



(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 201805025 A

(43)公開日：中華民國 107 (2018) 年 02 月 16 日

(21)申請案號：106119188

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 09 日

(51)Int. Cl.：

A61K51/08 (2006.01)

A61K47/64 (2017.01)

A61K103/40 (2006.01)

(30)優先權：2016/06/10

歐洲專利局

16173874.5

(71)申請人：拜耳製藥公司 (德國) BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

德國

拜耳公司 (挪威) BAYER AS (NO)

挪威

(72)發明人：卡斯柏森 亞倫 CUTHBERTSON, ALAN (GB)；托特韋恩 馬克 TRAUTWEIN, MARK (DE)；韋伯 恩斯特 WEBER, ERNST (DE)；卡爾森 珍妮 KARLSSON, JENNY (SE)；漢姆 史弟芬尼 HAMMER, STEFANIE (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：2 共 80 頁

(54)名稱

放射性醫藥複合物

RADIO-PHARMACEUTICAL COMPLEXES

(57)摘要

本發明提供一種用於形成靶向組織之鈾複合物之方法，該方法包含：a) 形成八齒螯合劑，其包含在 N 位經甲基取代之四個羥基吡啶酮(HOPO)部分及以羧酸基終端之偶合部分；b) 將該八齒螯合劑偶合至至少一種靶向脯胺醯基內肽酶 FAP 之靶向組織之部分；及 c) 使該靶向組織之螯合劑與包含至少一種發射 α 鈾同位素之離子之水溶液接觸。本發明亦提供一種治療贅生性或增生性疾病之方法，該方法包含投與此靶向組織之鈾複合物，且亦提供該複合物及對應醫藥調配物。

The invention provides a method for the formation of a tissue-targeting thorium complex, said method comprising; a) forming an octadentate chelator comprising four hydroxypyridinone (HOPO) moieties, substituted in the N-position with a methyl group, and a coupling moiety terminating in a carboxylic acid group; b) coupling said octadentate chelator to at least one tissue-targeting moiety targeting prolyl endopeptidase FAP; and c) contacting said tissue-targeting chelator with an aqueous solution comprising an ion of at least one alpha-emitting thorium isotope. A method of treatment of a neoplastic or hyperplastic disease comprising administration of such a tissue-targeting thorium complex, as well as the complex and corresponding pharmaceutical formulations are also provided.

指定代表圖：

【圖1】

【圖1】(續)

【圖1】(續)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

放射性醫藥複合物

【英文發明名稱】

RADIO-PHARMACEUTICAL COMPLEXES

【技術領域】

本發明係關於用於形成釷-227與特定八齒配位體之複合物之方法，該等八齒配位體共軛至靶向脯胺醯基內肽酶FAP抗原之靶向組織之部分。本發明亦係關於複合物，且關於涉及投與此類複合物之疾病，尤其贅生性疾病之治療。

【先前技術】

特異性細胞殺傷對於成功治療哺乳動物個體中之各種疾病而言可為至關重要的。其典型實例為治療惡性疾病，諸如肉瘤及癌瘤。然而，選擇性消除特定細胞類型亦可在其他疾病，尤其增生性及贅生性疾病之治療中起重要作用。

當前選擇性治療之最常見方法為手術、化學療法及外射束照射。然而，靶向放射性核種療法為具有將高細胞毒性輻射特異性地遞送至與疾病相關聯之細胞類型之潛能的有前景及開發中的領域。當前經授權用於人體之放射性藥品的最常見形式採用發射 β 及/或發射 γ 之放射性核種。然而，近來對在治療中使用發射 α 放射性核種已存在一些關注，此係因為其較具特異性細胞殺傷之潛力。

生理學環境中之典型 α 發射體的輻射範圍通常小於100微米，等於僅數個細胞直徑。此使得此等來源較適用於治療腫瘤，包括微小轉移灶，此

係因為其具有達至腫瘤內之鄰近細胞的範圍，但若其較佳靶向，則極少放射能量將超過靶細胞。因此，並非每一細胞均需要被靶向，但可將對周圍健康組織之損害降至最低(參見Feinendegen等人, Radiat Res 148:195-201(1997))。相比之下， β 粒子在水中具有1 mm或更大之範圍(參見Wilbur, Antibody Immunocon Radiopharm 4: 85-96 (1991))。

與藉由 β 粒子、 γ 射線及X射線攜載之能量(通常為5 MeV至8 MeV)相比， α 粒子輻射之能量較高或為 β 粒子之能量的5倍至10倍且為 γ 射線之能量的20倍或更高倍。因此，此在極短距離內蓄積大量能量使 α 輻射與 γ 及 β 輻射相比具有格外高的線性能量轉移(LET)、高相對生物功效(RBE)及低氧增強比(OER) (參見Hall, 「Radiobiology for the radiologist」, 第五版, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, USA, 2000)。此解釋發射 α 之放射性核種之特殊細胞毒性，且亦對此類同位素之生物靶向提出嚴格要求，且對發射 α 之放射性核種分佈之控制水準及研究提出嚴格要求，此係必要的以避免不可接受之副作用。

迄今為止，關於在放射免疫療法中之應用，主要注意力集中於 ^{211}At 、 ^{213}Bi 及 ^{225}Ac ，且已在臨床免疫療法試驗中對此三種核種加以研究。

已提出之若干放射性核種係短生命期的，亦即具有小於12小時之半衰期。此類短半衰期使得難以以商業方式製造及分配基於此等放射性核種之放射性藥品。投與短生命期核種亦會增加將在到達靶點之前在體內發射之輻射劑量之比例。

來自 α 發射之反冲能在諸多情況下將造成子體核種自親體衰變之位置釋放。此反冲能足以使多個子體核自可保持親體之化學環境離開，例如在

藉由諸如螯合劑之配位體複合親體之情況下。甚至在子體與相同配位體化學相容(亦即可藉由其複合)之情況下，此仍將發生。同樣，在子體核種為氣體，尤其諸如氦之稀有氣體，或與配位體化學不相容之情況下，此釋放效果將甚至更顯著。當子體核種具有大於數秒之半衰期時，其可擴散至不受保持親體之複合劑限制的血液系統中。此等游離放射性子體隨後可造成非所期望之全身性毒性。

幾年前曾提出在維持控制 ^{223}Ra 子體同位素之條件下使用釷-227 ($T_{1/2} = 18.7$ 天) (參見WO 01/60417及WO 02/05859)。此係在使用允許藉由封閉環境保留子體核種之載劑系統的情形下。在一種情況下，放射性核種係安置於脂質體內且脂質體之相當大的尺寸(與反沖距離相比)有助於將子體核種保留在脂質體內。在第二種情況下，使用放射性核種之趨骨性複合物，其併入至骨基質中且因此限制子體核種之釋放。此等為潛在高度有利之方法，但在某些情況下投與脂質體並非所期望的且存在諸多軟組織之疾病，在該等疾病中放射性核種無法由礦化基質包圍以便保留子體同位素。

近年來，已確立，哺乳動物體內可耐受在 ^{227}Th 衰變後釋放之 ^{223}Ra 子體核之毒性的程度比根據對可比較之核進行之先前測試所預測的程度要大得多。在不存在如上文所論述之保留釷-227之鐳子體之特定手段之情況下，關於鐳毒性之可公開獲得之資訊清楚表明，不可能將釷-227用作治療劑，此係因為達成由釷-227衰變引起之治療效果所需之劑量將導致由鐳子體衰變引起之高度毒性及可能致死之輻射劑量，亦即不存在治療窗。

WO 04/091668描述治療性治療窗的確存在之非預期研究結果，其中可向個體(通常為哺乳動物)投與治療有效量之靶向釷-227放射性核種而不產生足以造成不可接受之骨髓毒性的鐳-223量。因此，此可用於治療及預

防骨部位及軟組織部位二者處之所有疾病類型。

鑒於以上研發，現有可能在內放射性核種療法中採用發射 α 之釷-227核而不存在由所產生的 ^{223}Ra 造成之致死性骨髓毒性。儘管如此，治療窗仍相對較窄且在所有情況下均期望向個體投與不比絕對必要多的發射 α 之放射性同位素。因此，若可以高可靠度複合且靶向發射 α 之釷-227核，則此新治療窗之有用開發將得到顯著促進。

由於放射性核種不斷衰變，在隔離與向個體投與之間處理材料所耗費之時間具有顯著重要性。若可以快速且方便製備，較佳需要若干步驟、短培育時段及/或不會不可逆地影響靶向實體之特性的溫度的形式複合、靶向及/或投與發射 α 之釷核，則其亦將具有相當大的價值。另外，可在投與之前不需要移除之溶劑中(基本上在水溶液中)進行之方法具有避免溶劑蒸發或透析步驟之相當大的優勢。

若可研發出展現顯著增強穩定性的經釷標記之藥品調配物，則其亦將被視為具有相當大價值。此對於確保遵守穩固的產品品質標準同時實現用於輸送患者劑量之物流路徑係至關重要的。因此，在1天至4天之時段內具有最小放射分解之調配物係較佳的。

含有羥基吡啶酮基團之八齒螯合劑先前已展示出適合於配位 α 發射體釷-277，以供隨後附接至靶向部分(WO2011098611)。八齒螯合劑描述為含有藉由連接體基團接合至胺類架構之四個3,2-羥基吡啶酮基團，具有用於共軛至靶向分子之單獨反應性基團。先前發明之較佳結構含有3,2-羥基吡啶酮基團且將異硫氰酸酯部分用作如化合物ALG-DD-NCS中所展示之抗體組分的較佳偶合化學部分。異硫氰酸酯廣泛用於經由胺基使標記物附接至蛋白質。異硫氰酸酯基團與蛋白質中之胺基端及一級胺反應且已用於

標記包括抗體之多種蛋白質。儘管形成於此等共軛物中之硫脲鍵相當穩定，但已報導由螢光素異硫氰酸酯製備之抗體共軛物會隨時間推移而劣化。[Banks PR, Paquette DM., Bioconjug Chem (1995) 6:447-458]。由螢光素異硫氰酸酯與胺之反應而形成之硫脲在鹼性條件下亦易轉化成胍 [Dubey I, Pratviel G, Meunier B Journal: Bioconjug Chem (1998) 9:627-632]。由於偶合至長生物半衰期的單株抗體之鈷-227的長衰變半衰期(18.7天)，因此需要使用較穩定連接部分以便產生在活體內且對於儲存較化學穩定之共軛物。

關於羥基吡啶酮配位體之共軛的最相關先前研究公開於WO2013/167754中且揭示具有包含羥基烷基官能基之水溶解部分之配位體。由於此螯合劑種類之羥基之反應性，呈活化酯形式之活化係不可能的，此係因為多個競爭反應隨後經由酯化反應產生產物之複雜混合物。因此，WO2013/167754之配位體必須經由諸如產生如上文所描述之較不穩定硫脲共軛物的異硫氰酸酯之替代性化學部分偶合至靶向組織之蛋白質。此外，WO2013167755及WO2013167756揭示分別應用於CD33靶向抗體及CD22靶向抗體之羥基烷基/異硫氰酸酯共軛物。

脯胺醯基內肽酶FAP(亦稱作纖維母細胞激活蛋白，或FAP α)在癌症生理學中具有多重作用(Jiang等人, Oncotarget. 2016年3月15日)。FAP在癌症相關聯纖維母細胞上高度表現且亦可存在於癌細胞上。已報導在超過90%的上皮癌瘤(例如乳癌、肺癌、結腸癌、胰臟癌、頭頸癌)之基質及骨和軟組織肉瘤之惡性細胞中並且在一些發炎病況諸如肝硬化下有大量表現。

FAP係胞外基質重塑中所初步涉及之II型跨膜絲胺酸蛋白酶。其直接

及間接導致癌症引發、進展及轉移。近年來，已描述與FAP陽性癌症相關的纖維母細胞之免疫抑止作用，其表明FAP係應變性腫瘤相關聯抗原且因此係有吸引力的治療靶向物。

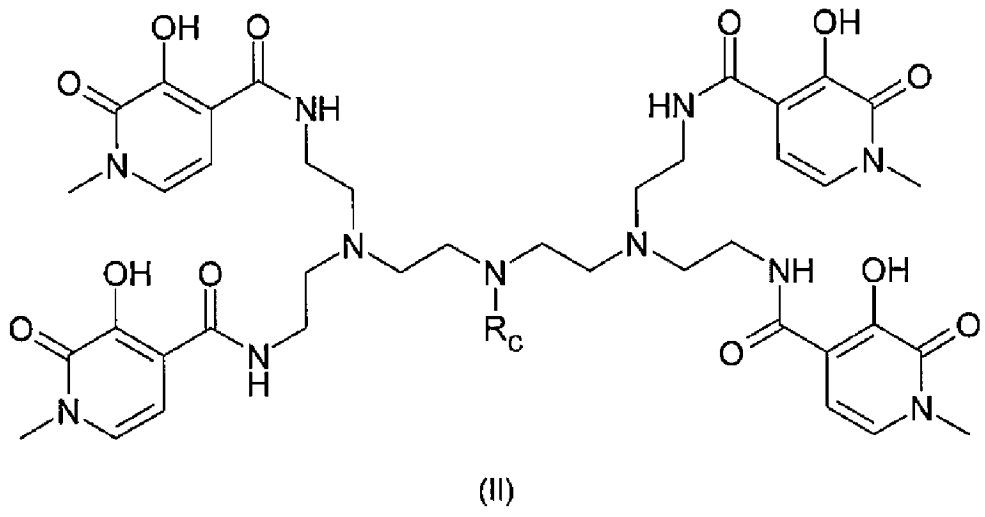
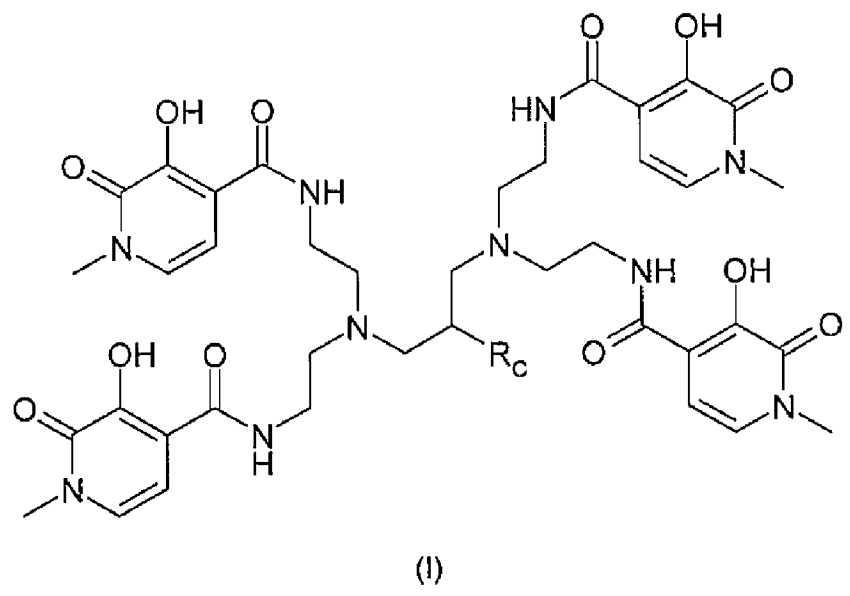
FAP係ESC11抗體之靶向物，其已描述於WO2011040972中。ESC11係識別人類及鼠類FAP抗原之高親和力抗體。ESC11 IgG1誘導表面FAP之下調及內化。

本發明人現確立藉由將特定螯合劑偶合至作為靶向部分的脯胺醯基內肽酶FAP之單株抗體，隨後添加發射 α 之鈷離子而形成靶向組織之複合物，可在溫和條件下且藉助於對於複合物之儲存及投與保持較穩定之連接部分快速地產生複合物。

【發明內容】

在第一態樣中，本發明因此提供一種用於形成靶向組織之鈷複合物之方法，該方法包含：

a)形成式(I)或式(II)之八齒螯合劑：



其中 R_C 為以羧酸部分終端之連接體部分，諸如
[-CH₂-Ph-N(H)-C(=O)-CH₂-CH₂-C(=O)OH]、
[-CH₂-CH₂-N(H)-C(=O)-(CH₂-CH₂-O)₁₋₃-CH₂-CH₂-C(=O)OH]或
[-(CH₂)₁₋₃-Ph-N(H)-C(=O)-(CH₂)₁₋₅-C(=O)OH]，其中Ph為伸苯基，
較佳對伸苯基；

b)將該八齒螯合劑偶合至靶向組織之部分

該靶向組織之部分包含與序列1、序列11或序列21中之一者具有序列
一致性或相似性的肽鏈；

及與序列5、序列15或序列25中之一者具有序列一致性或相似性的肽鏈；

藉此產生靶向組織之螯合劑；及

c)使該靶向組織之螯合劑與包含發射 α 之鈾同位素 ^{227}Th 之 4^+ 離子之水溶液接觸。

在此類複合物中(且較佳在本發明之所有態樣中)，鈾離子將通常藉由八齒含羥基吡啶酮之配位體複合，其繼而將經由醯胺鍵附接至靶向組織之部分。

通常而言，該方法將為一種用於合成包含反應性羧酸酯官能基之3,2-羥基吡啶酮類八齒螯合劑之方法，該等螯合劑可以活性酯(諸如*N*-羥基丁二醯亞胺酯(NHS酯))之形式經由原位活化或藉由合成且隔離活性酯自身而得到活化。

所得NHS酯可用於簡單共軛步驟中以產生廣泛範圍之經螯合劑修飾之蛋白質型式。此外，高度穩定之抗體共軛物易於用鈾-227標記。此可在環境溫度下或接近環境溫度下，通常呈高放射化學產率及純度。

本發明之方法將較佳地在水溶液中進行，且在一個實施例中，可不存在或基本上不存在(按體積計小於1%)任何有機溶劑之情況下進行。

本發明之靶向組織之複合物可調配成適合於向人類或非人類動物個體投與之藥劑。

在第二態樣中，本發明因此提供用於產生醫藥調配物之方法，該等方法包含形成如本文所描述之靶向組織之複合物，隨後添加至少一種醫藥載劑及/或賦形劑。適合載劑及賦形劑包括此項技術中已知及本文中之任何態樣中所描述之緩衝劑、螯合劑、穩定劑及其他適合之組分。

在另一態樣中，本發明額外提供一種靶向組織之鈷複合物。此類複合物將具有貫穿本文所描述之特徵，尤其本文所描述之較佳特徵。複合物藉由本文所描述之方法中之任一者形成或可藉由本文所描述之方法中之任一者形成。此類方法可因此產生至少一種如本文中之任何態樣或實施例中所描述之靶向組織之鈷複合物。

在又一態樣中，本發明提供一種包含本文所描述之複合物中之任一者的醫藥調配物。該調配物藉由本文所描述之方法中之任一者形成或可藉由本文所描述之方法中之任一者形成且可含有至少一種緩衝劑、穩定劑及/或賦形劑。緩衝劑及穩定劑的選擇可使得其一起有助於保護靶向組織之複合物免遭放射分解。在一個實施例中，甚至在製得調配物後若干天之後，調配物中之複合物之放射分解亦係為極小的。此為一項重要優勢，此係因為其解決對此技術之實現及實際應用至關重要的與產品品質及藥物供應之物流相關聯之潛在問題。

【圖式簡單說明】

圖1展示本發明之較佳抗FAP抗體之標註序列。提供的係針對IgG1之重鏈及輕鏈以及針對所選抗體之VH及VL區之蛋白質序列。重要區域標註在序列下方(全長IgG中之VH及VL區，及CDR區(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3))。

圖2展示如描述於表1中之單序列。

【實施方式】

在本發明之上下文中，本文使用「靶向組織」指示所述物質(特定言之，在呈如本文所描述之靶向組織之複合物之形式時)用以將其自身較佳地定位(且特定言之，用以將任何經共軛鈷複合物定位)至需其存在(例

如，以遞送放射性衰變)之至少一個組織部位。因此與不具有靶向部分之等效複合物之濃度相比，靶向組織之基團或部分用以在投與至個體後向該個體之體內中之至少一個所需部位提供更多定位。

在本發明之情況下，靶向部分對脯胺醯基內肽酶FAP具有特異性。

如本文所描述之本發明之各種態樣係關於治療疾病，特定言之，選擇性靶向患病組織，以及關於適用於此類方法中之複合物、共軛物、藥劑、調配物、套組等。在所有態樣中，患病組織可常駐於體內中之單個部位處(例如，在局部實體腫瘤之情況下)或可常駐於複數個部位處(例如，在若干關節受關節炎影響之情況下或在經分佈或轉移癌性疾病之情況下)。

待靶向之患病組織可在軟組織部位處、鈣化組織部位或複數個部位處，其均可位於軟組織中、皆位於鈣化組織中或可包括至少一個軟組織部位及/或至少一個經鈣化組織部位。在一個實施例中，靶向至少一個軟組織部位。靶向之部位及疾病之病因部位可為相同的，但替代地可為不同的(諸如在特異性地靶向轉移性部位之情況下)。在涉及多於一個部位之情況下，此可包括病因部位或可為複數個繼發性部位。

本文使用術語「軟組織」指示不具有「硬」礦化基質之組織。特定而言，如本文所使用之軟組織可為不係骨骼組織之任何組織。對應地，如本文所使用之「軟組織疾病」指示在如本文所使用之「軟組織」中發生之疾病。本發明尤其適合於治療癌症及「軟組織疾病」，因此涵蓋在任何「軟」(亦即，非礦化)組織中發生之癌瘤、肉瘤、骨髓瘤、白血病、淋巴瘤及混合型癌症以及此類組織之其他非癌性疾病。癌性「軟組織疾病」包括在軟組織中發生之實體腫瘤以及轉移性及微轉移性腫瘤。實際上，軟組

織疾病可包含軟組織之原發性實體腫瘤及同一患者中之軟組織之至少一種轉移性腫瘤。替代地，「軟組織疾病」可僅由原發性腫瘤組成或僅由其中原發性腫瘤係骨骼疾病之轉移瘤組成。

適合於使用本發明之脯胺醯基內肽酶FAP靶向劑治療之贅瘤之實例包括結腸、直腸、肺、乳房、胰臟、皮膚、腹膜、女性生殖器官、膀胱、胃及頭頸之上皮癌瘤以及肉瘤。

對於本發明之成功，抗體共軛物在儲存之可接受時段穩定係關鍵貢獻。因此，非放射性抗體共軛物及最終經鈷標記藥品二者之穩定性必須符合製造及分配放射性藥品所需之嚴格準則。出人意料地發現，包含靶向組織之複合物的本文所描述之調配物對儲存顯示出色的穩定性。此適用於甚至通常用於加速穩定性研究之高溫下。

在適用於本發明之所有可相容態樣之一個實施例中，靶向組織之複合物可溶解於適合緩衝劑中。特定而言，已發現使用檸檬酸鹽緩衝劑會提供出人意料的穩定調配物。較佳地，檸檬酸鹽緩衝劑在1 mM至100 mM之範圍內(pH 4至pH 7)，特定言之，在10 mM至50 mM之範圍內，但最佳地，20 mM至40 mM檸檬酸鹽緩衝劑。

在適用於本發明之所有可相容態樣之另一實施例中，靶向組織之複合物可溶解於含有對氨基丁酸(PABA)之適合緩衝劑中。較佳組合係檸檬酸鹽緩衝劑(較佳地在本文所描述之濃度下)與PABA組合。包括與其他試劑組合之供用於本發明之任何態樣中之PABA之較佳濃度為約0.005 mg/ml至5 mg/ml，較佳0.01 mg/ml至1 mg/ml，且更佳0.01 mg/ml至1 mg/ml。0.1 mg/ml至0.5 mg/ml之濃度係最佳的。

在適用於本發明之所有可相容態樣之另一實施例中，靶向組織之複

合物可溶解於含有乙二胺四乙酸(EDTA)之適合緩衝劑中。較佳組合係使用EDTA與檸檬酸鹽緩衝劑。尤佳組合係在PABA之存在下使用EDTA與檸檬酸鹽緩衝劑。較佳地，在此類組合中，檸檬酸鹽、PABA及EDTA視需要將以本文中所指示之濃度範圍及較佳濃度範圍存在。包括與其他試劑組合之供用於本發明之任何態樣中之EDTA之較佳濃度為大約0.02 mM至200 mM、較佳0.2 mM至20 mM且最佳0.05 mM至8 mM。

在適用於本發明之所有可相容態樣之另一實施例中，靶向組織之複合物可溶解於含有至少一種聚山梨醇酯(PEG接枝脫水山梨糖醇脂肪酸酯)之適合緩衝劑中。較佳的聚山梨醇酯包括聚山梨醇酯80 (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單油酸酯)、聚山梨醇酯60 (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單硬脂酸酯)、聚山梨醇酯40 (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單棕櫚酸酯)、聚山梨醇酯80 (聚氧乙烯(20)脫水山梨糖醇單月桂酸)及其混合物。聚山梨醇酯80 (P80)係最佳聚山梨醇酯。包括與其他試劑組合之供用於本發明之任何態樣中之聚山梨醇酯(尤其如本文中所指示之較佳聚山梨醇酯)之較佳濃度為約0.001% w/v至10% w/v、較佳0.01% w/v至1% w/v且最佳0.02% w/v至0.5% w/v。

儘管PABA先前已描述為放射性穩定劑(參見US4880615A)，但在儲存時在非放射性共軛物上觀測到本發明中PABA之積極作用。在不存在放射分解下此穩定化效果構成尤其出人意料之優勢，因為合成靶向組織之螯合劑通常將在與鈷離子接觸之前顯著地進行。因此，靶向組織之螯合劑可在與鈷離子接觸前1小時至3年製造且較佳地在該時段之至少一部分期間與PABA接觸儲存。亦即，本發明之步驟a)及步驟b)可在步驟c)前1小時至3年進行，且在步驟b)與步驟c)之間，靶向組織之螯合劑可與PABA接觸儲

存，特別在緩衝劑中，諸如檸檬酸鹽緩衝劑且視情況與EDTA及/或聚山梨醇酯。所有物質較佳為本文中所示之類型及濃度。因此，PABA係本發明之調配物之極佳組分且可對靶向組織之螯合劑及/或對靶向組織之鈦複合物造成長期穩定性。

使用如本文所述之檸檬酸鹽緩衝劑提供關於本發明之調配物中靶向組織之鈦複合物之穩定性的另一出人意料之優勢。本發明人進行之關於緩衝溶液對過氧化氫產生之影響的照射研究有出人意料之結果。過氧化氫已知由水放射分解形成且促成溶液中蛋白質共軛物之化學修飾。因此，過氧化氫之產生對產品之純度及穩定性具有非所期望之影響。圖2顯示出人意料之觀測結果，與所測試之所有其他緩衝劑相比，在檸檬酸鹽緩衝劑中用Co-60 (10 kGy)照射之本發明之抗體HOPO共軛物溶液中量測到較低量之過氧化氫。因此，本發明之調配物將較佳包含如本文所述之檸檬酸鹽緩衝劑。

本發明人另外已確立另一與本發明之調配物中某些組分之組合效果相關的出人意料之發現。此又與放射性標記共軛物之穩定性相關。已發現檸檬酸鹽為最有效緩衝劑，出人意料地發現此效果再進一步藉由添加PABA改良。

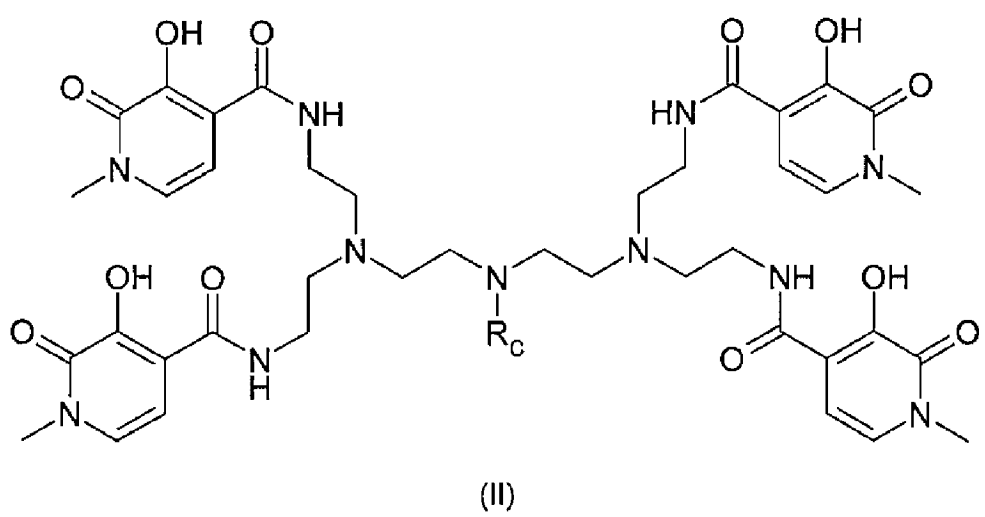
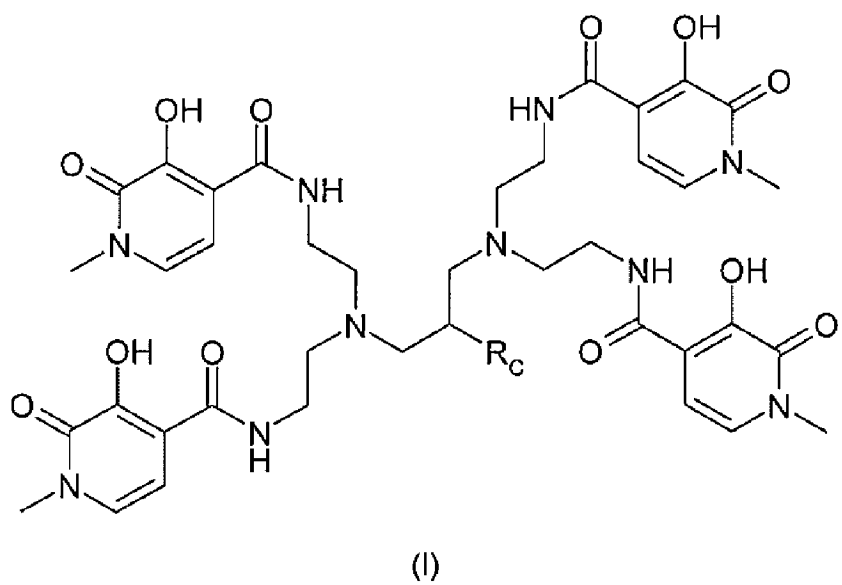
本發明之方法、複合物及調配物之關鍵組分係八齒螯合劑部分。鈦離子與羥基吡啶酮配位體複合之最相關先前研究公佈於WO2011/098611且揭示產生鈦離子與八齒含HOPO之配位體複合之相對容易性。

針對鈦之先前已知螯合劑亦包括聚胺基聚酸螯合劑，該聚胺基聚酸螯合劑包含具有附接至主鏈氮處之酸性(例如，羧基烷基)基團之線性、環狀或支化聚氮雜烷烴主鏈。此類螯合劑之實例包括DOTA衍生物，諸如對

異硫氰基苯甲基-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸(p-SCN-Bz-DOTA)，及DTPA衍生物，諸如對異硫氰基苯甲基-二伸乙三胺五乙酸(p-SCN-Bz-DTPA)，前者為環狀螯合劑，後者為線性螯合劑。

先前已例示1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸之衍生物，但標準方法不可輕易地用於螯合鈷與DOTA衍生物。加熱DOTA衍生物與金屬有效地提供螯合劑，但產率通常不高。存在配位體之至少一部分在程序期間發生不可逆變性之趨勢。另外，由於其對不可逆變性之易感性相對較高，因此在完成所有加熱步驟之前通常有必要避免附接靶向部分。此增加一額外化學步驟(在所有必要的處理及分離之情況下)，該步驟必須在發射 α 之鈷同位素之衰變壽命期間進行。顯然，較佳不以此方式處理發射 α 之材料或產生比必要程度更大之對應廢料。另外，製備共軛物耗費之所有時間會浪費將在此製備時段期間衰變之一定比例之鈷。

在所有態樣中，本發明之一關鍵態樣係使用式(I)或式(II)之八齒螯合劑：



其中 R_C 為以羧酸部分終端之連接體部分，諸如
[-CH₂-Ph-N(H)-C(=O)-CH₂-CH₂-C(=O)OH]、
[-CH₂-CH₂-N(H)-C(=O)-(CH₂-CH₂-O)₁₋₃-CH₂-CH₂-C(=O)OH]或
[-(CH₂)₁₋₃-Ph-N(H)-C(=O)-(CH₂)₁₋₅-C(=O)OH]，其中Ph為伸苯基，
較佳對伸苯基。

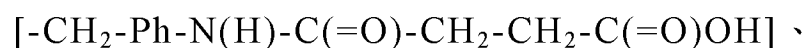
在某些先前揭示案(諸如WO2013/167756、WO2013/167755及
WO2013/167754)中，附接至3,2-HOPO部分之N原子的甲基主要為諸如羥
基或羥基烷基之溶解基(例如，-CH₂OH、-CH₂-CH₂OH、-CH₂-CH₂-

CH₂OH等)。就較高溶解度而言，此具有一定優勢，但此類螯合劑難以使用醯胺鍵接合至靶向部分。

螯合部分可藉由此項技術中已知之方法形成，包括US 5,624,901 (例如實例1及實例2)及WO2008/063721 (二者以引用之方式併入本文中)中所描述之方法。

R_C表示偶合部分。適合部分包括以羧酸基終端之烴基，諸如烷基或鏈烯基。本發明人已確立，諸如藉由本發明之方法使用羧酸連接部分形成醯胺會在螯合劑與靶向組織之部分之間提供較穩定之共軛。

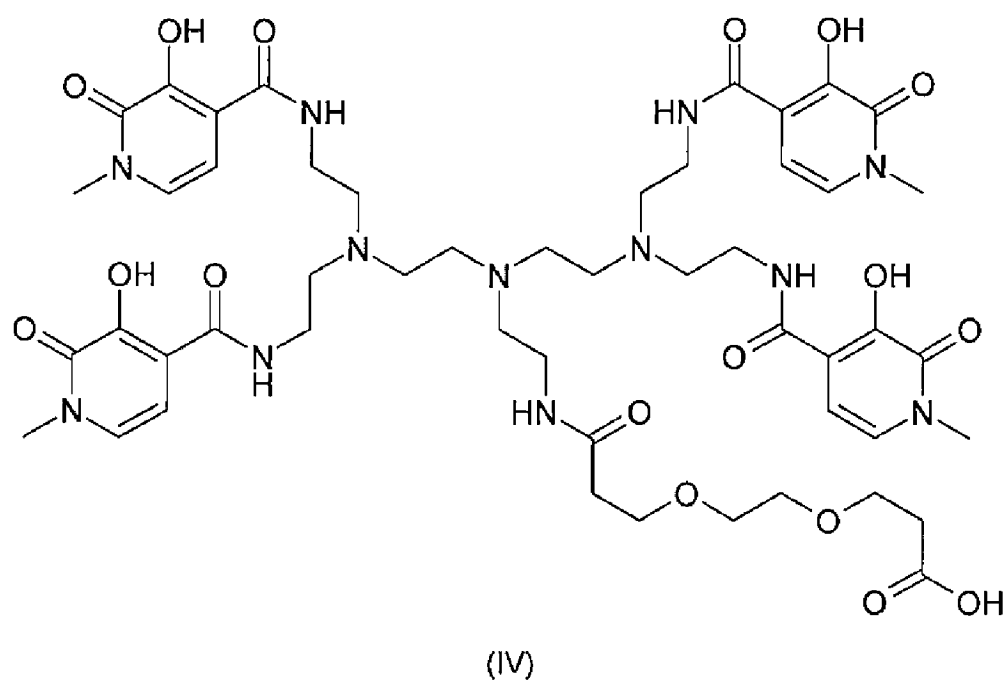
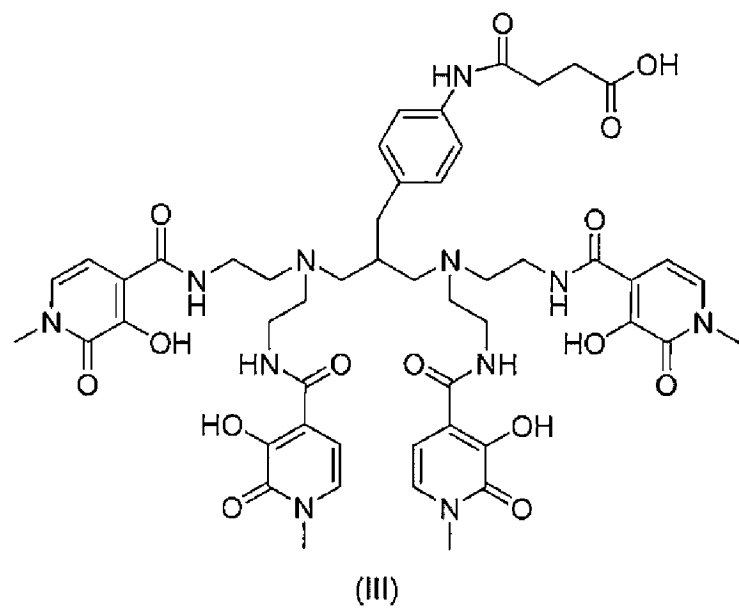
在本發明之最佳實施例中，將八齒配位體連接至靶向部分之偶合部分(R_C)經選擇為



$[-(\text{CH}_2)_{1-3}-\text{Ph}-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{1-5}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}]$ ，其中Ph為伸苯基，較佳對伸苯基。

在一較佳實施例中，R_C為 $[-(\text{CH}_2)_{1-3}-\text{Ph}-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{1-5}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}]$ 。在一更佳實施例中，R_C為 $[-(\text{CH}_2)-對伸苯基-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})\text{OH}]$ 。

極佳八齒螯合劑包括下式(III)及式(IV)之螯合劑：



化合物(III)之合成係在下文中加以描述且遵循下文所描述之合成途徑。

本發明之方法之步驟a)可藉由任何適合之合成途徑來進行。合成方法之一些特定實例在下文以下實例中給出。此類方法提供特定實例，但本文中所說明之合成方法將亦可用於熟習此項技術者之一般情境中。因此，在

情境允許的情況下，實例中所說明之方法亦意欲作為適用於本發明之所有態樣及實施例的一般揭示內容。

較佳地，本發明之所有態樣中之發射 α 之鈷與八齒配位體之複合物在或可在不加熱超過 60°C 之情況下(例如，在不加熱超過 50°C 之情況下)，較佳在不加熱超過 38°C 之情況下且最佳在不加熱超過 25°C 之情況下(諸如在 20°C 至 38°C 之範圍內)形成。典型範圍可為例如 15°C 至 50°C 或 20°C 至 40°C 。複合反應(本發明之方法中之部分c))可進行持續任何合理時段，但此將較佳在1分鐘與120分鐘之間，較佳在1分鐘與60分鐘之間且更佳在5分鐘與30分鐘之間。

額外較佳地，在添加發射 α 之鈷同位素 $^{227}\text{Th}^{4+}$ 離子之前製備靶向部分與八齒配位體之共軛物。因此本發明之產物較佳藉由經八齒配位體與靶向組織之部分(靶向組織之螯合劑)之共軛物而複合發射 α 之鈷同位素($^{227}\text{Th}^{4+}$ 離子)來形成或可藉由經八齒配位體與靶向組織之部分(靶向組織之螯合劑)之共軛物而複合發射 α 之鈷同位素($^{227}\text{Th}^{4+}$ 離子)形成。

各種類型之靶向複合物可經由八齒螯合劑(包含如本文所描述之偶合部分)連接至鈷(例如，鈷-227)。

一般而言，如本文所使用，靶向組織之部分將為「肽」或「蛋白質」，其為主要由具有或不具有二級及三級結構特徵之胺基酸組分之間的醯胺主鏈形成之結構。

根據本發明， ^{227}Th 可藉由靶向複合劑來複合，該等複合劑藉由醯胺鍵接合或可接合至如本文所描述之靶向組織之部分。

通常而言，靶向部分將具有 100 g/mol 至數百萬 g/mol (特定言之， 100 g/mol 至1百萬 g/mol)之分子量，且將較佳具有直接對於疾病相關受體

之親和力，及/或將包含結合至在投與²²⁷Th之前已靶向疾病之分子的適合之投與前結合子(例如生物素或抗生素蛋白)。

選擇本發明之特定結合子(靶向組織之部分)靶向脯胺醯基內肽酶FAP抗原。

本發明之靶向組織之部分包含與序列1、序列11或序列21中之一者具有序列一致性或類似性的肽鏈及與序列5、序列15或序列25中之一者具有序列一致性或相似性的肽鏈。

序列相似性可視為與所提到的序列具有至少80%之序列相似性。較佳序列相似性可為至少90%、92%、95%、97%、98%或99%。可使用來自威斯康星州大學(the University of Wisconsin)之Genetics Computer Group套裝軟體第10版之「BestFit」程式來測定序列相似性及/或一致性。該程式使用具有具默認值之Smith及Waterman之算法的本端：空隙生成罰分=8、空隙擴展罰分=2、平均匹配=2.912、平均錯配2.003。

本發明之靶向組織之部分表示ESC11及其變體。已經產生ESC11之若干變體，其較接近人類生殖系序列且已加以最佳化以避免對於製造潛在重要之胺基酸(參見圖1及表1)。

「TPP ID」	「序列名稱」	「序列區」	「序列類型」	「SEQ ID」
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:1
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:2
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:3
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:4
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:5
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:6
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:7
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:8
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	重鏈	PRT	SEQ ID NO:9
TPP-9025	ESC11-hIgG1Kappa	輕鏈	PRT	SEQ ID NO:10

TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:11
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:12
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:13
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:14
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:15
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:16
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:17
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:18
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	重鏈	PRT	SEQ ID NO:19
TPP-9730	ESC11v2-hIgG1Kappa	輕鏈	PRT	SEQ ID NO:20
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:21
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:22
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:23
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:24
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:25
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:26
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:27
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:28
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	重鏈	PRT	SEQ ID NO:29
TPP-9731	ESC11v3-hIgG1Kappa	輕鏈	PRT	SEQ ID NO:30

表1：SEQ ID NO與TPP-ID之相關性及對於蛋白質(PRT)之相關序列特徵 (抗體之重鏈及輕鏈、可變區、互補決定區(CDR))

圖1展示本發明之較佳抗FAP抗體之標註序列。提供的係針對IgG1之重鏈及輕鏈以及針對所選抗體之VH及VL區之蛋白質序列。重要區域標註在序列下方(全長IgG中之VH及VL區，及CDR區(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3))。

圖2展示如描述於表1中之單序列。

在一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1、序列11或序列21中之任一者具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈，及與序列5、序列15或序列25中之任一者具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1、序列11或序列21中之任一者具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈，及與序列5、序列15或序列25中之任一者具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列1具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列11具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列5具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列15具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在另一較佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有98%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

在一更佳實施例中，靶向組織之部分包含與序列21具有序列一致性的肽鏈及與序列25具有99%或更高序列相似性或一致性的肽鏈。

本發明之脯胺醯基內肽酶FAP之抗體可藉由在宿主細胞中編碼輕鏈及重鏈或其部分之核酸序列之重組表現來製備。為以重組方式表現抗體、抗原結合部分或其變體，可用攜載編碼輕鏈及/或重鏈或其部分之DNA片段之一或多個重組表現載體轉染宿主細胞，使得輕鏈及重鏈在宿主細胞中表現。使用標準重組DNA方法來製備及/或獲得編碼重鏈及輕鏈之核酸，將此等核酸併入重組表現載體且將載體引入寄主細胞中，諸如描述於Sambrook, Fritsch及Maniatis(編), Molecular Cloning; A Laboratory

Manual, 第二版, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989)、Ausubel, F. M.等人(編) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989)中及Boss等人之美國專利第4,816,397號中之彼等者。

此外，編碼重鏈及/或輕鏈之可變區之核酸序列可轉化成例如編碼全長抗體鏈、Fab片段之核酸序列或轉化成scFv。編碼VL或VH之DNA片段可以可操作地連接(使得由兩個DNA片段編碼之胺基酸序列處於框內)至編碼例如抗體恆定區或柔性連接子之另一DNA片段。人類重鏈及輕鏈恆定區之序列在此項技術中已知(參見例如Kabat, E. A.等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)且涵蓋此等區之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。

為產生編碼scFv之聚核苷酸序列，編碼VH及VL之核酸可以可操作地連接至編碼柔性連接子之另一片段，使得VH及VL序列可表現為連續單鏈蛋白，VL及VH區由柔性連接子接合(參見例如Bird等人(1988) Science 242:423-426；Huston等人(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883；McCafferty等人, Nature (1990) 348:552-554)。

為表現抗體、其抗原結合片段或其變體，可使用標準重組DNA表現方法(參見例如Goeddel；Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990))。舉例而言，可將編碼所需多肽之DNA插入表現載體，其隨後轉染至適合宿主細胞中。適合寄主細胞為原核細胞及真核細胞。原核宿主細胞之實例為例如細菌，真核宿主細胞之實例為酵母、昆蟲及昆蟲細胞、植物及植物細胞、轉殖基因動物，或哺乳動物細胞。在一些實施例中，將編碼重鏈及輕鏈之

DNAs插入各別載體中。在其他實施例中，將編碼重鏈及輕鏈之DNA插入相同載體中。應理解，表現載體之設計，包括調節序列之選擇，受諸如宿主細胞之選擇、所需蛋白質之表現量及表現是否為組成型或誘導型之因素影響。

藉由插入編碼所需蛋白質之DNA序列連同適合之轉譯起始及終止信號於具有功能性啟動子之可操作讀相(operable reading phase)中來構築用於細菌用途之有用表現載體。該載體將包含一或多種表現型可選標記物及一個複製起點以確保載體之維持，且視需要，以提供於宿主內擴增。用於轉形之適合原核宿主包括(但不限於)大腸桿菌(*E. coli*)、枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)、鼠傷寒沙門桿菌(*Salmonella typhimurium*)，及假單胞菌、鏈黴菌及葡萄球菌屬內之各菌種。

細菌載體可為例如噬菌體類、質體類或噬菌粒類。此等載體可含有衍生自通常含有熟知選殖載體pBR322 (ATCC 37017)之元素的市售質體之可選標記物及細菌複製起點。在適合宿主菌株轉形及宿主菌株生長至適合細胞密度之後，所選啟動子係藉由適當手段(例如，溫度變換或化學誘導)去抑制/誘導且將細胞培養持續額外時段。細胞通常藉由離心搜集，藉由物理或化學手段破壞且保留所得粗提取物以供進一步純化。

在細菌系統中，多個表現載體可宜視所表現之蛋白質之預期用途而選擇。舉例而言，當要產生大量此類蛋白質時，為產生抗體或為篩選肽庫，例如引導易純化之高水準融合蛋白產物之表現的載體可為所需的。

本發明之抗體或其抗原結合片段或其變體包括經天然純化之產物、化學合成程序之產物及藉由重組技術由原核宿主產生之產物，該原核宿主包括例如大腸桿菌、枯草桿菌、鼠傷寒沙門桿菌及假單胞菌、鏈黴菌及葡

萄球菌屬內之各菌種，較佳來自大腸桿菌細胞。

用於哺乳動物宿主細胞表現之較佳調節序列包括引導哺乳動物細胞中高水準蛋白質表現之病毒元素，諸如衍生自細胞巨大病毒(CMV) (諸如CMV啟動子/增強子)、猿猴病毒40 (SV40) (諸如SV40啟動子/增強子)、腺病毒(例如，腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))及多瘤病毒之啟動子及/或增強子。抗體之表現可為組成型或調節型的(例如，可藉由添加或移除諸如與Tet系統結合之四環素的小分子誘導劑誘導)。對於病毒調節性元素及其序列之進一步描述，參見例如Stinski之U.S. 5,168,062、Bell等人之U.S. 4,510,245及Schaffner等人之U.S. 4,968,615。重組表現載體亦可包括複製起點及可選標記物(參見例如U.S. 4,399,216、U.S. 4,634,665及U.S. 5,179,017)。適合可選標記物包括在引入載體之宿主細胞上賦予藥物抗性之基因，該藥物諸如G418、嘌呤黴素、潮黴素、殺稻瘟菌素(blasticidin)、勻黴素/博萊黴素或甲胺喋呤，或利用營養缺陷之可選標記物諸如麩醯胺酸合成酶(Bebbington等人, Biotechnology (N Y). 1992年2月；10(2):169-75)。舉例而言，二氫葉酸還原酶(DHFR)基因賦予對甲胺喋呤之抗性、neo基因賦予對G418之抗性、來自土麴菌之bsd基因賦予對殺稻瘟菌素之抗性、嘌呤黴素N-乙醯基-轉移酶賦予對嘌呤黴素之抗性、Sh ble基因產物賦予對勻黴素之抗性，且大腸桿菌潮黴素抗性基因(hyg或hph)賦予對潮黴素之抗性。類似於DHFR或麩醯胺酸合成酶之可選標記物亦適用於與MTX及MSX結合之擴增技術。

可使用標準技術進行將表現載體轉染至宿主細胞中，該標準技術諸如電致孔、核轉染、磷酸鈣沈澱、脂質體轉染、諸如聚乙烯亞胺(PEI)類轉染的聚陽離子類轉染及DEAE-葡聚糖轉染。

用於表現本文中所提供之抗體、其抗原結合片段或其變體的適合哺乳動物寄主細胞包括(但不限於)：中國倉鼠卵巢(CHO細胞)，諸如CHO-K1、CHO-S、CHO-K1SV [包括dhfr-CHO細胞，描述於Urlaub及Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220及Urlaub等人, Cell. 1983年6月; 33(2):405-12中，與DHFR可選標記物(例如，如描述於R. J. Kaufman及P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621中)一起使用；及例示於Fan等人, Biotechnol Bioeng. 2012年4月; 109(4):1007-15中之其他基因剔除細胞]；NS0骨髓瘤細胞；COS細胞；HEK293細胞；HKB11細胞；BHK21細胞；CAP細胞；EB66細胞及SP2細胞。

表現在表現系統中亦可為暫時或半穩定的，該等表現系統諸如HEK293、HEK293T、HEK293-EBNA、HEK293E、HEK293-6E、HEK293-自由式(HEK293-Freestyle)、HKB11、Expi293F、293EBNALT75、CHO自由式、CHO-S、CHO-K1、CHO-K1SV、CHOEBNALT85、CHOS-XE、CHO-3E7或CAP-T細胞(例如，Durocher等人, Nucleic Acids Res. 2002年1月15日; 30(2):E9)。

在一些實施例中，表現載體經設計使得將經表現之蛋白質分泌至寄主細胞生長所處之培養基中。可使用標準蛋白質純化方法自培養基回收抗體、其抗原結合片段或其變體。

可藉由熟知方法自重組細胞培養物回收且純化本發明之抗體或其抗原結合片段或其變體，該等方法包括(但不限於)硫酸銨或乙醇沈澱、酸提取、蛋白質A層析法、蛋白質G層析法、陰離子或陽離子交換層析法、磷酸纖維素層析法、疏水相互作用層析法、親和性層析法、羥磷灰石層析法、混合模式層析法及凝集素層析法。亦可採用高效液相層析法

(「HPLC」)以供純化。參見例如Colligan, Current Protocols in Immunology或Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001), 例如第1章、第4章、第6章、第8章、第9章、第10章, 各自以全文引用之方式併入本文中。

本發明之抗體或其抗原結合片段或其變體包括經天然純化之產物、化學合成程序之產物及藉由重組技術由真核宿主產生之產物, 該真核宿主包括例如酵母、高等植物、昆蟲及哺乳動物細胞。視重組製造程序中所採用之宿主而定, 本發明之抗體可經糖基化或可不經糖基化。此類方法描述於諸多標準實驗室手冊中, 諸如Sambrook, 同前文獻, 章節17.37至17.42; Ausubel, 同前文獻, 第10章、第12章、第13章、第16章、第18章及第20章。

在較佳實施例中, 抗體(1)純化至如(例如)藉由勞立法(Lowry method)、UV-Vis光譜法或藉由SDS-毛細管凝膠電泳(例如, 在Caliper LabChip GXII、GX 90或Biorad生物分析儀裝置上)所測定, 抗體大於95重量%, 且在另一較佳實施例中, 大於99重量%, (2)純化至足以獲得N端或內部胺基酸序列之至少15個殘基之程度, 或(3)藉由在還原或非還原條件下使用庫馬斯藍(Coomassie blue)或較佳銀染料的SDS-PAGE純化至均質。經分離天然存在之抗體包括重組細胞內之原位抗體, 此係因為抗體之天然環境之至少一種組分將不存在。然而, 通常而言, 經分離抗體將藉由至少一個純化步驟來製備。

關於發射 α 之鈾組分, 最近一個關鍵發現係可以治療上有效且不產生不能忍受的骨髓毒性之量投與 ^{227}Th 。如本文所使用, 最重要的係, 術語「可接受之非骨髓毒性」用於指示藉由經投與之鈾-227放射性同位素之衰

變所產生之鐳-223之量通常不足以對個體直接致命。然而，熟習此項技術者應清楚，將作為此類治療之可接受副作用的骨髓損傷之量(及致死性反應之機率)將隨著所治療之疾病類型、治療方案之目標及針對個體之預後而顯著地變化。儘管針對本發明之較佳個體係人類，但其他哺乳動物，尤其諸如狗的伴侶動物將受益於本發明之用途且可接受之骨髓損傷之水準亦可反映個體之種屬。可接受之骨髓損傷之水準在惡性疾病之治療中將通常要比非惡性疾病之水準高。骨髓毒性之水準之一種熟知量度為嗜中性白血球細胞數量，且在本發明中， ^{223}Ra 之可接受之非骨髓毒性量將通常為受控制之量，使得其最低點(底點)處之嗜中性白血球分率不低於治療前數量之10%。較佳地， ^{223}Ra 之可接受之非骨髓毒性量將為使得嗜中性白血球細胞分率在最低點處係至少20%且更佳至少30%之量。至少40%之最低點嗜中性白血球細胞分率係最佳。

此外，含有放射性 ^{227}Th 之複合物可用於高劑量療法中，其中所產生之 ^{223}Ra 之骨髓毒性在包括幹細胞支持或類似恢復方法時通常係不能忍受的。在此類情況下，嗜中性白血球細胞數量在最低點處可降低至低於10%且例外地將降低至5%或(若需要)低於5%，其前提條件係採取適合防護措施且提供隨後幹細胞支持。此類技術在此項技術中為熟知的。

釷-227相對較容易產生且可間接地由經中子照射之 ^{226}Ra 製備，其將含有 ^{227}Th 之母核種，亦即 ^{227}Ac ($T_{1/2} = 22$ 年)。銨-227可極易於與 ^{226}Ra 靶向物分離且用作針對 ^{227}Th 之產生子(generator)。若需要，此製程可按比例調整至工業規模，且因此可避免發生視為分子靶向放射線療法之候選物之大多數其他 α 發射體所見的供應問題。

可以足以提供所需治療效果同時不產生太多鐳-223而造成不能忍受

的骨髓抑制之量投與釷-227。需要維持靶向區中之子體同位素，以使得可自其衰變衍生另外的治療效果。然而，不需要維持釷衰變產物之控制，以便產生適用治療效果而不誘發不可接受之骨髓毒性。

假定腫瘤細胞殺傷效果將主要來自釷-227而並非來自其子體，則可藉由與其他 α 發射體進行比較來確立此同位素之可能的治療劑量。舉例而言，對於釷-211而言，動物中之治療劑量通常為每公斤2 MBq至10 MBq。藉由針對半衰期及能量進行校正，針對釷-227之對應劑量將為每公斤體重至少36 kBq至200 kBq。此將對可在治療效果之預期下有效投與之 ^{227}Th 之量設定下限值。此計算假定釷及釷之類似保留時間。然而，明顯地，釷之18.7天半衰期將最可能在同位素衰變之前引起此同位素較顯著消除。此經計算劑量因此應通常視為最小有效量。根據完全保留之 ^{227}Th (亦即未自身體消除之 ^{227}Th)表現之治療劑量將通常為至少18 kBq/kg或25 kBq/kg，較佳至少36 kBq/kg且更佳至少75 kBq/kg，例如100 kBq/kg或更高。更大量之釷將預期具有更顯著之治療效果，但若將產生不能忍受的副作用，則不可投與。同樣，若以具有短生物半衰期(亦即自仍然攜載釷之身體消除之前的半衰期)之形式投與釷，則針對治療效果將需要更大量之放射性同位素，此係因為大部分釷將在其衰變之前消除。然而，所產生的鐳-223之量將相應減小。當同位素完全保留時，待投與之以上量之釷-227可容易與具有較短生物半衰期之等效劑量相關。此類計算在此項技術中為熟知的且示於WO 04/091668中(例如在文中及在實例1及實例2中)。

若放射性標記化合物釋放子體核種，若適用，則知曉任何放射性子體核種之去向係重要的。在 ^{227}Th 之情況下，主要子體產物係 ^{223}Ra ，由於 ^{223}Ra 之趨骨性，其處於臨床評估下。鐳-223極快速地清除血液且濃縮在

骨幹中或經由腸及腎途徑分泌(參見Larsen, J Nucl Med 43(5, 增刊): 160P (2002))。來自 ^{227}Th 之活體內釋放之鐳-223可因此不在大的程度上影響健康軟組織。在Müller之Int. J. Radiat. Biol. 20:233-243 (1971)中對 ^{227}Th 隨經溶解檸檬酸鹽之分佈的研究中，發現由軟組織中之 ^{227}Th 產生之 ^{223}Ra 易於再分佈至骨或分泌。發射 α 之鐳之已知毒性，尤其對骨髓之毒性因此係鈷劑量之問題。

實際上，在WO 04/091668中已首次確立人類個體中可投與且耐受之 ^{223}Ra 之劑量，該劑量為至少200 kBq/kg。此等資料呈現在該公開案中。因此，現可非常出乎意料地發現治療窗的確存在，其中可向哺乳動物個體投與治療有效量之 ^{227}Th (諸如大於36 kBq/kg)，同時預期此個體將不會承受嚴重或甚至致死性骨髓毒性之不可接受的風險。儘管如此，對此治療窗加以最佳利用係極其重要的，且因此，迅速且高效地複合放射性鈷且保持具有極高親和力係必要的，以使得將最大可能比例之劑量遞送至靶點。

由 ^{227}Th 藥物產生之 ^{223}Ra 之量將視放射性標記化合物之生物半衰期而定。理想情況應為使用具有快速腫瘤攝取之複合物，包括內化為腫瘤細胞、較強腫瘤保留及正常組織中之短生物半衰期。然而，只要 ^{223}Ra 之劑量維持在可耐受水準內，則小於理想生物半衰期之複合物亦可為適用的。活體內產生之鐳-223之量將為所投與之鈷之量及鈷複合物之生物滯留時間之係數。任何特定情況中產生之鐳-223之量可易於由一般熟習此項技術者計算出來。 ^{227}Th 之最大可投與量將藉由活體內產生之鐳之量來測定且必須小於將產生不能忍受水準之副作用(特定言之，骨髓毒性)之量。此量將通常小於300 kBq/kg，特定言之，小於200 kBq/kg且更佳小於170 kBq/kg (例如，小於130 kBq/kg)。最小有效劑量將藉由鈷之細胞毒性、

患病組織對所產生之 α 照射之易感性及藉由靶向複合物(在此情況下配位體與靶向部分之組合)高效地組合、保持及遞送鈷之程度來測定。

在本發明之方法中，鈷複合物宜以18 kBq/kg體重至400 kBq/kg體重，較佳36 kBq/kg至200 kBq/kg (諸如50 kBq/kg至200 kBq/kg)，更佳75 kBq/kg至170 kBq/kg，尤其100 kBq/kg至130 kBq/kg之鈷-227劑量投與。對應地，單一劑量可包含大約此等範圍中之任一者乘以適合體重，諸如30 Kg至150 Kg，較佳40 Kg至100 Kg (例如每劑量540 kBq至4000 KBq之範圍等)。鈷劑量、複合劑及投與途徑將另外宜使得活體內產生之鐳-223劑量小於300 kBq/kg，更佳小於200 kBq/kg，更佳小於150 kBq/kg，尤其小於100 kBq/kg。另外，此將提供藉由將此等範圍乘以所指示之體重中之任一者指示之對 ^{223}Ra 之曝露量。以上劑量水準較佳為 ^{227}Th 之完全保留劑量，但考慮到將在 ^{227}Th 衰變之前自身體清除一些 ^{227}Th ，其可為投與劑量。

在與物理性半衰期相比， ^{227}Th 複合物之生物半衰期較短(例如小於7天，尤其小於3天)之情況下，可需要顯著較大投與劑量以提供等效保留劑量。因此，舉例而言，150 kBq/kg之完全保留劑量等效於以711 kBq/kg之劑量投與之具有5天半衰期之複合物。可使用此項技術中熟知方法由複合物之生物清除率計算針對任何適當保留劑量之等效投與劑量。

由於一個 ^{227}Th 核之衰變提供一個 ^{223}Ra 原子，因此 ^{227}Th 之保留時間及治療活性將與患者所承受之 ^{223}Ra 劑量直接相關。可使用熟知方法計算在任何特定情況中產生之 ^{223}Ra 之量。

在一較佳實施例中，本發明因此提供一種用於治療哺乳動物個體(如本文所描述)中之疾病之方法，該方法包含向該個體投予治療有效量之至

少一種如本文所描述之靶向組織之釷複合物。

明顯需要將個體對 ^{223}Ra 子體同位素之曝露降至最低，除非此特性得到有益地採用。特定而言，活體內產生之鐳-223之量將通常大於40 kBq/kg，例如大於60 kBq/Kg。在一些情況下，活體內產生之 ^{223}Ra 大於80 kBq/kg，例如大於100 kBq/kg或115 kBq/kg將為必要的。

可以單次施用或呈分次施用療程形式靜脈內、腔內(例如，腹膜內)、皮下、經口或局部投與處於適當載液中之經釷-227標記之共軛物。較佳地，共軛至靶向部分之複合物將藉由非經腸(例如，經皮)途徑，尤其靜脈內或藉由腔內途徑以溶液形式投與。較佳地，本發明之組合物將經調配呈無菌溶液以供非經腸投與。

本發明之方法及產物中之釷-227可單獨使用或與其他治療模式組合使用，該等治療模式包括手術、外射束輻射療法、化學療法、其他放射性核種或組織溫度調整等。此形成本發明之方法之一另外較佳實施例且調配物/藥劑可對應地包含至少一種額外治療活性劑，諸如另一放射性試劑或化學治療劑。

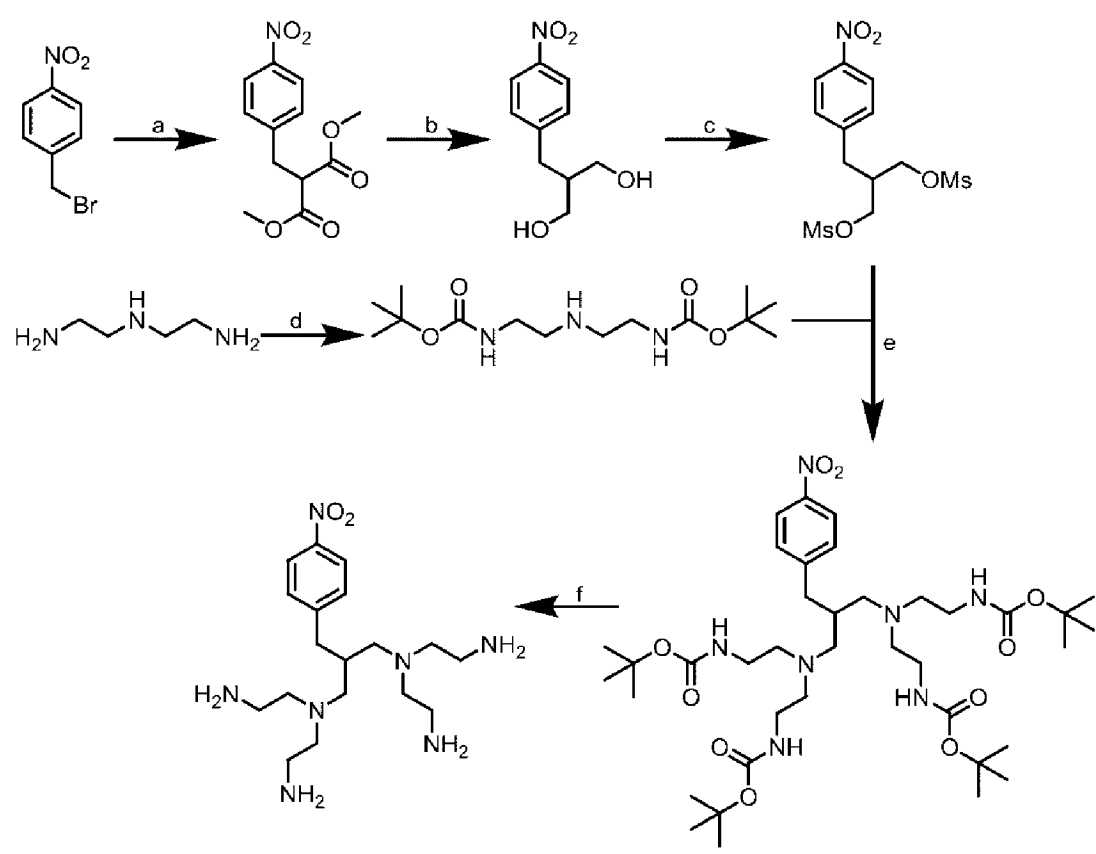
在一個尤佳實施例中，個體亦經歷幹細胞治療及/或其他支援性療法以降低鐳-223誘導之骨髓毒性之作用。

本發明之經釷(例如，釷-227)標記之分子可藉由靶向疾病相關之受體用於治療癌性或非癌性疾病。通常而言， ^{227}Th 之此類醫療用途將經由基於藉由螯合劑將 ^{227}Th 連接至抗體、抗體片段或抗體或抗體片段之構築體的放射免疫療法來治療癌性或非癌性疾病。 ^{227}Th 在根據本發明之方法及藥物中之用途尤其適合於治療乳癌、胃癌、卵巢癌、非小細胞肺癌(NSCLC)及子宮癌。

在本發明之另一實施例中，可藉由所投與之鈷活體內產生之 ^{227}Th 及 ^{223}Ra 二者治療具有軟組織疾病及骨骼疾病二者之患者。在此特別有利之態樣中，藉由靶向骨骼疾病，用於治療之額外治療組分係衍生自 ^{223}Ra 之可接受之非骨髓毒性量。在此治療方法中， ^{227}Th 通常用以藉由對軟組織之原發性及/或轉移性癌症進行適合靶向而治療軟組織之原發性及/或轉移性癌症且由 ^{227}Th 衰變產生之 ^{223}Ra 用以治療同一個體中之相關骨骼疾病。此骨骼疾病可為由原發性軟組織癌症導致的抵達骨幹之癌轉移，或在軟組織治療抵消轉移性癌症之情況下可為原發性疾病。有時，軟組織疾病及骨骼疾病可為不相關的(例如，具有風濕性軟組織疾病的患者中之骨骼疾病之額外治療)。

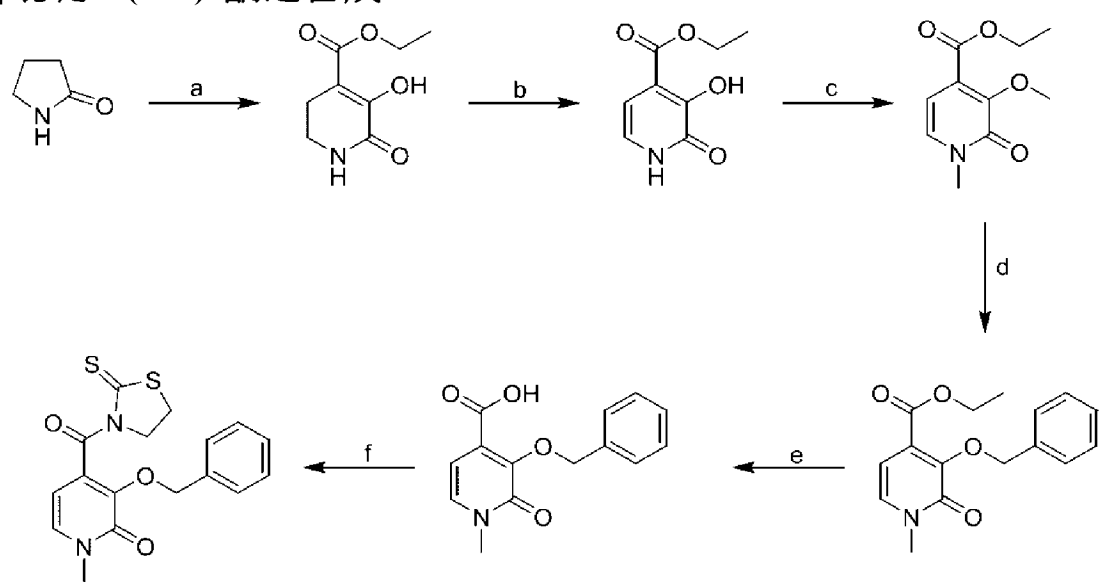
下文提供一些實例合成。展示於此等合成中之步驟將適用於本發明之諸多實施例。舉例而言，可經由以下本文所描述之諸多或所有實施例中展示之中間物AGC0021進行步驟a)。

AGC0020關鍵中間物N,N,N',N'-肆(2-胺基乙基)-2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二胺之合成



a) 丙二酸二甲酯、氫化鈉、THF；b) DIBAL-H、THF；c) MsCl、NEt₃、CH₂Cl₂；
d) 咪唑、Boc₂O、CH₂Cl₂、甲苯；e) DIPEA、乙腈；f) MeOH、水、AcCl

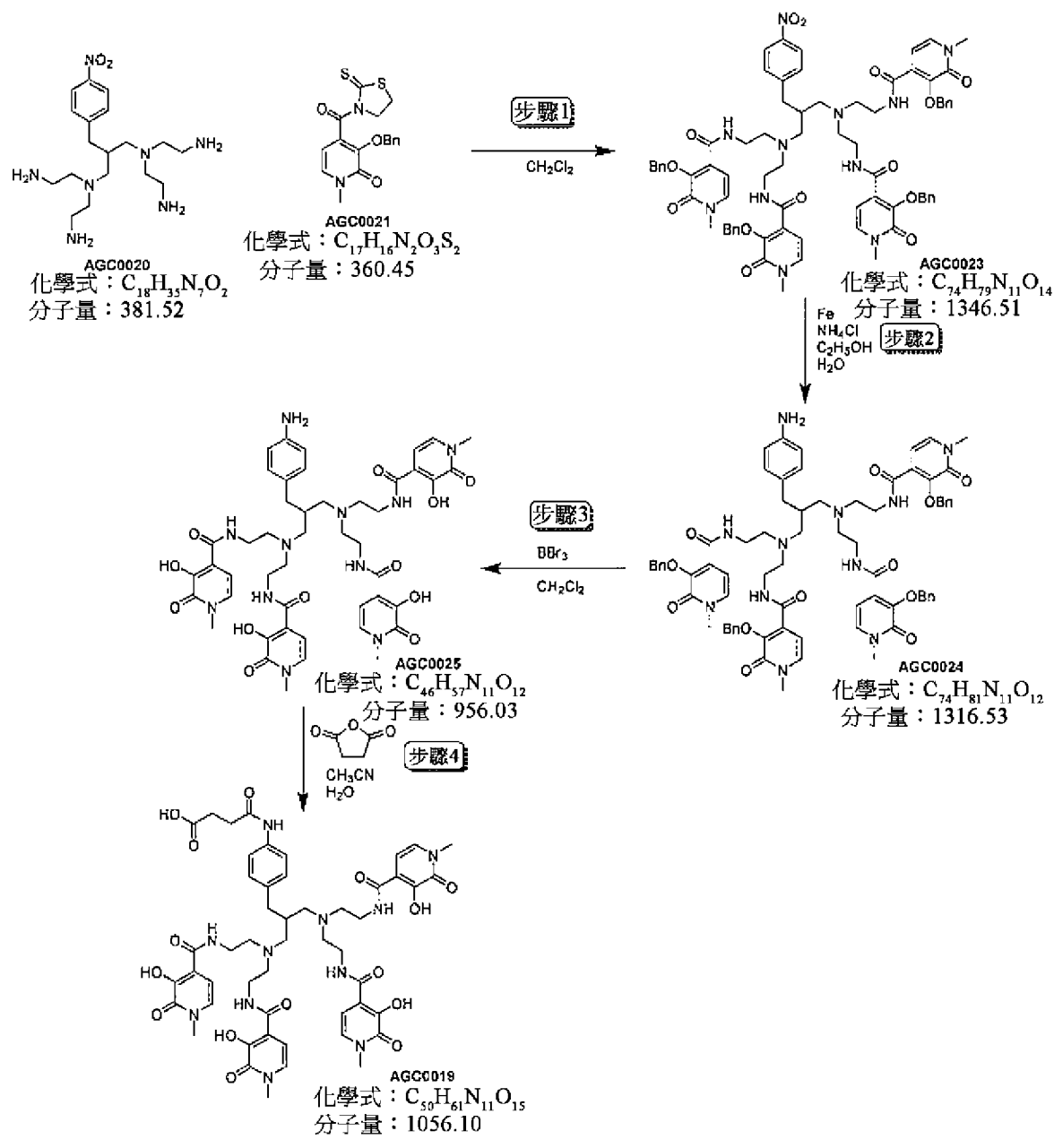
AGC0021關鍵中間物3-(苯甲氧基)-1-甲基-4-[(2-硫酮基-1,3-噻唑啉-3-基)羰基]吡啶-2(1H)-酮之合成



a) 乙二酸二乙酯、乙醇鉀、甲苯、EtOH；b) Pd/C、對二甲苯；c) MeI、K₂CO₃、DMSO、丙酮；

d) i) BBr₃、DCM，ii) BnBr、K₂CO₃、KI、丙酮；e) NaOH、水、MeOH；f) 、DCC、DMAP、DCM

式(VIII)化合物之螯合物4-{[4-(3-[雙(2-{[(3-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)羰基]胺基}乙基)胺基]-2-{[雙(2-{[(3-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-基)羰基]胺基}乙基)胺基]甲基}丙基)苯基]胺基}-4-氧丁酸之合成



在形成本發明之複合物之方法中，較佳地，在水溶液中進行八齒螯合劑與靶向組織之部分之間的偶合反應。此具有若干優勢。首先，其移除製造商將所有溶劑移除至低於可接受水準之負擔且證明該移除。其次，其減少廢料且最重要的係其藉由避免分離或移除步驟而加快製造。在本放射性藥品之情境中，儘可能快速地進行合成係重要的，此係因為放射性同位素將會一直衰變且製備耗費之時間會浪費寶貴材料且會引入雜質子體同位素。

適合水溶液包括純化水及緩衝劑，諸如此項技術中熟知之諸多緩衝

第 36 頁(發明說明書)

劑中之任一者。乙酸鹽、檸檬酸鹽、磷酸鹽(例如，PBS)及磺酸鹽緩衝劑(諸如MES)為熟知水性緩衝劑之典型實例。

在一個實施例中，該方法包含形成八齒含羥基吡啶酮之配位體之第一水溶液(如貫穿本文所描述)及靶向組織之部分的第二水溶液(如貫穿本文所描述)，且使該第一水溶液與該第二水溶液接觸。

適合偶合部分在上文詳細論述且作為偶合基團及/或連接基團之本文所論述之所有基團及部分可恰當地用於將靶向部分偶合至配位體。一些較佳偶合基團包括醯胺、酯、醚及胺偶合基團。酯及醯胺可適宜地藉助於自羧酸產生活化酯基團而形成。此類羧酸可存在於靶向部分上、偶合部分上及/或配位體部分上且將通常與醇或胺反應以形成酯或醯胺。此類方法在此項技術中係非常熟知的且可利用熟知活化試劑，包括N-羥基順丁烯二醯亞胺、碳化二亞胺及/或諸如DCC、DIC、EDC、DEAD、DIAD等之偶氮二羧酸酯活化試劑。

在一較佳實施例中，可使用至少一種偶合試劑(諸如本文所描述之彼等中之任一者)及諸如N-羥基丁二醯亞胺(NHS)之活化試劑來活化包含在N位處經甲基烷基取代之四個羥基吡啶酮部分及以羧酸基終端之偶合部分的八齒螯合劑，藉此以形成八齒螯合劑之NHS酯。此活化(例如NHS)酯可分離或在無分離之情況下使用以偶合至具有游離胺基(諸如在離胺酸側鏈上)之任何靶向組織之部分。其他活化酯在此項技術中已熟知且可為有效離去基之任何酯，諸如經氟化基團、甲苯磺酸酯、甲磺酸酯、碘等。然而，NHS酯係較佳。

偶合反應較佳地在相對較短時段內且在大約環境溫度下進行。1步驟或2步驟偶合反應之典型時段將大約為1分鐘至240分鐘，較佳5分鐘至120

分鐘，更佳10分鐘至60分鐘。用於偶合反應之典型溫度將在0°C與90°C之間，較佳15°C與50°C之間，更佳20°C與40°C之間。大約25°C或大約38°C係合適的。

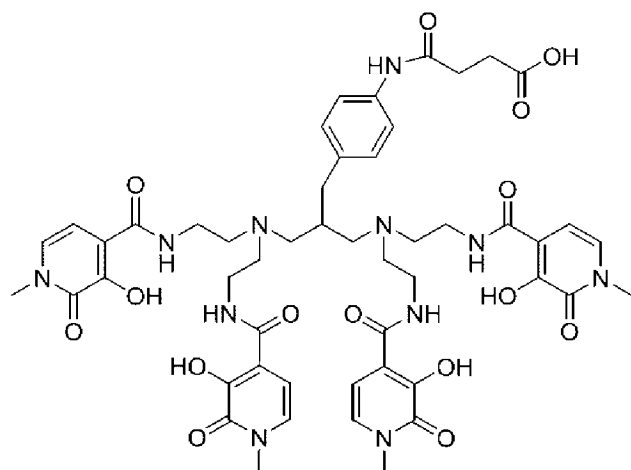
將八齒螯合劑偶合至靶向部分將通常在不會不利地(或至少不會不可逆地)影響靶向部分之結合能力之條件下進行。由於結合物通常為肽或蛋白質類部分，此需要相對較溫和條件以避免發生二級/三級結構之變性或損耗。水性條件(如本文所有情境中所論述)將為較佳的，且將需要避免pH之極值及/或氧化還原。步驟b)可因此在3與10之間，較佳4與9之間且更佳4.5與8之間的pH下進行。就氧化還原而言係中性或以極為溫和之方式還原以避免在空氣中氧化之條件可為所需的。

適用於本發明之所有態樣之較佳靶向組織之螯合劑係如本文所描述之AGC0018。AGC0018與²²⁷Th之離子之複合物形成本發明之複合物及對應調配物、用途、方法等之較佳實施例。可用於本發明所有此類態樣中之其他較佳實施例包括共軛至靶向組織之部分(如本文中所描述)之AGC0019之²²⁷Th複合物，該靶向組織之部分包括具有對脯胺醯基內肽酶FAP之結合親和力之單株抗體。

現將藉由以下非限制性實例說明本發明。例示於實例中之所有複合物形成本發明之較佳實施例(包括較佳的中間物及前驅體)且可單獨地使用或在情境允許時在任何態樣中以任何組合形式使用。

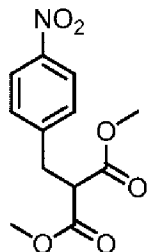
實例1

式(III)化合物之合成



實例1.1

2-(4-硝基苯甲基)丙二酸二甲酯之合成



在0℃下將氫化鈉(60%分散液，11.55 g，289 mmol)懸浮於450 mL 四氫呋喃(THF)中。歷時大約30分鐘逐滴添加丙二酸二甲酯(40.0 mL，350 mmol)。在0℃下攪拌反應混合物30分鐘。在0℃下歷時大約30分鐘逐滴添加溶解於150 mL THF中之4-硝基苯甲基溴(50.0 g，231 mmol)，隨後處於環境溫度下兩小時。

在過濾溶液之前添加500 mL乙酸乙酯(EtOAc)及250 mL NH_4Cl (飽和水溶液)。分離各相。用2*250 mL EtOAc萃取水相。有機相經合併，用250 mL鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且在減壓下移除溶劑。

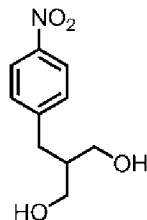
將300 mL庚烷及300 mL甲基第三丁基醚(MTBE)添加至殘餘物中且加熱至60℃。過濾溶液。將濾液置於冰箱中隔夜且過濾。濾餅用200 mL庚烷洗滌且在減壓下乾燥，得到呈灰白色固體狀之標題化合物。

產量：42.03 g，157.3 mmol，68%。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 3.30(d, 2H, 7.8 Hz), 3.68(t, 1H, 7.8 Hz), 3.70(s, 6H), 7.36(d, 2H, 8.7 Hz), 8.13(d, 2H, 8.7 Hz)。

實例1.2

2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二醇之合成



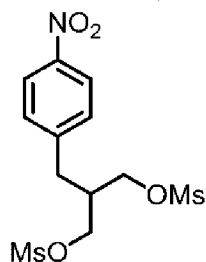
在 0°C 下將2-(4-硝基苯甲基)丙二酸二甲酯(28.0 g, 104.8 mmol)溶解於560 mL THF中。在 0°C 下歷時大約30分鐘逐滴添加二異丁基鋁氫化物(DIBAL-H) (在己烷中1 M, 420 mL, 420 mmol)。在 0°C 下攪拌反應混合物兩小時。

在 0°C 下將20 mL水逐滴添加至反應混合物。在 0°C 下將20 mL NaOH (水溶液, 15%)逐滴添加至反應混合物, 隨後將20 mL水逐滴添加至反應混合物。在 0°C 下攪拌混合物20分鐘, 之後添加大約150 g MgSO_4 。在室溫下攪拌混合物30分鐘, 之後在布赫納(Büchner)漏斗上過濾。用500 mL EtOAc洗滌濾餅。在過濾溶液之前, 用800 mL EtOAc及200 mL MeOH移除且攪拌濾餅大約30分鐘。合併濾液且在減壓下乾燥。

使用EtOAc於庚烷中之梯度, 隨後MeOH於EtOAc中之梯度的在二氧化矽上之DFC得到呈淡黃色固體狀之標題化合物。

產量: 15.38 g, 72.8 mmol, 69%。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): 1.97-2.13(m, 3H), 2.79(d, 2H, 7.6 Hz), 3.60-3.73(m, 2H), 3.76-3.83 (m, 2H), 7.36(d, 2H, 8.4 Hz), 8.14(d, 2H, 8.4 Hz)。

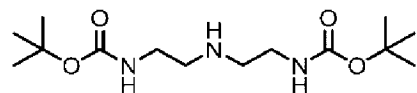
實例1.3**二甲烷磺酸2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二酯之合成**

在0°C下將2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二醇(15.3 g, 72.4 mmol)溶解於150 mL CH₂Cl₂中。歷時大約15分鐘逐滴添加三乙胺(23 mL, 165 mmol)，隨後添加甲磺醯氯(12 mL, 155 mmol)，之後在環境溫度下攪拌一小時。

添加500 mL CH₂Cl₂，且用2*250 mL NaHCO₃ (飽和水溶液)、125 mL HCl (水溶液，0.1 M)及250 mL鹽水洗滌混合物。有機相經Na₂SO₄乾燥，在減壓下過濾及乾燥，得到呈橙色固體狀之標題化合物。

產量：25.80 g, 70.2 mmol, 97%。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 2.44-2.58(m, 1H), 2.87(d, 2H, 7.7 Hz), 3.03(s, 6H), 4.17(dd, 2H, 10.3, 6.0 Hz), 4.26(dd, 2H, 10.3, 4.4 Hz), 7.38(d, 2H, 8.6 Hz), 8.19(d, 2H, 8.6 Hz)。

實例1.4**二-第三丁基(氮二基雙(乙烷-2,1-二基))二胺基甲酸酯之合成**

在室溫下將咪唑(78.3 g, 1.15 mol)懸浮於500 mL CH₂Cl₂中。分批添加二碳酸二-第三丁酯(Boc₂O) (262.0 g, 1.2 mol)。在室溫下攪拌反應混合物一小時。反應混合物係用3*750 mL水洗滌，經Na₂SO₄乾燥，在減壓下過濾且移除揮發物。

將殘餘物溶解於250 mL甲苯中且添加二仲乙基三胺(59.5 mL, 550 mmol)。在60°C下攪拌反應混合物兩小時。

添加1 L CH₂Cl₂，且用2*250 mL水洗滌有機相。有機相經Na₂SO₄乾燥，在減壓下過濾且還原。

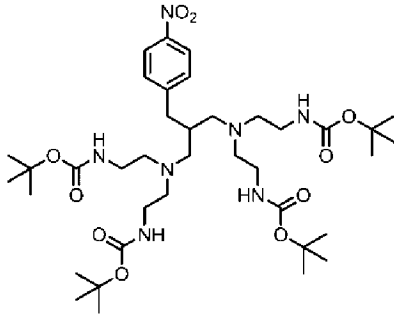
使用甲醇(MeOH)於CH₂Cl₂中之梯度與三乙胺的在二氧化矽上之DFC得到呈無色固體狀之標題化合物。

產量：102 g, 336 mmol, 61%。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.41(s, 18H), 1.58(bs, 1H), 2.66-2.77(m, 4H), 3.13-3.26(m, 4H), 4.96(bs, 2H)。

實例1.5

(((2-(4-硝基苯基)丙烷-1,3-二基)雙(氮三基))肆(乙烷-2,1-二基))四胺基甲酸四-第三丁酯之合成



將二甲烷磺酸2-(4-硝基苯基)丙烷-1,3-二酯(26.0 g, 71 mmol)及二-第三丁基(氮二基雙(乙烷-2,1-二基))二胺基甲酸酯(76.0 g, 250 mmol)溶解於700 mL乙腈中。添加N,N-二異丙基乙胺(43 mL, 250 mmol)。在回流下攪拌反應混合物4天。

在減壓下移除揮發物。

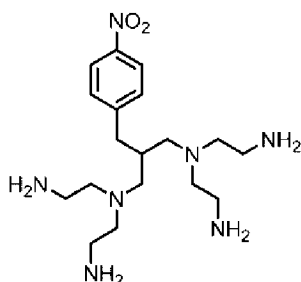
使用EtOAc於庚烷中之梯度的在二氧化矽上之DFC得到呈淡黃色固體發泡體狀之標題化合物。

產量：27.2 g，34.8 mmol，49%。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.40(s, 36H), 1.91-2.17(m, 3H), 2.27-2.54(m, 10H), 2.61-2.89(m, 2H), 2.98-3.26(m, 8H), 5.26(bs, 4H), 7.34(d, 2H, 8.5 Hz), 8.11(d, 2H, 8.5 Hz)。

實例1.6

N¹,N^{1'}-(2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二基)雙(N¹-(2-胺基乙基)乙烷-1,2-二胺)，AGC0020之合成



將(((2-(4-硝基苯甲基)丙烷-1,3-二基)雙(氮三基))肆(乙烷-2,1-二基))四胺基甲酸四-第三丁酯(29.0 g，37.1 mmol)溶解於950 mL MeOH及50 mL水中。在30℃下歷時大約20分鐘逐滴添加乙醯氯(50 mL，0.7 mmol)。攪拌反應混合物隔夜。

在減壓下移除揮發物且將殘餘物溶解於250 mL水中。添加500 mL CH₂Cl₂，隨後添加175 mL NaOH(水溶液，5M，用NaCl飽和)。分離各相且用4*250mL CH₂Cl₂萃取水相。合併有機相，經Na₂SO₄乾燥，在減壓下過濾且乾燥，得到呈黏稠紅棕色油狀物之標題化合物。

產量：11.20 g，29.3 mmol，79%。純度(HPLC圖9)：99.3%。

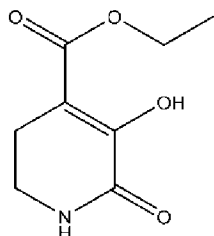
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): 1.55(bs, 8H), 2.03(dt, 1H, 6.6, 13.3 Hz), 2.15(dd, 2H, 12.7, 6.6), 2.34-2.47(m, 10H), 2.64-2.77(m, 10H), 7.32(d, 2H, 8.7 Hz), 8.10(d, 2H, 8.7 Hz)。

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): 37.9, 38.5, 39.9, 58.0, 58.7, 123.7,

130.0, 146.5, 149.5

實例1.7

5-羥基-6-側氧基-1,2,3,6-四氫吡啶-4-甲酸乙酯之合成



在室溫下將2-吡咯啉酮(76 mL, 1 mol)及乙二酸二乙酯(140 mL, 1.03 mol)溶解於1 L甲苯中。添加乙醇鉀(EtOK) (在EtOH中24%, 415 mL, 1.06 mol), 且將反應混合物加熱至90°C。

由於反應混合物之稠化, 在反應之第一個小時期間分批添加200 mL EtOH。將反應混合物攪拌隔夜且冷卻至室溫。在攪拌時緩慢添加210 mL HCl (5M, 水溶液)。

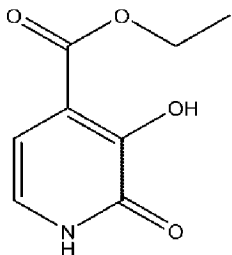
添加200 mL鹽水及200 mL甲苯, 且分離各相。

用2 × 400 mL CHCl₃萃取水相。合併之有機相經乾燥(Na₂SO₄), 在真空中過濾且還原。使殘餘物自EtOAc再結晶, 得到呈淡黃色固體狀之標題化合物。

產量: 132.7 g, 0.72 mol, 72%。

實例1.8

3-羥基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯之合成



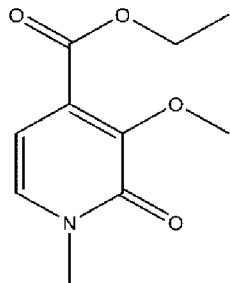
將{5-羥基-6-側氧基-1,2,3,6-四氫吡啶-4-甲酸乙酯} (23.00 g, 124.2

mmol)溶解於150 mL對二甲苯中且添加鈀/碳(10%，5.75 g)。在回流下攪拌反應混合物隔夜。冷卻至室溫後，用300 mL MeOH稀釋反應混合物且經由Celite®之短襯墊過濾。用300 mL MeOH洗滌襯墊。在真空中移除溶劑，得到呈紅棕色固體狀之標題化合物。

產 量：19.63 g，107.1 mmol，86%。MS (ESI, pos)：
206.1[M+Na]⁺，389.1[2M+Na]⁺

實例1.9

3-甲氧基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯之合成



在室溫下將{3-羥基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯} (119.2 g，0.65 mol)溶解於600 mL二甲亞砜(DMSO)及1.8 L丙酮中。添加K₂CO₃ (179.7 g，1.3 mol)。在室溫下歷時大約1小時逐滴添加溶解於600 mL丙酮中之碘代甲烷(MeI) (162 mL，321 mmol)。

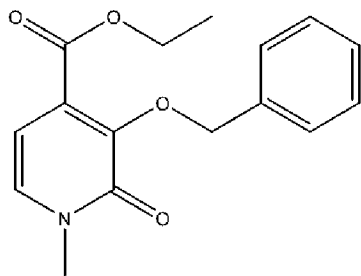
在室溫下再攪拌反應混合物兩小時，之後添加MeI (162 mL，2.6 mol)。在回流下攪拌反應混合物隔夜。在減壓下還原反應混合物且添加2.5 L EtOAc。

在減壓下過濾且還原混合物。藉由使用EtOAc於庚烷中之梯度的在SiO₂上之乾燥急驟層析法(DFC)純化，得到標題化合物。

產 量：56.1 g，210.1 mmol，32%。MS (ESI, pos)：
234.1[M+Na]⁺，445.1[2M+Na]⁺

實例1.10

3-(苯甲氧基)-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯之合成

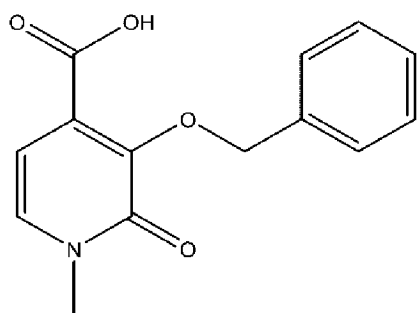


在 -78°C 下將{3-甲氧基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯}(5.93 g, 28.1 mmol)溶解於80 mL二氯甲烷(DCM)中且逐滴添加溶解於20 mL DCM中之 BBr_3 (5.3 mL, 56.2 mmol)。在 -78°C 下攪拌反應混合物1小時，之後將反應加熱至 0°C 。藉由逐滴添加25 mL第三丁基甲基醚(*tert*-BuOMe)及25 mL MeOH淬滅反應。在真空中移除揮發物。將殘餘物溶解於90 mL DCM及10 mL MeOH中且經由 SiO_2 之短襯墊過濾。用200 mL含10% MeOH之DCM洗滌襯墊。在真空中移除揮發物。將殘餘物溶解於400 mL丙酮中。添加 K_2CO_3 (11.65 g, 84.3 mmol)、KI (1.39 g, 8.4 mmol)及苯甲基溴(BnBr) (9.2 mL, 84.3 mmol)。在回流下攪拌反應混合物隔夜。將反應混合物用200 mL EtOAc稀釋且用 3×50 mL水及50 mL鹽水洗滌。用 2×50 mL EtOAc萃取合併之水相。將合併之有機相乾燥(Na_2SO_4)，過濾且在真空中移除揮發物，且藉由使用作為溶離劑之含EtOAc (40%至70%)之庚烷的在 SiO_2 上之乾燥急驟層析法純化，以得到標題化合物。

產量：5.21 g, 18.1 mmol, 65%。MS (ESI, pos): 310.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 597.4 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

實例1.11

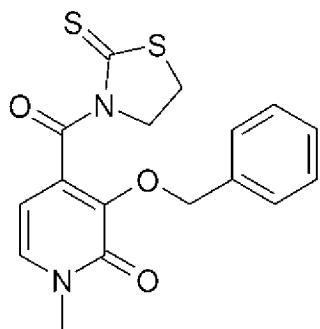
3-(苯甲氧基)-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸之合成



將{3-(苯甲氧基)-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸乙酯} (27.90 g, 97.1 mmol)溶解於250 mL MeOH中且添加60 mL NaOH (5M, 水溶液)。在室溫下攪拌反應混合物2小時，之後在真空中將反應混合物濃縮至大約1/3。殘餘物經150 mL水稀釋且使用鹽酸(HCl) (5M, 水溶液)酸化至pH 2。在真空中過濾沈澱物且乾燥，得到呈無色固體狀之標題化合物。產量：22.52 g, 86.9 mmol, 89%。

實例1.12

3-(苯甲氧基)-1-甲基-4-(2-硫酮基噻唑啉-3-羰基)吡啶-2(1H)-酮 (AGC0021)之合成

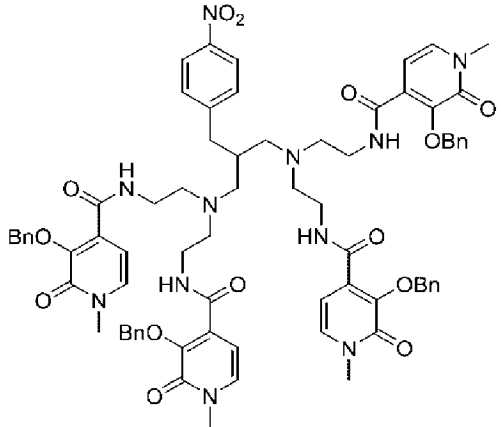


將{3-(苯甲氧基)-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫吡啶-4-甲酸} (3.84 g, 14.8 mmol)、4-二甲基胺基吡啶(DMAP) (196 mg, 1.6 mmol)及2-噻唑啉-2-硫醇(1.94 g, 16.3 mmol)溶解於50 mL DCM中。添加N,N'-二環己基碳化二亞胺(DCC) (3.36 g, 16.3 mmol)。攪拌反應混合物隔夜。過濾反應物，用DCM洗滌固體且在真空中還原濾液。自異丙醇/DCM再結晶所得黃色固體，得到AGC0021。產量：4.65 g, 12.9 mmol, 87%。MS(ESI,

pos) : 383[M+Na]⁺ , 743[2M+Na]⁺

實例1.13

AGC0023之合成



AGC0023

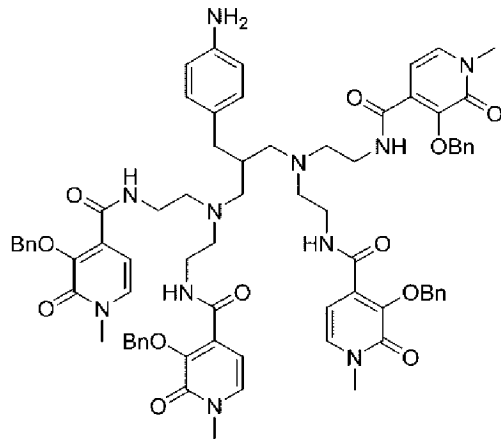
將AGC0020 (8.98 g ; 23.5 mmol)溶解於CH₂Cl₂ (600 mL)中。添加AGC0021 (37.43 g ; 103.8 mmol)。在室溫下攪拌反應物20小時。在減壓下濃縮反應混合物。

使用甲醇於EtOAc與CH₂Cl₂之1:1混合物中之梯度的在SiO₂上之DFC得到呈固體發泡體狀之AGC0023。

平均產量：26.95 g，20.0 mmol，85%。

實例1.14

AGC0024之合成



AGC0024

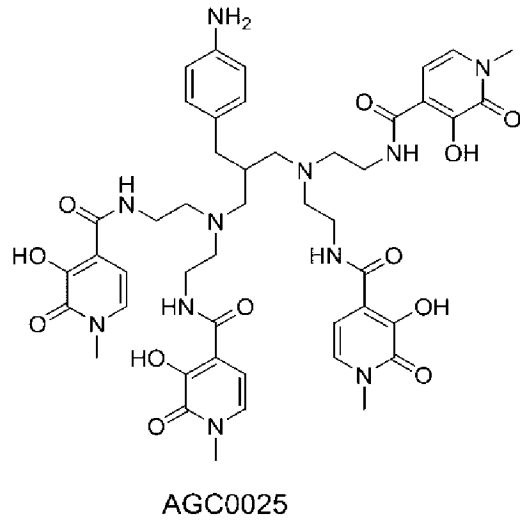
將AGC0023 (26.95 g ; 20.0 mmol)溶解於乙醇(EtOH) (675 mL)中。添加鐵(20.76 g ; 0.37 mol)及NH₄Cl (26.99 g ; 0.50 mol)，之後添加水 (67 mL)。在70°C下攪拌反應混合物兩小時。添加更多鐵(6.75 g ; 121 mmol)，且在74°C下攪拌反應混合物一小時。添加更多鐵(6.76 ; 121 mmol)，且在74°C下攪拌反應混合物一小時。冷卻反應混合物，之後在減壓下還原反應混合物。

使用甲醇於CH₂Cl₂中之梯度的在SiO₂上之DFC，得到呈固體發泡體狀的AGC0024。

產量18.64 g，14.2 mmol，71%。

實例1.15

AGC0025之合成



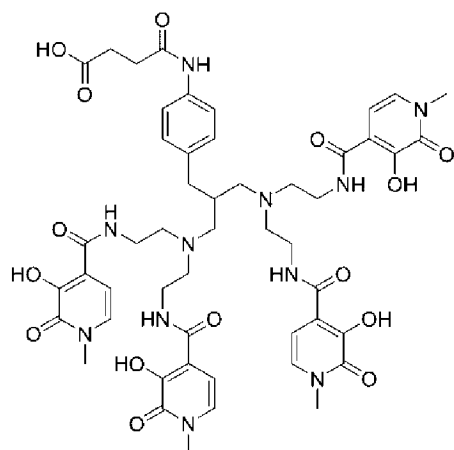
將AGC0024 (18.64 g ; 14.2 mmol)溶解於CH₂Cl₂ (750 mL)中且冷卻至0°C。添加BBr₃ (50 g ; 0.20 mol)且攪拌反應混合物75分鐘。在0°C下攪拌時藉由小心添加甲醇(MeOH) (130 mL)淬滅反應。在減壓下移除揮發物。將HCl (在EtOH中1.25 M，320 mL)添加至殘餘物。隨後在大氣壓及環境溫度下使用旋轉式蒸發器自旋燒瓶15分鐘，之後在減壓下移除揮發物。

使用乙腈(ACN)於水中之梯度的在未封端C₁₈二氧化矽上之DFC，得到呈淺橙色玻璃態固體狀之AGC0025。

產量13.27 g，13.9 mmol，98%。

實例1.16

AGC0019之合成



AGC0019

在室溫下將AGC0025 (10.63 g；11.1 mmol)溶解於ACN (204 mL)及水(61 mL)中。添加丁二酸酐(2.17 g；21.7 mmol)且攪拌反應混合物兩小時。在減壓下還原反應混合物。使用ACN於水中之梯度的在未封端C₁₈二氧化矽上之DFC，得到綠色玻璃態固體。

在40℃下將固體溶解於MeOH (62 mL)及水(10.6 mL)中。在音波處理下將溶液逐滴添加至EtOAc (750 mL)。沈澱物經過濾，用EtOAc洗滌且在減壓下乾燥，得到帶淡綠色之灰白色固體狀的AGC0019。

產量：9.20 g，8.7 mmol，78%。H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆)。

實例2

純鈷-227之分離

自鈷-227產生器分離鈷-227。經由鐳-226之熱中子照射，隨後將鐳-

227 ($t_{1/2}=42.2$ m)衰變為鈾-227來產生鈾-227。藉由陰離子交換層析法自8 M HNO_3 溶液中之鈾-227衰變混合物選擇性地保留鈾-227。使用內徑2 mm，長度30 mm，含有70 mg之AG[®]1-X8樹脂(200目至400目，硝酸酯形式)之管柱。在鈾-227、釷-223及子體自管柱溶離之後，用12 M HCl自管柱提取鈾-227。將含有鈾-227之溶離液蒸發至乾燥且在標記步驟之前將殘餘物再懸浮於0.01 M HCl中。

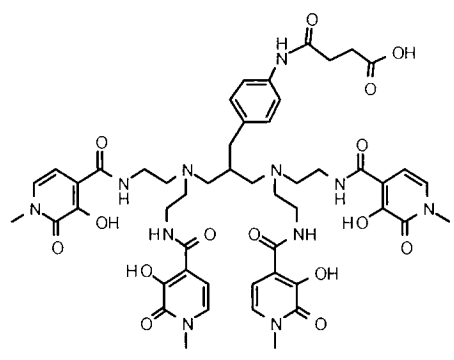
實例3

實例3.1

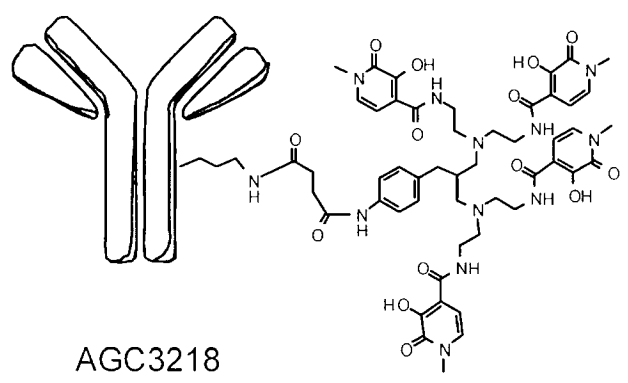
脯胺醯基內肽酶FAP (AGC3200)之單株抗體之產生

用於本發明之IgG的含有胺基酸序列之DNA序列在Geneart/Life Technologies (Regensburg, Germany)合成且選殖至適合表現載體中。所有基因經密碼子最佳化以供CHO表現。使用NRC Canada (Durocher等人, Nucleic Acids Res. 2002年1月15日; 30(2):E9)之表現系統在HEK293 6E細胞中暫時表現IgG或在CHO-K1細胞之穩定轉染之後表現IgG。抗體經由蛋白質A親和性層析法及隨後如先前所描述之尺寸排外層析法(Hristodorov等人, Mol Biotechnol (2013) 53:326-335)純化。

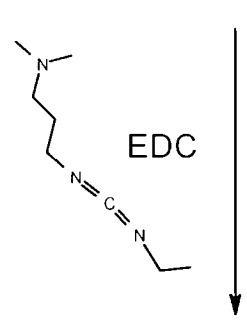
實例3.2 mAb AGC3200與螯合劑AGC0019 (式(VIII)之化合物)偶合以得到共軛物AGC3218



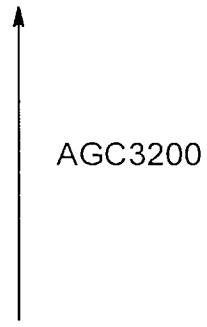
AGC0019



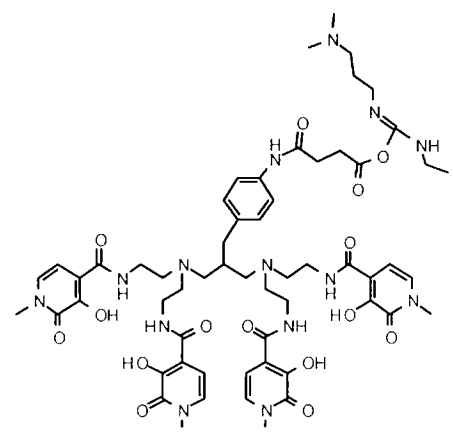
AGC3218



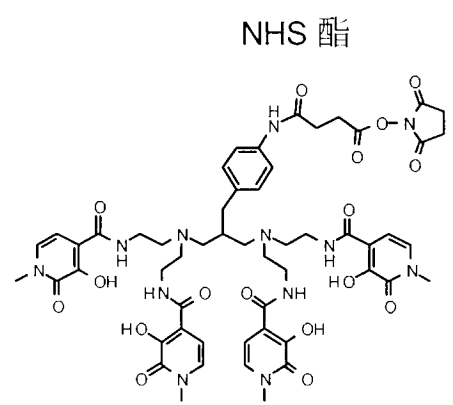
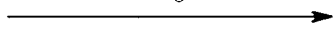
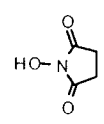
EDC



AGC3200



NHS



NHS 酯

在共軛之前，將磷酸鹽緩衝劑pH 7.5添加至抗體溶液(AGC3200)以增加溶液之緩衝能力。測定容器中的AGC3200之量(mAb)。

向於PBS中之AGC3200添加11% 1 M磷酸鹽緩衝劑pH 7.4。

將螯合劑AGC0019溶解於1:1，DMA:0.1 M MES緩衝劑pH 5.4中。

將NHS及EDC溶解於0.1 M MES緩衝劑pH 5.4中。

製備螯合劑/N-羥基丁二醯亞胺(NHS) / 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙

基)碳化二亞胺(EDC)之1 / 1 / 3莫耳等效溶液以活化螯合劑。

對於與抗體共軛，向mAb充添8/8/25/1 (螯合劑/NHS/EDC/mAb)莫耳比之活化螯合劑。在20分鐘至40分鐘之後，用12% v/v 0.3M檸檬酸淬滅共軛反應以將pH調節至5.5。

藉由在連接至ÄKTA系統(GE Healthcare)之Superdex 200 (GE Healthcare)管柱上的凝膠過濾進行純化及AGC3218共軛物至30 mM檸檬酸酯pH 5.5、154 mM NaCl中之緩衝劑交換。在用緩衝劑調配產物之前量測Abs 280 nm下之蛋白質濃度(以獲得在30 mM檸檬酸酯、154 mM NaCl、2 mM EDTA、2 mg/mL pABA中之2.5 mg/mL AGC0118，pH 5.5)。最後，在儲存之前經由0.2 µm過濾器將溶液過濾至無菌瓶中。

實例3.3

對²²⁷Th-AGC3218注射劑之劑量之製備

如先前所描述進行標記：

將一小瓶之20 MBq釷-227氯化物薄膜溶解於2 ml 8M HNO₃溶液中且靜置15分鐘，之後抽取溶液以供施用至陰離子交換管柱以移除隨時間推移生長之鐳-223。用3 ml 8M HNO₃及1 ml水洗管柱，之後用3 ml 3M HCl溶離釷-227。量測釷-227之溶離活性且將10 MBq之劑量轉移至空的10 ml玻璃小瓶中。隨後使用真空泵且使小瓶處於加熱套(設置成120°C)中30分鐘至60分鐘來蒸發酸。在達到室溫之後，添加6 ml AGC3218共軛物2.5 mg/ml以供放射性標記。平緩地混合小瓶且在室溫下靜置15分鐘。隨後將溶液無菌過濾至無菌小瓶中且在使用之前針對iTLC分析抽取樣本以測定RCP。

實例3.4

²²⁷Th-AGC3218對FAP陽性細胞株、Hs68及U87-MG之細胞毒性及IC₅₀測定

藉由製備添加至細胞持續5天培育時間之總活性之滴定曲線來測定²²⁷Th-AGC3218之細胞毒性。在實驗前一天，在96孔盤中每孔接種2000個Hs68或U87-MG細胞。將在三重步驟中稀釋的總活性之滴定介於 1.1×10^{-4} kBq/ml至20 kBq/ml範圍內，比活性40 kBq/μg的螯合之²²⁷Th-AGC3218添加至細胞中。Hs68或U87-MG細胞分別在具有10% FBS及1% 青黴素/鏈黴素之DMEM及EMEM培養基中培養。在第5天，使用CellTiter-Glo發光細胞生存力分析(Luminescent Cell Viability Assay) (Promega)量測細胞生存力。滴定曲線在GraphPad Prism 6軟體中擬合且測定IC₅₀值。

實例4

經醯胺連接之共軛物與經異硫氰酸酯連接之共軛物之穩定性之比較

在40℃下將AGC3218及具有異硫氰酸酯偶合部分之對應共軛物(AGC3215)儲存於水溶液中11天。定期服用樣品。

可看出，對於經醯胺偶合之共軛物，在共軛物濃度方面未量測到降低相比之下，異硫氰酸酯共軛物有所減少。

【序列表】

<110> 德商拜耳製藥公司
挪威商拜耳公司

<120> 放射性醫藥複合物

<130> BHC 16 3 049

<160> 30

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，VH區

<400> 1
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp
100 105 110
Gly Val Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，HCDR1區

<400> 2
Ser Asn Asn Tyr Tyr Trp Gly
1 5

<210> 3

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa , HCDR2區

<400> 3
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 4
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa , HCDR3區

<400> 4
Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp Gly Val Ala
1 5 10 15
Phe Asp Ile

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa , VL區

<400> 5
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 6

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，LCDR1區

<400> 6
Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，LCDR2區

<400> 7
Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala
1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，LCDR3區

<400> 8
Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 9
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11-hIgG1Kappa，重鏈區

<400> 9
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser

50	55	60
Leu Lys Ser Arg Val Thr	Ile Ser Val Asp Thr	Ser Lys Asn Gln Phe
65	70	75
Ser Leu Lys Leu Ser Ser	Val Thr Ala Ala Asp Thr	Ala Val Tyr Tyr
	85	90
Cys Ala Arg Gly Ala Arg Trp	Gln Ala Arg Pro Ala Thr	Arg Ile Asp
	100	105
Gly Val Ala Phe Asp Ile Trp	Gly Gln Gly Thr Met Val	Thr Val Ser
	115	120
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro	Ser Val Phe Pro Leu Ala	Pro Ser Ser
	130	135
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr	Ala Ala Leu Gly Cys Leu	Val Lys Asp
145	150	155
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr	Val Ser Trp Asn Ser Gly	Ala Leu Thr
	165	170
Ser Gly Val His Thr Phe Pro	Ala Val Leu Gln Ser Ser	Gly Leu Tyr
	180	185
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr	Val Pro Ser Ser Ser Leu	Gly Thr Gln
	195	200
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn	His Lys Pro Ser Asn Thr	Lys Val Asp
	210	215
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser	Cys Asp Lys Thr His Thr	Cys Pro Pro
225	230	235
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	Gly Gly Pro Ser Val Phe	Leu Phe Pro
	245	250
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	Met Ile Ser Arg Thr Pro	Glu Val Thr
	260	265
Cys Val Val Val Asp Val Ser	His Glu Asp Pro Glu Val	Lys Phe Asn
	275	280
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	Val His Asn Ala Lys Thr	Lys Pro Arg
	290	295
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	Tyr Arg Val Val Ser Val	Leu Thr Val
305	310	315
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys	Lys Val Ser
	325	330
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	Ile Glu Lys Thr Ile Ser	Lys Ala Lys
	340	345
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	Val Tyr Thr Leu Pro Pro	Ser Arg Asp
	355	360
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	Ser Leu Thr Cys Leu Val	Lys Gly Phe
	370	375
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu Ser Asn Gly	Gln Pro Glu
385	390	395
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	Pro Val Leu Asp Ser Asp	Gly Ser Phe
	405	410
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	Val Asp Lys Ser Arg Trp	Gln Gln Gly
	420	425
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	Met His Glu Ala Leu His	Asn His Tyr
	435	440
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	Ser Pro Gly	
450	455	
<210> 10		
<211> 214		
<212> PRT		

<213> 人工序列

<220>

<223> ESC11-hIgG1Kappa，輕鏈區

<400> 10

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 11

<211> 129

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> ESC11v2-hIgG1Kappa，VH區

<400> 11

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa , VL區

<400> 15
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 16
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa , LCDR1區

<400> 16
Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa , LCDR2區

<400> 17
Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa , LCDR3區

<400> 18
Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 19
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa , 重鏈區

<400> 19
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp
100 105 110
Gly Val Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
130 135 140
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
145 150 155 160
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
165 170 175
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
180 185 190
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
195 200 205
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
210 215 220
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
225 230 235 240
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
245 250 255
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
260 265 270
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
275 280 285
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
290 295 300

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
305 310 315 320
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
325 330 335
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
340 345 350
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
355 360 365
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
370 375 380
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
385 390 395 400
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
405 410 415
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
420 425 430
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 20
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v2-hIgG1Kappa，輕鏈區

<400> 20
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Thr Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 21
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , VH區

<400> 21
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp
100 105 110
Gly Val Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , HCDR1區

<400> 22
Ser Asn Asn Tyr Tyr Trp Gly
1 5

<210> 23
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , HCDR2區

<400> 23
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 24
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , HCDR3區

<400> 24
Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp Gly Val Ala
1 5 10 15
Phe Asp Val

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , VL區

<400> 25
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , LCDR1區

<400> 26
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , LCDR2區

<400> 27
Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala
1 5

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , LCDR3區

<400> 28
Gln Gln Tyr Gly Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 29
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hIgG1Kappa , 重鏈區

<400> 29
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30
Asn Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gly Ala Arg Trp Gln Ala Arg Pro Ala Thr Arg Ile Asp
100 105 110

Gly Val Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
130 135 140
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
145 150 155 160
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
165 170 175
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
180 185 190
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
195 200 205
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
210 215 220
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
225 230 235 240
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
245 250 255
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
260 265 270
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
275 280 285
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
290 295 300
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
305 310 315 320
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
325 330 335
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
340 345 350
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
355 360 365
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
370 375 380
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
385 390 395 400
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
405 410 415
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
420 425 430
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
435 440 445
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 30
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ESC11v3-hlgG1Kappa，輕鏈區

<400> 30

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Met Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210



201805025

申請日：

IPC分類：

【發明摘要】

【中文發明名稱】

放射性醫藥複合物

【英文發明名稱】

RADIO-PHARMACEUTICAL COMPLEXES

【中文】

本發明提供一種用於形成靶向組織之鈷複合物之方法，該方法包含：

- a) 形成八齒螯合劑，其包含在N位經甲基取代之四個羥基吡啶酮 (HOPO) 部分及以羧酸基終端之偶合部分；
- b) 將該八齒螯合劑偶合至至少一種靶向脯胺醯基內肽酶FAP之靶向組織之部分；及
- c) 使該靶向組織之螯合劑與包含至少一種發射 α 鈷同位素之離子之水溶液接觸。

本發明亦提供一種治療贅生性或增生性疾病之方法，該方法包含投與此靶向組織之鈷複合物，且亦提供該複合物及對應醫藥調配物。

【英文】

The invention provides a method for the formation of a tissue-targeting thorium complex, said method comprising;

- a) forming an octadentate chelator comprising four hydroxypyridinone (HOPO) moieties, substituted in the N-position with a methyl group, and a coupling moiety terminating in a carboxylic acid group;

b) coupling said octadentate chelator to at least one tissue-targeting moiety targeting prolyl endopeptidase FAP; and

c) contacting said tissue-targeting chelator with an aqueous solution comprising an ion of at least one alpha-emitting thorium isotope.

A method of treatment of a neoplastic or hyperplastic disease comprising administration of such a tissue-targeting thorium complex, as well as the complex and corresponding pharmaceutical formulations are also provided.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

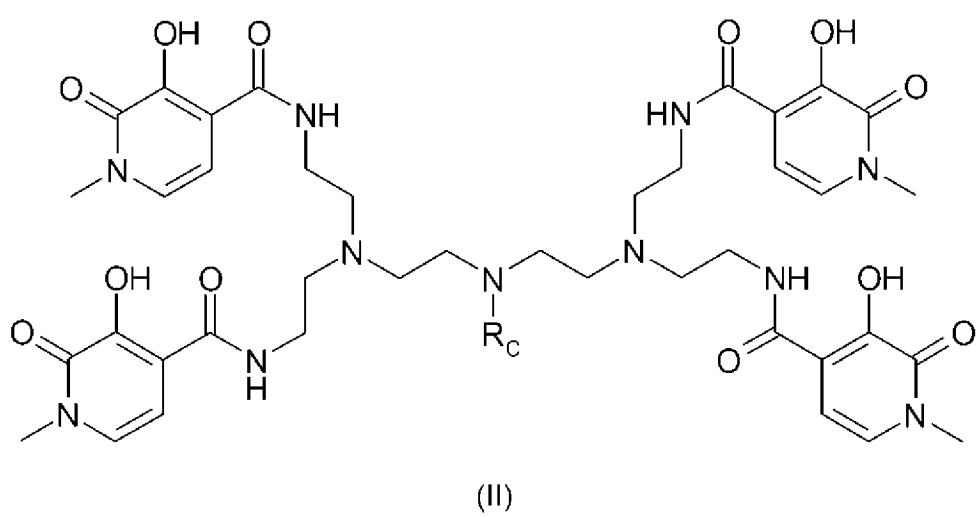
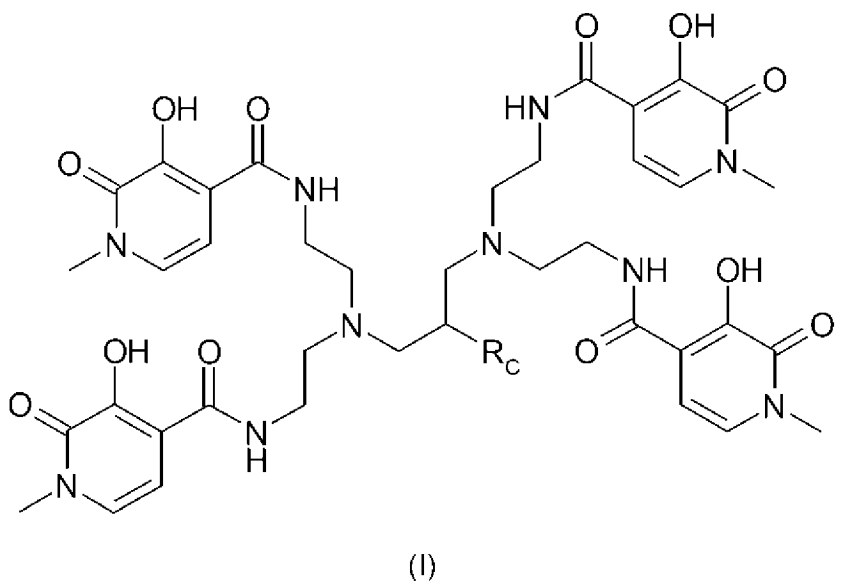
無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種用於形成靶向組織之鈦複合物之方法，該方法包含：

a) 形成式(I)或式(II)之八齒螯合劑：



其中R_C為以羧酸部分終端之連接體部分，諸如
[-CH₂-Ph-N(H)-C(=O)-CH₂-CH₂-C(=O)OH]、
[-CH₂-CH₂-N(H)-C(=O)-(CH₂-CH₂-O)₁₋₃-CH₂-CH₂-C(=O)OH]或
[-(CH₂)₁₋₃-Ph-N(H)-C(=O)-(CH₂)₁₋₅-C(=O)OH]，其中Ph為伸苯

基，較佳為對伸苯基，

b)將該八齒螯合劑偶合至靶向組織之部分

該靶向組織之部分包含與序列1、序列11或序列21中之一者具有序列一致性或相似性的肽鏈；

及與序列5、序列15或序列25中之一者具有序列一致性或相似性的肽鏈；

藉此產生靶向組織之螯合劑；及

c)使該靶向組織之螯合劑與包含發射 α 之釷同位素 ^{227}Th 之 4^+ 離子之水溶液接觸。

【第2項】

如請求項1之方法，其中步驟b)係在水溶液中進行。

【第3項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該醯胺偶合試劑為碳化二亞胺偶合試劑，諸如1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺(EDC)、N,N'-二異丙基碳化二亞胺(DIC)或N,N'-二環己基碳化二亞胺(DCC)。

【第4項】

如前述請求項中任一項之方法，其中步驟b)係在4與9之間pH之水溶液中進行。

【第5項】

如前述請求項中任一項之方法，其中步驟b)係在 15°C 與 50°C 之間進行5分鐘至120分鐘。

【第6項】

如前述請求項中任一項之方法，其中步驟c)係在 15°C 與 50°C 之間進

行1分鐘至60分鐘。

【第7項】

如前述請求項中任一項之方法，

其中 R_C 為

$[-(CH_2)_{1-3}-\text{對伸苯基}-N(H)-C(=O)-(CH_2)_{1-5}-C(=O)OH]$ ，

較佳為 $[-(CH_2)-\text{對伸苯基}-N(H)-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)OH]$ 。

【第8項】

一種靶向組織之鈦複合物，其係藉由或可藉由如請求項1至7中任一項之方法形成。

【第9項】

一種醫藥調配物，其包含至少一種如請求項1至8中任一項中所定義之靶向組織之鈦複合物。

【第10項】

如請求項9之醫藥調配物，其進一步包含檸檬酸鹽緩衝劑。

【第11項】

如請求項9或10之醫藥調配物，其進一步包含對氨基丁酸(PABA)及視情況選用之EDTA及/或至少一種聚山梨醇酯。

【第12項】

一種如請求項1至8中任一項中所定義之靶向組織之鈦複合物或如請求項9至11中任一項之醫藥調配物之用途，其用於製造用於治療增生性或贅生性疾病之藥劑。

【第13項】

如請求項12之用途，其中該疾病係選自：結腸癌、直腸癌、肺癌、

乳癌、胰臟癌、皮膚癌、腹膜癌、女性生殖器官癌、膀胱癌、胃癌、頭頸癌及肉瘤。

【第14項】

一種治療人類或非人類動物(尤其有需要者)之方法，該方法包含投與至少一種如請求項1至8中任一項中所定義之靶向組織之鈷複合物或至少一種如請求項9至11中任一項之醫藥調配物。

【第15項】

如請求項14之方法，該方法用於治療結腸癌、直腸癌、肺癌、乳癌、胰臟癌、皮膚癌、腹膜癌、女性生殖器官癌、膀胱癌、胃癌、頭頸癌及肉瘤。

【第16項】

一種如請求項1至8中任一項中所定義之靶向組織之鈷複合物或一種如請求項9至10中任一項之醫藥調配物，其用於治療結腸癌、直腸癌、肺癌、乳癌、胰臟癌、皮膚癌、腹膜癌、女性生殖器官癌、膀胱癌、胃癌、頭頸癌及肉瘤。

【第17項】

一種套組，其包含：

- i) 如請求項1或7中所定義之八齒螯合劑；
- ii) 至少一種如請求項1中所定義之靶向組織之部分；
- iii) 至少一種醯胺偶合試劑；及
- iv) 視情況且較佳地，發射 α 之鈷放射性核種，諸如 ^{227}Th 。

