(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103338791 A
(43)申请公布日 2013.10.02

(21)申请号 201180059092.5
(22)申请日 2011.12.09
(30)优先权数据
61/421,390 2010.12.09 US
(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.06.07
(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2011/072352 2011.12.09
(87)PCT申请的公布数据
WO2012/076697 EN 2012.06.14
(71)申请人 通用电气健康护理有限公司
地址 英国白金汉郡
(72)发明人 T. 恩格尔 J. 格里希 D. 曼齐拉斯
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 孔青 李炳爱
(51)Int.Cl.
A61K 51/08(2006.01)
C07B 63/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书19页

(54)发明名称

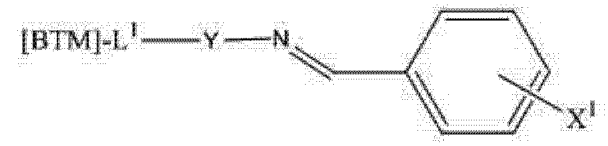
放射性示踪剂组合物

(57)摘要

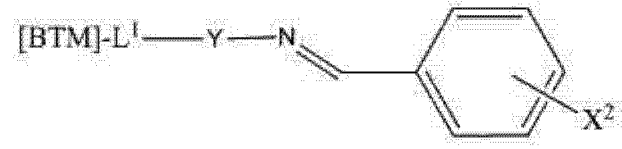
本发明涉及改良的放射性示踪剂显像剂组合物，其包含 ^{18}F- 标记的生物学靶向部分，其中鉴定和抑制影响体内成像的杂质。还提供包含所述改良组合物的放射性药物以及可用于制备所述示踪剂组合物的放射性氟化醛组合物。本发明还包括用所述放射性药物组合物成像和/或诊断的方法。

CN 103338791 A

1. 一种组合物，其包含式（I）显像剂以及一种或多种式（II）的非放射性芳基衍生物：



（I）



（II）

其中：

BTM 是生物学靶向部分；

L^1 是式 $-(A)_m-$ 的合成接头基团，其中每个 A 独立是 $-CR_2-$、-CR=CR-、-C≡C-、$-CR_2CO_2-$、$-CO_2CR_2-$、-NRCO-、-CONR-、-CR=N-O-，、$-NR(C=O)NR-$、$-NR(C=S)NR-$、$-SO_2NR-$、$-NRSO_2-$、$-CR_2OCR_2-$、$-CR_2SCR_2-$、$-CR_2NRCR_2-$、C_{4-8} 环杂亚烷基、C_{4-8} 环亚烷基、-Ar-、-NR-Ar-、-O-Ar-、-Ar-(CO)-、氨基酸、糖或单分散性聚乙二醇（PEG）结构单元，其中每个 Ar 独立是 C_{5-12} 亚芳基或 C_{3-12} 杂亚芳基；

每个 R 独立选自 H、C_{1-4} 烷基，、C_{2-4} 烯基、C_{2-4} 炔基、C_{1-4} 烷氧基烷基或 C_{1-4} 羟基烷基；

m 是 1 至 20 的整数值；

Y 是 -O- 或 -NH-；

X^1 是 ^{18}F、$-O(CH_2)_q{}^{18}F$ 或 $-OCH_2-CH(OH)-CH_2{}^{18}F$，其中 q 是 2、3 或 4；

X^2 是 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$、$-OCH_3$、H、$-CH_3$、-OH、$-SCH_3$、$-OC_6H_4CHO$ 或 ^{19}F；

其中 BTM、L^1 和 Y 在式（I）和（II）中相同；

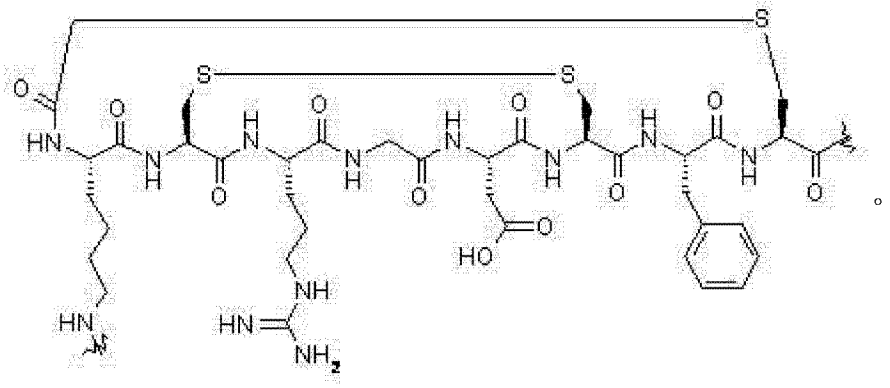
并且其中式（II）衍生物在组合物中存在的总浓度小于 150 μg/mL。

2. 权利要求 1 的组合物，其中 Y 是 -O-。

3. 权利要求 1 或权利要求 2 的组合物，其中 BTM 包含单个氨基酸、3-100 聚体肽、酶底物、酶拮抗剂酶激动剂、酶抑制剂或受体结合化合物。

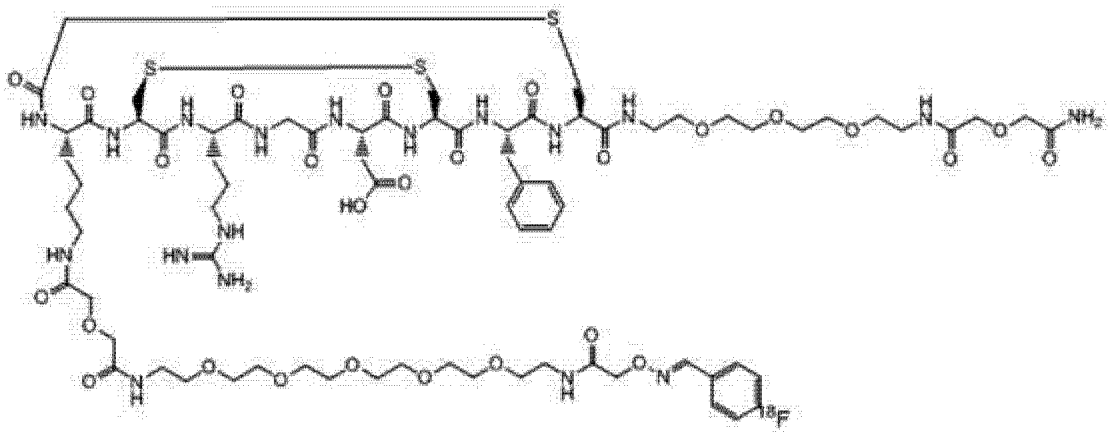
4. 权利要求 1 至 3 中任一项的组合物，其中 BTM 包含 RGD 肽。

5. 权利要求 1 至 4 中任一项的组合物，其中 BTM 是包含以下片段的肽：



。

6. 权利要求 1 至 5 中任一项的组合物，其中所述显像剂具有式（IA）：

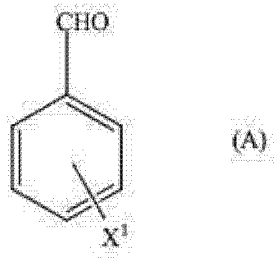


(IA)。

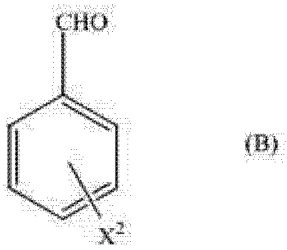
7. 权利要求 1 至 6 中任一项的组合物，其中 X^1 是 ^{18}F 且 X^2 是 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$ 或 -OH。

8. 一种放射性药物组合物，其包含呈适于哺乳动物给予的形式的权利要求 1 至 7 中任一项的组合物以及生物相容性载体。

9. 一种组合物，其包含式 (A) 的放射性醛以及一种或多种式 (B) 的非放射性醛：



(A)



(B)

其中 X^1 和 X^2 如在权利要求 1 所定义：

并且其中式 (B) 衍生物在组合物中存在的总浓度小于 150 μg/mL。

10. 权利要求 9 的组合物，其中 X^1 是 ^{18}F 且 X^2 是 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$ 或 -OH。

11. 权利要求 9 或权利要求 10 的组合物，将其作为溶液剂提供。

12. 一种放射性标记生物学靶向部分的方法，其包括：

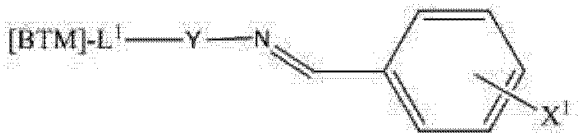
(i) 提供用氨基氧基或肼基官能化的生物学靶向部分；

(ii) 使来自步骤 (i) 的官能化生物学靶向部分与权利要求 9 至 11 中任一项的放射性醛组合物反应，使得式 (A) 的放射性醛与所述氨基氧基或肼基缩合，以得到放射性标记的生物学靶向部分。

13. 权利要求 12 的方法，其中所述官能化的生物学靶向部分具有式 (IV)：

$[BTM]-L^1-Y-NH_2$ (IV)

放射性标记产物具有式 (I)：



(I)

其中：

BTM、L^1、Y 和 X^1 如在权利要求 1 至 7 中任一项所定义。

14. 权利要求 12 或权利要求 13 的方法，其用自动合成仪装置实施。

15. 权利要求 14 的方法，将其以无菌的方式实施，使得获得权利要求 8 的放射性药物组合物。

16. 一种人或动物体的成像方法，其包括产生其中已分布权利要求 8 的放射性药物组合物的所述机体至少一部分的 PET 图像。

17. 权利要求 16 的方法，将其重复实施以监测用药物治疗人或动物体的效应，所述成像在用所述药物治疗之前和之后以及还任选在用所述药物治疗期间进行。

18. 权利要求 16 或权利要求 17 的方法，其中所述组合物已事先给予所述机体。

19. 一种人或动物体的诊断方法，其包括权利要求 16 至 18 中任一项的成像方法。

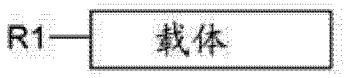
放射性示踪剂组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及改良的放射性示踪剂显像剂组合物，其包含 ^{18}F- 标记的生物学靶向部分，其中鉴定和抑制影响体内成像的杂质。还提供包含所述改良组合物的放射性药物，连同可用于制备所述放射性示踪剂组合物的放射性氟化醛组合物。本发明还包括用所述放射性药物组合物成像和 / 或诊断的方法。

[0002] 发明背景

WO 2004/080492 公开使载体放射性氟化的方法，其包括使式 (I) 化合物与式 (II) 化合物反应：



(I)

^{18}F-(接头)–R2 (II)

或者使式 (III) 化合物与式 (IV) 化合物反应



(III)

^{18}F-(接头)–R4 (IV)

其中：

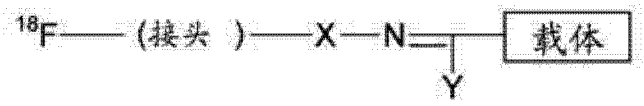
R1 为醛部分、酮部分、受保护的醛 (例如缩醛)、受保护的酮 (例如缩酮)，或者诸如二醇或 N 端丝氨酸残基等官能团 (functionality)，可使用氧化剂将所述官能团迅速而有效地氧化成醛或酮；

R2 为选自伯胺、仲胺、羟胺、肼、酰肼、氨基氧基 (aminoxy)、苯肼、氨基脲和氨基硫脲的基团，以及优选为肼、酰肼或氨基氧基；

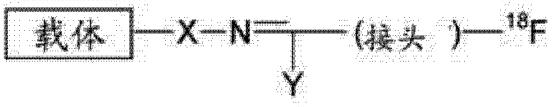
R3 为选自伯胺、仲胺、羟胺、肼、酰肼、氨基氧基、苯肼、氨基脲或氨基硫脲的基团，以及优选为肼、酰肼或氨基氧基；

R4 为醛部分、酮部分、受保护的醛 (例如缩醛)、受保护的酮 (例如缩酮)，或者诸如二醇或 N 端丝氨酸残基等官能团，可使用氧化剂将所述官能团迅速而有效地氧化成醛或酮；

以分别得到式 (V) 或 (VI) 的缀合物：



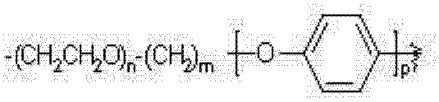
(V)

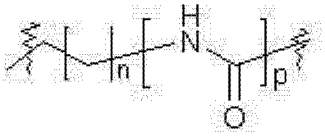


(VI)

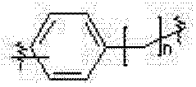
其中 X 是 -CO-NH-、-NH-、-O-、-NHCONH- 或 -NHCSNH-，优选 -CO-NH-、-NH- 或 -O- ；Y 是 H、烷基或芳基取代基 ；和

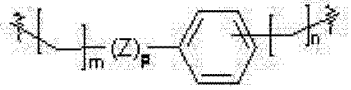
在式 (II)、(IV)、(V) 和 (VI) 中的接头基团选自 ：

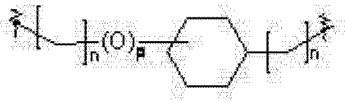


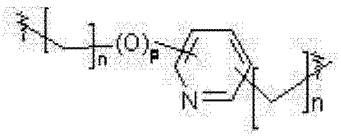






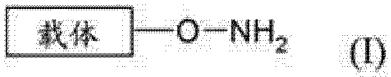






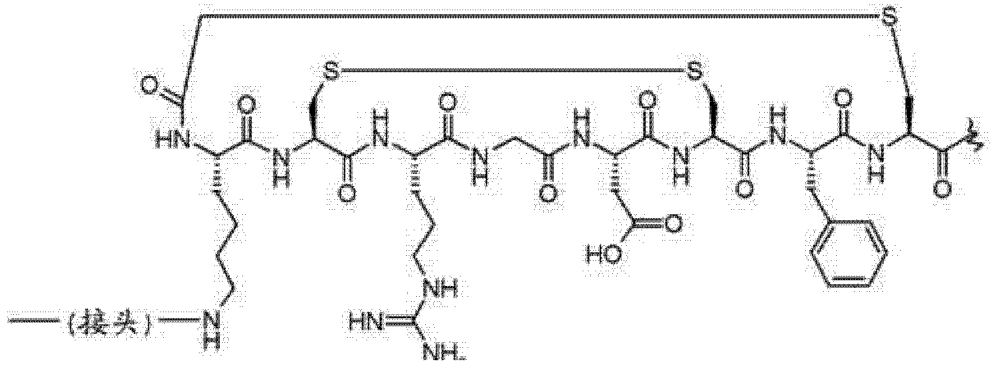
其中 n 是 0 至 20 的整数 ；m 是 1 至 10 的整数 ；p 是 0 或 1 的整数 ；Z 是 O 或 S。

[0003] WO 2006/030291 公开放射性氟化的方法，其包括使式 (I) 化合物 ：

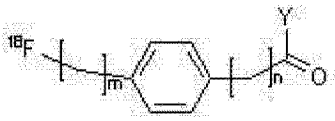


(I)

其中载体包含片段 ：



与式 (II) 化合物 ：


(II)

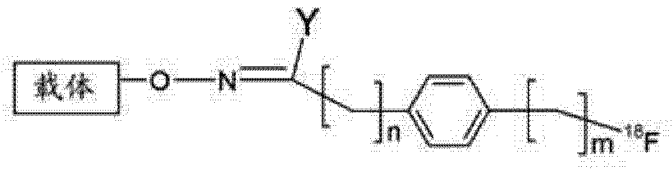
其中：

n 是 0 至 20 的整数；

m 是 0 至 10 的整数；

Y 是氢、C_{1-6} 烷基或苯基

反应以得到式 (III) 化合物：

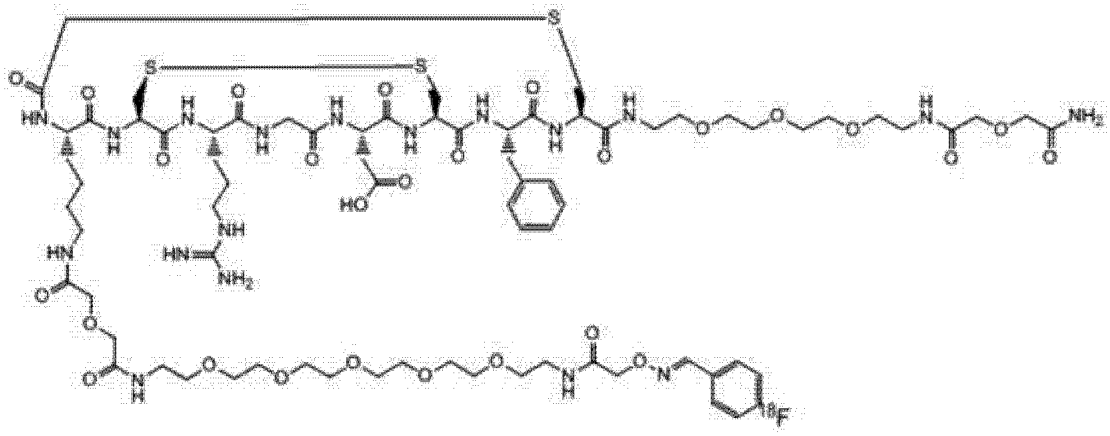

(III)

其中 m、n 和 Y 如对式 (II) 化合物所定义，所述载体如对式 (I) 化合物所定义。

[0004] Glaser 等 [Bioconj.Chem., 19(4), 951-957 (2008)] 描述包括 ^{18}F- 氟苯甲醛在内的 ^{18}F- 标记醛的合成，及其与氨基 - 氧基官能化环状 RGD 肽的缀合。

[0005] Speranza 等 [Appl.Rad.Isotop., 67, 1664-1669 (2009)] 描述用 TRACERlab™ 装置自动合成 [^{18}F]- 氟苯甲醛 ([^{18}F]-FBA)。手工制纯化设备用于纯化 [^{18}F]-FBA。Speranza 等描述柱纯化 (cartridge purification) 比 HPLC 纯化优选用于自动合成仪装置合成的事实。但是，他们的柱方法提示二氯甲烷或氯仿是 [^{18}F]-FBA 纯化的最佳溶剂。两种溶剂都具有不适合体内使用的毒理学性质，而且与水不可混溶。因此该方法不适合放射性药物制剂。

[0006] Battle 等 [J.Nucl.Med., 52(3), 424-430 (2011)] 公开用 [^{18}F]-fluciclatide 监测抗血管生成疗法：


[^{18}F]-fluciclatide

Battle 等提到将使用的 [^{18}F]-FBA 通过用水稀释并截留在固相提取 (SPE) 柱上而纯化。据说将杂质比如前体、DMSO、Kryptofix-222 和亲水副产物洗脱为废料，接着将 [^{18}F]-FBA 用乙醇洗脱。但是，本发明人已发现使用 C18 SPE 柱只有一些前体洗脱为废料，当用乙醇洗脱 [^{18}F]-FBA 时剩余物共洗脱。

[0007] 因此仍然需要用 ^{18}F 标记生物学靶向部分的备选方法。

发明内容

[0008] 本发明提供改良的 ^{18}F- 放射性标记的生物学靶向部分 (BTM) 组合物，其来源于 ^{18}F- 标记醛缀合至氨基氧基 - 或肼 - 官能化 BTM。本发明基于对此类醛中存在的杂质的详细分析，以及对如何可将它们携带入放射性标记的 BTM 产物内加上如何最好地抑制所有不期望的杂质物质的理解。现有技术未认识到许多这些杂质，所以此类现有技术试剂包含将对成像特征产生不利影响的不期望的物质。

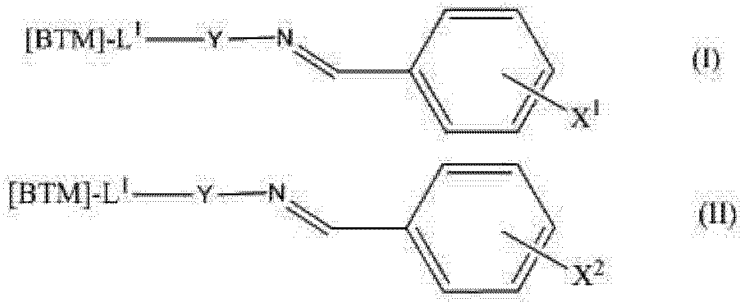
[0009] 此外，本发明的改良组合物可在更短的制备时间内获得，这将使用之前的制备和纯化步骤期间 ^{18}F （半衰期 109 分钟）放射性内容物的任何损失减至最少。本发明的组合物可用顺从在商业自动合成仪装置上自动化的方法获得——相对于现有技术 HPLC 方法（其不能以这种方式自动化）的优点。自动化提供改良的可重复性，以及减少操作者辐射剂量。

[0010] 此外，产物的放射化学收率和纯度越高意味着用于获得等量放射性产物所需要的官能化 BTM 越少。因为未标记的 BTM 将竞争相同的体内生物学位点，所以降低存在的官能化 BTM 量帮助保持放射性标记产物的功效。此外，因为 BTM 可能是例如昂贵且费时以获得的复杂多肽或蛋白质，所以那是重要的时间 / 材料效率。

[0011] 本发明提供组合物，其中期望的 ^{18}F- 放射性氟化 BTM 的浓度提高达约 40 的系数，同时化学杂质减少约 99% （即约 100 的系数）。

[0012] 发明详述

在第一方面，本发明提供组合物，其包含式 (I) 显像剂以及一种或多种式 (II) 的非放射性芳基衍生物：



其中：

BTM 是生物学靶向分子；

L^1 是式 $-(A)_m-$ 的合成接头基团，其中每个 A 独立是 $-CR_2-$、-CR=CR-、$-C\equiv C-$、$-CR_2CO_2-$、$-CO_2CR_2-$、-NRCO-、-CONR-、-CR=N-O-，、$-NR(C=O)NR-$、$-NR(C=S)NR-$、$-SO_2NR-$、$-NRSO_2-$、$-CR_2OCR_2-$、$-CR_2SCR_2-$、$-CR_2NRCR_2-$、C_{4-8} 环杂亚烷基、C_{4-8} 环亚烷基、-Ar-、-NR-Ar-、-O-Ar-、-Ar-(CO)-、氨基酸、糖或单分散性聚乙二醇 (PEG) 结构单元，其中每个 Ar 独立是 C_{5-12} 亚芳基或 C_{3-12} 杂亚芳基；

每个 R 独立选自 H、C_{1-4} 烷基，、C_{2-4} 烯基、C_{2-4} 炔基、C_{1-4} 烷氧基烷基或 C_{1-4} 羟基烷基；

m 是 1 至 20 的整数值；

Y 是 -O- 或 -NH-；

X^1 是 ^{18}F、$-O(CH_2)_q{}^{18}F$ 或 $-OCH_2-CH(OH)-CH_2{}^{18}F$，其中 q 是 2、3 或 4；

X^2 是 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$、$-OCH_3$、H、$-CH_3$、-OH、$-SCH_3$、$-OC_6H_4CHO$ 或 ^{19}F；

其中 BTM、L^1 和 Y 在式 (I) 和 (II) 中相同；

以及其中式 (II) 衍生物在组合物中存在的总浓度小于 150 μg/mL。

[0013] 术语“组合物”具有其常规含义，指式 (I) 的放射性标记 BTM 与一种或多种式 (II)

非放射性芳基衍生物的混合物。多种式 (II) 衍生物可存在于组合物中，但在式 (I) 和 (II) 中 BTM、L^1 和 Y 对于组合物的所有组分都相同，X^1 和 X^2 位于苯环上相对于 -C=N 基团的相同邻位、间位或对位上。因此第一方面组合物的组分的区别只在于 X^1 和 X^2 的身份。

[0014] 术语“式 (II) 衍生物存在的浓度”指所有式 (II) 化合物存在的总浓度，即使 X^2 可能不同。作为说明，本实施例 2 使用 1.1 mL 体积的 3.3 mg 三甲基铵苯甲醛前体 (3.0 mg/mL 或 3000 μg/mL)。77 GBq [^{18}F]- 氟苯甲醛等于约 0.072 μg。因此，在化学术语中，[^{18}F]- 氟化物消耗相对小比例的前体，在没有本发明的方法的情况下，式 (II) 杂质的水平将明显更大。小于 150 μg/mL 的水平要求已除去至少 90%、优选至少 95% 存在的此类杂质。优选式 (II) 衍生物存在的浓度小于 100 μg/mL，更优选小于 45 μg/mL。通过参考基于已知杂质的可信样品的校正曲线，用 HPLC-MS 量化。还测定可信样品的消光系数以帮助量化。当 X^2 是 ^{19}F 时，其对应于在使用的 ^{18}F 放射性同位素中存在的任何 ^{19}F 载体。此类物质促成式 (II) 的非放射性杂质。

[0015] 术语“包含 (comprising)”或包含“(comprises)”在本申请书中自始至终具有其常规含义，暗指组合物必须具有列出的组分，但其它未指定的化合物或物质可另外存在。因此该术语包括作为优选子集的“基本由…组成”，其意指组合物具有列出的组分而不存在其它化合物或物质。

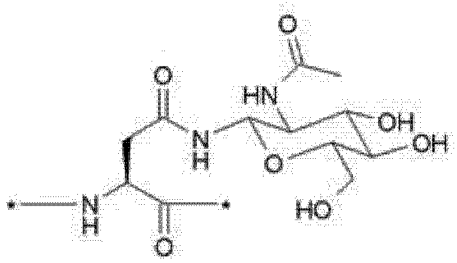
[0016] 式 (I) 显像剂包含放射性氟化的生物学靶向部分 (BTM)。术语“显像剂”意指适合用于对哺乳动物体成像的化合物。优选哺乳动物是完整的哺乳动物活体，更优选人受试者。优选显像剂可以侵入性最小的方式给予哺乳动物体，即当专业医学专家实施时对哺乳动物受试者无实质健康危险。此类侵入性最小的给予优选静脉内给予所述受试者的周围静脉，不需要局部或全身麻醉。

[0017] 本文所用术语“体内成像”指非侵入性产生哺乳动物受试者内部方面的所有或部分的图像的那些技术。本发明的优选成像技术是正电子发射断层扫描 (PET)。

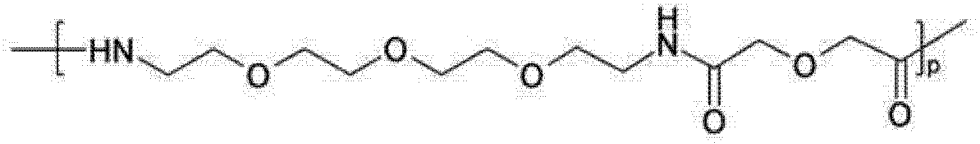
[0018] 术语“生物学靶向部分”(BTM) 意指这样的化合物，其在给予之后被选择性吸收或在体内定位于哺乳动物身体的特定部位。这类部位可能牵涉于特定的疾病状态或者表明器官或代谢过程如何运作。

[0019] 术语“氨基酸”意指 *L*- 或 *D*- 氨基酸、氨基酸类似物 (例如萘基丙氨酸)，其可以是天然存在的或完全合成来源的，以及可以是光学纯的，即单一对映体并因此手性的，或者对映体的混合物。本文使用用于氨基酸的常规 3 字母或单字母缩写。优选本发明的氨基酸为光学纯的。

[0020] 术语“糖”意指单 -、二 - 或三 - 糖。合适的糖包括 : 葡萄糖、半乳糖、麦芽糖、甘露糖和乳糖。任选可将糖官能化以允许容易偶联至氨基酸。因此，例如可使氨基酸的葡糖胺衍生物经肽键缀合至其它氨基酸。这样的一个实例是天冬酰胺的葡糖胺衍生物 (市售购自 NovaBiochem) :

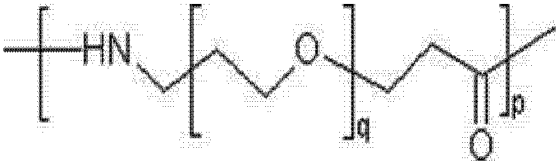


术语“聚乙二醇聚合物”或“PEG”具有其常规含义，如描述于例如“The Merck Index”，第 14 版条目 7568，即通式 $H(OCH_2CH_2)_nOH$ 的液体或固体聚合物，其中 n 是大于或等于 4 的整数。本发明的聚乙二醇聚合物可以为线性或分枝的，但优选线性的。聚合物还优选为非树枝状的。优选的含 PEG 接头基团包含从式 Bio1 或 Bio2 的单分散性 PEG 样结构的寡聚化得到的单元：



(Bio1)

式 Bio1 的 17- 氨基 -5- 氧代 -6- 氮杂 -3,9,12,15- 四氧杂十七烷酸，其中 p 是 1 至 10 的整数。或者，可使用基于式 Bio2 丙酸衍生物的 PEG 样结构：



(Bio2)

其中 p 如对式 Bio1 所定义，q 是 3 至 15 的整数。

[0021] 在式 Bio2 中，p 优选为 1 或 2，q 优选为 5 至 12。

[0022] 在式 (I) 和 (II) 中，在 C=N 键的异构意味可出现 E- 或 Z- 非对映体。虽然仅作为单一异构体画出，但是式 (I) 和 (II) 旨在包括此类异构体的混合物，以及富集一种此类非对映体的混合物，以及纯的非对映体。

[0023] 优选实施方案

在第一方面的式 (I) 中，X^1 优选为 ^{18}F 或 $-O(CH_2)_q{}^{18}F$，其中 q 是 2 或 3；更优选 ^{18}F 或 $-O(CH_2)_3{}^{18}F$，最优选 ^{18}F。

[0024] 在第一方面的式 (I) 和 (II) 中，X^1 和 X^2 优选位于邻位或对位，更优选在对位。

[0025] 在式 (I) 和 (II) 中，Y 优选为 -O-。更优选 Y 是 -O- 并且 X^1 和 X^2 优选位于对位。对于每种此类组合，优选的 BTM 基团如下文描述。

[0026] BTM 可以是合成或天然来源的，但优选为合成的。术语“合成的”具有其常规含义，即与分离自天然来源（例如哺乳动物体）相对而言的人造的。这类化合物具有以下优势，其制备和杂质概况可以是完全受控的。因此天然来源的单克隆抗体及其片段在本文所用术语“合成的”的范围之外。BTM 优选为非蛋白性的，即不包含蛋白。

[0027] BTM 的分子量优选为至多 10,000 道尔顿。更优选分子量在 200 至 9,000 道尔顿范围，最优选 300 至 8,000 道尔顿，特别优选 400 至 6,000 道尔顿。当 BTM 是非肽时，BTM 的分

子量优选为至多 3,000 道尔顿，更优选 200 至 2,500 道尔顿，最优选 300 至 2,000 道尔顿，特别优选 400 至 1,500 道尔顿。

[0028] 生物学靶向部分优选包含：3-80 聚体肽、肽类似物、类肽或肽模拟物，其可以是线性或环状肽或其组合；单一氨基酸；酶底物、酶拮抗剂酶激动剂（包括部分激动剂）或酶抑制剂；受体结合化合物（包括受体底物、拮抗剂、激动剂或底物）；寡核苷酸，或寡 -DNA 或寡 -RNA 片段。

[0029] 术语“肽”意指包含通过肽键（即，将一个氨基酸的胺与另一个氨基酸的羧基连接的酰胺键）连接的如下所定义的两个或更多个氨基酸的化合物。术语“肽模拟物”或“模拟物”是指模拟肽或蛋白质的生物活性但在化学性质上不再为肽的生物活性化合物，即它们不再含有任何肽键（即氨基酸之间的酰胺键）。此处，以更广泛的意义使用术语肽模拟物以包括性质上不再完全为肽的分子，例如假肽、半肽和类肽。术语“肽类似物”是指包含如下所述的一个或多个氨基酸类似物的肽。亦参见 Synthesis of Peptides and Peptidomimetics（肽和肽模拟物的合成），M. Goodman 等，Houben-Weyl Vol E22c of Methods in Organic Chemistry, Thieme (2004)。

[0030] 当 BTM 是酶底物、酶拮抗剂、酶激动剂、酶抑制剂或受体结合化合物时，优选其是非肽，更优选为合成的。术语“非肽”意指不包含任何肽键即两个氨基酸残基之间的酰胺键的化合物。合适的酶底物、拮抗剂、激动剂或抑制剂包括葡萄糖和葡萄糖类似物比如氟脱氧葡萄糖；脂肪酸，或弹性蛋白酶、血管紧张素 II 或金属蛋白酶抑制剂。优选的非肽血管紧张素 II 拮抗剂是氯沙坦。合适的合成受体结合化合物包括雌二醇、雌激素、黄体激素、黄体酮及其它类固醇激素；多巴胺 D-1 或 D-2 受体的配体，或者多巴胺转运蛋白比如托品烷；和 5- 羟色胺受体的配体。

[0031] BTM 最优选为 3-100 聚体肽或肽类似物。当 BTM 是肽时，其优选为 4-30 聚体肽，最优选 5 至 28 聚体肽。当 BTM 是肽时，优选的此类肽包括：

- 促生长素抑制素、奥曲肽及类似物，
- 与 ST 受体结合的肽，其中 ST 是指由大肠杆菌 (*E.coli*) 和其它微生物产生的热稳定毒素；
- 铃蟾肽；
- 血管活性肠肽；
- 神经降压素；
- 层粘连蛋白片段，例如 YIGSR、PDSGR、IKVAV、LRE 和 KCQAGTFALRGDPQG，
- 用于靶定白细胞蓄积部位的 N 甲酰基趋化肽，
- 血小板因子 4 (PF4) 及其片段，
- 含有 RGD (Arg-Gly-Asp) 的肽，它们可以例如靶向血管生成 [R.Pasqualini 等，Nat Biotechnol. 1997 年 6 月；15(6):542-6]；[E. Ruoslahti, Kidney Int. 1997 年 5 月；51(5):1413-7]；
- α_2- 抗纤溶酶、纤连蛋白或 β- 酪蛋白、纤维蛋白原或血小板反应蛋白的肽片段。α_2- 抗纤溶酶、纤连蛋白、β- 酪蛋白、纤维蛋白原和血小板反应蛋白的氨基酸序列可在下列参考文献中找到：α_2- 抗纤溶酶前体 [M.Tone 等，J.Biochem, 102, 1033, (1987)]；β- 酪蛋白 [L.Hansson 等，Gene, 139, 193, (1994)]；纤连蛋白 [A.Gutman 等，FEBS

Lett., 207, 145, (1996)];血小板反应蛋白-1前体[V.Dixit等, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 83, 5449, (1986)];R.F.Doolittle, Ann. Rev. Biochem., 53, 195, (1984);

-作为血管紧张素底物或抑制剂的肽,比如:

血管紧张素II Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe (E. C. Jorgensen等, J. Med. Chem., 1979, 第22卷, 9, 1038-1044)

[Sar, Ile]血管紧张素II: Sar-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Ile (R.K. Turker et al., Science, 1972, 177, 1203).

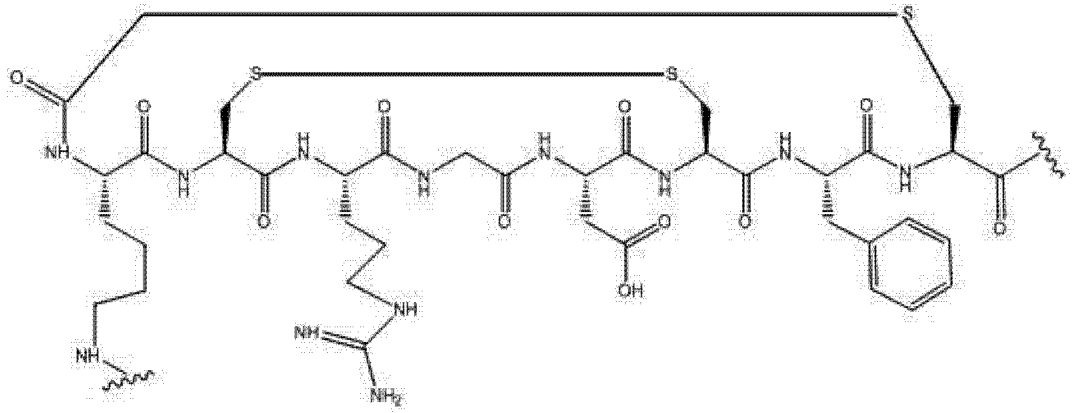
-血管紧张素I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu。

[0032] 当BTM为肽时,所述肽的一端或两端(优选两端)具有与其缀合的代谢抑制基团(M^{IG})。将肽的两端以此方式保护对于体内成像应用而言很重要,因为否则预计会迅速代谢,结果导致对BTM肽的选择性结合亲和力的损失。术语"代谢抑制基团"(M^{IG})意指抑制或阻抑BTM肽在氨基端或羧基端的酶(尤其是诸如羧肽酶等肽酶)代谢的生物相容性基团。这类基团对于体内应用而言特别重要,并且为本领域技术人员众所周知以及适当地选自(对于肽氨基端):

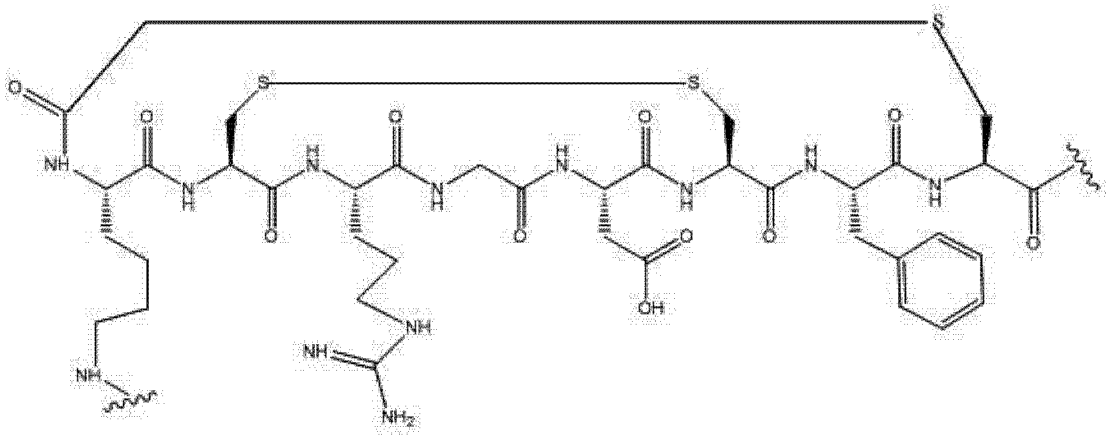
N-酰化基团-NH(C=O)R^G,其中酰基-(C=O)R^G具有选自C_{1-6}烷基、C_{3-10}芳基的R^G或包含聚乙二醇(PEG)结构单元。合适的PEG基团如上文关于接头基团(L^1)的描述。优选的此类PEG基团是式Bio1或Bio2(上文)的生物改性剂。优选的此类氨基端M^{IG}基团是乙酰基、苄氧羰基或三氟乙酰基,最优选乙酰基。

[0033] 用于肽羧基端的合适的代谢抑制基团包括:甲酰胺、叔丁酯、苄酯、环己酯、氨基醇或聚乙二醇(PEG)结构单元。用于BTM肽的羧基端氨基酸残基的合适的M^{IG}基团为其中氨基酸残基的末端胺用C_{1-4}烷基(优选甲基)*N*-烷基化的基团。优选的这类M^{IG}基团为甲酰胺或PEG,最优选这类基团为甲酰胺。

[0034] 优选的BTM肽是RGD肽。更优选此类RGD肽包含片段:

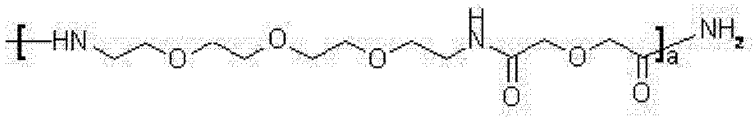


最优选的此类RGD肽是当BTM是式(BTM1)的肽时的RGD肽:



BTM1

其中 X^7 是 $-NH_2$ 或 PEG1，其中 PEG1 是：

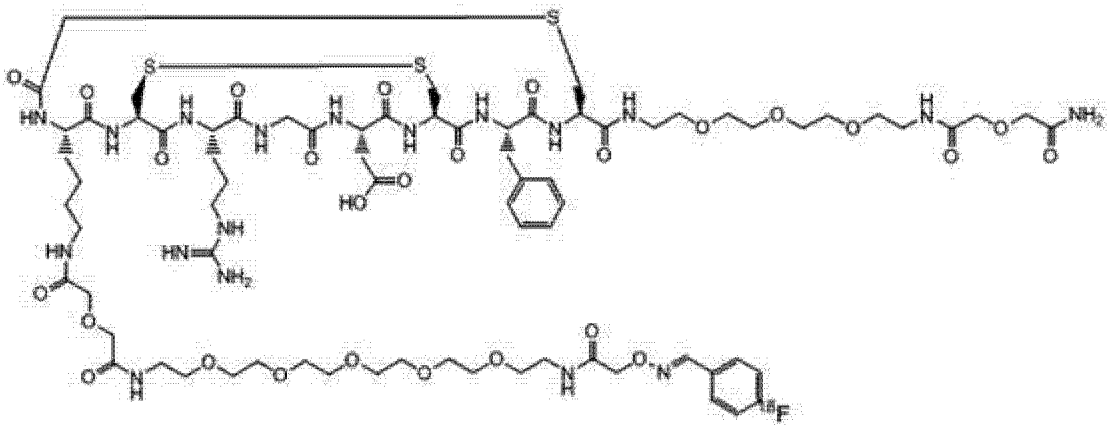


PEG1

其中 a 是 1 至 10 的整数。

[0035] 在式 BTM1 中，X^7 优选为 PEG1，'a' 优选等于 1。

[0036] 优选的式 (I) 显像剂是式 (IA) 的 [^{18}F]-fluciclatide：



(IA)

在第一方面的组合物中，当 X^1 是 ^{18}F 时，X^2 优选为 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$ 或 -OH，更优选存在式 (II) 的多种衍生物使得 X^2 等于所有这 3 种基团。这在第三方面（下文）更全面地描述。

[0037] 优选将显像剂组合物提供为无菌形式，即适合哺乳动物给予的形式，如在第二方面（下文）描述。

[0038] 可按照第四方面（下文）描述获得第一方面的显像剂组合物。

[0039] 在第二方面，本发明提供放射性药物组合物，它包含呈适于哺乳动物给予的形式的第一方面的显像剂组合物，以及生物相容性载体。

[0040] 在第二方面中显像剂组合物的优选方面如在第一方面（上文）限定。

[0041] 短语"呈适于哺乳动物给予的形式"意指这样的组合物，其为无菌无热原的，不含产生毒性作用或不利作用的化合物，并且在生物相容性 pH（约 pH 4.0-10.5）下配制。这

类组合物不含可导致体内栓塞风险的微粒，并且配制成与生物流体（例如血）接触时不产生沉淀。这类组合物亦仅含有生物相容性赋形剂，以及优选为等渗的。

[0042] “生物相容性载体”为流体特别是液体，其中显像剂可以是悬浮的或优选溶解的，使得所述组合物为生理上耐受的，即可给予哺乳动物体而无毒性或过度不适。生物相容性载体适当为注射用载体液体，例如无菌无热原的注射用水；水溶液，例如盐水（可让其有利地平衡以便用于注射的最终产物等渗）；包含生物相容性缓冲剂的水性缓冲液（例如磷酸盐缓冲液）；一种或多种以下物质的水溶液：调节张力的物质（例如等离子体阳离子与生物相容的反荷离子的盐）、糖（例如葡萄糖或蔗糖）、糖醇（例如山梨醇或甘露醇）、二醇（例如甘油）或其它非离子多元醇物质（例如聚乙二醇、丙二醇等）。优选生物相容性载体为无热原注射用水、等渗盐水或磷酸盐缓冲液。

[0043] 将显像剂和生物相容性载体各自提供在合适的小瓶或容器中，所述小瓶或容器包含密闭容器，其允许保持无菌完整性和/或放射性安全性，任选加上惰性顶空气体（例如氮气或氩气），同时允许通过注射器或插管来加入和吸出溶液。优选的这类容器为隔膜密封的小瓶，其中气密封盖用顶封物（overseal）（通常为铝的）压紧。所述封盖适于用皮下注射针单次或多次穿刺（例如压紧的隔膜密封封盖）同时保持无菌完整性。这类容器具有额外的优点：所述封盖可在需要时（例如更换顶空气体或给溶液除气）承受真空，并承受压力变化，例如压力减小而不会允许外部大气气体（例如氧气或水蒸气）进入。

[0044] 优选的多剂量容器包括单个散装小瓶（例如 10-50 cm^3 体积的），其包含多个患者剂量，由此可在制剂的有效期期间于不同时间间隔将单个患者剂量抽到临床级注射器中，以适合临床情况。设计预填充的注射器以含有单个人剂量或“单位剂量”，并因此优选为适于临床使用的一次性注射器或其它注射器。本发明的药物组合物优选具有适合单个患者的剂量，如上所述提供在合适的注射器或容器中。

[0045] 药物组合物可包含另外的任选赋形剂，例如：抗微生物防腐剂、pH 调节剂、填充剂、辐射防护剂、增溶剂或同渗重摩调节剂。术语“辐射防护剂”意指通过捕获高活性自由基（例如因水的辐解而产生的含氧自由基）来抑制降解反应（例如氧化还原过程）的化合物。本发明的辐射防护剂适当地选自：抗坏血酸、对氨基苯甲酸（即 4- 氨基苯甲酸）、龙胆酸（即 2,5- 二羟基苯甲酸）及其与生物相容性阳离子的盐。术语“生物相容性阳离子”(B^c)意指与离子化荷负电基团形成盐的荷正电反荷离子，其中所述荷正电反荷离子还无毒，因此适合给予哺乳动物体，特别是人体。合适的生物相容性阳离子实例包括：碱金属钠或钾；碱土金属钙和镁；和铵离子。优选的生物相容性阳离子是钠和钾，最优选钠。

[0046] 当放射性药物组合物包含式 (IA) 的 fluciclatide 时，该组合物优选包含辐射防护剂。优选辐射防护剂是 4- 氨基苯甲酸钠 (Na-pABA)。待使用的 Na-pABA 的优选浓度是 1 至 3 mg/mL，优选 1.5 至 2.5 mg/mL，最优选约 2.0 mg/mL。

[0047] 术语“增溶剂”意指存在于组合物中增加显像剂在溶剂中的溶解度的添加剂。优选的这类溶剂为水性介质，因此所述增溶剂优选改善水中的溶解度。合适的这类增溶剂包括：C_{1-4} 醇；甘油；聚乙二醇 (PEG)；丙二醇；聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯；山梨醇酐单油酸酯 (sorbitan monooloeate)；聚山梨酯；聚（氧乙烯）聚（氧丙烯）聚（氧乙烯）嵌段共聚物 (Pluronics™)；环糊精（例如 α、β 或 γ 环糊精、羟丙基 -β- 环糊精或羟丙基 -γ- 环糊精）和卵磷脂。

[0048] 术语“抗微生物防腐剂”意指抑制潜在有害微生物（例如细菌、酵母或霉菌）生长的物质。抗微生物防腐剂亦可表现出某些杀菌特性，这取决于所用剂量。本发明抗微生物防腐剂的主要作用为抑制任何所述微生物在药物组合物中的生长。然而，亦可任选将抗微生物防腐剂用于抑制潜在有害微生物在试剂盒的一种或多种组分中的生长，所述试剂盒用于在给予之前制备所述组合物。合适的抗微生物防腐剂包括：对羟基苯甲酸酯类，即对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯或对羟基苯甲酸丁酯或其混合物；苯甲醇；苯酚；甲酚；溴化十六烷基三甲胺和硫柳汞。优选的抗微生物防腐剂为对羟基苯甲酸酯类。

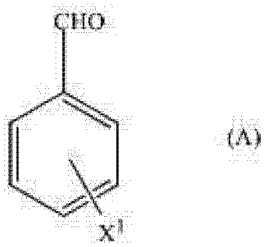
[0049] 术语“pH 调节剂”意指用于确保组合物的 pH 在用于人或哺乳动物给予的容许界限（约 pH 4.0-10.5）之内的化合物或化合物的混合物。合适的这类 pH 调节剂包括药学上可接受的缓冲剂，例如曲辛、磷酸盐或 TRIS［即三（羟甲基）氨基甲烷］，以及药学上可接受的碱，例如碳酸钠、碳酸氢钠或其混合物。当所述组合物以试剂盒形式使用时，所述 pH 调节剂可任选在独立小瓶或独立容器中提供，以便试剂盒的使用者可作为多步操作的部分调节 pH。

[0050] 术语“填充剂”意指可在生产和冻干期间利于原料处理的药学上可接受的膨胀剂。合适的填充剂包括诸如氯化钠等无机盐，以及诸如蔗糖、麦芽糖、甘露醇或海藻糖等水溶性糖或糖醇。

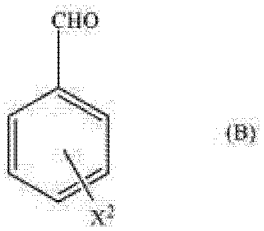
[0051] 第四方面的放射性药物组合物可在无菌制造（即洁净室）条件下制备以得到期望的无菌无热原产物。优选关键组分，特别是相关的试剂加上接触显像剂的装置的那些部分（如小瓶）是无菌的。组分和试剂可通过本领域已知的方法灭菌，包括：无菌过滤、用例如 γ 照射终末灭菌、高压灭菌、干热或化学处理（如用环氧乙烷）。优选预先灭菌一些组分，以便需要实施最少的操作数。但是，作为预防，优选包括至少一个无菌过滤步骤作为制备药物组合物的最终步骤。

[0052] 可按照第四方面（下文）的描述制备本发明的放射性药物组合物。

[0053] 在第三方面，本发明提供组合物，它包含式 (A) 的放射性醛和一种或多种式 (B) 的非放射性醛：



(A)



(B)

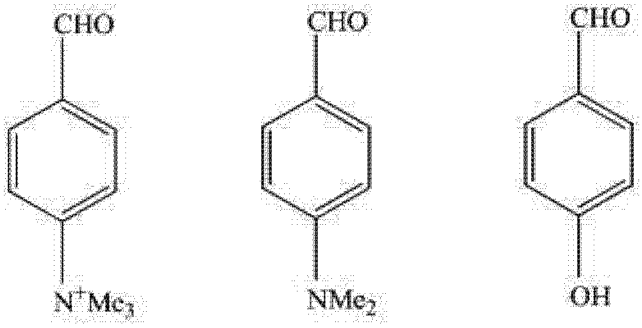
其中 X^1 和 X^2 如在第一方面中限定；

并且其中式 (B) 衍生物在组合物中存在的总浓度小于 150 μg/mL。

[0054] 在第三方面中 X^1 和 X^2 的优选方面如在第一方面（上文）限定。优选式 (B) 衍生物存在的浓度小于 100 μg/mL，更优选小于 45 μg/mL。

[0055] 在第三方面的组合物中，X^1 优选是 ^{18}F 且 X^2 是 $-N^+(CH_3)_3$、$-N(CH_3)_2$ 或 -OH 或者其组合。

[0056] 因此，本发明人已发现当 [^{18}F]- 氟苯甲醛 ([^{18}F]-FBA) 通过常规放射合成自 TMAB 制备时，存在的化学杂质中超过 95% 来源于 TMAB、DMAB 和 HBA：



TMAB DMAB HBA

此外，可产生式 (II) 的杂质，其中 X^2 = $-SCH_3$ 或 $-OC_6H_4CHO$。当用 DMSO 作为溶剂时可产生 X^2 = $-SCH_3$ 物质。这些杂质已通过 LC-MS 研究鉴定。

[0057] 因为这些杂质在性质上全都有醛式的，所以它们与 [^{18}F]-FBA 竞争目的官能化 BTM。那具有 3 个重要的效应：

(i) 减少放射性收率；

(ii) 减少总的化学纯度；

(iii) 从中产生的显像剂组合物可含有多种 [式 (II) 的]BTM- 官能化杂质，其可与 ^{18}F- 标记的显像剂竞争期望的体内生物学位点。

[0058] 问题 (iii) 因此可影响体内显像剂的效力。此外，因为式 (I) 和 (II) 的 BTM 缀合物结构类似，所以它们一旦在组合物中形成和存在则可能难以分离。放射性同位素 ^{18}F 具有 109 分钟的半衰期，因此纯化组合物消耗的时间对问题 (i) 也有影响。因此，第三方面的改良组合物是获得第一方面的显像剂组合物的重要促进因素。

[0059] 第三方面的组合物优选提供为溶液剂。此类溶液剂的合适溶剂是：乙醇、水性乙醇、乙腈或水性乙腈。优选溶剂是乙醇或水性乙醇，更优选乙醇。

[0060] 第三方面的组合物可如下获得。将 ^{18}F- 醛用氢氧化铵溶液稀释，然后在 MCX 混合模式固相提取 (SPE) 柱（市售获自 Waters, 部件号 186003516）上纯化。混合模式柱具有阳离子交换和反相 (C18) 色谱特征两者。粗混合物的碱性条件确保 HBA、Kryptofix 222 和碳酸钾加上任何不反应的 [^{18}F]- 氟化物离子都呈离子化形式。结果是，它们不与柱结合，由此洗涤为废料。接着将 [^{18}F]- 醛用乙醇从 MCX 小柱洗脱。当用有机溶剂洗脱 FBA 时阳离子物质比如 TMAB 被柱保留，不被洗脱。

[0061] 在第四方面，本发明提供放射性标记生物学靶向分子的方法，其包括：

(i) 提供用氨基氧基或肼基官能化的生物学靶向部分；

(ii) 使来自步骤 (i) 的官能化生物学靶向部分与第三方面的放射性醛组合物反应，使得式 (A) 的放射性醛与所述氨基氧基或肼基缩合，以得到放射性标记的生物学靶向分子。

[0062] 第四方面的生物学靶向部分 (BTM) 及其优选实施方案如在第一方面 (上文) 描述。

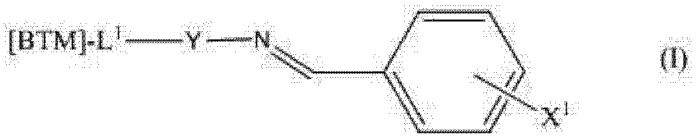
[0063] 术语“氨基氧基”意指具有与其共价缀合的氨基氧基官能团的 BTM。此类基团具有式 $-O-NH_2$，优选 $-CH_2O-NH_2$，并且具有以下优点 :氨基氧基的胺在与醛形成肟醚的缩合反应中反应性比 Lys 胺基团更高。

[0064] “肼基”是式 $-NH-NH_2$ 的官能团。

[0065] 在第四方面的方法中，官能化生物学靶向部分优选具有式 (IV) :

$$[BTM]-L^1-Y-NH_2 \qquad (IV)$$

以及放射性标记产物具有式 (I) :



其中 :

BTM、L^1、Y 和 X^1 及其优选方面如在第一方面 (上文) 中描述。

[0066] 第四方面的方法优选用自动合成仪装置实施。术语“自动合成仪”意指基于如由 Satyamurthy 等 [Clin. Positr. Imag., 2(5), 233-253 (1999)] 描述的单元操作原理的自动化模块。术语‘单元操作’意指将复杂过程简化为一系列简单操作或反应，其可应用于多种材料。特别是当需要放射性药物组合物时，所述自动合成仪对于本发明的方法而言为优选的。它们可市购于多个供应商 [Satyamurthy 等，上文]，包括 :GE Healthcare ;CTI Inc ; Ion Beam Applications S.A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Neuve, Belgium) ;Raytest (Germany) 和 Bioscan (USA)。

[0067] 商业自动合成仪亦提供用于液体放射性废料的合适容器，所述液体放射性废料因放射性药物制备而产生。自动合成仪通常不提供辐射屏蔽，因为将它们设计成在适当配置的放射性工作间使用。所述放射性工作间提供合适的辐射屏蔽以保护操作者避开可能的辐射剂量，以及提供通风以去除化学和 / 或放射性蒸气。优选所述自动合成仪包含盒 (cassette)。术语“盒”意指设计成可移动且可交换地安装至自动合成仪装置 (如上所定义) 上的一块装置，这样使得合成仪的活动件的机械运动从盒外，即外部地控制盒的操作。合适的盒包含线性阵列的阀，各阀通过针刺倒置隔膜密封的小瓶或通过气密连接的接头与可连接试剂或小瓶的端口连接。各阀具有凸 - 凹接头，其与自动合成仪的对应移动臂对接。因此当盒与自动合成仪连接时臂的外部旋转控制阀的打开或闭合。将自动合成仪的另外的活动件设计为夹在注射器活塞头上，并由此提起或下压注射器管。

[0068] 盒是多用途的，通常具有若干可连接试剂的位置，和若干适于连接试剂注射器小瓶或色谱柱 (例如固相提取或 SPE) 的位置。盒总是包括反应容器。这类反应容器体积优选为 0.5-10 mL，更优选 0.5-5 mL，以及最优选 0.5-4 mL，并且经配置使得盒的 3 个或更多个端口与之连接，以允许从盒上的不同端口传送试剂或溶剂。优选所述盒具有呈线性阵列的 15-40 个阀，最优选 20-30 个，特别优选 25 个。所述盒的阀优选为各自相同的，以及最优选为 3 通阀。将所述盒设计成适于放射性药物制备并因此制备自医药级的以及理想上亦耐受辐解作用的材料。

[0069] 本发明优选的自动合成仪包含一次性或单次使用的盒，所述盒包含进行给定批次

的放射性氟化放射性药物的制备所需的全部试剂、反应容器和装置。所述盒意味着自动合成仪具有能够通过简单变换盒在最小交叉污染风险的情况下制备各种不同放射性药物的灵活性。盒方法还具有以下优势：简化装配因而降低操作人员的误差风险；改进的GMP（药品生产质量管理规范）遵从性；多-示踪物能力；生产运行之间的快速转换；预运行自动诊断核查盒和试剂；自动条形码交叉检查化学试剂与待进行的合成；试剂可示踪性；单次使用并因此无交叉污染、擅自改变和滥用抗性的风险。

[0070] 本发明这方面包括自动合成仪装置制备第二方面的放射性药物组合物的用途。

[0071] 第四方面的方法优选以无菌方式实施，以便获得第二方面的药物组合物。本发明的放射性药物组合物可通过各种方法制备：

(i) 无菌制备技术，其中 ^{18}F- 放射性标记步骤在洁净室环境中实施；

(ii) 终端灭菌，其中 ^{18}F- 放射性标记在不使用无菌制备的情况下实施，然后在最后一步消毒[如通过 γ 照射、高压灭菌干热或化学处理（如用环氧乙烷）]；

(iii) 试剂盒方法，其中将包含合适前体和任选赋形剂的无菌、非放射性试剂盒制剂与 ^{18}F 的合适供应物反应；

(iv) 无菌制备技术，其中 ^{18}F- 放射性标记步骤用自动合成仪装置实施。

[0072] 优选方法 (iv)。

[0073] 氨基-氧基官能化肽可通过 Poethko 等 [J.Nucl.Med., 45, 892-902 (2004)]、Schirrmacher 等 [Bioconj.Chem., 18, 2085-2089 (2007)]、Solbakken 等 [Bioorg.Med.Chem.Lett, 16, 6190-6193 (2006)] 或 Glaser 等 [Bioconj. Chem., 19, 951-957 (2008)] 的方法制备。氨基-氧基基团可任选在两个步骤中缀合。首先，使对应的 N- 保护的氨基-氧基羧酸或 N- 保护的氨基-氧基活化酯与肽缀合。第二，使中间体 N- 保护的氨基-氧基官能化肽脱保护以得到期望的产物（见上文引用的 Solbakken 和 Glaser 文件）。N- 保护的氨基-氧基羧酸比如 Boc-NH-O-CH_2(C=O)OH 和 Eei-N-O-CH_2(C=O)OH 市售购自例如 Novabiochem 和 IRIS。

[0074] 使肼官能团缀合至多肽接着与放射性标记的醛缩合以形成肼连接的缀合物的方法描述于 Y.Wang 等 [Nucl.Med.Biol., (2011) "Synthesis and evaluation of [^{18}F] exendin (9-39)…" 在印刷前电子], 以及 Meszaros 等 [Inorg.Chim.Acta, 363(6), 1059-1069 (2010)]。

[0075] 术语"保护的"指保护基的应用。术语"保护基"意指抑制或阻止不期望的化学反应，但经设计具有充分反应性以便其在不改变分子其余部分的足够温和的条件下可从所述官能团切离的基团。在脱保护后获得期望的产物。胺保护基为本领域技术人员熟知，适合选自：Boc（其中 Boc 是叔丁氧基羰基）；Eei（其中 Eei 是乙氧基亚乙基）；Fmoc（其中 Fmoc 是芴基甲氧基羰基）；三氟乙酰基；烯丙氧基羰基；Dde [即 1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己基）乙基] 或 Npys（即 3-硝基-2-吡啶亚磺酰基）。其它保护基的应用描述于 Protective Groups in Organic Synthesis, 第 4 版, Theorodora W. Greene 和 Peter G. M. Wuts, [Wiley Blackwell, (2006)]。优选的胺保护基是 Boc 和 Eei，最优选 Eei。

[0076] 其中 q 是 3 的式 $^{18}F(CH_2)_2O[CH_2CH_2O]_qCH_2CHO$ 的 ^{18}F- 标记脂族醛，可通过 Glaser 等 [Bioconj.Chem., 19(4), 951-957 (2008)] 的方法获得。[^{18}F]-氟苯甲醛可通过 Glaser 等 [J.Lab.Comp.Radiopharm., 52, 327-330 (2009)] 的方法获得。[^{18}F]-氟苯甲醛的前体，

即 Me_3N^+-C_6H_4-CHO.$CF_3SO_3^-$ 通过 Haka 等 [J. Lab. Comp. Radiopharm., 27, 823-833 (1989)] 的方法获得。

[0077] 其它肽可通过固相肽合成获得，如描述于 P. Lloyd-Williams, F. Albericio 和 E. Girald ;Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, CRC Press, 1997。

[0078] 在第五方面，本发明提供对人或动物体成像的方法，其包括产生其中已分布第二方面的放射性药物组合物的所述机体至少一部分的 PET 图像。

[0079] 在第五方面中放射性药物组合物及其中的显像剂的优选方面分别如在本发明第二和第一方面（见上文）中描述。

[0080] 第五方面的方法优选在处于疾病状态的机体部分实施，在所述疾病状态中涉及整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 受体的异常表达，特别涉及血管生成。此类疾病状态包括类风湿性关节炎、银屑病、再狭窄、视网膜病和肿瘤生长。第五方面的优选的此类疾病状态是肿瘤生长。整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 表达的正电子发射断层扫描 (PET) 成像描述于 Beer 等 [Theranostics, 1, 48-57 (2011)]。

[0081] 第五方面的成像方法可任选重复实施以监测用药物治疗人或动物体的效应，所述成像在用所述药物治疗之前和之后进行，任选还在用所述药物治疗期间进行。特别关注的是早期监测抗血管生成癌症疗法的功效以确保在病况变为末期之前控制恶性肿瘤生长。此类疗法监测成像描述于 Battle 等 [J. Nucl. Med., 52(3), 424-430 (2011)] 和 Morrison 等 [J. Nucl. Med., 50(1), 116-122 (2009) 和 Theranostics, 1, 149-153 (2011)]。

[0082] 优选实施第五方面的方法，其中已将放射性药物组合物事先给予哺乳动物体。“事先给予”意指牵涉临床医师的步骤（其中将显像剂例如作为静脉内注射给予患者），已在成像之前实施。

[0083] 在第六方面，本发明提供人或动物体的诊断方法，其包括第五方面的成像方法。

[0084] 第六方面的显像剂、组合物和成像方法的优选方面如在第一、第二和第五方面（上文）中描述。

[0085] 本发明通过下文详述的非限制性实施例说明。实施例 1 提供本发明前体 1 的合成。实施例 2 提供 [^{18}]F-FBA 的合成，实施例 3 提供 [^{18}F]-FBA 的纯化以获得本发明的组合物。实施例 4 提供用本发明的纯化 [^{18}F]-FBA 组合物合成本发明的化合物 1。实施例 5 提供杂质分析，证明如何用本发明的方法除去杂质物质。

[0086] 缩写

使用常规单字母或 3 字母氨基酸缩写。

[0087] Ac: 乙酰基

ACN: 乙腈

Boc: 叔丁氧羰基

DIPEA: N,N -二异丙基乙胺

DMAB: 4-(二甲氨基)苯甲醛

DMSO: 二甲基亚砜

EOS: 合成结束

FBA: 4-氟苯甲醛

Fmoc: 9- 芴基甲氧羰基

HATU: O-(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基)-N,N,N',N'- 四甲基脲鎓六氟磷酸盐

HBA: 4- 羟基苯甲醛

HPLC: 高效液相色谱

MCX 混合模式阳离子交换柱

NMM: N- 甲基吗啉

NMP: 1- 甲基 -2- 吡咯烷酮

PBS: 磷酸盐缓冲盐水

PyBOP: 苯并三唑 -1- 基 - 氧基三吡咯烷子基磷鎓六氟磷酸盐

RAC: 放射性浓度

RCP: 放射化学纯度

RT: 室温

SPE: 固相提取

tBu: 叔丁基

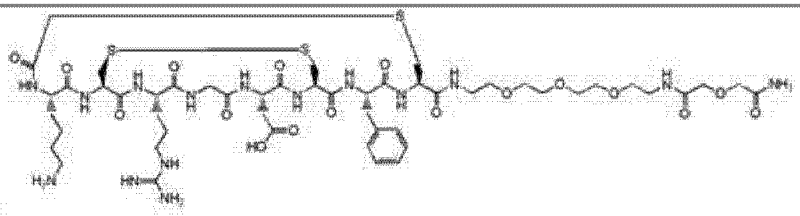
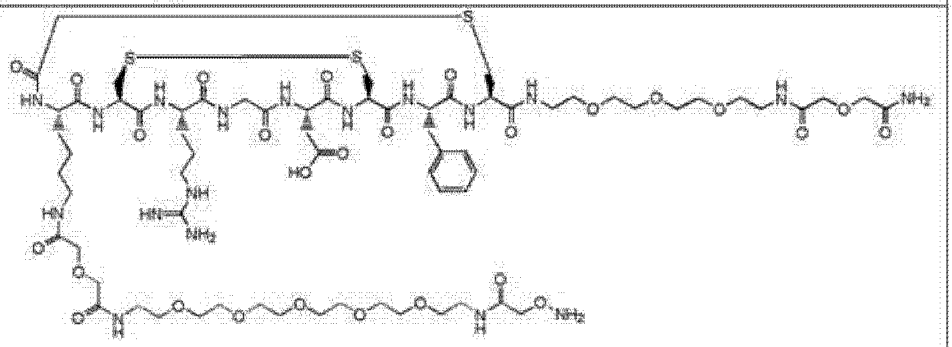
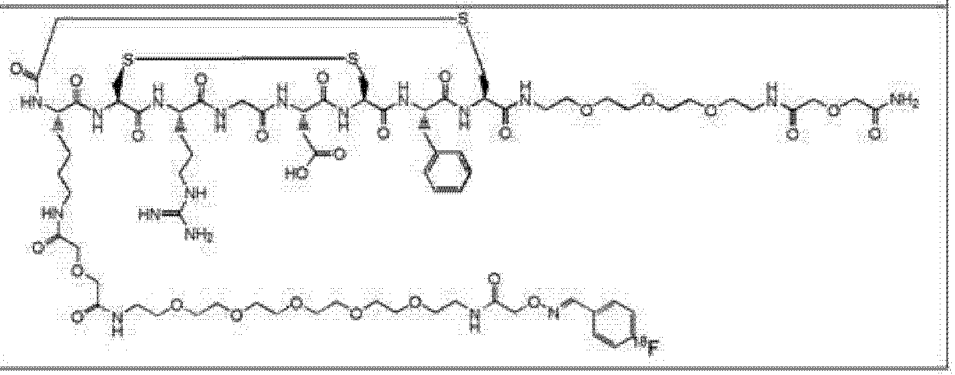
TFA: 三氟乙酸

TFP: 四氟苯基

TMAB: 4-(三甲基铵) 苯甲醛

T_R: 保留时间

表 1 :本发明化合物

名称	结构
肽 1	
前体 1	
化合物 1	

实施例 1：前体 1 的合成。

[0088] 用标准肽合成法合成肽 1。

[0089] (a) 1,17- 二叠氮基 -3,6,9,12,15- 五氧杂十七烷

将无水六聚乙二醇 (25 g, 88 mmol) 和甲磺酰氯 (22.3 g, 195 mmol) 在无水 THF (125 mL) 中的溶液保持在氩气下并在冰 / 水浴中冷却至 0℃。在 45 分钟内滴加三乙胺 (19.7 g, 195 mmol) 在无水 THF (25 mL) 中的溶液。1 小时后撤走冷却浴，将反应物再搅拌 4 小时。然后将水 (55 mL) 加至混合物，接着加入碳酸氢钠 (5.3 g, 至 pH 8) 和叠氮化钠 (12.7 g, 195 mmol)。通过蒸馏除去 THF，使水溶液回流 24 小时 (形成两层)。将混合物冷却，加入乙醚 (100 mL)，用氯化钠使水相饱和。将各相分离，用乙醚 (4 x 50 mL) 提取水相。将合并的有机相用盐水 (2 x 50 mL) 洗涤和干燥 ($MgSO_4$)。过滤和蒸发溶剂得到黄色油状物 26 g (89 %)。产物不进一步纯化即用于下一步。

[0090] (b) 17- 叠氮基 -3,6,9,12,15- 五氧杂十七烷胺

在室温在 3 小时内向 1,17- 二叠氮基 -3,6,9,12,15- 五氧杂十七烷 (25 g, 75 mmol) 在 5 % HCl (200 mL) 中的剧烈搅拌混悬液内加入三苯基膦 (19.2 g, 73 mmol) 在乙醚 (150 mL) 中的溶液。将反应混合物再搅拌 24 小时。将各相分离，用二氯甲烷 (3 x 40 mL) 提取水相。使水相在冰 / 水浴中冷却，通过添加固体氢氧化钾将 pH 调节至 12。浓缩水相，使产物溶解在二氯甲烷 (150 mL) 中。将有机相干燥 (Na_2SO_4) 和浓缩，得到黄色油状物 22 g (95

%)。通过电喷射质谱法 (ESI-MS) 鉴定产物 (MH+ 计算值： 307.19; 实测值 307.4)。粗制油状物不进一步纯化即用于下一步。

[0091] (c) 23- 叠氮基 -5- 氧代 -6- 氮杂 -3,9,12,15,18,21- 六氧杂二十三酸

向 17- 叠氮基 -3,6,9,12,15- 五氧杂十七烷胺 (15 g, 50 mmol) 在二氯甲烷 (100 mL) 中的溶液内加入二乙醇酸酐 (Acros, 6.4 g, 55 mmol)。将反应混合物搅拌过夜。通过 ESI-MS 分析监测反应，加入更多试剂以驱动反应完成。浓缩溶液以得到溶于水 (250 mL) 中的黄色残留物。通过用二氯甲烷连续提取过夜从水相分离产物。干燥和蒸发溶剂得到 18 g 产量 (85 %)。通过 ESI-MS 分析表征产物 (MH+ 计算值： 423.20; 实测值 423.4)。产物不进一步纯化即用于下一步。

[0092] (d) 23- 氨基 -5- 氧代 -6- 氮杂 -3,9,12,15,18,21- 六氧杂二十三酸

使 23- 叠氮基 -5- 氧代 -6- 氮杂 -3,9,12,15,18,21- 六氧杂二十三酸 (9.0 g, 21 mmol) 溶于水 (50 mL) 中，用 H_2(g)-Pd/C (10 %) 还原。进行反应直至 ESI-MS 分析显示完全转化为期望的产物 (MH+ 计算值： 397.2; 实测值 397.6)。粗产物不进一步纯化即用于下一步。

[0093] (e) (Boc- 氨基氧基) 乙酰基 -PEG(6)- 二乙醇酸

将二环己基碳二亚胺 (515 mg, 2.50 mmol) 在二氧杂环己烷 (2.5 mL) 中的溶液滴加至 (Boc- 氨基氧基) 乙酸 (477 mg, 2.50 mmol) 和 N- 羟基琥珀酰亚胺 (287 mg, 2.50 mmol) 在二氧杂环己烷 (2.5 mL) 中的溶液。将反应物在室温搅拌 1 小时并过滤。将滤液转移至装有 23- 氨基 -5- 氧代 -6- 氮杂 -3,9,12,15,18,21- 六氧杂二十三酸 (1.0 g, 2.5 mmol) 和 NMM (278 μl, 2.50 mmol) 在水 (5 mL) 中的溶液的反应器内。将混合物在室温搅拌 30 分钟。ESI-MS 分析显示完全转化为期望的产物 (MH+ 计算值： 570.28; 实测值 570.6)。将粗产物通过制备型 HPLC (柱： Phenomenex Luna 5μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测： 214 nm, 梯度：在 60 分钟内的 0-50 % B，其中 A = H_2O/0.1 % TFA 和 B = 乙腈 /0.1 % TFA, 流速： 10 mL/min) 纯化，得到 500 mg (38 %) 纯产物。将产物通过 HPLC (柱： Phenomenex Luna 3μ C18 (2), 50 x 2.00 mm, 检测： 214 nm, 梯度： 在 10 分钟内的 0-50 % B，其中 A = H_2O/0.1 % TFA 和 B = 乙腈 /0.1 % TFA, 流速： 0.75 mL/min, Rt = 5.52 min) 分析。通过 NMR 分析进行了进一步确认。

[0094] (f) (Boc- 氨基氧基) 乙酰基 -PEG(6)- 二乙醇酸与肽 1 缀合

使 (Boc- 氨基氧基) 乙酰基 -PEG(6)- 二乙醇酸 (0.15 mmol, 85 mg) 和 PyAOP (0.13 mmol, 68 mg) 溶于 DMF (2 mL) 中。加入 NMM (0.20 mmol, 20 μL)，将混合物搅拌 10 分钟。加入肽 1 (0.100 mmol, 126 mg) 和 NMM (0.20 mmol, 20 μL) 在 DMF (4 mL) 中的溶液，将反应混合物搅拌 25 分钟。加入另外的 NMM (0.20 mmol, 20 μL)，将混合物再搅拌 15 分钟。真空蒸发 DMF，使产物溶解在 10 % 乙腈 - 水中，通过制备型 HPLC (柱： Phenomenex Luna 5μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测： UV 214 nm, 梯度： 在 40 分钟内的 5-50 % B，其中 A = H_2O/0.1 % TFA 和 B = 乙腈 /0.1 % TFA, 流速： 10 mL/min) 纯化，得到 100 mg 半纯产物。其中用 HCOOH 代替 TFA 的第二纯化步骤 (梯度： 0-30 % B, 其它条件与上文相同) 得到 89 mg (50 %)。将产物通过 HPLC (柱： Phenomenex Luna 3μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测： UV 214 nm, 梯度：在 10 分钟内的 0-30 % B，其中 A = H_2O/0.1 % HCOOH 和 B = 乙腈 /0.1 % HCOOH, 流速： 0.3 mL/min, Rt: 10.21 min) 分析。用 ESI-MS 进行了进一步的

产物表征 (MH22+ 计算值： 905.4, 实测值： 906.0)。

[0095] (g) 脱保护。

[0096] 通过将含有 5% 水的 TFA 加至 10 mg 肽实施了脱保护。

[0097] 实施例 2：^{18}F- 苯甲醛 (^{18}F-FBA) 的放射合成。

[0098] 用 GEMS PETtrace 回旋加速器与银靶经由 [^{18}O](p,n) [^{18}F] 核反应产生了 [^{18}F]- 氟化物。使用 1.5-3.5 mL 的总靶体积。将放射性氟化物截留在 Waters QMA 柱 (用碳酸盐预处理) 上，将氟化物用 Kryptofix$_{2.2.2}$ (4 mg, 10.7 μM) 和碳酸钾 (0.56 mg, 4.1 μM) 在水 (80 μL) 和乙腈 (320 μL) 中的溶液洗脱。用氮气驱使溶液脱离 QMA 柱至反应器。将 [^{18}F]- 氟化物在稳定的氮气流和真空下在 120℃干燥 9 分钟。将三甲基铵苯甲醛三氟甲磺酸盐，[Haka 等, J.Lab.Comp.Radiopharm., 27, 823-833 (1989)] (3.3 mg, 10.5 μM) 在 DMSO (1.1 mL) 中加至干燥的 [^{18}F]- 氟化物，并将混合物在 105℃加热 7 分钟，得到 4-[^{18}F]- 氟苯甲醛。

[0099] 实施例 3：^{18}F- 氟苯甲醛 (^{18}F-FBA) 的纯化。

[0100] 将来自实施例 2 的粗制标记混合物用氢氧化铵溶液稀释，上样至 MCX+ SPE 柱 (作为 FASTlab 次序的一部分用水预处理) 上。将该柱用水洗涤，用氮气干燥，然后将 4-[^{18}F]- 氟苯甲醛在乙醇 (1.8 mL) 中洗脱回反应器内。总体积 2.2 mL 的乙醇用于洗脱但弃去最初的部分 (0.4 mL)，因为这不含 [^{18}F]-FBA。4-7% (衰减校正的) [^{18}F] 放射性保持截留在该柱上。

[0101] 实施例 4：[^{18}F]-fluciclatide (化合物 1) 的制备。

[0102] 在盐酸苯胺的存在下在乙醇 (1.8 mL) 和水 (1.8 mL) 的溶液中进行了 [^{18}F]-FBA 与前体 1 (5 mg) 的缀合。将反应混合物在 60℃维持了 5 分钟。

[0103] 实施例 5：杂质分析。

[0104] 在 SPE 纯化之前和之后测定了苯甲醛型杂质的水平，如表 1 (基于 5250 μg TMAB 三氟甲磺酸盐 ; mol. wt 313) 显示：

表 1

化合物	μmol
TMAB(初始)	16.7
在 SPE(MCX) 纯化后回收的苯甲醛类	1.5
通过 SPE(MCX) 纯化除去的苯甲醛类	15.2

因此，SPE 方法实现了除去 91% 的杂质苯甲醛类。