



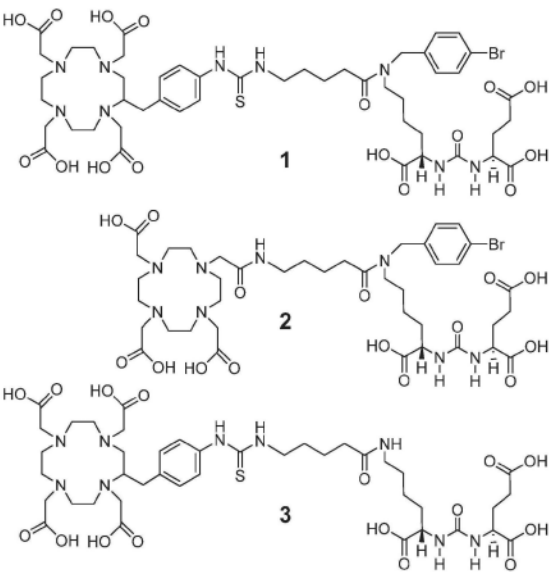
(21) 申请号 201880049933.6
(22) 申请日 2018.05.30
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 111032632 A
(43) 申请公布日 2020.04.17
(30) 优先权数据
 62/512,515 2017.05.30 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2020.01.23
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2018/035220 2018.05.30
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02018/222778 EN 2018.12.06
(73) 专利权人 约翰霍普金斯大学
 地址 美国马里兰州
(72) 发明人 S·雷 M·G·庞珀
(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理
 有限公司 11262
 专利代理师 韦昌金 郑霞
(51) Int.Cl.
 C07D 257/02 (2006.01)

A61K 41/00 (2020.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 109311827 A, 2019.02.05
 WO 2015055318 A1, 2015.04.23
 US 2013034494 A1, 2013.02.07
 EP 2862857 A1, 2015.04.22
 CN 105636924 A, 2016.06.01
 WO 2015171792 A1, 2015.11.12
 CN 106660943 A, 2017.05.10
 Matthias Eder等. 68Ga-Complex
 Lipophilicity and the Targeting Property
 of a Urea-Based PSMA Inhibitor for PET
 Imaging.《Bioconjugate Chemistry》.2012,第
 23卷688-697. (续)

审查员 王茜

权利要求书4页 说明书102页 附图21页

(54) 发明名称
 用于前列腺癌的腔内放射疗法的前列腺特
 异性膜抗原靶向的高亲和力剂
(57) 摘要
 公开了用于前列腺癌的腔内放射疗法的前
 列腺特异性膜抗原靶向的高亲和力剂。



[转续页]

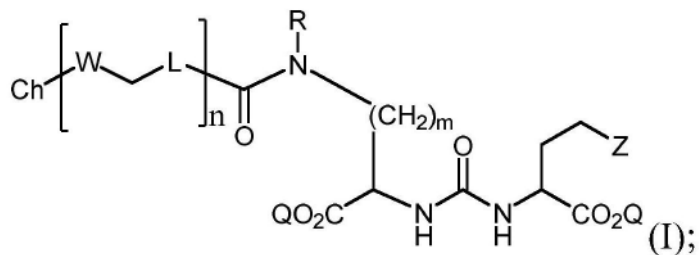
[接上页]

(56) 对比文件

Martina Benesova等.Linker
Modification Strategies To Control the
Prostate-Specific Membrane Antigen

(PSMA)-Targeting and Pharmacokinetic
Properties of DOTA-Conjugated PSMA
Inhibitors.《J. Med. Chem.》.2016,第59卷(第
5期),1761-1775.

1. 一种式 (I) 的化合物:



其中:

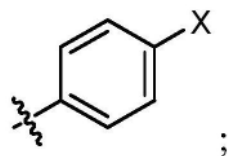
Z是四唑或 CO_2Q ;

Q是H或保护基团;

m是4;

R是 $-\text{CH}_2-\text{R}^1$;

R^1 是:



其中X是Br;

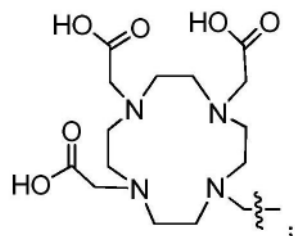
L由 C_1-C_6 亚烷基连接基组成;

W是 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$;

R^2 是H;

n是1;

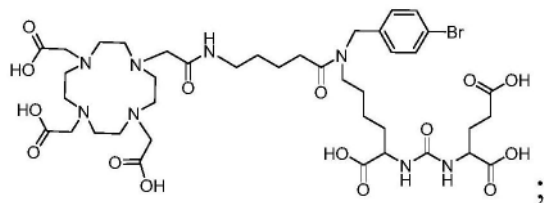
Ch是螯合剂:



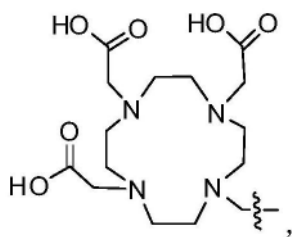
其中所述螯合剂包含 ^{225}Ac ;

或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式 (I) 的化合物是:

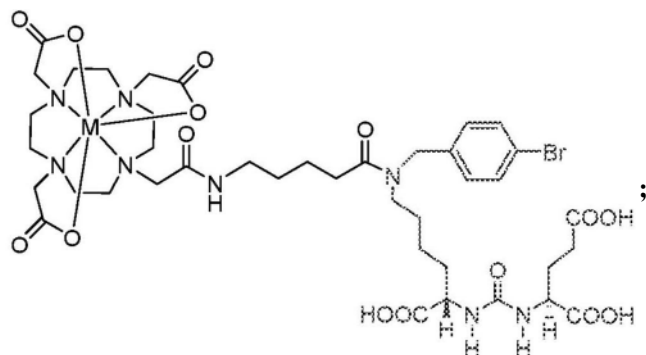


其中所述螯合剂是:



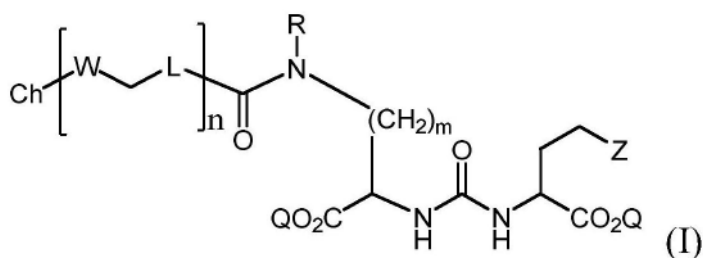
所述螯合剂包含 ^{225}Ac 。

3. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述式(I)的化合物是:



其中:M是 ^{225}Ac 。

4. 式(I)的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗一种或更多种表达前列腺特异性膜抗原PSMA的肿瘤或细胞的药物组合物中的用途,其中当使用所述药物组合物时,有效量的所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐与所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞接触,其中所述式(I)的化合物是:



其中:

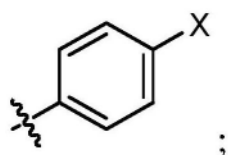
Z是四唑或 CO_2Q ;

Q是H或保护基团;

m是4;

R是 $-\text{CH}_2-\text{R}^1$;

R^1 是:



其中X是Br;

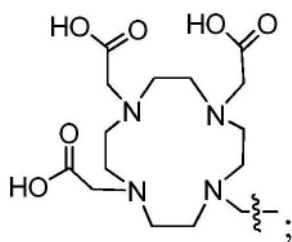
L由 C_1 - C_6 亚烷基连接基组成;

W是 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$;

R^2 是H;

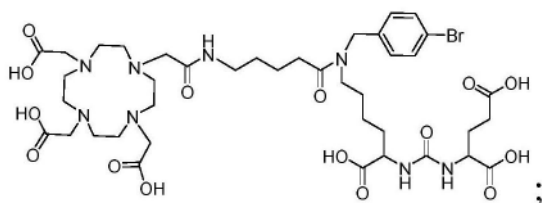
n是1;

Ch是螯合剂:

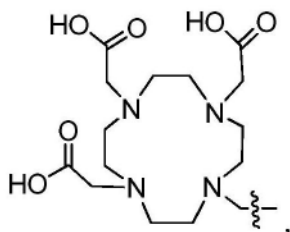


其中所述螯合剂包含²²⁵Ac。

5. 如权利要求4所述的用途,其中所述式(I)的化合物是:



其中所述螯合剂是:



所述螯合剂包含²²⁵Ac。

6. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞选自以下组成的组:前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、成胶质细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、肉瘤、黑素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜铬细胞瘤、食管肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞、及其组合。

7. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是前列腺肿瘤或细胞。

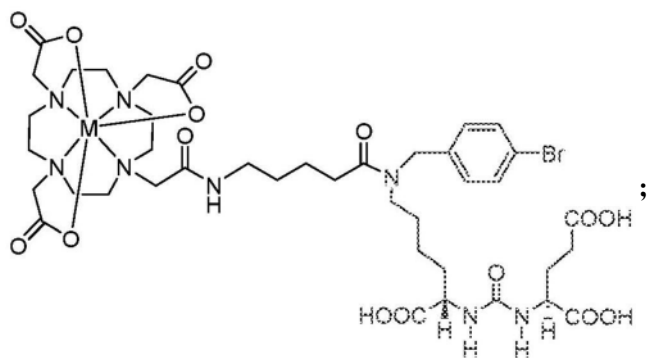
8. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是体外、体内或离体的。

9. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞存在于受试者中。

10. 如权利要求9所述的用途,其中所述受试者是人类。

11. 如权利要求4所述的用途,其中当使用所述药物组合物时,肿瘤生长被抑制。

12. 如权利要求4所述的用途,其中所述式(I)的化合物是:



其中:M是²²⁵Ac。

用于前列腺癌的腔内放射疗法的前列腺特异性膜抗原靶向的高亲和力剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2017年5月30日提交的美国临时申请第62/512,515号的权益,该申请通过引用以其整体并入本文。

[0003] 联邦政府资助的研究或开发

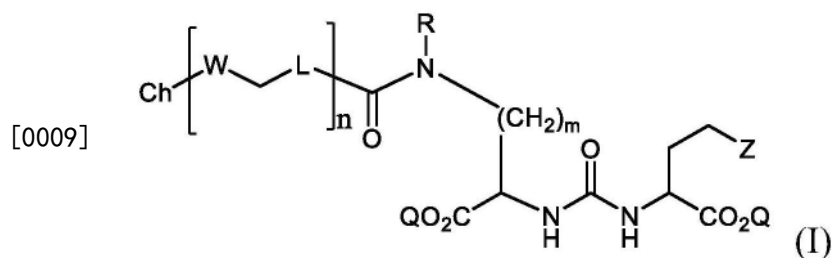
[0004] 本发明根据由美国国立卫生研究院 (National Institute of Health) (NIH) 授予的K25CA148901-01A1和U54CA1346751在政府支持下进行。政府对本发明享有一定的权利。

[0005] 背景

[0006] 前列腺癌是美国人口中的主要癌症,并且是男性癌症死亡的第二大主要原因。用于局部晚期疾病的疗法仍然有争议,并且增加的数目的不同选择是可用的。用于前列腺癌的新的、高亲和力、放射治疗剂已经使用前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 作为靶被开发。PSMA是用于雄激素非依赖性疾病的标志物,其也在实体 (非前列腺) 肿瘤新血管系统中表达。

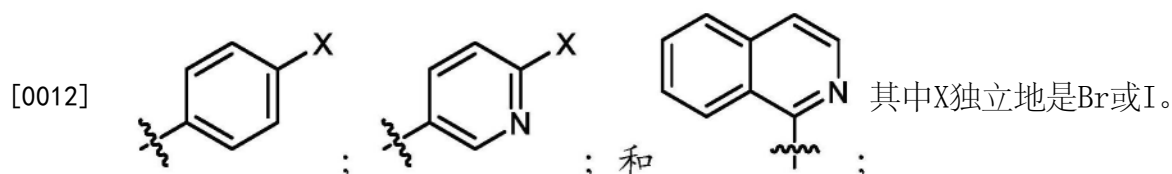
[0007] 概述

[0008] 在一些方面中,目前公开的主题提供了式 (I) 的化合物:

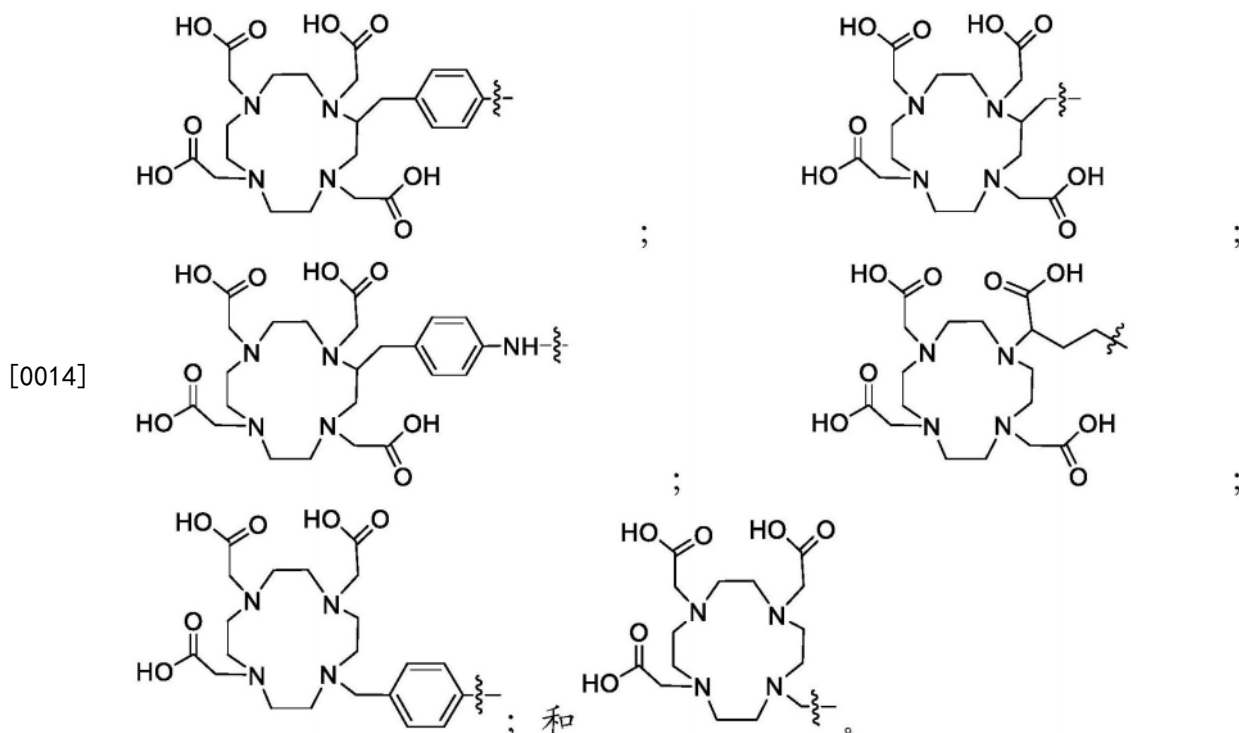


[0010] 其中:Z是四唑或CO₂Q;Q是H或保护基团;m是选自1、2、3、4和5组成的组的整数;R独立地是H或-CH₂-R¹;R¹选自被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;L是选自C₁-C₆亚烷基和C₃-C₆亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;W选自-NR²-(C=O)-、-NR²-(C=S)-、-(C=O)-NR²-和-(C=S)-NR²-组成的组;其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的;R²是H或C₁-C₄烷基;n是选自1、2和3组成的组的整数;Ch是螯合剂,其可以包含金属或放射性金属;和其药学上可接受的盐。

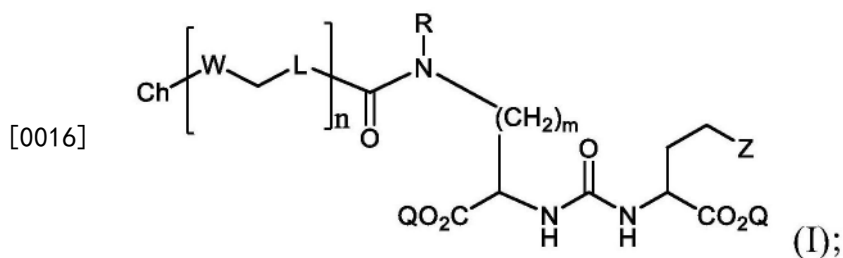
[0011] 在式 (I) 的化合物的特定的方面中,R¹选自以下组成的组:



[0013] 又在式 (I) 的化合物的更特定的方面中,螯合剂选自以下组成的组:



[0015] 在其他方面中,目前公开的主题提供了用于治疗一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触,式(I)的化合物包括:



[0017] 其中:Z是四唑或CO₂Q;Q是H或保护基团;m是选自1、2、3、4和5组成的组的整数;R独立地是H或-CH₂-R¹;R¹选自被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异噻啉组成的组;L是选自C₁-C₆亚烷基和C₃-C₆亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;W选自-NR²-(C=O)-、-NR²-(C=S)-、-(C=O)-NR²-和-(C=S)-NR²-组成的组;其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的;R²是H或C₁-C₄烷基;n是选自1、2和3组成的组的整数;Ch是螯合剂,其包含适合于放射疗法的放射性金属;和其药学上可接受的盐。

[0018] 在其他方面中,目前公开的主题提供了用于成像一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使一种或更多种肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触并制作图像。

[0019] 又在其他方面中,目前公开的主题提供了包含式(I)的化合物的试剂盒。

[0020] 目前公开的主题的某些方面已经在上文陈述,其通过目前公开的主题被全部或部分地解决,其他方面将随着描述进行、当结合所附实施例和附图考虑时将变得明显,如在本文下文最好地描述的。

[0021] 附图简述

[0022] 已经由此概括地描述了目前公开的主题,现在将参考附图,附图不必按比例绘制,并且其中:

[0023] 图1示出了代表性放射治疗剂的化学结构;

[0024] 图2示出了 ^{177}Lu -8和已知的剂SR6、PSMA-617和PSMA-I&T的克隆形成功效的比较研究;

[0025] 图3示出了 ^{177}Lu -8、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -SR6、 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA-I&T的PSMA+肿瘤与肾的比率;

[0026] 图4示出了在治疗研究期间使用单剂量的3mCi的 ^{177}Lu -8的SPECT-CT成像;

[0027] 图5示出了在治疗研究期间小鼠的相对体重;

[0028] 图6A和图6B示出了在治疗研究期间小鼠的相对肿瘤体积(图6A)和长达治疗后60天的Kaplan-Meier存活曲线(图6B);

[0029] 图7示出了在37°C ^{213}Bi -1的体外细胞摄取(左图)。PSMA(+)PC3PIP细胞(蓝色)和随后PSMA(-)PC3 fluc细胞(黑色),以及具有1mM的ZJ43的阻断(红色)的特异性细胞摄取。(中图和右图)在37°C在2h之后 ^{213}Bi -1和 ^{225}Ac -1的特异性细胞杀伤;

[0030] 图8示出了 ^{213}Bi -1的组织生物分布(% ID/g);

[0031] 图9示出了(上图) ^{225}Ac -1在PSMA+PIP肺腹肿瘤模型(雄性NSG小鼠)中的功效。(中图)在治疗研究期间体重的变化。(下图)在微转移PC3-ML-Luc-PSMA模型中治疗研究的Kaplan-Meier存活曲线,中位存活为51天(未经治疗),相比于 ^{177}Lu -PSMA-617(37MBq)的52天和 ^{225}Ac -1(37kBq)的56天、以及 ^{225}Ac -1(74kBq)的79天;

[0032] 图10示出了(上图) ^{203}Pb -2和 ^{203}Pb -3(14.8MBq)的SPECT-CT成像和(下图)组织生物分布数据。 $T+$:PSMA(+)PC3 PIP, $T(-)$ PC3 fluc;

[0033] 图11A、图11B、图11C、图11D和图11E示出了通过 α -相机成像记录的PSMA+PC3 PIP肿瘤(T)和肾(K)中0.37MBq ^{225}Ac -1(A)和1.85MBq ^{213}Bi -1(+2nmol 9)(B)的分布。共注射2nmol的9产生了从肾皮质但不是从PSMA+肿瘤的特异性活性去除。(C) ^{225}Ac -9治疗的PSMA+肿瘤的IHC示出与未经治疗的PSMA+肿瘤相比,在24h之后PSMA表达的减少,(D、E)来自与(A)相同的小鼠的肾的在2h时的PSMA+染色(IHC);

[0034] 图12示出了 ^{177}Lu -1与增加的量的1的生物分布,其示出了在2h时的部分肾阻断配体;

[0035] 图13A和图13B示出了(图13A)在注射后2h的I型成像剂(具有高肿瘤和肾摄取)和II型成像剂(具有高肿瘤摄取和低肾摄取),以及(图13B)用 ^{68}Ga -2扫描的具有广泛转移性疾病的第一个患者。注意肝门周围(perihilar)下几厘米(sub-centimeter)和胸椎淋巴结受累(轴向图,箭头)(左)(ref.34);所选择的 $^{68}\text{Ga}/^{177}\text{Lu}$ 标记的PSMA结合剂(右);

[0036] 图14示出了所选择的化合物的比较细胞摄取和内化数据(头对头研究);

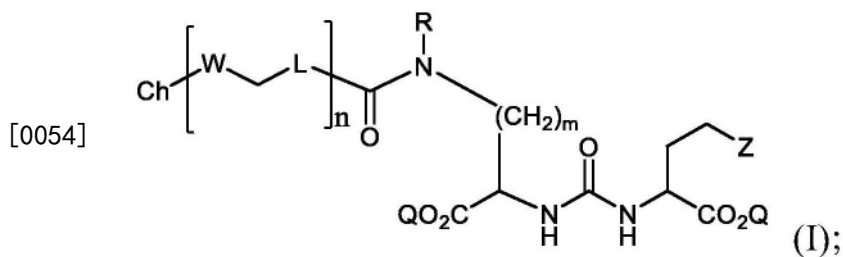
[0037] 图15示出了所选择的化合物的比较组织生物分布数据(头对头研究);

[0038] 图16示出了所选择的化合物的比较组织生物分布数据(也如图15中所示的头对头研究);

[0039] 图17示出了 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -7、 ^{177}Lu -8、 ^{177}Lu -9、 ^{177}Lu -10和 ^{177}Lu -14的生物分布数据;

[0040] 图18A和图18B示出了(图18A)使用 ^{177}Lu -1(37MBq)的SPECT/CT成像;图18B,在不施用或施用37MBq的 ^{177}Lu -1的情况下的PC3 PIP肿瘤的PSMA表达的免疫组织化学;

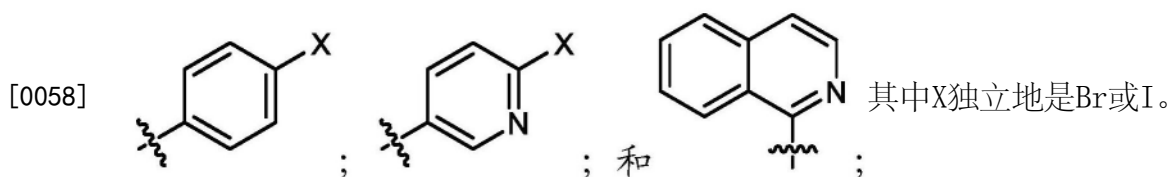
- [0041] 图19示出了在静脉内施用 ^{177}Lu -14之后的SPECT/CT成像;
- [0042] 图20示出了在注射后2h ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -9的部分自阻断;
- [0043] 图21A和图21B示出了基于PSMA的 ^{177}Lu 标记的低分子量的剂 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5和 ^{177}Lu -PSMA-617的放射性核素疗法。在经由尾静脉注射单次施用~111MBq单独的剂和用盐水注射的对照之后的肿瘤生长抑制(图21A)和存活(图21B)(对于 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5, n=10, 并且对于 ^{177}Lu -PSMA-617, n=9)。在治疗后4周和8周示出了个体小鼠的相对肿瘤体积和体重;
- [0044] 图22示出了111MBq的 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -1的相对体积、体重和存活(%);
- [0045] 图23示出了在使用 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5、 ^{177}Lu -PSMA-617进行放射疗法后8周的血红蛋白和血液计数水平。数据为n=3/组的平均值±SEM;
- [0046] 图24示出了在经由尾静脉注射单次施用111MBq和用盐水注射进行对照之后的放射性核素疗法 ^{177}Lu -1(对于 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3、 ^{177}Lu -5, n=10, 并且对于 ^{177}Lu -PSMA-617, n=9)。在治疗后4周和8周示出了个体小鼠的相对肿瘤体积和体重;和
- [0047] 图25A、图25B、图25C、图25D和图25E示出了苏木精和伊红(H&E)染色。(图25A、图25B、图25C)眶外泪腺;图25A, 未经治疗的对照;图25B, 邻近腮腺(箭头)不受损伤(spared);图25C, 更高放大倍数的图25B, 示出了腺泡丧失, 具有影响泪腺的慢性和活性炎症(^{177}Lu -PSMA-617)。(图25D和图25E)。睾丸图25D, 未经治疗的对照, 活跃精子发生, 一个小管(箭头)仅包含支持细胞(Sertoli cell)。这预期在睾丸网附近;图25E, 不存在精子发生, 扩散的生精小管比A(相同放大倍数)中的小并且仅由支持细胞排列, 在一些小管中有少量生殖细胞。间质细胞在该样品的小管之间是明显的。
- [0048] 本专利或申请文件包含至少一幅以彩色展示的图。具有彩色附图的本专利或专利申请公布物的副本将在请求和支付必要费用后由主管局提供。
- [0049] 详细描述
- [0050] 现在将在下文中参照附图更全面地描述目前公开的主题, 在附图中示出目前公开的主题的某些但不是全部的实施方案。相同的数字在全文中指的是相同的要素。目前公开的主题可以以许多不同的形式来体现并且不应当被解释为局限于本文阐述的实施方案;相反, 这些实施方案被提供以使得本公开内容将满足适用的法律要求。事实上, 本文阐述的目前公开的主题的许多修改和其他实施方案将被在目前公开的主题所属领域中的技术人员所想到, 具有在前面的描述和相关的附图中呈现的教导的益处。因此, 应当理解, 目前公开的主题不限于所公开的具体实施方案, 并且修改和其他实施方案意图被包括在所附权利要求书的范围内。
- [0051] I. 用于前列腺癌的腔内放射疗法的前列腺特异性膜抗原靶向的高亲和力剂
- [0052] A. 式(I)的化合物
- [0053] 因此, 在一些实施方案中, 目前公开的主题提供了式(I)的化合物:



[0055] 其中:Z是四唑或CO₂Q;Q是H或保护基团;m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数;R独立地是H或-CH₂-R¹;R¹选自由被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;L是选自由C₁-C₆亚烷基和C₃-C₆亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;W选自由-NR²-(C=O)-、-NR²-(C=S)-、-(C=O)-NR²-、和-(C=S)-NR²-组成的组;其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的;R²是H或C₁-C₄烷基;n是选自由1、2和3组成的组的整数;Ch是螯合剂,其可以包含金属或放射性金属;和其药学上可接受的盐。

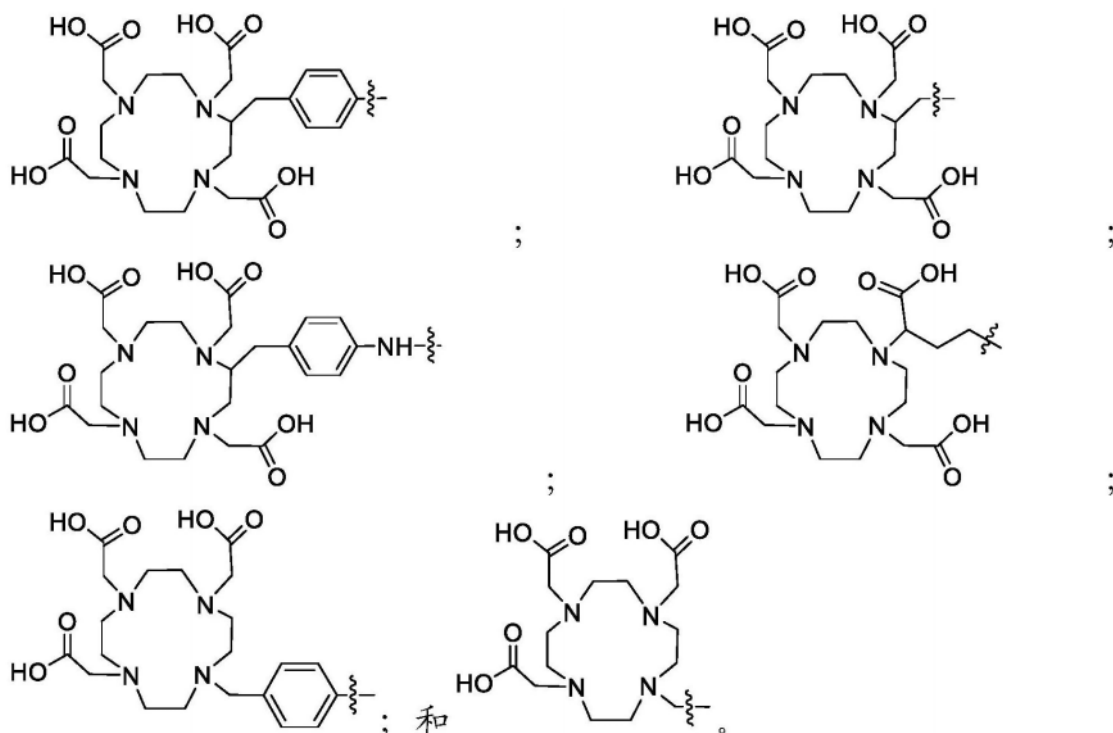
[0056] 短语“其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的”意指当变量“n”是2或3时,一个“L”基团可以是C₁-C₆亚烷基,而另一个“L”基团(group)或更多个“L”基团可以是C₃-C₆亚环烷基或亚芳基,或者,在其他实施方案中,每个“L”基团可以是例如C₁-C₆亚烷基。同样地,例如,当“n”是2或3时,一个“W”基团可以是-(C=O)-NR²-,并且另一个“W”基团(group)或更多个“W”基团可以是-(C=S)-NR²-,或者,在其他实施方案中,每个“W”可以是例如-(C=O)-NR²-。

[0057] 在式(I)的化合物的特定的实施方案中,R¹选自由以下组成的组:



[0059] 又在式(I)的化合物的更特定的实施方案中,螯合剂选自由以下组成的组:

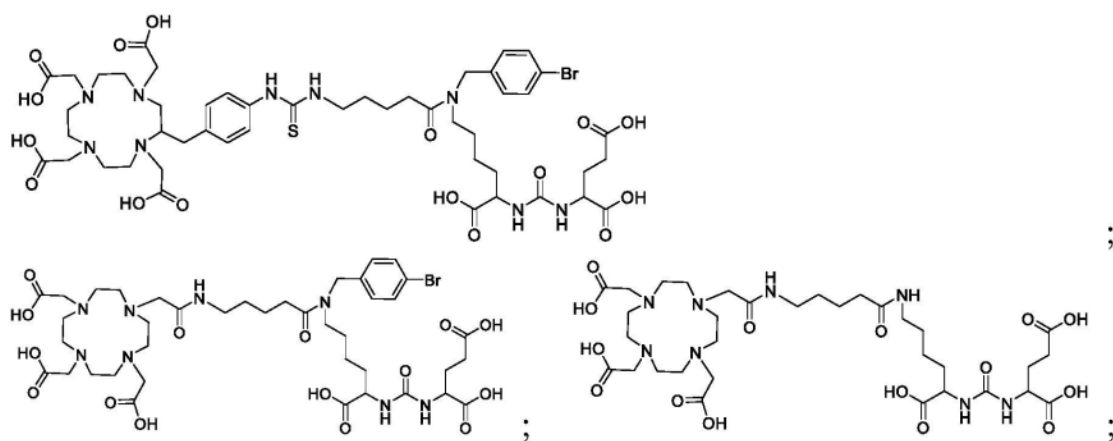
[0060]

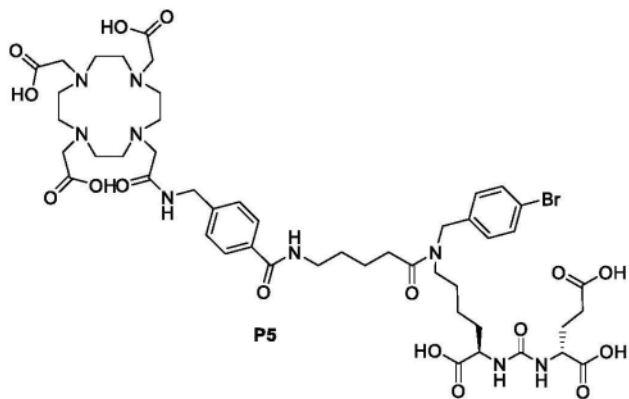
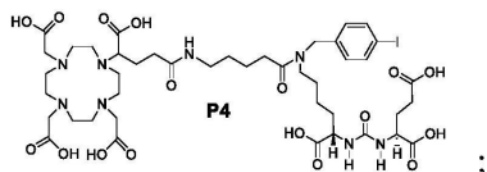
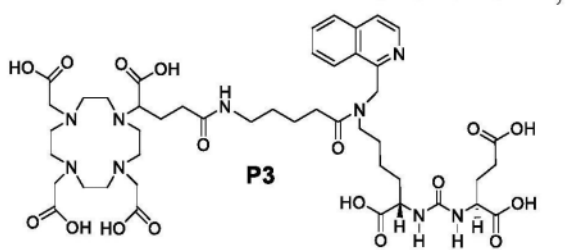
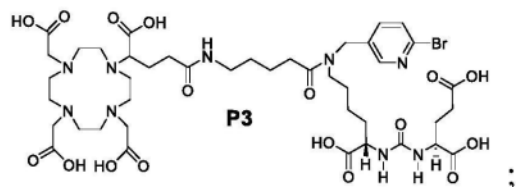
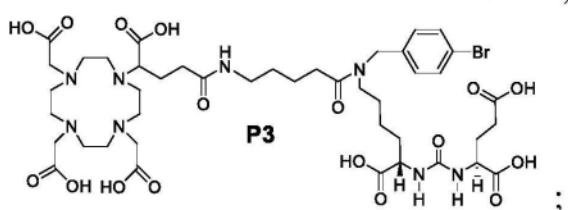
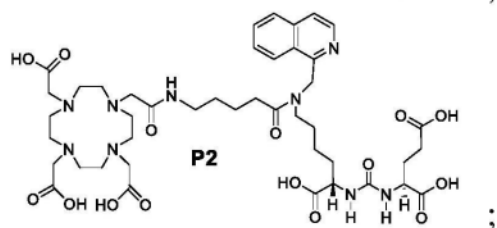
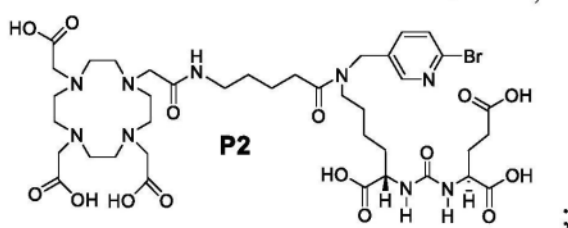
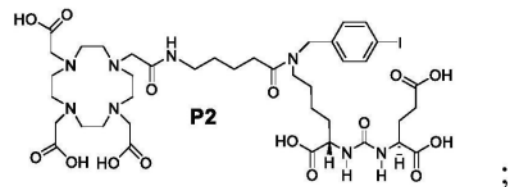
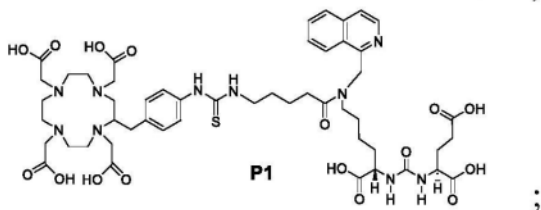
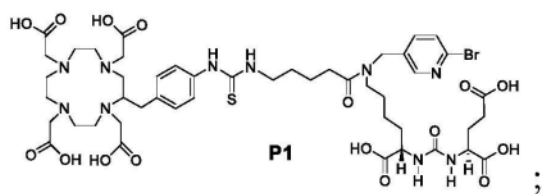
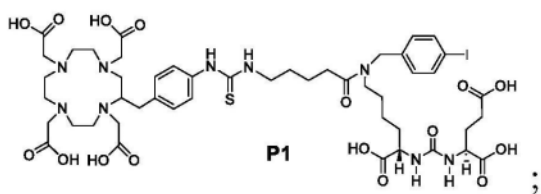


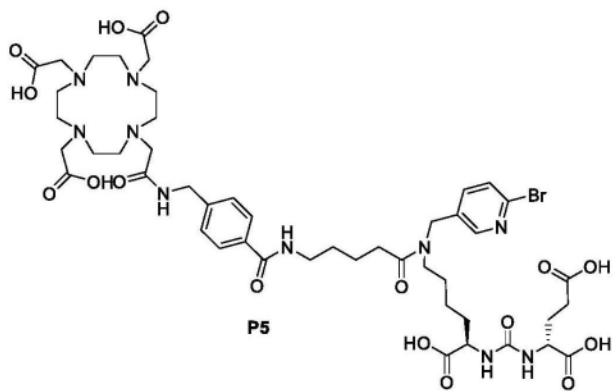
[0061] 仍在式(I)的化合物的更特定的实施方案中,螯合剂包含选自由以下组成的组的金属:Y、Lu、Tc、Zr、In、Sm、Re、Cu、Pb、Ac、Bi、Al、Ga、Re、Ho和Sc。在式(I)的化合物的另外的特定的实施方案中,金属是放射性金属并且选自由以下组成的组: ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Pb 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{203}Pb 、 ^{47}Sc 和 ^{166}Ho 。

[0062] 在特定的实施方案中,式(I)的化合物选自由以下组成的组:

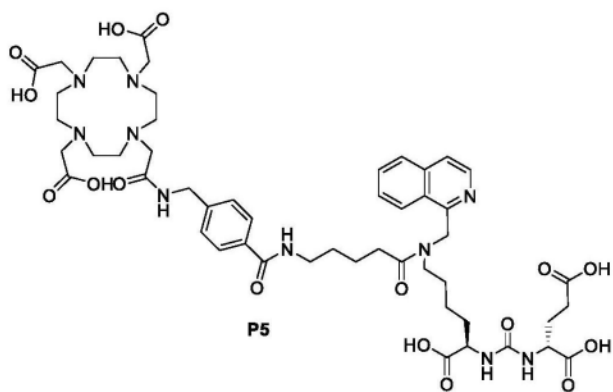
[0063]





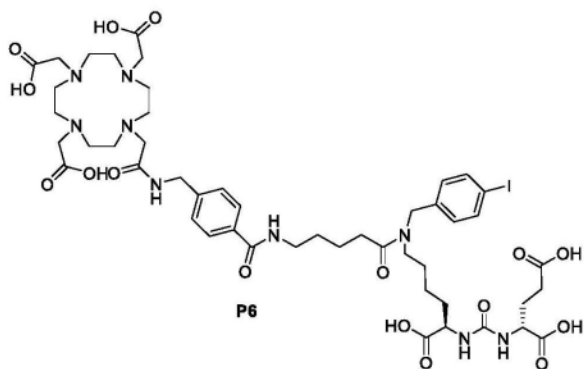


;

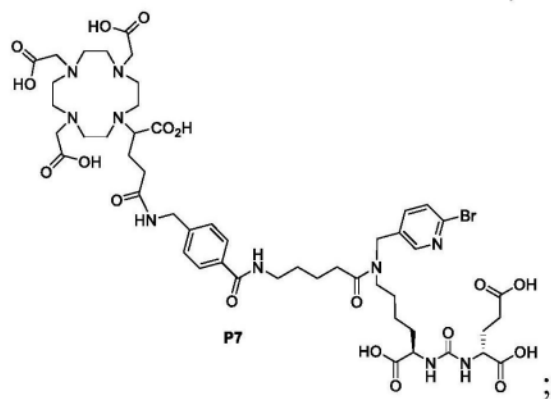
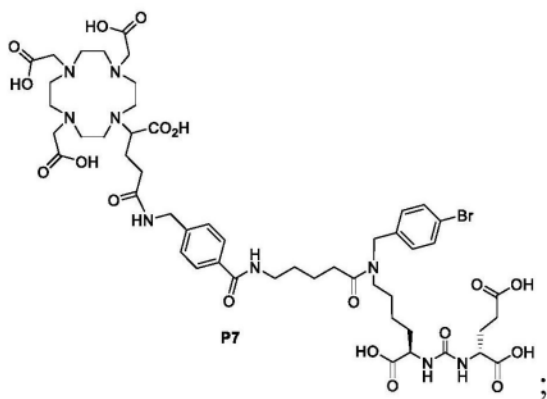


[0065]

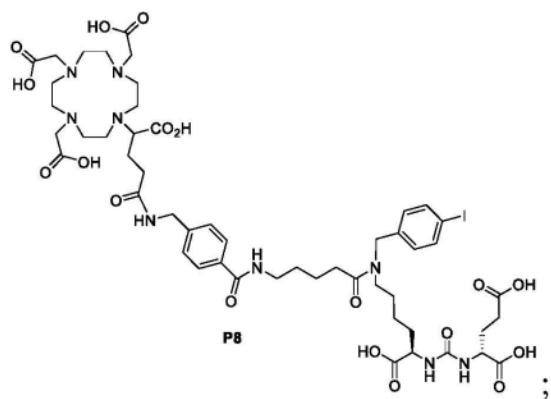
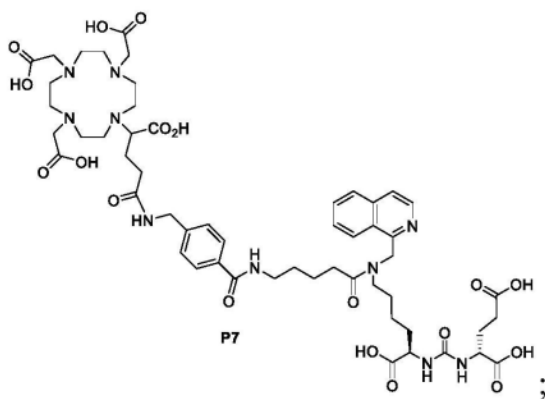
;



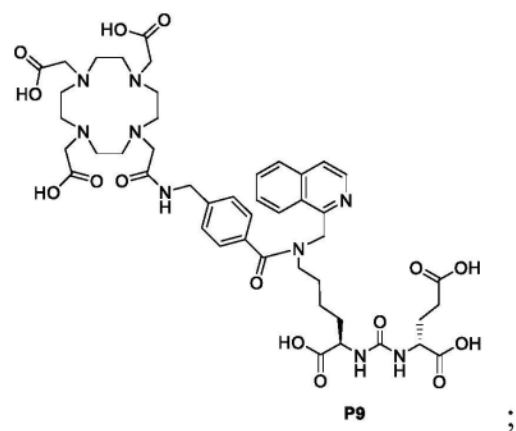
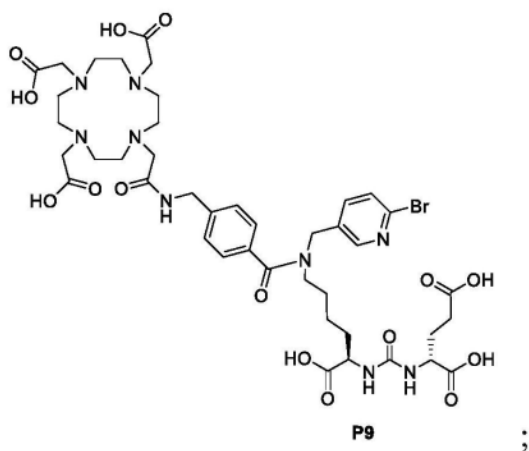
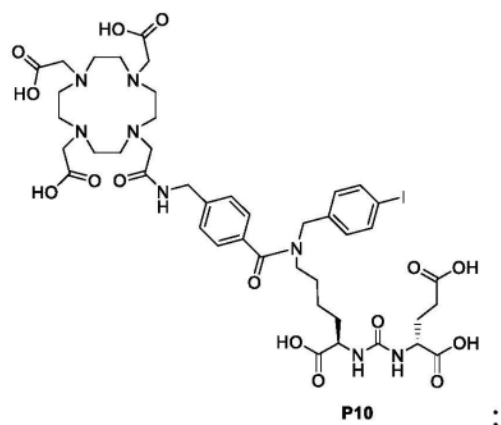
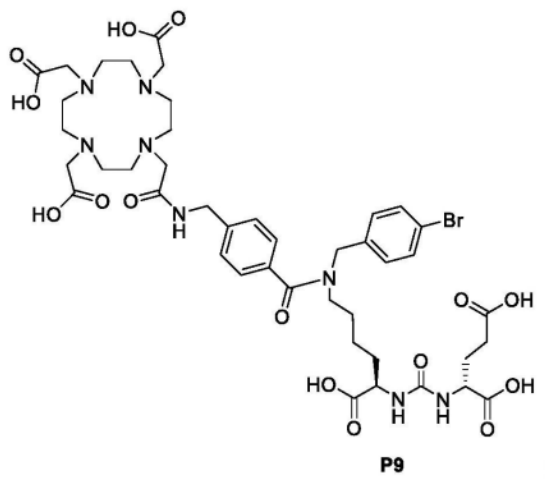
;

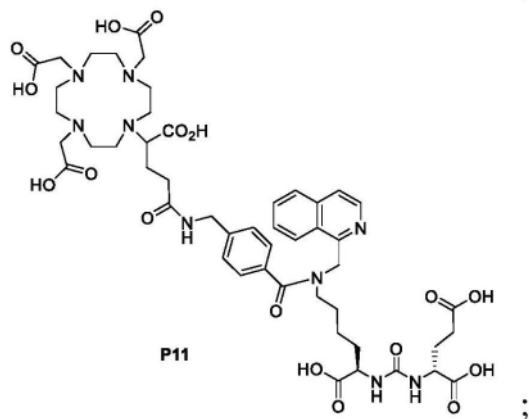
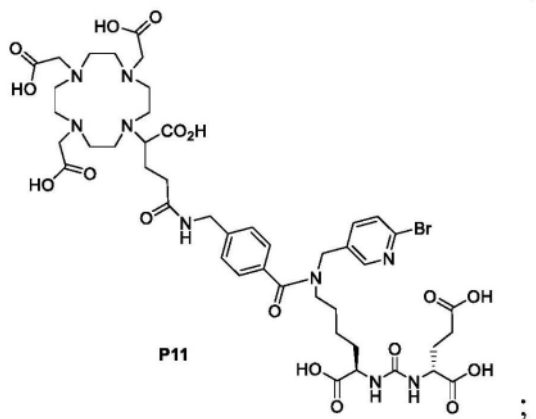
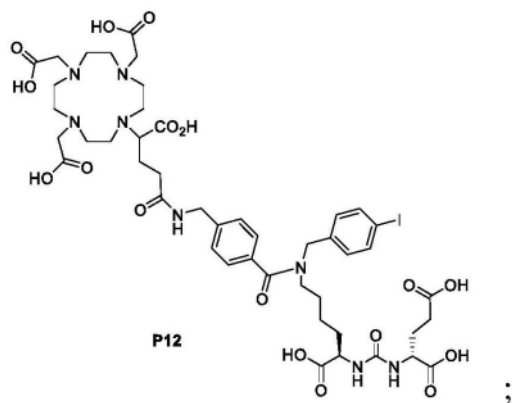
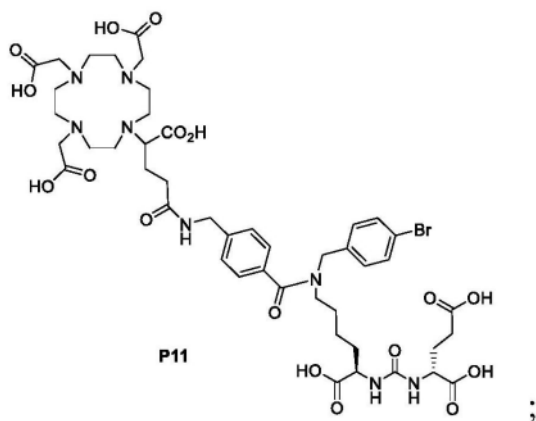


;

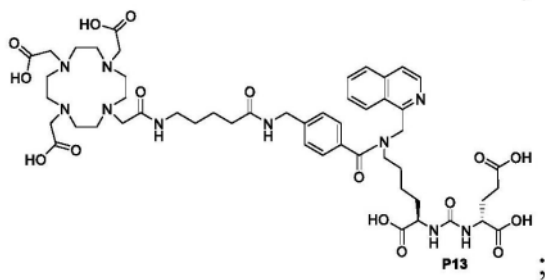
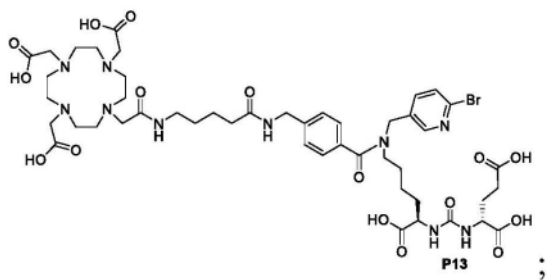
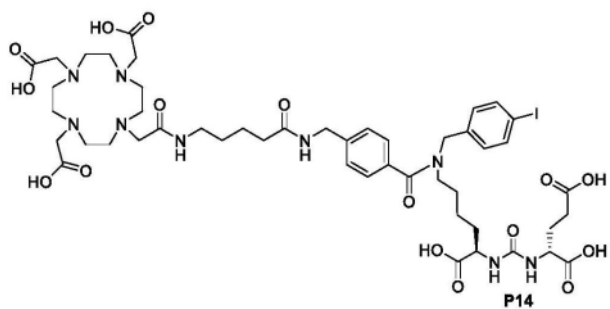
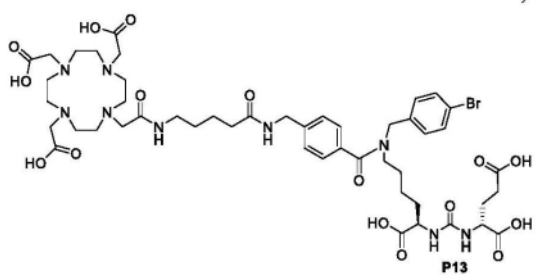


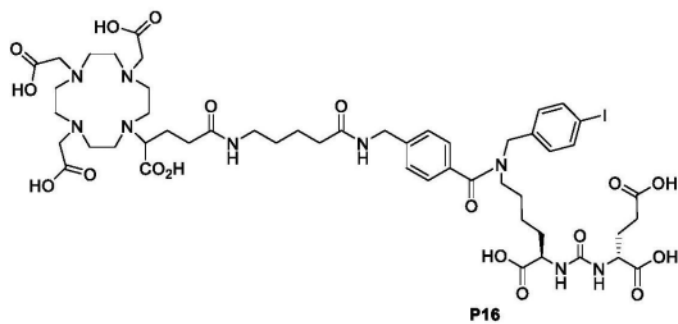
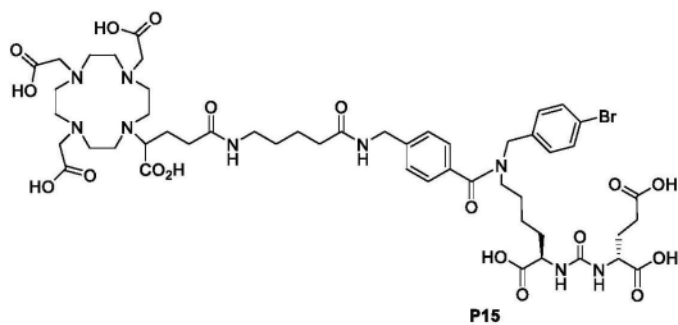
[0066]



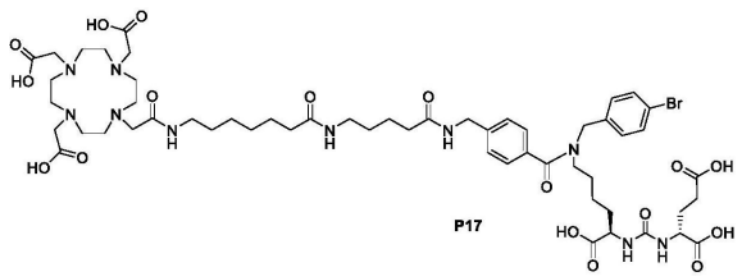
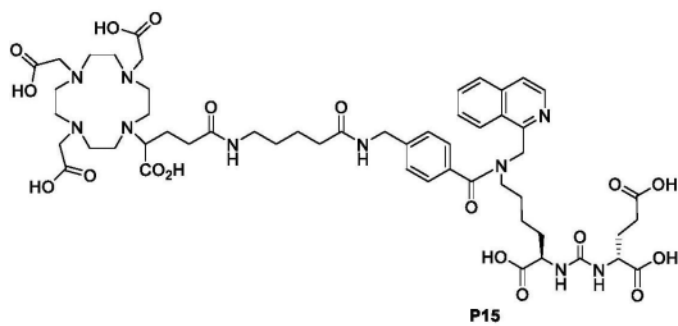
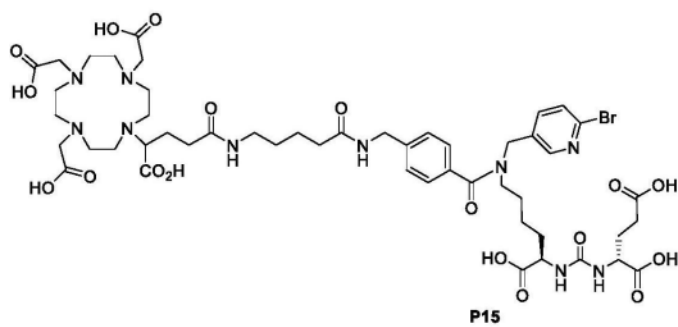


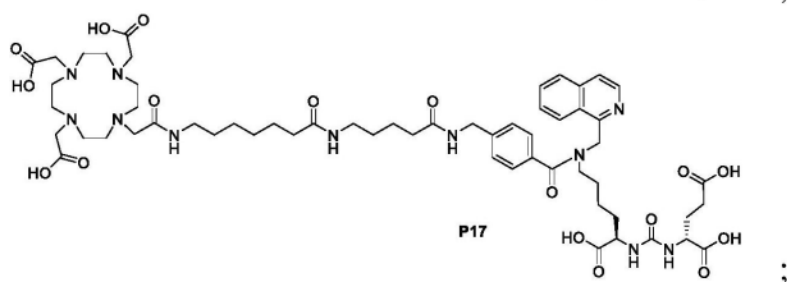
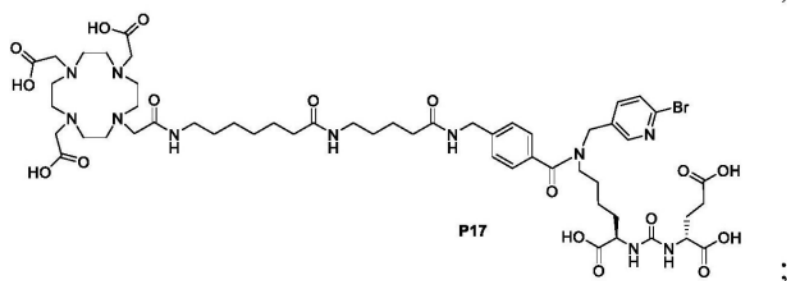
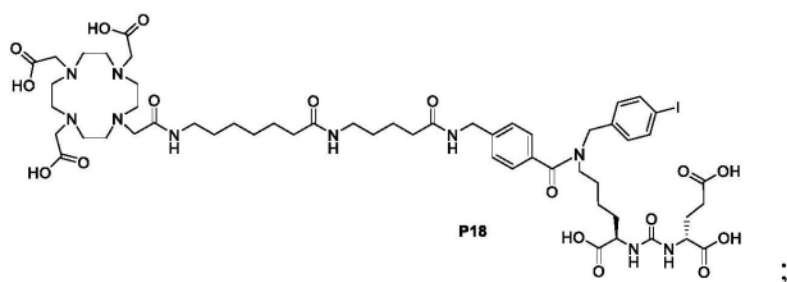
[0067]



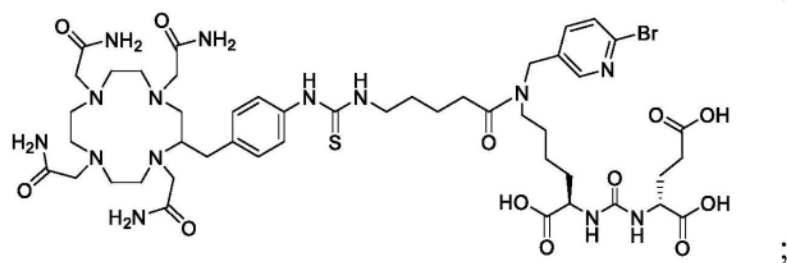
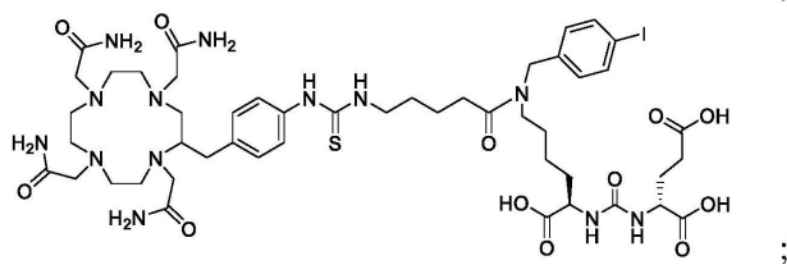
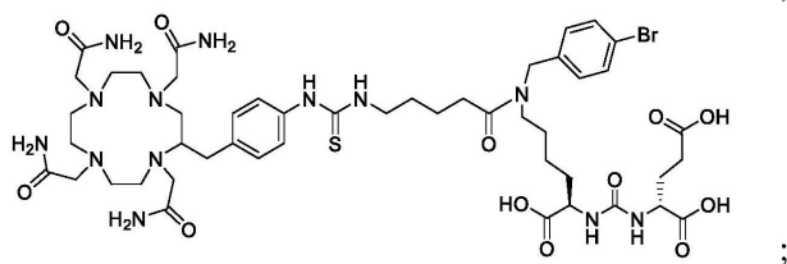


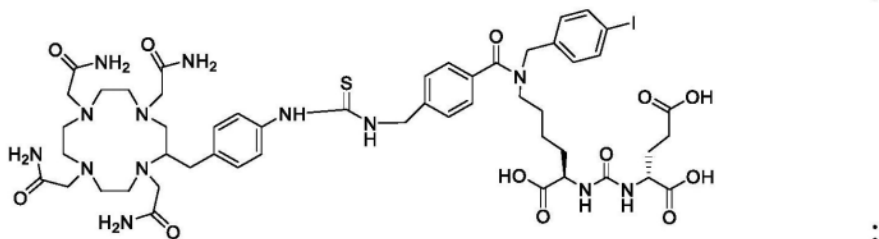
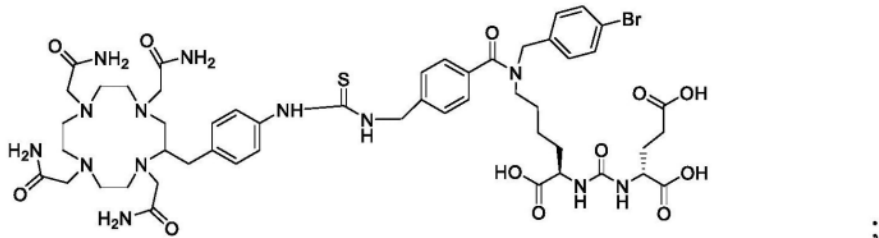
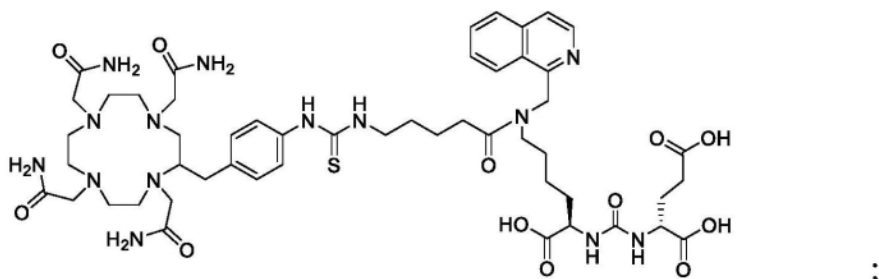
[0068]



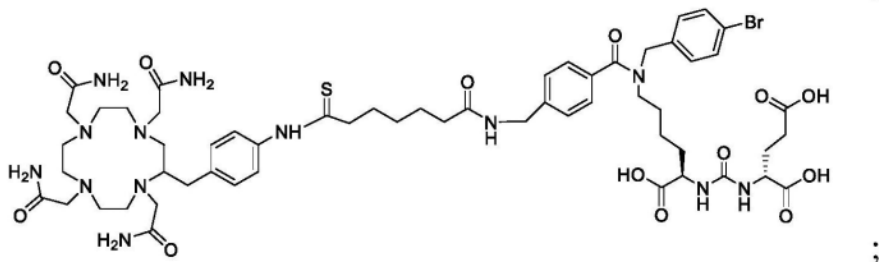
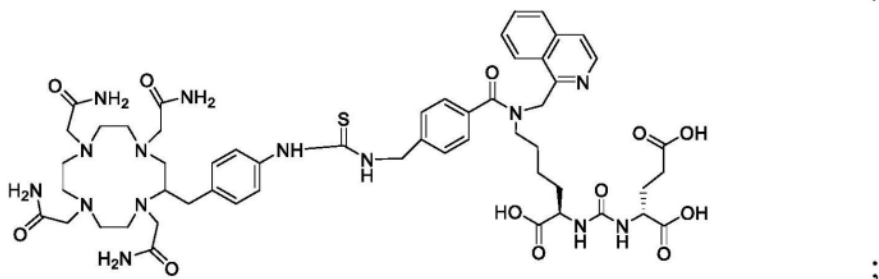
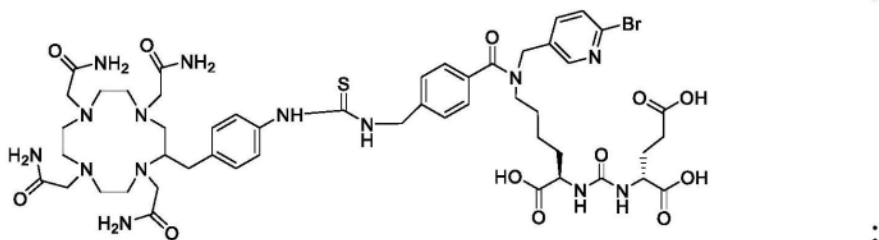


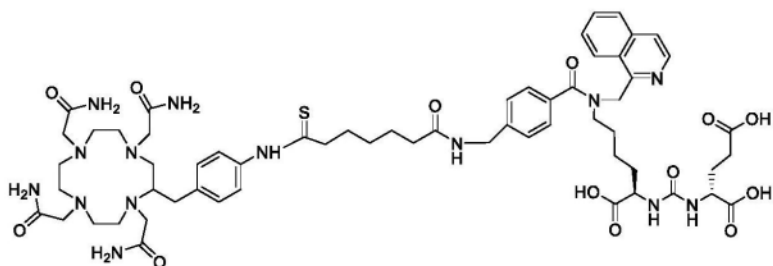
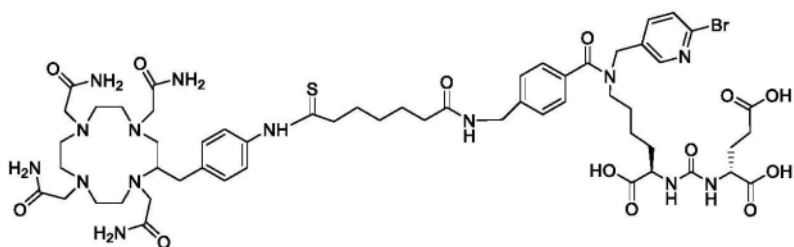
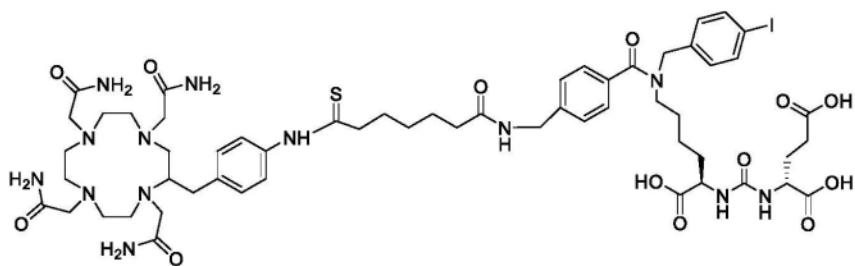
[0069]



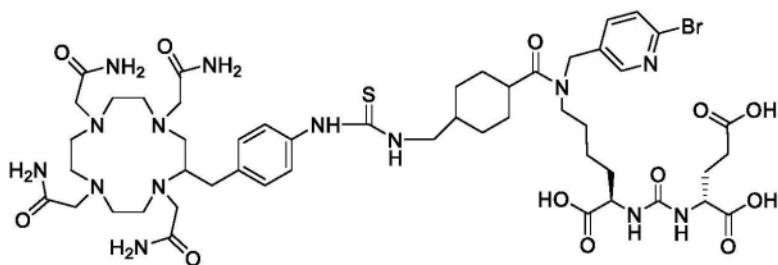
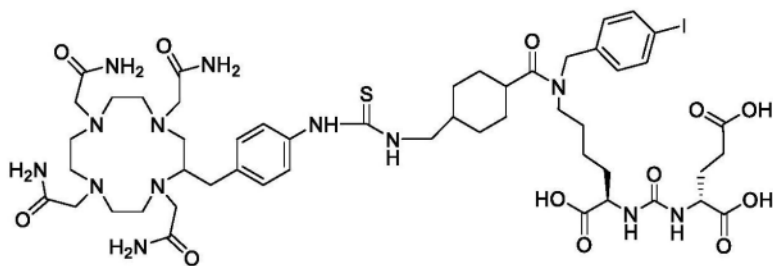
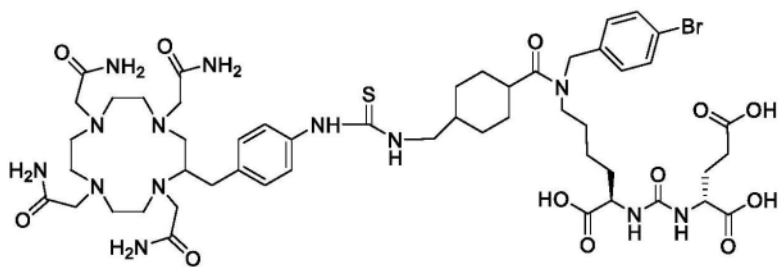


[0070]

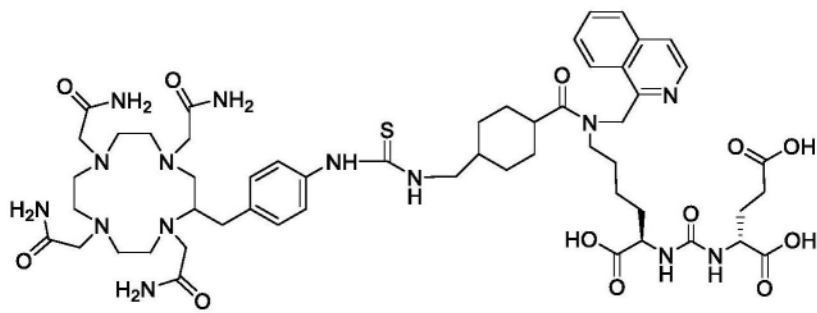




[0071]



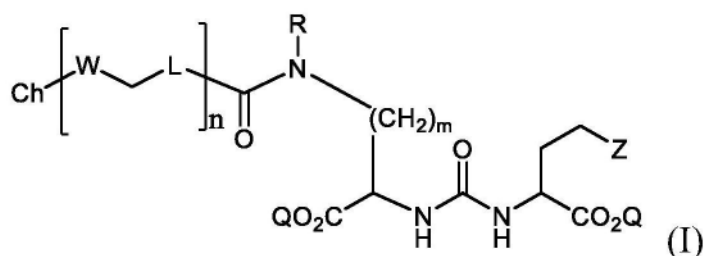
[0072]



[0073] B. 使用式 (I) 的化合物用于治疗一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞的方法

[0074] 在一些实施方案中,目前公开的主题提供了用于治疗一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞与有效量的式 (I) 的化合物接触,式 (I) 的化合物包括:

[0075]



[0076] 其中:Z是四唑或 CO_2Q ;Q是H或保护基;m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数;R独立地是H或 $-\text{CH}_2-\text{R}^1$; R^1 选自由被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;L是选自由 C_1-C_6 亚烷基和 C_3-C_6 亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;W选自由 $-\text{NR}^2-$ ($\text{C}=\text{O}$) -、 $-\text{NR}^2-$ ($\text{C}=\text{S}$) -、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、和 $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ 组成的组;其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的; R^2 是H或 C_1-C_4 烷基;n是选自由1、2和3组成的组的整数;Ch是螯合剂,其包含适合于放射疗法的放射性金属;及其药学上可接受的盐。

[0077] “接触”意指导致目前公开的主题的包含治疗剂的至少一种化合物物理接触至少一种表达PSMA的肿瘤或细胞的任何动作。接触可以包括使细胞或肿瘤暴露于足以导致至少一种化合物与至少一种细胞或肿瘤接触的量的化合物。该方法可以通过以下体外或离体被实践:通过在受控环境诸如培养皿或管中引入,并且优选地混合化合物和细胞或肿瘤。该方法可以在体内被实践,在该情况下接触意指使受试者中的至少一种细胞或肿瘤暴露于目前公开的主题的至少一种化合物,诸如经由任何合适的途径将化合物施用至受试者。

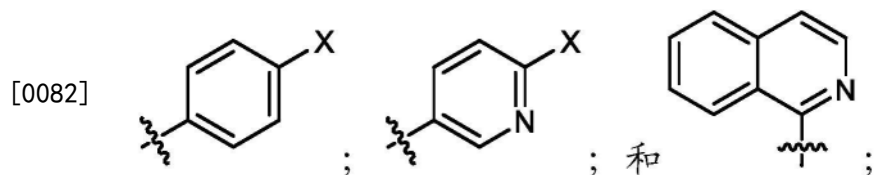
[0078] 如本文使用的,术语“治疗”可以包括逆转、减轻、抑制这样的术语适用的疾病、紊乱或状况的进展、防止或降低疾病、紊乱或状况的可能性,或这样的疾病、紊乱或状况的一种或更多种症状或表现。防止指的是导致这样的疾病、紊乱、状况、或症状或表现,或这样的严重程度的恶化不发生。因此,目前公开的化合物可以被预防地施用,以防止或降低疾病、紊乱或状况的发生或复发。

[0079] 通常,活性剂的“有效量”指的是引发期望的生物反应所必需的量。如将由本领域普通技术人员理解的,剂或装置的有效量可以取决于这样的因素如期望的生物学终点、待递送的剂、药物组合物的组成、靶组织及类似物而变化。

[0080] 术语“组合”以其最广泛的意义上使用,并且意指受试者被施用至少两种剂,更特别地,式 (I) 的化合物和至少一种其他活性剂。更特别地,术语“组合”指的是同时施用两种(或

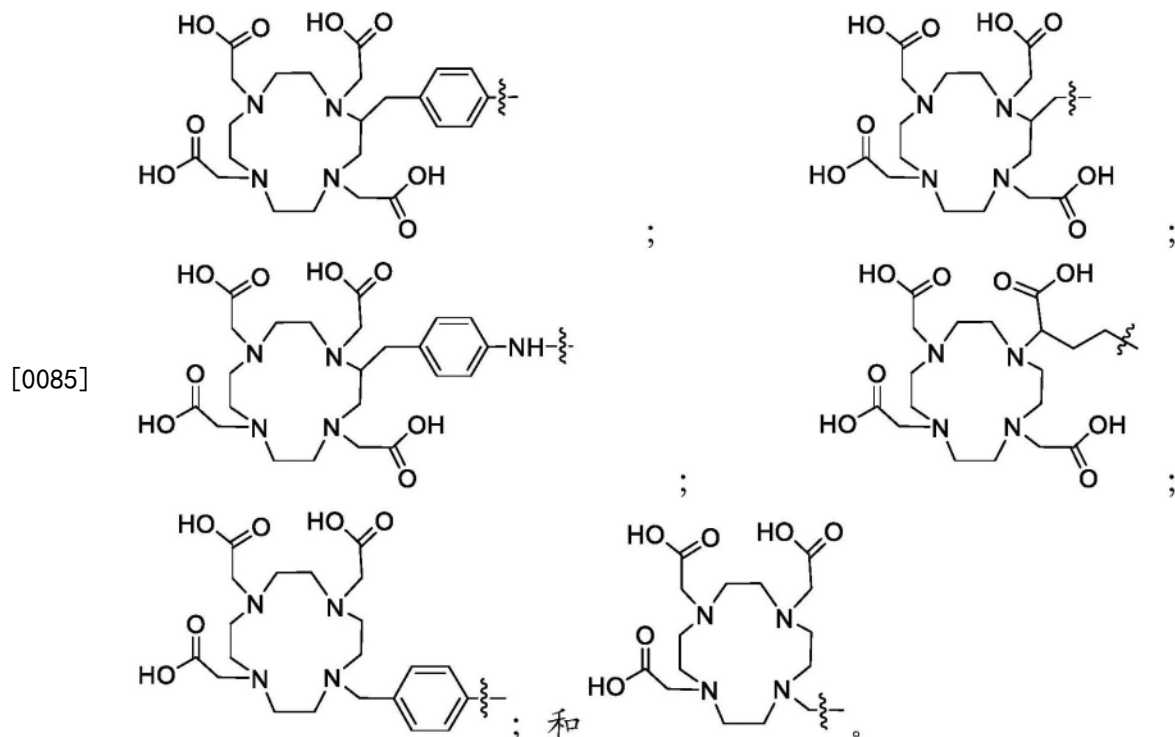
更多种) 活性剂用于治疗例如单一的疾病状态。如本文使用的, 活性剂可以以单一剂型被组合和施用, 可以同时作为单独的剂型被施用, 或可以作为在相同或分开的日子交替地或顺序地施用的单独的剂型被施用。在目前公开的主题的一个实施方案中, 活性剂以单一剂型被组合和施用。在另一个实施方案中, 活性剂以单独的剂型被施用 (例如, 其中合意的是改变一种剂型的量但不是另一种剂型的量)。单一剂型可以包括用于治疗疾病状态的另外的活性剂。

[0081] 在特定的实施方案中, R^1 选自由以下组成的组:



[0083] 其中 X 独立地是 Br 或 I。

[0084] 在更特定的实施方案中, 螯合剂选自由以下组成的组:

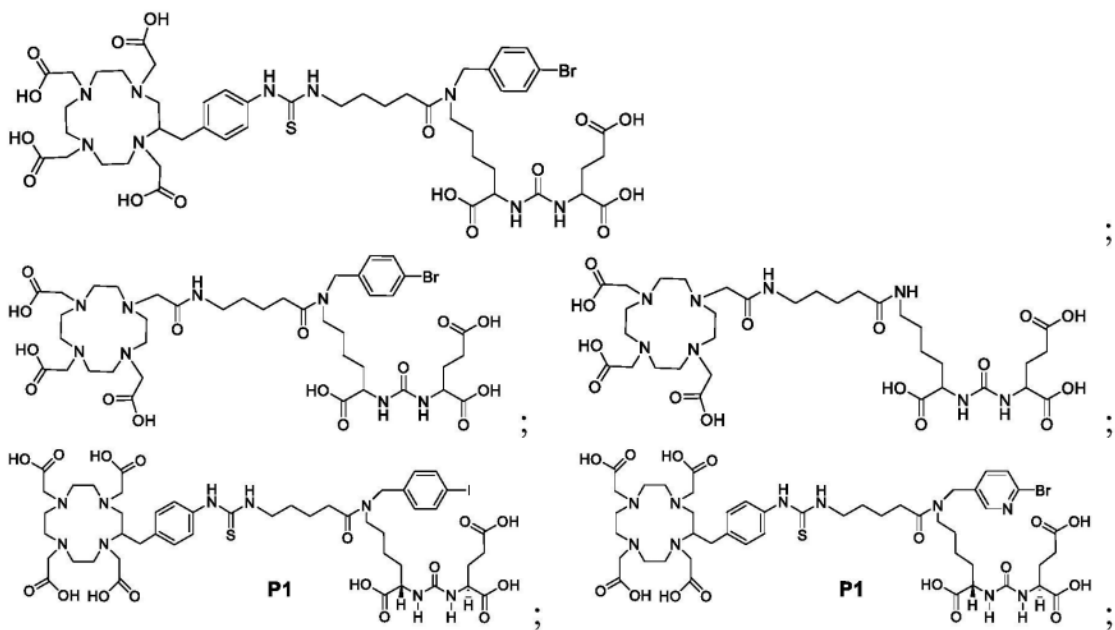


[0086] 又在更特定的实施方案中, 适合于放射疗法的放射性金属选自由以下组成的组:

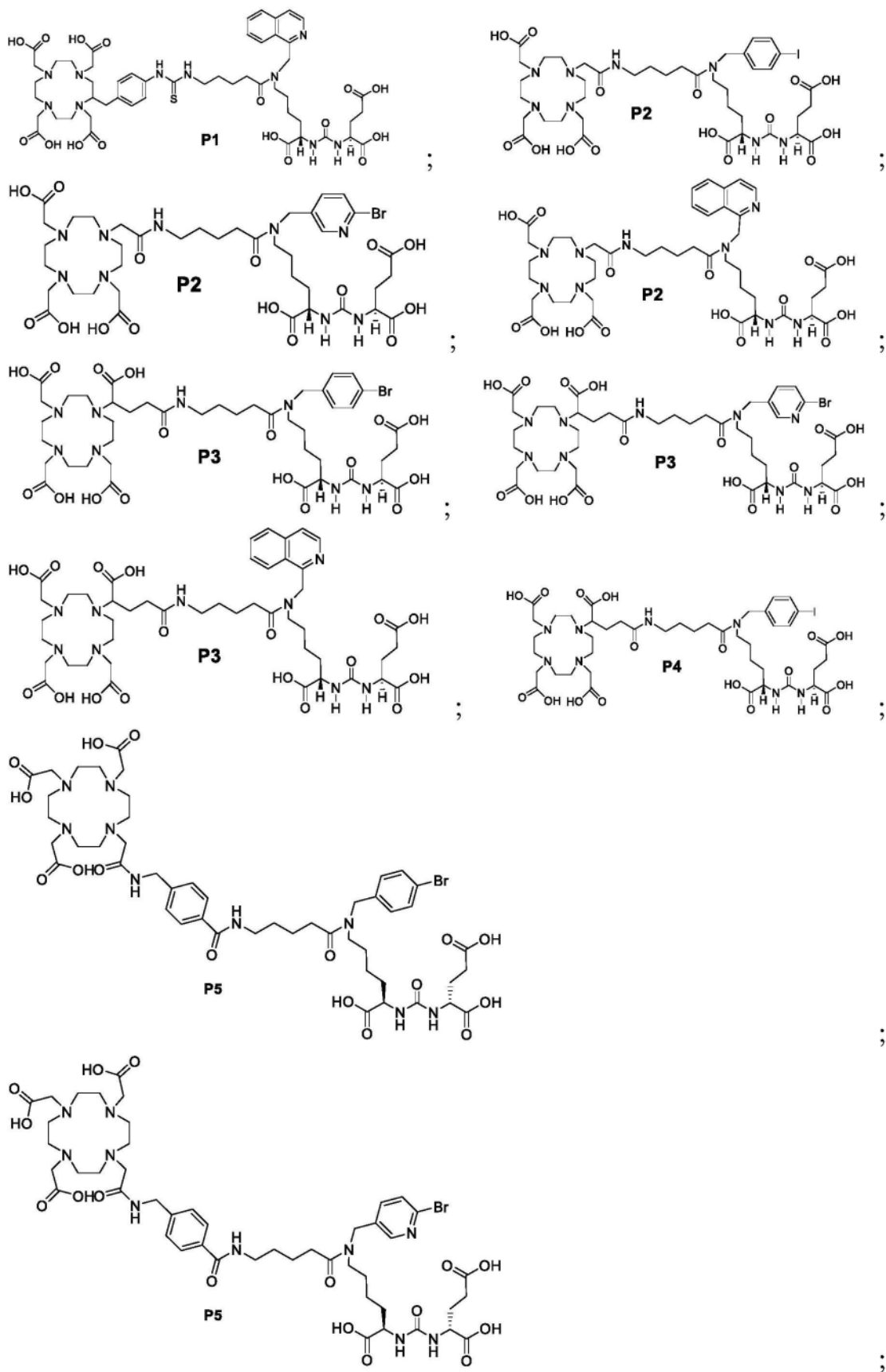
^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、 ^{111}In 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Pb 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、和 ^{67}Ga 。

[0087] 还在更特定的实施方案中, 式 (I) 的化合物选自由以下组成的组:

[0088]

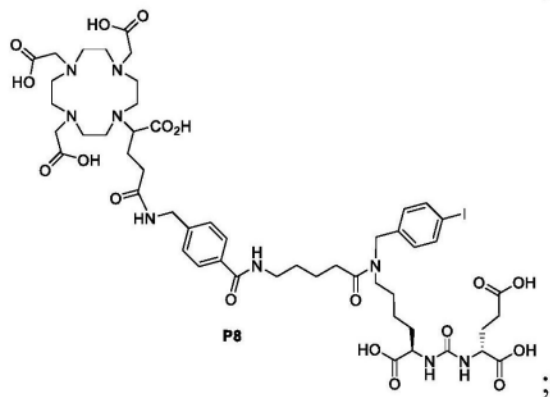


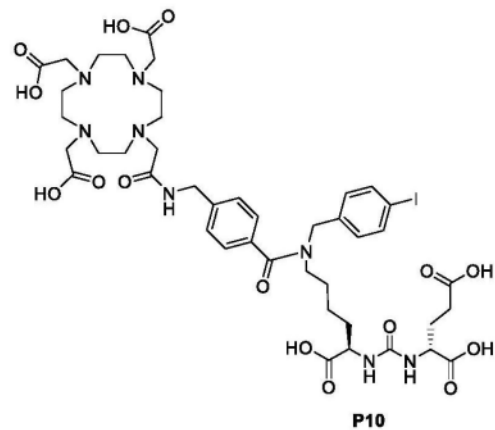
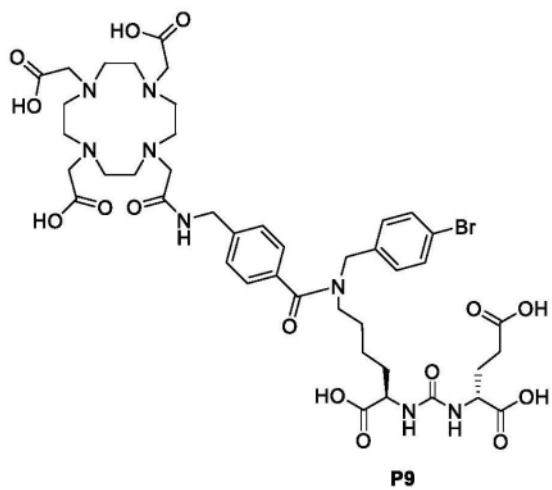
[0089]



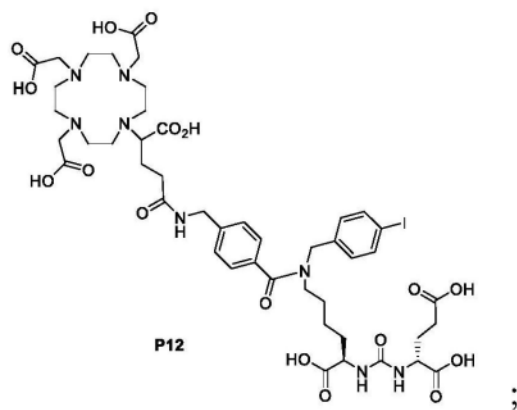
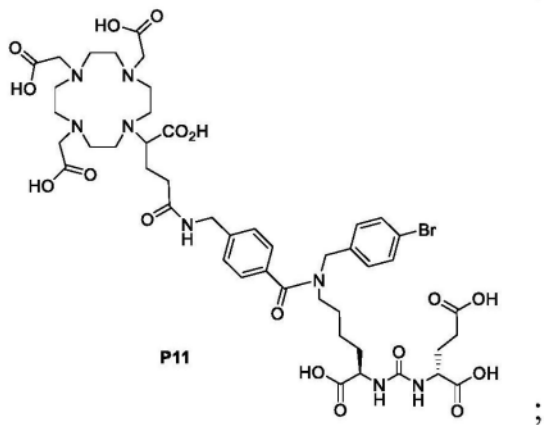
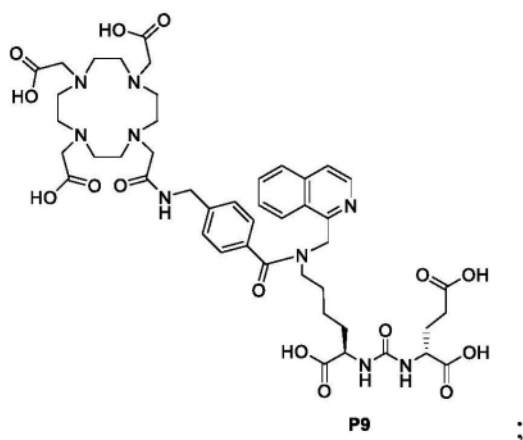
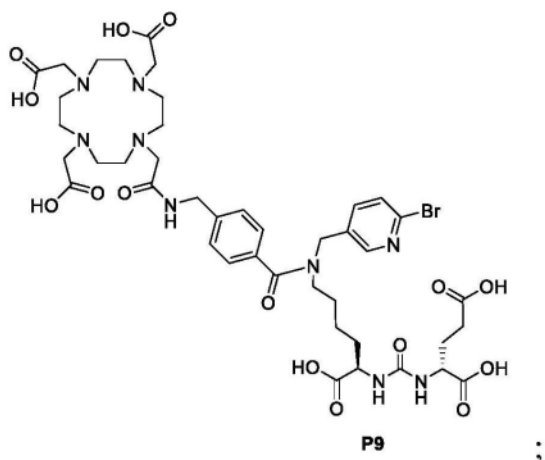
O=C(O)C(=O)N(CCCNC(=O)c1ccc(cc1)CNCCC(=O)NCCCCc2cc(Br)ncn2)C(=O)N3CC[C@@H](C(=O)O)[C@H](C(=O)O)N3

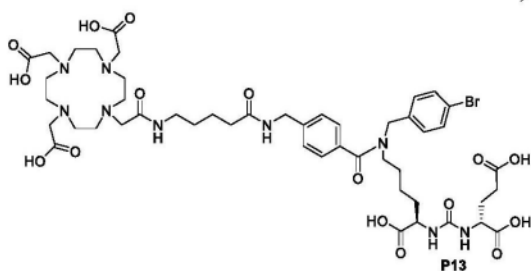
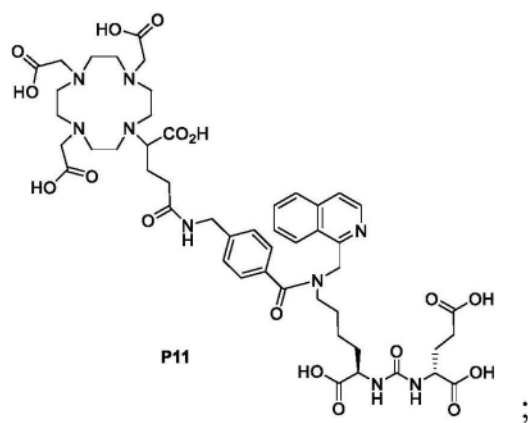
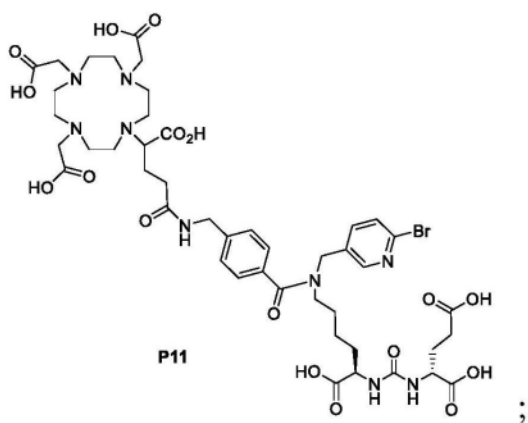
P7



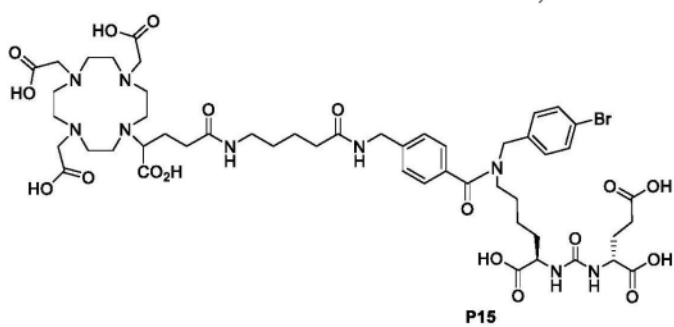
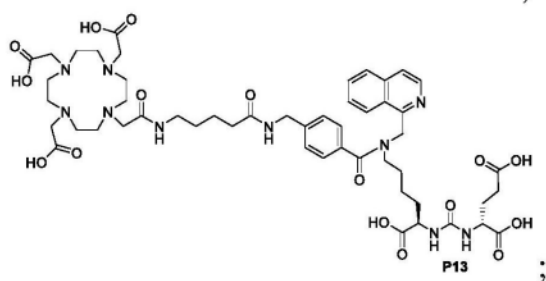
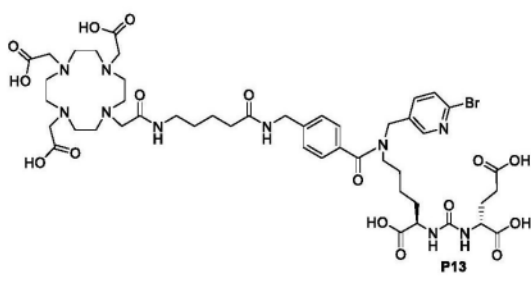
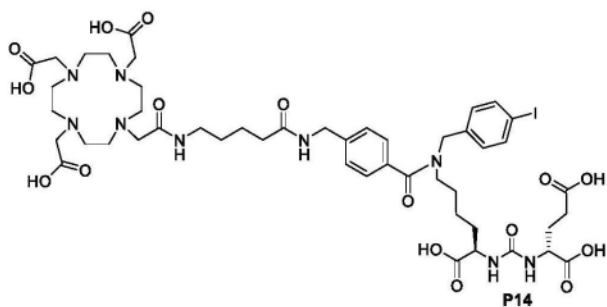


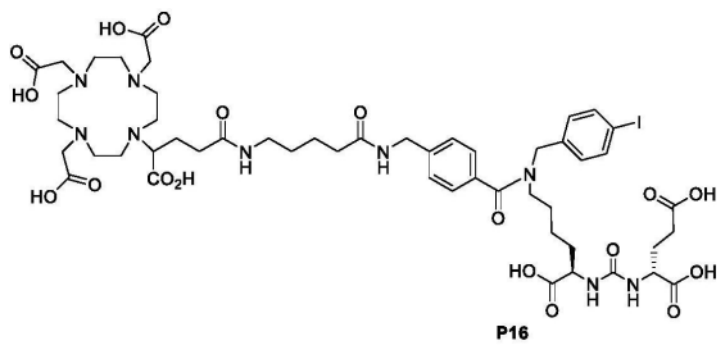
[0091]



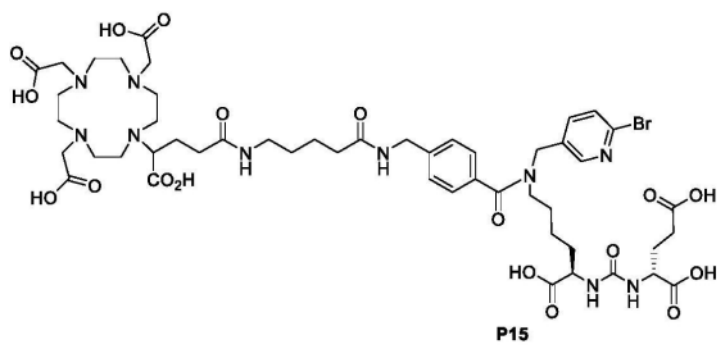


[0092]



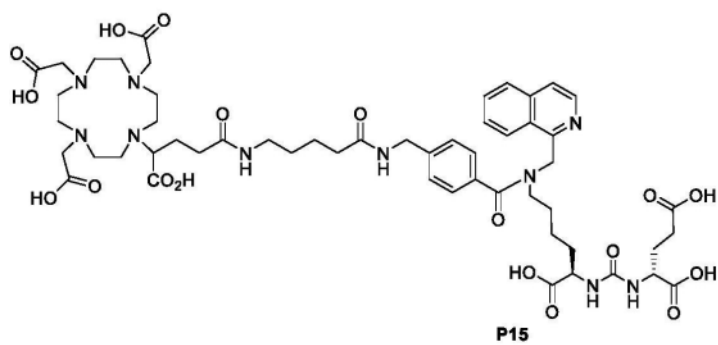


;

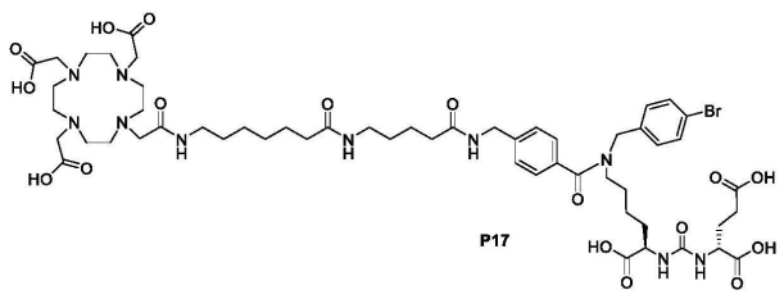


;

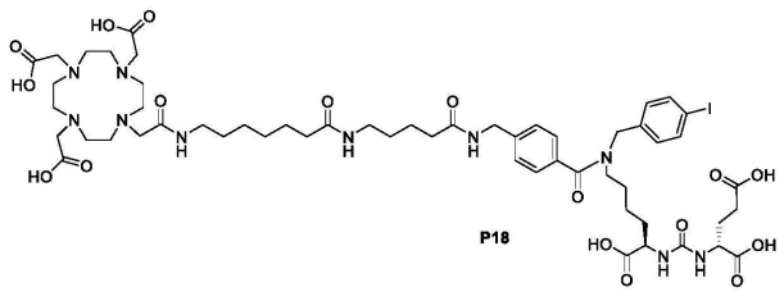
[0093]



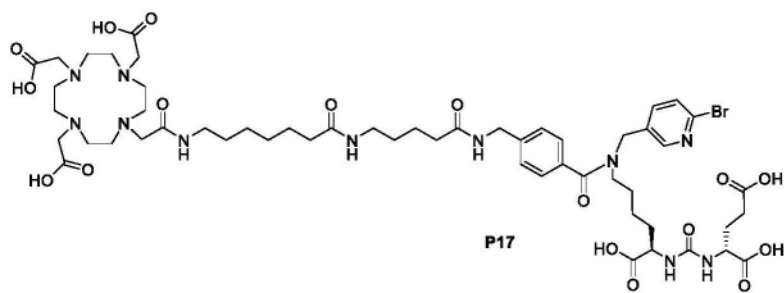
;



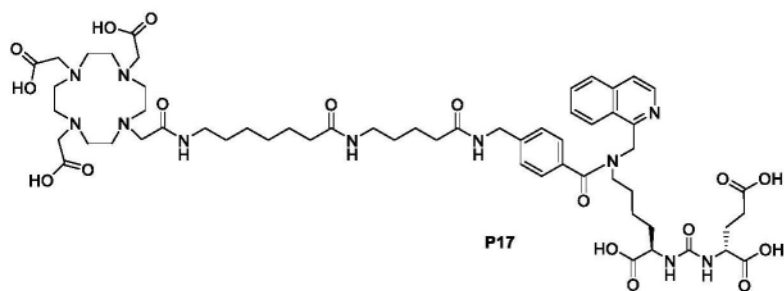
;



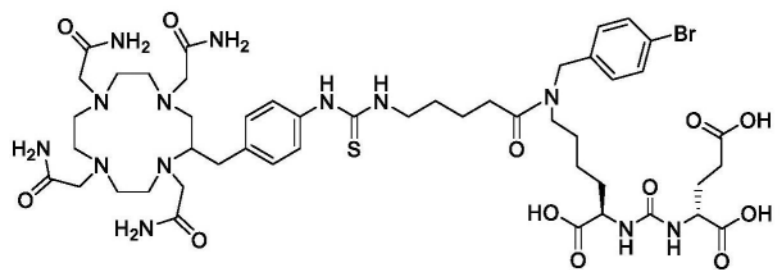
;



;

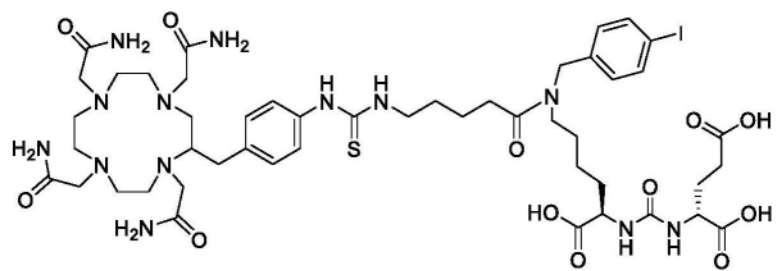


;

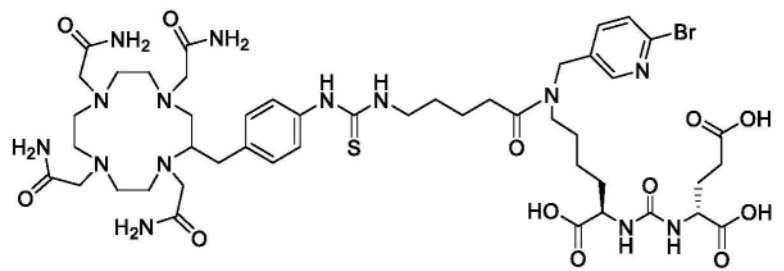


;

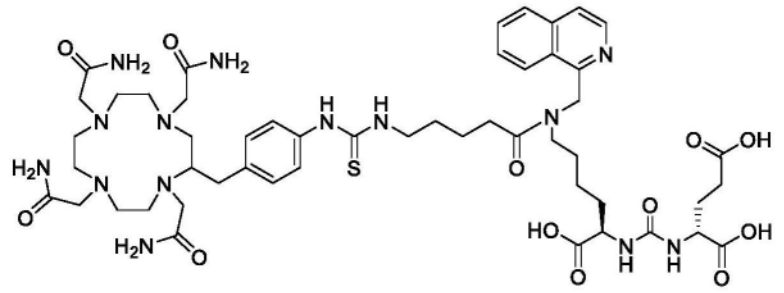
[0094]



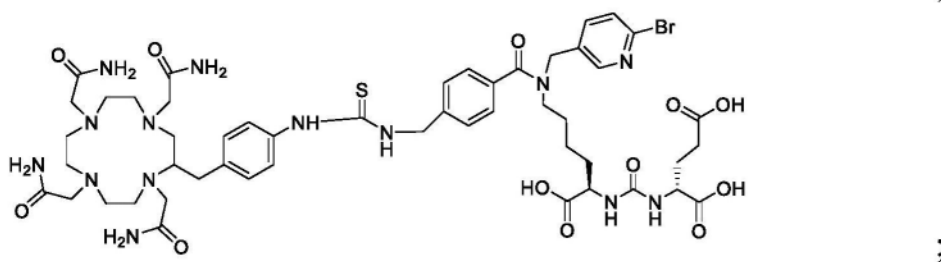
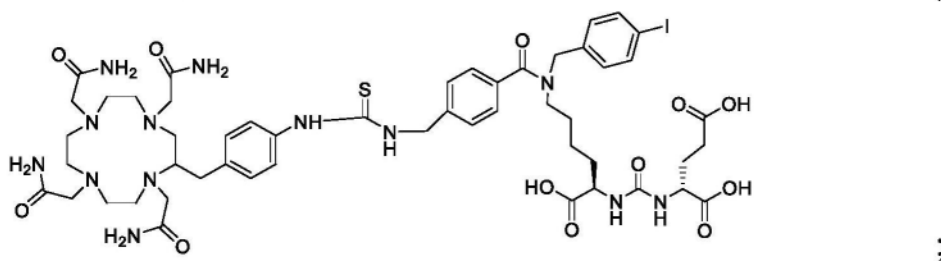
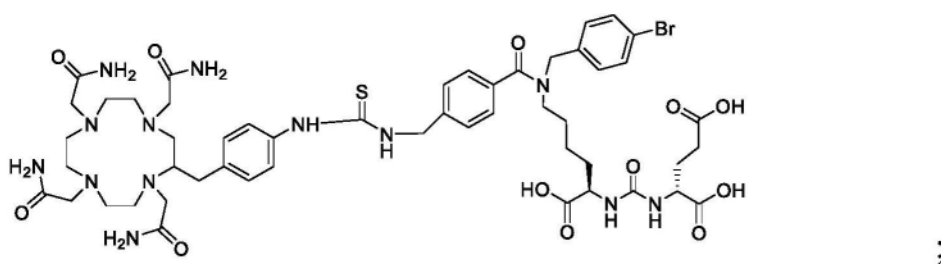
;



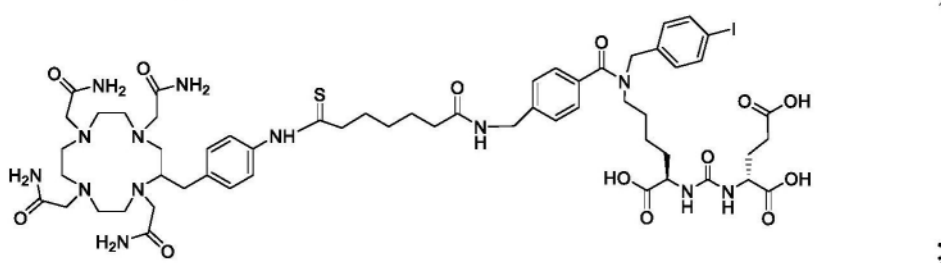
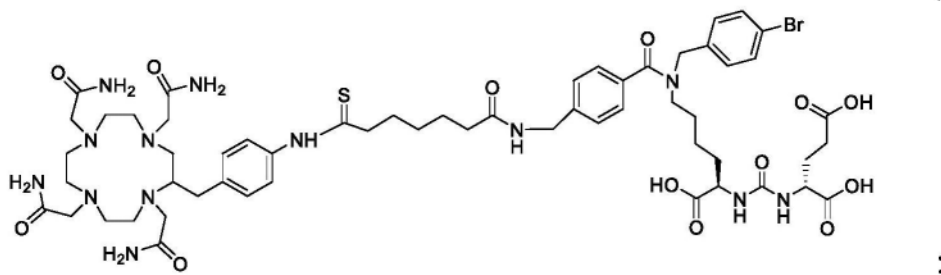
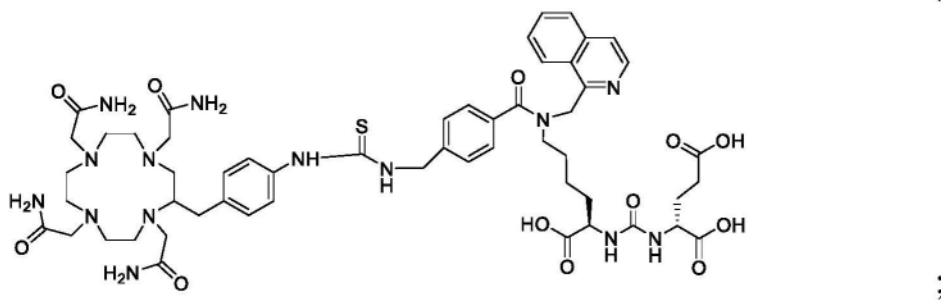
;

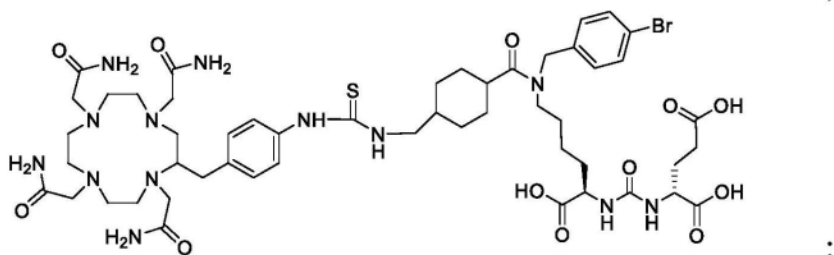
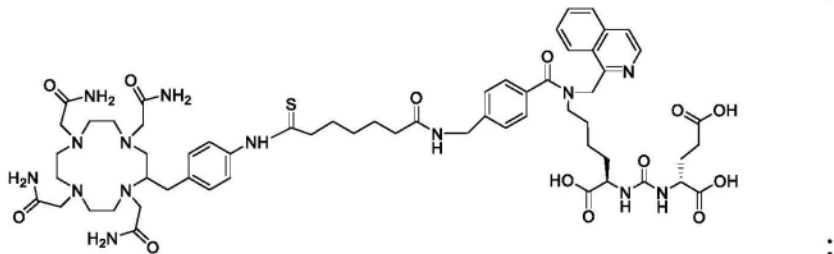
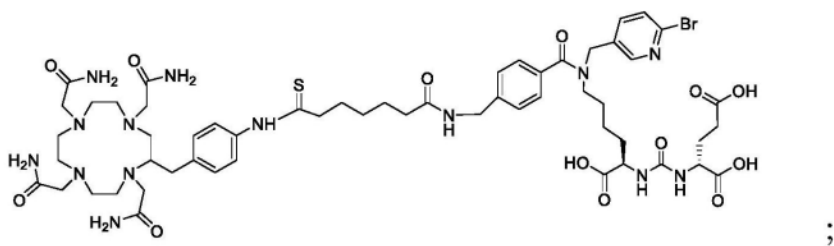


;

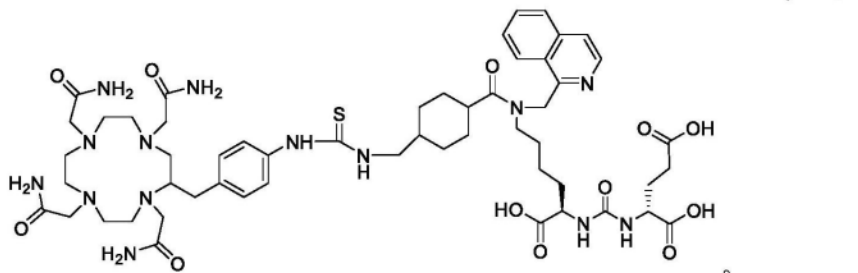
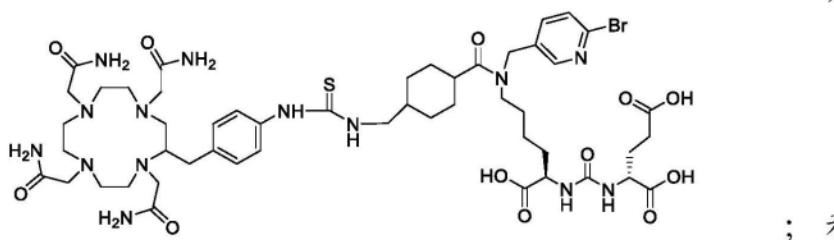
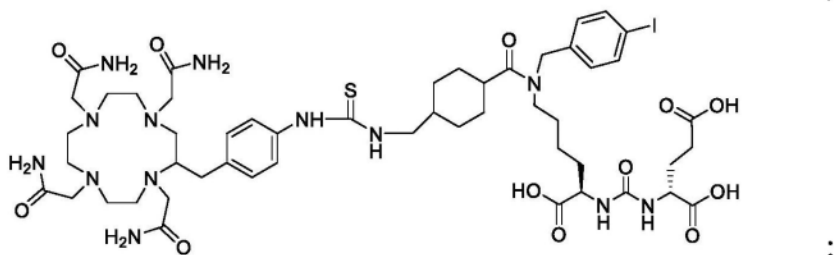


[0095]





[0096]



[0097] 在其他实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞选自由以下组成的组:前列腺肿瘤或细胞、转移的前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、成胶质细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、肉瘤、黑素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜铬细胞瘤、食管肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞、及其组合。在一些其他实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是前列腺肿瘤或细胞。

[0098] 在其他实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是体外、体内或离体的。

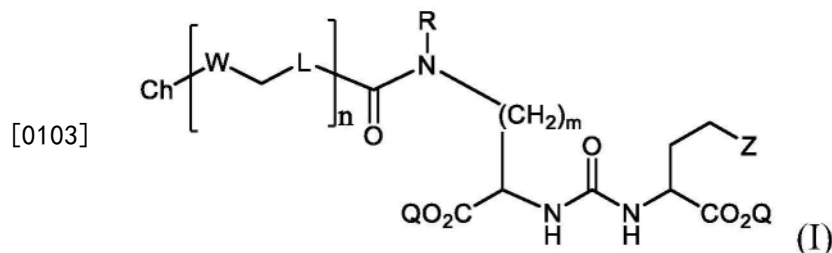
又在其他实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞存在于受试者中。

[0099] 通过目前公开的方法在其很多实施方案中治疗的受试者合意地是人类受试者,然而应当理解的是,本文描述的方法关于所有脊椎动物物种是有效的,所有脊椎动物物种意图被包括在术语“受试者”中。因此,“受试者”可以包括用于医学目的,诸如用于现存状况或疾病的治疗或用于防止状况或疾病的发作的预防性治疗的人类受试者,或用于医学目的、兽医目的或发育目的的动物(非人类)受试者。适合的动物受试者包括哺乳动物,哺乳动物包括但不限于,灵长类动物(primates),例如,人、猴、猿等;牛科动物(bovine),例如,家牛(cattle)、公牛(oxen)等;绵羊类(ovine),例如,绵羊(sheep)等;山羊类(caprine),例如,山羊(goat)等;猪类(porcines),例如,猪、肉猪(hogs)等;马科动物(equines),例如,马、驴、斑马等;猫科动物(feline),包括野生猫和家养猫;犬类(canine),包括狗;兔类动物(lagomorph),包括家兔、野兔等;和啮齿类动物(rodent),包括小鼠、大鼠等。动物可以是转基因动物。在一些实施方案中,受试者是人类,包括但不限于胎儿、新生儿、婴儿、少年和成年的受试者。此外,“受试者”可以包括患有或怀疑患有状况或疾病的患者。因此,术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。

[0100] 又在一些其他实施方案中,该方法导致肿瘤生长的抑制。

[0101] C. 使用式(I)的化合物用于成像一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞的方法

[0102] 在其他实施方案中,目前公开的主题提供了用于成像一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使有效量的式(I)的化合物接触一种或更多种肿瘤或细胞并制作图像,式(I)的化合物包括:



[0104] 其中:Z是四唑或 CO_2Q ;Q是H或保护基团;m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数;R独立地是H或 $-\text{CH}_2-\text{R}^1$;R¹选自由被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;L是选自由 C_1-C_6 亚烷基和 C_3-C_6 亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;W选自由 $-\text{NR}^2-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、和 $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ 组成的组;其中L和W的每次出现可以是相同的或不同的;R²是H或 C_1-C_4 烷基;n是选自由1、2和3组成的组的整数;Ch是螯合剂,其包含适合于成像的放射性金属;及其药学上可接受的盐。

[0105] D. 试剂盒

[0106] 又在其他实施方案中,目前公开的主题提供了包含式(I)的化合物的试剂盒。

[0107] 在某些实施方案中,试剂盒提供了包含药学上可接受的载体和本发明的化合物的包装的药物组合物。在某些实施方案中,包装的药物组合物将包含在与放射性标记的前体组合后产生本发明的化合物所必需的反应前体。由本发明提供的其他的包装的药物组合物还包括标记(indicia),所述标记包括以下中的至少一种:用于由供应的前体制备根据本发明的化合物的使用说明、用于使用组合物来成像表达PSMA的细胞或组织的使用说明、或用于使用组合物来成像患有应激相关的紊乱的患者中的谷氨酸神经传递的使用说明、或用于

使用组合物来成像前列腺癌的使用说明。

[0108] E. 药物组合物和施用

[0109] 在另一个方面中,本公开内容提供了药物组合物,所述药物组合物包含单独的式(I)的化合物或与一种或更多种另外的治疗剂和药学上可接受的赋形剂混合物组合的式(I)的化合物。本领域技术人员将认识到,药物组合物包含上文描述的化合物的药学上可接受的盐。药学上可接受的盐通常是本领域普通技术人员熟知的,并且包括用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐,这取决于在本文描述的化合物上发现的特定的取代基部分。当本公开内容的化合物包含相对酸性的官能团时,碱加成盐(base addition salt)可以通过使中性形式的这样的化合物与纯的或在适合的惰性溶剂中的或通过离子交换的、足够量的期望的碱接触来获得,从而在离子络合物中的一种碱性抗衡离子(碱)被另一种替代。药学上可接受的碱加成盐的实例包括钠、钾、钙、铵、有机氨基或镁盐,或类似的盐。

[0110] 当本公开内容的化合物包含相对碱性的官能团时,通过使中性形式的这样的化合物与纯的或在适合的惰性溶剂中的或通过离子交换的、足够量的期望的酸接触可以获得酸加成盐(acid addition salt),从而在离子络合物中的一种酸性抗衡离子(酸)被另一种替代。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自以下无机酸的那些:如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸(monohydrogencarbonic)、磷酸、一氢磷酸(monohydrogenphosphoric)、二氢磷酸(dihydrogenphosphoric)、硫酸、一氢硫酸(monohydrogensulfuric)、氢碘酸或亚磷酸及类似物,以及衍生自以下相对无毒的有机酸的盐:如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲基磺酸及类似物。还包括的是氨基酸诸如精氨酸及类似物的盐,以及有机酸如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸及类似物的盐(参见,例如,Berge等人,“Pharmaceutical Salts”,*Journal of Pharmaceutical Science*,1977,66,1-19)。本公开内容的某些特定的化合物包含碱性官能团和酸性官能团两者,其允许化合物被转化为碱加成盐或酸加成盐。

[0111] 因此,适合于与目前公开的主题使用的药学上可接受的盐包括,例如,但不限于,乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙、樟脑磺酸盐(carbonylate)、碳酸盐、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酰基氨基苯吡酸盐、己基间苯二酚盐、海巴明、氢溴酸盐、盐酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、扑酸盐(双羟萘酸盐)、泛酸盐、磷酸盐/二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、鞣酸盐、酒石酸盐或茶氯酸盐。其他药学上可接受的盐可以在例如Remington:*The Science and Practice of Pharmacy*(第20版)Lippincott,Williams&Wilkins(2000)中找到。在治疗和/或诊断应用中,本公开内容的化合物可以被配制用于多种施用模式,包括全身施用及局部施用或局部施用。技术和制剂通常可以在Remington:*The Science and Practice of Pharmacy*(第20版)Lippincott,Williams&Wilkins(2000)中找到。

[0112] 取决于被治疗的具体状况,这样的剂可以被配制为液体剂型或固体剂型并且被全身施用或局部施用。剂可以例如,以如本领域技术人员已知的时间-或持续-缓慢释放形式被递送。用于配制和施用的技术可以在Remington:*The Science and Practice of Pharmacy*(第20版)Lippincott,Williams&Wilkins(2000)中找到。适合的途径可以包括口

服、含服、通过吸入喷雾、舌下、直肠、经皮、阴道、经粘膜、经鼻或肠施用；肠胃外递送，包括肌内、皮下、髓内注射、以及鞘内、直接心室内、静脉内、关节内、胸内、滑膜内、肝内、病灶内、颅内、腹腔内、鼻内或眼内注射或其他递送模式。

[0113] 对于注射，本公开内容的剂可以在水溶液中，诸如在生理学上兼容的缓冲液诸如汉克氏溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液中配制和稀释。对于这样的经粘膜施用，适于待被渗透的屏障的渗透剂用于制剂中。这样的渗透剂通常是本领域已知的。

[0114] 使用药学上可接受的惰性载体以将用于实践本公开内容的本文公开的化合物配制成适合于全身施用的剂量在本公开内容的范围内。在适当选择载体和适合的制造实践的情况下，本公开内容的组合物，特别地被配制为溶液的那些组合物，可以被肠胃外施用，诸如通过静脉内注射。化合物可以使用本领域熟知的药学上可接受的载体容易地被配制成适合于口服施用的剂量。这样的载体能够使得本公开内容的化合物被配制为片剂、丸剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液及类似物，用于由待治疗的受试者（例如，患者）口服摄入。

[0115] 对于经鼻或吸入递送，本公开内容的剂还可以通过本领域技术人员已知的方法来配制，并且可以包括，例如，但不限于，增溶、稀释、或分散物质的实例，诸如盐水；防腐剂诸如苄醇；吸收促进剂；和碳氟化合物。

[0116] 适合于在本公开内容中使用的药物组合物包括其中活性成分以实现其预期目的的有效量被包含的组合物。有效量的确定完全在本领域技术人员的能力内，特别是根据本文提供的详细公开内容。通常，根据本公开内容的化合物在宽的剂量范围内是有效的。例如，在治疗成年人中，每天从0.01mg至1000mg、从0.5mg至100mg、从1mg至50mg和每天从5mg至40mg的剂量是可以使用的剂量的实例。非限制性剂量是每天10mg至30mg。确切的剂量将取决于施用的途径、其中化合物被施用的形式、待被治疗的受试者、待被治疗的受试者的体重、化合物的生物利用度，化合物的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）毒性，以及主治医师的偏好和经验。

[0117] 除了活性成分以外，这些药物组合物可以包含含有有助于将活性化合物加工成可以被药学上使用的制剂的赋形剂和助剂的适合的药学上可接受的载体。用于口服施用配制的制剂可以呈片剂、糖衣丸、胶囊或溶液的形式。

[0118] 用于口服用途的药物制剂可以通过以下获得：将活性化合物与固体赋形剂组合，任选地研磨产生的混合物，并且如果期望在添加适合的助剂之后加工颗粒的混合物，以获得片剂或糖衣丸芯。适合的赋形剂是，特别地填充剂诸如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇；纤维素制品，例如，玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素（CMC）钠和/或聚乙烯吡咯烷酮（PVP：聚维酮）。如果期望，可以添加崩解剂，诸如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或海藻酸或其盐诸如海藻酸钠。

[0119] 糖衣丸芯被设置有适合的涂层。为了此目的，可以使用浓缩的糖溶液，其可以任选地包含阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝胶、聚乙二醇（PEG）和/或二氧化钛、漆溶液和适合的有机溶剂或溶剂混合物。染料或颜料可以被添加至片剂或糖衣丸涂层用于识别或表征活性化合物剂量的不同组合。

[0120] 可以口服使用的药物制品包括由明胶制成的推入配合胶囊，以及由明胶和增塑剂，诸如甘油或山梨醇制成的软的密封胶囊。推入配合胶囊可以包含与填充剂诸如乳糖，粘

合剂诸如淀粉和/或润滑剂诸如滑石或硬脂酸镁和任选的稳定剂混合的活性成分。在软胶囊中,活性化合物可以被溶解或悬浮在适合的液体,诸如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇(PEG)中。此外,可以添加稳定剂。

[0121] II.一般定义

[0122] 尽管本文中采用了特定术语,但它们仅用于一般的和描述性的意义,而非用于限制的目的。除非另有定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与由目前描述的主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0123] 尽管关于式(I)的化合物的以下术语被认为是本领域普通技术人员充分理解的,但是阐述以下定义以有助于解释目前公开的主题。这些定义意图补充和说明,而非排除在回顾本公开内容后对本领域普通技术人员将明显的定义。

[0124] 如本文使用的,术语被取代的,不管前面有术语“任选地”或没有,以及取代基,指的是将分子上的一种官能团改变成另一种官能团的能力,如本领域技术人员理解的,条件是所有原子的化合价被保持。当在任何给定的结构中多于一个位置可以被选自指定的基团的多于一个取代基取代时,所述取代基可以在每个位置处是相同的或不同的。取代基还可以被进一步取代(例如,芳基基团取代基可以具有远离它的另外的取代基,诸如另外的芳基基团,该另外的芳基基团在一个或更多个位置处被进一步取代)。

[0125] 在取代基基团或连接基团通过它们从左至右书写的常规化学式被指定的情况下,它们同样涵盖将由从右至左书写结构得到的化学上相同的取代基,例如, $-\text{CH}_2\text{O}-$ 等同于 $-\text{OCH}_2-$; $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 等同于 $-\text{OC}(=\text{O})-$; $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 等同于 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$,及类似物。

[0126] 当使用术语“独立地选自”时,提及的取代基(例如,R基团诸如基团 R_1 、 R_2 及类似物,或变量,诸如“m”和“n”)可以是相同的或不同的。例如, R_1 和 R_2 两者可以是取代的烷基,或者 R_1 可以是氢并且 R_2 可以是取代的烷基,及类似物。

[0127] 当关于在本文中的取代基的基团被使用时,术语“a(—)”、“an(—)”或“a(n)(—)”意指至少一个。例如,在化合物被“an(—)”烷基或芳基取代的情况下,化合物任选地被至少一个烷基和/或至少一个芳基取代。此外,在部分被R取代基取代的情况下,该基团可以被称为“R-取代的”。在部分是R-取代的情况下,该部分被至少一个R取代基取代并且每个R取代基任选地是不同的。

[0128] 被命名的“R”或基团通常将具有在本领域中被认为对应于具有该名称的基团的结构,除非在本文中另有指定。为了说明的目的,如上文阐述的某些代表性的“R”基团在下文中被定义。

[0129] 本公开内容的化合物的描述受本领域技术人员已知的化学结合的原理的限制。因此,在基团可以被许多取代基中的一个或更多个取代的情况下,选择这样的取代以便符合化学结合的原理,并且给出并非固有地不稳定的和/或对于本领域普通技术人员将已知在环境条件,诸如水性、中性和若干已知的生理条件下可能不稳定的化合物。例如,杂环烷基或杂芳基经由环杂原子依照本领域技术人员已知的化学结合的原理被附接至分子的剩余部分,从而避免固有地不稳定的化合物。

[0130] 除非另有明确地定义,否则如本文使用的“取代基基团”包括在本文中定义的选自以下部分中的一种或更多种的官能团。

[0131] 如本文使用的,术语烃(hydrocarbon)指的是包含氢和碳的任何化学基团。烃可以

是被取代的或未被取代的。如本领域技术人员将已知的,在进行任何取代时必须满足所有化合价。烃可以是不饱和的、饱和的、支链的、无支链的、环状的、多环的或杂环的。说明性的烃还在本文下文中被定义并且包括,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、烯丙基、乙烯基、正丁基、叔丁基、乙炔基、环己基、及类似物。

[0132] 除非另有陈述,否则术语“烷基”本身或作为另一个取代基的一部分意指直链的(即,无支链的)或支链的、无环的或环状的烃基团或其组合,其可以是完全饱和的、单不饱和的或多不饱和的并且可以包括二价基团和多价基团,具有指定的碳原子的数目(即, C_1-C_{10} 意指一个至十个碳,包括1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个和10个碳)。在特定的实施方案中,术语“烷基”指的是 C_{1-20} (包括 C_1 和 C_{20}),包括1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、和20个碳的线性(即,“直链”)、支链的或环状的、饱和的或至少部分不饱和的且在一些情况下完全不饱和的(即,烯基和炔基)烃基团,所述烃基团通过去除单个氢原子衍生自包含1个和20个碳原子之间的烃部分。

[0133] 代表性的饱和烃基团包括,但不限于,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、新戊基、正己基、仲己基、正庚基、正辛基、正癸基、正十一烷基、十二烷基、环己基、(环己基)甲基、环丙基甲基、及其同系物和异构体。

[0134] “支链的”指的是其中低级烷基基团,诸如甲基、乙基或丙基被附接至线性烷基链的烷基基团。“低级烷基”指的是具有1个至约8个碳原子,例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个碳原子的烷基基团(即, C_{1-8} 烷基)。“高级烷基”指的是具有约10个至约20个碳原子,例如,10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个碳原子的烷基基团。在某些实施方案中,“烷基”特别地指的是 C_{1-8} 直链烷基。在其他实施方案中,“烷基”特别地指的是 C_{1-8} 支链烷基。

[0135] 烷基基团可以任选地被一个或更多个烷基基团取代基取代(“被取代的烷基”),所述烷基基团取代基可以是相同的或不同的。术语“烷基基团取代基”包括但不限于烷基、被取代的烷基、卤代、芳基氨基、酰基、羟基、芳氧基、烷氧基、烷基硫代、芳基硫代、芳基烷基氧基、芳基烷基硫代、羧基、烷氧基羰基、氧代和环烷基。可以沿着烷基链任选地插入一个或更多个氧、硫、或被取代的或未被取代的氮原子,其中氮取代基是氢、低级烷基(在本文中也称为“烷基氨基烷基”)、或芳基。

[0136] 因此,如本文使用的,术语“被取代的烷基”包括如本文定义的烷基基团,其中烷基基团的一个或更多个原子或官能团被另一个原子或官能团替代,所述另一个原子或官能团包括例如,烷基、被取代的烷基、卤素、芳基、被取代的芳基、烷氧基、羟基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、硫酸酯基(sulfate)和巯基。

[0137] 除非另有陈述,否则术语“杂烷基”本身或与另一个术语组合意指由至少一个碳原子和至少一个杂原子组成的、稳定的直链的或支链的、或环状烃基团、或其组合,所述至少一个杂原子选自O、N、P、Si和S组成的组,并且其中氮原子、磷原子和硫原子可以任选地被氧化并且氮杂原子可以任选地被季铵化。杂原子O、N、P和S和Si可以被放置在杂烷基基团的任何内部位置或者被放置在其中烷基基团被附接至分子的剩余部分处的位置。实例包括但不限于 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ 、 $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-Si(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、 $-CH=CH-N$

(CH₃)-CH₃、O-CH₃、-O-CH₂-CH₃、和-CN。多达两个或三个杂原子可以是连续的,诸如例如,-CH₂-NH-OCH₃和-CH₂-O-Si(CH₃)₃。

[0138] 如上文描述的,如本文使用的杂烷基基团包括通过杂原子被附接至分子的剩余部分的那些基团,诸如-C(O)NR'、-NR'R'、-OR'、-SR、-S(O)R、和/或-S(O₂)R'。在叙述“杂烷基”,随后叙述具体的杂烷基基团(诸如-NR'R或类似物)的情况下,将理解,术语杂烷基和-NR'R'不是冗余的或相互排斥的。而是,叙述具体的杂烷基基团以增加清楚性。因此,术语“杂烷基”在本文中不应该被解释为排除具体的杂烷基基团,诸如-NR'R'或类似物。

[0139] “环状的”和“环烷基”指的是约3个至约10个碳原子,例如,3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个碳原子的非芳香族单环环体系或多环环体系。环烷基基团可以任选地是部分不饱和的。环烷基基团还可以任选地被如本文定义的烷基基团取代基、氧代和/或亚烷基取代。可以沿着环状烷基链任选地插入一个或更多个氧、硫、或被取代的或未被取代的氮原子,其中氮取代基是氢、未被取代的烷基、被取代的烷基、芳基或被取代的芳基,由此提供杂环基团。代表性的单环环烷基环包括环戊基、环己基和环庚基。多环环烷基环包括金刚烷基、八氢萘基、十氢萘、樟脑、蒎烷和正金刚烷基、以及稠合的环体系,诸如二氢萘和四氢萘,及类似物。

[0140] 如本文使用的术语“环烷基烷基”指的是如上文定义的环境基基团,其通过也如上文定义的烷基基团被附接至母体分子部分。环烷基烷基基团的实例包括环丙基甲基和环戊基乙基。

[0141] 术语“环杂烷基”或“杂环烷基”指的是包括一个或更多个杂原子的非芳香族环体系、不饱和的或部分不饱和的环体系,诸如3元至10元被取代的或未被取代的环烷基环体系,并且任选地可以包括一个或更多个双键,所述杂原子可以是相同的或不同的并且选自氮(N)、氧(O)、硫(S)、磷(P)和硅(Si)组成的组。

[0142] 环杂烷基环可以任选地被稠合至或以其他方式被附接至其他环杂烷基环和/或非芳香族烃环。杂环状环包括具有从1个至3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的那些环,其中氮和硫杂原子可以任选地被氧化,并且氮杂原子可以任选地被季铵化。在某些实施方案中,术语杂环指的是非芳香族5元环、6元环或7元环或多环基团,其中至少一个环原子是选自O、S和N的杂原子(其中氮和硫杂原子可以任选地被氧化),包括,但不限于,双环基团或三环基团,包括具有在一个和三个之间独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合的六元环,其中(i)每个5元环具有0个至2个双键,每个6元环具有0个至2个双键,并且每个7元环具有0个至3个双键,(ii)氮和硫杂原子可以任选地被氧化,(iii)氮杂原子可以任选地被季铵化,以及(iv)任何上文的杂环状环可以被稠合至芳基环或杂芳基环。代表性的环杂烷基环体系包括,但不限于吡咯烷基、吡咯啉基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡唑烷基、吡唑啉基、哌啶基、哌嗪基、二氢吲哚基、奎宁环基、吗啉基、硫代吗啉基、噻二嗪基、四氢呋喃基、及类似物。

[0143] 除非另有陈述,否则术语“环烷基”和“杂环烷基”本身或与其他术语组合分别表示“烷基”和“杂烷基”的环状形式。此外,对于杂环烷基,杂原子可以占据杂环被附接至分子的剩余部分处的位置。环烷基的实例包括,但不限于,环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基、及类似物。杂环烷基的实例包括,但不限于,1-(1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基、及类似物。术语“亚环烷基”和“杂亚环烷基”分

别指的是环烷基和杂环烷基的二价衍生物。

[0144] 不饱和的烷基基团是具有一个或更多个双键或三键的烷基基团。不饱和的烷基基团的实例包括,但不限于,乙烯基、2-丙烯基、丁烯基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-丙炔基和3-丙炔基、3-丁炔基、以及更高级的同系物和异构体。限于烃基团的烷基基团被称为“同烷基(homoalkyl)”。

[0145] 更特别地,如本文使用的术语“烯基”指的是通过去除单个氢分子具有至少一个碳-碳双键的衍生自 C_{1-20} (包括 C_1 和 C_{20})的直链或支链烃部分的单价基团。烯基基团包括,例如,乙烯基(即,乙烯基(vinyl))、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、戊烯基、己烯基、辛烯基、丙二烯基和丁二烯基。

[0146] 如本文使用的术语“环烯基”指的是包含至少一个碳-碳双键的环状烃。环烯基基团的实例包括环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环戊二烯、环己烯基、1,3-环己二烯、环庚烯基、环庚三烯基和环辛烯基。

[0147] 如本文使用的术语“炔基”指的是包含至少一个碳-碳三键的衍生自指定的碳原子数目的直链或支链的 C_{1-20} 烃的单价基团。“炔基”的实例包括乙炔基基团、2-丙炔基(炔丙基)基团、1-丙炔基基团、戊炔基基团、己炔基基团、和庚炔基基团、及类似物。

[0148] 术语“亚烷基”本身或作为另一个取代基的一部分指的是衍生自具有从1个至约20个碳原子的烷基基团的直链或支链的二价脂肪族烃基团,所述从1个至约20个碳原子例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个碳原子。亚烷基基团可以是直链、支链或环状的。亚烷基基团还可以任选地是不饱和的和/或被一个或更多个“烷基基团取代基”取代。可以沿着亚烷基基团任选地插入一个或更多个氧、硫或被取代的或未被取代的氮原子(在本文中也称为“烷基氨基烷基”),其中氮取代基是如先前描述的烷基。示例性的亚烷基基团包括亚甲基($-\text{CH}_2-$);乙烯($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$);丙烯($-(\text{CH}_2)_3-$);亚环己基($-\text{C}_6\text{H}_{10}-$); $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CsCCH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; $-(\text{CH}_2)_q-\text{N}(\text{R})-(\text{CH}_2)_r-$,其中q和r中的每个独立地是从0至约20的整数,例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20,并且R是氢或低级烷基;亚甲基二氧基($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$);和亚乙基二氧基($-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-$)。亚烷基基团可以具有约2个至约3个碳原子并且还可以具有6个-20个碳。典型地,烷基(或亚烷基)基团将具有从1个至24个碳原子,其中具有10个或更少碳原子的那些基团是本公开内容的一些实施方案。“低级烷基”或“低级亚烷基”是较短链的烷基基团或亚烷基基团,通常具有8个或更少的碳原子。

[0149] 术语“杂亚烷基”本身或作为另一个取代基的一部分意指衍生自杂烷基的二价基团,作为例示,但不限于, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。对于杂亚烷基基团,杂原子还可以占据链末端的任一个或两个(例如,亚烷基氧代、亚烷基二氧代、亚烷基氨基、亚烷基二氨基、及类似物)。还另外地,对于亚烷基和杂亚烷基连接基团,连接基团的定向不暗示在其中连接基团的式被书写的方向。例如,式 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 表示 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 和 $-\text{R}'\text{OC}(\text{O})-$ 两者。

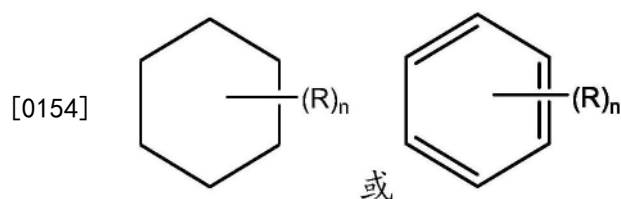
[0150] 除非另有陈述,否则术语“芳基”意指,可以是单环或被稠合在一起或共价地连接的多个环(诸如从1个至3个环)的芳香族烃取代基。术语“杂芳基”指的是包含从1个至4个选自N、O和S的杂原子(在多个环的情况下在每个单独的环中)的芳基基团(或环),其中氮原子

和硫原子任选地被氧化,并且氮原子任选地被季铵化。杂芳基基团可以通过碳或杂原子被附接至分子的剩余部分。芳基基团和杂芳基基团的非限制性实例包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯基-4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吡咯基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和6-喹啉基。用于上文提到的芳基和杂芳基环体系中的每个的取代基选自下文描述的可接受的取代基的组。术语“亚芳基”和“杂亚芳基”分别指的是芳基和杂芳基的二价形式。

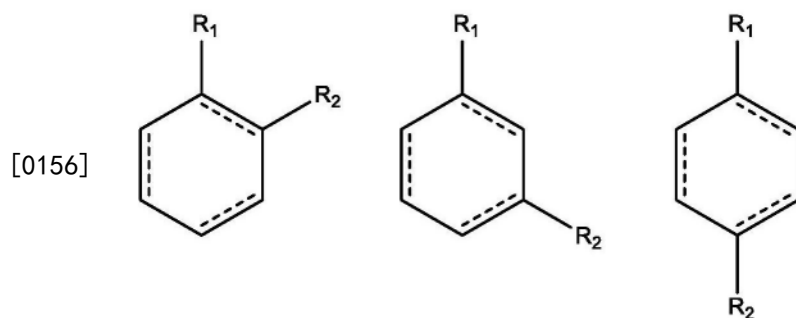
[0151] 为简洁起见,术语“芳基”在与其他术语组合使用时(例如,芳基氧基、芳基硫氧基、芳基烷基)包括如上文定义的芳基环和杂芳基环两者。因此,术语“芳基烷基”和“杂芳基烷基”意指包括其中芳基基团或杂芳基基团被附接至烷基基团的那些基团(例如,苄基、苯乙基、吡啶基甲基、呋喃基甲基及类似物),所述烷基基团包括其中碳原子(例如,亚甲基基团)已经被例如,氧原子替代的那些烷基基团(例如,苯氧基甲基、2-吡啶基氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基及类似物)。然而,如本文使用的术语“卤代芳基”意指仅覆盖被一个或更多个卤素取代的芳基。

[0152] 在杂烷基、杂环烷基或杂芳基包括特定数目的成员(例如“3元至7元”)的情况下,术语“成员”指的是碳或杂原子。

[0153] 此外,如本文使用的通常由下式表示的结构:



[0155] 指的是包含取代基R基团的环结构,例如,但不限于3-碳、4-碳、5-碳、6-碳、7-碳及类似的、脂肪族的和/或芳香族的环状化合物,包括饱和的环结构、部分饱和的环结构和不饱和的环结构,其中R基团可以存在或不存在,并且当存在时,一个或更多个R基团可以各自在环结构的一个或更多个可用的碳原子上被取代。R基团的存在或不存在以及R基团的数目通过变量“n”的值来确定,所述变量“n”是通常具有范围从0至环上可用于取代的碳原子的数目的值的整数。每个R基团,如果多于一个,在环结构的可用的碳上而不是在另一个R基团上被取代。例如,其中n是0至2的上文的结构将包括化合物组,所述化合物组包括但不限于:



[0157] 及类似物。

[0158] 表示环状环结构中的键的虚线指示,键可以存在或不存在于环中。即,表示环状环结构中的键的虚线指示,环结构选自由以下组成的组:饱和的环结构、部分饱和的环结构和不饱和的环结构。

[0159] 符号()指示部分与分子的剩余部分附接的点。

[0160] 当芳香族环或杂环芳香族环的被命名的原子被定义为“不存在”时,被命名的原子被直接键替代。

[0161] 上文的术语(例如,“烷基”、“杂烷基”、“环烷基”和“杂环烷基”、“芳基”、“杂芳基”、“膦酸酯基”和“磺酸酯基”以及它们的二价衍生物)中的每个意指包括指示的基团的被取代的和未被取代的形式两者。下文提供了用于每种类型的基团的任选的取代基。

[0162] 用于烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基单价衍生基团和二价衍生基团(包括通常被称为亚烷基、烯基、杂亚烷基、杂烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、环烯基和杂环烯基的那些基团)的取代基可以是以范围从零至 $(2m' + 1)$ 的数目的选自、但不限于以下的多种基团中的一种或更多种: $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、-卤素、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)OR'$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$,其中 m' 是这样的基团中的碳原子的总数。 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 各自可以独立地指的是氢、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基(例如,被1个-3个卤素取代的芳基)、被取代的或未被取代的烷基、烷氧基或硫代烷氧基基团、或芳基烷基基团。如本文使用的,“烷氧基”基团是通过二价氧被附接至分子的剩余部分的烷基。当本公开内容的化合物包括多于一个R基团时,例如,R基团中的每个是独立地选择的,正如每个 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 基团在多于一个的这些基团存在时那样。当 R' 和 R'' 被附接至相同的氮原子时,它们可以与氮原子组合以形成4元环、5元环、6元环或7元环。例如, $-NR'R''$ 意指包括,但不限于,1-吡咯烷基和4-吗啉基。从取代基的上文讨论中,本领域技术人员将理解,术语“烷基”意指包括包含结合至除了氢基团以外的基团的碳原子的基团,诸如卤代烷基(例如, $-CF_3$ 和 $-CH_2CF_3$)和酰基(例如, $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 及类似物)。

[0163] 类似于关于上文的烷基基团描述的取代基,用于芳基基团和杂芳基基团(以及它们的二价衍生物)的示例性取代基是变化的,并且以范围从零至芳香族环体系上开放化合价的总数的数目选自,例如:卤素、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-C(O)NR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)OR'$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 和 $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、氟代(C_1-C_4)烷氧代、以及氟代(C_1-C_4)烷基;并且其中 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 可以独立地选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基和被取代的或未被取代的杂芳基。当本公开内容的化合物包括多于一个R基团时,例如,R基团中的每个是独立地选择的,正如每个 R' 、 R'' 、 R''' 和 R'''' 基团在多于一个的这些基团存在时那样。

[0164] 芳基环或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地形成式 $-T-C(O)-(CRR')_q-U$ 的环,其中T和U独立地是 $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 或单键,并且q是从0至3的整数。可选

择地,芳基环或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被式-A-(CH₂)_r-B-的取代基替代,其中A和B独立地是-CRR'-、-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'-或单键,并且r是从1至4的整数。

[0165] 如此形成的新的环的单键中的一个可以任选地被双键替代。可选择地,芳基环或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被式-(CRR')_s-X'-(C''R'')_d-的取代基替代,其中s和d独立地是从0至3的整数,并且X'是-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-或-S(O)₂NR'-。取代基R、R'、R''和R'''可以独立地选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基、和被取代的或未被取代的杂芳基。

[0166] 如本文使用的,术语“酰基”指的是有机酸基团,其中羧基基团的-OH已经被另一个取代基替代并且具有通式RC(=O)-,其中R是如本文定义的烷基基团、烯基基团、炔基基团、芳基基团、碳环基团、杂环基团或芳香族杂环基团。因此,术语“酰基”特别地包括芳基酰基基团,诸如2-(呋喃-2-基)乙酰基基团和2-苯基乙酰基基团。酰基基团的具体实例包括乙酰基和苯甲酰基。酰基基团还意图包括酰胺,-RC(=O)NR'、酯,-RC(=O)OR'、酮,-RC(=O)R'和醛,-RC(=O)H。

[0167] 术语“烷氧基(alkoxy)”或“烷氧基(alkoxy)”在本文中可互换使用,并且指的是通过氧原子被附接至母体分子部分的饱和的(即,烷基-O-)或不饱和的(即,烯基-O-和炔基-O-)基团,其中术语“烷基”、“烯基”和“炔基”如先前描述的,并且可以包括C₁₋₂₀(包括C₁和C₂₀)的线性、支链的或环状的、饱和的或不饱和的氧化烃链,包括例如,甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基和正戊氧基、新戊氧基、正己氧基及类似物。

[0168] 如本文使用的术语“烷氧基烷基”指的是烷基-O-烷基醚,例如,甲氧基乙基基团或乙氧基甲基基团。

[0169] “芳基氧基”指的是芳基-O-基团,其中芳基基团如先前描述的,包括被取代的芳基。如本文使用的术语“芳基氧基”可以指的是苯基氧基或己基氧基、和烷基、被取代的烷基、卤代、或烷氧基取代的苯基氧基或己基氧基。

[0170] “芳烷基”指的是芳基-烷基-基团,其中芳基和烷基如先前描述的,并且包括被取代的芳基和被取代的烷基。示例性的芳烷基基团包括苄基、苯基乙基和萘基甲基。

[0171] “芳烷基氧基”指的是芳烷基-O-基团,其中芳烷基基团如先前描述的。示例性的芳烷基氧基基团是苄氧基,即C₆H₅-CH₂-O-。芳烷基氧基基团可以任选地被取代。

[0172] “烷氧基羰基”指的是烷基-O-C(=O)-基团。示例性的烷氧基羰基基团包括甲氧基羰基、乙氧基羰基、丁氧基羰基和叔丁氧基羰基。

[0173] “芳氧基羰基”指的是芳基-O-C(=O)-基团。示例性的芳氧基羰基基团包括苯氧基-羰基和萘氧基-羰基。

[0174] “芳烷基氧基羰基”指的是芳烷基-O-C(=O)-基团。示例性的芳烷基氧基羰基基团是苄氧基羰基。

[0175] “氨基甲酰基”指的是式-C(=O)NH₂的酰胺基团。“烷基氨基甲酰基”指的是R'RN-C(=O)-基团,其中R和R'中的一个为氢,并且R和R'中的另一个是如先前描述的烷基和/或被取代的烷基。“二烷基氨基甲酰基”指的是R'RN-C(=O)-基团,其中R和R'中的每个独立地是如先前描述的烷基和/或被取代的烷基。

- [0176] 如本文使用的术语羰基二氧基指的是式 $-O-C(=O)-OR$ 的碳酸酯基团。
- [0177] “酰基氧基”指的是酰基- O -基团,其中酰基如先前描述的。
- [0178] 术语“氨基”指的是 $-NH_2$ 基团,并且还指的是通过用有机基团替代一个或更多个氢基团的衍生自氨的如本领域已知的含氮基团。例如,术语“酰基氨基”和“烷基氨基”分别指的是具有酰基和烷基取代基基团的特定的 N -取代的有机基团。
- [0179] 如本文使用的“氨基烷基”指的是被共价地结合至亚烷基连接基的氨基基团。更特别地,如本文使用的术语烷基氨基、二烷基氨基和三烷基氨基分别指的是通过氮原子被附接至母体分子部分的一个、两个或三个如先前定义的烷基基团。术语烷基氨基指的是具有结构 $-NHR'$ 的基团,其中 R' 是如先前定义的烷基基团;而术语二烷基氨基指的是具有结构 $-NR'R''$ 的基团,其中 R' 和 R'' 各自独立地选自自由烷基基团组成的组。术语三烷基氨基指的是具有结构 $-NR'R''R'''$ 的基团,其中 R' 、 R'' 和 R''' 各自独立地选自自由烷基基团组成的组。此外, R' 、 R'' 和/或 R''' 一起可以任选地是 $-(CH_2)_k-$,其中 k 是从 2 至 6 的整数。实例包括,但不限于,甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、二乙基氨基羰基、甲基乙基氨基、异丙基氨基、哌啶基、三甲基氨基和丙基氨基。
- [0180] 氨基基团是 $-NR'R''$,其中 R' 和 R'' 典型地选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基、或被取代的或未被取代的杂芳基。
- [0181] 术语烷基硫醚和硫代烷氧基指的是通过硫原子被附接至母体分子部分的饱和的(即,烷基- S -)或不饱和的(即,烯基- S -和炔基- S -)基团。硫代烷氧基部分的实例包括,但不限于,甲基硫代、乙基硫代、丙基硫代、异丙基硫代、正丁基硫代及类似物。
- [0182] “酰基氨基”指的是酰基- NH -基团,其中酰基如先前描述的。“芳酰基氨基”指的是芳酰基- NH -基团,其中芳酰基如先前描述的。
- [0183] 术语“羰基”指的是 $-C(=O)-$ 基团,并且可以包括由通式 $R-C(=O)H$ 表示的醛基基团。
- [0184] 术语“羧基”指的是 $-COOH$ 基团。这样的基团在本文中还被称为“羧酸”部分。
- [0185] 如本文使用的术语“卤代”、“卤化物”或“卤素”指的是氟代基团、氯代基团、溴代基团和碘代基团。此外,术语诸如“卤代烷基”意指包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“卤代(C_1-C_4)烷基”意指包括,但不限于,三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基及类似物。
- [0186] 术语“羟基”指的是 $-OH$ 基团。
- [0187] 术语“羟基烷基”指的是被 $-OH$ 基团取代的烷基基团。
- [0188] 术语“巯基”指的是 $-SH$ 基团。
- [0189] 如本文使用的术语“氧代”意指被双键结合至碳原子或另一种元素的氧原子。
- [0190] 术语“硝基”指 $-NO_2$ 基团。
- [0191] 术语“硫代”指的是本文先前描述的化合物,其中碳原子或氧原子被硫原子替代。
- [0192] 术语“硫酸酯基”指的是 $-SO_4$ 基团。
- [0193] 如本文使用的,术语硫代羟基或硫醇指的是式 $-SH$ 的基团。
- [0194] 更特别地,术语“硫化物”指的是具有式 $-SR$ 的基团的化合物。
- [0195] 术语“磺”指的是具有磺酰基基团 $-S(O_2)R$ 的化合物。

[0196] 术语“亚砷”指的是具有亚磺酰基基团-S(O)R的化合物。

[0197] 术语脲基指的是式-NH-CO-NH₂的脲基团。

[0198] 关于式(I)的化合物的术语“保护基团”指的是可以通过容易可用的试剂选择性地被去除的化学取代基,所述容易可用的试剂不攻击分子中的再生的官能团或其他官能团。适合的保护基团是本领域已知的并且继续被开发。适合的保护基团可以例如在Wutz等人, (“Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis,第四版,”Wiley-Interscience, 2007)中找到。如由Wutz等人(第533-643页)描述的用于保护羧基基团的保护基团在某些实施方案中被使用。在一些实施方案中,保护基团通过用酸处理去除。保护基团的代表性实例包括但不限于,苄基、对甲氧基苄基(PMB)、叔丁基(t-Bu)、甲氧基甲基(MOM)、甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲基硫代甲基(MTM)、四氢吡喃基(THP)、四氢呋喃基(THF)、苄氧基甲基(BOM)、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TEs)、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)和三苯基甲基(三苯甲基,Tr)。本领域技术人员将认识到其中需要保护基团的适当的情况并将能够选择用于在特定环境中使用的适当的保护基团。

[0199] 在整个说明书和权利要求书中,给定的化学式或名称应涵盖所有互变异构体、同类物、和光学异构体和立体异构体、以及其中存在这样的异构体和混合物的外消旋混合物。

[0200] 本公开内容的某些化合物可以具有不对称碳原子(光学或手性中心)或双键;可以依据绝对立体化学被定义为(R)-或(S)-或对于氨基酸被定义为D-或L-的对映体、外消旋体、非对映异构体、互变异构体、几何异构体、立体异构体形式,以及单独的异构体被涵盖在本公开内容的范围内。本公开内容的化合物不包括本领域已知为太不稳定以至于不能合成和/或分离的那些化合物。本公开内容意指包括呈外消旋形式、消旋(scalemic)形式和光学纯形式的化合物。光学活性的(R)-异构体和(S)-异构体、或D-异构体和L-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。当本文描述的化合物包含烯键或其他几何不对称的中心时,并且除非另有指定,否则意图的是化合物包括E几何异构体和Z几何异构体两者。

[0201] 除非另有陈述,否则本文描绘的结构还意指包括结构的所有立体化学形式;即,用于每个不对称中心的R构型和S构型。因此,本化合物的单个立体化学异构体以及对映体和非对映异构体混合物在本公开内容的范围内。

[0202] 对本领域技术人员将明显的是,本公开内容的某些化合物可以以互变异构体形式存在,化合物的所有这样的互变异构体形式在本公开内容的范围内。如本文使用的,术语“互变异构体”指的是两种或更多种结构异构体中的一种,其以平衡状态存在并且容易地从一种异构体形式转化为另一种异构体形式。

[0203] 除非另有陈述,否则本文描绘的结构还意指包括仅在一个或更多个同位素富集的原子的存在下不同的化合物。例如,在用氘或氚替代氢,或用¹³C-或¹⁴C-富集的碳替代碳的情况下,具有本结构的化合物在本公开内容的范围内。

[0204] 本公开内容的化合物还可以在构成这样的化合物的原子中的一个或更多个处包含非天然比例的原子同位素。例如,化合物可以用诸如例如氚(³H)、碘-125(¹²⁵I)或碳-14(¹⁴C)的放射性同位素放射性标记。本公开内容的化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,都被涵盖在本公开内容的范围内。

[0205] 本公开内容的化合物可以作为盐存在。本公开内容包括这样的盐。可适用的盐形

式的实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、甲烷磺酸盐、硝酸盐、马来酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、酒石酸盐(例如(+)-酒石酸盐、(-)-酒石酸盐或其混合物,包括外消旋混合物)、琥珀酸盐、苯甲酸盐和具有氨基酸诸如谷氨酸的盐。这些盐可以通过本领域技术人员已知的方法制备。还包括的是碱加成盐,诸如钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、有机氨基或镁盐,或类似的盐。当本公开内容的化合物包含相对碱性的官能团时,酸加成盐可以通过使中性形式的这样的化合物与纯的或在适合的惰性溶剂中的或通过离子交换的、足够量的期望的酸接触来获得。可接受的酸加成盐的实例包括衍生自以下无机酸的那些:如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸及类似物,以及衍生自以下有机酸的盐:如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲基磺酸及类似物。还包括的是氨基酸(例如精氨酸及类似物)的盐和有机酸(如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸及类似物)的盐。本公开内容的某些特定的化合物包含碱性官能团和酸性官能团两者,其允许化合物被转化为碱加成盐或酸加成盐。

[0206] 中性形式的化合物可以通过使盐与碱或酸接触并且以常规方式分离母体化合物来再生。化合物的母体形式在某些物理性质(诸如在极性溶剂中的溶解度)方面不同于多种盐形式。

[0207] 本公开内容的某些化合物可以以非溶剂化形式以及溶剂化形式(包括水合形式)存在。通常,溶剂化形式等同于非溶剂化形式并且被涵盖在本公开内容的范围内。本公开内容的某些化合物可以以多晶形式或无定形式存在。通常,所有物理形式对于由本公开内容预期的用途是等同的并且意图在本公开内容的范围内。

[0208] 除了盐形式以外,本公开内容提供了呈前药形式的化合物。本文描述的化合物的前药是在生理条件下容易经历化学变化以提供本公开内容的化合物的那些化合物。此外,前药可以在离体环境中通过化学方法或生物化学方法被转化为本公开内容的化合物。例如,前药当被放置在具有适合的酶或化学试剂的透皮贴剂储库(transdermal patch reservoir)中时可以被缓慢地转化为本公开内容的化合物。

[0209] 根据长期以来的专利法惯例,当在本申请(包括权利要求书)中使用术语“(a)”、“一(an)”和“该(the)”指的是“一个或更多个”。因此,例如,提及“受试者”包括多个受试者,除非上下文清楚地是相反的(例如,多个受试者)等等。

[0210] 在整个本说明书和权利要求书中,术语“包含(comprise)”、“包含(comprises)”和“包含(comprising)”被用于非排他性意义,除非上下文另有要求的情况。同样地,术语“包括(include)”和其语法变体意图是非限制性的,使得列表中项目的列举不排除可以被取代或添加至所列项目的其他类似的项目。

[0211] 为了本说明书以及所附的权利要求书的目的,除非另有指示,否则在说明书和权利要求书中使用的表示量、尺寸、维度、比例、形状、制剂、参数、百分比、数量、特征、及其他数值的所有数字在所有情况下应理解为由术语“约”修饰,即使术语“约”可能不明确地与值、量或范围一起出现。因此,除非相反地指示,否则在以下说明书和所附的权利要求书中阐述的数值参数不是确切的并且不需要是确切的,但是如期望的可以是近似的和/或更大的或更小的,反映了公差、转换因子、四舍五入、测量误差等,以及本领域技术人员已知的其他因素,取决于待通过目前公开的主题寻求获得的期望的性质。例如,术语“约”当指的是值

时可以意指涵盖与特定的量在一些实施方案中 $\pm 100\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 50\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 20\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 10\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 5\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 1\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 0.5\%$ 、以及在一些实施方案中 $\pm 0.1\%$ 的差异,因为这样的差异适合于进行公开的方法或采用公开的组合物。

[0212] 此外,当与一个或多个数字或数值范围结合使用时,术语“约”应被理解为指的是所有这样的数字,包括范围内的所有数字以及通过将边界延伸至高于和低于所阐述的数值来修改该范围。通过端点的数值范围的叙述包括归入该范围内的所有数字例如全部的整数,包括其分数(例如,1至5的叙述包括1、2、3、4和5,以及其分数,例如1.5、2.25、3.75、4.1及类似物)以及在该范围内的任何范围。

实施例

[0213] 以下实施例已经被包括以向本领域普通技术人员提供用于实践目前公开的主题的代表性实施方案的指导。根据本公开内容和本领域技术人员的一般水平,技术人员可以理解,以下实施例意图仅是示例性的,并且可以采用许多变化、修改和改变而不偏离目前公开的主题的范围。以下的合成描述和具体实施例仅意图用于说明的目的,并且不被解释为以任何方式限制通过其他方法制备本公开内容的化合物。

[0214] 实施例1

[0215] 综述

[0216] 用于表达PSMA的肿瘤的成像和可能的放射疗法的经由多种连接基团被缀合至螯合的放射性金属的PSMA结合肽的使用先前已经在几个专利申请和出版物(Tykvart等人.(2015)Journal of medicinal chemistry 58,4357-63;Banerjee等人.(2015)Journal of nuclear medicine 56,628-34;Benesova等人.(2015)Journal of nuclear medicine 56,914-20;Weineisen等人.(2014)EJNMMI Res 4,1-15;WO 2009002529 A2;WO 2009070302 A1)中被报道。(2015)Journal of medicinal chemistry 58,4357-63;Banerjee et al.(2015)Journal of nuclear medicine 56,628-34;Benesova et al.(2015)Journal of nuclear medicine 56,914-20;Weineisen et al.(2014)EJNMMI Res 4,1-15;WO 2009002529 A2;WO 2009070302 A1)。一类新的高亲和力结合剂已经通过用对-Br-苄基基团修饰 ϵ 胺位置处的肽连接基被制备。目前公开的化合物的结构在图1中示出。

[0217] 不希望受任一种特定的理论束缚,据信靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的基于放射性金属螯合的Glu-赖氨酸肽的治疗剂,当在Lys-Glu-肽部分的赖氨酸的 ϵ 氨基基团上被对-Br-苄基基团修饰时,证明对PSMA的高结合亲和力和在表达PSMA的肿瘤中的高摄取以及在前列腺癌的标准小鼠模型中的低肾摄取。一个实施方案, ^{177}Lu -1,显示显著的放射治疗功效,携带PSMA+PC3肿瘤的小鼠的约50%的缓解率。

[0218] 实施例2

[0219] 材料和方法

[0220] 1的化学合成。化合物1的合成在方案1中描述。在冰冷浴下,将溴苯甲醛(121.0mg, 0.654mmol)缓慢地添加至在5ml的甲醇中的Boc保护的肽4(300.0mg, 0.615mmol)的搅拌溶液中,并且允许加温至室温。在一小时之后,添加氰基硼氢化钠(158.0mg, 2.5mmol)并且使反应搅拌过夜。将粗反应混合物蒸发,再溶解在二氯甲烷中,通过正相二氧化硅色谱法(95:

5,二氯甲烷:甲醇)纯化,并且在真空中干燥,以良好收率提供5。收率:80%。ESI-MS:656.56 $[M+H]^+$,实测:656.5。将TSTU (32.6mg, 108 μ mol)、Boc-5-氨基戊酸 (23.5mg, 108 μ mol) 和 DIPEA (37.7 μ L, 216 μ mol) 溶解在300 μ L DMF中,并且在室温搅拌。在一小时之后,添加化合物5 (71.0mg, 108 μ mol),其中DMF (各50 μ L) 三次冲洗。将反应混合物搅拌持续4小时并且在4 $^{\circ}$ C 储存过夜。将粗反应混合物通过半制备型HPLC在 C_{18} 柱 (40%水 (0.1TFA)/60%ACN (0.1TFA)) 上纯化持续5min,在20分钟内60%-90%。R_t 21分钟。将纯化的级分合并、蒸发、并且在高真空下干燥持续10分钟。ESI-MS:572.44 $[M+H]^+$,实测:572.4。将化合物6溶解在二氯甲烷 (1.5mL) 中并且在冰浴中骤冷。在平衡之后,添加TFA (1.5mL),并且将混合物搅拌持续3小时,允许在该过程中加温至室温。在氮气流下将混合物甩干,溶解在水中,并且冻干以产生31.8mg的化合物7。收率:54 μ mol, 54%。将对-SCN-bn-DOTA (12.2mg, 17.7 μ mol) 添加至平衡至40 $^{\circ}$ C的在DMSO (130 μ L) 中的6 (12.2mg的TFA盐) 和DIPEA (15.2 μ L, 87.0 μ mol) 的搅拌溶液中。将反应混合物在40 $^{\circ}$ C搅拌持续4小时,并且在4 $^{\circ}$ C储存过夜。将反应混合物通过反相HPLC (保持20%ACN持续5min,然后在19分钟内20%-40%) 纯化。R_t约12分钟。将纯化的级分合并、旋转蒸发以减小体积,并且然后冻干。ESI-MS:1138.37 $[M+H]^+$,实测:1138.5。将化合物1用梯度法通过HPLC进一步纯化。HPLC法是一种梯度法,包含流动相88%水 (包含0.1%TFA) 和12%CH₃CN (0.1%TFA) 持续1min-5min,随后是0min-5min 88%水 (包含0.1%TFA) 和12%CH₃CN (0.1%TFA),并且从5min-25min 88%水至44%水和12%乙腈至56%乙腈,其中流速8mL/min。

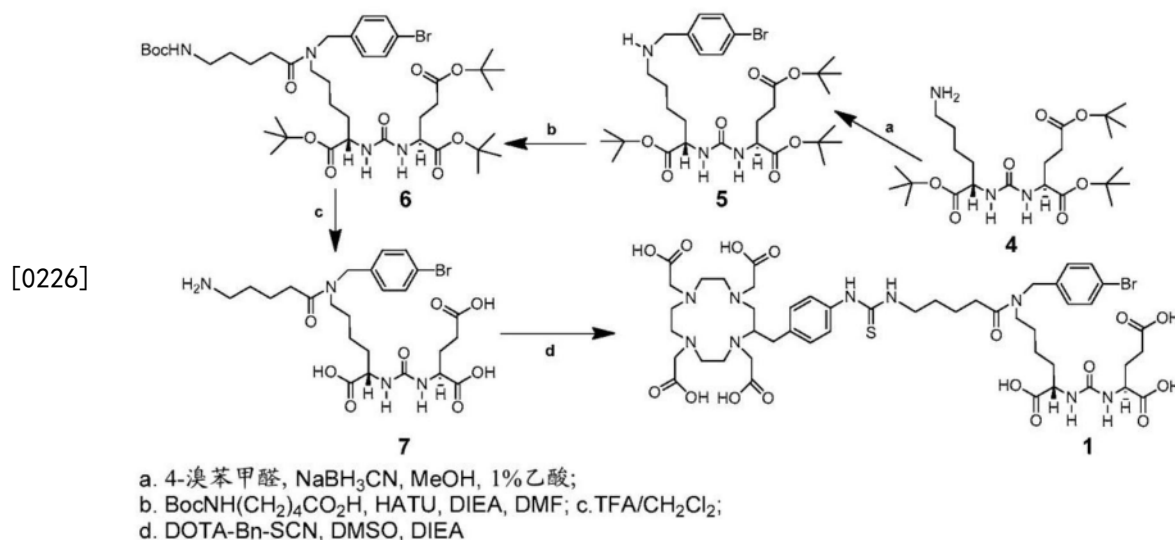
[0221] 2的化学合成。此化合物通过使用相同的中间体7合成,并且与可商购的DOTA-NHS酯缀合。ESI-MS:974.86. $[M+H]^+$,实测:974.5。

[0222] 3的化学合成。此化合物通过使用中间体4合成,并且与可商购的Boc-5-氨基戊酸和DOTA-NHS酯偶联。ESI-MS:970.05 $[M+H]^+$,实测:970.1。

[0223] ¹⁷⁷Lu-1的放射性标记。将在0.1N HCl中的1.0 μ L的¹⁷⁷LuCl₃ (1mCi) 添加至70 μ L NH₄OAc缓冲液 (0.2M, pH 4) 中,并且添加至在0.2M NH₄OAc中的5 μ L的2mM中。混合物的pH为约4.0。将混合物在80 $^{\circ}$ C保持持续一小时并且通过HPLC纯化。HPLC法是一种梯度法,包含流动相77%水 (包含0.1%TFA) 和23%CH₃CN (0.1%TFA) 持续1min-5min,随后5min-25min水77%至57%和乙腈23%至43%;25.01min-30min,水5%至5%和乙腈95%至95%,30.01min至37min,水77%至77%和乙腈23%至23%。流速:1.0ml/min; λ :200nm,并且C₈柱 (25mm $\times$ 4.6mm), Varian microsorb-MV 100-5。放射性标记的¹⁷⁷Lu-1在17.1min-20min时洗脱,而未标记的螯合剂在21min-22min时洗脱。

[0224] HPLC法用于制备¹⁷⁷Lu-1和¹⁷⁷Lu-7:HPLC法是一种梯度法,包含流动相88%水 (包含0.1%TFA) 和12%CH₃CN (0.1%TFA) 持续1min-5min,随后5min-27min水88%至75%和乙腈12%至25%;27.01min-32min水5%至5%和乙腈95%至95%,32.01min至37min水88%至18%和乙腈12%至22%。流速:1.0ml/min; λ :200nm,并且C₈柱 (25mm $\times$ 4.6mm), Varian microsorb-MV 100-5。放射性标记的¹⁷⁷Lu-2在13.1min-15.0min时洗脱,而未标记的螯合剂在16min-17min时洗脱。放射性标记的¹⁷⁷Lu-3在13.1min-15.0min时洗脱,而未标记的螯合剂在10min-12min和18min-20min时洗脱,并且未标记的剂达到14min-16min。

[0225] 方案1. 化合物1的合成



[0227] 实施例3

[0228] 结果与讨论

[0229] 化学和放射化学的合成和表征。Glu-Lys 脲 (2) 的修饰的对溴苄基基团按照文献程序 (Tykvart 等人 (2015) Journal of medicinal chemistry 58, 4357-63) 通过在氰基硼氢化钠的存在下在甲醇中用对溴苯甲醛还原烷基化 2 以良好的收率来制备, 以提供 4。将一种小的脂肪族连接基 Boc-5-氨基戊酸偶联在 4 的相同的 ϵ -Lys 胺上, 随后去除 BOC 基团, 并且在 6 的情况下与可商购的 DOTA-Bn-SCN 缀合, 以中等收率提供 1。化合物 2 通过使用 DOTA-NHS 酯作为螯合剂并且与相同的中间体 6 偶联来合成。合成化合物 3 作为对照剂, 不具有任何对溴苄基基团。所有三种剂在 80°C 在 pH 4, 在乙酸铵缓冲液中以良好的收率和纯度用 ^{177}Lu 放射性标记。这些新的化合物的结合亲和力在表 1 中列出。用对溴苄基基团修饰的 1 和 2 两者显示与 3 相比更高的结合亲和力。

[0230]

表 1. 代表性的剂的结合亲和力					
化合物	1	2	3	ZJ43 (对于 2)	ZJ43 (对于 1、3)
IC ₅₀ (nM)	0.57 nM	0.64 nM	2.16 nM	1.91 nM	2.7 nM
K _i (nM)	1.15 nM	1.28 nM	0.43 nM	0.38 nM	0.66 nM
ClogD	-4.6	-3.5	-4.1	未确定	未确定
LogP _{oct} /水	-3.0	-3.53	-3.2	未确定	未确定
极性 表面积	359	327	368	未确定	未确定

[0231] 细胞结合性质。 ^{177}Lu 剂还在细胞和动物中使用标准同基因细胞系 PSMA+PC3 PIP 和 PSMA 阴性 PC3 fluc 细胞评估。与 ^{177}Lu -3 相比, ^{177}Lu -1 和 ^{177}Lu -2 两者在 PSMA+PC3 细胞中证明较高的摄取。进一步的内化研究揭示, 与 ^{177}Lu -3 相比, ^{177}Lu -1 具有更高的接近 2 倍高的内化活性。所有三种剂在 PSMA 阴性 PC3 fluc 细胞中显示显著低的摄取。还在克隆形成试验中评估 ^{177}Lu -1 的治疗功效, 并且与先前的先导化合物 SR6 (Banerjee 等人. (2015) Journal of nuclear medicine 56, 628-34) 和在包括 ^{177}Lu -PSMA-617 (Benesova 等人. (2015) Journal of nuclear medicine 56, 914-20) 的临床试验中的试剂以及 ^{177}Lu PSMA-I&T (Weineisen 等

人.(2014)EJNMMI Res 4,1-15)比较。 ^{177}Lu -1能够在PSMA+PC3 PIP细胞中使用 $10\mu\text{Ci}$ 剂量产生约100%的细胞杀伤功效,而对于PSMA-PC3 flu细胞未看到显著毒性。

[0232]

表2. 在4 h孵育时剂的细胞结合性质(值被表示为 每一百万个细胞孵育剂量的百分比) (n = 3)			
化合物	^{177}Lu -1	^{177}Lu -2	^{177}Lu -3
细胞摄取 PSMA+ PC3 PIP	42.60	40.6	24.50
细胞摄取 PSMA- PC3 flu	0.09	0.12	0.05
内化 (细胞裂解物)	15.88	未确定	8.75
细胞表面	27.68	未确定	12.50

[0233] 生物分布。对 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -2进行体内组织生物分布研究,并且在表3和表4中列出。 ^{177}Lu -1在PSMA+PC3 PIP肿瘤摄取中显示出比 ^{177}Lu -2更高的摄取和保留。显著地, ^{177}Lu -2剂显示出比 ^{177}Lu -1低5倍的肾摄取,并且如图3中所示,将目前公开的化合物的肿瘤/肾与先前的先导 ^{177}Lu -SR6、 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA-I&T进行比较。 ^{177}Lu -2的PSMA+PC3 PIP肿瘤与肾的比率比 ^{177}Lu -1高。由于较高的肿瘤摄取和保留,还在试验研究中使用一小组动物评估 ^{177}Lu -1的治疗功效(成像和治疗效果)。

表3. ^{177}Lu -1的体内组织生物分布，值被表示
为每克注射剂量的百分比 $\pm$ 标准偏差(N=4)

组织	2h	24h	48h	72h
血液	0.68 ± 0.25	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.01	0.00 ± 0.04
心脏	0.28 ± 0.08	0.02 ± 0.05	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
肺	1.12 ± 0.33	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02
肝	0.39 ± 0.13	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.00
胃	0.87 ± 0.63	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.04	0.04 ± 0.00
胰腺	0.28 ± 0.09	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
脾	3.76 ± 0.70	0.15 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.02
脂肪	0.35 ± 0.10	0.08 ± 0.15	0.01 ± 0.01	0.06 ± 0.07
肾	87.10 ± 25.99	1.65 ± 0.30	1.02 ± 0.58	0.62 ± 0.04
肌肉	0.68 ± 0.98	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.02
小肠	0.51 ± 0.32	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
唾液腺	1.09 ± 0.08	0.09 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.02
膀胱	3.39 ± 2.78	0.31 ± 0.13	0.12 ± 0.07	0.06 ± 0.03
PC-3 PIP	55.04 ± 7.23	40.61 ± 7.00	27.00 ± 7.03	24.90 ± 2.27
PC-3 Flu	0.39 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01

[0234]

表4. ^{177}Lu -2的体内组织生物分布，值被表示为每克注射剂量的百分比 $\pm$ 标准偏差(N=4)

组织	2h	24h	48h
血液	0.81 ± 0.80	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
心脏	0.31 ± 0.19	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01
肺	0.39 ± 0.13	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
肝	0.19 ± 0.05	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00
胃	7.95 ± 4.17	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.01
胰腺	0.19 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.00
脾	1.10 ± 0.62	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.01
脂肪	0.70 ± 0.54	0.11 ± 0.10	0.03 ± 0.04
肾	14.04 ± 8.19	0.73 ± 0.70	0.24 ± 0.07
肌肉	0.20 ± 0.05	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
小肠	2.02 ± 2.86	0.06 ± 0.09	0.02 ± 0.00
唾液腺	0.89 ± 0.51	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.01
膀胱	3.48 ± 1.66	0.17 ± 0.06	0.08 ± 0.02
骨	0.46 ± 0.10	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.02
PC-3 PIP	43.18 ± 5.32	24.76 ± 5.13	20.13 ± 3.35
PC-3 Flu	0.29 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.01

[0236] 小动物SPECT成像和治疗效果。图4示出了在治疗研究期间持续1天-8天注射后 ^{177}Lu -1的SPECT成像。将单个剂量的3mCi经由尾静脉注射注射在携带PSMA+PC3 PIP肿瘤(尺寸3mm-5mm)的小鼠(n=10)中。将盐水注射至另一组小鼠(n=10)中用于对照研究。每周两次监测小鼠的体重肿瘤尺寸度量。当肿瘤的尺寸超过>12mm时,将对照组的小鼠在4周-8周之后安乐死。对于治疗组,50%的小鼠显示肿瘤的完全消除。这些小鼠最初经历了在2周之后恢复的初始体重。结果在图5中示出。图6A和图6B证明了与使用盐水的对照组相比, ^{177}Lu -1的治疗功效(肿瘤体积减小)。五只小鼠显示疾病的完全缓解,并且存活持续多于五个月。

[0237] 总之,靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的基于放射性金属螯合的Glu-赖氨酸脲的治疗剂,当在Lys-Glu-脲部分的赖氨酸的 ϵ 氨基基团上用对-Br-苄基基团修饰时,证明对PSMA的高结合亲和力和在表达PSMA的肿瘤中的高摄取以及在前列腺癌的标准小鼠模型中的低肾摄取。一种代表性的化合物 ^{177}Lu -1显示出显著的放射治疗功效,携带PSMA+PC3肿瘤的小鼠的约50%的缓解率。

[0238] 实施例4

[0239] 用于前列腺癌的基于PSMA的高LET剂

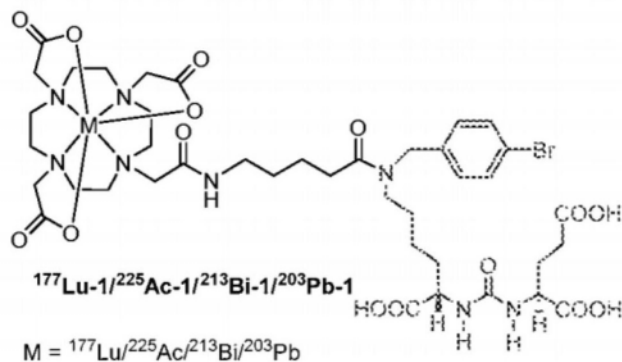
[0240] 概述。在一些实施方案中,目前公开的主题涉及靶向PSMA的基于放射性金属的剂的药代动力学优化。本领域中的先前工作在国际PCT专利申请公布第W02009/002529A2号和

第W02010/108125A2号中描述,其各自通过引用以其整体并入。更特别地,在一些实施方案中,目前公开的主题提供了用 α 发射放射性金属(α -emitting radiometal)标记的靶向PSMA的低分子量(LMW)的诊疗剂(theranostic agent),所述 α 发射放射性金属包括但不限于 ^{213}Bi ($t_{1/2}$ 46min, $E_{\text{平均值}}$ 8.4MeV)、 ^{212}Pb ($t_{1/2}$ 10.6h, $E_{\text{平均值}}$ 7.8MeV)和 ^{225}Ac ($t_{1/2}$ 10d, $E_{\text{平均值}}$ 6MeV, 4 α),目标是减少目前阻碍这种有前景的疗法的广泛扩散的脱靶效应。

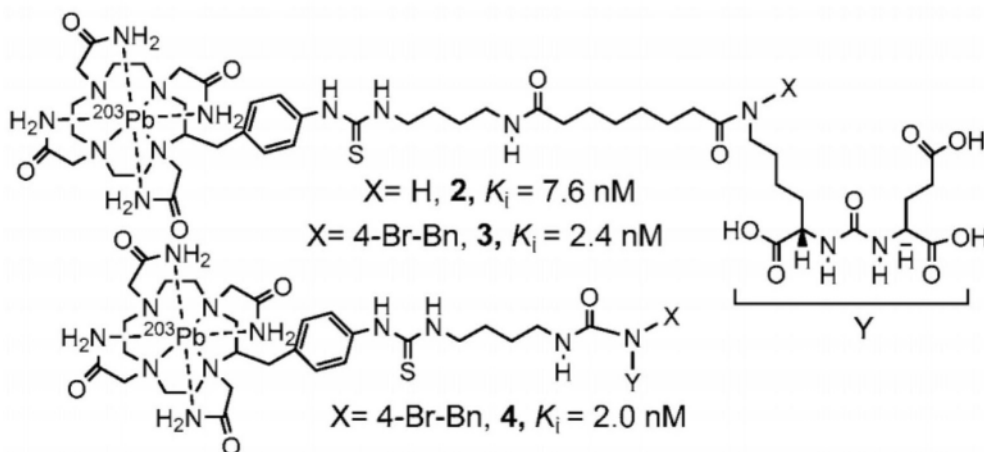
[0241] 目前公开的合理设计的 α -发射剂及其使用方法已经通过深入研究被开发,其中小心关注药代动力学(PK)、放射性金属的物理半衰期以及通过受体阻断减少正常组织摄取。在治疗研究之前, α 相机成像的引导已经被用于快速地识别亚器官定位(热点)及其阻断。

[0242] 因此,在一些实施方案中,目前公开的主题包括靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的基于放射性金属螯合的Glu-赖氨酸脲的诊疗剂,所述基于放射性金属螯合的Glu-赖氨酸脲的诊疗剂在Lys-Glu-脲部分的赖氨酸的 ϵ 氨基基团上被对-Br-苄基基团修饰。这些化合物呈现出对PSMA的较高结合亲和力,并且在前列腺癌的标准小鼠模型中表达PSMA的肿瘤中显示出显著较低的肾摄取和高肿瘤摄取。这些优化的剂已经被高度毒性的放射性金属 ^{213}Bi 、 ^{212}Pb 和 ^{225}Ac 放射标记。

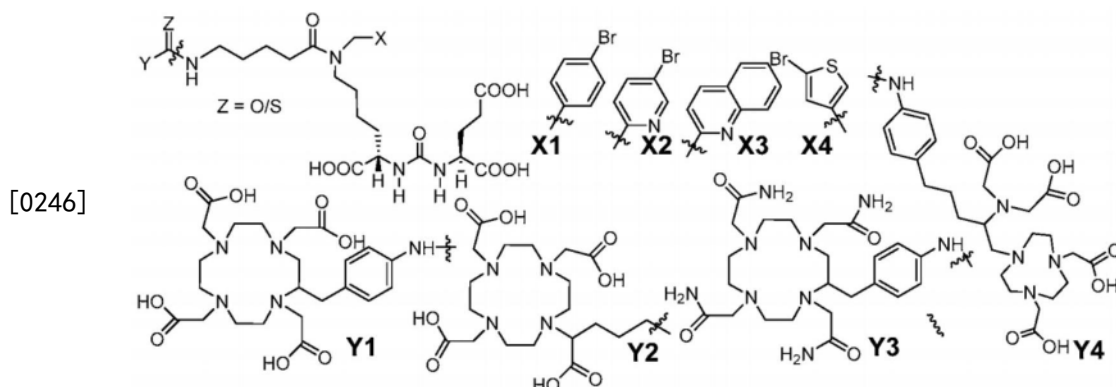
[0243] 实例。



[0244]



[0245] 配体如上文提供的来合成。以下化合物也可以通过目前公开的方法来合成:



[0247] ^{213}Bi -1/ ^{225}Ac -1/ ^{203}Pb -1的放射性标记。所有放射性标记的化合物按照如关于 ^{213}Bi -1描述的一般方法来制备。 ^{213}Bi 从Oak Ridge National Laboratory生产的 $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ 发生器中洗脱。将新鲜洗脱的 ^{213}Bi (18.2MBq) 添加到10 μg 的1溶液中,并且使用3M NH_4OAc 溶液调节到4至5。将溶液在微波炉中以40瓦的功率在95 $^{\circ}\text{C}$ 加热持续5min。接下来,将10 μL 的1mM Na-DTPA溶液添加到无复合物的 ^{213}Bi 中。对于所有实验, ^{213}Bi -1的比活性为 $>7.4\text{MBq}/\mu\text{g}$ 。 ^{213}Bi -1使用Phenomenex C_{18} Luna 10 $\times$ 250mm²柱和Varian Prostar System(Palo Alto, CA)来纯化,该Varian Prostar System配备有均由Galaxie软件控制的Varian ProStar 325UV-Vis可变波长检测器和Bioscan(Poway, CA) Flowcount在线放射性检测器。在水(0.1% TFA) (A) 和 CH_3CN (0.1% TFA) (B) 作为洗脱溶剂的情况下,流量为1mL/min。为了确保均匀的纯度,使用80%A和20%B的等度溶液以从放射性标记的化合物中分离过量的配体。比放射性被计算为在制备型HPLC纯化期间产物的保留时间时洗脱的放射性与对应于UV吸收曲线下面积的质量的比率。如通过分析型HPLC确定的在254nm处吸收的测试化合物的纯度为 $>95\%$ 。还使用硅胶即时TLC (ITLC) 以0.9%氯化钠作为流动相来评估放射性标记的收率。放射性标记的样品用10mM二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 在约4的pH稀释。将三微升的稀释的样品点在ITLC硅胶带上,并且允许在色谱室中显影。在完成向溶剂前沿的迁移后,允许ITLC样品带干燥,切成两半,并且在Wallac Wizard γ -计数器(Perkin-Elmer, Boston, MA)上计数,以确定放射性标记的收率。放射化学纯度经由高效液相色谱法 (HPLC) 分析来评估。

[0248] 体外和体内表征在图7、图8、图9、图10、图11A-图11E和图12中示出。表5示出了 ^{225}Ac -1的生物分布。

[0249] 表5. ^{225}Ac -1的生物分布。

[0250]

	²²⁵ Ac-1							
	2h	8h	24h	48h	72h	96h	120h	8d
血液	0.3±0.3	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.2	0.0±0.1	0.1±0.2	0.1±0.1	0.0±0.1
心脏	1.7±2.3	0.4±0.1	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
肺	1.1±0.6	0.4±0.1	0.2±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
肝	2.7±1.7	3.9±1.1	3.1±0.8	1.9±0.9	1.6±0.4	2.7±1.0	1.9±0.5	2.1±0.4
胃	0.9±0.7	0.4±0.2	0.4±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.0	0.0±0.1
胰腺	0.6±0.6	0.1±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.1	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0
脾	1.4±1.2	0.6±0.2	0.5±0.5	0.4±0.1	0.2±0.3	0.5±0.2	0.2±0.1	0.3±0.5
脂肪	0.3±0.3	0.2±0.3	0.3±0.1	0.2±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.1
肾	27.5±14.9	3.1±0.9	1.5±0.5	0.5±0.4	0.5±0.3	0.6±0.4	0.3±0.1	0.2±0.2
肌肉	0.3±0.2	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.0±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.1
小肠	0.6±0.4	0.3±0.1	0.5±0.5	0.1±0.1	0.2±0.2	0.0±0.2	0.1±0.1	0.3±0.5
唾液腺	0.3±0.1	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.1	0.0±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0
膀胱	2.4±2.7	0.2±0.1	0.5±0.5	0.5±0.4	0.0±0.2	1.0±1.3	0.0±0.1	0.1±0.2
骨	0.8±0.5	2.1±1.0	0.5±0.3	0.5±0.4	0.2±0.2	0.5±0.4	0.5±0.3	0.3±0.3
PC-3 PIP	45.8±17.9	44.5±12.9	49.0±17.9	22.0±7.5	18.3±4.1	19.2±6.4	12.6±3.2	10.0±2.2
PC-3 Flu	0.6±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	0.3±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1
泪腺	1.1±1.1	0.5±0.5	0.3±0.2	0.2±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.0±0.1	0.1±0.1

[0251] 正常器官的受体阻断的进展。使用¹⁷⁷Lu-1在正常组织中对1的阻断作用进行定量。在PSMA(+)肿瘤中观察到肾摄取的急剧减少,同时保持高摄取(图12)。尽管在这些阻断研究中观察到唾液腺摄取的降低,但结果不是统计学上显著的,这可能是由于与¹⁷⁷Lu-1的非常低的摄取(在2h时<0.5%)相关的高实验误差。

[0252] 阻断策略。所有阻断研究都将使用最佳性能的²²⁵Ac标记的剂(例如,²²⁵Ac-1)进行,因为其长的半衰期和由于衰变子体²¹³Bi和²²¹Fr的相关毒性。这些子体在形成后不太可能与螯合物构建体缔合,因为由于 α 衰变的高原子反冲能量。不希望受任一种特定理论束缚,认为由²²⁵Ac-PSMA-617引起的急性唾液腺毒性最有可能由剂的基于PSMA的内化,随后子体在纹状管或腺泡中的释放引起。生物分布数据和 α 照相机成像两者将用于解释数据。将评估不同的药剂(pharmacologic agent)以避免肾和唾液腺放射毒性。除了共注射之外,将研究15min或30min的注射前阻断是否会由于剂的短血液半衰期而提供任何显著的变化。将组合两种或三种有效的阻断制剂,以检查组合制剂是否显示出任何改善。

[0253] 以下实验可以在目前公开的主题的范围内进行:

[0254] 受体阻断(自阻断)实验,例如²²⁵Ac-1的游离配体1(如图12中);

[0255] 用清除表达PSMA的正常组织中的²¹³Bi的二硫醇螯合的竞争性阻断,以提供协同受体阻断和金属离子捕获;

[0256] 使用二硫醇螯合剂通过采用2,3-二巯基-1-丙磺酸(DMPS)的脱靶效应来去除游离的²¹³Bi,因为二硫醇螯合剂已经在多个动物研究以及人类研究中被示出增强²¹³Bi或其它重金属排泄;

[0257] 钫(Fr)是一种像钠和钾的碱金属,并且因此可以通过唾液腺管被Na⁺/K⁺/2Cl⁻共转运蛋白(NKCC1)吸收,该转运蛋白是用于腺泡细胞流体和电解质分泌的关键转运蛋白。因此,FDA批准的利尿剂呋塞米和布美他尼可以被用于通过防止其重吸收来加速²²¹Fr的消除,与如报道的Na⁺和K⁺那样类似;以及

[0258] 如报道的通过次硝酸铋悬浮液(100mg/kg)的竞争性金属阻断。可以评估肾小管细胞中竞争性金属阻断物²¹³Bi或冷的Bi⁺³摄取或其结合位点(金属硫蛋白样蛋白)的有效性。

[0259] 实施例5

[0260] 用于基于PSMA的放射性药物疗法的¹⁷⁷Lu标记的低分子量化合物

[0261] 5.1综述

[0262] 前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 是治疗转移性去势抗性前列腺癌的放射性核素疗法的重要靶。目前公开的主题的一个目标是开发一种用于转移性去势抗性前列腺癌的靶向放射性核素疗法的、使用 β 粒子的低线性能量转移辐射的优化的剂。为了这个目的,已合成新的基于PSMA的 ^{177}Lu 标记的放射性配体,并且评估其体外结合亲和力和体内肿瘤靶向。新配体的放射标记以高(>98%)放射化学收率和比活性合成。所有剂的细胞摄取和内化数据指示剂在PSMA(+)PC3 PIP细胞中的特异性摄取。对所选择的剂进行克隆形成细胞存活测定。仅在48h孵育之后,观察到与PSMA(-)PC3 fluc细胞相比,PSMA(+)PC3 PIP细胞存活的显著降低。在与临床的剂 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA-I&T的直接比较研究中,进一步评估了所选择的化合物在原发性前列腺癌模型中的体内药代动力学和治疗效果。生物分布数据揭示,对于新的剂在表达PSMA的PC3 PIP肿瘤中的相当的肿瘤摄取多达72小时。这些剂还证明了,与未经治疗的小鼠(n=10)相比,在静脉内施用111MBq (3mCi) 之后8周时有效的肿瘤消退。代表性化合物, ^{177}Lu -L1,展示出显著的高存活改善。在所选择的剂的荷瘤小鼠的治疗后八周之后和在无肿瘤的小鼠的治疗后一年的尸检研究(^{177}Lu -L1,111MBq)未揭示任何辐射肾病。

[0263] 5.2背景

[0264] 前列腺特异性膜抗原 (PSMA),也被称为谷氨酸羧肽酶II[GCPII]或N-乙酰基-1-天冬氨酰-1-谷氨酸肽酶I[NAALADase I],是II型细胞表面金属酶,并且已被证实是前列腺癌有价值的临床生物标志物。^{1,2}超过约80%的前列腺肿瘤以及其他实体肿瘤在类似于肿瘤相关血管发生的新形成的血管内呈现出强PSMA表达。在生理学正常组织诸如肾、唾液腺和小肠中发现较低的水平。前列腺肿瘤中的差异PSMA表达已经导致临床医生和放射化学家探索使用PSMA作为使用PET、SPECT、纳米颗粒、光学剂及类似物来递送宽范围的诊断和治疗性放射性核素的靶。基于PSMA的低分子量PET成像剂 ^{68}Ga -PSMA-11³和 ^{18}F -DCFPyL⁴已经彻底改变了患有前列腺癌的男性的早期诊断,并且可能在接下来几年内经历FDA的新药申请过程。最近引入的基于PSMA的放射性核素治疗剂 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA-I&T⁵⁻¹¹(表6)和卤素 ^{131}I -MIP1095^{2,12,13}的治疗潜力虽然显示出前景,但需要进行更广泛的研究,以便按照放射性核素疗法的要求进行安全且有效的施用。例如,已报告 ^{131}I -MIP1095的1-3级血液学毒性,以及在唾液腺中的大量积累导致口干症和粘膜炎。¹³基于 ^{225}Ac 的LMW剂也在临床试验中显示出与唾液腺相关的类似并发症。¹⁴在良好设计的临床试验中收集的前瞻性数据仍然不足以解决基于PSMA的放射性核素疗法的长期肾毒性,这是这些LMW放射性治疗剂的主要安全问题。

[0265] 为了安全且有效的临床应用(图13A和图13B),已经研究了具有高肿瘤/背景比的剂的药代动力学用于前列腺癌的成像和治疗两者。那些剂的总体生物学概况不仅由受体特异性结合,而且还由非特异性相互作用确定,并且可能与分子量、电荷、亲水性和代谢稳定性相关。迄今为止,我们的研究中出现了两个一般类别的高亲和力剂($K_i < 20\text{nM}$): (i) I型剂。这些剂展示出高PSMA特异性肿瘤摄取和长保留,然而,在包括肾皮质和脾的许多表达PSMA的正常组织中具有高摄取。¹⁵实例包括 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -氧代、 $^{166\text{d}}\text{Cu}$ -1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-2-三乙酸(NOTA)¹⁷(图13A)、 ^{68}Ga -PSMA-11¹⁸和剂 ^{68}Ga -/ ^{177}Lu -PSMA-I&T,第二代(图13B),它们已经在几个临床试验中被施用至患者^{6,7,19,20}。这些剂仅通过改变最初的连接基/脲构建体²¹上的

螯合剂或连接基而产生,导致PSMA亲和力的改善。显示出高肿瘤保留的、使用白蛋白结合的对(碘苯基)丁酸部分的²²⁻²⁵、最近开发的几种高亲和力放射性配体还在鼠肾皮质和其他正常器官中导致延长的(extended)高辐射剂量。(ii) II型剂。这些剂显示出高肿瘤摄取和保留,以及从大多数正常组织包括肾和唾液腺中快速清除,从而产生高肿瘤对背景比。^{16,17} II型剂包括由发明人开发的剂(图13A)²⁶和PSMA-617⁵(图13B)。剂II最近经历了一项首次人体研究(first-in-man-study)。²⁷已经观察到表达PSMA的肾比PSMA+肿瘤更快速的肾清除的类似模式,推测这与异种移植物的相对无序的脉管系统相比的通过正常组织的肾脉管系统的更快速流动相关。^{26,28,29}

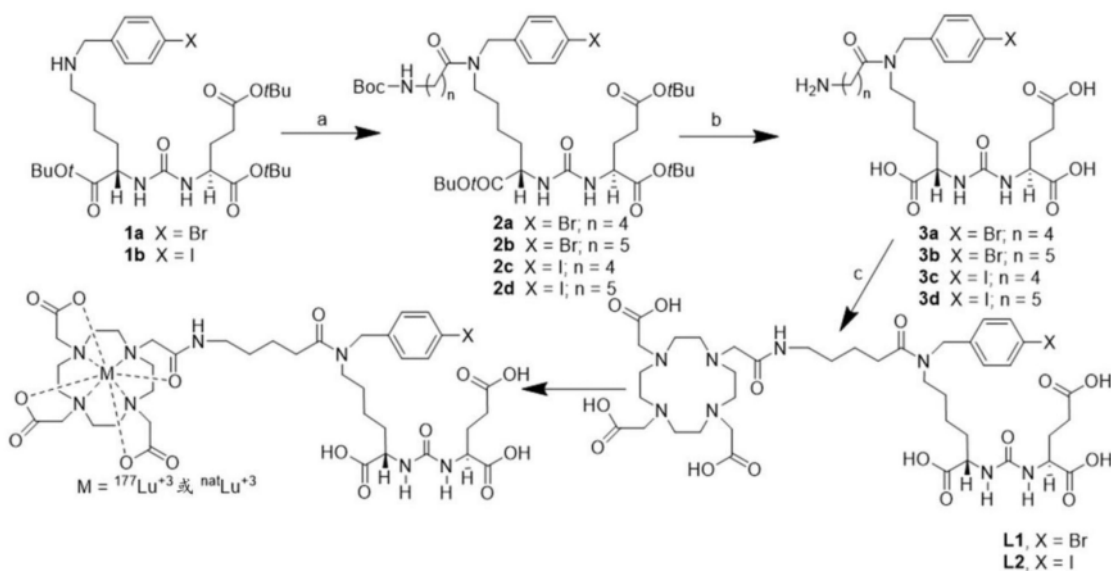
[0266] 目前公开的主题部分地包括一个新系列的靶向PSMA的低分子量化合物的临床前评估,用于开发用于治疗转移性前列腺癌的靶向诊疗放射性药物疗法。相比于其他基于脲的候选物研究Lys-脲-Glu的4-卤代-苄基衍生物,因为在2-[3-[1-羧基-5-(4-¹²⁵I-碘-苯甲酰基氨基)-戊基]-脲基]-戊二酸(¹²⁵I-DCIBzL)的人PC异种移植瘤中持续至少48小时的持续的肿瘤摄取,并且该剂由于其高线性能量转移和俄歇电子的短的发射范围(<10nm)而显示出显著的肿瘤消退。³⁰DCIBzL是本领域已知的最有效的PSMA结合剂之一($K_i=0.01\text{nM}$)。此外,发射 α 粒子的²¹¹At标记版本的DCIBzL在肋腹肿瘤(f flank tumor)模型和微转移模型两者中都显示出显著的治疗效果。³¹因此,目前公开的基于金属的放射性治疗剂被设计成含有源自DCIBzL的结构卤代-苄基-脲-Glu,具有对连接基和螯合剂的一些合理的修饰以改善剂的结合亲和力和药代动力学。合成几种代表性的化合物来评估剂的肿瘤靶向性质和药代动力学性质。这种方法可以产生用于基于PSMA的靶向放射性核素疗法的具有对于¹⁷⁷Lu、²¹²Pb或²²⁵Ac的降低的脱靶效应的优化的剂。

[0267] 5.3结果

[0268] 5.3.1合成方案。基于高亲和力剂DCIBzL合成了一系列用于结构和活性关系(SAR)研究的代表性化合物,如图13A和图13B中所示。除了被设计为对照剂的配体L8和L14之外,所有配体都被设计为包含(Br/I)-苄基Lys-脲-Glu靶向部分。配体L1-L4、L7-L9和L13被设计成具有短且柔性的连接基,而L12包含刚性芳香族连接基。相比之下,配体L5、L6和L14被设计成具有与先前的先导剂相似的更长的连接基。²⁶通过用DOTA-Bn-SCN替代L1中的螯合剂DOTA-单酰胺,以及使用DOTAGA螯合剂替代L9中的螯合剂DOTA-单酰胺,研究了配体L7和L8中的螯合剂的作用。配体L10和L11被设计成具有如具有DOTA-单酰胺和DOTAGA螯合剂的PSMA-617中的刚性环己基连接基,用于与L1和L9相比分别检查对刚性连接基和螯合剂的影响。配体L13被设计成具有不同的靶向部分,通过用衍生自临床PET成像剂¹⁸F-DCFPYL的Br-吡啶基Lys-脲-Glu替代Br-苄基Lys-脲-Glu。³²配体L14被设计成在先前报告的PSMA结合靶向平台上具有白蛋白结合部分4-(对碘苯基)丁酸,正如最近由几个研究组研究的那样,^{22-25,33}以研究4-(对碘苯基)对生物分布特性的影响。

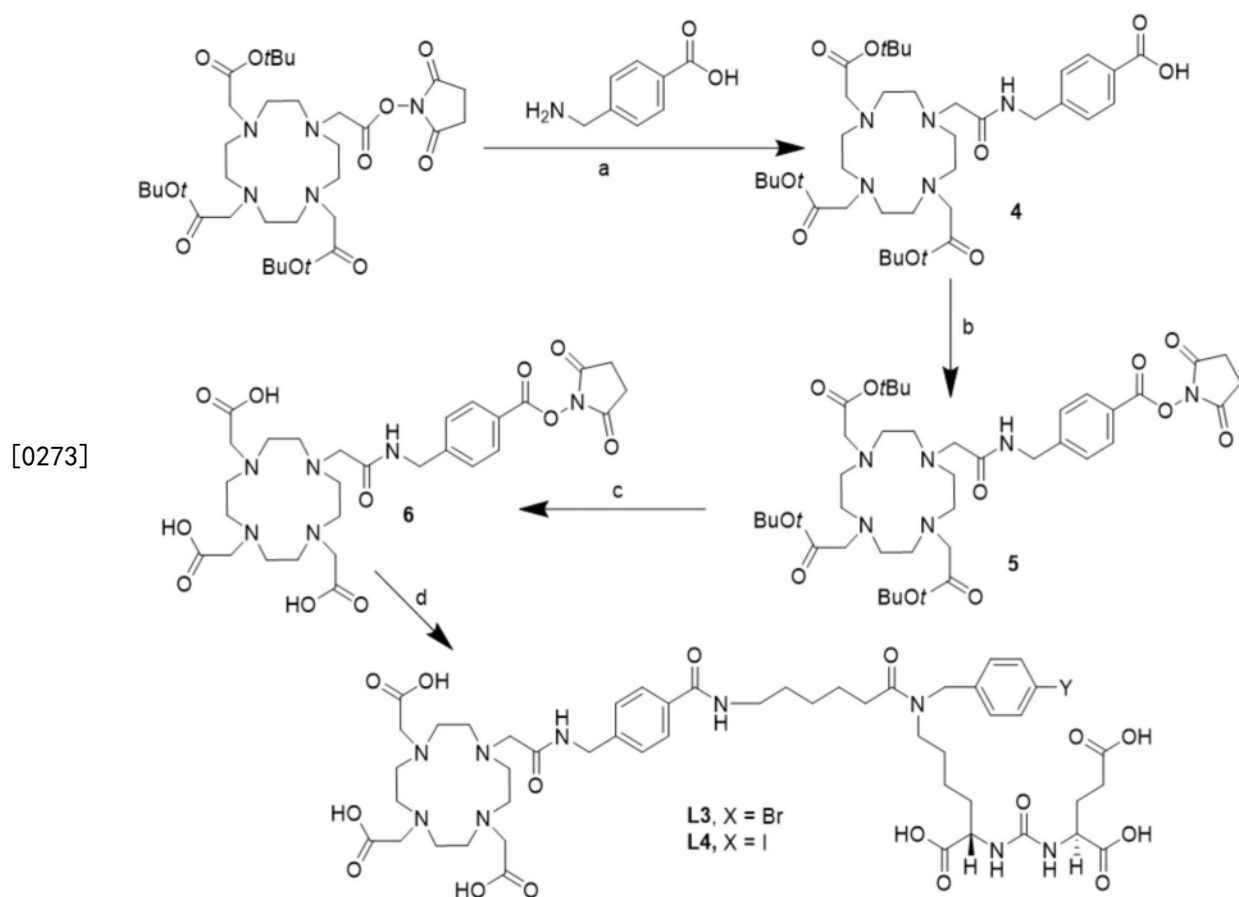
[0269] 所有化合物在溶液相化学中基于制备Glu-Lys脲衍生物的良好建立的方法以及用于连接基和螯合剂的相关缀合化学合成。配体L1和L2如方案2中描述的合成。

[0270]



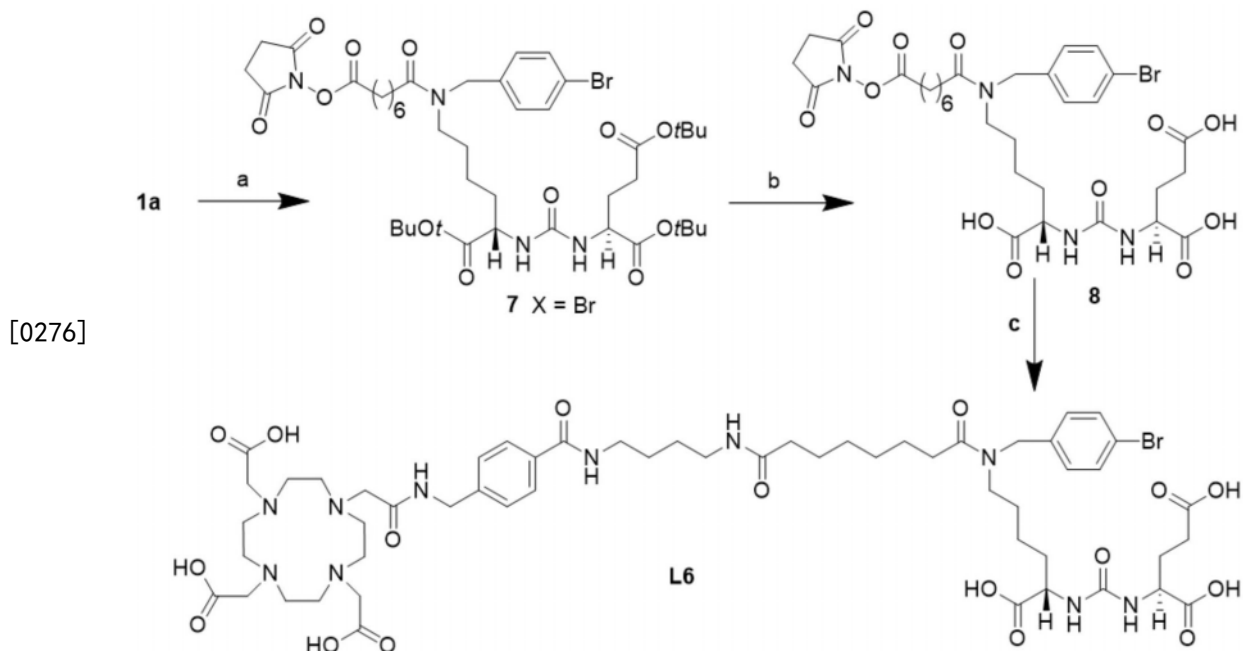
[0271] 方案2.^a试剂和条件: (a) NaBH_3CN 、 MeOH ; (b) Boc-5-氨基戊酸TSTU、DIPEA、DMF或Boc-6-氨基己酸N-羟基琥珀酰亚胺酯、 Et_3N 、DMF、过夜、室温; (c) 50% TFA/ CH_2Cl_2 ; (d) 3a或3c、DOTA-单酰胺-NHS、DIPEA、DMSO、室温、3h; (e) ${}^{177}\text{Lu}^{+3}/\text{Lu}^{+3}$, pH ~ 4-5, $0.2\text{NH}_4\text{OAc}$, 在 95°C 微波5min。

[0272] 脲-赖氨酸中间体二叔丁基(((S)-1-(叔丁氧基)-6-((4-碘/溴苄基)氨基)-1-氧代己-2-基)氨基甲酰基)-L-谷氨酸酯, 1a或1b(5-X-Bn)-Lys-脲-Glu(X=Br/I)按照文献方法的一些修改来合成。³⁴这两种中间体化合物也被用于合成L3、L4、L5、L6、L8、L9、L10、L11和L12。简言之,使Boc-5-氨基戊酸与1a和1b缀合以提供2a和2c,随后同时去除叔丁基和N-Boc基团从而以>90%的收率分别产生3a和3c。然后使化合物3a和3c与DOTA-单酰胺的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯反应,从而以高收率提供目标配体L1和L2。配体L3和L4如方案3中所示来合成。



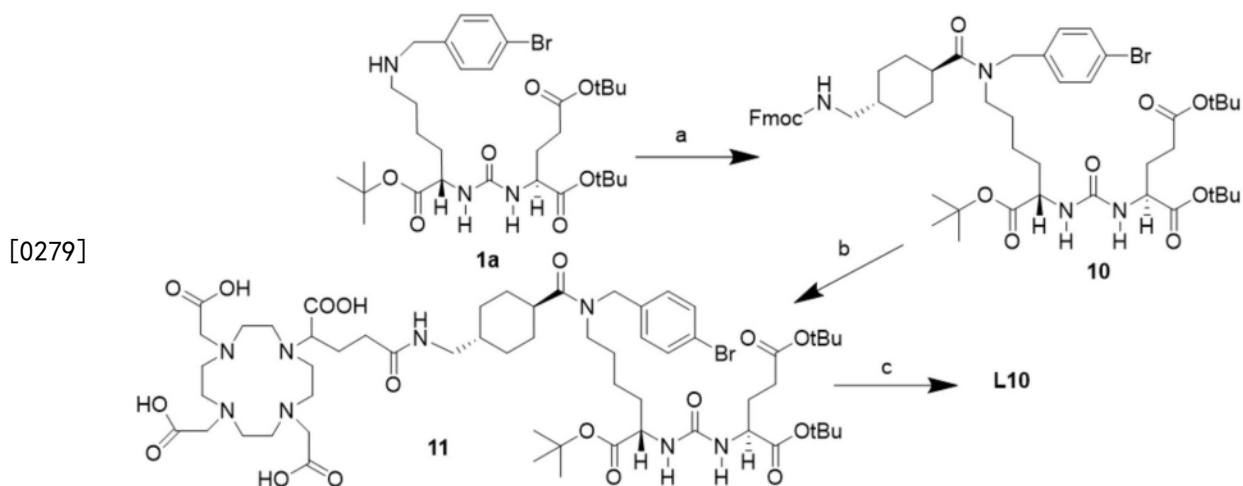
[0274] 方案3.^a试剂和条件: (a) DIPEA、DMF、室温、16h; (b) TSTU、TEA、DMSO、4h; (c) 50 % TFA/ CH_2Cl_2 ; (d) 3b或3d、DIPEA、DMSO。

[0275] 使用刚性连接基对氨基甲基苯甲酸和DOTA-单酰胺NHS酯进行缀合反应,从而以定量收率提供化合物4。接下来,通过在三甲胺的存在下用TSTU处理化合物4来获得化合物5,并且随后使用TFA/ CH_2Cl_2 去除叔丁基基团,从而以高收率产生反应中间体6。在6与3b和3d之间的简单缀合反应之后,以良好的收率获得配体L3和L4。配体L5和L6按照如方案4中所示的合成路线来合成。



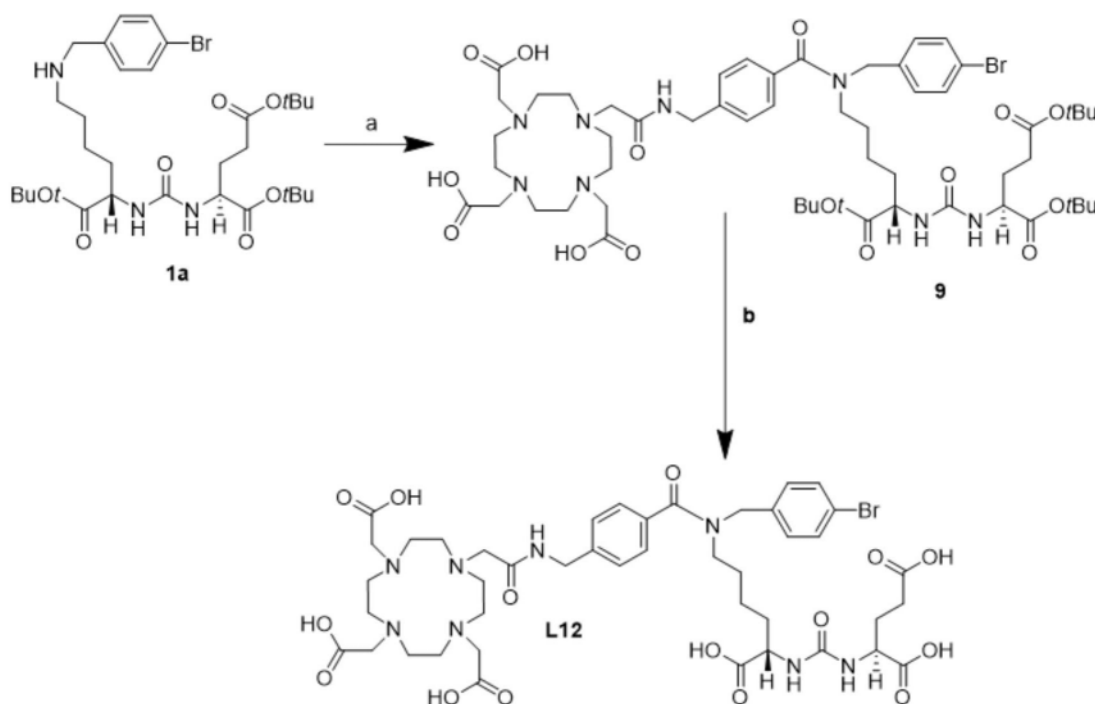
[0277] 方案4.^a试剂和条件: (a) DSS、TEA、DMF; (b) 50% TFA/CH₂Cl₂; (c) 4、DIPEA、DMSO、3h。

[0278] 首先,化合物7通过使1a与二琥珀酰亚胺基辛二酸酯(DSS)反应来合成,如先前所报告的。³⁵然后将化合物7用50% TFA/CH₂Cl₂处理以去除叔丁基基团,以合成化合物8,然后将化合物8与Boc-5-氨基戊酸偶联,随后去除Boc基团并与化合物6偶联以提供L5。此外,按照如方案2中描述的合成路线,通过用DOTA-Bn-SCN(L7和L8)和DOTAGA(L9)替代DOTA-单酰胺来合成L1的三种类似物。DOTA-Bn-SCN的缀合反应在40℃进行持续4小时。相比之下,对于螯合剂DOTAGA,将反应混合物最初在室温声处理持续1小时以提供高收率的缀合反应。两个配体L10和L11,使用环己基连接基的L1的类似物,还如方案5中所示来合成。



[0280] 方案5.^a试剂和条件: (a) (i) 反式-4-(Fmoc-氨基甲基环己烷羧酸)、TSTU、DIPEA、DMF、室温持续1h; (ii) 20%哌啶/DMF; (c) DOTA-GA酸酐、DIPEA、DMSO、3h (c) 50% TFA/CH₂Cl₂。

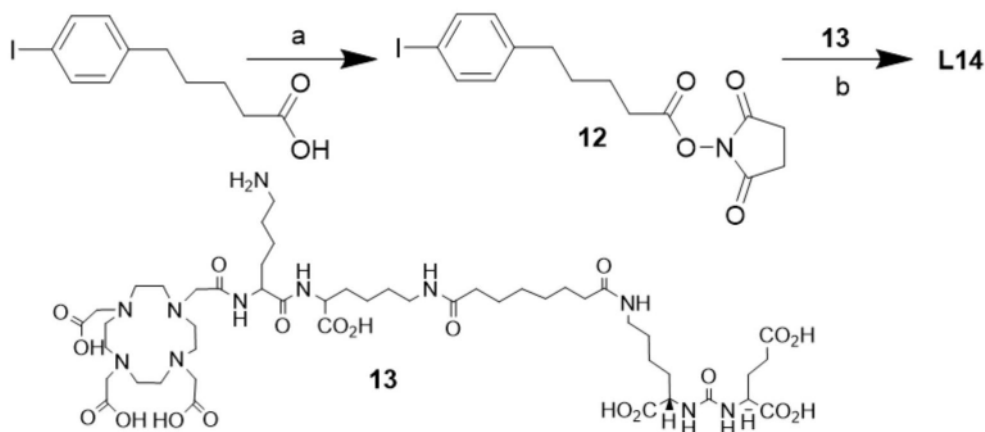
[0281] 首先,原位合成反式-4-(Fmoc-氨基甲基环己烷羧酸)的NHS酯,然后使其与1a反应以提供10。在顺序去除Fmoc和叔丁基基团并与相应的螯合剂偶联之后,以优异的收率获得DOTAGA和DOTA-单酰胺、L10和L11。配体L12如方案6中所示来合成。简言之,使化合物1a与中间体6反应,随后从Lys-脲-Glu中去除叔丁基基团,从而以>80%的收率提供L12。



[0282]

[0283] 方案6. (a) 6、DIPEA、DMSO; (b) 50% TFA/CH₂Cl₂。

[0284] 配体L13也按照方案7来合成,然而通过用对溴吡啶基基团替代对溴苄基以研究药效团对剂的肿瘤靶向和药代动力学的影响。配体L14按照方案7来合成。首先,以定量收率来合成对(碘苯基)丁酸的NHS酯(化合物12),其与我们先前报告的双官能化合物14³⁵反应,以优异的收率提供L14。所有新合成的配体均通过HPLC纯化并冻干以提供无色的吸湿性固体化合物,并且通过标准光谱学工具(包括质谱法和NMR)来表征。发现所有配体在-20℃至少稳定持续6个月。



[0285]

[0286] 方案7.^a试剂和条件: (a) TSTU、DIEA、DMF; (b) 13、DIPEA、DMSO、2h。

[0287] 所有新配体在70℃以高收率用¹⁷⁷Lu放射性标记,持续孵育1h,然后进行HPLC纯化以从放射性标记的化合物中去除未反应的配体,以确保最高放射化学纯度>99%和比活性(>37MBq/nmol)。此外,还为L1及相关配体包括L7、L8、L9、L11、L12和L13开发了一种快速且方便的微波辅助放射性标记方法,以在40℃、在pH~4、在5min内以优异的收率(>90%)合成新的¹⁷⁷Lu标记的剂(¹⁷⁷Lu-L)。微波辅助方法为具有对碘苄基脲衍生物的配体(例如L4和L6)、具有长连接基的配体(例如L3和L5)和具有刚性连接基的配体(例如L12)产生了多个放

放射性标记的产物。发现所有¹⁷⁷Lu标记的化合物在室温稳定长达4h,在4℃稳定长达24h,而没有任何显著的辐射分解。然而,为了确保高稳定性,将L-抗坏血酸添加至最终制剂中的放射性标记的化合物中,并且用于此处报告的体外和体内实验。在不添加任何L-抗坏血酸的情况下,立即进行细胞摄取和内化实验。

[0288] 5.3.2体外结合和细胞摄取。所有新的配体展示出对PSMA的高结合亲和力,其中 K_i 值范围为从0.03nM至8nM(表6)。合成L1的稳定的镧类似物(Lu-L1),其显示出相比于L1的结合亲和力的3倍改善(表6)。涉及L1至L14的在2h孵育的细胞摄取比较研究揭示相对于PSMA-PC3 f1u细胞,在PSMA+PC3 PIP细胞中约100倍更高的摄取。所选择的化合物的细胞摄取和内化数据呈现在图14和表7中。化合物的总摄取和内化从1h缓慢增加到24h。¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T和¹⁷⁷Lu-PSMA-617两者在PSMA(+)PC3PIP细胞内均显示出显著更高的总摄取,分别为孵育剂量的~60%和~40%,而所示的¹⁷⁷Lu-L1、¹⁷⁷Lu-L3和¹⁷⁷Lu-L5显示出在30%的范围内的摄取。然而,化合物的内化百分比在1h~18%-24%至24h 25%-30%的相同范围内。对于所有化合物,PSMA(+)PC3 PIP细胞中的摄取可以通过用过量的已知PSMA抑制剂ZJ43处理来阻断(表7)。¹⁷⁷Lu-7和¹⁷⁷Lu-8的细胞内化也被研究长达孵育后24小时。溴苄基基团修饰的¹⁷⁷Lu-8相比于没有溴苄基基团的配体¹⁷⁷Lu-7在所有时间点显示出近>1.5倍更高的内化。显著地,具有DOTAGA螯合剂的¹⁷⁷Lu-9相比于含有相同螯合剂的¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T显示出细胞摄取和内化(~70%)(表7)。相比之下,具有DOTAGA螯合剂的¹⁷⁷Lu-10当用刚性环己基连接基修饰时示出与¹⁷⁷Lu-8和¹⁷⁷Lu-9相比较低的摄取和内化。类似地,DOTA-单酰胺修饰的¹⁷⁷Lu-L11(其也含有环己基连接基)示出与¹⁷⁷Lu-L1相比低>1.5倍的摄取和与¹⁷⁷Lu-10相比较低的摄取。此外,具有刚性芳香族连接基的¹⁷⁷Lu-L12显示出与来自该系列的大多数剂相比的低摄取。对溴吡啶基修饰的¹⁷⁷Lu-13显示出与¹⁷⁷Lu-1相当的细胞摄取和内化性质。白蛋白结合4-(对碘苯基)-丁酸修饰的¹⁷⁷Lu-14在2h时在PSMA(+)PC3 PIP细胞中显示出相对较高的摄取。

[0289]

表6. 新的化合物和所选择的临床剂的物理性质和PSMA结合活性					
化合物	分子量	Ki [nM]	特异性 细胞 表面 结合 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	特异性 内化 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	P _{辛醇/水} 的系数
L1	973.87		36.49 ± 0.50	23.68 ± 0.16	-3.09
L2	1020.87	0.20 – 0.33 nM	29.23 ± 0.80	24.96 ± 0.90	
L3	1121.05	0.09 – 34 nM	36.65 ± 0.50	22.03 ± 0.60	-3.50
L4	1168.05	0.14 – 0.39 nM			
L5	1234.21	0.46 – 0.63 nM	36.65 ± 0.50	22.03 ± 0.60	

表6. 新的化合物和所选择的临床剂的物理性质和PSMA结合活性

化合物	分子量	Ki [nM]	特异性 细胞 表面 结合 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	特异性 内化 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	P辛醇/水的 系数
L6	1281.21	0.35 – 0.93 nM			
L7	969.41	0.29 – 0.81 nM			
L8	1138.5	0.08 – 0.16 nM ZJ43 (0.28 – 1.08 nM)		20.06	
L9	1045.9360	0.02 – 0.05 nM		7.80	-3.53
L10	1086.0010	0.43 – 1.2 nM			
L11	1013.94				
L12	1007.8900	0.22 – 4.03 nM 0.25 – 0.56 nM (ZJ43)			
L13	973.34	0.23 – 8.10 nM ZJ43 (0.28 –			

[0290]

表6. 新的化合物和所选择的临床剂的物理性质和PSMA结合活性

化合物	分子量	Ki [nM]	特异性 细胞 表面 结合 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	特异性 内化 [%IA/10 ⁶ 个细胞]	P辛醇/水的 系数
		1.07 nM)			
L14	1390.34		53.0 ± 1.3		-2.95
SR-VI-71			22.28		-3.02
PSMA-617			44.6 ± 1.0	21.1 ± 0.9	-3.2
PSMA I&T			64.5 ± 2.3	21.1 ± 0.7	-2.59

[0292] 表7. PSMA (+) PC3PIP细胞和PSMA (-) PC3 flu细胞中所选择的化合物的细胞摄取和内化数据。对于阻断研究,以10 μ M的最终浓度使用一种已知的PSMA抑制剂ZJ43。(数据以孵育剂量%/1 $\times$ 10⁶个细胞表示)。

		¹⁷⁷ Lu-PSMA I&T	¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	¹⁷⁷ Lu-L1	¹⁷⁷ Lu-L3	¹⁷⁷ Lu-L5
1 h	PC3 PIP	60.0 ± 0.2	42.2 ± 0.80	32.1 ± 0.1	27.0 ± 1.3	26.6 ± 0.6
	PC3 PIP细胞内化	21.1 ± 0.7	18.8 ± 1.2	18.8 ± 0.8	21.4 ± 1.4	24.1 ± 0.5
	PC3 flu	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1
	阻断物 PC3 PIP	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
2 h	PC3 PIP	60.0 ± 0.2	44.6 ± 1.	36.7 ± 0.5	36.5 ± 0.3	29.23 ± 0.8
		25.1 ± 1.5	21.1 ± 0.9	22.0 ± 0.6	23.7 ± 0.2	25.0 ± 0.9
	PC3 flu	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
4 h	PC3 PIP	72.2 ± 0.4	47.6 ± 1.13	39.1 ± 0.5	32.6 ± 8.5	34.4 ± 1.2
	PC3 PIP细胞内化	25.7 ± 0.7	26.1 ± 1.0	26.6 ± 1.2	24.9 ± 3.4	26.1 ± 1.0
	PC3 flu	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0
24 h	PC3 PIP	80.0 ± 1.3	54.2 ± 0.21	46.2 ± 0.2	45.2 ± 1.2	49.8 ± 1.4
	PC3 PIP细胞内化	28.3 ± 1.2	26.4 ± 0.8	24.6 ± 0.2	30.0 ± 0.7	27.9 ± 0.8
	PC3 flu	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0

[0294] 表8:放射疗法试验研究的汇总

[0295]

	平均初始体重 (克)	平均最终体重 (克)	平均初始 肿瘤体积 (mm ³)	在治疗后8周 之后平均相 对肿瘤生长 (V _t /V ₀)	在治疗后8 周之后中 位存活期
对照组	23.7 ± 2.7	21.4 ± 2.3	84.2 ± 38.4	41 ± 22	33 天
¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	23.5 ± 1.9	24.6 ± 3.6	84.2 ± 20.6	肿瘤消失 5 死亡 一个肿瘤 > 4	未达到
¹⁷⁷ Lu-PSMAI&T	22.7 ± 2.73	24.0 ± 2.9 在 2 周治疗之 后, 体重损失 > 15%, 在 8 周内 恢复	84.4 ± 24.7	小鼠死亡 1 肿瘤消失 7 无肿瘤 > 5	未达到
¹⁷⁷ Lu-L1	24.1 ± 1.4	26.1 ± 1.4	83.2 ± 22.8	肿瘤消失 7 死亡 1	未达到
¹⁷⁷ Lu-L3	24.7 ± 1.7	25.8 ± 2.6	85.2 ± 24.1	小鼠死亡 3 两个肿瘤 > 4	未达到
¹⁷⁷ Lu-L5	24.5 ± 2.2	27.5 ± 1.9	85.7 ± 20.5	小鼠死亡 3 一个肿瘤 > 5	未达到

[0296] 5.3.3生物分布研究。新开发的¹⁷⁷Lu化合物的肿瘤摄取和体内药代动力学通过使用在上肋腹携带PSMA+PC3 PIP和PSMA-PC3 fluc肿瘤两者的雄性NOD-SCID小鼠进行生物分布测定来评估。对于此处呈现的所有研究, 静脉内施用放射性示踪剂剂量 ~ 1.67 ± 0.2 MBq (~ 45 ± 5 μCi)。基于在注射后24h的初始生物分布研究, 选择几种配体用于长达72h-96h的更长时间点的详细生物分布研究。除了化合物¹⁷⁷Lu-7 (没有溴苄基修饰的脲基团) 和具有刚性连接基的¹⁷⁷Lu-11和¹⁷⁷Lu-12之外, 所有化合物在注射后24h之后均展示出高PSMA(+) 肿瘤摄取 > 18% ID/g。雄性NOD-SCID小鼠中¹⁷⁷Lu-PSMA-617、¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T、¹⁷⁷Lu-1、¹⁷⁷Lu-3和¹⁷⁷Lu-5的组织生物分布如图15和图16中所示。小鼠体重和肿瘤重量在表9中提供。

[0297] 表9. 用于生物分布研究的每个时间点的平均小鼠体重和平均肿瘤重量。数据以平均值 ± s.d 表示 (n=4)。

[0298]

时间		¹⁷⁷ Lu-PSMA-I&T	¹⁷⁷ Lu-PSMA-617	¹⁷⁷ Lu-1	¹⁷⁷ Lu-3	¹⁷⁷ Lu-5
3h	体重	24.12 ± 1.04	20.83 ± 1.77	19.8 ± 1.39	21.60 ± 0.32	20.80 ± 1.61
	PC3 PIP	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.01
24h	体重	19.73 ± 0.89	22.08 ± 0.95	19.70 ± 0.77	22.56 ± 0.42	20.45 ± 1.01
	PC3 PIP	0.07 ± 0.01	0.040 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.05	0.05 ± 0.01
48h	体重	21.83 ± 1.01	22.6 ± 0.36	20.73 ± 1.24	21.95 ± 0.77	19.63 ± 0.25
	PC3 PIP	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.11 ± 0.06	0.08 ± 0.02
72h	体重	22.98 ± 0.57	20.50 ± 0.91	20.35 ± 0.86	22.2 ± 0.84	19.03 ± 0.63
	PC3 PIP	0.13 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.13 ± 0.05	0.07 ± 0.02

[0299] 在注射后3h, 观察到¹⁷⁷Lu-3 (52.6 ± 4.9% ID/g) 和¹⁷⁷Lu-5 (56.3 ± 18.3) 的显著较高的肿瘤摄取, 而¹⁷⁷Lu-1的肿瘤摄取与¹⁷⁷Lu-PSMA-617和¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T相当。然而, 在24h之后, ¹⁷⁷Lu-3和¹⁷⁷Lu-5二者示出从PSMA+PC3 PIP肿瘤摄取中的快速活性清除, 导致肿瘤摄

取与 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA-I&T相当。相比之下, ^{177}Lu -1显示出与 ^{177}Lu -PSMA-617相比显著更低的肿瘤摄取。在注射后72h,我们没有观察到化合物在肿瘤摄取方面的显著差异。从注射后3h开始,所有化合物在PC3 fluc肿瘤中的摄取是低的($<0.3\%$ ID/g),证明化合物的高特异性与配体的高结合亲和力相一致。

[0300] 尽管这些剂在注射后长达72h展示出几乎相似的肿瘤摄取,但在这些剂的正常组织摄取中观察到显著变化。对于 ^{177}Lu -PSMA-I&T,表达PSMA的正常器官,例如肾和唾液腺以及脾是显著较高的。对于 ^{177}Lu -PSMA-I&T,在注射后3h,肾摄取为 $93.39 \pm 13.35\%$ ID/g,而来自该系列的其余剂显示出摄取 $<10\%$ ID/g; ^{177}Lu -PSMA-617 ($9.81 \pm 6.54\%$ ID/g)、 ^{177}Lu -1 ($5.17 \pm 2.38\%$ ID/g)、 ^{177}Lu -3 ($7.49 \pm 3.21\%$ ID/g)。尽管 ^{177}Lu -PSMA-I&T展示出快速的肾清除,在24h时 $30.39 \pm 12.49\%$,但数据揭示了剂在长达72h的每24h里示出肾摄取的 ~ 3 倍降低。相比之下, ^{177}Lu -3和其余化合物显示出快得多的肾清除率, ~ 10 倍的清除率,导致在24h之后肾摄取 $<0.5\%$ ID/g。除 ^{177}Lu -PSMA-I&T之外,在所施用剂量的3h之后, ^{177}Lu 标记的剂的血液和正常组织摄取为 $<0.5\%$ ID/g,正常组织包括肝、肺、胃、胰腺、脾、脂肪、肾上腺、肌肉、小肠和大肠、骨和唾液腺。 ^{177}Lu -PSMA-I&T展示出在3h时脾和唾液腺中的高摄取,然而,在24h内显示出快速清除,显示出这些组织中的相当摄取($<1\%$ ID/g),如该系列的其他试剂所展示的。

[0301] ^{177}Lu -1的对碘苄基类似物和没有任何卤代苄基修饰的脲靶向部分的配体 ^{177}Lu -L7和 ^{177}Lu -L14以及溴苄基修饰的剂 ^{177}Lu -L8、 ^{177}Lu -L9和 ^{177}Lu -L10的选择的组织生物分布数据在图17中示出。与 ^{177}Lu -L1相比,剂 ^{177}Lu -2在注射后3h示出显著更高的肿瘤摄取,但是在长达72h内保持肿瘤摄取和保留。虽然 ^{177}Lu -L7和 ^{177}Lu -L8两者都被DOTA-Bn-SCN螯合剂修饰,但是与 ^{177}Lu -L7相比, ^{177}Lu -L8的肿瘤摄取和保留在所有时间显著更高,进一步强调了溴苄基基团对肿瘤保留的重要性(在2h, $55.4 \pm 7.2\%$ ID/g对 $25.4 \pm 7.2\%$ ID/g;在24h, $40.6 \pm 7.0\%$ ID/g对 $7.0 \pm 1.5\%$ ID/g;在48h, $27.0 \pm 7.0\%$ ID/g对 $7.0 \pm 3.3\%$ ID/g和 $24.9 \pm 2.3\%$ ID/g对 $2.3 \pm 0.0\%$ ID/g)。此外,这两种剂都展示出与 ^{177}Lu -PSMA-I&T相比更快的肾清除。

[0302] 与 ^{177}Lu -PSMA-I&T相比,具有DOTAGA螯合剂的 ^{177}Lu -L9在注射后长达72h显示出显著更高的肿瘤摄取和保留,同时示出更快的肾清除,在24h内 ~ 30 倍的肾清除(在2h $149.7 \pm 32.0\%$ ID/g对在24h $5.9 \pm 2.7\%$ ID/g)。与L1相比, ^{177}Lu -L10和 ^{177}Lu -L11的刚性环己基连接基未产生高细胞摄取,并且与 ^{177}Lu -L9和 ^{177}Lu -L1相比分别示出相似或较低的摄取。具有不同靶向配体(2-吡啶基)配体的剂 ^{177}Lu -L13示出快得多的正常组织清除,同时保持与 ^{177}Lu -L1相似的肿瘤摄取。

[0303] ^{177}Lu -14的生物分布与所报道的白蛋白结合剂一致,在注射后24h达到最高肿瘤摄取并且显示高肿瘤摄取长达48h。尽管与 ^{177}Lu -PSMA-I&T相比,该剂最初显示出较低的初始肾摄取 $49.49 \pm 19.55\%$ ID/g,但仅观察到 ~ 3 倍的活性清除,相比于在48h的 $17.47 \pm 4.18\%$ ID/g,活性降低10倍(在24h $93.39 \pm 13.35\%$ ID/g对在48h $9.55 \pm 3.85\%$ ID/g)。该剂还示出来自该系列的最高的血液摄取,在注射后2h为 $16.13 \pm 2.33\%$ ID/g,随后在24h为 $5.05 \pm 0.05\%$ ID/g和在48h为 $2.48 \pm 0.44\%$ ID/g。脾和唾液腺两者均显示出来自该系列的最高的非特异性摄取。

[0304] 5.3.4SPECT/CT成像。

[0305] 还用 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -14进行了SPECT/CT成像,以检查体内药代动力学。如从生物分

布数据所预期的那样,在施用 ^{177}Lu -1之后的2h-192h期间的SPECT/CT图像证实了PSMA+PC3 PIP肿瘤中的高摄取(右图),但在PSMA-PC3 f1u肿瘤中不存在高摄取(左图)。此外,与生物分布数据一致,配体在肾和所有正常组织中显示出极低摄取。在成像实验期间还研究了PSMA(+)PC3 PIP肿瘤内的PSMA表达的状态。如图18B中所示,观察到在用 ^{177}Lu -1 (37MBq)治疗的肿瘤的第1天后至第12天,PC3 PIP肿瘤内的PSMA(+)染色与对照肿瘤(无放射性注射)相比显著降低。这可能部分是由于产生PSMA表达的下调的治疗效果,以及由于被治疗的肿瘤中大量PSMA结合位点被 ^{177}Lu -1结合。虽然低,但是,在8天和12天之后相对较高的染色与 ^{177}Lu -1从肿瘤中的清除一致。

[0306] 用111MBq (3mCi)的 ^{177}Lu -PSMA 617、 ^{177}Lu -2、 ^{177}Lu -4和 ^{177}Lu -6治疗8周之后的小鼠组(n=3)的血液学和血液化学参数的比较提供于表10中。

[0307] 表10.

	^{177}Lu -1	^{177}Lu -3	^{177}Lu -5	^{177}Lu -PSMA-617	对照
红细胞(M/ μL)	9.1 $\pm$ 0.4	8.6 $\pm$ 0.2	9.2 $\pm$ 0.7	8.2 $\pm$ 0.7	9.3 $\pm$ 0.0
血红蛋白(g/dL)	14.3 $\pm$ 0.8	13.6 $\pm$ 0.4	14.3 $\pm$ 1.0	12.8 $\pm$ 1.0	14.0 $\pm$ 0.1
血细胞比容%	48.7 $\pm$ 2.7	45.6 $\pm$ 0.9	49.7 $\pm$ 2.4	42.9 $\pm$ 4.5	47.1 $\pm$ 1.1
平均红细胞值(MCV) fl	53.4 $\pm$ 0.6	53.1 $\pm$ 0.7	54.1 $\pm$ 1.4	52.2 $\pm$ 1.6	50.6 $\pm$ 1.0
血小板(K/ μL)	1297 $\pm$ 231.4	1440.7 $\pm$ 92.0	1415.3 $\pm$ 88.5	916.0 $\pm$ 141.6	1503 $\pm$ 190.9
白细胞(K/ μL)	2.4 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 1.7	2.9 $\pm$ 1.8	5.05 $\pm$ 4.1	4.8 $\pm$ 0.8
嗜中性粒细胞(K/ μL)	1.2 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 1.9	2.0 $\pm$ 1.8	3.5 $\pm$ 3.8	2.6 $\pm$ 0.1
淋巴细胞(K/ μL)	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.5
总蛋白(g/dL)	5.8 $\pm$ 0.2	5.5 $\pm$ 0.3	5.9 $\pm$ 0.6	5.5 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 0.1
白蛋白(g/dL)	3.1 $\pm$ 0.0	3.1 $\pm$ 0.2	3 $\pm$ 0.4	2.9 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.3
血液尿素氮(mg/dL)	24 $\pm$ 2.4	27.7 $\pm$ 1.2	22.7 $\pm$ 3.2	23.3 $\pm$ 2.5	25.5 $\pm$ 0.7

[0309] 5.3.5细胞和动物模型中的放射性核素疗法。在与 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -8孵育持续48h之后,PSMA(+)PC3 PIP细胞的克隆形成功效在图2中示出。当细胞被孵育持续2h和24h时,剂的细胞存活分数 >0.8 。在48h孵育之后观察到集落存活的显著损失。 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -8的(37%存活)的 D_0 在相同范围0.3 $\mu\text{Ci/mL}$ -0.6 $\mu\text{Ci/mL}$ 内。

[0310] 使用携带PSMA+PC3PIP肿瘤的NOD/SCID小鼠(n=10/组)和对照组(用盐水处理)进行试验治疗研究,其中携带PSMA+PC3 PIP肿瘤的NOD/SCID小鼠被单次静脉内给药111MBq (3mCi)的剂 ^{177}Lu -PSMA-617、 ^{177}Lu -1、 ^{177}Lu -3和 ^{177}Lu -5(表8)。所有对照组小鼠的体积在14天内达到其初始肿瘤体积的 >5 倍。在注射后4周内治疗组的被安乐死的小鼠主要是由于突然的体重下降,并且与肿瘤生长无关。所有治疗组示显出显著的肿瘤消退直到8周。通过log-rank检验,,治疗组与未经治疗的组相比的差异是统计学显著的($P=0.002$)。如表8中所示,用 ^{177}Lu -3和 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的组中仅一只小鼠达到肿瘤体积 >4 ,并且用这种高剂量的 ^{177}Lu -4治疗的组中有两只小鼠达到肿瘤体积 >4 。在8周之后,来自每个治疗组的3只小鼠被用于详细的血液分析和尸检研究。所选择的代谢和全血细胞计数数据提供于表3、图24和图25A-图25E中。所有经历放射疗法研究的动物都具有正常的肌酐(0.3mg/dL-0.4mg/dL)和

血液尿素氮水平。如图11A-图11E中所示,来自用 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的组的仅一只小鼠显示出升高的嗜中性粒细胞计数(之后多达 $3.5 \pm 3.8\text{K/mL}$;对照, 2.6K/mL)。此外,与对照组和其他治疗组相比,来自 ^{177}Lu -PSMA-617的所有三只被治疗的小鼠的血小板显著降低。

[0311] 对大范围正常组织的H&E染色的病理检查揭示,与对照组相比,治疗组中仅存在中度变化。对于所有治疗组,主要在睾丸和泪腺中鉴定出显著的和令人担忧的变化(图25A-图25E)。用 ^{177}Lu -5治疗的一只小鼠和用 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的所有三只小鼠示出睾丸中的最显著变化。肾中的变化很小,对于所有治疗组仅观察到适度的小管变化。通常与眶外泪腺相邻的腮腺明显不受损伤,并且在用 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的组中存在轻微变化。此外,眶下泪腺显示出与眶外泪腺相似的变化,在用 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的小鼠中尤其明显。用 ^{177}Lu -5治疗的一只小鼠具有胸腺淋巴瘤,形态学与胸腺T淋巴细胞性淋巴瘤一致,这是NOD/SCID小鼠的预期死亡原因,通常开始于约6个月。T淋巴细胞性淋巴瘤被辐射和某些致癌物加速,并且与NOD/SCID小鼠品系中内源性逆转录病毒/逆转录因子的相互作用相关。来自用 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的组的一只小鼠示出肺($<1\text{mm}$)中的肿瘤和转移,以及体腔、浆膜表面(癌症)中的血管内肿瘤细胞,并且在血液涂片上是明显的。细胞大至 $25\mu\text{m}$, (对于小鼠而言)具有通常为2个-3个核仁的非常大的细胞核,以及高有丝分裂速率。睾丸和泪腺的退化变化指示,该动物确实接受了与其他被治疗的小鼠相似的治疗。

[0312] 所有测试的动物具有正常的肌酐值(0.3mg/dL - 0.4mg/dL)和血液尿素氮水平。

[0313] 当终止对 ^{177}Lu -4和 ^{177}Lu -6的治疗监测时,继续对 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -PSMA-617的治疗研究,直到达到预定终点(肿瘤体积 1800mm^3 ,并且体重减轻 $>15\%$)。图18A和图18B显示出 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -PSMA-617的存活数据。 ^{177}Lu -PSMA-617的中位存活为133天相对于 ^{177}Lu -1的234天。相比之下,治疗组未示出任何变化。每只动物的个体肿瘤体积测量结果在图24中示出。鉴于 ^{177}Lu -1展示出良好的治疗效果,使用 18.5MBq (0.5mCi)、 37MBq (1mCi)和 111MBq (3mCi) ($n=5/\text{组}$)的递增剂量进行生长延迟研究长达90天。如图23中所示, ^{177}Lu -1确实示出,观察到与未经治疗的组相比,所有治疗组的显著的肿瘤生长延迟。虽然在治疗后8周,用 0.5mCi 剂量治疗的五只小鼠中有四只达到相对体积 >5 ,但在用 37MBq 剂量治疗的组中仅一只小鼠展示出类似的效果。用 37MBq 和 111MBq 两者治疗的三只小鼠示出了多达120天的完全肿瘤消退,证明与第一次治疗实验观察到的几乎相似的治疗效果。

[0314] 使用PC3PIP肋腹肿瘤模型,在治疗后24h后至192h,还使用 111MBq 剂量的 ^{177}Lu -8 ($n=10$)进行诊疗(SPECT/CT成像和治疗)研究。SPECT/CT成像揭示与 ^{177}Lu -1非常相似的低正常组织和肾摄取的概况,然而,与 ^{177}Lu -1相比的与从生物分布数据预期的相对较高背景摄取。虽然观察到三只小鼠的意外死亡(用于SPECT/CT成像),但在8周之后仅两只小鼠示出具有相对体积 >5 的肿瘤生长。其余治疗的小鼠无瘤存活10个月,并且评估毒性。

[0315] 5.3.6讨论

[0316] 研究了用于治疗患有转移性前列腺癌的患者的一系列新的基于PSMA的低分子量 ^{177}Lu 标记的诊疗剂的SAR。 ^{177}Lu 是目前选择用于PSMA靶向和其他癌症治疗应用的 β^- 发射同位素,因为它比 ^{131}I 和 ^{90}Y 具有更有利的发射性质、生产可行性和辐射安全问题。这项研究的主要动机包括需要了解分子和结构的起源,即解释I型剂对II型剂的差异极大的PK的PSMA靶向部分Lys-Glu-脲在PSMA结合位点中的相互作用。该认识将指导对于具有与 ^{177}Lu -PSMA-617和 ^{177}Lu -PSMA I&T相比的降低的辐射相关副作用的II型剂的研究。目前公开的诊

疗剂建立在充分研究的基于长连接基的靶向平台上^{17,21,26,36-42}。从严格合成的角度来看,旨在扩大放射性诊疗剂的范围和与PSMA结合的化合物的化学空间。本领域并未知晓开发低分子量、基于PSMA的放射性核素疗法的其他类似的密集成努力。

[0317] 目前公开的化合物使用优化的溶液相化学来合成。因此,目前公开的方法学可以容易地适用于工业规模制备,并且预期比固相肽合成方案更便宜。通过从放射性峰中分离游离配体,以可能的最高比放射性合成这些放射性标记的治疗剂。微波辅助放射性标记方法也在低温度40℃产生快速和高放射性标记。系统细胞摄取和内化随后组织生物分布研究揭示了几个重要的发现。

[0318] 首先,对卤代苄基部分与PSMA靶向Glu-Lys-豚的附接提供了高肿瘤摄取和低非特异性正常组织结合。其次,SAR研究证明,与具有三个乙酰化臂的DOTA-单酰胺螯合剂(例如,¹⁷⁷Lu-1)相比,具有四个乙酸供体臂的大环螯合剂DOTA-Bn-SCN(¹⁷⁷Lu-8)和DOTAGA(¹⁷⁷Lu-9)的剂提供了更高的肿瘤摄取和保留。这些剂还显示出与¹⁷⁷Lu-1相比更高的血浆结合,以及¹⁷⁷Lu-PSMA I&T相比更高的初始肾摄取和快得多的肾清除。第三,与刚性连接基相比,具有对溴苄基部分、具有线性连接基的剂示出更高的肿瘤摄取和保留(例如,¹⁷⁷Lu-1对¹⁷⁷Lu-11和¹⁷⁷Lu-9对¹⁷⁷Lu-10)。该观察结果也反映在细胞摄取研究中,尽管发现携带环己基连接基的¹⁷⁷Lu-10/¹⁷⁷Lu-11的更高的内化量。

[0319] 第四,对于¹⁷⁷Lu-14,白蛋白结合部分的附接通过增加血清半衰期^{43,44}提供了更长的肿瘤保留,如最近其他人报道的。然而,如其他人报道的,这些剂与比临床剂¹⁷⁷Lu-PSMA-617或¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T显著更高的肾保留相关。鉴于这些剂示出与I型剂相关的明显特征,预期这些剂显示出与¹⁷⁷Lu-PSMA-617相比高得多的唾液腺和泪腺摄取,如对¹³¹I-MIP1095所看到的^{2,12,13}。尸检研究揭示,泪腺可以用作这些¹⁷⁷Lu-PSMA剂的替代器官,因为在泪腺中可以看到正常器官的严重异常。尽管大多数临床前研究没有报告泪腺摄取,但事实上白蛋白结合剂CTT1403在泪腺中显示出高摄取。²²

[0320] 第五,自阻断研究揭示,具有低肾摄取的¹⁷⁷Lu-1没有导致产生10倍的肾阻断的肿瘤摄取的显著变化,而对于具有高初始肾摄取的¹⁷⁷Lu-9导致产生类似的效果的显著的肿瘤摄取阻断。这是一个重要的发现,因为基于氨基酸的肾保护剂,诸如D-赖氨酸/聚谷氨酸盐示出在提供降低¹⁷⁷Lu-PSMA I&T的肾摄取方面的改善并不成功。⁴⁵该结果证实肾近端小管细胞中的摄取部分是由于PSMA表达。⁴⁶虽然肾毒性不是¹⁷⁷Lu-PSMA放射性核素疗法的主要问题,但阻断策略可用于用²²⁵Ac-PSMA-617的基于PSMA的α粒子疗法的唾液腺相关辐射毒性⁴⁷,以及通常通过基于α粒子的RPT获得的长期肾毒性^{31,48}。

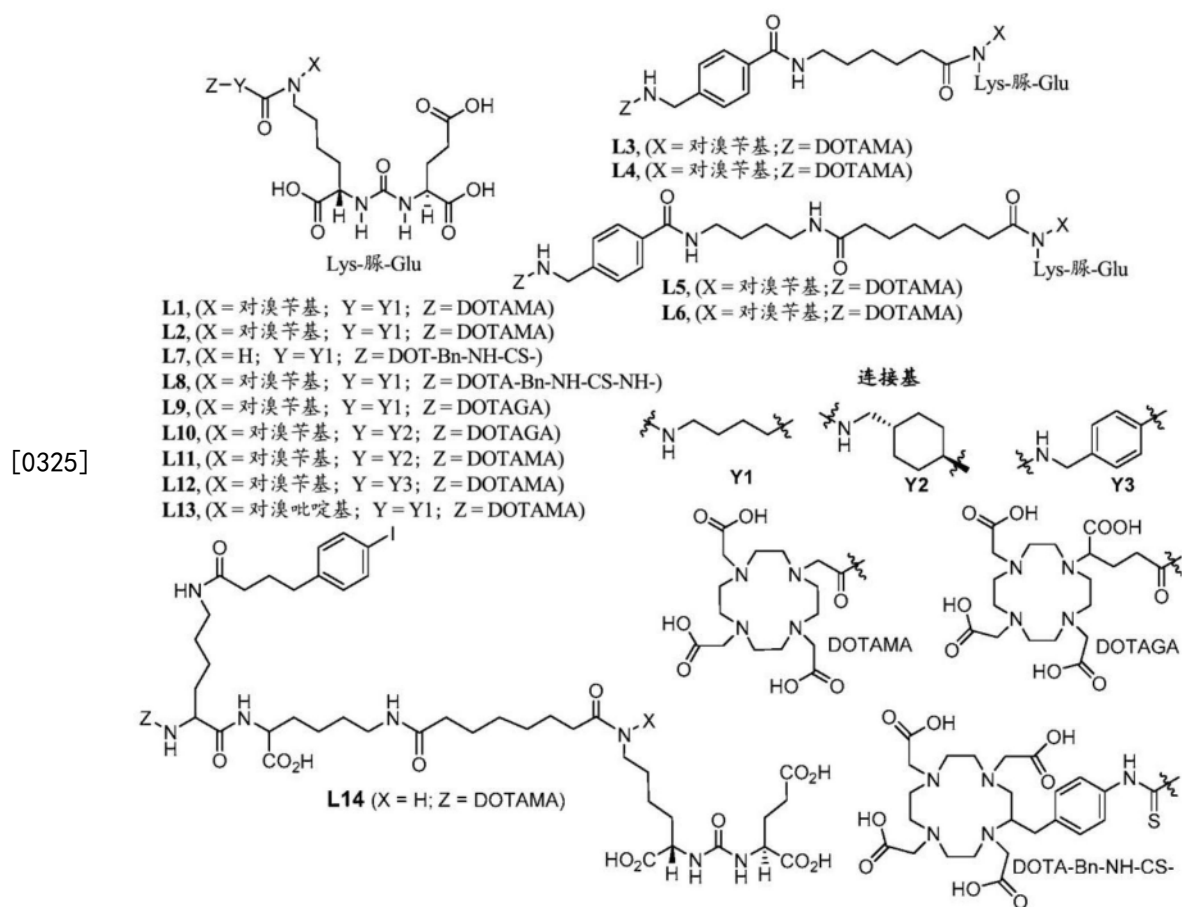
[0321] 5.4材料和方法

[0322] 购自商业来源的溶剂和化学品是分析级或更好的,并且在没有进一步纯化的情况下使用。二异丙基乙胺(DIEA)、三乙胺(TEA)、硝酸镧(III)、N,N,N',N'-四甲基-O-(N-琥珀酰亚胺基)脲四氟硼酸盐(TSTU)、对氨基甲基苯甲酸、Boc-5-氨基戊酸、Boc-6-氨基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺和二琥珀酰亚胺基辛二酸酯均购自Sigma-Aldrich。DOTA-三(叔丁基酯)-单酸(B270)和DOTA-NHS-酯(B280)购自Macrocyclics, Inc. (Dallas, TX)。无载体的[¹⁷⁷Lu]Cl₃(NEZ307000MC)购自PerkinElmer Health Sciences Inc (Shelton, CT, USA)。分析薄层色谱法(TLC)使用Aldrich铝背衬的0.2mm硅胶Z19,329-1板进行,并且通过紫外光(254nm)、I₂和在EtOH中的1%茚三酮可视化。快速色谱法使用购自Bodman (Aston, PA)的硅胶MP

SiliTech 32-63 D60Å进行。所有实验以一式两份或一式三份进行以确保再现性。非放射性标记的化合物的HPLC纯化在Agilent 1260 infinity LC系统(Santa Clara,CA)上使用Phenomenex C₁₈ Luna 10×250mm²柱进行,并且用水(0.1% TFA) (A)和CH₃CN(0.1% TFA) (B)洗脱。采用梯度HPLC法,包含流动相88/22水/CH₃CN持续1min-5min,随后是0min-5min水88/12水/CH₃CN,并且从5min-25min 88/22水/CH₃CN至44/56水/乙腈,其中流量为8mL/min。¹HNMR光谱被记录在Bruker Ultrashield™ 500MHz光谱仪上。通过参考由NMR溶剂的不完全氘化产生的质子共振,以低场ppm记录化学位移(δ)。低分辨率ESI质谱在Bruker Daltonics Esquire 3000Plus光谱仪上获得。高分辨质谱通过在Bruker micrOTOF-II上直接输注或者通过经由具有用Bruker micrOTOF-Q II偶联的C18柱的超高压Dionex RSLC的LC洗脱使用ESI由the University of Notre Dame Mass Spectrometry&Proteomics Facility,Notre Dame,IN获得。化合物,二叔丁基(((S)-6-((4-溴苄基)氨基)-1-(叔丁氧基)-1-氧代己-2-基)氨基甲酰基)-L-谷氨酸盐5a和二叔丁基(((S)-1-(叔丁氧基)-6-((4-碘苄基)氨基)-1-氧代己-2-基)氨基甲酰基)-L-谷氨酸盐5b,使用以下报告的具有少量修改的方法来制备。⁴⁹粗产物使用C₁₈柱色谱法来纯化,用70%-80%MeOH/H₂O洗脱,以提供0.90g(62%)的油状材料。

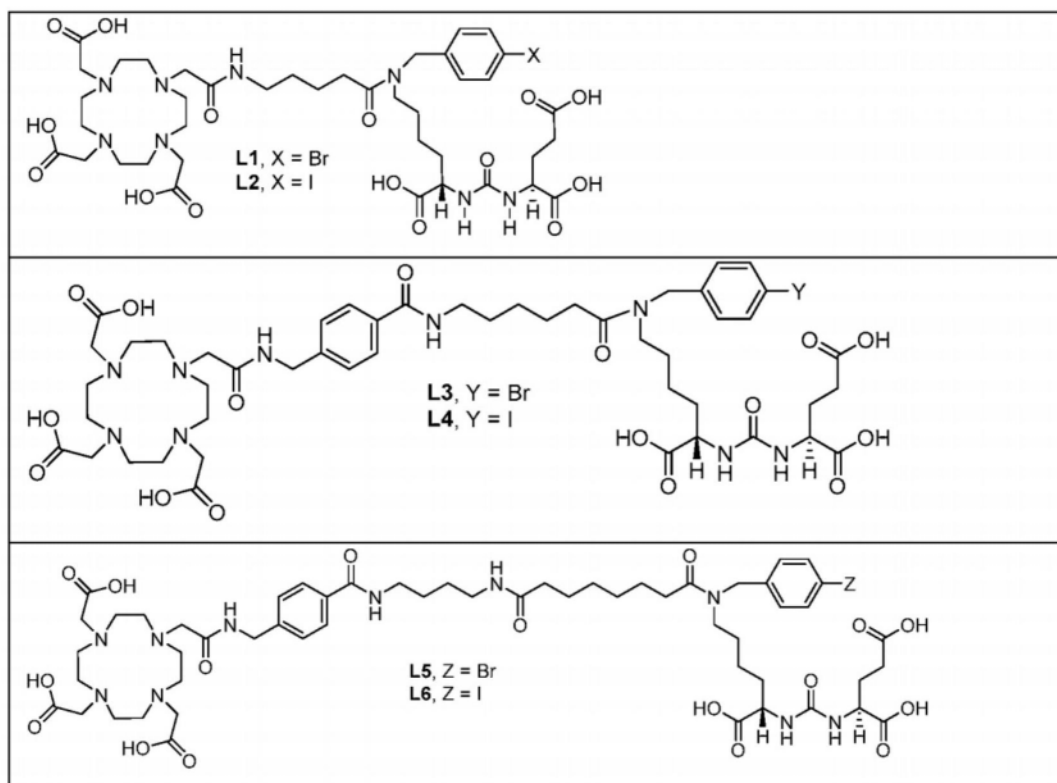
[0323] 5.4.1代表性的化合物的分析数据

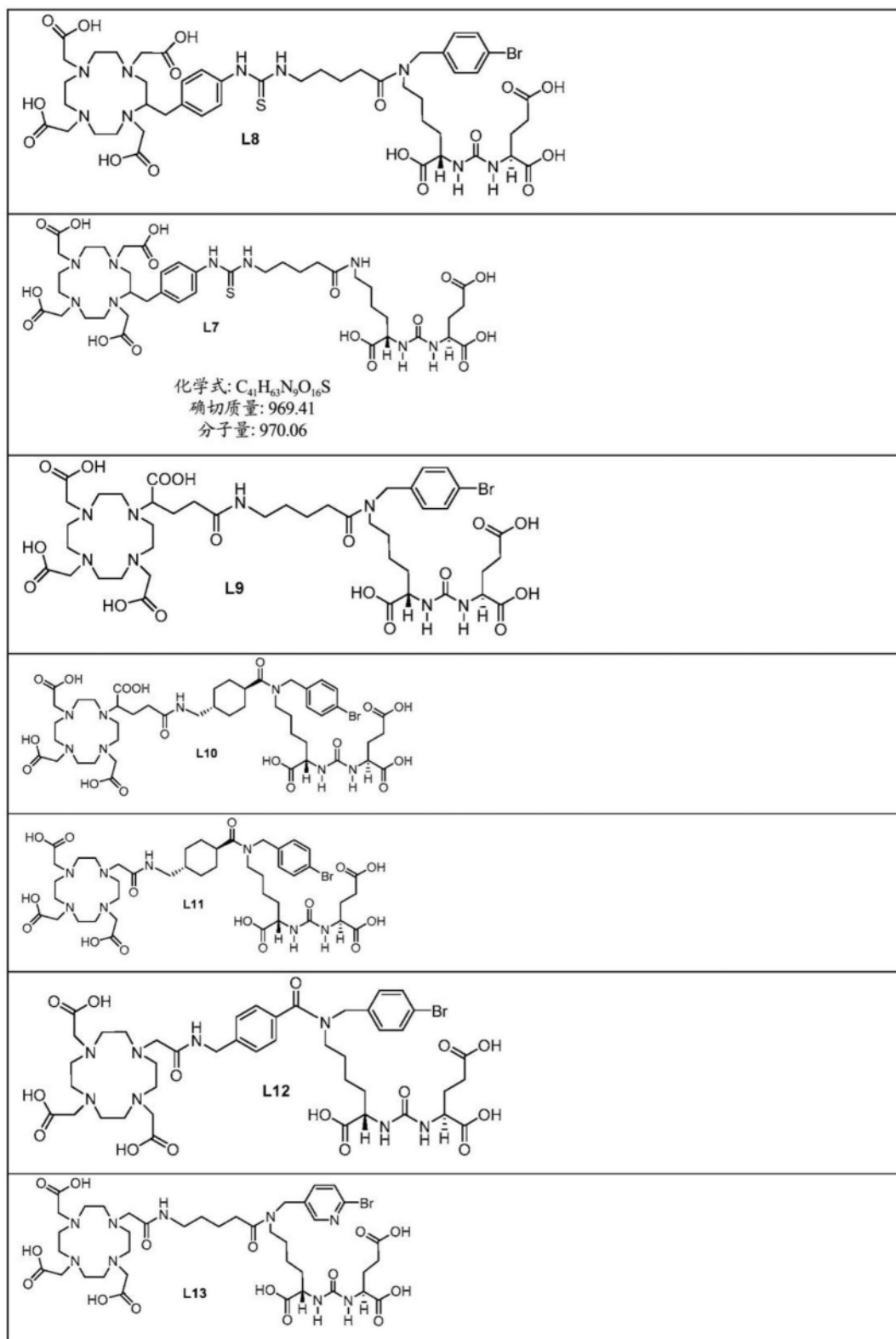
[0324] 式(I)的代表性化合物如下所示:



[0326] 以下化合物代表式(I)的化合物:

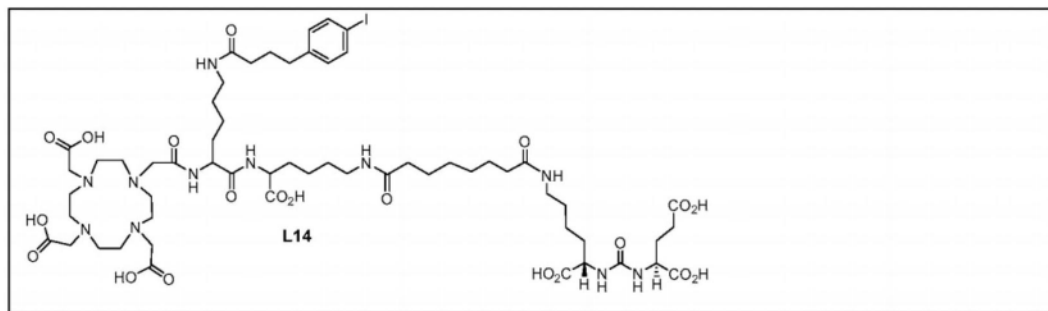
[0327]





[0328]

[0329]



[0330] 配体L1和L2按照如方案2中所示的一般合成路线来合成。下文给出了L2的详细描述。

[0331] (14S,18S)-9-(4-溴苄基)-2,8,16-三氧代-1-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-3,9,15,17-四氮杂二十烷-14,18,20-三羧酸(L1)。将Boc-5-氨基戊酸(0.087g,0.40mmol)、TSTU(0.121g,0.40mmol)和DIPEA(0.103g,0.80mmol)的混合物在室温在DMF(1mL)中搅拌持续1h。在用DMF(1mL)稀释之后逐滴添加化合物1a(0.264g,0.40mmol)。将反应混合物搅拌持续4h,浓缩并通过C₁₈柱色谱法纯化,以100%(在0.1%TFA中)洗脱,提供了0.151g(44%)的作为化合物2a的油状材料。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δppm 7.95(s,1H),7.40(d,J=10Hz,1H),7.34(d,J=10Hz,1H),7.24(s,1H),7.04(d,J=5Hz,1H),6.97(d,J=10Hz,1H),5.48-5.44(m,1H),4.87-4.83(m,1H),4.48-4.36(m,2H),4.26-4.21(m,2H),3.66-3.63(m,1H),3.12-2.95(m,4H),2.90(s,1H),2.81(s,1H),2.73(s,2H),2.33-2.27(s,1H),2.26-2.23(m,3H),2.00-1.98(m,1H),1.77(m,1H),1.66-1.60(m,2H),1.37(s,36H),1.26-1.07(m,2H);ESMS m/z:857.3(M+H)⁺。将50%TFA/CH₂Cl₂(2mL)的冷溶液添加至2a(0.145g,0.17mmol)中,并且在室温搅拌持续2h。将反应混合物浓缩并通过C₁₈柱色谱法纯化,用40%乙腈/水洗脱并冻干,以提供0.067g(67%)的作为化合物3的白色固体产物。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δppm 7.55(d,J=5.0Hz,1H),7.48(d,J=5.0Hz,1H),7.19-7.15(m,2H),4.62-4.53(m,2H),4.33-4.27(m,2H),3.40(s,1H),2.98-2.92(m,2H),2.83(s,1H),2.56(s,1H),2.44(s,3H),2.16(bs,1H),1.93-1.84(m,2H),1.74(s,2H),1.67-1.60(m,5H),1.41-1.40(m,2H);ESMS m/z:589.1(M+H)⁺。将DOTA-NHS-酯(0.090g,0.12mmol)、3a(0.069g,0.08mmol)和DIPEA(0.102g,0.79mmol)的反应混合物在室温搅拌持续3h。将反应混合物浓缩并通过HPLC纯化,以提供期望的配体L1。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δppm 12.50(bs,5H),8.38(bs,1H),7.57(d,J=5Hz,1H),7.51(d,J=5Hz,1H),7.18-7.12(m,2H),6.55(bs,1H),6.37-6.29(m,2H),4.53(s,1H),4.46(s,1H),4.11-4.04(m,3H),3.80(bs,4H),3.25-2.77(m,10H),2.39-2.37(m,2H),2.27-2.20(m,4H),1.94-1.92(m,1H),1.72-1.63(m,2H),1.65-1.39(m,9H),1.28-1.22(m,4H);HRESI-MS:对于C₄₀H₆₂BrN₈O₁₅计算的,973.3513[M+H]⁺,实测:973.3542。

[0332] (14S,18S)-9-(4-碘苄基)-2,8,16-三氧代-1-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-3,9,15,17-四氮杂二十烷-14,18,20-三羧酸(L2)。化合物L3按照与方案3中相同的步骤通过采用1b作为起始反应物并且采用2c和3c作为中间体来制备。化合物7c使用与关于7a描述的相同方法使用5b作为起始材料来制备。粗产物使用柱色谱法来纯化,用10%丙酮/CH₂Cl₂洗脱,以提供无色油状材料。¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δppm 7.45(m,1H),7.35(t,J=5Hz,1H),7.29(m,1H),7.21(m,1H),7.15(d,J=5Hz,1H),5.70(m,1H),

4.58-4.47 (m, 1H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.40-3.30 (m, 1H), 3.16-3.08 (m, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.41-2.26 (m, 4H), 2.09-2.04 (1H), 1.85-1.80 (m, 1H), 1.75-1.62 (m, 4H), 1.58-1.52 (m, 3H), 1.44 (m, 27H), 1.35 (m, 6H)。

[0333] 化合物3c使用与关于3a描述的相同方法使用2c作为起始材料来制备。将粗产物使用HPLC纯化。L2的光谱数据：¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.39 (bs, 1H), 7.38 (t, J=10Hz, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.21-7.18 (m, 2H), 6.36-6.29 (m, 2H), 4.56-4.50 (m, 2H), 4.11-4.01 (m, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.59 (s, 4H), 3.19-3.17 (m, 9H), 3.06 (s, 9H), 2.39 (t, J=5Hz, 1H), 2.30-2.23 (m, 3H), 1.91 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.63-1.39 (m, 8H), 1.24 (m, 2H); HRESI-MS: 对于C₄₀H₆₁IN₈O₁₅计算的, 1020.3301[M+H]⁺。

[0334] (14S, 18S) -9- (4-溴苄基) -1, 8, 16-三氧代-1- (4- ((2- (4, 7, 10-三(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酰胺基) 甲基) 苯基) -2, 9, 15, 17-四氮杂二十烷-14, 18, 20-三羧酸 (L3): 7b按照与关于7a描述的相同方法并且通过用Boc-6-氨基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺替代Boc-5-氨基戊酸来制备。产生0.115g (46%) 的油状材料。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 7.41 (d, J=10Hz, 1H), 7.35 (d, J=10Hz, 1H), 7.04 (d, J=5Hz, 1H), 6.97 (d, J=10Hz, 1H), 5.47 (d, J=10Hz, 1H), 5.10-5.03 (m, 1H), 4.63-4.56 (m, 1H), 4.44 (s, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.27-4.22 (m, 2H), 3.29-3.21 (m, 1H), 3.07-3.01 (m, 5H), 2.30-2.19 (m, 4H), 2.03-1.98 (m, 1H), 1.80-1.75 (m, 1H), 1.66-1.58 (m, 7H), 1.49-1.45 (m, 4H), 1.38 (m, 27H), 1.27-1.04 (m, 5H); ESMS m/z: 871.3 (M+H)⁺。化合物3b使用与关于3a描述的相同方法使用2b作为起始材料来制备。粗产物在没有进一步纯化的情况下按照原样被用于下一步骤。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 7.73 (bs, 3H), 7.76 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.50 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.18-7.14 (m, 2H), 6.34 (m, 2H), 4.53 (s, 1H), 4.46 (m, 2H), 3.22-3.17 (m, 2H), 2.82-2.73 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.37 (s, 1H), 2.25 (m, 2H), 1.93 (s, 1H), 1.74-1.71 (m, 1H), 1.64 (s, 1H), 1.55-1.40 (m, 6H), 1.35-1.33 (m, 1H), 1.25 (s, 4H); ESMS m/z: 603.2 (M+H)⁺。将4 (0.065g, 0.08mmol)、3b (0.047g, 0.08mmol) 和DIPEA (0.101g, 0.80mmol) 的反应混合物在室温在DMSO (1mL) 中搅拌持续3h。将反应混合物浓缩并通过HPLC纯化。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 12.65 (brs, 5H), 8.42-8.39 (m, 1H), 7.84-7.81 (m, 2H), 7.56 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.49 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.38 (d, J=5.0Hz, 2H), 7.17-7.12 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.53 (m, 3H), 4.46-4.40 (m, 5H), 4.10-3.98 (m, 9H), 3.63 (bs, 5H), 3.26-3.14 (m, 13H), 2.38 (m, 2H), 2.31-2.20 (m, 3H), 1.93-1.92 (m, 1H), 1.72-1.71 (m, 1H), 1.63-1.41 (m, 8H), 1.34 (m, 1H), 1.25 (brs, 3H); HRESI-MS: 对于C₄₉H₇₁BrN₉O₁₆计算的, 1120.4197[M+H]⁺, 实测: 1120.4200。

[0335] (14S, 18S) -9- (4-碘苄基) -1, 8, 16-三氧代-1- (4- ((2- (4, 7, 10-三(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酰胺基) 甲基) 苯基) -2, 9, 15, 17-四氮杂二十烷-14, 18, 20-三羧酸 (L4)。中间体化合物2d按照与关于2a描述的相同方法通过用Boc-6-氨基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺替代Boc-5-氨基戊酸, 并且还用1b替代1a作为反应物来制备。2d的光谱数据。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δppm 7.66 (brs, 1H), 7.61 (d, J=10Hz, 1H), 7.55 (d, J=10Hz, 1H), 7.15 (brs, 1H), 6.90 (d, J=5Hz, 1H), 6.84 (d, J=10Hz, 1H), 5.30 (m, 1H), 5.09-5.03 (m, 1H), 4.63-4.58 (m, 1H), 4.43 (s, 1H), 4.39-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 3H), 3.07-3.00 (m, 3H), 2.30-2.22 (m, 5H), 2.00-1.98 (m, 1H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.70-1.64 (m, 3H), 1.62-1.61 (m, 2H), 1.38 (s, 36H), 1.32-1.09 (m, 3H); ESMS m/z: 917.3 (M+H)⁺。3d的光谱数据。¹H NMR

(500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7.87 (d, J=10Hz, 1H), 7.72 (d, J=10Hz, 1H), 7.66 (d, J=10Hz, 1H), 7.30 (d, J=10Hz, 1H), 7.04-6.99 (m, 1H), 4.59-4.51 (m, 1H), 4.32-4.25 (m, 3H), 3.69-3.66 (m, 1H), 3.38-3.35 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.96-2.89 (m, 1H), 2.51-2.45 (m, 1H), 2.43-2.39 (m, 3H), 2.17-2.14 (m, 1H), 1.91-1.72 (m, 2H), 1.71-1.62 (m, 6H), 1.45-1.28 (m, 8H); ESMS m/z: 649.2 (M+H)⁺。L4的光谱数据。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 9.16 (bs, 4H), 8.41 (m, 4H), 7.82 (t, J=10.0Hz, 2H), 7.72 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.66 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.37 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.01 (d, J=5.0Hz, 2H), 6.37-6.30 (m, 2H), 4.44-4.39 (m, 8H), 4.11-3.97 (m, 9H), 3.66-3.61 (m, 5H), 3.16-3.08 (m, 13H), 2.30 (m, 1H), 2.29-2.20 (m, 2H), 1.94-1.92 (m, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.66-1.64 (m, 2H), 1.55-1.47 (m, 8H); HRESI-MS: 对于C₄₉H₇₁IN₉O₁₆计算的, 1168.4058 [M+H]⁺, 实测: 1168.4045。

[0336] (21S, 25S) -16- (4-溴苄基) -1,8,15,23-四氧代-1- (4- ((2- (4,7,10-三(羧甲基) -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酰胺基) 甲基) 苯基) -2,7,16,22,24-五氮杂二十七烷-21,25,27-三羧酸 (L5)。配体L5按照如方案4中描绘的多步骤有机合成方法来制备。将1a (0.190g, 0.29mmol)、Et₃N (0.029g, 0.29mmol) 和DMF (1mL) 的溶液逐滴添加到在DMF (1mL) 中的二琥珀酰亚胺基辛二酸酯 (0.223g, 0.61mmol) 的搅拌溶液中。将反应混合物搅拌过夜, 浓缩并通过快速柱色谱法纯化, 用30%乙腈/CH₂Cl₂洗脱, 提供了0.120g (46%) 的油状材料。ESMS m/z: 911.3 (M+H)⁺。化合物8使用与关于10描述的相同方法来制备。粗产物通过柱色谱法来纯化, 用40% - 60%乙腈/CH₂Cl₂洗脱, 以提供0.090g (40%) 的油状材料。¹H NMR (500MHz, CDCl₃-d₆) δ ppm 7.70 (brs, 1H), 7.62 (d, J=5.0Hz, 1H), 7.55 (d, J=10.0Hz, 1H), 6.91 (d, J=5.0Hz, 1H), 6.85 (d, J=5.0Hz, 1H), 5.41 (d, J=5.0Hz, 1H), 5.33 (d, J=10.0Hz, 1H), 5.09-5.02 (m, 1H), 4.45-4.35 (m, 2H), 4.25-4.19 (m, 3H), 3.41-3.34 (m, 1H), 3.12-3.05 (m, 2H), 2.57-2.50 (m, 2H), 2.31-2.18 (m, 5H), 1.97 (m, 1H), 1.86-1.77 (m, 3H), 1.71-1.63 (m, 5H), 1.57-1.46 (m, 5H), 1.37 (m, 27H); ESMS m/z: 957.2 (M+H)⁺。化合物12使用与关于3a描述的相同方法来制备。粗产物通过C-18柱色谱法来纯化, 用40% - 50%乙腈/水洗脱, 以提供0.057g (58%) 的产物。ESMS m/z: 743.2 (M+H)⁺。化合物L6使用与关于L1描述的相同方法使用化合物1a和12作为起始材料来制备。将反应混合物浓缩并通过HPLC来纯化。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.97 (brs, 1H), 8.43 (t, J=5.0Hz, 1H), 7.83 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.78-7.73 (m, 1H), 7.56 (d, J=10.0Hz, 1H), 7.50 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.38 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.17-7.14 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.52-4.39 (m, 8H), 4.09-4.00 (m, 6H), 3.65-3.60 (m, 5H), 3.26-3.08 (m, 11H), 3.07-3.04 (m, 3H), 2.36-2.33 (m, 1H), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.06-2.01 (m, 2H), 1.93-1.92 (m, 1H), 1.73-1.64 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 11H), 1.26-1.19 (m, 6H); HRESI-MS: 对于C₅₅H₈₂BrN₁₀O₁₇计算的, 1233.5037 [M+H]⁺, 实测: 1233.5029。

[0337] (21S, 25S) -16- (4-碘苄基) -1,8,15,23-四氧代-1- (4- ((2- (4,7,10-三(羧甲基) -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酰胺基) 甲基) 苯基) -2,7,16,22,24-五氮杂二十七烷-21,25,27-三羧酸 (L6)。化合物L7使用与关于L5描述的相同方法来制备。将粗产物通过HPLC纯化。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.97 (brs, 1H), 8.43 (t, J=5.0Hz, 1H), 7.83 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.78-7.72 (m, 2H), 7.67 (d, J=5.0Hz, 1H), 7.55 (bs, 1H), 7.39 (d, J=10.0Hz, 2H), 7.03-6.99 (m, 2H), 6.36-6.30 (m, 2H), 4.52-4.39 (m, 4H), 4.11-4.00 (m, 6H), 3.64 (m, 4H), 3.26-3.04 (m, 14H), 2.35-2.33 (m, 1H), 2.27-2.22 (m, 3H), 2.20-2.01 (m, 2H), 1.93-1.92 (m,

1H), 1.73-1.62 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 11H), 1.26-1.19 (m, 6H); HRESI-MS: 对于 $C_{55}H_{82}IN_{10}O_{17}$ 计算的, 1281.4899 $[M+H]^+$, 实测: 1281.4889。

[0338] (13S, 17S) -8- (4-溴苄基) -7, 15-二氧化-1- ((4- ((1, 4, 7, 10-四(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-2-基) 甲基) 苯基) 氨基) -1-硫代-2, 8, 14, 16-四氮杂十九烷-13, 17, 19-三羧酸 (L8)。将对-SCN-Bn-DOTA (12.2mg, 17.7 μ mol) 添加到平衡至40℃的在DMSO (130 μ L) 中的5a (12.2mg) 和DIPEA (15.2 μ L, 87.0 μ mol) 的搅拌溶液中。将反应混合物在40℃搅拌持续4小时, 并且在4℃储存过夜。将反应混合物通过反相HPLC (保持20% ACN持续5min, 然后经19分钟保持20%-40%) 纯化。 R_t 约12分钟。将纯化的级分合并、旋转蒸发以减小体积, 并且然后冻干。ESI-MS: 1138.37 $[M+H]^+$, 实测: 1138.5。将化合物1用梯度法通过HPLC进一步纯化。HPLC法是一种梯度法, 包含流动相88%水 (包含0.1% TFA) 和22% CH_3CN (0.1% TFA) 持续1min-5min, 随后是0min-5min 88%水 (包含0.1% TFA) 和12% CH_3CN (0.1% TFA), 并且从5min-25min 88%水至44%水和12%乙腈至56%乙腈, 其中流量为8mL/min。

[0339] (13S, 17S) -7, 15-二氧化-1- ((4- ((1, 4, 7, 10-四(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-2-基) 甲基) 苯基) 氨基) -1-硫代-2, 8, 14, 16-四氮杂十九烷-13, 17, 19-三羧酸 (L7)。将对-SCN-Bn-DOTA (8.0mg, 11.6 μ mol) 添加到平衡至40℃的在DMSO (150 μ L) 中的5a和DIPEA (10.1 μ L, 58 μ mol) 的搅拌溶液中。将反应混合物在40℃搅拌持续4小时, 随后冷却至室温, 用水稀释, 并且最后通过反相HPLC (保持12% ACN持续5min, 然后经过20分钟保持12%-32%) 纯化。 R_t 约12分钟。将纯化的级分合并、蒸发以减小体积, 并且然后冻干。计算的M/Z, 970.41。实测的M/Z, 970.4。ESI-MS: 970.05 $[M+H]^+$, 实测: 970.1。

[0340] (3S, 7S) -12- (4-溴苄基) -5, 13, 19-三氧代-22- (4, 7, 10-三(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) -4, 6, 12, 18-四氮杂二十二烷-1, 3, 7, 22-四羧酸 (L9)。将DOTA-GA酸酐 (0.087g, 0.19mmol) 、8a (0.075g, 0.13mmol) 和DIPEA (0.066g, 0.51mmol) 的悬浮液在室温声处理持续1h, 然后在室温另外搅拌持续2h。将反应混合物浓缩并经由HPLC纯化。ESMS m/z : 1047.2 $(M+H)^+$ 。 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12.66 (bs, 4H), 7.86-7.82 (m, 1H), 7.56 (d, $J=10$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=10$ Hz, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.34-6.29 (m, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.12-4.04 (m, 5H), 3.50 (m, 4H), 3.29 (m, 3H), 3.19 (m, 3H), 3.07-2.90 (m, 8H), 2.38 (m, 3H), 2.25 (m, 3H), 1.94-1.90 (m, 3H), 1.71 (m, 2H), 1.53-1.43 (m, 6H), 1.42 (m, 1H), 1.41-1.23 (m, 3H); ESMS m/z : 1047.2 $(M+H)^+$ 。HRESI-MS: 对于 $C_{43}H_{65}BrN_8O_{17}$ 计算的, 1047.3714 $[M+H]^+$, 实测: 1045.3705。

[0341] (((1S) -5- ((1R, 4r) -N- (4-溴苄基) -4- ((4-羧基-4- (4, 7, 10-三(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) 丁酰氨基) 甲基) 环己烷-1-甲酰氨基) -1-羧基戊基) 氨基甲酰基) -L-谷氨酸 (L11) (VK03-51)。将反式-4- (Fmoc-氨基甲基环己烷羧酸) (0.069g, 0.18mmol) 、TSTU (0.055g, 0.18mmol) 和DIPEA (0.064g, 0.50mmol) 的混合物在室温在DMF (1mL) 中搅拌持续1h。在用DMF (1mL) 稀释之后逐滴添加化合物5a (0.110g, 0.17mmol)。将反应混合物搅拌持续4h, 浓缩并通过硅胶色谱法纯化, 用2% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱, 以提供0.90g (52.94%) 的油状产物。 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ ppm 8.02 (s, 1H), 7.78 (d, $J=5.0$ Hz, 3H), 7.60 (d, $J=10.0$ Hz, 3H), 7.41 (t, $J=10.0$ Hz, 4H), 7.33 (d, $J=10.0$ Hz, 3H), 7.08 (m, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.46 (m, 3H), 4.22 (m, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.81 (s, 1H), 2.59 (t, $J=10.0$ Hz, 1H), 2.32 (m, 1H), 2.20 (s, 2H), 2.08 (m, 1H), 1.85 (m, 4H), 1.60-1.44 (m, 27H), 1.26

(s, 1H), 1.05-0.88(m, 3H)。然后将油状产物溶解在20%哌啶/DMF的溶液中,并且在N₂下在室温搅拌持续3h。将反应混合物浓缩,并且使用10%MeOH/CH₂Cl₂作为洗脱剂进行色谱分离,以提供0.030g(收率=42.8%)的产物。ESMS m/z:795.2(M+H)⁺。将产物(0.030g, 0.04mmol)添加在DOTA-GA酸酐(0.028g, 在1mL中的0.05mmol)和DIPEA(0.024g, 0.18mmol)的悬浮液中,并且在室温声处理持续1h,随后在室温搅拌持续2h。将反应混合物浓缩并且经由Sep-Pak柱使用70%-80%ACN/H₂O作为洗脱剂来纯化。ESMS m/z:1253.4(M+H)⁺。

[0342] ((S)-5-(N-(4-溴苄基)-4-((2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酰胺基)甲基)苯甲酰胺基)-1-羧基戊基)氨基甲酰基)-L-谷氨酸(L12)。

[0343] L1按照如方案2中描述的多步骤有机合成来合成。向DOTA-tBu-酯1(0.4g, 在7mL DMF中的0.5mmol)的溶液中添加对氨基甲基苯甲酸(0.076g, 0.5mmol), 并且将溶液在室温搅拌过夜。将所得的溶液在高真空下蒸发。将固体残留物溶解在20/80乙腈/水中, 并且通过C₁₈ SepPak柱纯化。将产物用60/40和50/50和40/60乙腈/水级分洗脱。将级分合并在一起并蒸发, 随后冻干, 以提供无色固体。收率:0.36g(80%)。ESMS m/z:706.5(M+H)⁺。向化合物2(0.2g, 在DMF中的0.29mmol)的溶液中添加TSTU(0.1g, 0.34mmol)和DMAP(0.17g, 0.1mmol), 并且在室温搅拌过夜。将溶液在高真空下蒸发。将固体残留物溶解在20/80乙腈/水中, 并且通过C₁₈ SepPak柱纯化。将产物, 化合物3, 用50/50和40/60乙腈/水级分洗脱, 并且冻干以获得无色固体。收率:0.23g, 90%, ESMS m/z:802.96(M+H)⁺。将化合物3(0.2g, 0.23mmol)溶解在冰冷的TFA/CH₂Cl₂(1:1)中, 并且搅拌过夜持续18h。将反应混合物浓缩并通过C₁₈柱色谱法纯化, 用50%-60%乙腈/水洗脱, 在冻干之后以良好收率(0.16g, ~60%)获得4。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δppm 9.03(bs, 1H), 8.09(d, J=10.0Hz, 2H), 7.93(d, J=10.0Hz, 1H), 7.59(d, J=5.0Hz, 3H), 7.43(d, J=10.0Hz, 1H), 4.49(m, 3H), 4.04-3.99(m, 6H), 3.66(m, 5H), 2.91(s, 6H), 2.09(s, 1H), 1.54(s, 3H), 1.23(s, 1H); ESMS m/z:635.3(M+H)⁺。通过添加在DMSO(1mL)中的4(0.200g, 0.36mmol)和5a⁴⁹(0.050g, 0.16mmol), 随后添加DIPEA(0.406g, 3.65mmol)来合成化合物6, 并且将反应混合物在室温搅拌过夜。将粗产物浓缩并且在没有进一步纯化的情况下使用。将50%TFA/CH₂Cl₂(2mL)的冷溶液添加到6(0.050g, 0.04mmol)中, 并且在室温搅拌持续2h。将反应混合物浓缩并通过HPLC纯化, 以良好收率获得最终产物L1。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δppm 12.80(brs, 3H), 8.94(s, 1H), 7.56(m, 3H), 7.38-7.34(m, 4H), 7.15(m, 1H), 6.35(d, J=10Hz, 2H), 4.64(m, 4H), 4.43-4.39(m, 5H), 4.13-3.99(m, 7H), 3.63(bs, 4H), 3.14(m, 9H), 2.37-2.18(m, 2H), 1.95-1.89(m, 1H), 1.74-1.68(m, 1H), 1.55-1.49(m, 3H), 1.39-1.30(m, 2H), 1.05(m, 1H); HRESI-MS: 对于C₄₃H₆₀BrN₈O₁₅计算的, 1007.3356[M+H]⁺, 实测:1007.3367。

[0344] (14S, 18S)-9-((6-溴吡啶-3-基)甲基)-2,8,16-三氧代-1-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-3,9,15,17-四氮杂二十烷-14,18,20-三羧酸(L13)(VK02-112)。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δppm 7.21(m, 1H), 7.13(m, 2H), 6.12(bs, 1H), 5.90(bs, 1H), 4.29(s, 1H), 4.19-4.15(m, 2H), 3.26(m, 1H), 2.93(m, 2H), 2.34-2.23(m, 3H), 2.07-2.02(m, 1H), 1.82-1.76(m, 1H), 1.70-1.64(m, 3H), 1.56-1.53(m, 1H), 1.43-1.37(m, 27H), 1.27(d, J=5Hz, 2H); ESMS m/z:657.2(M+H)⁺。将产物使用70%-90%ACN/H₂O在C-18 Sep-Pak柱上纯化。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δppm 8.25(s, 1H), 7.49(m, 1H), 7.43(m, 1H), 5.95(m, 1H), 5.36(m, 1H), 4.80(s, 1H), 4.51(m, 2H), 4.36-4.33(m, 3H), 3.24-3.09(m, 5H),

2.40-2.29 (m, 6H), 2.10-2.05 (m, 2H), 1.85-1.76 (m, 3H), 1.72-1.66 (m, 3H), 1.60-1.36 (m, 36H); ESMS m/z : 856.3 (M+H)⁺。将产物使用3% MeOH/CH₂Cl₂作为洗脱剂在硅胶上纯化。收率17.4%。将产物使用50%-60% ACN/H₂O在C-18Sep-Pak柱上纯化。收率82.6%。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.27 (s, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.26-7.13 (m, 1H), 6.41-6.36 (m, 1H), 4.48 (dd, J=2.0, 1.5Hz, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.23 (m, 1H), 2.79 (bs, 2H), 2.42 (s, 1H), 2.33-2.21 (m, 3H), 1.94 (m, 1H), 1.75-1.65 (m, 2H), 1.57-1.42 (m, 6H), 1.28-1.23 (m, 3H), 1.10 (dd, J=5, 2.5, 1.5Hz, 1H); ESMS m/z : 588.2 (M+H)⁺。

[0345] (3S, 7S, 26S, 29R) -38- (4-碘苯基) -5, 13, 20, 28, 35-五氧代-29- (2- (4, 7, 10-三(羧甲基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酰胺基) -4, 6, 12, 21, 27, 34-六氮杂四十烷-1, 3, 7, 26-四羧酸 (L14) (SR-IX-14A)。

[0346] 5.4.2放射性标记和血清稳定性。对于每个放射性标记反应, 将在200mM NaOAc (pH 4-5) 中的每mCi的¹⁷⁷Lu的约1nmol的放射性配体在微波中在95℃和40w的功率下加热持续5min。将反应溶液用300μL水稀释。络合作用通过将20μL-40μL溶液的等分试样注入到HPLC上来监测。以~98%的放射化学收率获得放射性标记的产物 [¹⁷⁷Lu]X, 并且放射化学纯度为>99%。将所有放射性标记的化合物使用Phenomenex C₁₈ Luna 10×250mm²柱和Agilent Prostar System (Palo Alto, CA) 纯化, 该Agilent Prostar System配备有均由Galaxie软件控制的Varian ProStar 325UV-Vis可变波长检测器和Bioscan (Poway, CA) Flow count在线放射性检测器。在水 (0.1% TFA) (A) 和CH₃CN (0.1% TFA) (B) 作为洗脱溶剂的情况下, 流量为1mL/min。为了确保均匀的纯度, 使用等度溶液以从放射性标记的化合物中分离过量的配体。比放射性被计算为在制备型HPLC纯化期间产物的保留时间时洗脱的放射性与对应于UV吸收曲线下面积的质量的比率。如通过分析型HPLC确定的在254nm处吸收的测试化合物的纯度为>95%。

[0347] 获得放射性标记的HPLC方法和HPLC色谱图 (数据未示出)。化合物的比活性为>37MBq/nmol (n>12)。将酸性洗脱物用50μL 1M Na₂CO₃溶液中和, 并且在真空下将洗脱物的体积减少至干燥。将固体残留物用盐水和2μL的抗坏血酸 (200mg/mL) 稀释至用于所有生物研究 (包括生物分布、成像和治疗研究) 的期望的放射性浓度。还使用硅胶即时TLC (ITLC) 在流动相中用10mM二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 来评估放射性标记收率。将三微升的稀释的样品点在ITLC硅胶带上, 并且允许在色谱室中显影。在完成向溶剂前沿的迁移后, 允许ITLC样品带干燥, 切成两半, 并且在Wallac Wizard γ-计数器 (Perkin-Elmer, Boston, MA) 上计数, 以确定放射性标记收率。放射化学纯度经由高效液相色谱法 (HPLC) 分析来评估。

[0348] 5.4.3细胞系。使用雄激素非依赖性PC3人前列腺癌细胞系的亚系, 其最初源自晚期雄激素非依赖性骨转移。这些亚系已被修饰以表达高水平的PSMA [PSMA-阳性 (+) PC3 PIP] 或者不含靶 [PSMA-阴性 (-) PC3 flu]。它们由Dr. Warren Heston (Cleveland Clinic) 慷慨地提供。使细胞在含有10%胎牛血清 (FBS) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 和1%青霉素-链霉素 (Corning Cellgro, Manassas, VA) 的RPMI 1640培养基 (Corning Cellgro, Manassas, VA) 中生长。使PSMA+PC3 PIP细胞在20μg/mL的嘌呤霉素的存在下生长, 以维持PSMA表达。将所有细胞培养物保持在加湿培养箱中37.0℃、含有5%二氧化碳 (CO₂) 的气氛中。

[0349] 5.4.4细胞摄取和内化的确定。细胞摄取研究如先前报告的进行。⁵⁰将细胞 (100万

个)在6孔板的生长培养基中与37kBq/mL (1 μ Ci/mL)的每种放射性标记的剂一起孵育。为了确定特异性细胞摄取,将细胞用ZJ43预封闭至最终浓度为10 μ M。细胞摄取通过用1mL冰冷的PBS洗涤而终止。在37℃孵育持续20min和60min之后,将细胞用结合缓冲液洗涤,使用无酶缓冲液胰蛋白酶化,并且在 γ 光谱仪(1282Compugamma CS;Pharmacia/LKB Nuclear,Inc.)中确定细胞相关活性。对于内化测定,使用无酶缓冲液使细胞脱离,并且将每管100万个细胞的等分试样在37℃与每毫升37kBq (1 μ Ci)的每种放射性标记的剂一起孵育持续1h、2h、4h和24h。假设在4℃受体胞吞最小,内化测定仅对在37℃孵育的细胞进行。在1h、2h、4h和24h间隔,去除培养基并将细胞用结合缓冲液洗涤一次,随后用弱酸性缓冲液(50mM甘氨酸,150mM NaCl[pH 3.0])在4℃持续5min。然后收集酸性缓冲液,并且将细胞用结合缓冲液洗涤两次。将合并的洗涤液(包含细胞表面结合的¹⁷⁷Lu标记的剂)和细胞沉淀(包含内化的¹⁷⁷Lu标记的)以及标准物在自动 γ 计数器中计数。所有放射性值都被转换成每百万细胞孵育剂量的百分比(%ID)。实验以一式三份进行并重复3次。使用PRIZM软件根据线性回归分析将数据拟合。

[0350] 5.4.5生物分布。将携带PSMA(+)PC3PIP和PSMA(-)PC3 flu肿瘤异种移植物的小鼠经由尾静脉注射在150 μ L的盐水中的1.11-1.85MBq (30-50 μ Ci)的¹⁷⁷Lu-X (n=4)。在注射后10min、30min、60min和120min,通过颈脱臼处死小鼠,并且通过心脏穿刺立即收集血液。收集心脏、肺、肝、胃、胰腺、脾、脂肪、肾、肌肉、小肠和大肠、膀胱、PSMA(+)PC3 PIP和PSMA(-)PC3 flu肿瘤。将每个器官称重,并且组织放射性用自动 γ 计数器(1282Compugamma CS, Pharmacia/LKB Nuclear, Inc., Mt. Waverly, Vic. Australia)测量。每克组织注射剂量的百分比(%ID/g)通过与初始计量的标准稀释的样品进行比较来计算。所有测量结果都进行了衰减校正。

[0351] 5.4.6血浆蛋白结合研究和体内代谢。经由静脉内尾静脉注射对小鼠(n=2/组)施用¹⁷⁷Lu-1和¹⁷⁷Lu-9放射性示踪剂(在150 μ L盐水中的3.7mBq)。在施用后2h杀死小鼠。将血液收集在肝素化管中,并离心(5分钟,1700g)以便分离血浆。将血浆样品(50 μ L)转移到超滤装置[Centrifree超滤装置(Millipore Sigma, USA)]中,并离心以分离蛋白质。在 γ 计数器中测量滤液和蛋白质级分的样品。此外,进行ITLC以评估可溶性血液级分中放射性示踪剂稳定性。

[0352] 5.4.7小动物SPECT/CT成像。将所选择的放射性示踪剂(¹⁷⁷Lu-1和¹⁷⁷Lu-14)使用与用于生物分布研究的相同的携带PSMA(+)PC3 PIP肿瘤和PSMA(-)PC3 flu肿瘤两者的异种移植模型(n=2)成像。使用仅携带PSMA(+)PC3 PIP肿瘤的小鼠进行放射治疗剂的SPECT-CT成像。在放射性药物注射之前和注射期间,使用0.6L/min的流量的在氧气中的1%异氟烷气体麻醉小鼠。

[0353] 小鼠经由尾静脉被注射配制在150 μ L的pH 7的盐水中的约37MBq (1mCi)或111MBq (3mCi,用于治疗研究)的¹⁷⁷Lu-X。在允许2h的放射性药物摄取之后,将麻醉的小鼠放置在扫描仪台架上并用医用胶带固定,同时将麻醉流量增加至0.8L/min。通过用几层Chux一次性垫覆盖小鼠并在扫描期间用解剖灯照射来维持小鼠的体温。具有孔尺寸1.0mm,以及在完全360°旋转中逐步旋转64个投影角,45s增量的单针孔中值能量(PHME)准直器用于SPECT成像。旋转半径(ROR)被设置为6.5cm,这提供了7.5cm的视野来覆盖从头部到膀胱的小鼠身体。CT 14扫描在闪烁扫描之前进行,用于解剖配准和衰减校正。在覆盖完全360°旋转的2-

min连续旋转模式下,获得总共512个投影。使用来自供应商 (GammaMedica) 的商业软件重建和融合数据。使用AMIDE软件分析数据。

[0354] 5.4.8肿瘤放射性药物疗法。在PC3PIP肿瘤生长延迟模型中进行抗肿瘤功效研究,以评价 ^{177}Lu -L1、 ^{177}Lu -L3、 ^{177}Lu -L5和 ^{177}Lu -PSMA-617相对于盐水的单剂量静脉内注射的治疗功效。这是一项头对头的比较研究,使用相同批次的荷瘤小鼠和放射性。研究在异种移植物的接种后14天-18天、当所有小鼠具有约 $\sim 60\text{mm}^3$ - 85mm^3 的肿瘤体积时开始(表8)。监测所有活的小鼠持续8周,以监测生长延迟。在整个实验中,每3天监测一次小鼠体重和肿瘤体积。ACUC研究所定义的终点标准是体重减轻 $\geq 15\%$,肿瘤体积 $>1800\text{mm}^3$,肿瘤的活动性溃疡或异常行为指示疼痛或不适。在8周之后,提交来自每组的3只小鼠用于详细尸检和血液分析。继续监测用 ^{177}Lu -1和 ^{177}Lu -PSMA-617治疗的小鼠组直到终点。这些定义也被用于Kaplan-Meier分析。达到初始肿瘤体积5倍的概率使用Kaplan-Meier曲线表征并使用log-rank检验进行比较。用于计算肿瘤体积的公式为 $V = \text{宽度}^2 \times \text{长度} / 2$ 。 ^{177}Lu 治疗组在8周之后的毒性和用111MBq治疗的健康CD-1 ($n=3$) 小鼠中的毒性由Johns Hopkins Pathology Core facility的病理学检查来评估,所述病理学检查具有血清代谢组、血细胞计数和全面尸检,包括肾、唾液腺和泪腺的详细组织病理学。

[0355] 5.4.9数据分析。数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差(SD)。Prism软件(GraphPAD, San Diego, California)被用于确定统计学显著性。统计学显著性使用配对t检验计算。P值 < 0.05 被认为是显著。

[0356] 5.5参考文献

[0357] 1.Kiess, A.P.; Banerjee, S.R.; Mease, R.C.; Rowe, S.P.; Rao, A.; Foss, C.A.; Chen, Y.; Yang, X.; Cho, S.Y.; Nimmagadda, S.; Pomper, M.G. Prostate-specific membrane antigen as a target for cancer imaging and therapy Quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging 2015, 59, 241-68.

[0358] 2.Haberkorn, U.; Eder, M.; Kopka, K.; Babich, J.W.; Eisenhut, M. New Strategies in Prostate Cancer: Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) Ligands for Diagnosis and Therapy. Clinical cancer research 2016, 22, 9-15.

[0359] 3.Sterzing, F.; Kratochwil, C.; Fiedler, H.; Katayama, S.; Habl, G.; Kopka, K.; Afshar-Oromieh, A.; Debus, J.; Haberkorn, U.; Giesel, F.L. (68) Ga-PSMA-11 PET/CT; a new technique with high potential for the radiotherapeutic management of prostate cancer patients. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2016, 43, 34-41.

[0360] 4.Rowe, S.P.; Macura, K.J.; Ciarallo, A.; Mena, E.; Blackford, A.; Nadal, R.; Antonarakis, E.S.; Eisenberger, M.A.; Carducci, M.A.; Ross, A.E.; Kantoff, P.W.; Holt, D.P.; Dannals, R.F.; Mease, R.C.; Pomper, M.G.; Cho, S.Y. Comparison of Prostate-Specific Membrane Antigen-Based 18F-DCFBC PET/CT to Conventional Imaging Modalities for Detection of Hormone-Naïve and Castration-Resistant Metastatic Prostate Cancer. Journal of nuclear medicine 2016, 57, 46-53.

[0361] 5.Benesova, M.; Schafer, M.; Bauder-Wust, U.; Afshar-Oromieh, A.; Kratochwil, C.; Mier, W.; Haberkorn, U.; Kopka, K.; Eder, M. Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging

and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. *Journal of Nuclear Medicine* 2015,56, 914-20.

[0362] 6.Herrmann,K.;Bluemel,C.;Weineisen,M.;Schottelius,M.;Wester,H.J.; Czemin,J.;Eberlein,U.;Beykan,S.;Lapa,C.;Riedmiller,H.;Krebs,M.;Kropf,S.; Schirbel,A.;Bnck,A.K.;Lassmann,M.Biodistribution and radiation dosimetry for a probe targeting prostate-specific membrane antigen for imaging and therapy. *Journal of nuclear medicine* 2015,56,855-61.

[0363] 7.Weineisen,M.;Schottelius,M.;Simecek,J.;Baum,R.P.;Yildiz,A.;Beykan, S.;Kulkarni,H.R.;Lassmann,M.;Klette,I.;Eiber,M.;Schwaiger,M.;Wester,H.J.68Ga- and 177Lu-labeled PSMA I&T:Optimization of a PSMA targeted theranostic concept and first proof of concept human studies. *Journal of nuclear medicine* 2015,56,1169-76.

[0364] 8.Kratochwil,C.;Giesel,F.L.;Eder,M.;Afshar-Oromieh,A.;Benesova, M.; Mier,W.;Kopka,K.;Haberkorn,U. [(1) (7) (7) Lu] Lutetium-labelled PSMA ligand-induced remission in a patient with metastatic prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015,42,987-8.

[0365] 9.Afshar-Oromieh,A.;Hetzheim,H.;Kratochwil,C.;Benesova,M.;Eder,M.; Neels,O.C.;Eisenhut,M.;Kubler,W.;Holland-Letz,T.;Giesel,F.L.;Mier,W.;Kopka, K.;Haberkorn,U.The Theranostic PSMA Ligand PSMA-617 in the Diagnosis of Prostate Cancer by PET/CT:Biodistribution in Humans,Radiation Dosimetry,and First Evaluation of Tumor Lesions. *Journal of Nuclear Medicine* 2015,56,1697-1705.

[0366] 10.Soydal,C.;Ozkan,E.;Akyurek,S.;Kucuk,N.O.Marked Response to 177Lu Prostate-Specific Membrane Antigen Treatment in Patient With Metastatic Prostate Cancer. *Clinical nuclear medicine* 2016,41,159-60.

[0367] 11.Baum R.P.,K.,H.R.,Schuchardt C.,Singh A.,Weineisen M.,Wiessalla S.,Schottelius M.,Mueller D.,Klette I.,Wester H.-J.Lutetium-177 PSMA Radioligand Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer:Safety and Efficacy. *Journal of nuclear medicine* 2016,In Press.

[0368] 12.Hillier,S.;Rubino,K.;Maresca,K.;Marquis,J.;Tesson,M.;Zimmerman,C.; Eckelman,W.;Mairs,R;Joyal,J.;Babich,J. [131I]MIP-1466,a small molecule prostate-specific membrane antigen(PSMA)inhibitor for targeted radiotherapy of prostate cancer(PCa). *Journal of nuclear medicine meeting abstract* 2012,53, 170.

[0369] 13.Zechmann,C.M.;Afshar-Oromieh,A.;Armor,T.;Stubbs,J.B.;Mier,W.; Hadaschik,B.;Joyal,J.;Kopka,K.;Debus,J.;Babich,J.W.;Haberkorn,U.Radiation dosimetry and first therapy results with a (124)I/(131)I-labeled small molecule(MIP-1095)targeting PSMA for prostate cancer therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014,41,1280-92.

- [0370] 14.Haberkorn,U.;Afshar-Oromieh,A.;Giesel,F.;Kopka,K.;Eder,M.;Babich,J.;Kratochwil,C.P8.01PSMA ligands for diagnosis and therapy of prostate cancer.Annals of Oncology 2015,26,ii33.
- [0371] 15.Trover,J.K.;Becketi,M.L...;Wright,G.L.Detection and characterization of the prostate-specific membrane antigen(PSMA) in tissue extracts and body fluids.International Journal of Cancer 1995,62,552-558.
- [0372] 16.Ray Banerjee,S.;Pullambhatla,M.;Foss,C.A.;Falk,A.;Byun,Y.;Nimmagadda,S.;Mease,R.C.;Pomper,M.G.Effect of chelators on the pharmacokinetics of (99m)Tc-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen(PSMA).Journal of medicinal chemistry 2013,56,6108-21.
- [0373] 17.Banerjee,S.R.;P ullambhatla,M.;Foss,C.A.;Nimmagadda,S.;Ferdani,R.;Anderson,C.J.;Mease,R.C.;Pomper,M.G. (6) (4)Cu-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for PET imaging of prostate cancer.Journal of medicinal chemistry 2014,57,2657-69.
- [0374] 18.Eder,M.;Schaefer,M.;Bauder-Wuest,U.;Hull,W.-E.;Waengler,C.;Mier,W.;Haberkom,U.;Eisenhut,M.68Ga-Complex Lipophilicity and the Targeting Property of a Urea-Based P SMA Inhibitor for PET Imaging.Bioconjugate Chemistry 2012,23,688-697.
- [0375] 19.Afshar-Oromieh,A.;Haberkorn,U.;Schlemmer,H.P.;Fenchel,M.;Eder,M.;Eisenhut,M.;Hadaschik,B.A.;Kopp-Schneider,A.;Rothke,M.Comparison of PET/CT and PET/MRI hybrid systems using a 68Ga-labelled PSMA ligand for the diagnosis of recurrent prostate cancer:initial experience.Eur J Nucl Med Mol Imaging 2014,41,887-97.
- [0376] 20.Afshar-Oromieh,A.;Avtzi,E.;Giesel,F.;Holland-Letz,T.;Linhart,H.;Eder,M.;Eisenhut,M.;Boxler,S.;Hadaschik,B.;Kratochwil,C.;Weichert,W.;Kopka,K.;Debus,J.;Haberkorn,U.The diagnostic value of PET/CT imaging with the 68Ga-labelled PSMA ligand HBED-CC in the diagnosis of recurrent prostate cancer.European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2015,42,197-209.
- [0377] 21.Banerjee,S.R.;Foss,C.A.;Castanares,M.;Mease,R.C.;Byun,Y.;Fox,J.J.;Hilton,J.;Lupold,S.E.;Kozikowski,A.P.;Pomper,M.G.Synthesis and evaluation of technetium-99m-and rhenium-labeled inhibitors of the prostate-specific membrane antigen(PSMA).Journal of medicinal chemistry 2008,51,4504-17.
- [0378] 22.Choy,C.J.;Ling,X.;Geruntho,J.J.;Beyer,S.K.;Latoche,J.D.;Langton-Webster,B.;Anderson,C.J.;Berkman,C.E. (177)Lu-Labeled Phosphoramidate-Based PSMA Inhibitors:The Effect of an Albumin Binder on Biodistribution and Therapeutic Efficacy in Prostate Tumor-Bearing Mice.Theranostics 2017,7,1928-1939.
- [0379] 23.Benesova,M.;Umbricht,C.A.;Schibli,R.;Muller,C.Albumin-Binding PSMA

Ligands:Optirmization of the Tissue Distribution Profile.Mol Pharm 2018,15, 934-946.

[0380] 24.Umbricht,C.A.;Benesova,M.;Schibli,R.;Muller,C.Preclinical Development of Novel PSMA-Targeting Radioligands:Modulation of Albumin-Binding Properties To Improve Prostate Cancer Therapy.Mol Pharm 2018.

[0381] 25.Kelly,J.;Amot-Coarasa,A.;Ponnala,S.;Nikolopoulou,A.;Williams,C., Jr.;Schlyer,D.;Zhao,Y.;Kim,D.;Babich,J.W.Trifunctional PSMA-targeting constructs for proslate cancer with unprecedented localization to LNCaP tumors.Eur J Nucl Med Mol Imaging 2018.

[0382] 26.Banerjee,S.R.;Foss,C.A.;Pullambhatla,M.;Wang,Y.;Srinivasan,S.;Hobbs,R.F.;Baidoo,K.E.;Brechbiel,M.W.;Nimmagadda,S.;Mease,R.C.;Sgouros,G.;Pomper,M.G.Preclinical evaluation of ⁸⁶Y-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for dosimetry estimates.Journal of nuclear medicine 2015,56,628-34.

[0383] 27.Kulkarni,H.R.;Singh,A.;Schuchardt,C.;Niepsch,K.;Sayeg,M.;Leshch,Y.;Wester,H.J.;Baum,R.P.PSMA-Based Radioligand Therapy for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer:The Bad Berka Experience Since 2013.Journal of nuclear medicine 2016,57,97s-104s.

[0384] 28.Hillier,S.M.;Kern,A.M.;Maresca,K.P.;Marquis,J.C.;Eckelman,W.C.;Joyal,J.L.;Babich,J.W.¹²³I-MIP-1072,a small-molecule inhibitor of prostate-specific membrane antigen,is effective at monitoring tumor response to taxane therapy.Journal of nuclear medicine 2011,52,1087-93.

[0385] 29.Chen,Y.;Pullambhatla,M.;Foss,C.A.;Byun,Y.;Nimmagadda,S.;Senthamizhchelvan,S.;Sgouros,G.;Mease,R.C.;Pomper,M.G.2-(3-{1-Carboxy-5-[(6-[¹⁸F]fluoro-pyridine-3-carbonyl)-amino]-pentyl}-ureido)-pentanedioic acid, [¹⁸F]DCFPyL,a PSMA-based PET imaging agent for prostate cancer.Clinical cancer research 2011,17,7645-53.

[0386] 30.Chen,Y.;Foss,C.A.;Byun,Y.;Nimmagadda,S.;Pullambhatla,M.;Fox,J.J.;Castanares,M.;Lupold,S.E.;Babich,J.W.;Mease,R.C.;Pomper,M.G.Radiohalogenated Prostate-Specific Membrane Antigen(PSMA)-Based Ureas as Imaging Agents for Prostate Cancer.Journal of Medicinal Chemistry 2008,51,7933-7943.

[0387] 31.Kiess,A.P.;Minn,I.;Vaidyanathan,G.;Hobbs,R.F.;Josefsson,A.;Shen,C.;Brummet,M.;Chen,Y.;Choi,J.;Koumarianou,E.;Baidoo,K.;Brechbiel,M.W.;Mease,R.C.;Sgouros,G.;Zalutsky,M.R.;Pomper,M.G(2S)-2-(3-(1-Carboxy-5-(4-²¹¹At-Astatobenzamido)Pentyl)Ureido)-Pentanedioic Acid for PSMA-Targeted alpha-Particle Radiopharmaceutical Therapy.Journal of nuclear medicine 2016,57, 1569-1575.

[0388] 32.Szabo,Z.;Mena,E.;Rowe,S.;Plyku,D.;Nidal,R.;Eisenberger,M.;Antonarakis,E.;Fan H.;Dannals,R.;Chen,Y.;Mease,R.;Vranesic,M.;Bhatnagar,A.;

Sgouros, G.; Cho, S.; Pomper, M. Initial Evaluation of [18F]DCFPyL for Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Targeted PET Imaging of Prostate Cancer. *Molecular Imaging and Biology* 2015, 1-10.

[0389] 33. Muller, C.; Struthers, H.; Winiger, C.; Zhemosekov, K.; Schibli, R. DOTA conjugate with an albumin-binding entity enables the first folic acid-targeted ¹⁷⁷Lu-radionuclide tumor therapy in mice. *J Nucl Med* 2013, 54, 124-31.

[0390] 34. Tykvart, J.; Schimer, J.; Barinkova, J.; Pachl, P.; Postova-Slavetinska, L.; Majer, P.; Konvalinka, J.; Sacha, P. Rational design of urea-based glutamate carboxypeptidase II (GC PII) inhibitors as versatile tools for specific drug targeting and delivery. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2014, 22, 4099-108.

[0391] 35. Banerjee, S.R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Foss, C.A.; Green, G.; Fox, J.J.; Lupold, S.E.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. Sequential SPECT and optical imaging of experimental models of prostate cancer with a dual modality inhibitor of the prostate-specific membrane antigen. *Angewandte Chemie International Edition* 2011, 50, 9167-70.

[0392] 36. Banerjee, S.R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Green, G.; Fox, J.J.; Horti, A.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. ⁶⁸Ga-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA) for imaging prostate cancer. *Journal of medicinal chemistry* 2010, 53, 5333-41.

[0393] 37. Banerjee, S.R.; Pullambhatla, M.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Foss, C.A.; Green, G.; Fox, J.J.; Lupold, S.E.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. Sequential SPECT and Optical Imaging of Experimental Models of Prostate Cancer with a Dual Modality Inhibitor of the Prostate-Specific Membrane Antigen. *Angewandte Chemie* 2011, 50, 9167-70.

[0394] 38. Banerjee, S.R.; Pullambhatla, M.; Shallal, H.; Lisok, A.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. A modular strategy to prepare multivalent inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA). *Oncotarget* 2011, 2, 1244-53.

[0395] 39. Chen, Y.; Dhara, S.; Banerjee, S.R.; Byun, Y.; Pullambhatla, M.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. A low molecular weight PSMA-based fluorescent imaging agent for cancer. *Biochemical and biophysical research communications* 2009, 390, 624-9.

[0396] 40. Chen, Y.; Pullambhatla, M.; Banerjee, S.R.; Byun, Y.; Stathis, M.; Rojas, C.; Slusher, B.S.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. Synthesis and biological evaluation of low molecular weight fluorescent imaging agents for the prostate-specific membrane antigen. *Bioconjug Chem* 2012, 23, 2377-85.

[0397] 41. Ray Banerjee, S.; Pullambhatla, M.; Foss, C.A.; Falk, A.; Byun, Y.; Nimmagadda, S.; Mease, R.C.; Pomper, M.G. Effect of chelators on the pharmacokinetics of (^{99m}Tc)-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen (PSMA). *J Med Chem* 2013, 56, 6108-21.

[0398] 42. Shallal, H.M.; Minn, I.; Banerjee, S.R.; Lisok, A.; Mease, R.C.; Pomper,

M.G.Heterobivalent agents targeting PSMA and integrin- α v β 3.Bioconjug Chem 2014,25,393-405.

[0399] 43.Dennis,M.S.;Jin,H.;Dugger,D.;Yang,R.;McFarland,L.;Ogasawara,A.;Williams,S.;Cole,M.J.;Ross,S.;Schwall,R.Imaging tumors with an albumin-binding Fab,a novel tumor-targeting agent.Cancer research 2007,67,254-61.

[0400] 44.Dennis,M.S.;Zhang,M.;Meng,Y.G.;Kadkhodayan,M.;Kirchhofer,D.;Combs,D.;Damico,L.A.Albumin binding as a general strategy for improving the pharmacokinetics of proteins.The Journal of biological chemistry 2002,277,35035-43.

[0401] 45.Chatalic,K.L.;Heskamp,S.;Konijnenberg,M.;Molkenboer-Kuenen,J.D.;Franssen,G.M.;Clahsen-van Groningen, M.C.;Schottelius,M.;Wester,H.J.;van Weerden,W.M.;Boerman,O.C.;de Jong,M.Towards Personalized Treatment of Prostate Cancer:PSMA I&T,a Promising Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Theranostic Agent.Theranostics 2016,6,849-61.

[0402] 46.Chang,S.S.Overview of Prostate-Specific Membrane Antigen.Reviews in Urology 2004,6,S13-S18.

[0403] 47.Kratochwil,C.;Bruchertseifer,F.;Rathke,H.;Bronzel,M.;Apostolidis,C.;Weichert,W.;Haberkorn,U.;Giesel,F.L.;Morgenstern,A.Targeted Alpha Therapy of mCRPC with 225Actinium-PSMA-617:Dosimetry estimate and empirical dose finding.Journal of Nuclear Medicine 2017.

[0404] 48.Song,H.;Hobbs,R.F.;Vajravelu,R.;Huso,D.L.;Esaias,C.;Apostolidis,C.;Morgenstern,A.;Sgouros,G.Radioimmunotherapy of breast cancer metastases with alpha-particle emitter 225Ac:comparing efficacy with 213Bi and 90Y.(Cancer Res 2009,69,8941-8.

[0405] 49.Tykvar, J.;Schimer, J.; Bařinková, J.;Pachl, P.; Pořtová-Slavětinská, L.; Majer, P.;Konvalinka, J.;Sácha, P.Rational design of urea-based glutamate carboxy peptidase II (GCP II) inhibitors as versatile tools for specific drug targeting and delivery.Bioorganic&Medicinal Chemistry 2014,22,4099-4108.

[0406] 50.Ray Banerjee,S.;Chen,Z.;Pullambhatla,M.;Lisok,A.;Chen,J.;Mease,R.C.;Pomper,M.G.Preclinical Comparative Study of (68)Ga-Labeled DOTA,NOTA,and HBED-CC Chelated Radiotracers for Targeting PSMA.Bioconjugate chemistry 2016,27,1447-55.

[0407] 参考文献

[0408] 在说明书中提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献表明目前公开的主题所属领域的技术人员的水平。在本说明书中提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献(例如网站、数据库等)通过引用以其整体并入本文,其程度如同每个单独出版物、专利申请、专利和其他参考文献被具体和单独地指示通过引用并入的相同程度。将理解的是,虽然许多专利申请、专利和其他参考文献在本文中被提及,但这些参考文献并不构成任何这些文件形成本领域公知常识的部分的承认。在本说明书与任何并入的参考文献之间有

冲突的情况下,应当以本说明书(包括其任何修改,该修改可能基于并入的参考文献)为准。本文使用了术语的标准的领域公认的含义,除非另外指示。本文使用了各种术语的标准缩写。

[0409] 2008/12/31公布的用于Labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen(PSMA),biological evaluation,and use as imaging agents的属于Pomper, M.G.,Ray,S.,Mease,R.C.,Foss,C的国际PCT专利申请第PCT/US2008/007947号(WO 2009/002529 A2);

[0410] 2009/06/04公布的用于Prostate specific membrane antigen(PSMA)targeted nanoparticles for therapy of prostate cancer的属于Chandran,S.S.,Ray S., Denmeade S.R.,Pomper M.G.,Mease R.C.的国际PCT专利申请第PCT/US2008/013158号(WO 2009070302 A1);

[0411] 2010/09/23公布的用于PSMA-targeting compounds and uses thereof的属于 Pomper M.G.,Mease R.C.;Ray S.,Chen Y.的国际PCT专利申请公布第PCT/US2010/028020 号(WO 2010108125 A2);

[0412] Banerjee,S.R.,Foss,C.A.,Pullambhatla,M.,Wang,Y.,Srinivasan,S.,Hobbs, R.F.,Baidoo,K.E.,Brechbiel,M.W.,Nimmagadda,S.,Mease,R.C.,Sgouros,G.,and Pomper,M.G. (2015)Preclinical evaluation of 86Y-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for dosimetry estimates.Journal of nuclear medicine 56,628-34;

[0413] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Byun,Y.,Nimmagadda,S.,Green,G.,Fox, J.J.,Horti,A.,Mease,R.C.,and Pomper,M.G. (2010) 68Ga-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen(PSMA)for imaging prostate cancer.J Med Chem 53,5333-5341;

[0414] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Byun,Y.,Nimmagadda,S.,Foss,C.A.,Green, G.,Fox,J.J.,Lupold,S.E.,Mease,R.C.,and Pomper,M.G. (2011)Sequential SPECT and optical imaging of experimental models of prostate cancer with a dual modality inhibitor of the prostate-specific membrane antigen.Angewandte Chemie International Edition 50,9167-9170;

[0415] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Shallal,H.,Lisok,A.,Mease,R.C.,and Pomper,M.G. (2011)A modular strategy to prepare multivalent inhibitors of prostate-specific membrane antigen(PSMA).Oncotarget 2,1244-1253;

[0416] Ray Banerjee,S.,Pullambhatla,M.,Foss,C.A.,Falk,A.,Byun,Y.,Nimmagadda, S.,Mease,R.C.,and Pomper,M.G. (2013)Effect of chelators on the pharmacokinetics of (99m)Tc-labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen(PSMA).J Med Chem 56,6108-6121;

[0417] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Foss,C.A.,Nimmagadda,S.,Ferdani,R., Anderson,C.J.,Mease,R.C.,and Pomper,M.G. (2014) (6) (4)Cu-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for PET imaging of prostate cancer.J Med Chem 57,2657-2669;

[0418] Ray Banerjee, S., Chen, Z., Pullambhatla, M., Lisok, A., Chen, J., Mease, R. C., and Pomper, M. G. (2016) Preclinical Comparative Study of (68)Ga-Labeled DOTA, NOTA, and HBED-CC Chelated Radiotracers for Targeting PSMA. *Bioconjug Chem* 27, 1447-1455;

[0419] Benesova, M., Schafer, M., Bauder-Wust, U., Afshar-Oromieh, A., Kratochwil, C., Mier, W., Haberkorn, U., Kopka, K., and Eder, M. (2015) Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. *Journal of nuclear medicine* 56, 914-20;

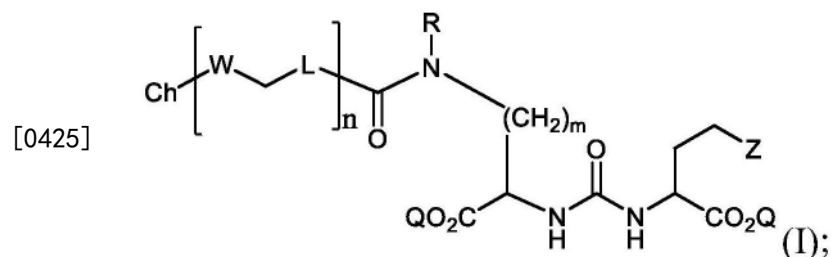
[0420] Tykvart, J., Schimer, J., Jancarik, A., Barinkova, J., Navratil, V., Starkova, J., Sramkova, K., Konvalinka, J., Majer, P., and Sacha, P. (2015) Design of Highly Potent Urea-Based, Exosite-Binding Inhibitors Selective for Glutamate Carboxypeptidase II. *Journal of medicinal chemistry* 58, 4357-63;

[0421] Weineisen, M., Simecek, J., Schottelius, M., Schwaiger, M., and Wester, H.-J. (2014) Synthesis and preclinical evaluation of DOTAGA-conjugated PSMA ligands for functional imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. *EJNMMI Res* 4, 1-15.

[0422] 虽然为了清楚理解的目的通过说明和实例的方式相当详细地描述了前述主题,但是本领域技术人员将理解,在所附权利要求的范围内可以实施某些改变和修改。

[0423] 本发明还涉及以下项目:

[0424] 1. 一种式 (I) 的化合物:



[0426] 其中:

[0427] Z是四唑或CO₂Q;

[0428] Q是H或保护基团;

[0429] m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数;

[0430] R独立地是H或-CH₂-R¹;

[0431] R¹选自由被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;

[0432] L是选自由C₁-C₆亚烷基和C₃-C₆亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;

[0433] W选自由-NR²-(C=O)-、-NR²-(C=S)-、-(C=O)-NR²-、和-(C=S)-NR²-组成的组;

其中L和W的每次出现能够是相同的或不同的;

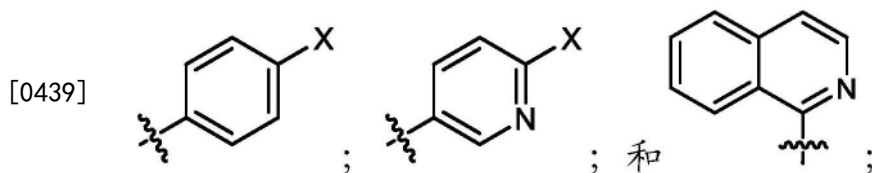
[0434] R²是H或C₁-C₄烷基;

[0435] n是选自由1、2和3组成的组的整数;

[0436] Ch是螯合剂,所述螯合剂能够包含金属或放射性金属。

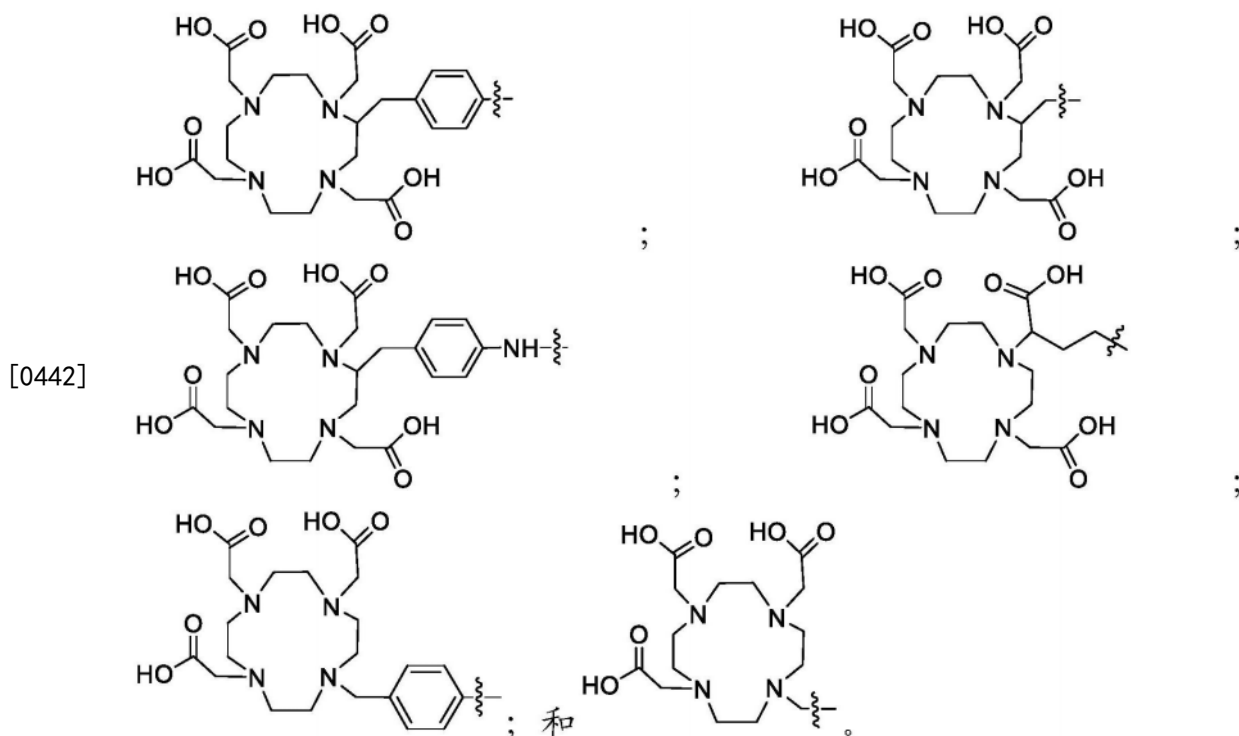
[0437] 和其药学上可接受的盐。

[0438] 2. 如项目1所述的化合物, 其中 R^1 选自由以下组成的组:



[0440] 其中X独立地是Br或I。

[0441] 3. 如项目1所述的化合物, 其中所述整合剂选自由以下组成的组:



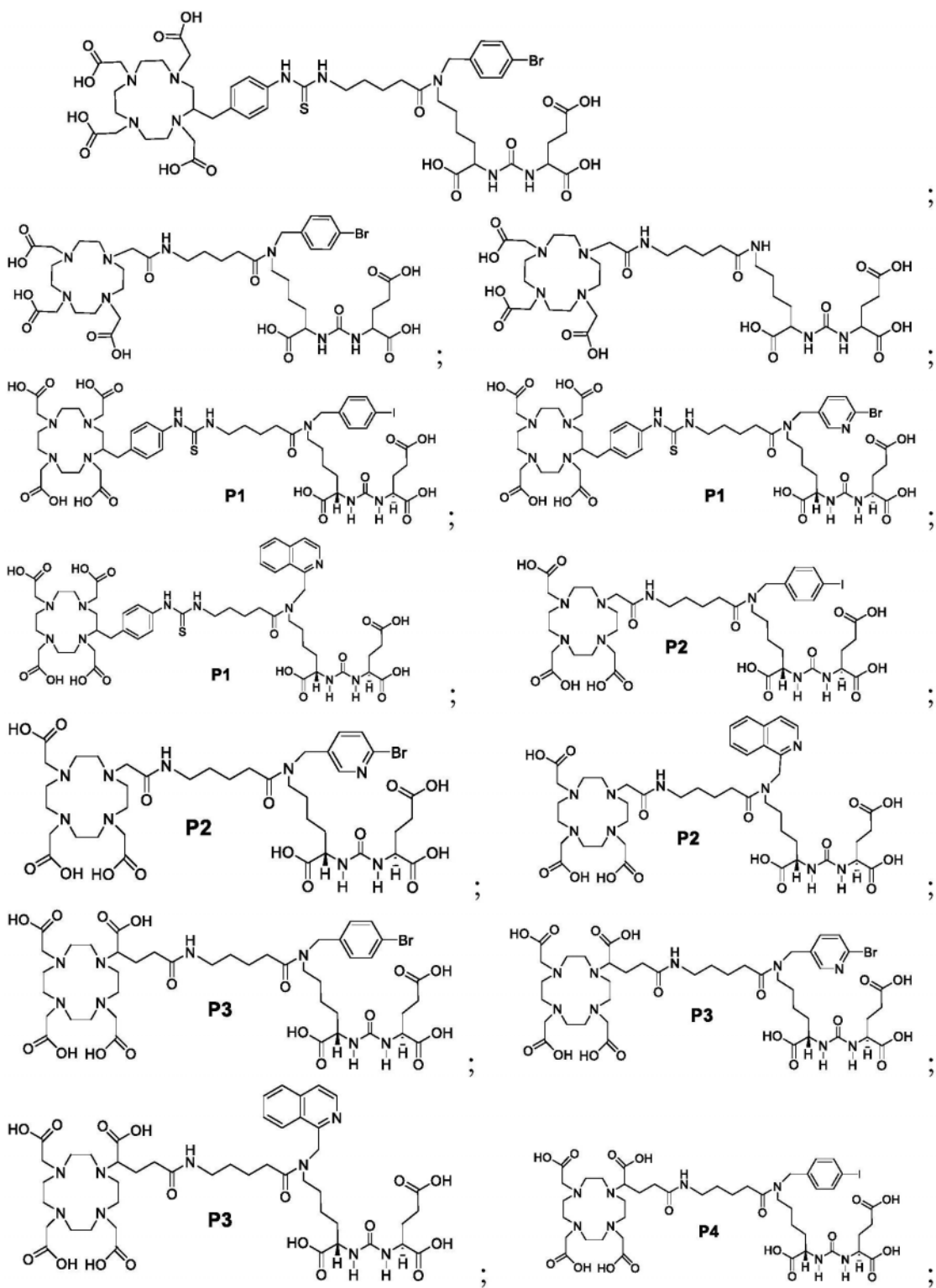
[0443] 4. 如项目1所述的化合物, 其中所述金属整合剂包含选自由以下组成的组的金属:
Y、Lu、Tc、Zr、In、Sm、Re、Cu、Pb、Ac、Bi、Al、Ga、Re、Ho和Sc。

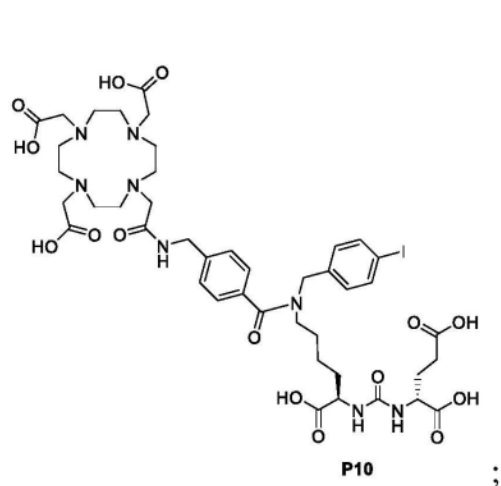
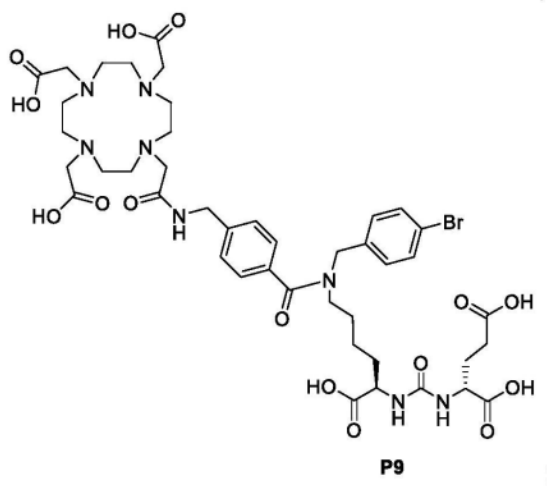
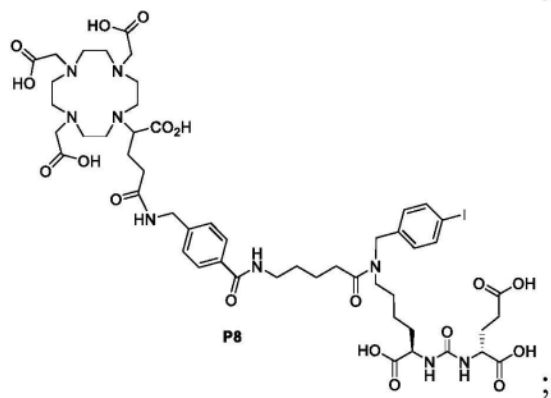
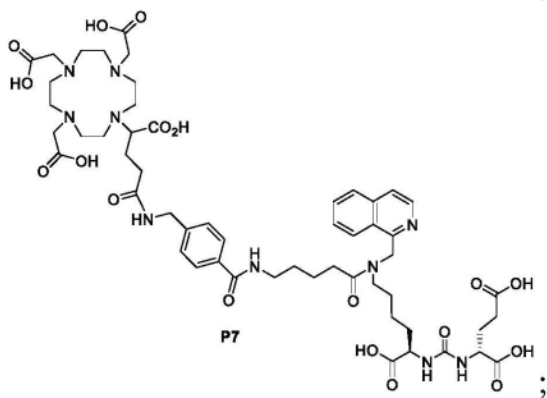
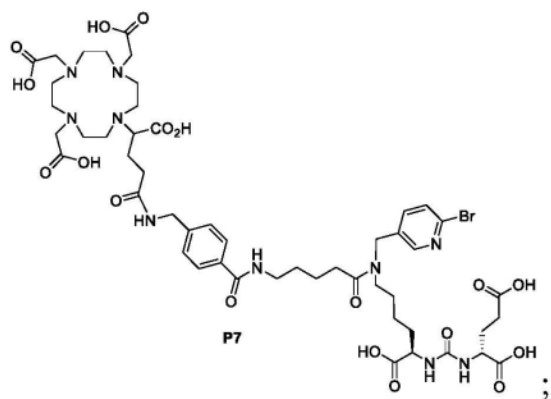
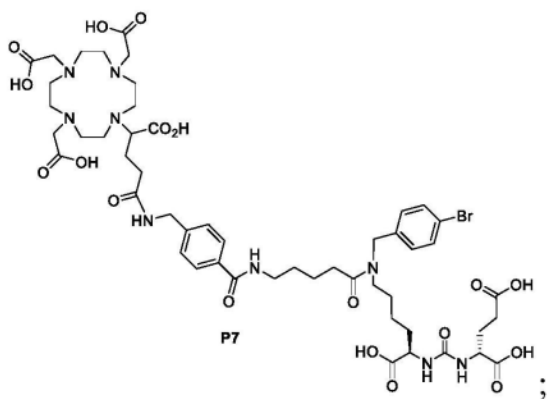
[0444] 5. 如项目4所述的化合物, 其中所述金属是放射性金属并且选自由以下组成的组:

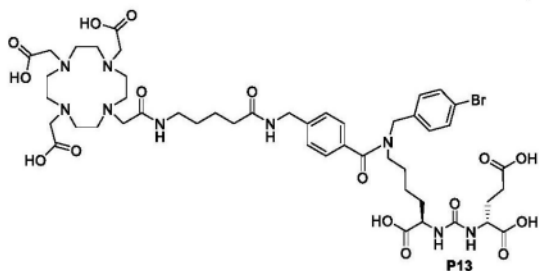
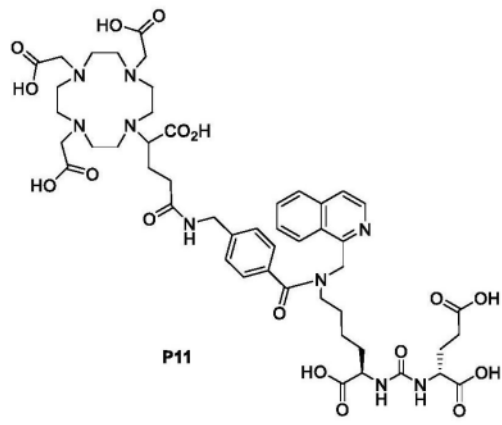
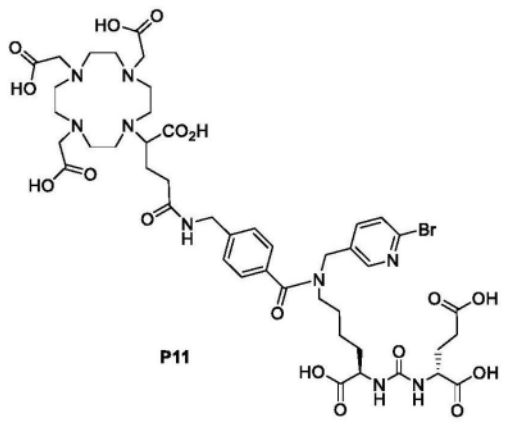
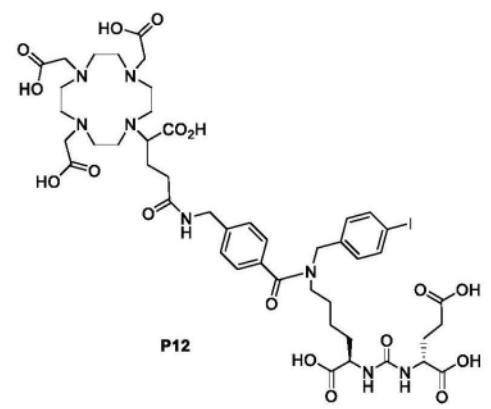
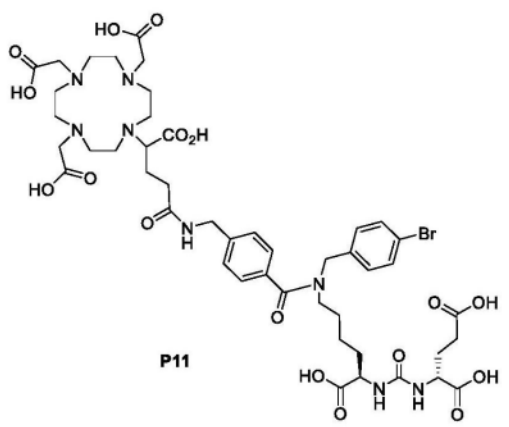
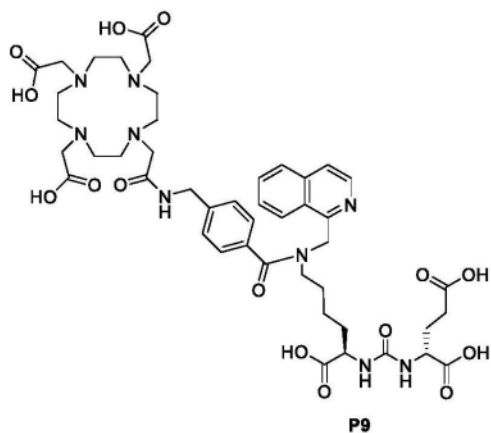
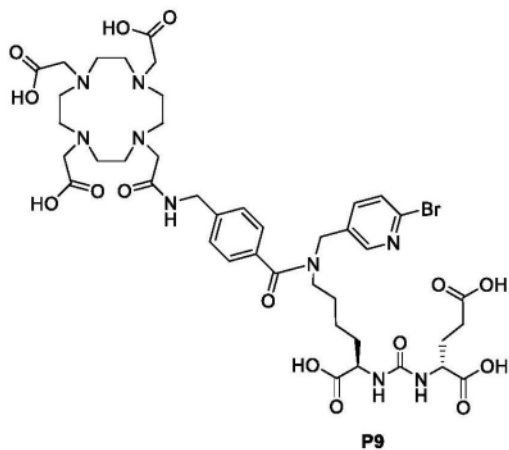
^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Pb 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{203}Pb 、 ^{47}Sc 、和 ^{166}Ho 。

[0445] 6. 如项目1所述的化合物, 其中所述式(I)的化合物选自由以下组成的组:

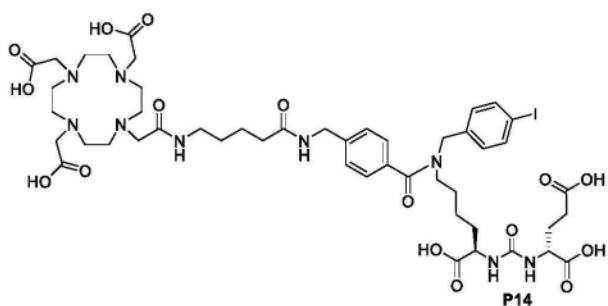
[0446]



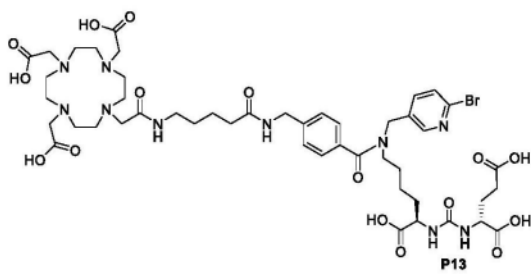




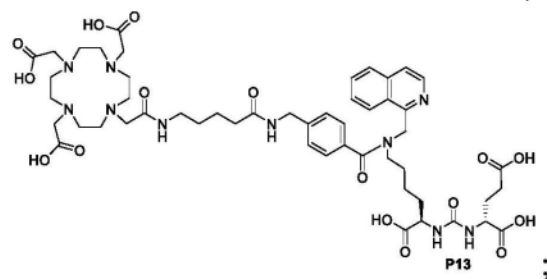
[0449]



;

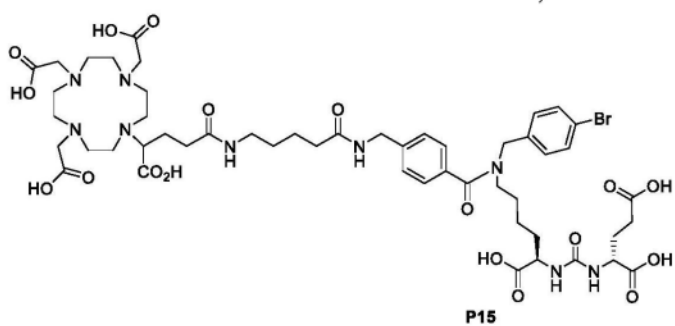


;

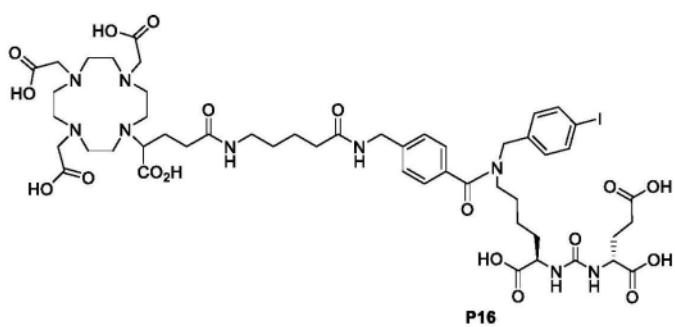


;

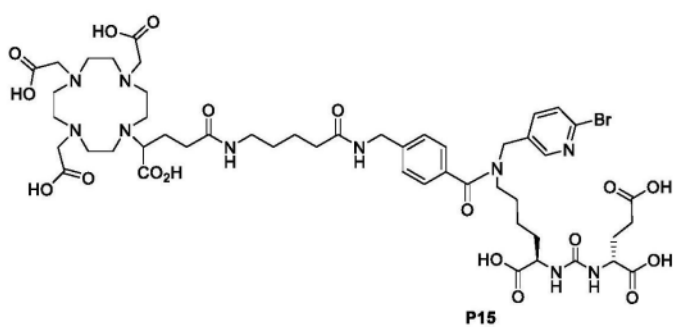
[0450]



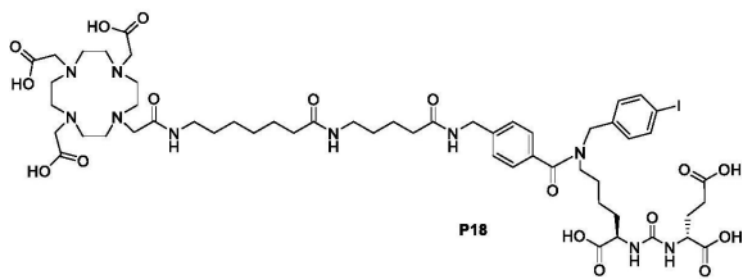
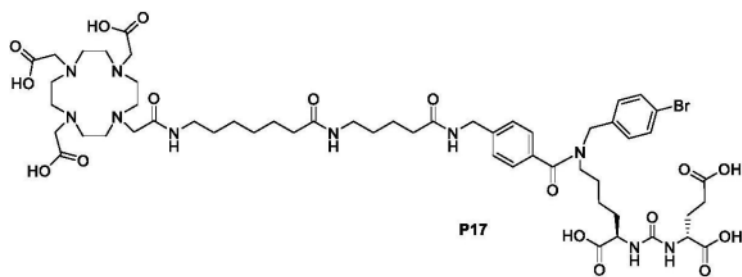
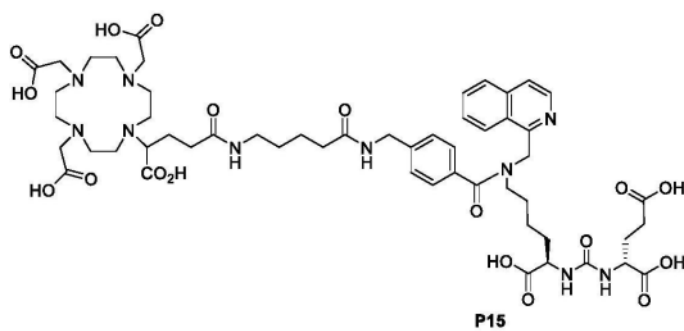
;



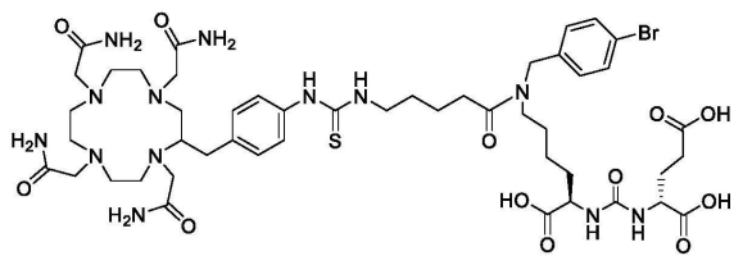
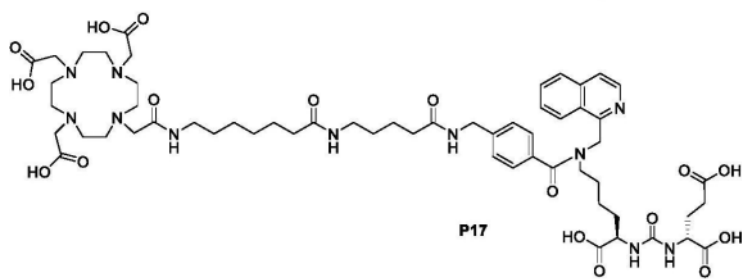
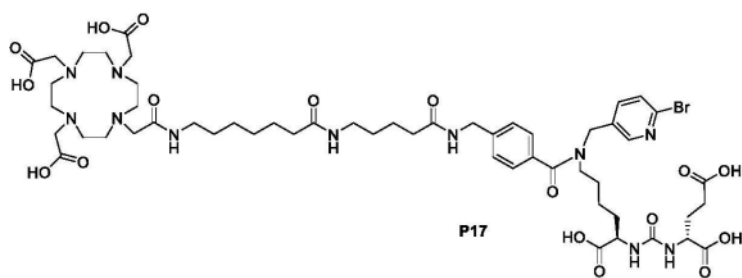
;

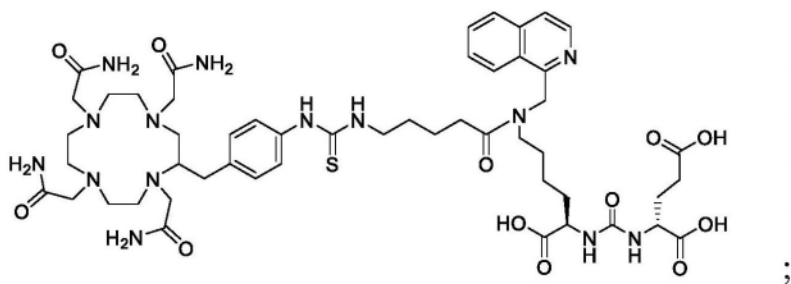
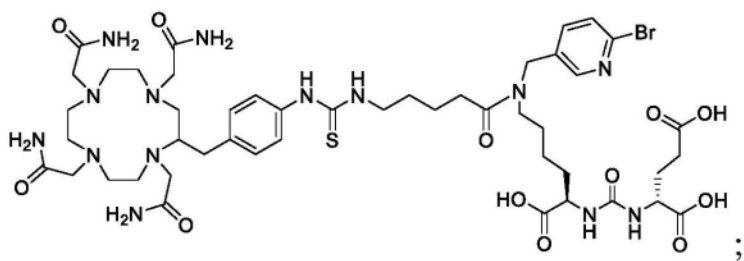
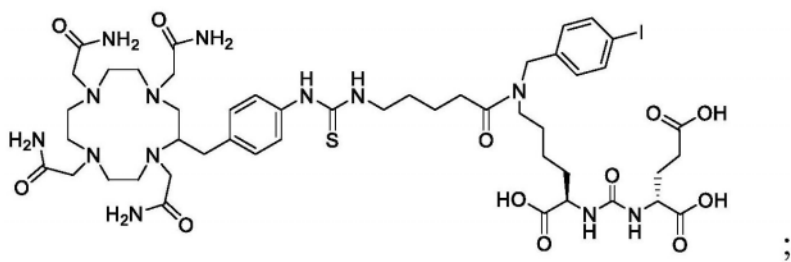


;

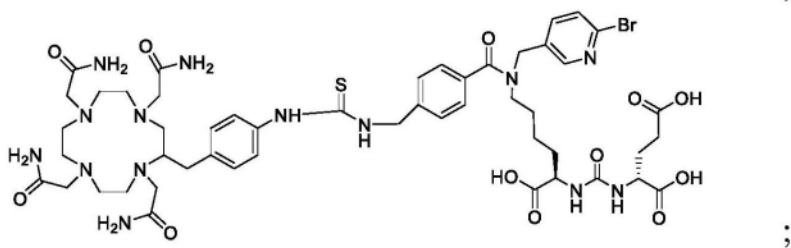
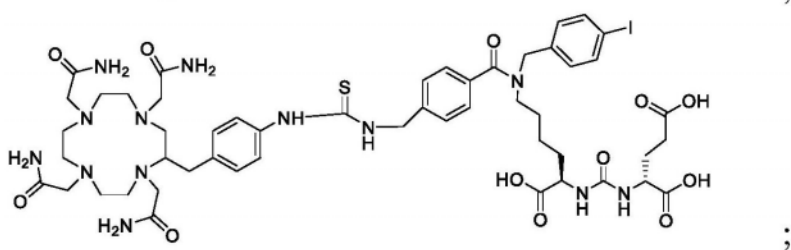
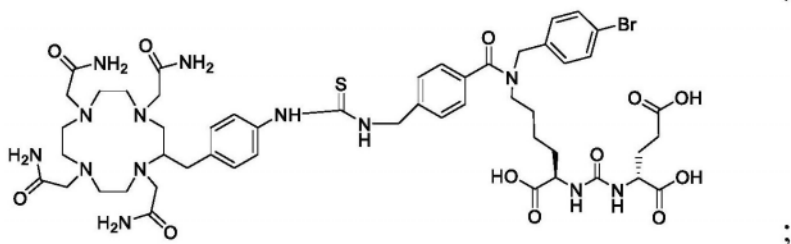


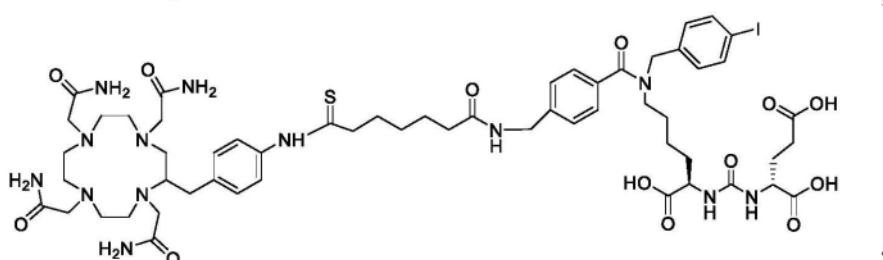
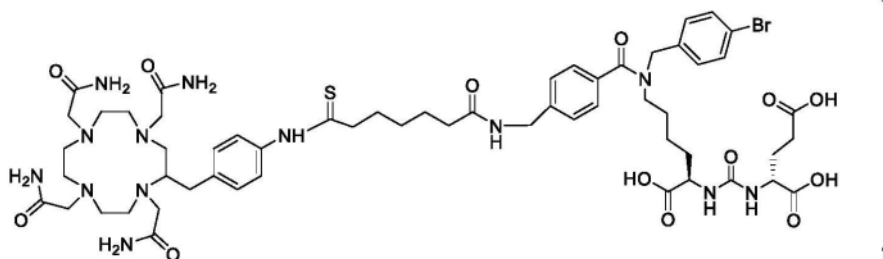
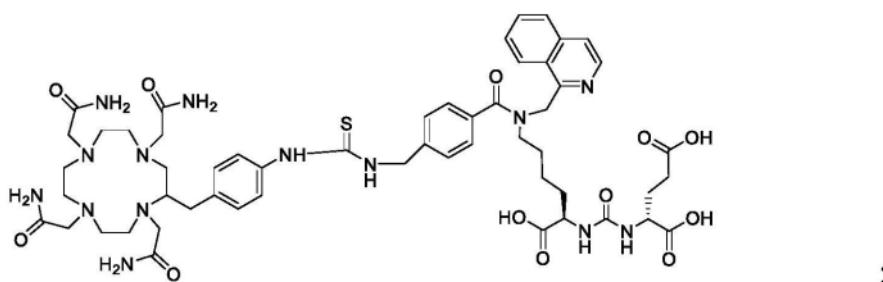
[0451]



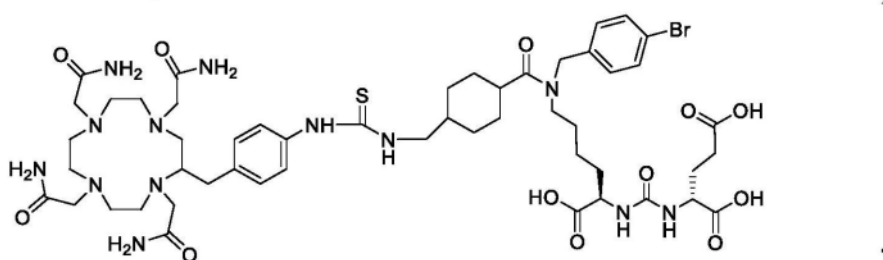
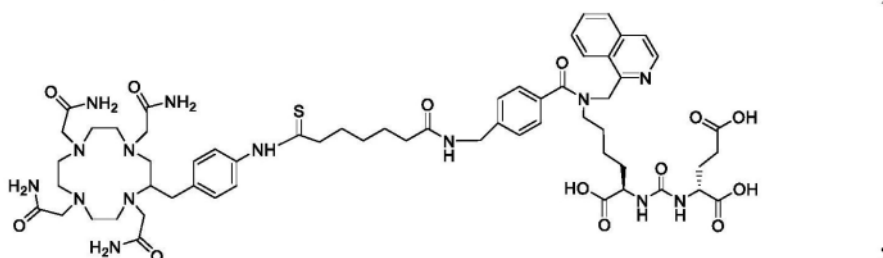
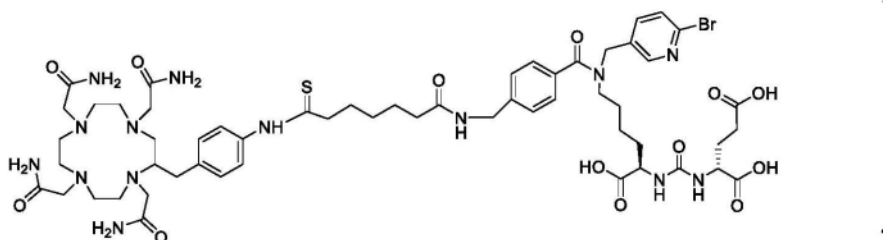


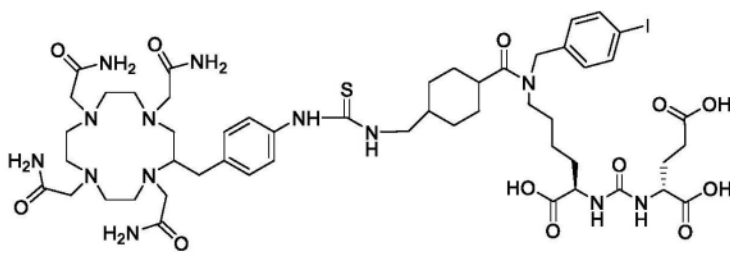
[0452]





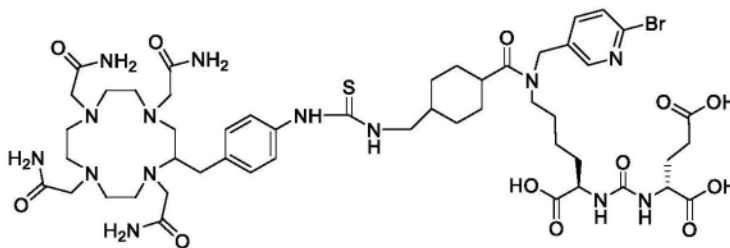
[0453]



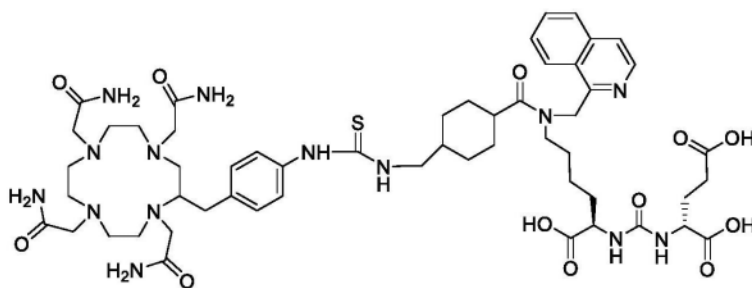


;

[0454]



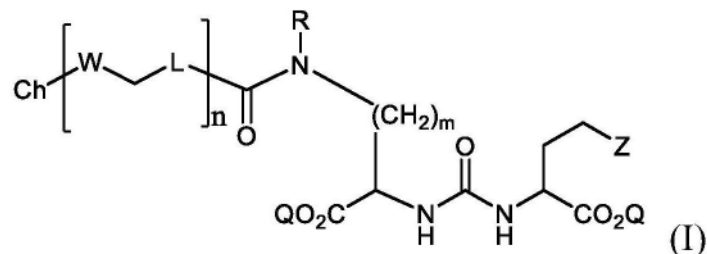
; 和



。

[0455] 7. 一种用于治疗一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触,所述式(I)的化合物包括:

[0456]



[0457] 其中:

[0458] Z是四唑或 CO_2Q ;

[0459] Q是H或保护基团;

[0460] m 是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数;[0461] R独立地是H或 $-\text{CH}_2-\text{R}^1$;[0462] R^1 选自由被取代的芳基、被取代的吡啶和未被取代的异喹啉组成的组;[0463] L是选自由 C_1-C_6 亚烷基和 C_3-C_6 亚环烷基、以及亚芳基组成的组的连接基;[0464] W选自由 $-\text{NR}^2-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、和 $-(\text{C}=\text{S})-\text{NR}^2-$ 组成的组;

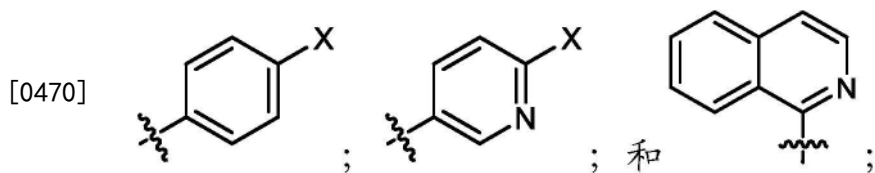
其中L和W的每次出现能够是相同的或不同的;

[0465] R^2 是H或 C_1-C_4 烷基;[0466] n 是选自由1、2和3组成的组的整数;

[0467] Ch是螯合剂,所述螯合剂包含适合于放射疗法的放射性金属;

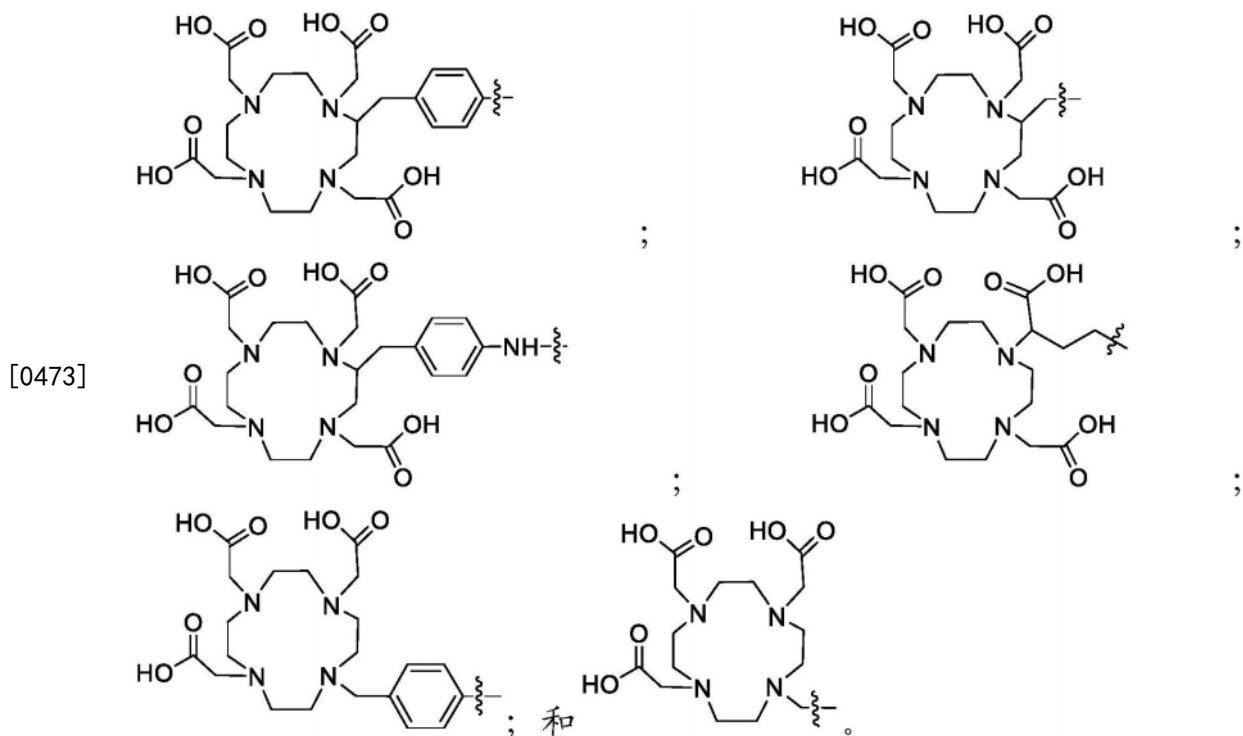
[0468] 和其药学上可接受的盐。

[0469] 8. 如项目7所述的方法, 其中 R^1 选自由以下组成的组:



[0471] 其中X独立地是Br或I。

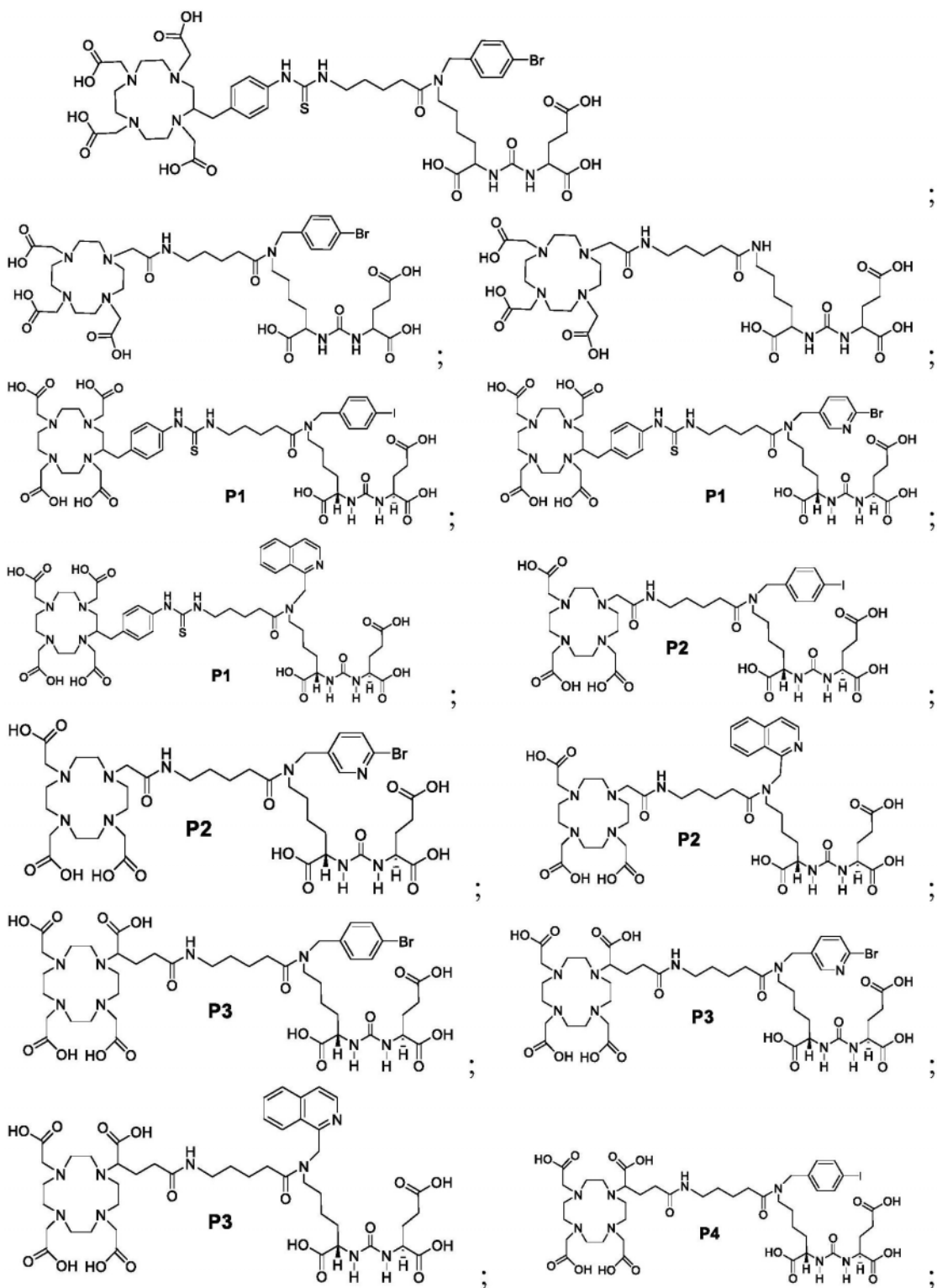
[0472] 9. 如项目7所述的方法, 其中所述螯合剂选自由以下组成的组:

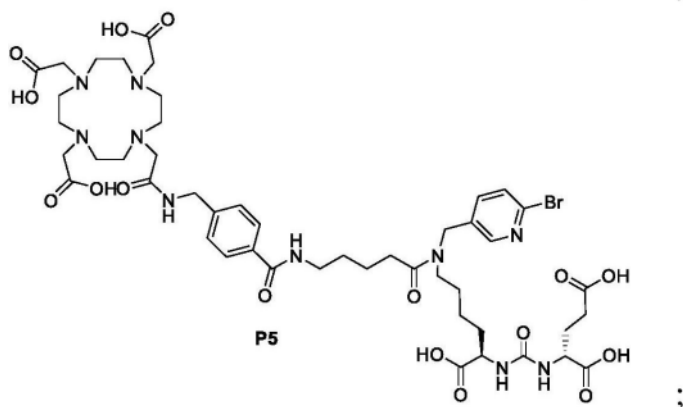
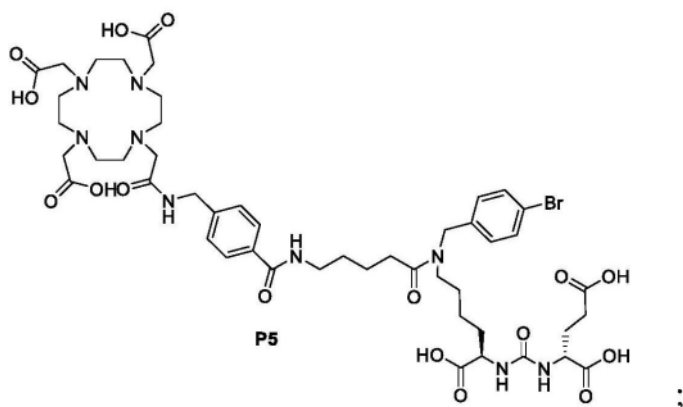


[0474] 10. 如项目7所述的方法, 其中所述放射性金属选自由以下组成的组: ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、 ^{111}In 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Pb 、 ^{225}Ac 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、和 ^{67}Ga 。

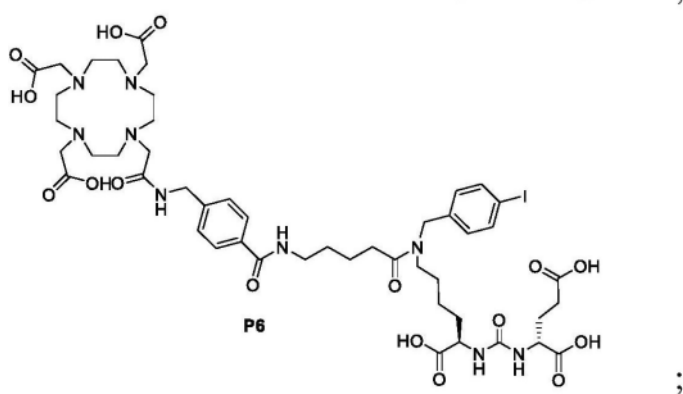
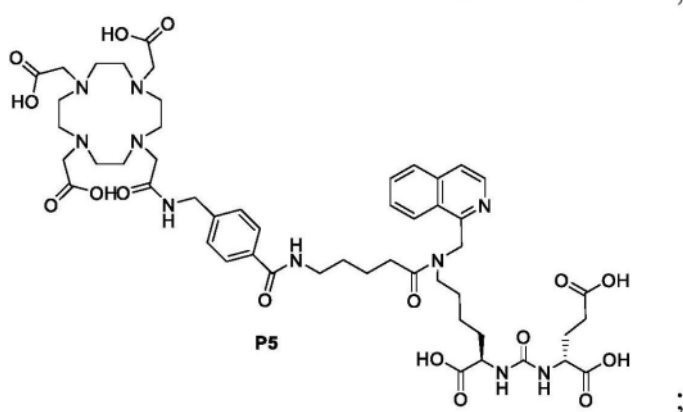
11. 如项目 7 所述的方法, 其中所述化合物选自由以下组成的组:

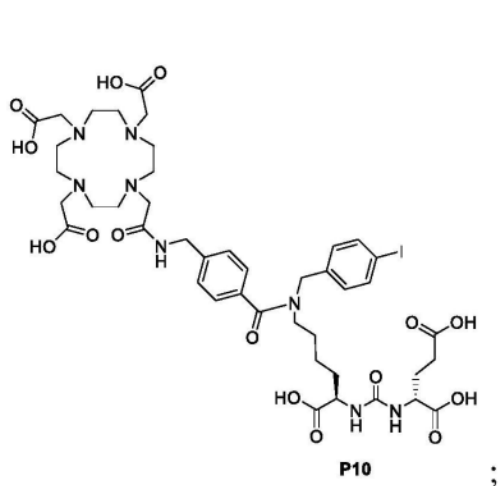
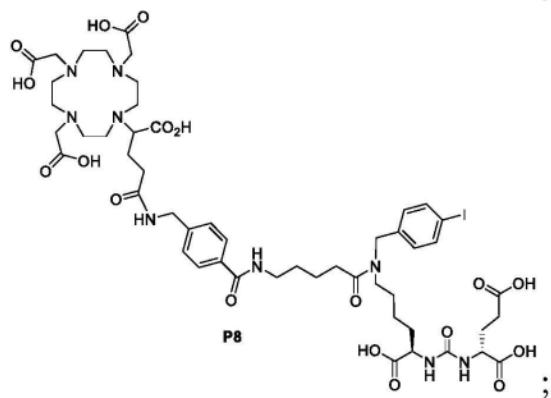
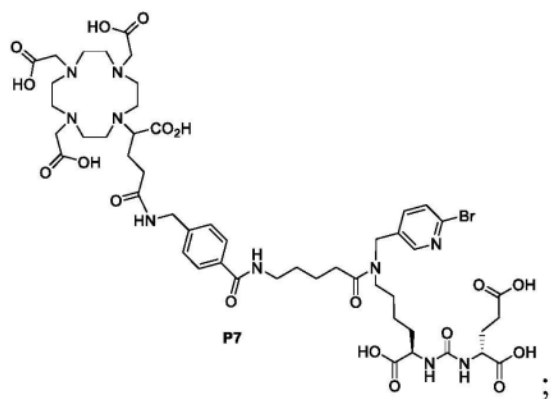
[0475]

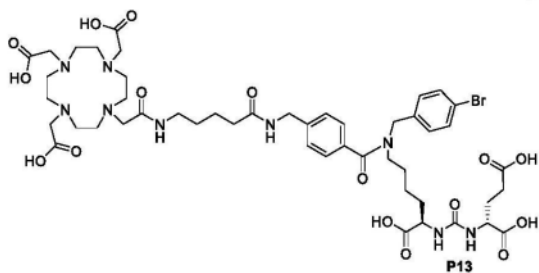
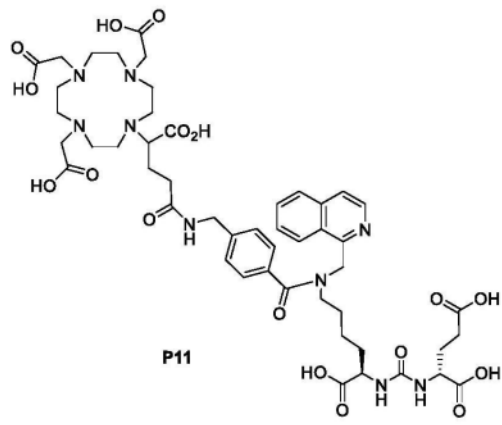
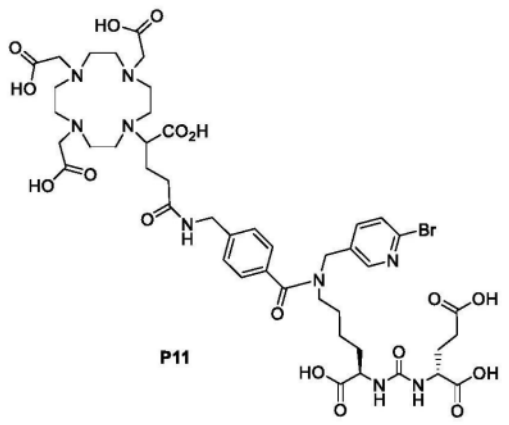
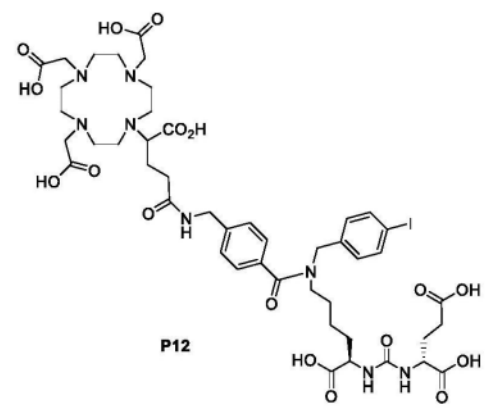
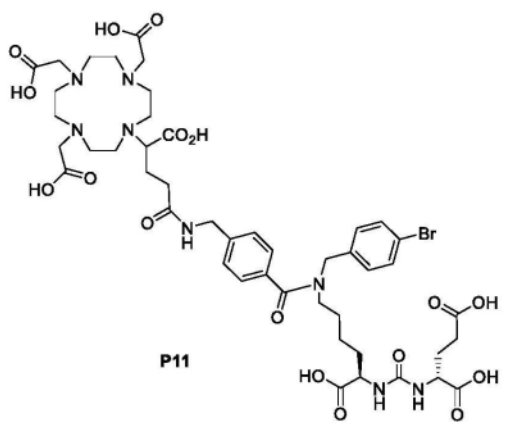
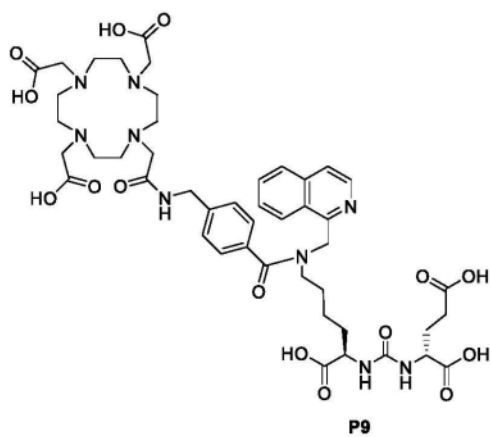
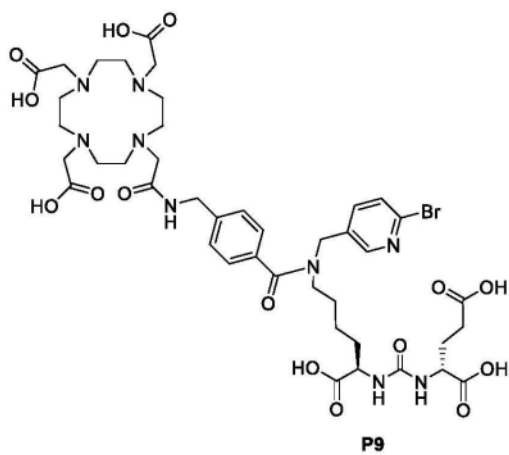




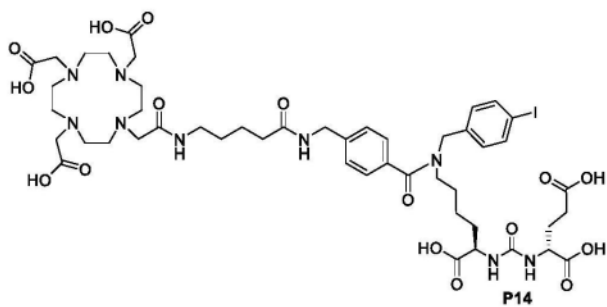
[0476]



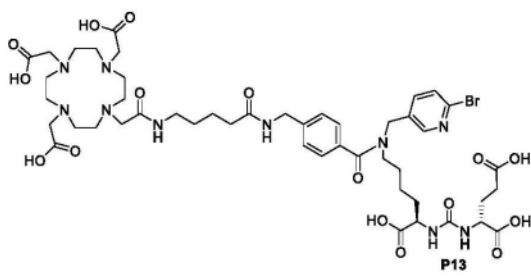




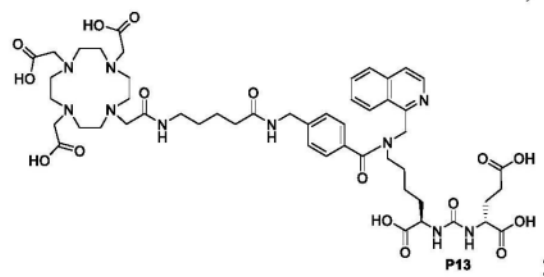
[0478]



;

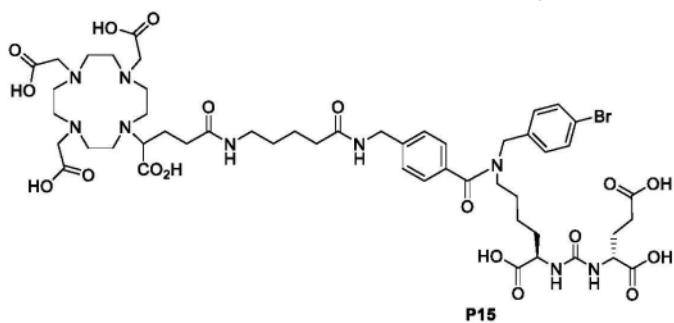


;

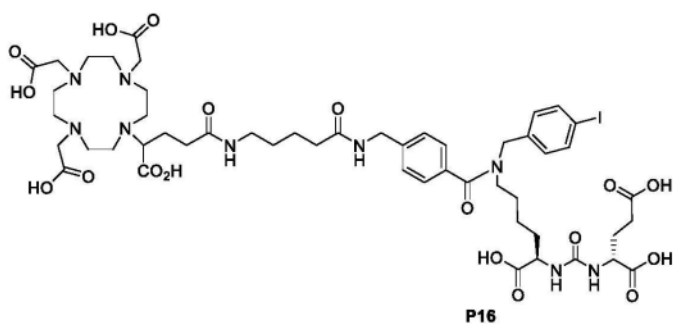


;

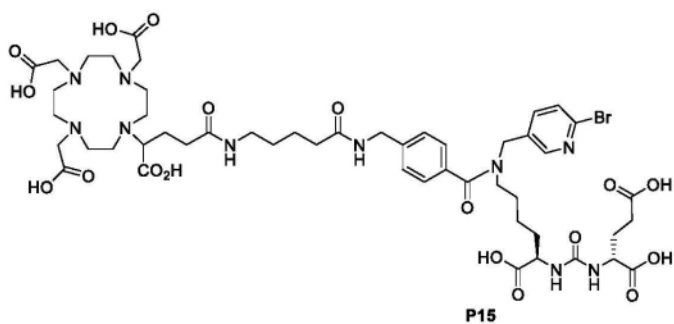
[0479]



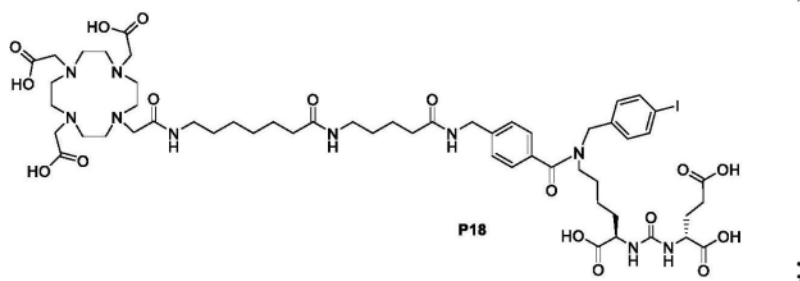
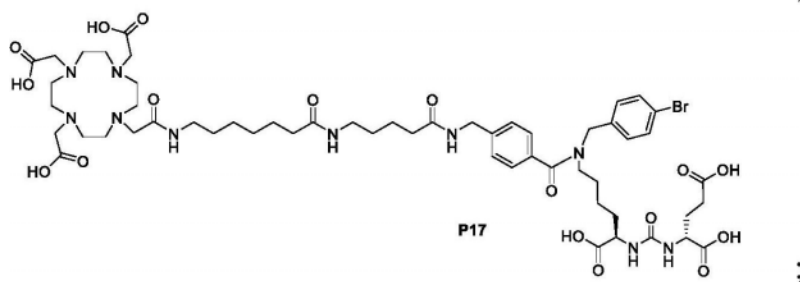
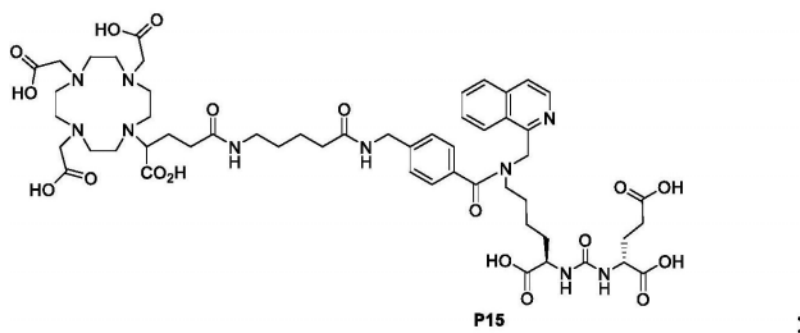
;



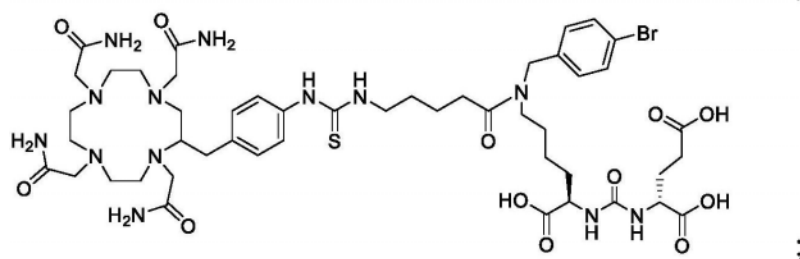
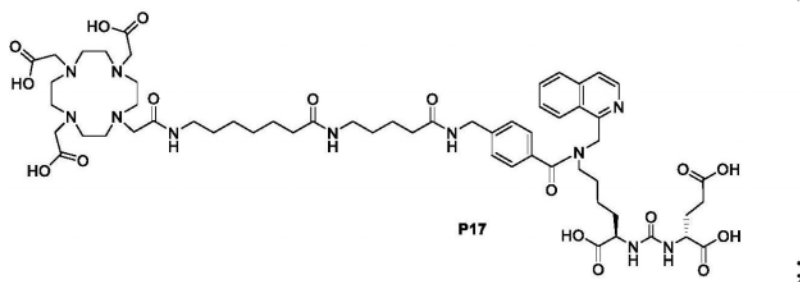
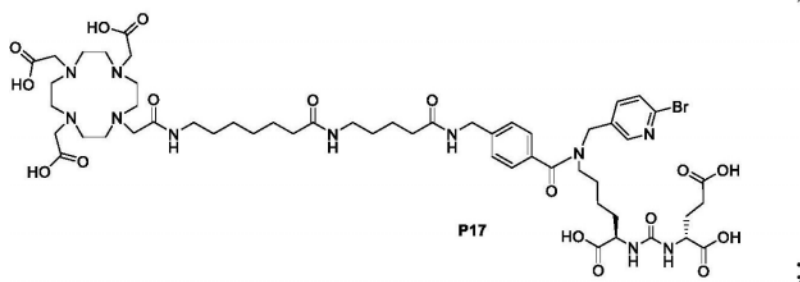
;

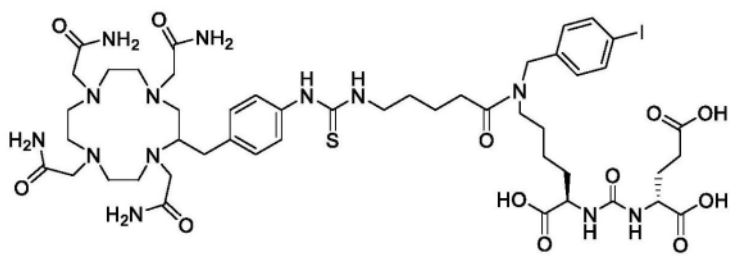


;

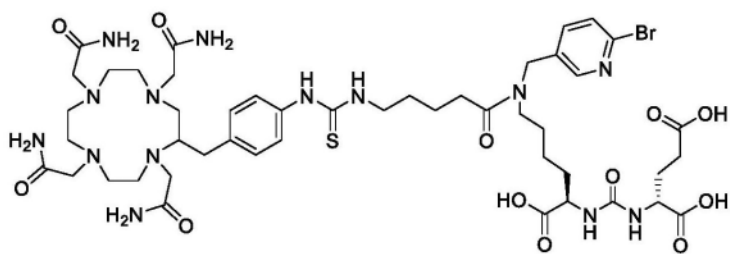


[0480]

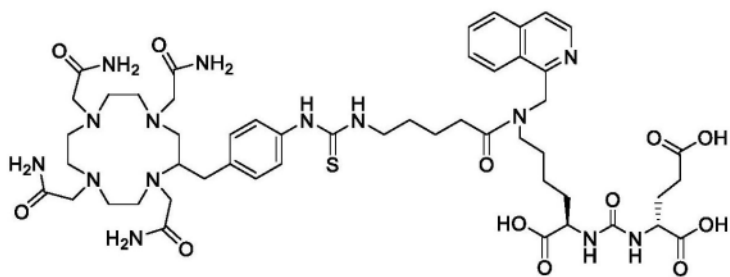




;

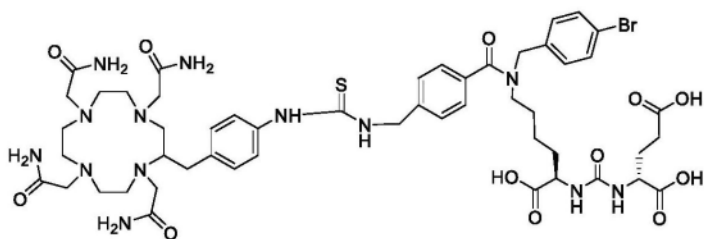


;

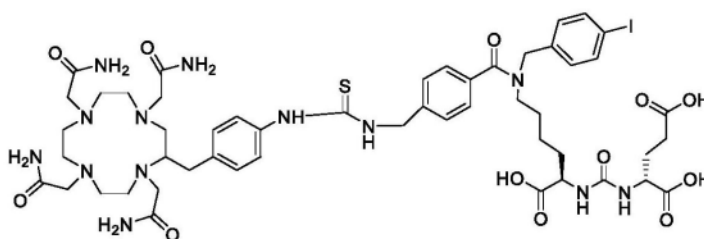


;

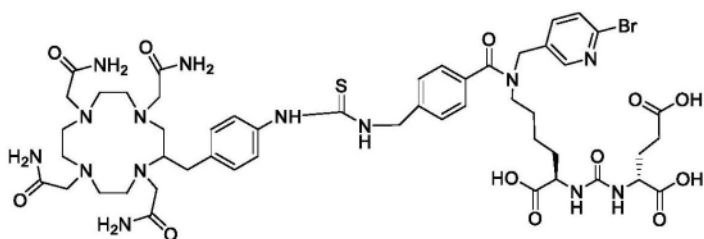
[0481]



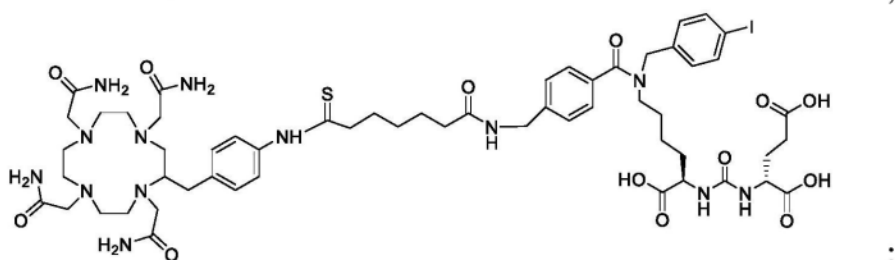
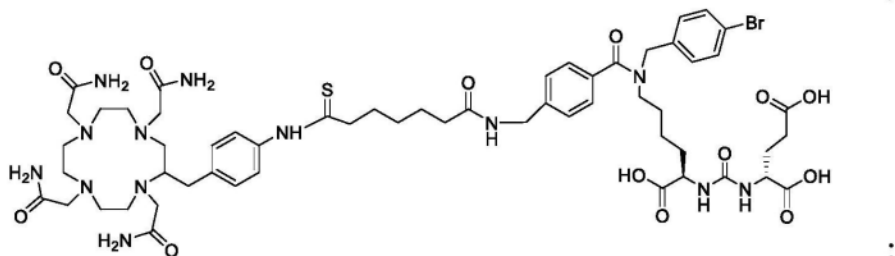
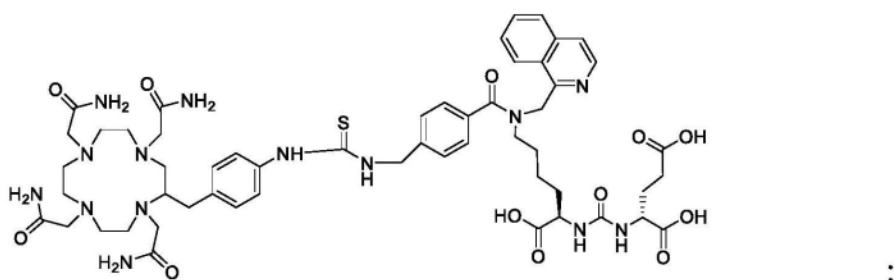
;



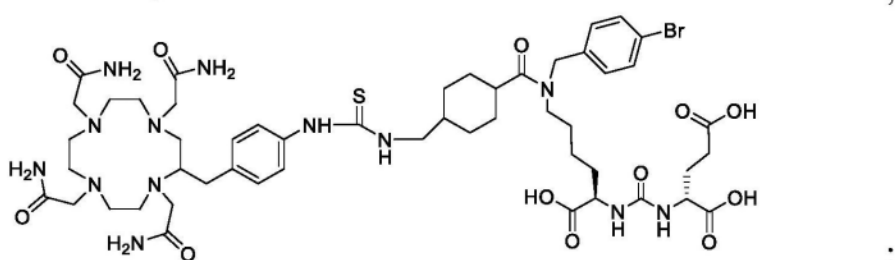
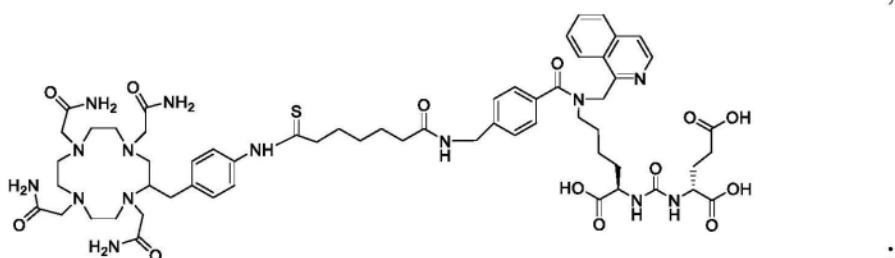
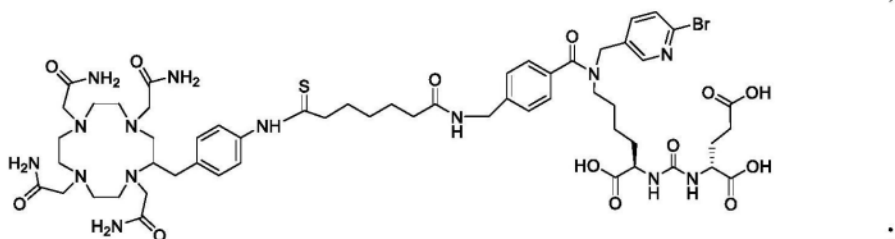
;

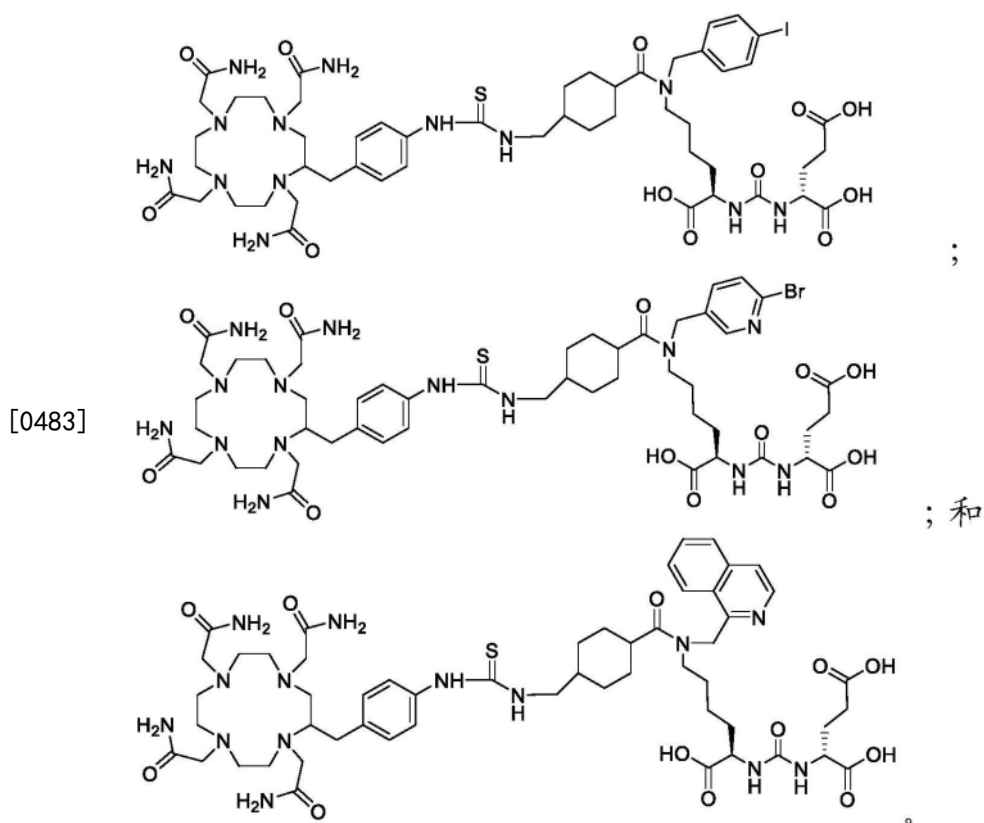


;



[0482]





[0484] 12. 如项目7所述的方法, 其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞选自由以下组成的组: 前列腺肿瘤或细胞、转移的前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、成胶质细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、肉瘤、黑素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜铬细胞瘤、食管肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞、及其组合。

[0485] 13. 如项目7所述的方法, 其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是前列腺肿瘤或细胞。

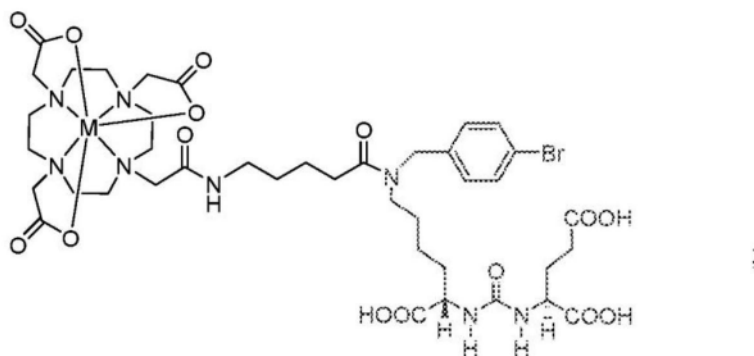
[0486] 14. 如项目7所述的方法, 其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是体外、体内或离体的。

[0487] 15. 如项目7所述的方法, 其中所述一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞存在于受试者中。

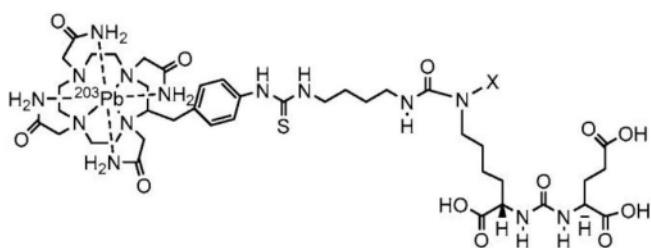
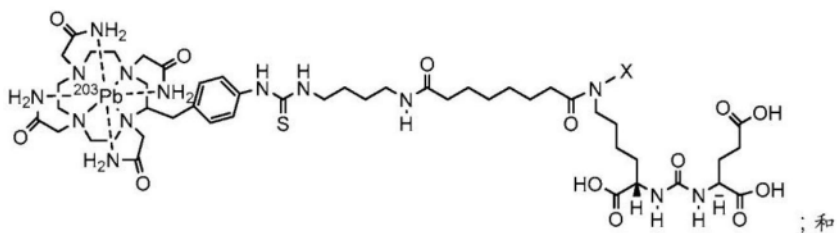
[0488] 16. 如项目15所述的方法, 其中所述受试者是人类。

[0489] 17. 如项目7所述的方法, 其中所述方法导致肿瘤生长的抑制。

[0490] 18. 如项目1所述的化合物, 其中所述式(I)的化合物选自由以下组成的组:



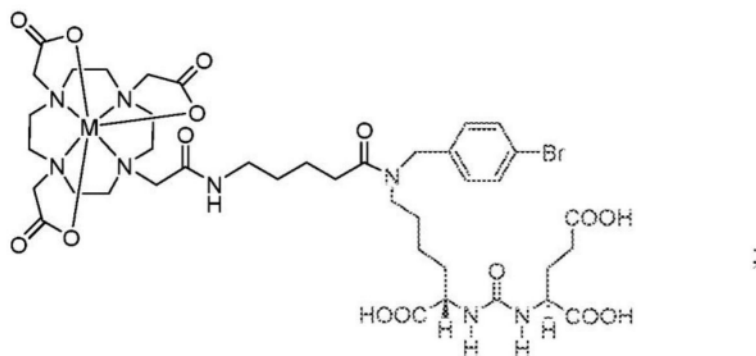
[0491]



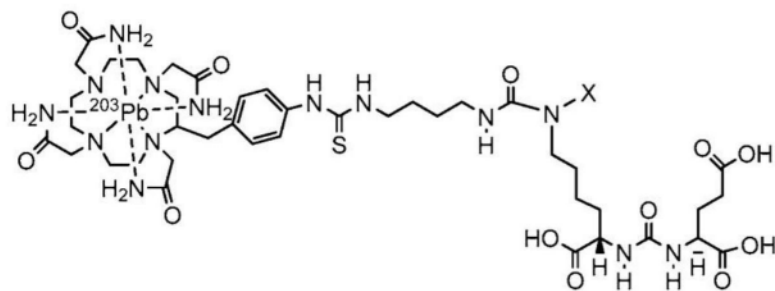
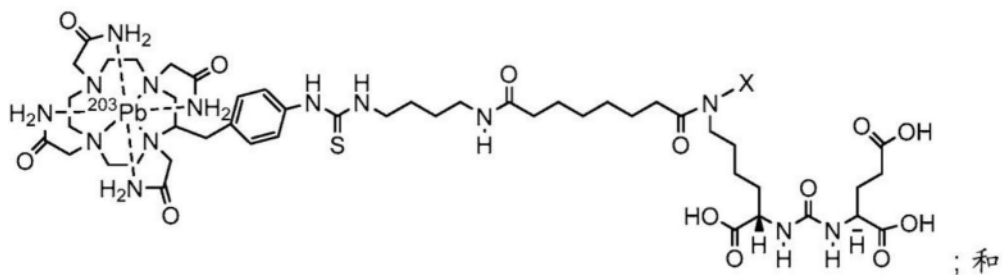
[0492] 其中:X是H或4-溴苄基;

[0493] M选自由¹⁷⁷Lu、²²⁵Ac、²¹³Bi和²⁰³Pb组成的组。

[0494] 19.如项目7所述的方法,其中所述式(I)的化合物选自由以下组成的组:



[0495]



[0496] 其中:X是H或4-溴苄基;并且

[0497] M选自由¹⁷⁷Lu、²²⁵Ac、²¹³Bi和²⁰³Pb组成的组。

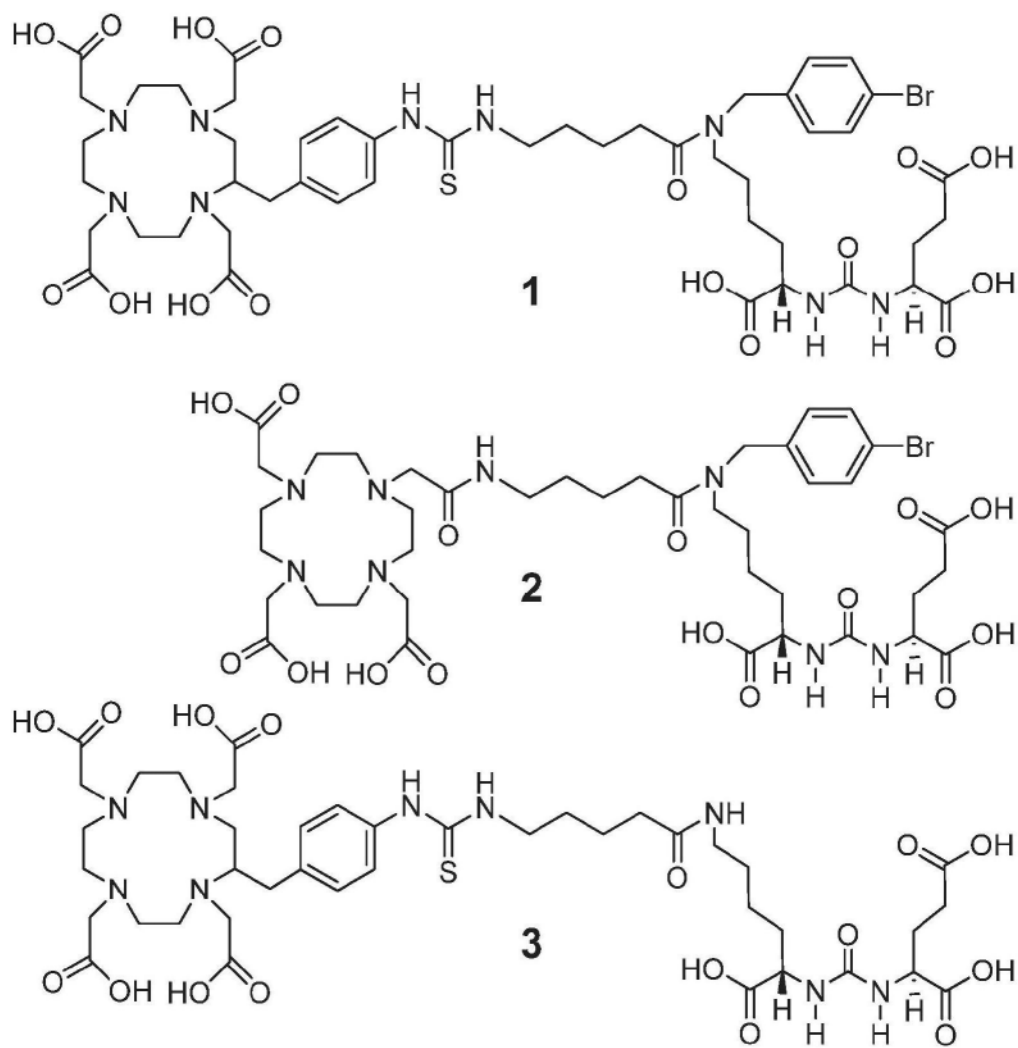


图1

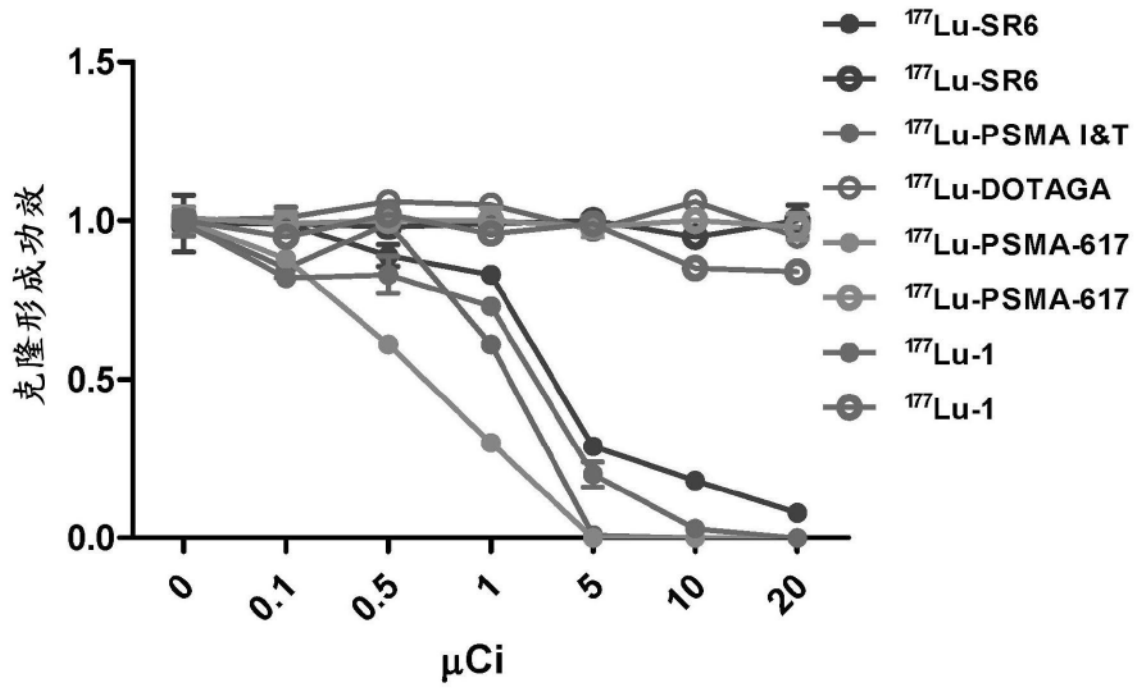


图2



图3

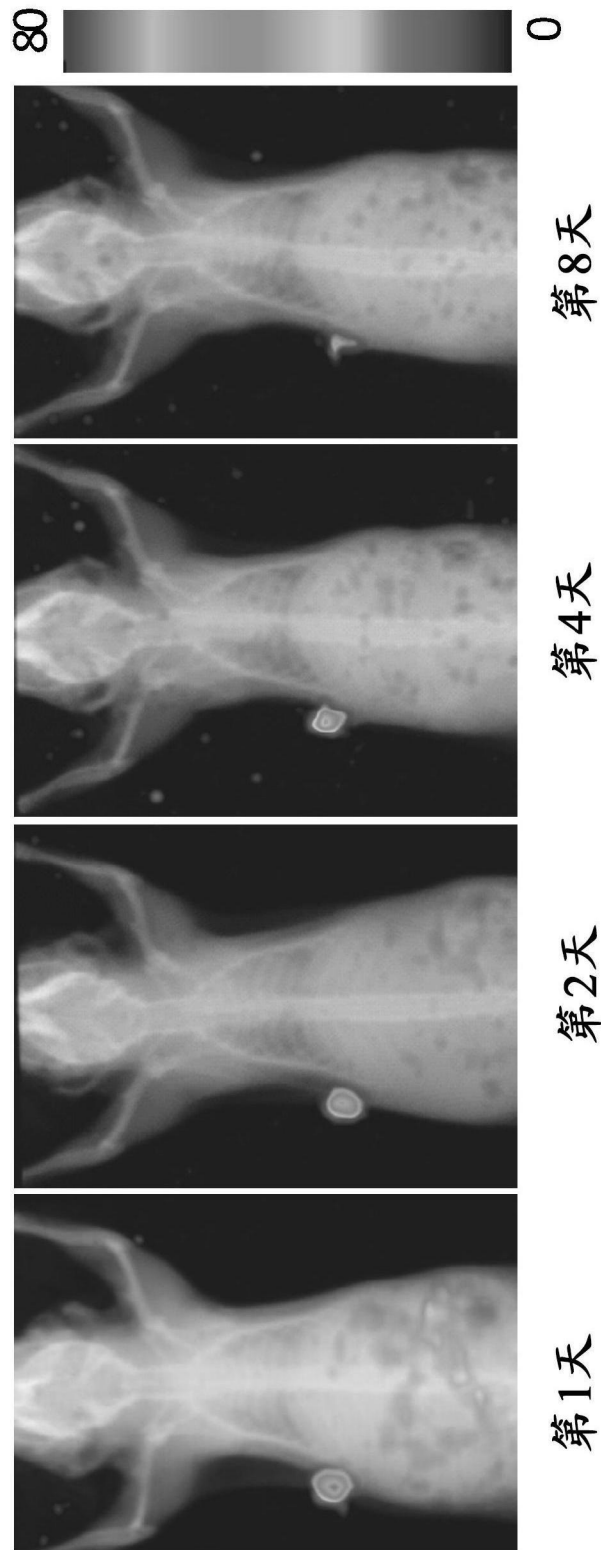


图4

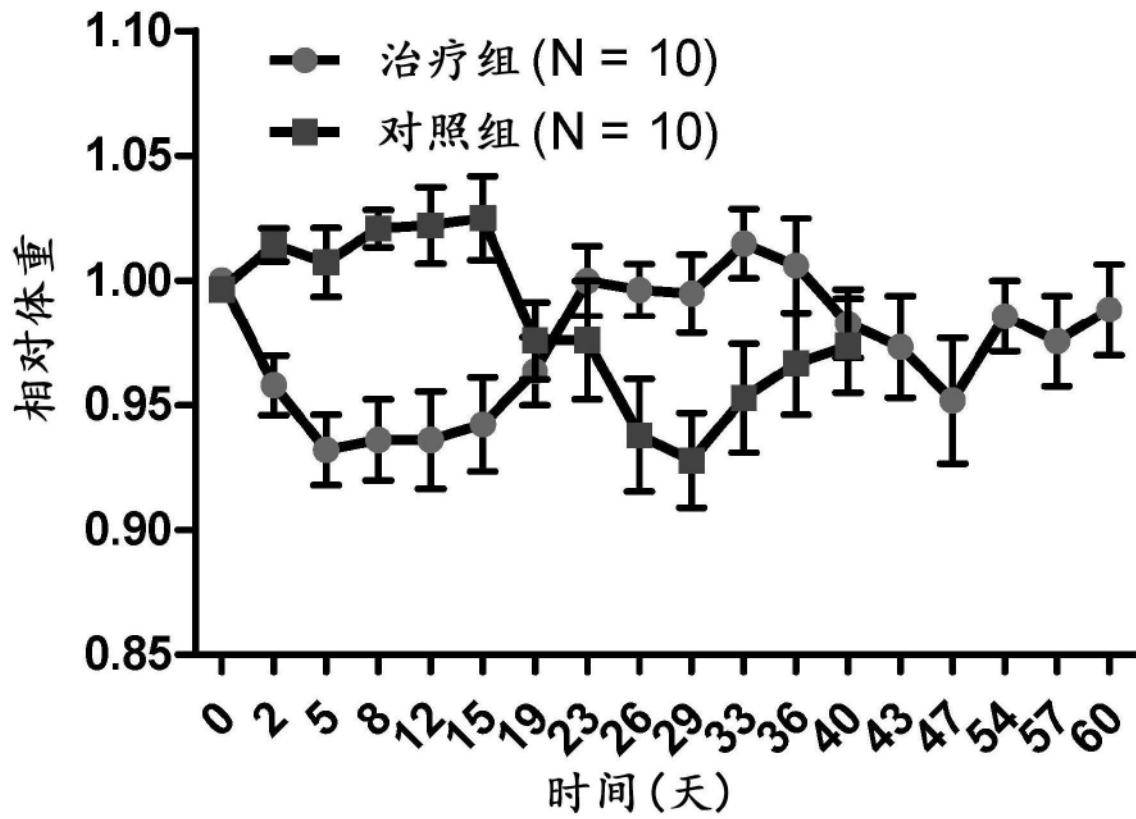


图5

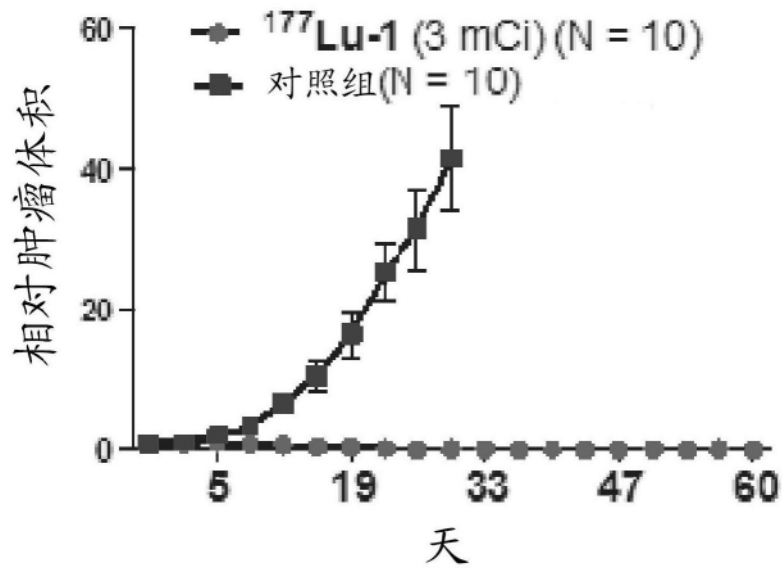


图6A

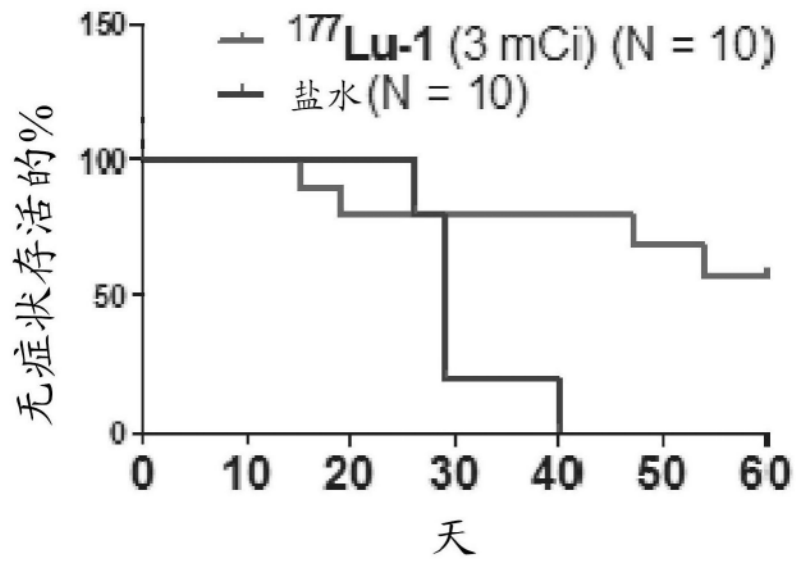


图6B

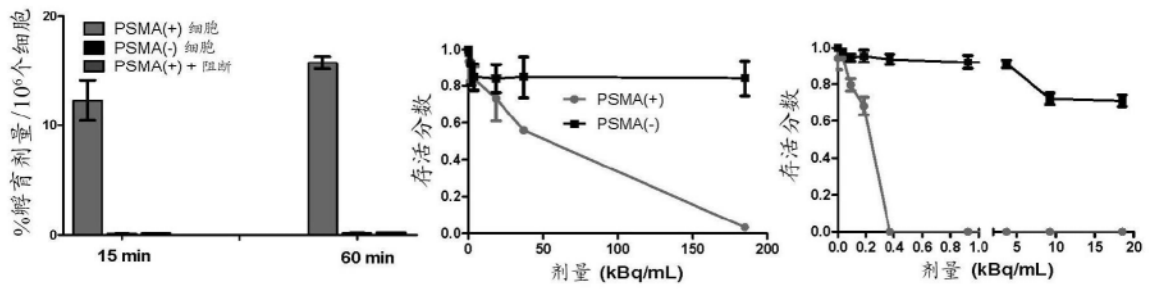


图7

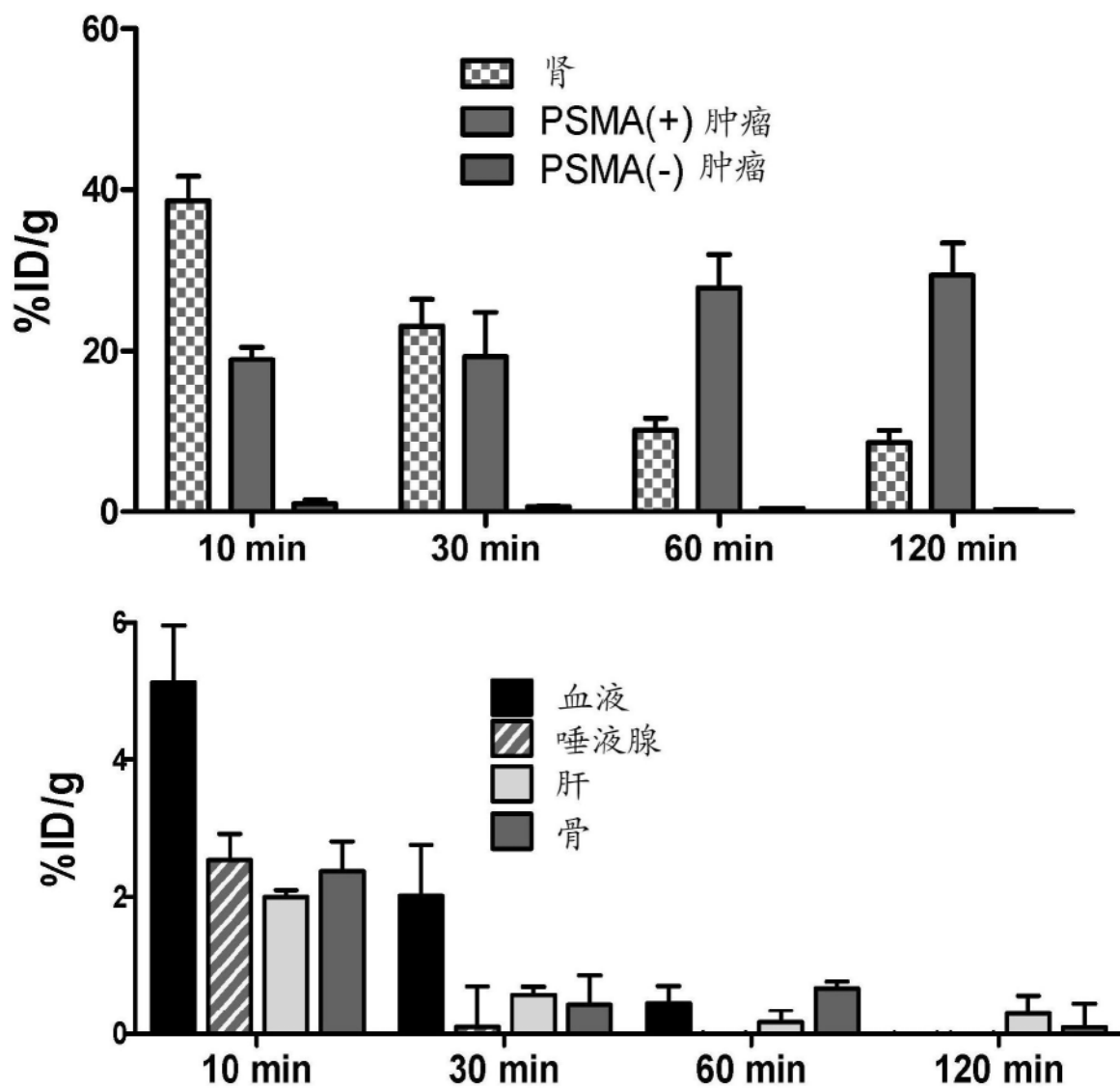


图8

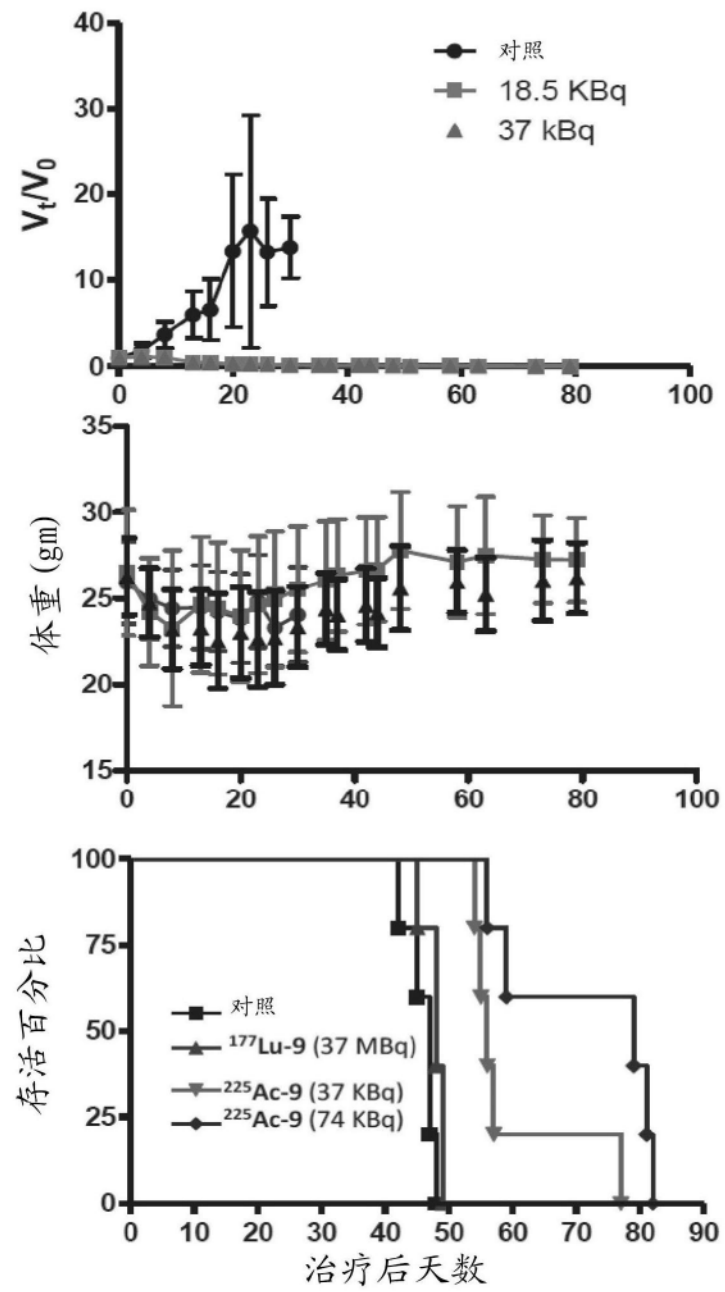


图9

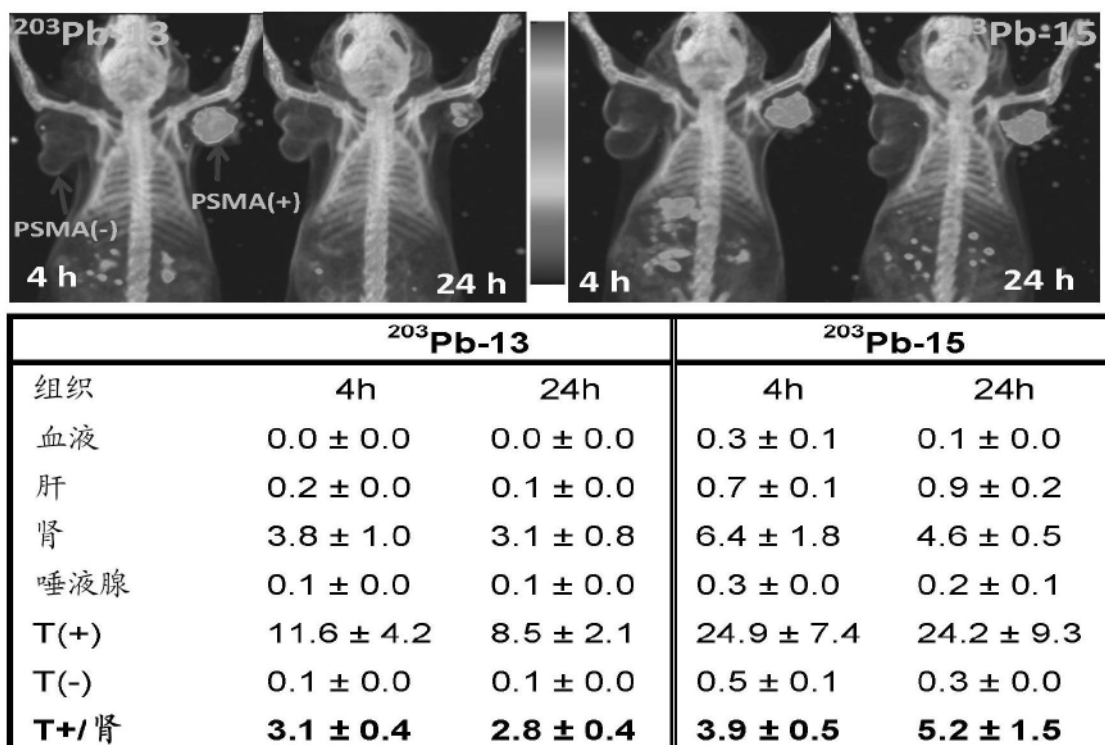


图10

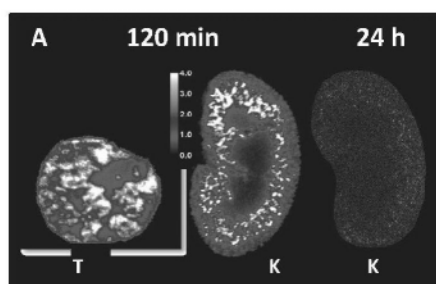


图11A

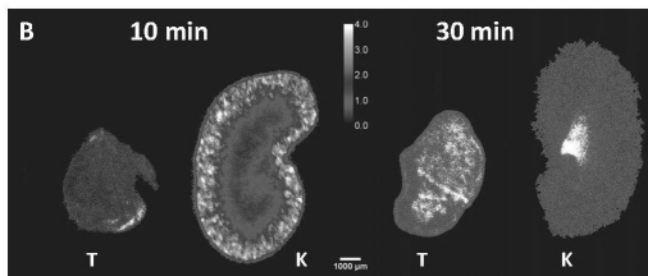


图11B

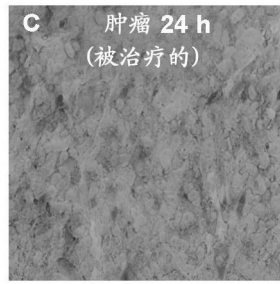


图11C

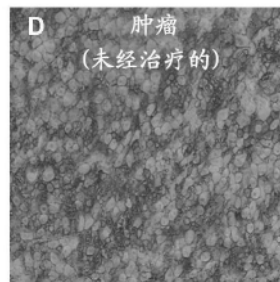


图11D

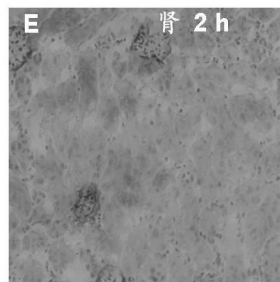


图11E

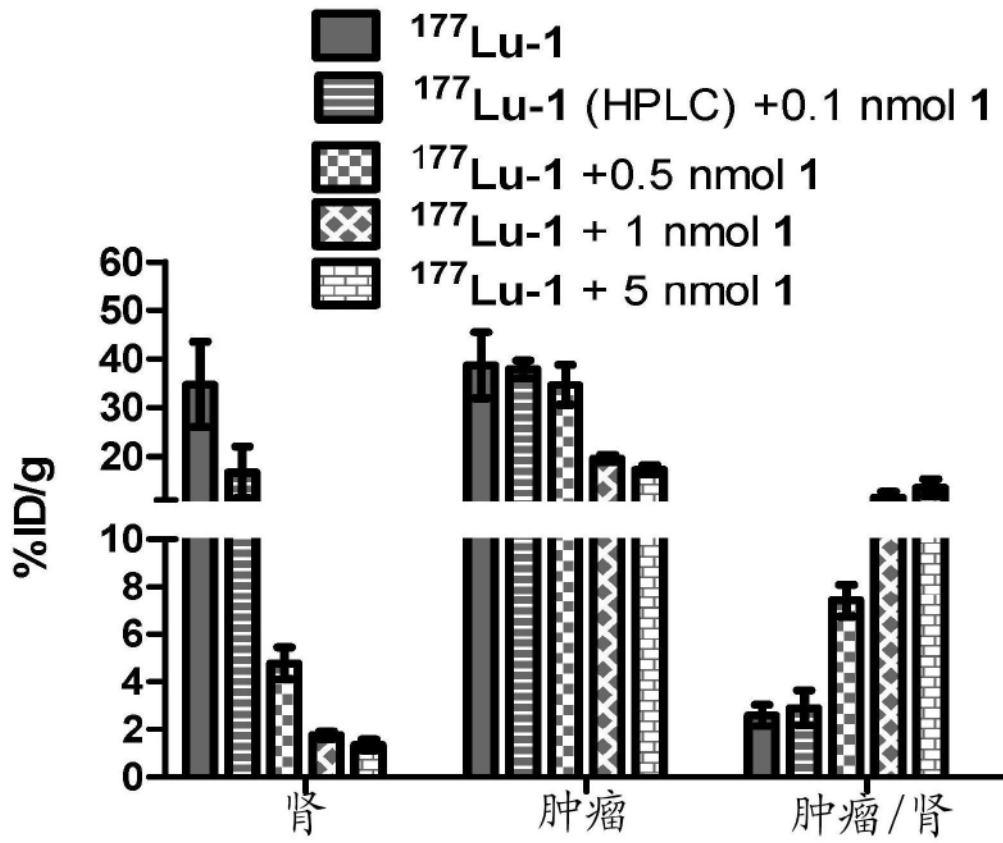


图12

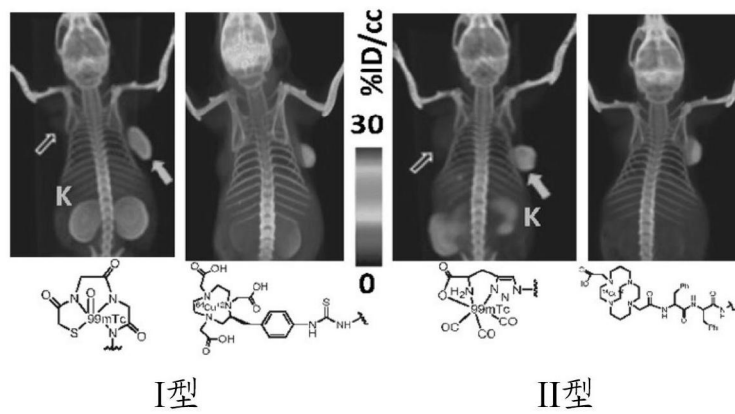


图13A

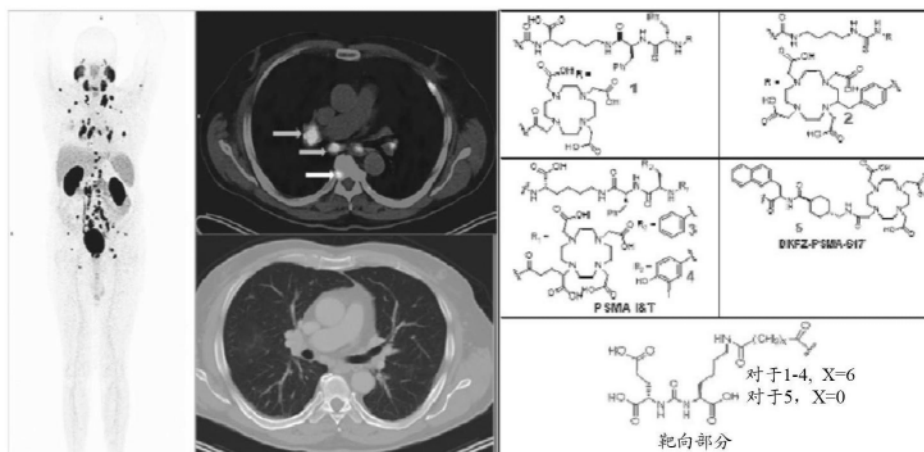


图13B

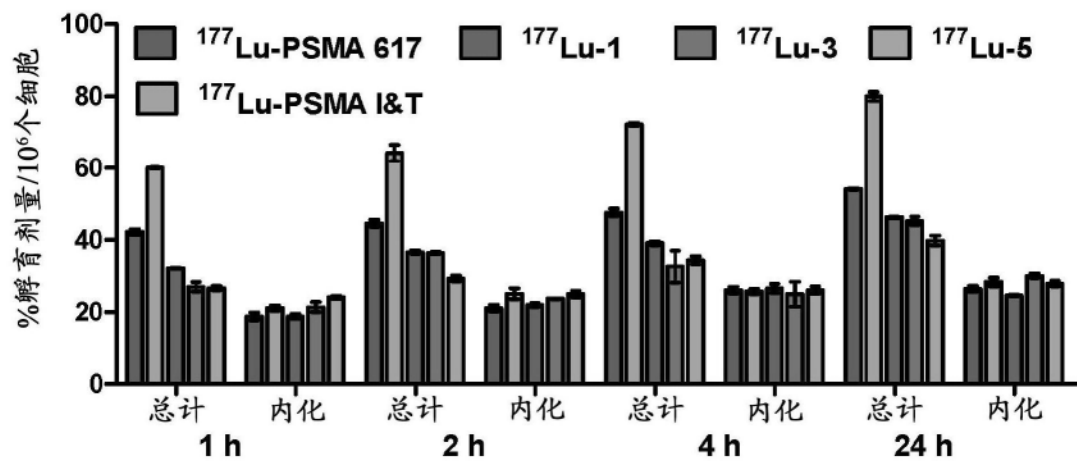


图14

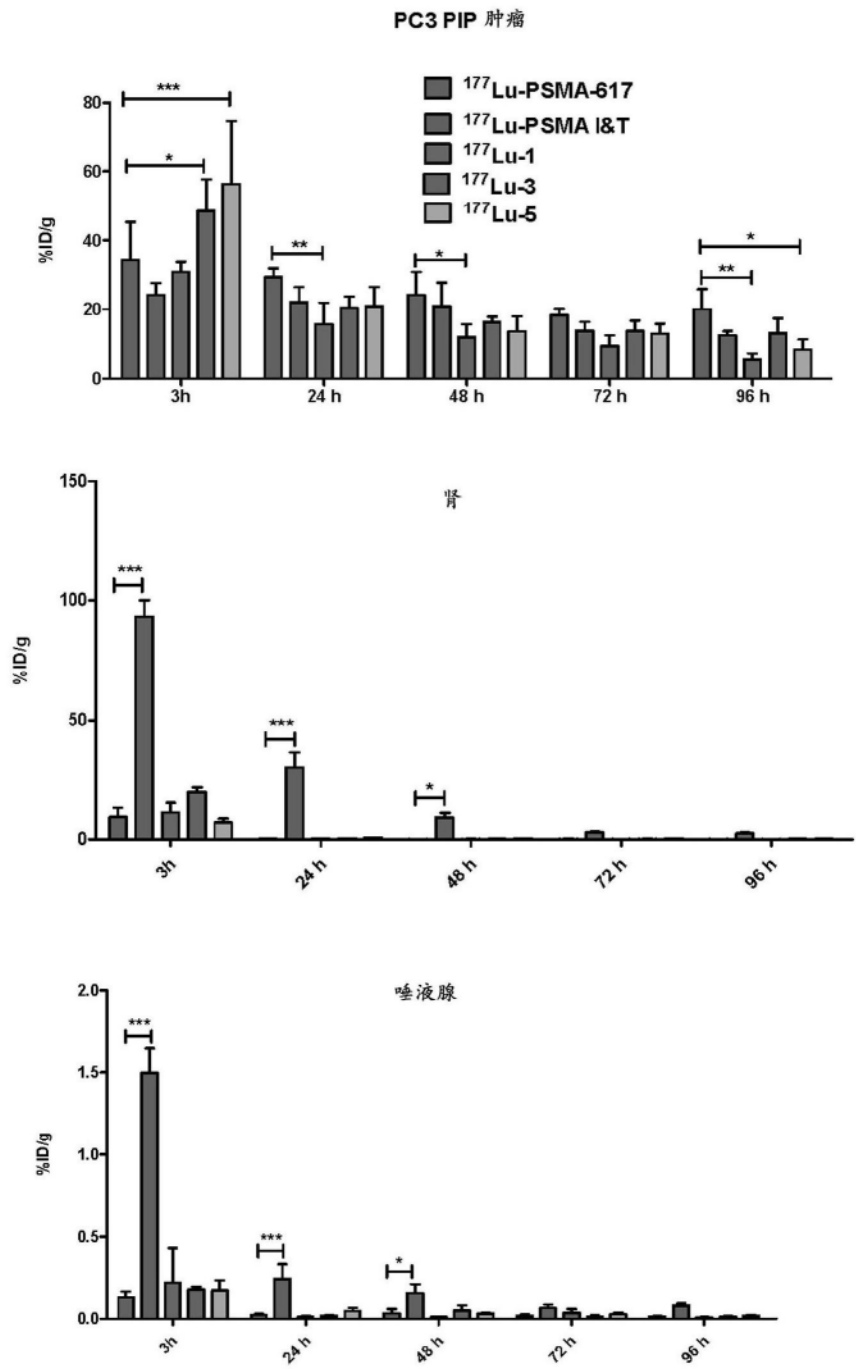


图15

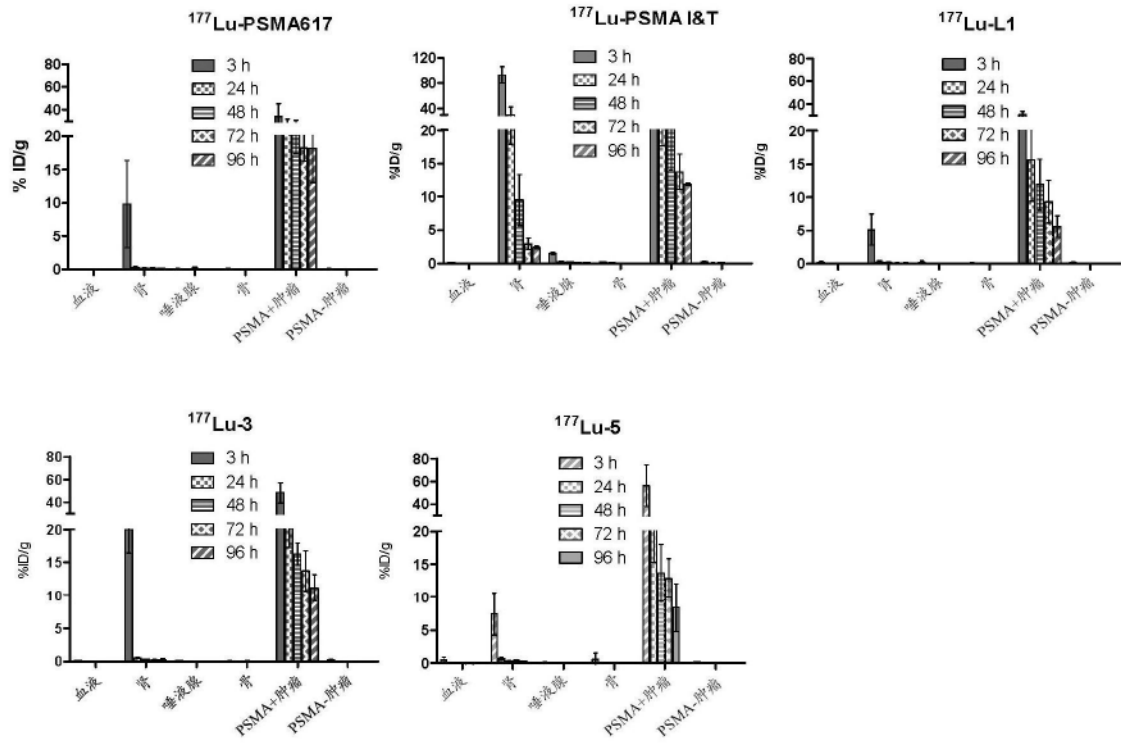


图16

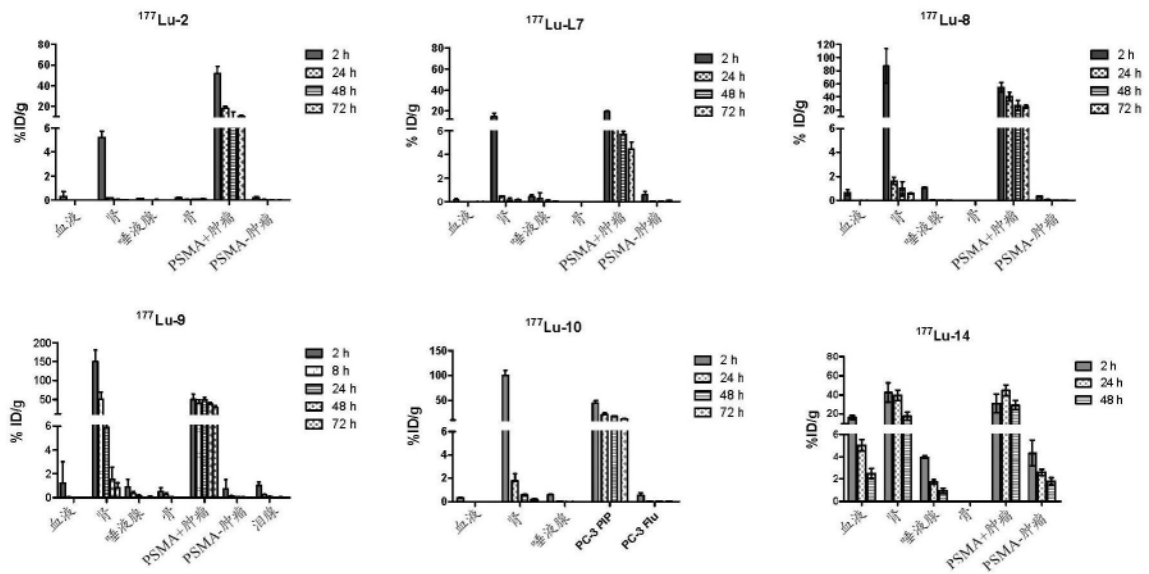


图17

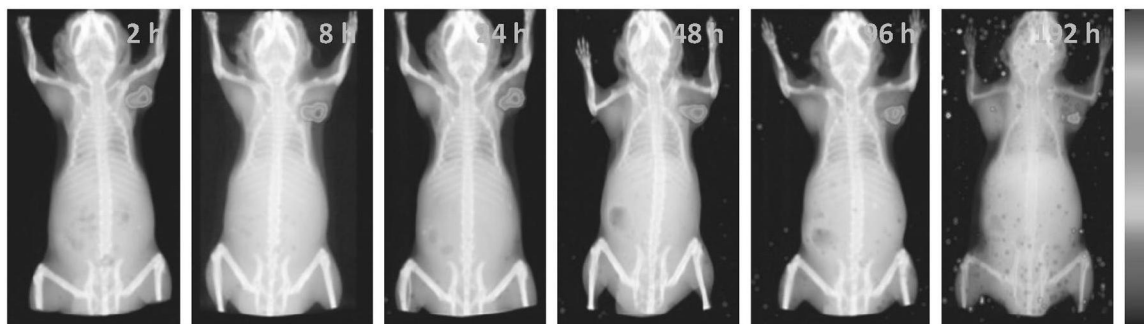


图18A

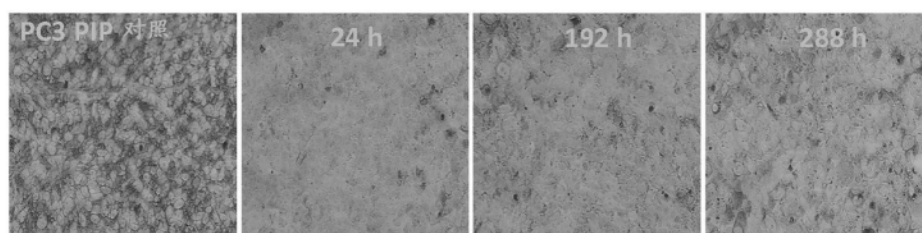


图18B

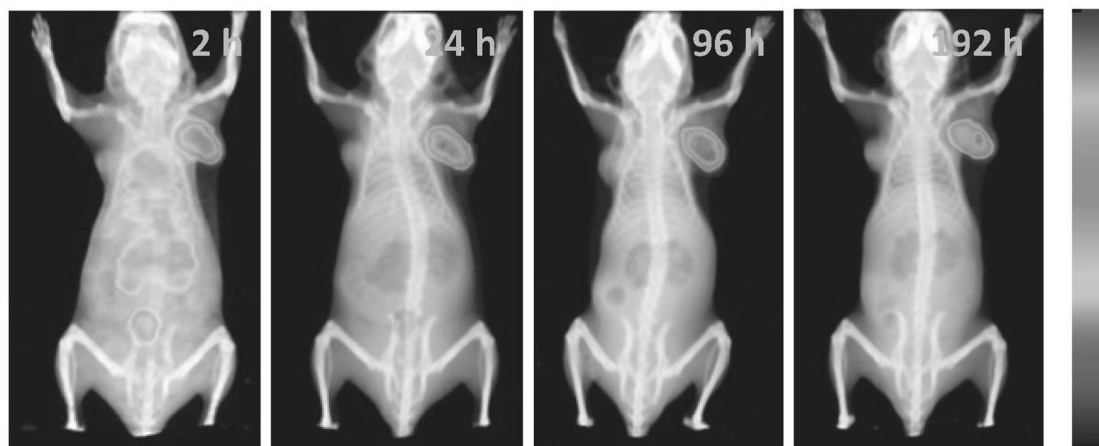


图19

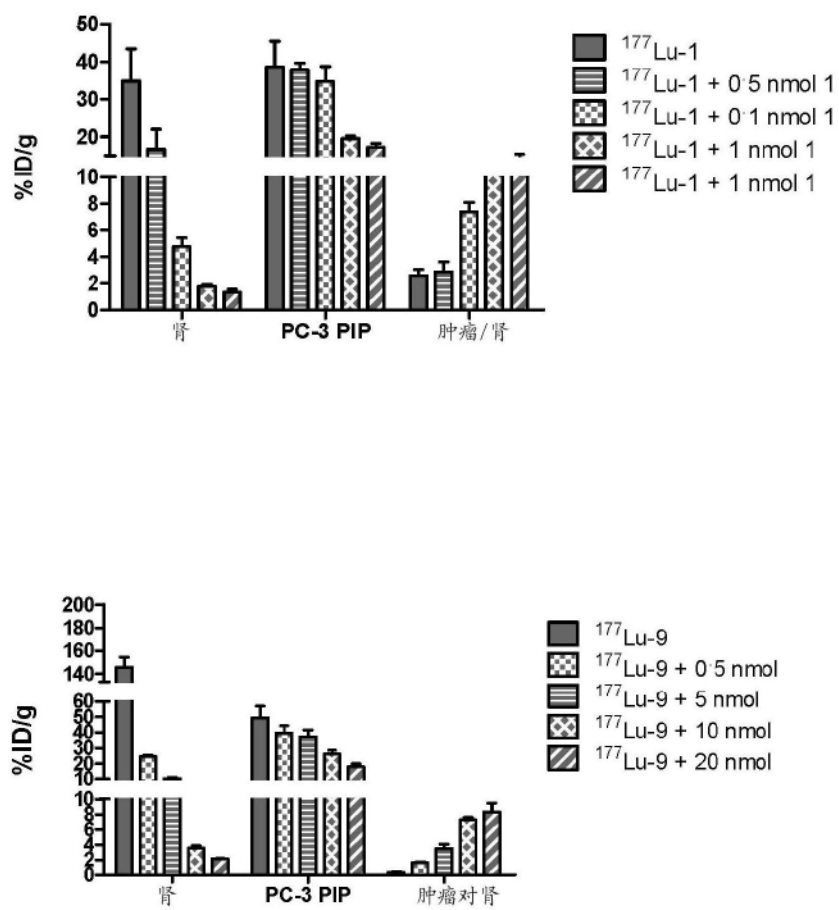


图20

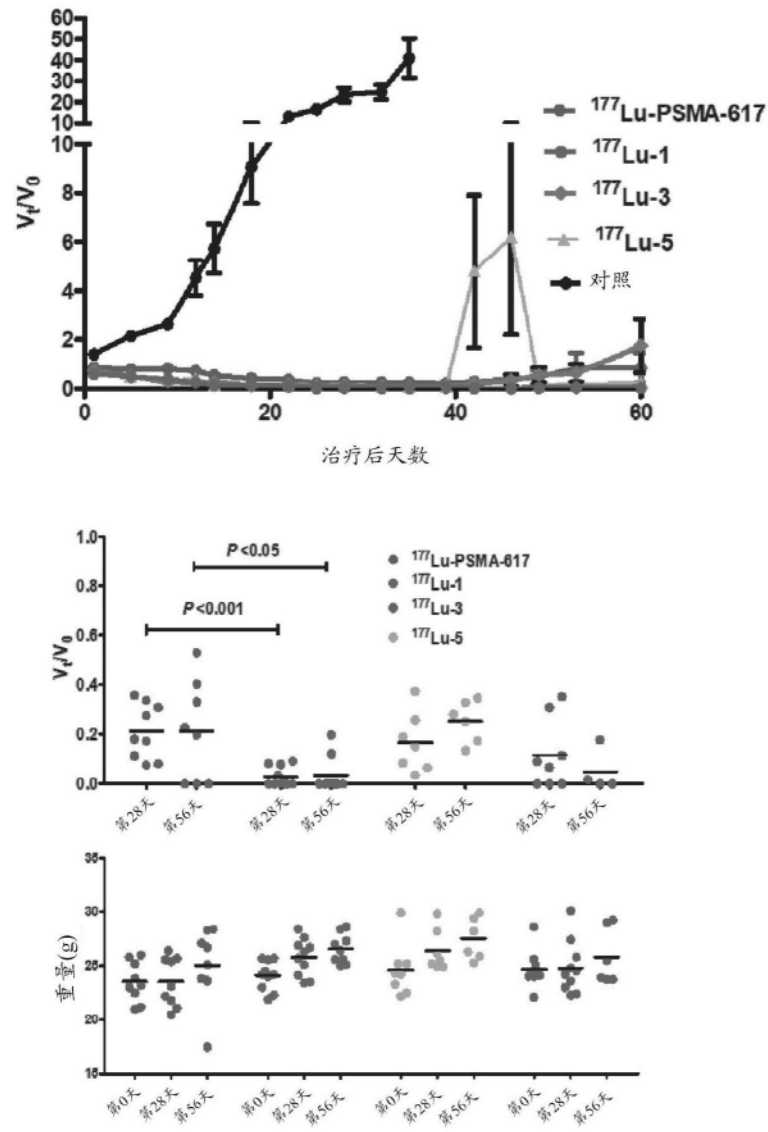


图21A

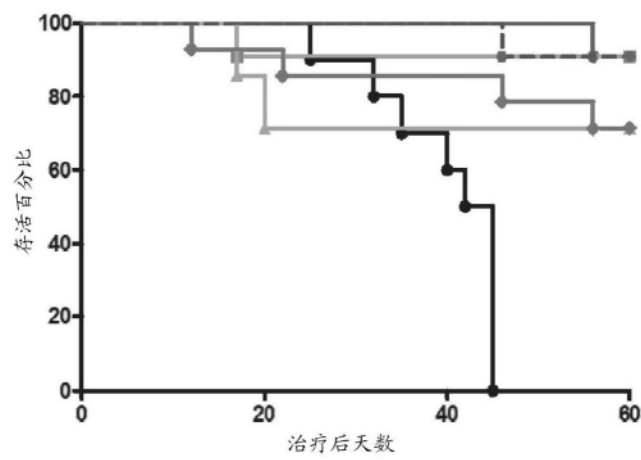


图21B

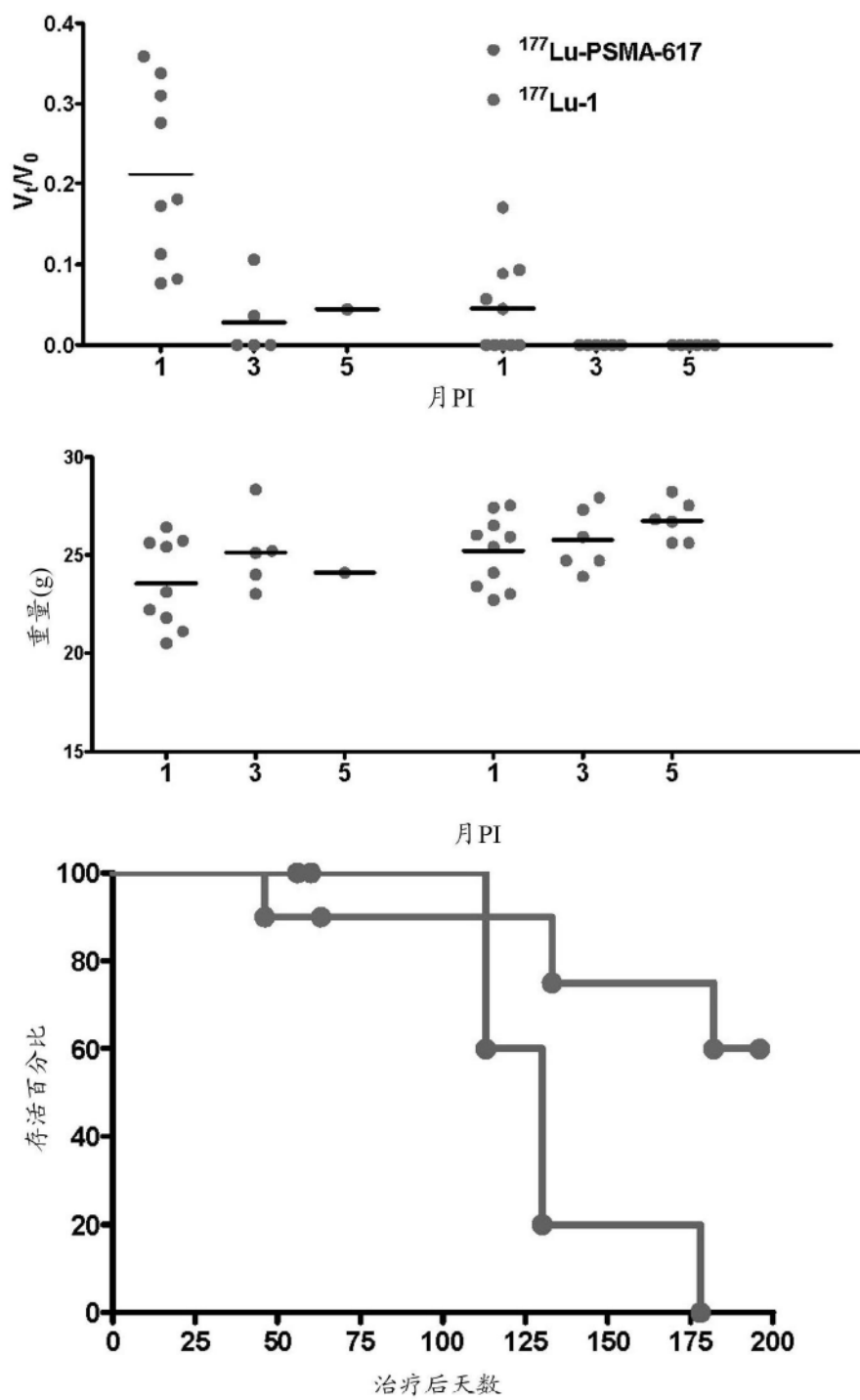


图22

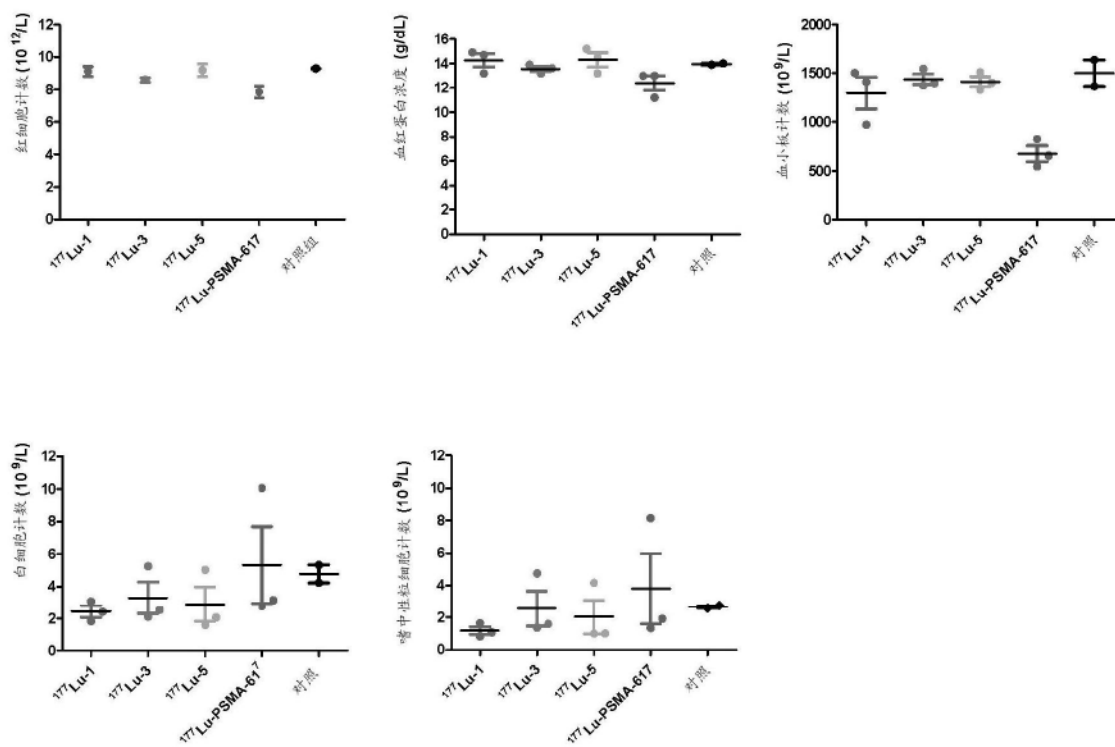


图23

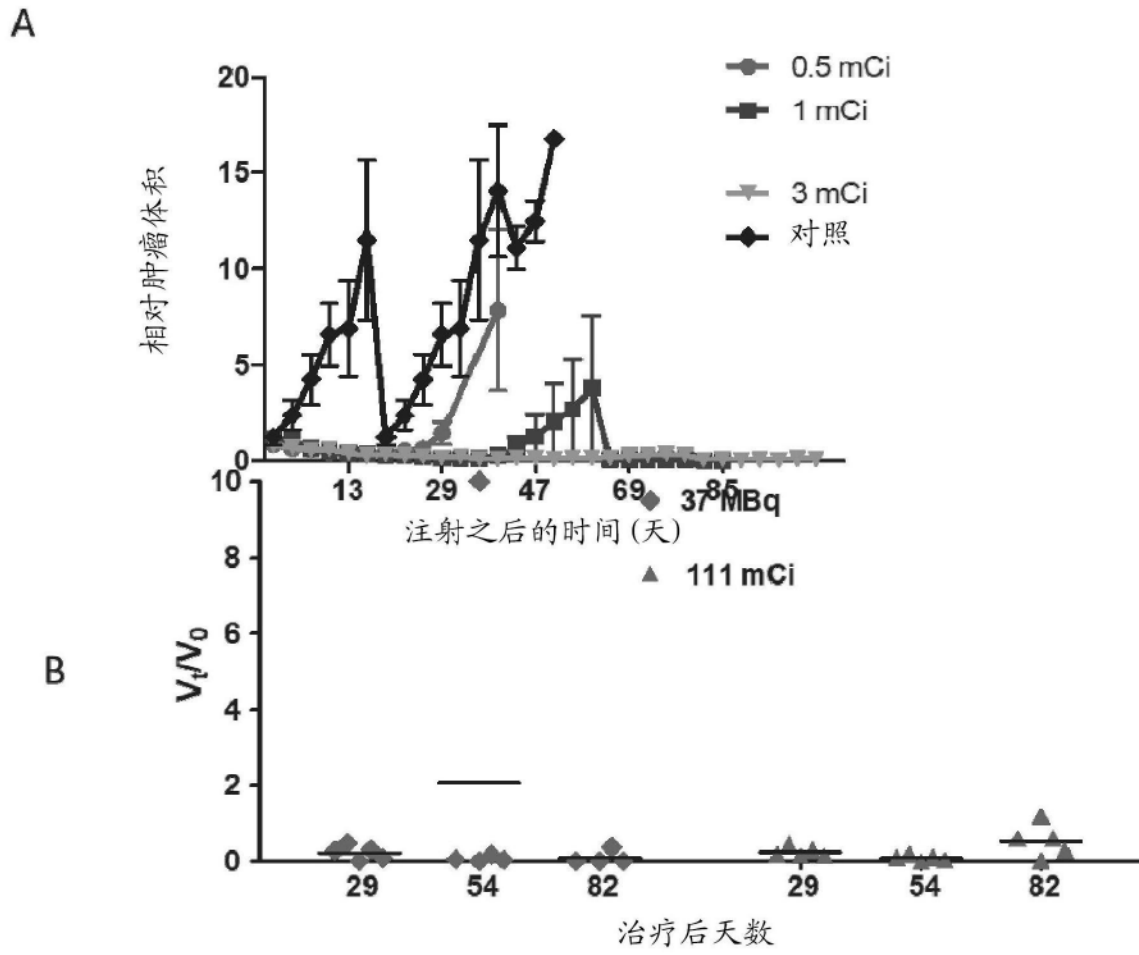


图24

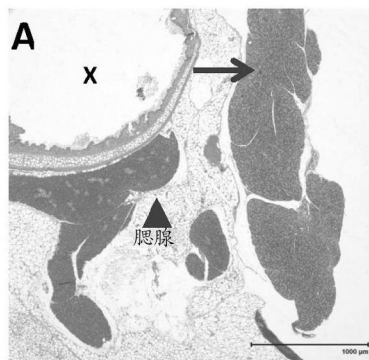


图25A

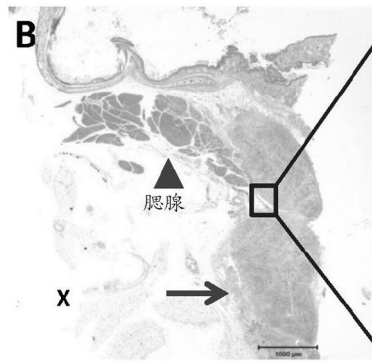


图25B

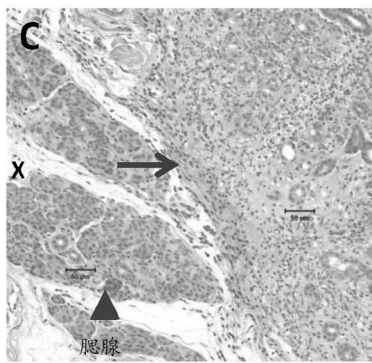


图25C

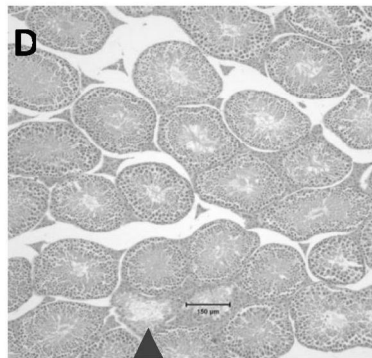


图25D

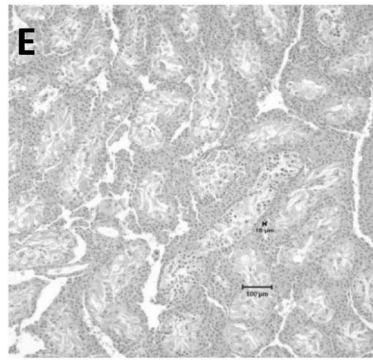


图25E