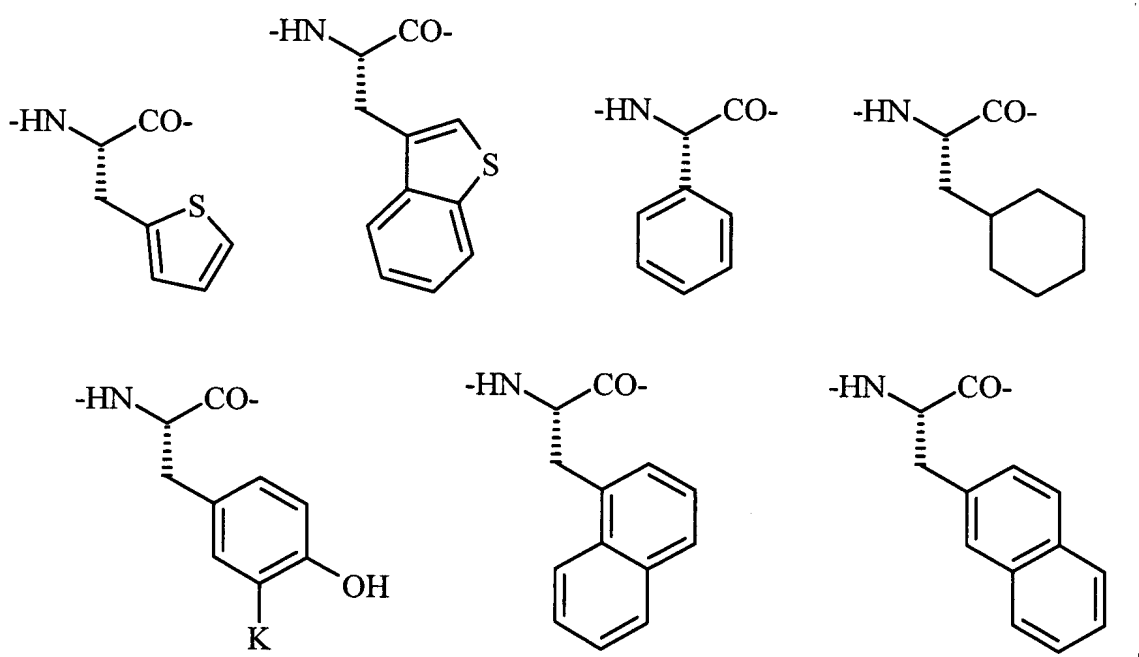
K 為 F、Cl、I 或 NO_2 ，

Xaa₂ 為 Gly 或 β -Ala；

C-3: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₅¹³-Xaa₆¹⁴-ZH，

其中：

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基



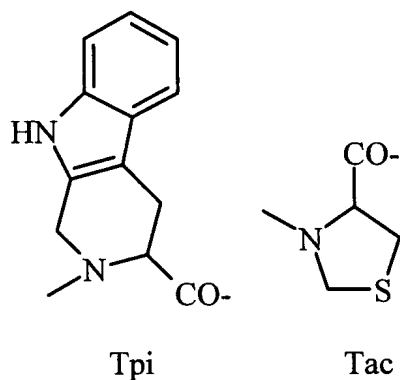
K 為 F、Cl、I 或 NO_2 ，

Xaa₂ 為 Gly 或 β -Ala，

Xaa₅ 為 Leu ψ -CH₂NH-，

Xaa₆ 為 Cys、Phe、Trp、Tpi 或 Tac，

其中 Tpi 及 Tac 具有以下含義：



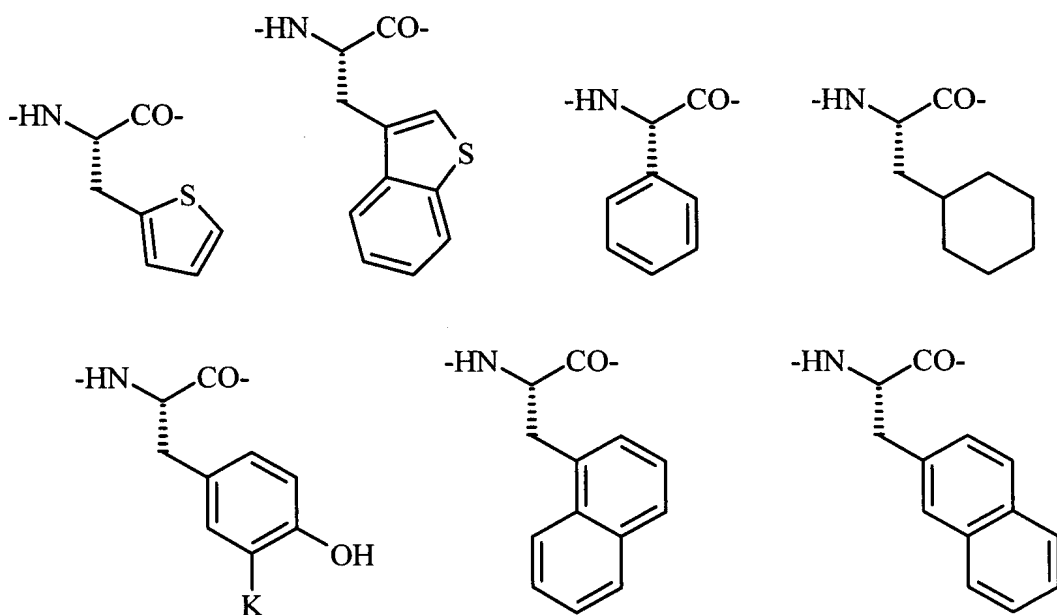
且

Z 為 NH 或 O ；

C-4: Xaa₁⁶-Gln⁷-Trp⁸-Ala⁹-Val¹⁰-Xaa₂¹¹-His¹²-Xaa₇ ,

其中：

Xaa₁ 為 D-Phe、D-Cpa、D-Tyr、D-Trp 或具有以下所述之式之任一者之殘基



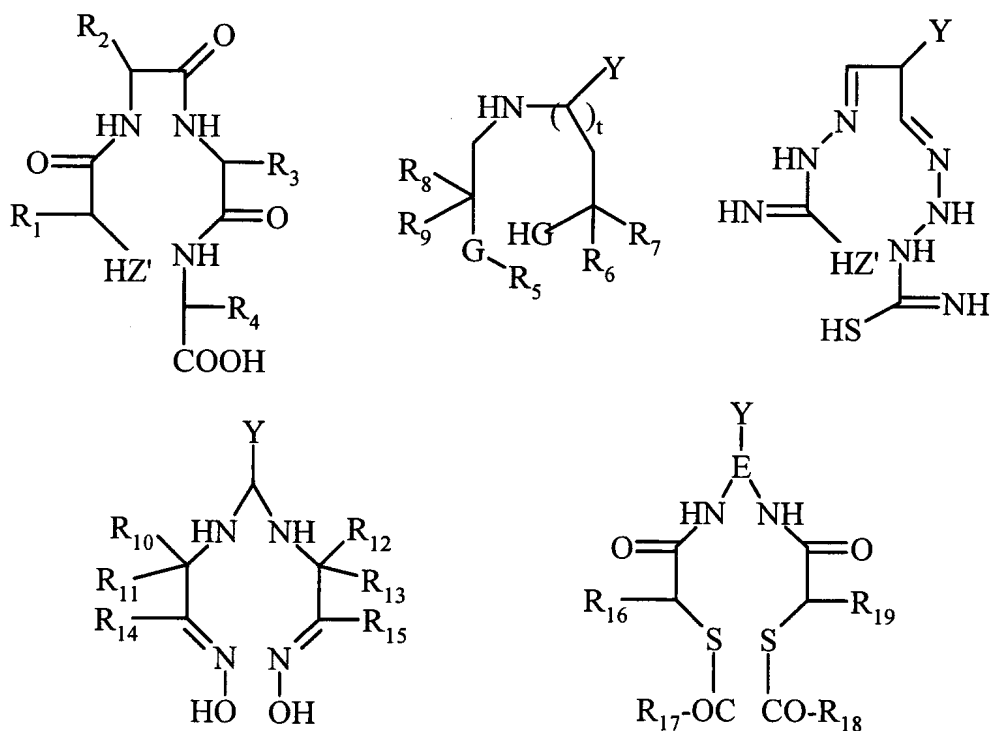
K 為 F、Cl、I 或 NO₂

Xaa₂ 為 Gly 或 β-Ala ,

Xaa₇ 為 Leu-O-烷基 或 Leu-NH-烷基 ,

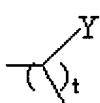
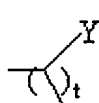
及其無機酸或有機酸之醫藥學上可接受之鹽，其水合物、錯合物、酯、鹽胺、溶劑合物及前藥。

2. 如請求項1之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中該金屬螯合劑(A)為三價金屬或五價金屬之金屬螯合劑及其相近類似物。
3. 如請求項2之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中該三價金屬之金屬螯合劑係選自包含以下各物之群：
DOTA-、NODASA-、NODAGA-、NOTA-、DTPA-、EDTA-、TETA-及TRITA-基螯合劑及其相近類似物。
4. 如請求項2之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中該五價金屬之金屬螯合劑係選自包含以下各物之群：



其中

R_1 - R_{15} 相互獨立地為氫原子或(C_1 - C_4)烷基，其中，在

上式之  部分中， t 為1或2或3且在該  部分中之碳原子之至少一者係經Y取代或未經Y取代，

R_{16} 為氫原子或 $\text{CO}_2(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 烷基；

R_{17} 及 R_{18} 相互獨立地為 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 烷基或苯基；

R_{19} 為 $\text{CH}_2\text{-COOH}$ 或其官能衍生物；

E 為 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 伸烷基或伸苯基；

視情況 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ 伸烷基經 $\text{CO}_2\text{-}$ 烷基、 $\text{CH}_2\text{-CO}$ 烷基、 CONH_2 或 $\text{CONHCH}_2\text{-CO}_2\text{-}$ 烷基取代；

視情況伸苯基經 $\text{CO}_2\text{-}$ 烷基取代，

其中該烷基具有 1 至 4 個碳原子；

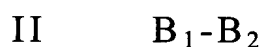
G 為 NH 或 S；

Y 為能夠與該胜肽之游離胺基 (N-末端) 或該間隔基結合之官能基；且

Z' 為 S 或 O。

5. 如請求項 1 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中用於成像之該放射性核種金屬係選自包含以下金屬之群：
 $^{133\text{m}}\text{In}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{67}Ga 、 ^{52}Fe 、 ^{68}Ga 、 ^{72}As 、 ^{111}In 、 ^{97}Ru 、 ^{203}Pb 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{51}Cr 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 ^{157}Gd 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 及 ^{82}Br 。
6. 如請求項 1 之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中用於放射性療法之該放射性核種金屬係選自包含以下金屬之群：
 ^{186}Re 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{69}Er 、 ^{121}Sn 、 ^{127}Te 、 ^{142}Pr 、 ^{143}Pr 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 、 ^{161}Tb 、 ^{109}Pd 、 ^{188}Rd 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{77}As 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{149}Pm 、 ^{151}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{159}Gd 、 ^{172}Tm 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{169}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{105}Rh 、 ^{111}Ag 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 、 ^{129}I 及 $^{177\text{m}}\text{Sn}$ 。

7. 如請求項1之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中連接至C之N-末端之該間隔基B具有通式II：



其中

B_1 為共價鍵或天然胺基酸或非天然胺基酸或直鏈二胺或環狀二胺，

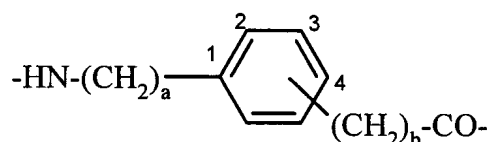
B_2 為共價鍵或天然胺基酸或非天然胺基酸或直鏈羧酸或環狀羧酸，

其限制條件為 B_1 及 B_2 不可同時為共價鍵且當 B_1 為二胺時， B_2 為羧酸。

8. 如請求項7之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其中該非天然胺基酸為具有通式III、IV、V或VI中之任一者之化合物

其中

III



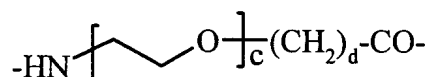
其中

a 為0至3之整數，

b 為0至3之整數，

且相對取代模式視情況為1,2-、1,3-或1,4-；

IV

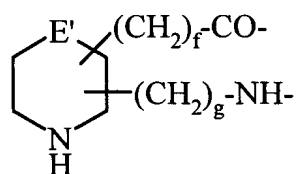


其中

c 為 1 至 24 之整數，

d 為 1 至 6 之整數；

V



其中

E' 為 NH 或 CH₂，

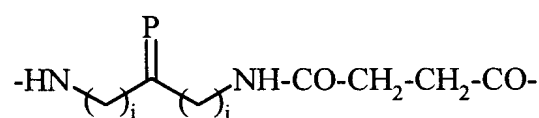
f 為 0 至 6 之整數，

g 為 0 至 6 之整數；

當 E' 為 CH₂ 時，則該 6 員環視情況在該 6 員環之任何碳位置處在該環之同一碳上或不同碳上經取代，

當 E' 為 NH 時，則該 6 員環視情況在該 6 員環之任何碳位置處在該環之同一碳原子上或不同碳原子上及/或氮原子上經取代，其限制條件為 f 或 g 為等於或大於 1 之整數；

VI



其中

i 為 1 至 6 之整數，

j 為 1 至 6 之整數，

P 為 O 或 H₂，

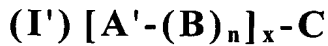
較佳地，

i 為 1 至 3 之整數，

j 為 1 至 3 之整數，

P為O，及其相近類似物。

9. 如請求項1至8中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物，其限制條件為該鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物具有通式(I')



其中

包括A'來替代A且A'具有與A相同之含義，例外在於其為不含放射性核種金屬之金屬螯合劑。

10. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至9中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之任一者。
11. 一種如請求項1至9中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之任一者的用途，其係用於結合至鈴蟾素受體，較佳結合至胃泌素釋放胜肽受體(GRP)及/或用於抑制鈴蟾素受體，較佳胃泌素釋放胜肽受體(GRP)。
12. 一種用於製備如請求項1之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之任一者的方法，

其包含以下步驟：

將具有如上所定義之通式(I')之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物與適當放射性核種金屬或金屬原子放射性螯合。

13. 一種使患者體內表現腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管之鈴蟾素受體成像之方法，該受體較佳為GRP受體，其包含以下步驟：

將放射性醫藥有效量的如請求項1至8中任一項之鈴蟾

素類似物胜肽拮抗劑共軛物投與患者；

使該患者體內之該放射性核種金屬成像。

14. 一種放射性醫藥有效量的如請求項1至8中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之用途，其供製造用於使表現腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管的鈴蟾素受體--較佳GRP受體--成像之成像劑。

15. 如請求項14之用途，其中該腫瘤細胞係指選自包含以下各者之群之癌：

前列腺癌，包括癌轉移，

乳癌，包括癌轉移，

胃腸基質腫瘤，

小細胞肺癌，

腎細胞癌，

胃腸胰神經內分泌腫瘤，

頭部及頸部鱗狀細胞癌，

神經母細胞瘤，及

食道鱗狀細胞癌，

且其中

該腫瘤及腫瘤周圍血管係指選自包含以下各者之群之癌：

卵巢癌，

子宮內膜癌，及

胰腺癌。

16. 一種治療或預防腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管相關

之疾病的方法，其包含以下步驟：

投與治療有效量的如請求項1至8中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物。

17. 一種治療有效量的如請求項1至8中任一項之鈴蟾素類似物胜肽拮抗劑共軛物之用途，其供製造用於治療或預防腫瘤細胞及/或腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病的藥物。

18. 如請求項17之用途，其中該等腫瘤細胞相關之疾病係選自包含以下各者之群：

前列腺癌，包括癌轉移，

乳癌，包括癌轉移，

胃腸基質腫瘤，

小細胞肺癌，

腎細胞癌，

胃腸胰神經內分泌腫瘤，

頭部及頸部鱗狀細胞癌，

神經母細胞瘤，及

食道鱗狀細胞癌，

且其中

該等腫瘤及腫瘤周圍血管相關之疾病係選自包含以下各者之群：

前列腺癌，包括癌轉移，及

乳癌，包括癌轉移。

19. 一種用於製備放射性治療劑或放射性醫藥成像劑的套組，其包含一含有預定量的如請求項9之鈴蟾素類似物

胜肽拮抗劑共軛物及在放射性標記金屬螯合劑時可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑或佐劑的瓶。

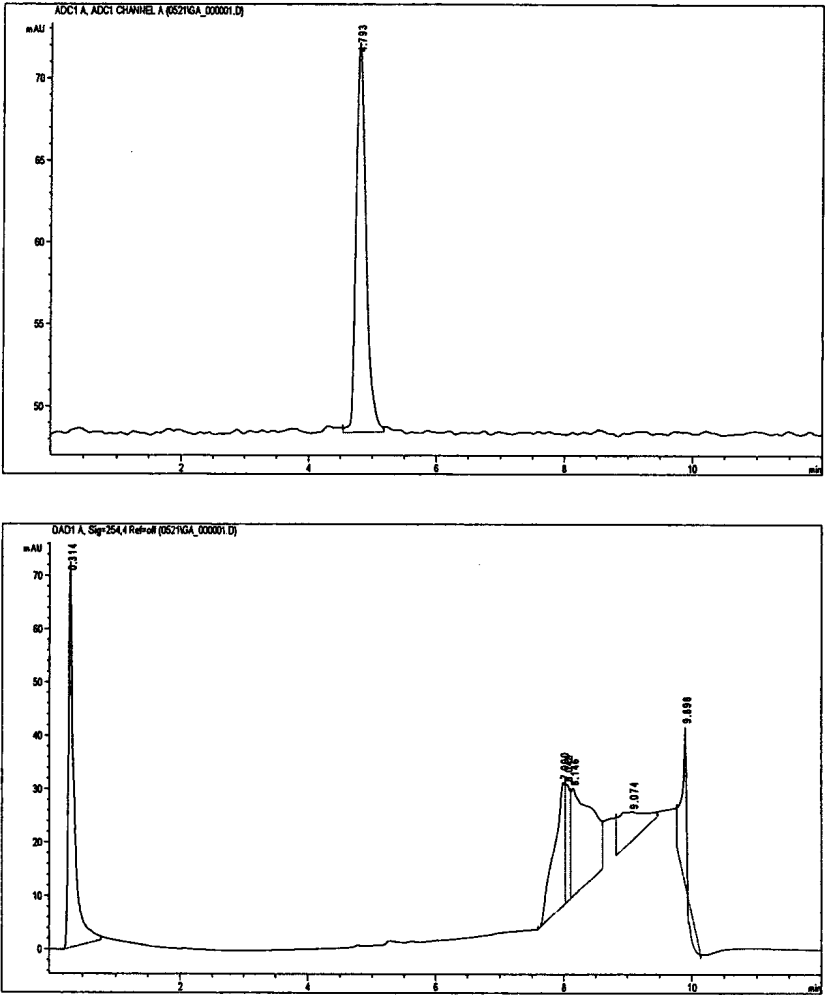


圖 7

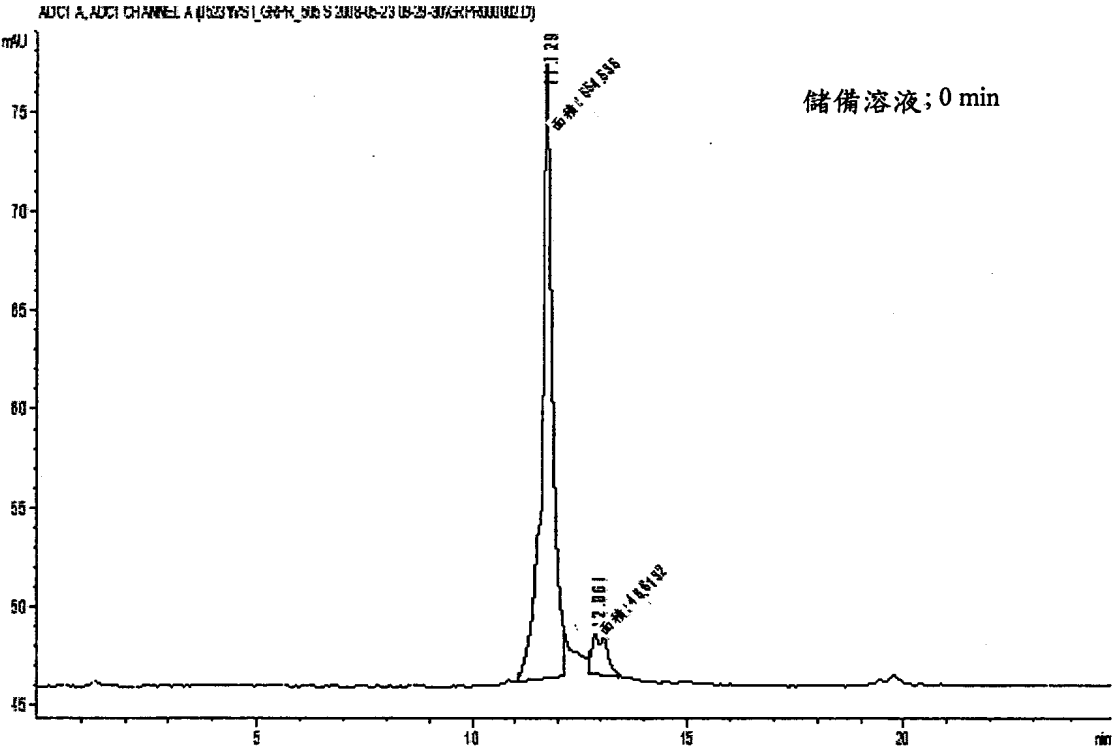


圖 8a

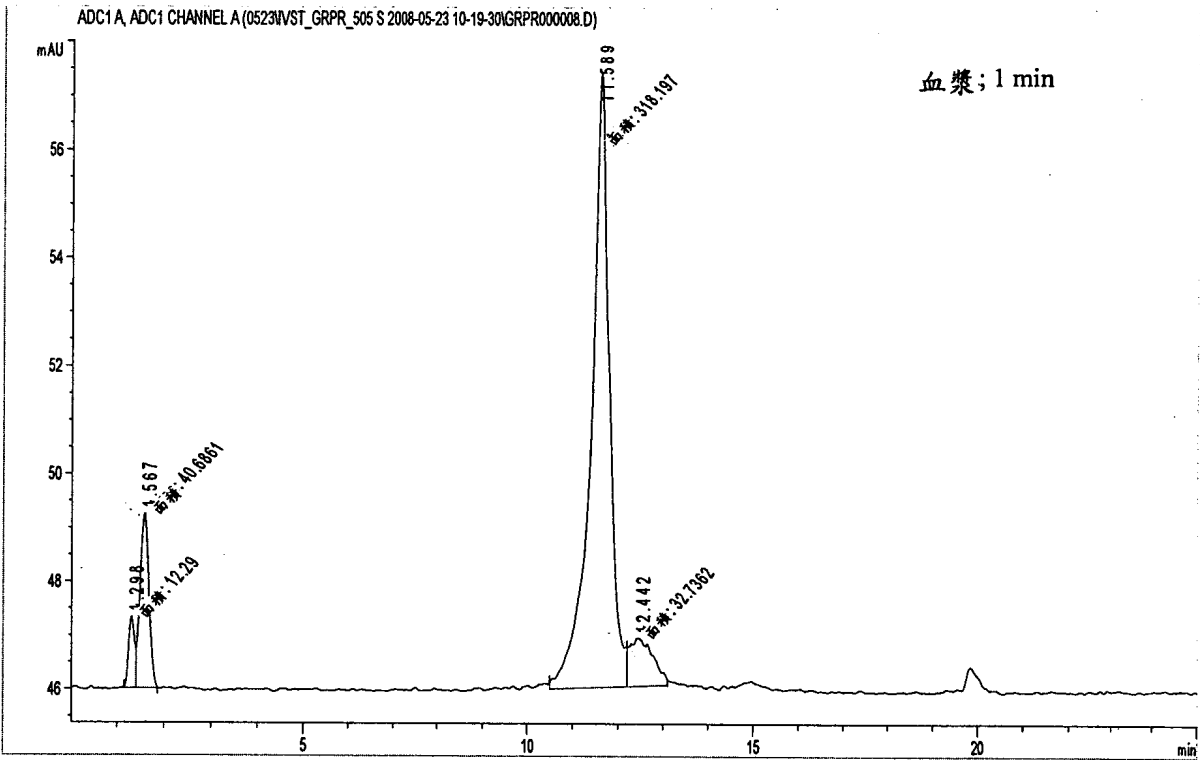


圖 8b

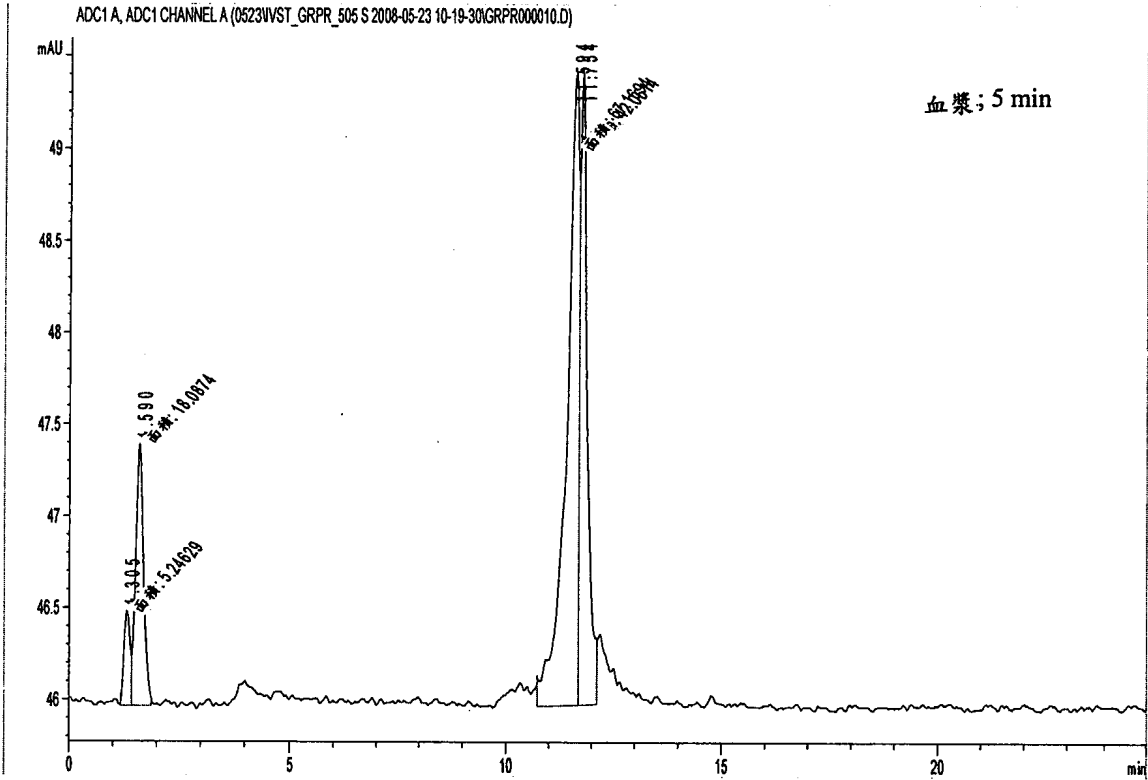


圖 8c

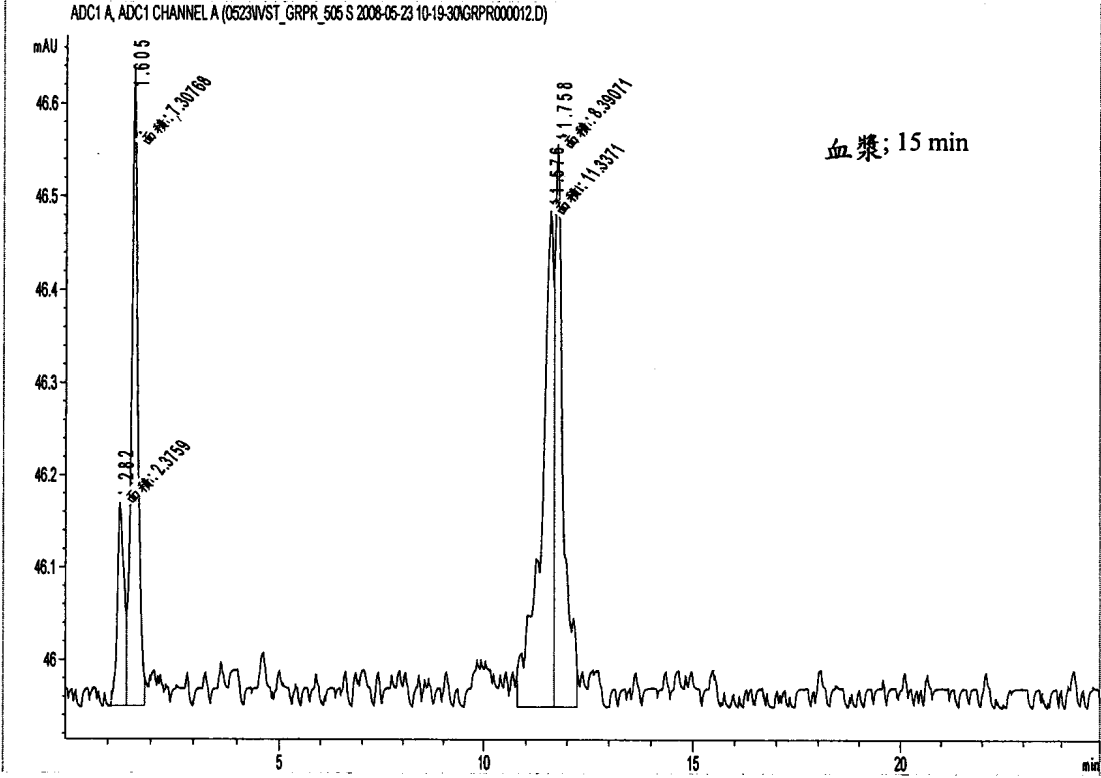


圖 8d

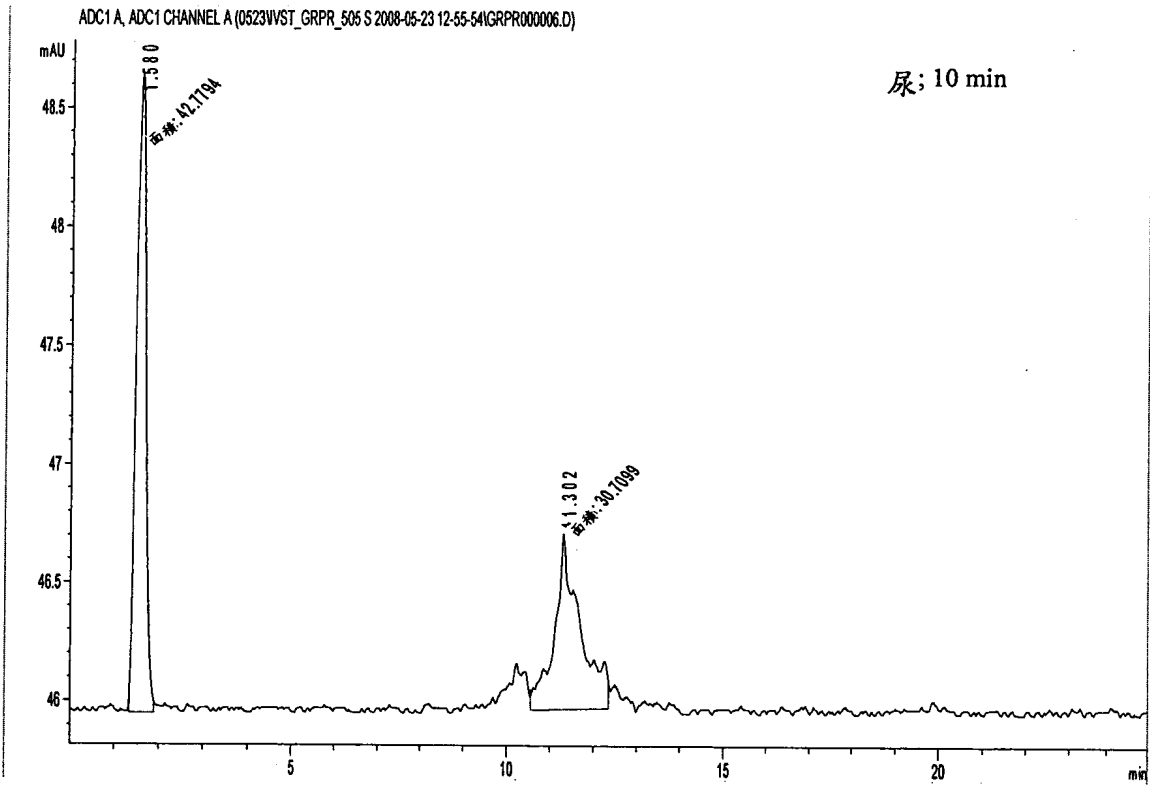


圖 8e

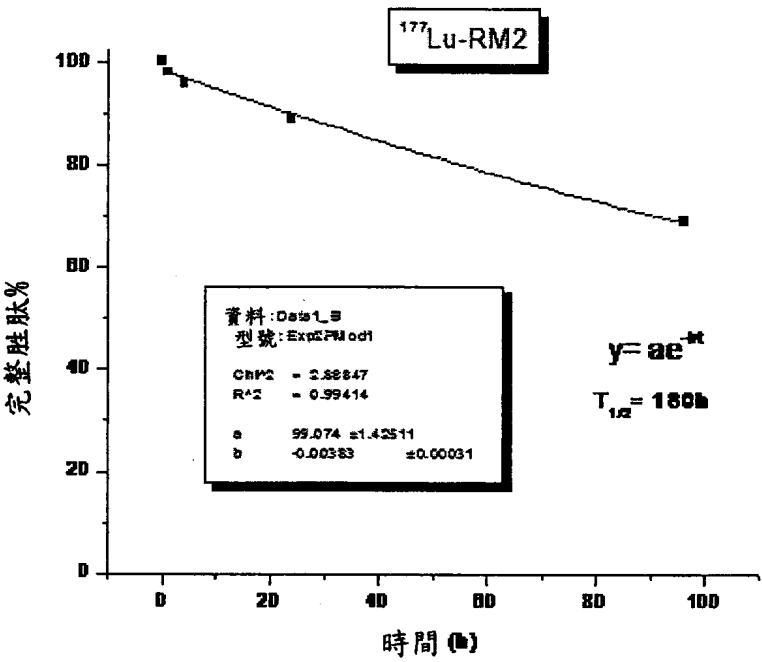


圖9

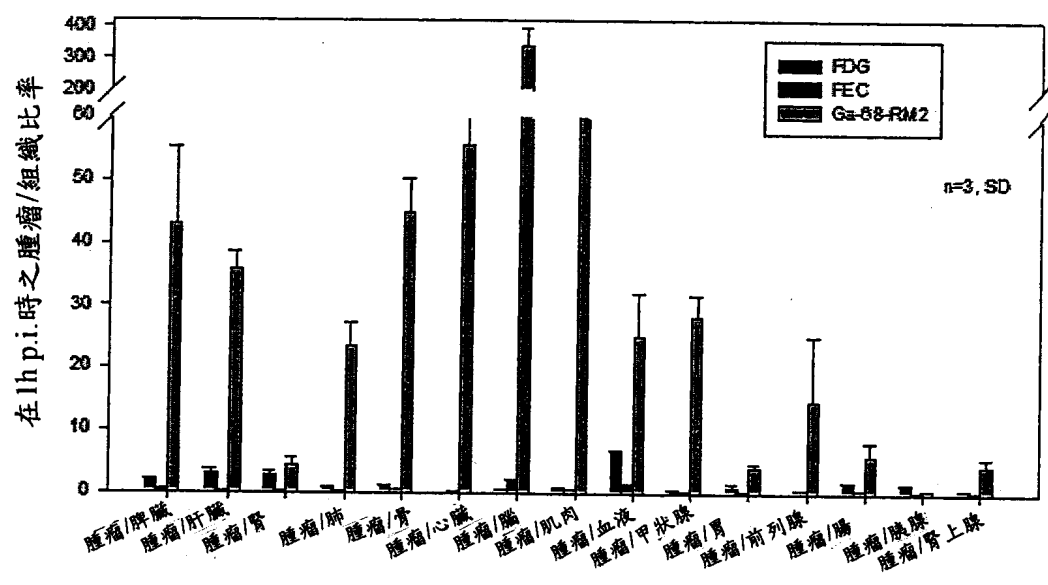


圖 10

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

