



(21) 申请号 201880034324.3

CN 105636924 A, 2016.06.01

(22) 申请日 2018.05.24

James M. Kelly et al. Dual-Target

(65) 同一申请的已公布的文献号

Binding Ligands with Modulated

申请公布号 CN 110740757 A

Pharmacokinetics for Endoradiotherapy of

(43) 申请公布日 2020.01.31

Prostate Cancer.《THE JOURNAL OF NUCLEAR

(30) 优先权数据

MEDICINE》.2017,第58卷(第9期),第1442-1449

17000891.6 2017.05.24 EP

页.

PCT/EP2017/000717 2017.06.20 EP

Cindy J. Choy et al. 177Lu-Labeled

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

Phosphoramidate-Based PSMA Inhibitors:

2019.11.25

The Effect of an Albumin Binder on

(86) PCT国际申请的申请数据

Biodistribution and Therapeutic Efficacy

PCT/EP2018/063734 2018.05.24

in Prostate Tumor-Bearing Mice.

(87) PCT国际申请的公布数据

《Theranostics》.2017,第7卷(第7期),第1928-

W02018/215627 EN 2018.11.29

1939页.

(73) 专利权人 同位素技术慕尼黑公司

Christoph A. Umbricht et

地址 德国慕尼黑

al. Preclinical Development of Novel PSMA-

专利权人 保罗·谢勒研究所

Targeting Radioligands: Modulation of

(72) 发明人 M·贝内索瓦 C·缪勒

Albumin-Binding Properties To Improve

C·乌姆里希特 R·希伯里

Prostate Cancer Therapy.《Mol.

K·哲尔诺舍科夫

Pharmaceutics》.2018,第15卷第2297-2306页.

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

Christoph A. Umbricht et al. Design

公司 11245

and Preclinical Evaluation of an Albumin-

专利代理师 董志勇

Binding PSMA Ligand for 64Cu-Based PET

(51) Int. Cl.

Imaging.《Mol. Pharmaceutics》.2018,第15卷

A61K 51/04 (2006.01)

第5556-5564页.

A61K 51/08 (2006.01)

胡四龙 等.以核素标记前列腺特异性膜抗

(56) 对比文件

原小分子抑制剂为探针的前列腺癌分子影像研

US 2013336888 A1, 2013.12.19

究进展.《肿瘤影像学》.2015,第24卷(第3期),第

161-167页.

审查员 郝伯钧

(54) 发明名称

权利要求书8页 说明书92页 附图31页

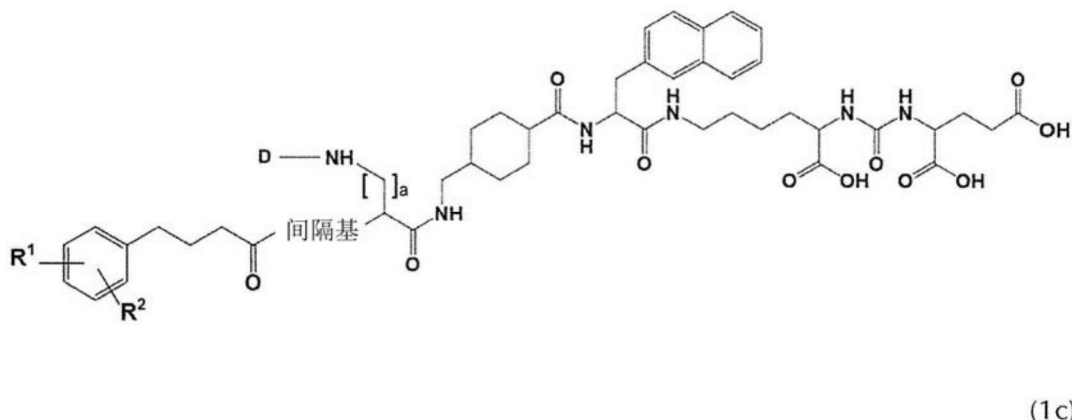
新型PSMA-结合剂及其用途

(57) 摘要

本发明提供了可用作放射性药物、显像剂和

用于治疗癌症的新型化合物。

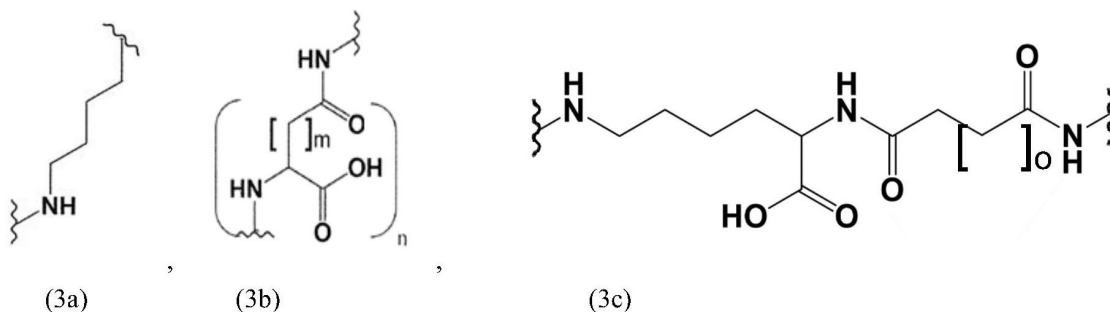
1. 一种根据通式 (1c) 的化合物, 或其药学上可接受的盐或放射性标记的配合物:



其中

D是螯合剂, 选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸 (HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基) 戊二酸 (NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸 (DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸 (TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟甲基)次膦酸] (NOPPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸 (PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺 (DF0) 和二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 或其衍生物,

R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地选自H、F、Cl、Br、I, 或者支链、无支链或环状C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基和所述间隔基是式 (3a)、(3b) 或 (3c) 的间隔基,



m是选自1或2的整数,

n是选自1、2、3、4或5的整数,

o是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数,

a为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

2. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述螯合剂D选自DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP<sup>PrA</sup>或DO3AP<sup>ABn</sup>。

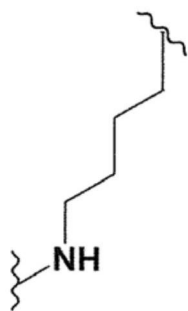
3. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物, 其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地选自H和卤素和C<sub>1-6</sub>烷基。

4. 根据权利要求3所述的化合物, 其中所述卤素是碘或溴, 和C<sub>1-6</sub>烷基是C<sub>1-3</sub>烷基。

5. 根据权利要求4所述的化合物, 其中所述C<sub>1-6</sub>烷基是甲基。

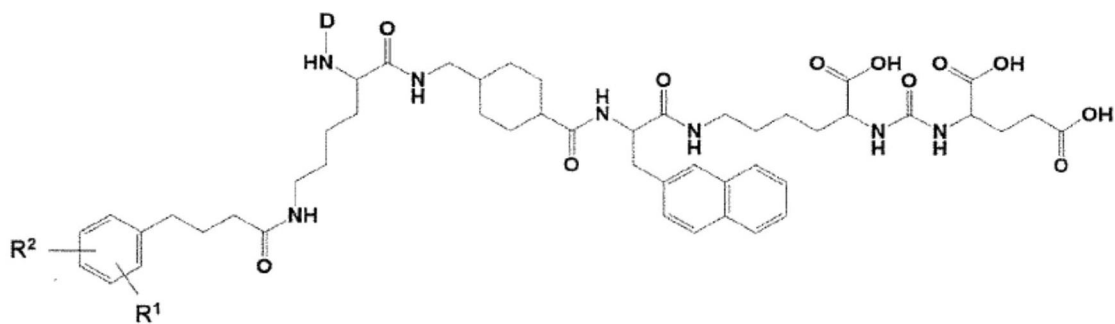
6. 根据权利要求1-2中任一项所述的化合物, 其中所述间隔基是式 (3a) 的间隔基:





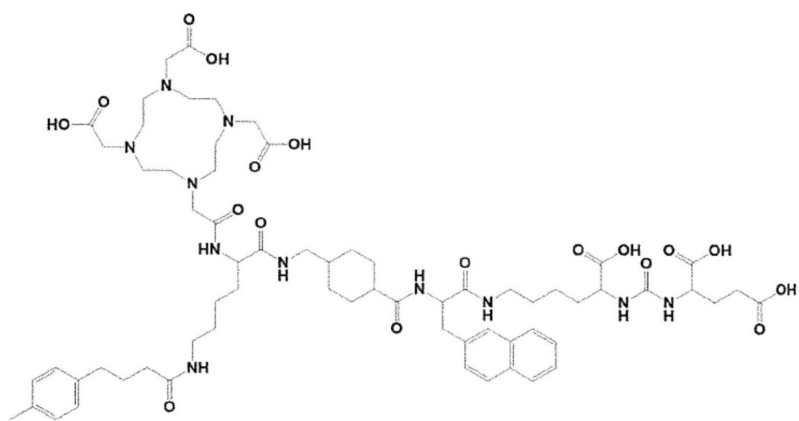
(3a)。

7. 根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐或放射性标记的配合物,所述化合物由通式(7a)表征:

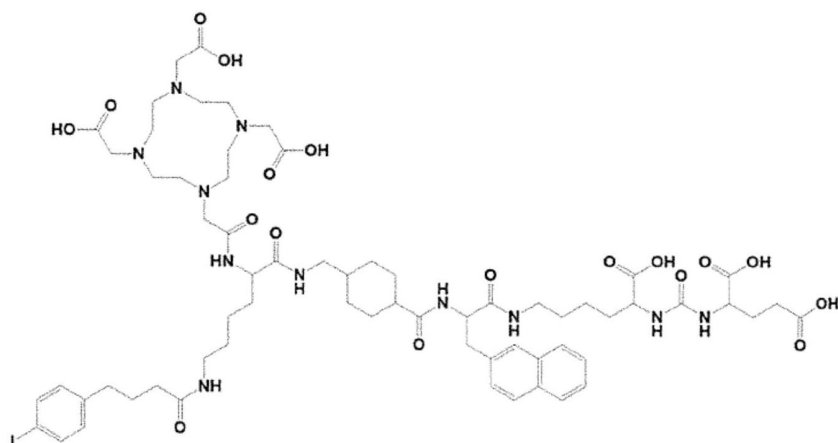


(7a)。

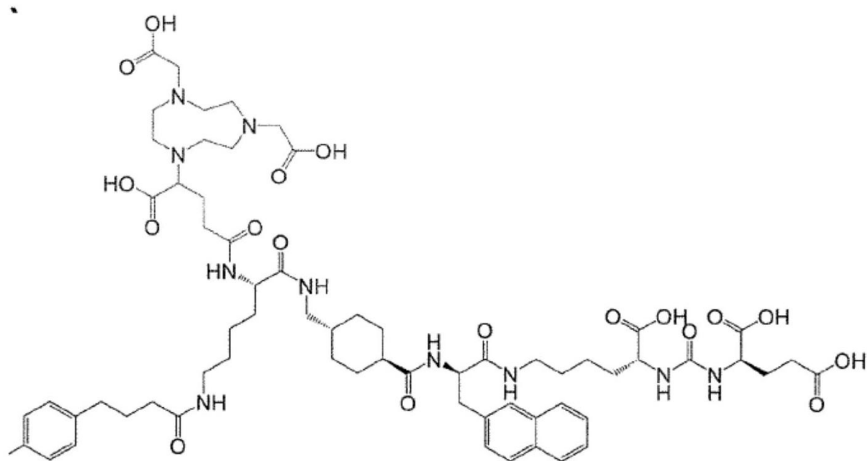
8. 根据权利要求7所述的化合物,所述化合物由结构式(7a) (i)、(7a) (ii) 或(7a) (iii) 或者(7a) (i)、(7a) (ii) 或(7a) (iii) 的药学上可接受的盐或放射性标记的配合物表征:



(7a)(i)

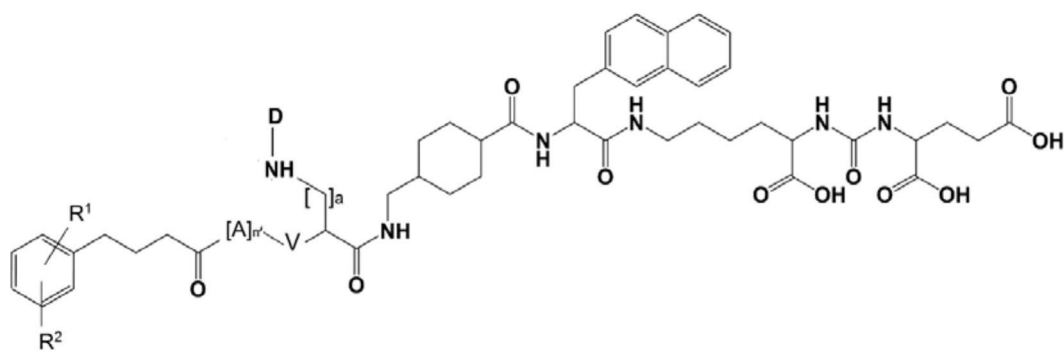


(7a)(ii)



(7a)(iii)

9. 根据权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐或放射性标记的配合物,所述化合物由通式 (7b) 表征:



(7b)

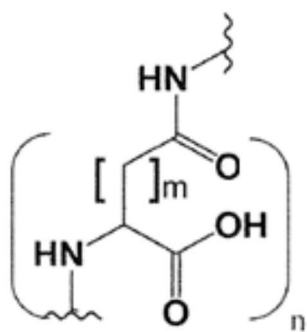
其中

A是氨基酸残基，

V选自单键、N或包括至多3个杂原子的任选地取代的 $C_1-C_{12}$ 烃基，其中所述杂原子选自N，

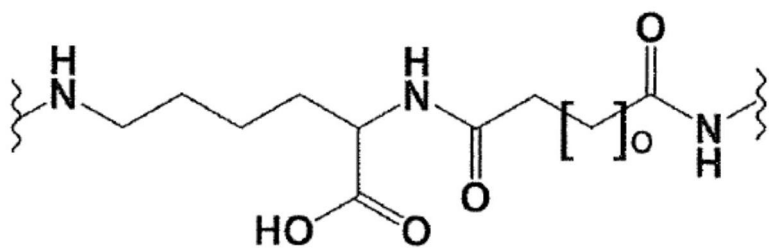
$n'$  是选自1、2、3、4或5的整数。

10. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述间隔基由式 (3b) 或式 (3c) 表征：



(3b)

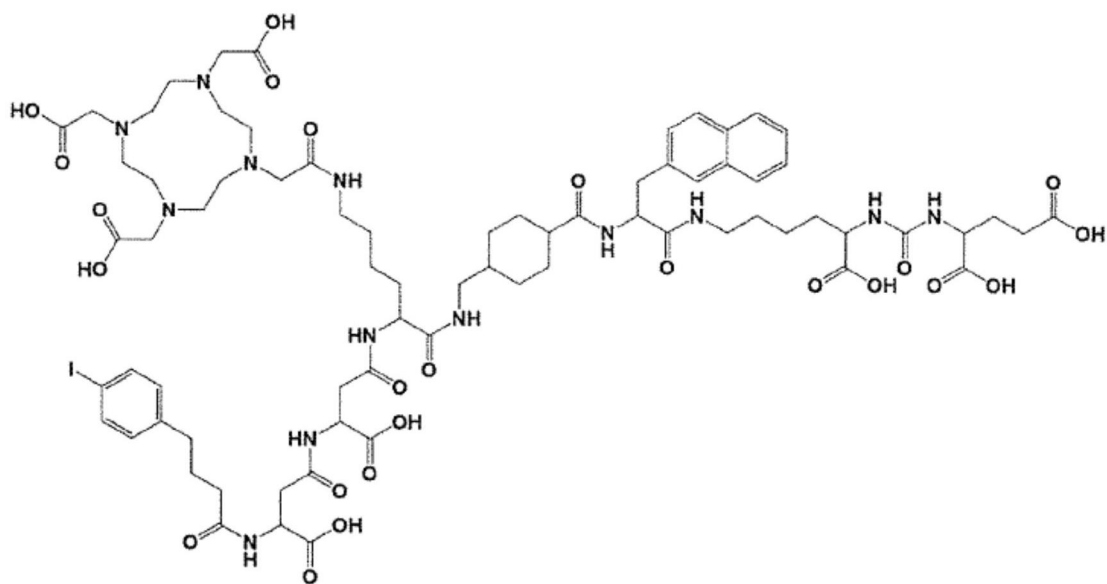
其中m是选自1或2的整数，和n是选自1、2、3、4或5；



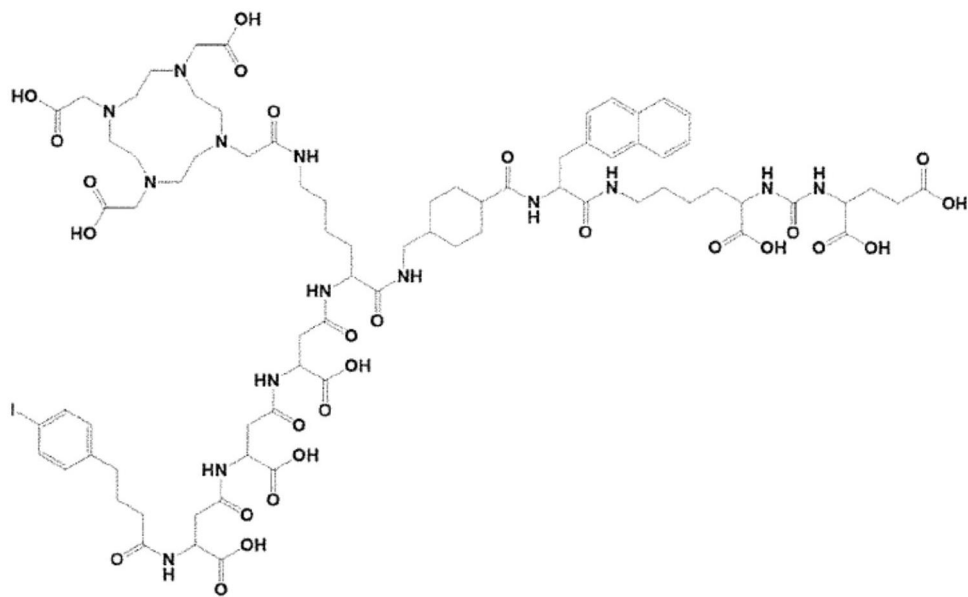
(3c)

其中o是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

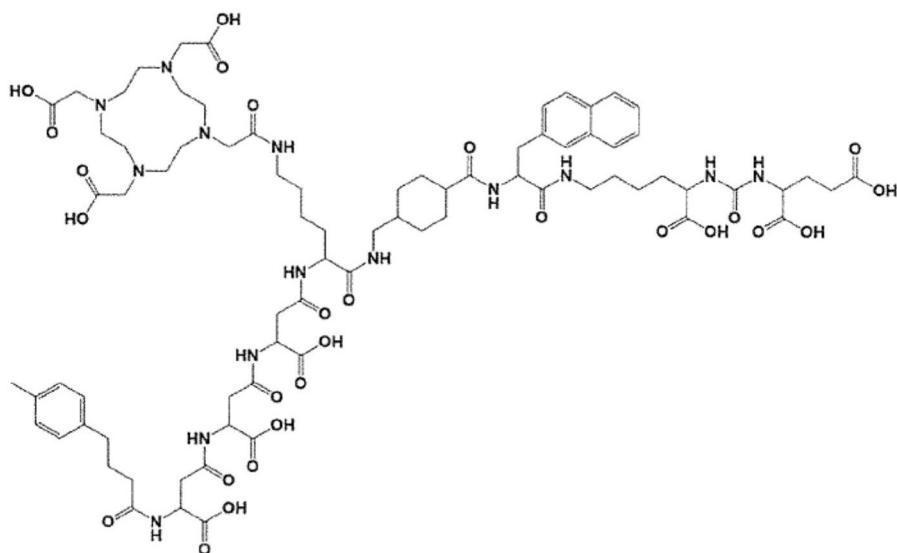
11. 根据权利要求9至10中任一项所述的化合物，所述化合物由结构式 (7b) (i)、(7b) (ii)、(7b) (iii) 或 (7b) (iv) 或者 (7b) (i)、(7b) (ii)、(7b) (iii) 或 (7b) (iv) 的药学上可接受的盐或放射性标记的配合物表征，



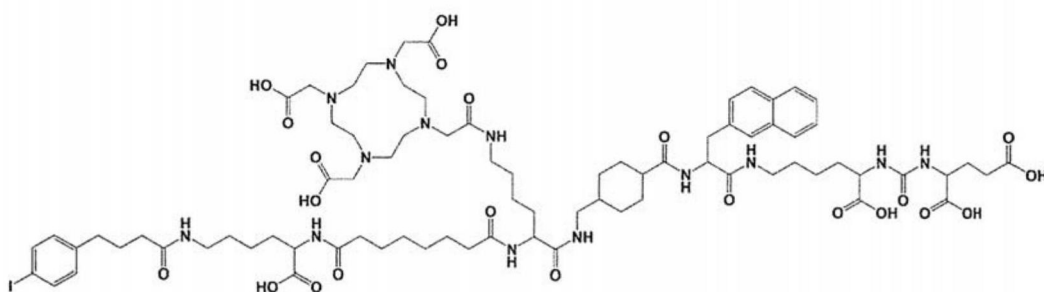
(7b)(i)



(7b)(ii)



(7b)(iii)



(7b)(iv)。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物用于制备放射性标记的配合物的用途。

13. 一种放射性标记的配合物,其包括放射性核素和根据权利要求1-11中任一项所述的化合物。

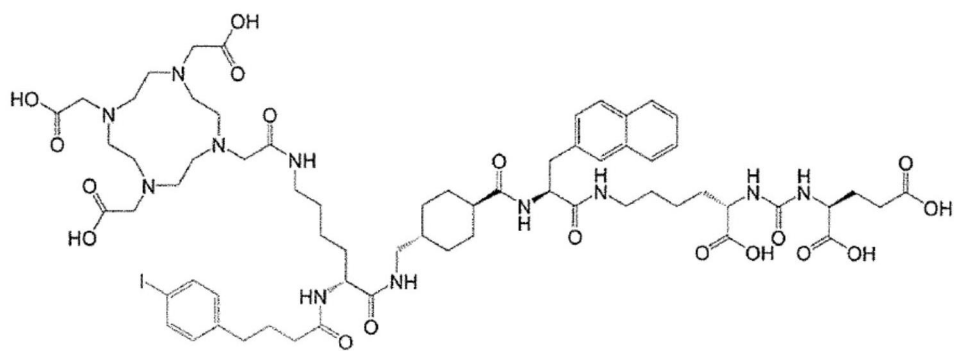
14. 根据权利要求13所述的放射性标记的配合物,其中所述金属选自 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{90}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{151}\text{Tb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{43}\text{Sc}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{227}\text{Th}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{152}\text{Gd}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{157}\text{Gd}$ 或 $^{166}\text{Dy}$ 。

15. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,或根据权利要求13或14所述的放射性标记的配合物,和药学上可接受的载体和/或赋形剂。

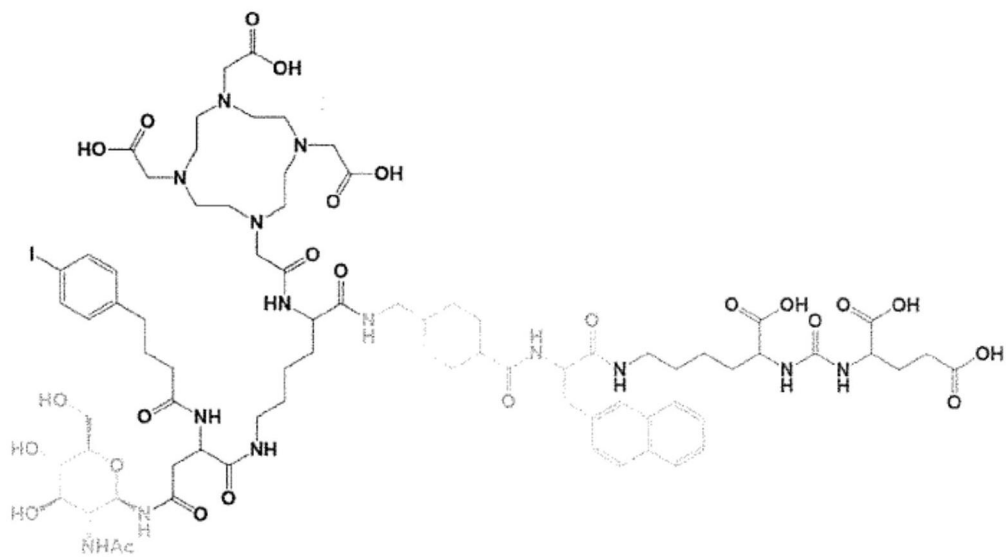
16. 一种试剂盒,其包括根据权利要求1至11中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或放射性标记的配合物,根据权利要求13或14所述的放射性标记的配合物或根据权利要求15所述的药物组合物。

17. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物、根据权利要求13或14所述的放射性标记的配合物、根据权利要求15所述的药物组合物或根据权利要求16所述的试剂盒在制备用于医学和/或诊断的药物中的用途。





(15)



(16)。

## 新型PSMA-结合剂及其用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及新型化合物和放射性标记的配合物,其包括经由合适的连接基和间隔基连接的螯合剂、PSMA结合实体和白蛋白结合实体,它们被设想用作诊断和/或治疗性放射性药物。具体地,根据本发明的化合物和配合物适合用作用于检测表达PSMA的靶细胞和组织以及治疗 and 诊断癌症的(治疗诊断(theragnostic))示踪剂、显像剂和治疗剂。

### 背景技术

[0002] 前列腺癌(PCa)是美国和欧洲人群中的主要癌症。西半球至少有1-2百万男性患有前列腺癌,并且据估计这种疾病将袭击六分之一的55至85岁之间的男性。根据美国癌症协会称,在美国每年大约有161,000例前列腺癌新病例被诊断出。患有第IV期转移性前列腺癌患者的5年生存率仅约29%。

[0003] 一旦转移性PCa变成激素难治性的,仅存在临床成功相当差的几种治疗选择。根据当前的医学指南,通常建议使用多西紫杉醇进行抗有丝分裂化疗。然而,治疗通常与严重的副作用相关联,并且仅具有稍微提高的生存率。因此,早期诊断和密切监测潜在的复发是至关重要的。前列腺癌诊断基于对来自腺体的组织病理学或细胞学样本的检查。用于进行进展性或复发性前列腺癌的治疗监测的现有成像技术包括计算机断层扫描(CT)、磁共振(MR)成像和超声,但通常不足以有效监测和管理该疾病。因此,存在对于早期诊断和治疗PCa的更有效工具的高度临床需求。

[0004] 众所周知,肿瘤细胞可表达由于突变而展现修饰结构的独特蛋白质,或可过表达通常在非恶性的细胞中以非常少量产生的正常的(即非突变的)蛋白质。肿瘤抗原基于它们的表达模式可大体上分成两类:肿瘤特异性抗原(TSA),其仅仅存在于肿瘤细胞上并且不存在于非恶性的细胞上;和肿瘤相关抗原(TAA),其存在于一些肿瘤细胞上并且也存在于非恶性的细胞上。TSA通常由于导致异常蛋白质产生的原癌基因和肿瘤抑制基因的突变而出现,而TAA表达通常由与肿瘤形成无关的其他基因的突变引起。

[0005] 这种蛋白质在肿瘤细胞的表面上的表达提供了通过检测这种肿瘤标志物来诊断和表征疾病的机会。带有可视化标记并特异性识别这种肿瘤标志物的蛋白质结合剂或小分子药物通常用于无创条件下的癌症诊断和成像。

[0006] 一系列新的有希望低分子量显像剂靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)。PSMA,也称为叶酸水解酶I(FOLH1),是一种跨膜的750个氨基酸的II型糖蛋白。PSMA基因位于11号染色体的短臂上,并且起叶酸水解酶和神经肽酶二者的作用。它具有相当于被称为“大脑PSMA”的谷氨酸羧肽酶II(GCPII)的神经肽酶功能,并可能通过将N-乙酰基-天冬氨酰-谷氨酸(NAAG)裂解为N-乙酰天冬氨酸(NAA)和谷氨酸来调节谷氨酸能传递(Nan,F.;等JMed Chem 2000,43,772-774)。

[0007] DF

[0008] PSMA(i)主要限于前列腺(尽管在包括膀胱癌、胰腺癌、肺癌和肾癌在内的许多其他实体瘤的新脉管系统中也检出较少的量,但在正常脉管系统中未检测出),(ii)在前列腺



癌所有阶段的大量表达为蛋白质(每个癌细胞中至多 $10^6$ 个PSMA分子的量)(iii)在细胞表面呈现但不脱落到循环中,(iv)与酶促或信号传导活性相关。此外,在低分化,雄激素不敏感或转移性癌症中,PSMA表达进一步上调,并且该表达通常与疾病进展相关。

[0009] PSMA的独特表达使其成为前列腺癌(以及其他几种癌症)的重要标志物。此外,PSMA代表了用于显像剂的大的细胞外靶标。PSMA在配体结合后被内化,并且因此,它不仅是用于靶向放射性核素疗法(使用发射颗粒的放射性核素)的极佳靶标,而且还用于其他治疗策略,包括免疫毒素的肿瘤细胞特异性递送、免疫细胞的重新靶向、前体药物活化、PSMA疫苗以及质粒DNA和腺病毒免疫。由于在健康组织中的低表达水平,因此PSMA另外具有进行大剂量治疗的潜力,其具有最小的副作用。

[0010] 过去,开发了几种带有治疗或诊断部分的PSMA靶向剂。FDA批准的抗PSMA单克隆抗体(mAb)7E11的放射免疫缀合物,称为PROTASCINT®,已用于诊断前列腺癌的转移和复发。由于该抗体与PSMA的胞内域结合因此只能靶向死细胞的事实,限制了这种放射性药物的成功。此外,由于单克隆抗体和抗体片段的缓慢肾清除、异质分布、不良的肿瘤渗透性和免疫原性潜力,经常限制使用单克隆抗体和抗体片段作为显像剂。为了克服这些问题,开发了能够与PSMA胞外域结合的多种小分子PSMA靶向剂,用于PET/CT和SPECT/CT成像,其包括放射性标记的N-[N-[(S)-1,3-二羧丙基]氨甲酰基]-S-[ $^{11}\text{C}$ ]甲基-1-半胱氨酸(DCFBC),和数种基于脲的拟肽PSMA-抑制剂(cf.Bouchelouche等,Discov Med.2010Jan;9(44):55-61),其包括目前在临床评估中的PSMA配体,MIP-1095(Hillier et al.Cancer Res.2009Sep 1;69(17):6932-40),和由Benešová等人开发的DOTA-缀合的PSMA-抑制剂PSMA-617(JNM 2015,56:914-920和EP 2862 857A1),其分布遍及全身并迅速从血液中清除(J Nucl Med.2015;56(11):1697-705)。然而,尽管快速而全身的可及有利地促进肿瘤靶向和穿透,但目前可用的PSMA靶向剂仍存在介导表达靶标的正常组织中非特异性“脱靶”相互作用以及放射性药物在排泄器官(比如肾)中积聚的风险。从而,非肿瘤组织可能暴露于辐射剂量,最终导致不可逆的组织损伤。已经表明不同放射性标记的小分子PSMA-靶向剂(包括PSMA-617)积聚在患者的泪腺和唾液腺中,并且可能对腺体组织造成损害,尤其是如果与 $\alpha$ -发射放射性核素组合使用(Zechmann等.Eur J Nucl Med Mol Imaging.2014;41(7):1280-92和Kratochwil等.J Nucl Med.2017Apr 13.pii:jnumed.117.191395.doi:10.2967/jnumed.117.191395[Epub])。该问题的一种可能解决方案涉及使用对PSMA具有高亲和力的PSMA结合剂(Kratochwil等.J Nucl Med.2015;293-298and Chatalic et al.Theragnostics.2016;6:849-861)。

[0011] 最近,Kelly等人(J Nucl Med.2017pii:jnumed.116.188722.doi:10.2967/jnumed.116.188722.[Epub印刷前])评估了对PSMA和人类血清白蛋白(HSA)均具有亲和力的药物。由Kelly等开发的配体包括用于HSA结合的p-(碘苯基)丁酸实体和基于脲的PSMA结合实体。在Kelly等人开发的化合物中,放射治疗的碘( $^{131}\text{I}$ )被共价附连至HSA结合部分,其又经由烃基链直接连接至PSMA结合实体。然而,就限于碘的施加的放射性核素而言,评估的化合物受到很大限制。此外,对于评估的化合物,没有证明靶细胞中改善的内化/摄取。

[0012] 随后是Choy等人Theranostics 2017;7(7):1928-1939的另一种方法,其评估 $^{177}\text{Lu}$ -标记的基于氨基磷酸酯的PSMA抑制剂与白蛋白结合实体。将络合 $^{177}\text{Lu}$ 放射性核素的DOTA螯合剂醚连接至不可逆的PSMA抑制剂CTT1298(EP 2970345 A1)。然而,基于氨基磷酸

酯的PSMA结合动机仅表现出较差的稳定性,特别是在升高的温度下(在延长的酸性条件下升高的温度导致氨基磷酸酯P-N键的水解),这是经由螯合剂比如DOTA进行配位放射性标记反应所必需的。因此,不能应用直接的放射性标记反应,而必须使用多步的预标记方法。因此,应制备 $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-叠氮化物作为前体;随后,该前体必须与二苯并环辛炔衍生的PSMA动机偶联。最后,必须对偶联的化合物进行精细的HPLC纯化;需要进行HPLC洗脱液的蒸发(在 $\text{N}_2$ 气氛下)并溶解在生理介质中的重新配制。当正产生高活性时,该程序对于临床应用可能是不可能的。临床前生物分布数据表明,放射性标记药物的性能较差,尤其是对于肿瘤与肾的比不远远超过1的。

[0013] 尽管这些年来取得了进步,但是前列腺癌的诊断和管理仍然保持挑战性。需要新型诊断剂或显像剂,其能够以高度选择性的方式靶向PCa肿瘤细胞并表现出良好的药代动力学特性,以进行快速和无创的肿瘤可视化和治疗,来实现PCa的早期检测和治疗。

[0014] 因此,本发明的目的是克服现有技术的缺点并符合本领域的需要。

[0015] 该目的通过本文所公开的主题解决,更具体地,如权利要求书所述。

[0016] 总体评述

[0017] 尽管下面详细描述了本发明,但是应当理解,本发明不限于本文描述的具体方法、方案和试剂,因为这些可以变化。还应该理解,本文所使用的术语并不旨在限制本发明的范围,本发明的范围仅由所附权利要求书限制。除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0018] 在下文中,将描述本发明的要素。这些要素与具体实施方式一起列出,然而,应该理解,它们可以以任何方式和任何数量组合以产生另外的实施方式。各种描述的实例和优选的实施方式不应被解释为将本发明限制为仅明确描述的实施方式。该描述应被理解为支持并涵盖将明确描述的实施方式与任何数量的所公开的和/或优选的要素相结合的实施方式。此外,除非上下文另外指出,否则应认为本申请的描述公开了本申请中所有所描述的要素的任何排列和组合。

[0019] 在整个说明书和所附权利要求书中,除非上下文另有要求,否则术语“包括(comprise)”和变型比如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”将被理解为意指包括所陈述的成员、整数或步骤,但是不排除任何其他未陈述的成员、整数或步骤。术语“由...组成(consist of)”是术语“包括(comprise)”的具体实施方式,其中排除了任何其他未陈述的成员、整数或步骤。在本发明的上下文中,术语“包括(comprise)”涵盖术语“由...组成(consist of)”。因此,术语“包括(comprising)”涵盖“包含(including)”以及“由...组成(consisting)”,例如,“包括(comprising)”X的组合物可以仅由X组成,或者可以包括另外的内容,例如X+Y。

[0020] 除非本文另有指示或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(特别是在权利要求书的上下文中)使用的术语“一(a)”和“一(an)”以及“所述(the)”和类似的参考应被解释为涵盖单数和复数。本文中列举的数值范围仅旨在用作单独地指代落在该范围内的每个分离数值的简写方法。除非本文另外指出,否则每个单独的值都被并入说明书中,就好像它在本文中被单独列举一样。说明书中的任何语言都不应解释为指示对实践本发明必不可少的任何未要求保护的要素。

[0021] 短语“基本上(substantially)”不排除“完全(completely)”,例如,“基本上不含”

Y的组合物可以完全不含Y。必要时,可以从本发明的定义中省略词语“基本上(substantially)”。

[0022] 关于数值x的术语“约”表示 $x \pm 10\%$ 。

[0023] 在本发明中,如果没有另外指出,则替代方案和实施方式的不同特征可以彼此组合。

[0024] 为了清楚和可读性的目的,提供了以下定义。可以在本发明的每个实施方式解读针对这些定义提及的任何技术特征。在这些实施方式的上下文中可以具体地提供附加的定义和解释。

[0025] 定义

[0026] 术语“烃基”是指烃基团的残基,即烃链自由基,优选独立地选自烷基、烯基、炔基、芳基和芳烷基。

[0027] 术语“烷基”包括具有1-30个碳原子,优选地1-20、1-15、1-10、1-8、1-6、1-4、1-3或1-2个碳原子的线性(“直链”)、支链和环链自由基。例如,术语“C<sub>1-12</sub>烷基”指烃基自由基,该烃基自由基的碳链为直链或支链或环状,并且包括1至12个碳原子。烷基残基的具体实例是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基、己基、辛基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基(icosyl)、二十一烷基(henicosyl)、二十二烷基、二十三烷基、二十四烷基、二十五烷基、二十六烷基、二十七烷基、二十八烷基、二十九烷基或三十烷基,包括其各种支链和/或环状异构体,例如叔丁基或异戊基等。环状烷基异构体在本文中也称为“环烷基”,是指包括3个环碳原子的饱和脂环族烃。该术语通常也包括“取代的”直链、支链和环状烷基。该术语进一步包括“杂烷基”,是指其中碳链的一个或多个C原子被杂原子取代的烷基,所述杂原子比如但不限于N、O和S。因此,该术语进一步包括“杂环基”或“杂环烷基”,是指包含3个或更多个环成员的非芳族环化合物,其中一个或多个环碳原子被杂原子取代,所述杂原子比如但不限于N、O和S。杂环基基团包括不饱和的、部分饱和的和饱和的环系统,比如例如咪唑基、咪唑啉基和咪唑烷基。杂环基基团包括但不限于吡丙啶基、吡丁啶基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑啉基、四氢噻唑基、四氢噻吩基、四氢呋喃基、间二氧杂环戊烯基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡咯啉基、咪唑基、咪唑啉基、吡唑基、吡唑啉基、三唑基、四唑基、**噁**唑基、异**噁**唑基、噻唑基、噻唑啉基、异噻唑基、噻二唑基、**噁**二唑基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢吡喃基、四氢硫代吡喃基、氧硫杂环己烷(oxathiane)、二氧基、二噻烷基(dithianyl)、吡喃基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、三嗪基、二氢吡啶基、二氢二硫杂环己二烯(dihydrodithiiny1)、二氢二亚硫酸基、高哌嗪基、奎宁环基、吡啶基、二氢吡啶基、异吡啶基、氮杂吡啶基(吡咯吡啶基)、吡啶基、中氮茛基、苯并三唑基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并**噁**二唑、苯并**噁**噻基、苯并二硫杂环己二烯(benzodithiiny1)、苯并氧硫杂环己二烯(benzoxathiiny1)、苯并噻嗪基、苯并**噁**唑基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并[1,3]间二氧杂环戊烯基、吡唑并吡啶基、咪唑并吡啶基(氮杂苯并咪唑基)、三唑并吡啶基、异**噁**唑吡啶基、嘌呤基、黄嘌呤基、腺嘌呤基、鸟嘌呤基(guaniny1)、喹啉基、异喹啉基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、酞嗪基、茶啶基、蝶啶基、噻茶基(thianaphthaleny1)、二氢苯并噻嗪基、二氢苯并呋喃基、二氢吡啶基、二氢苯并二**噁**英基(dihydrobenzodioxiny1)、四氢吡

噪基、四氢吡啶基、四氢苯并咪唑基、四氢苯并三唑基、四氢吡咯吡啶基、四氢吡啶并吡啶基、四氢咪唑并吡啶基、四氢三唑并吡啶基和四氢喹啉基。杂环基基团可以是取代的或未取代的。代表性的取代杂环基基团可以被单取代或取代一次以上,比如但不限于吡啶基或吗啉基,其为2-、3-、4-、5-或6-取代,或被多个取代基比如上面列出的那些二取代。

[0028] 术语“环状的”包括术语“多环的”,是指具有多于一个环结构的结构。具体地,术语“环状的”也指螺环状结构,其中两个或更多个环具有一个共有的原子和5个稠合多环结构,其中两个或更多个环具有至少两个共有的原子。

[0029] 如本文所使用的术语“烯基”包括具有2-30个碳原子,优选地2-20、2-15、2-10、2-8、2-6、2-4或2-3个碳原子的直链、支链和环链自由基,其包括至少一个碳-碳双键。“烯基”基团的具体实例是相对于烷基基团给出的各种烯键式不饱和等同物,其根据本领域技术人员已知的惯例来命名,这取决于碳-碳双键(一个或多个)的数量和位置,例如丁二亚基(butanediylidene)、1-丙基-3-亚基(1-propanyl-3-ylidene)。“烯基”基团优选地包含至少1个,更优选地至少2、3、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个双键,其中双键优选地位于烃基链的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29位。烯基可以是取代的或未取代的。

[0030] 如本文所使用的术语“炔基”包括具有2-30个碳原子,优选地2-20、2-15、2-10、2-8、2-6、2-4或2-3个碳原子的直链、支链和环链自由基,其包括至少一个碳-碳三键。“炔基”基团的具体实例是相对于烷基和烯基基团给出的各种炔基不饱和等同物,其根据本领域技术人员已知的惯例来命名,这取决于碳-碳三键(一个或多个)的数量和位置。“炔基”基团优选地包含至少1个,更优选地至少2、3、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个三键,其中双三键优选地位于烃基链的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、30 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或29位。炔基可以是取代的或未取代的。

[0031] 术语“芳基”是指单环或多环或稠合的多环芳族环系统。该术语包括单环或多环或稠合的多环芳族“杂芳基”环系统,其中环系统的至少一个碳原子被杂原子取代。通常,术语“芳基”和“杂芳基”是指具有3-30个碳原子,比如3-10个,特别是2-6个碳原子的基团。

[0032] 术语“芳基烷基”或“芳烷基”在本文可互换使用,是指包含至少一个如本文所定义的至少一个烷基和至少一个芳基的基团。在本文所定义的芳烷基中,芳烷基经由烷基与本发明的化合物或缀合物的另一部分键合,以苄基为例。

[0033] 本文所使用的术语“卤素”或“卤代”包括氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)、碘(I)。

[0034] 术语“杂原子”包括N、O、S和P,优选为N和O。

[0035] 术语“取代的(substituted)”是指将本文所定义的烃基(例如,烷基或烯基),在该烃基中与其中所包含的氢原子的一个或多个键用与非氢或非碳原子的键所置换。取代基团还包括将其中与碳(一个或多个)或氢(一个或多个)原子的一个或多个键用与杂原子的一个或多个键,包括双键或三键取代的基团。因此,除非另有说明,否则“取代的”基团将被一个或多个取代基取代。在一些实施方式中,取代基被1、2、3、4、5或6个取代基取代。取代基的实例包括:卤素(即,F、Cl、Br和I);羟基;烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳氧基、芳烷氧基、杂环基氧基和杂环基烷氧基;羰基(氧代);羧基;酯;氨基甲酸乙酯;脞;羟胺;烷氧基胺;芳烷氧基胺;硫醇;硫化物;亚砷;砷;磺酰;磺酰胺;胺;N-氧化物;胍;酰胍;脲;叠氮化物;酰胺;脲;脘;胍;烯胺;酰亚胺;异氰酸酯;异硫氰酸酯;氰酸酯;硫氰酸酯;亚胺;硝基;腈(即,CN)、卤

代烷基、氨基烷基、羟烷基、环烷基等。

#### [0036] 缀合物

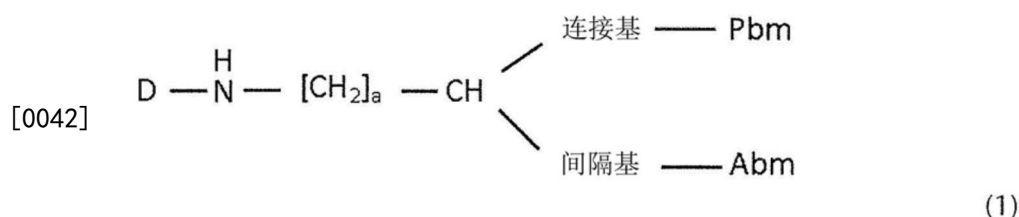
[0037] 本发明提供了具有改善的肿瘤靶向特性和有利的药代动力学曲线的新型血浆蛋白结合PSMA配体。如本文所使用，术语“药代动力学”优选包括在受试者中治疗剂或诊断剂的稳定性、生物利用度、吸收、生物分布、生物半衰期和/或清除。通过在一端经由合适的间隔基和连接基将基于PSMA-拟肽尿素的结合实体共价连接到能够络合治疗/诊断放射性核素的螯合剂，和另一端共价连接到人血清白蛋白 (HSA) 结合实体，本发明人提供了新型缀合物。发现连接结合实体和螯合剂的间隔基和连接基对于所得缀合物的靶向和药代动力学特性至关重要。该新型缀合物优选地展现优异的和特异性细胞摄取和内化特征。发明人表明HSA结合实体有利地实现了(1) 血液中缀合物的分隔(其中在健康组织中的脱靶效应受到限制，而不会损害进入肿瘤血管)，(2) 延长的血液清除，和(3) 增加的肿瘤摄取和保留(通过增加穿过肿瘤床的数量)。从而HSA结合实体的引入有利地提高了本发明的化合物的生物分布和最终有利地提高了治疗效力。

[0038] 具体地，与本领域已知的其他PSMA配体相比，本文提供的缀合物有利地展现了增加的肿瘤摄取。具体地，缀合物的有利的肿瘤摄取特征允许降低给药活性以实现针对治疗效果的期望剂量或允许成像(诊断)的足够摄取。为此目的，缀合物通常以放射性标记的配合物的形式被提供，其中螯合剂络合治疗剂和/或诊断放射性核素(通常为金属同位素)。新型缀合物(和具体而言其放射性标记的(金属)配合物)的所需剂量的减少尤其具有以下优点：(1) 需要较少量的放射性核素(放射性)(产生较低的制造成本，更好的可用性——在 $\alpha$ -发射源比如例如 $^{225}\text{Ac}$ 的情况中这两者都是特别相关的， $\alpha$ -发射源难以产生并且昂贵——和优选地由于减少的自辐射导致的更长的保质期，这通常导致放射性标记的配合物的降解(即辐解)；(2) 使患者经历较低的总的吸收辐射剂量(优选地使可能进行流动性治疗(ambulant treatment)，并减轻环境的负担)。

[0039] 因此，本发明的缀合物是有希望的治疗剂，其具有用于核成像和体内辐射治疗的最佳特征。

[0040] 通常，根据本发明的新型PSMA配体(在本文中也称为“缀合物”或“化合物”)因此包括经由合适的连接基或间隔基彼此共价连接或结合的第一端基(螯合剂)、第二端基(白蛋白结合实体)和第三端基(PSMA结合实体)。

[0041] 在第一方面中，本发明涉及通式(1)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物：



[0043] 其中

[0044] D是螯合剂，优选地如本文所限定，

[0045] Abm是白蛋白结合实体，优选地如本文所限定，

[0046] Pbm是PSMA结合实体，优选地如本文所限定，

[0047] 间隔基包括至少一个C-N键，

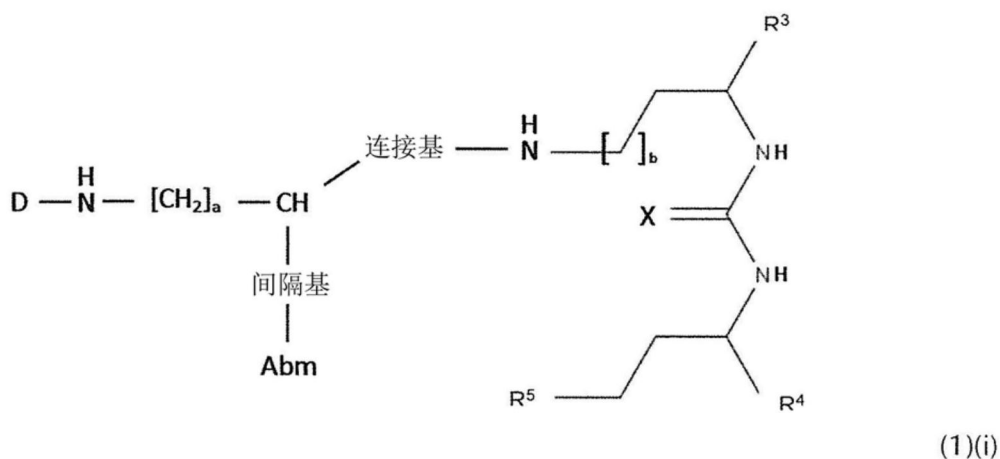
[0048] 连接基由如本文限定的通式 (6) 表征，

[0049] a是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数，和

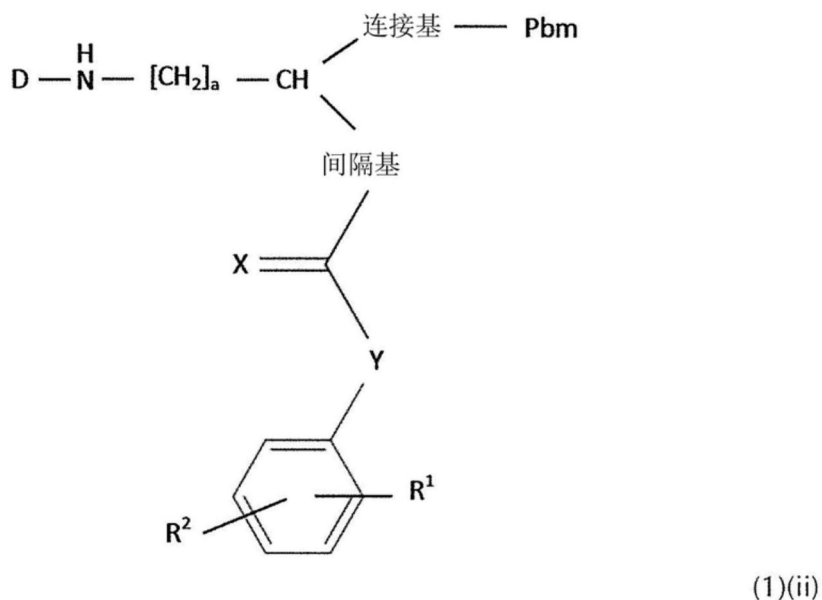
[0050] 通式 (1) 中的 -CH- 基团是连接PSMA结合实体 (Pbm) 和白蛋白结合实体 (Abm) 的“分支点”。

[0051] D、Abm、Pbm连接基和间隔基优选地如本文所描述的限定。

[0052] 具体地，本发明提供了根据通式 (1) (i) 或 (1) (ii) 的化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物：



[0053]



[0054] 其中

[0055] Abm是白蛋白结合实体，优选地如本文所限定，

[0056] Pbm是PSMA结合实体，优选地如本文所限定，

[0057] D是螯合剂，优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)、N, N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N, N''-二乙酸 (HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基 (triazonan-1-yl)) 戊二

酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷(triazacydononane)-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟甲基)次膦酸](NOP0)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[5-氨基戊基(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DF0)和二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)或其衍生物,

[0058] X各自独立地选自O、N、S或P,

[0059]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、F、Cl、Br、I,支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,或 $R^1$ 和 $R^2$ 被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基的环状结构,其中所述烷基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代,该基团独立地选自F、Cl、Br、I、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 和 $SR^7$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ ,

[0060] Y选自单键或任选地被至多两个杂原子中断的任选地取代的直链、支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,其中一个或多个不相邻的 $CH_2$ -基团可以独立地被 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $SR^6$ 、 $SO_3R^6$ -置换,

[0061]  $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烷基,

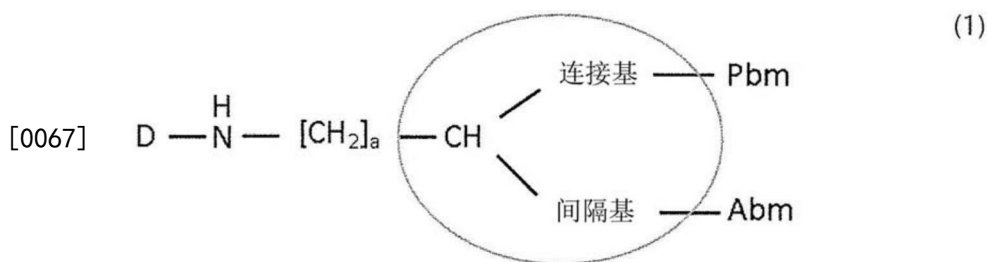
[0062]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-NHR^8$ 或 $-C(O)-NR^8R^9$ ,其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(C_1-C_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH$ -苄基、 $-C(O)-NH$ -苄基、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ 亚烷基(alkylene)、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_t-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 或 $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ 杂芳基,

[0063] 间隔基包括至少一个C-N键,

[0064] 连接基由如本文限定的通式(6)表征,和

[0065] a、b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0066] 特别设想以下式(1)中强调的结构包括至少一个肽键:



[0068] 本发明的缀合物是对PSMA和HSA均表现出亲和力的配体。如本文所使用,术语“配体”是指能够与靶标(此处:PSMA或HSA)相互作用(靶向、结合)的化合物。本发明的缀合物也可以在功能上限定为“PSMA靶向剂”。优选地,“配体”能够选择性地结合其靶标。术语“选择性地结合”是指化合物与其预期的靶标结合的亲和力大于与另一非靶标实体的结合亲和力。

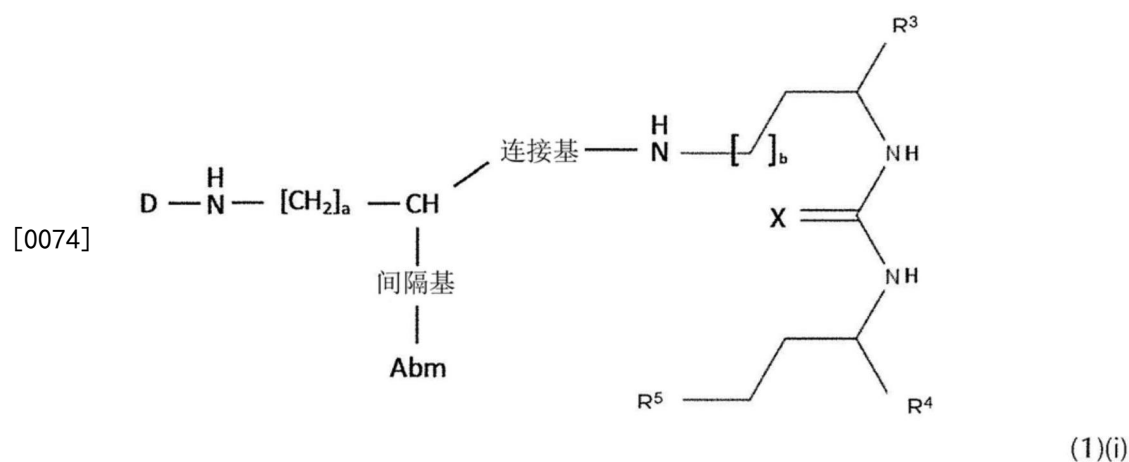
[0069] “结合亲和力”是配体(例如,小的有机分子、蛋白质或核酸)与其靶标/结合伴侣之间的结合相互作用的强度。结合亲和力通常通过平衡解离常数( $K_D$ )来测量和报告,平衡解离常数( $K_D$ )是“解离率(off-rate)”( $k_{off}$ )和“结合率(on-rate)”( $k_{on}$ )的比,其用于评估和分级双分子相互作用的强度。“结合率”( $K_{on}$ )表征配体与其靶标结合有多快,“解离率”( $K_{off}$ )表征配体与其靶标离解有多快。 $K_D$  ( $K_{off}/K_{on}$ )和结合亲和力是成反比。因此,术语“选择性地结合”优选是指配体以比其与另一非靶标实体结合的 $K_D$ 更小的 $K_D$ 与其预期的靶标结合。存在许多方式来测量结合亲和力和解离常数,比如ELISA、凝胶迁移测定、下拉测定、平衡透析、分析超速离心、表面等离子共振和光谱测定。

[0070] 在本发明的上下文中,用于将PSMA结合实体(HSA结合实体)与非靶标实体结合的 $K_D$ 可以为用于将所述缀合物或部分与人PSMA(HSA)结合的 $K_D$ 的至少1.5-倍,优选地至少2-、3-、5-、10-、15-、20-、25-、30-、35-、40-、45-、50-、60-、70-、80-、90-、100-200-、300-、400-、500-、750-或1000-倍。

[0071] 在本发明的上下文中,可进一步优选地,缀合物以在纳摩尔(nM)范围内的 $K_D$ 值的高结合亲和力与PSMA结合,并且以在微摩尔范围内( $\mu$ 合(微摩尔))内的中等亲和力与HAS结合。

[0072] 具体地,可能优选地是平衡PSMA和HSA-结合亲和力,以便增加肿瘤摄取和保留并扩大血液清除,同时减少潜在地破坏性脱靶效应。具体地,本发明的缀合物可展现对于PSMA比对于HAS更高的结合亲和力。

[0073] 具体地,本发明提供了根据通式(1)(i)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:



[0075] 其中

[0076] Abm是白蛋白结合实体,

[0077] D是螯合剂,优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟基甲基)次膦酸](NOP0)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[5-氨基戊基](羟基)氨基]-



4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺 (DFO) 和二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 或其衍生物,

[0078] X选自O、N、S或P,

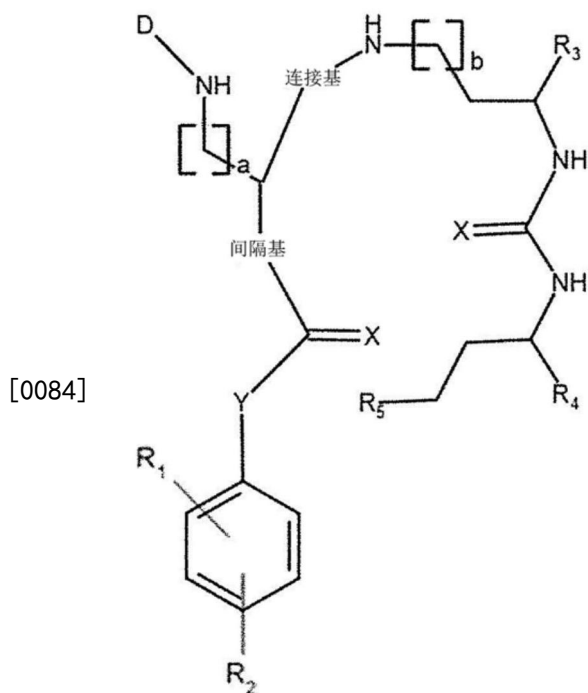
[0079]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-\text{COH}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{PO}_2\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_4\text{H}_2$ 、 $-\text{C}(0) - (\text{C}_1 - \text{C}_{10})$  烷基、 $-\text{C}(0) - \text{O}(\text{C}_1 - \text{C}_{10})$  烷基、 $-\text{C}(0) - \text{NHR}^8$ 或 $-\text{C}(0) - \text{NR}^8\text{R}^9$ , 其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(\text{C}_1 - \text{C}_{10})$  亚烷基、F、Cl、Br、I、 $\text{C}(0)$ 、 $\text{C}(\text{S})$ 、 $-\text{C}(\text{S}) - \text{NH}$ -苄基、 $-\text{C}(0) - \text{NH}$ -苄基、 $-\text{C}(0) - (\text{C}_1 - \text{C}_{10})$  亚烷基、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{NH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p - (\text{C}_1 - \text{C}_{10})$  亚烷基、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{NH} - \text{C}(0) - (\text{CH}_2)_q$ 、 $-(\text{CH}_2)_t - \text{NH} - \text{C}(0) - (\text{CH}_2)_p$ 、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{CO} - \text{COH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{CO} - \text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{C}(0) \text{NH} - \text{C}[(\text{CH}_2)_q - \text{COH}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p - \text{COH}]_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_p - \text{C}(0) \text{NH} - \text{C}[(\text{CH}_2)_q - \text{CO}_2\text{H}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p - \text{CO}_2\text{H}]_3$ 或 $-(\text{CH}_2)_p - (\text{C}_5 - \text{C}_{14})$  杂芳基,

[0080] 间隔基包括至少一个C-N键, 和

[0081] 连接基由如本文限定的通式(6)表征, 和

[0082] a、b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0083] 更具体而言, 本发明提供了特别优选的缀合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物, 由通式(11)表征:



(11);

[0085] 其中

[0086] D是螯合剂, 优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸 (HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸 (NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)戊二酸 (DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸 (TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟甲基)次膦酸] (NOPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸 (PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-

氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺 (DFO) 和二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 或其衍生物,

[0087] X各自独立地选自O、N、S或P,

[0088]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、F、Cl、Br、I,任选地取代的支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,或 $R^1$ 和 $R^2$ 被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基的环状结构,其中所述烷基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代,该基团独立地选自F、Cl、Br、I、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 和 $SR^7$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ ,

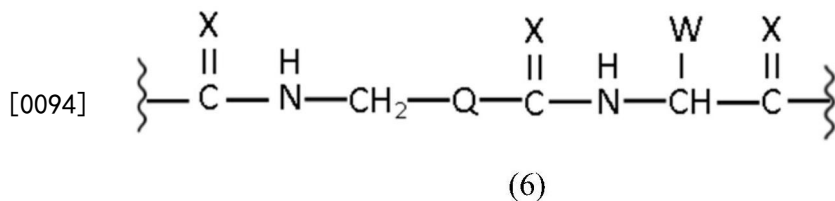
[0089] Y选自单键或任选地被至多两个杂原子中断的任选地取代的直链、支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基,  $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,其中一个或多个不相邻的 $CH_2$ -基团可以独立地被 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $SR^6-$ 、 $SO_3R^6$ -置换,

[0090]  $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烷基,

[0091]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-NHR^8$ 或 $-C(O)-NR^8R^9$ ,其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(C_1-C_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH$ -苄基、 $-C(O)-NH$ -苄基、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 或 $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ 杂芳基,

[0092] 间隔基包括至少一个C-N键,

[0093] 连接基由结构式(6)表征:



[0095] 其中

[0096] X各自独立地选自O、N、S或P,

[0097] Q选自取代的或未取代的烷基、烷基芳基和环烷基,优选地选自取代的或未取代的 $C_5$ - $C_{14}$ 芳基、 $C_5$ - $C_{14}$ 烷基芳基或 $C_5$ - $C_{14}$ 环烷基,

[0098] W选自 $-(CH_2)_c$ -芳基或 $-(CH_2)_c$ -杂芳基,其中c是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数,和

[0099] a、b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0100] 白蛋白结合实体

[0101] 本发明的缀合物包括如本文所描述的(另外的——与已知的PSMA配体相比)白蛋白结合实体(也称为“白蛋白结合部分”),其优选能够选择性地结合人血清白蛋白(HSA)。上面定义了术语“选择性地结合”。

[0102] 白蛋白结合实体(Abm)可以是任何白蛋白结合实体。下文描述了特别优选的白蛋白结合实体。白蛋白结合实体通常可以以小于约100 $\mu$ M(微摩尔),例如约3约白蛋白微摩尔)

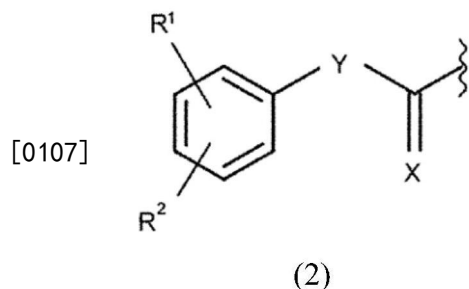
至50 $\mu$ 0 (微摩尔)的结合亲和力优选地非共价结合至血清白蛋白,优选地HSA。

[0103] 人血清白蛋白(HSA)是人血浆中最丰富的蛋白质,并且构成血清蛋白质的约一半。如本文所使用的术语“人血清白蛋白”或“HAS”优选地指由人ALB基因编码的血清白蛋白。更优选地,该术语指UniProt Acc.No.P02768(登记版本240,2017年5月10日最后一次修改)所表征的蛋白质或其功能变体、同种型、片段或(翻译后或以其他方式修饰的)衍生物。

[0104] 不希望受特定理论所束缚,假设本发明缀合物的白蛋白结合实体(Abm)优选地延长缀合物的循环半衰期,并影响本发明缀合物在血液中的分隔,并改善向表达PSMA的(肿瘤)靶细胞或组织递送,导致表达PSMA的正常(非肿瘤)器官(如肾、泪腺和唾液腺)的肿瘤:非靶标比例增加。因此设想白蛋白结合实体赋予本发明缀合物的提高的药代动力学特性,优选不干扰(减少或消除)螯合剂和PSMA结合实体的期望功能。

[0105] 就结构而言,根据本发明的典型白蛋白结合实体优选地可以包括直链和支链亲脂基团,包括1-40个碳原子和远端酸性基团。在US2010/172844A1、W02013/024035A1和W02008/053360A2中尤其描述了合适的白蛋白结合实体,这些文献通过引用以它们整体并入本文。

[0106] 根据上述,在本发明的缀合物中,白蛋白结合实体优选地由通式(2)表征:



[0108] 其中

[0109]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、F、Cl、Br、I,支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,或 $R^1$ 和 $R^2$ 被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基的环状结构,其中所述烷基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代,该基团独立地选自F、Cl、Br、I、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 和 $SR^7$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ 。

[0110] Y选自单键或任选地被至多两个杂原子中断的任选地取代的直链、支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ,其中一个或多个不相邻的 $CH_2$ -基团可以独立地被 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $SR^6$ 、 $SO_3R^6$ 置换,

[0111]  $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烷基,和

[0112] X选自O、N、P或S。

[0113]  $R^1$ 和 $R^2$ 可以在邻位、间位或对位。

[0114] 当 $R^1$ 和 $R^2$ 连接在一起以便形成环状结构时,所述环状结构优选地为3-12,更优选地3-10,甚至更优选地3-9、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4或4个碳原子的直链或支链烷基链,碳原子在两个位置处与苯环结合,即与所述苯环形成两个键,比如形成与所述苯环稠合的环结构。具体地,所述环状结构可以选自(取代的或未取代的)金刚烷基。优选地,所述两个键优选地位于所述苯环的间位(3-)和对位(4-)、邻位(2-)和间位、或邻位和对位。所述环状结构任选

地被至多2个,优选地1个或没有杂原子中断。优选地,所述环状结构可以是 $C_4$ 链片段(1,4-双基),该 $C_4$ 链片段通过其1-和4-原子连接到所述苯环以形成耦合到所述苯环的六元环,优选地在所述苯环的间位和对位,即,优选地形成间位和对位耦合的六元环。

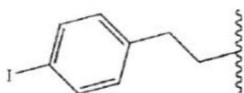
[0115] 优选地, $R^1$ 和 $R^2$ 可以各自独立地选自H;卤素,优选地碘或溴;和 $C_{1-6}$ 烷基,优选地 $C_{1-3}$ 烷基,甚至更优选地甲基。更优选地, $R^1$ 是H,和 $R^2$ 选自卤素,优选地碘或溴;和 $C_{1-6}$ 烷基,优选地 $C_{1-3}$ 烷基,甚至更优选地甲基。甚至更优选地, $R^1$ 是H和 $R^2$ 是H或在对位,并且选自碘、溴和甲基。

[0116] 优选地,Y可以是任选地取代的直链或支链 $C_1-C_{12}$ 烃基,更优选地任选地取代的直链或支链 $C_1-C_{10}$ 烃基,甚至更优选地任选地取代的直链或支链 $C_1-C_6$ 烃基,甚至更优选地任选地取代的直链或支链 $C_1-C_3$ 烃基。

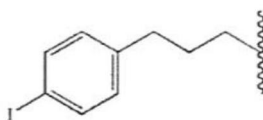
[0117] 最优选地,Y可以是 $-(CH_2)_3-$ 。

[0118] 优选地,X可以是O。

[0119] 因此,根据式(2)的白蛋白结合实体可以优选地包括式(2a)-(2c)中的任一个或由其组成:

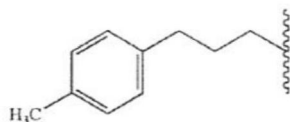


(2a)



(2b)

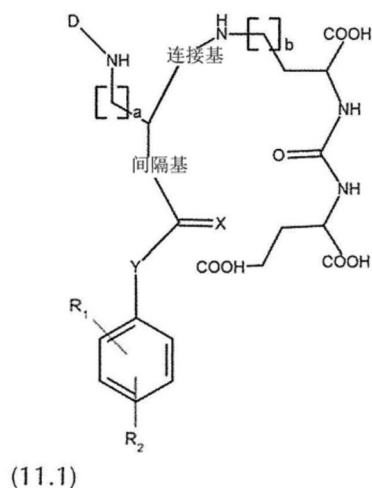
[0120]



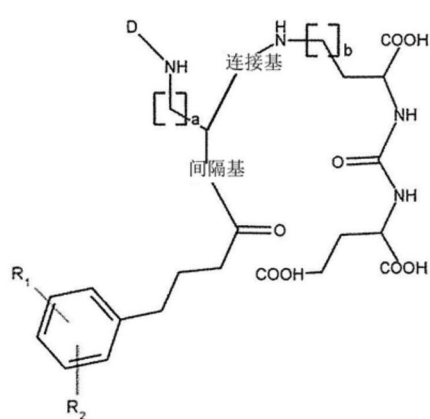
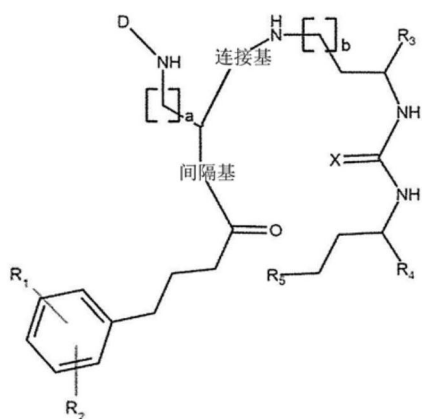
(2c)

[0121] 在US 2010/0172844 A1中尤其公开了其他可能的——可能不太优选的——白蛋白结合实体。

[0122] 在优选的实施方式中,根据本发明的化合物可以由通式(11.1)-(11.3)中的任一个表征:



[0123]



[0124] 其中D、间隔基、连接基、X、 $R_1$ - $R_5$ 、a和b如对于通式(11)所限定。

[0125] 间隔基

[0126] 在本发明的缀合物中，白蛋白结合实体经由“间隔基”缀合(即共价连接或附连)至-CH-“分支点”。术语“间隔基”在本文中用于具体指这样的基团，该基团连接和跨越白蛋白结合实体与-CH-“分支点”之间的距离，和/或将这些基团与缀合物的其余基团/实体“间隔”开。

[0127] 间隔基可优选避免白蛋白结合实体与本发明缀合物的其他基团或实体之间的空间位阻，并确保足够的移动性和柔性。此外，间隔基可以优选被设计为赋予、支持和/或允许足够的HSA结合、高亲和力PSMA结合，以及通过PSMA-缀合物配合物的内化快速且任选地选择性渗透PSMA阳性细胞。

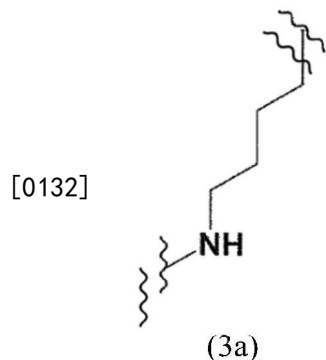
[0128] 本发明人确定间隔基应优选地包括至少一个C-N键。合适的间隔基在体内应该优选地是稳定的。间隔基设计通常可以取决于整个缀合物，并且可优选地选择以促进其余缀合物的功能性(例如PSMA结合、HSA结合、内化等)。因此，间隔基可以是例如刚性或柔性的，这影响整个缀合物的亲脂性或亲水性等。

[0129] 优选地，间隔基可以包括任选地取代的直链或支链 $C_1$ - $C_{20}$ 烃基，其包括至多5个杂原子，更优选地 $C_1$ - $C_{12}$ 烃基，甚至更优选地 $C_2$ - $C_6$ 烃基，甚至更 $C_2$ - $C_4$ 烃基。烃基可以优选地包

括至少一个,任选地至多4个杂原子,该杂原子优选地选自N。

[0130] 优选地,间隔基可以是 $-\text{[CHR}^{10}]_u-\text{NR}^{11}-$ ,其中 $\text{R}^{10}$ 和 $\text{R}^{11}$ 可以各自独立地选自H和支链、无支链或环状 $\text{C}_1-\text{C}_{12}$ 烃基,并且其中u可以是选自1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。更优选地, $\text{R}^{10}$ 和 $\text{R}^{11}$ 可以是H,并且u可以是选自2、3或4的整数。最优选地, $\text{R}^{10}$ 和 $\text{R}^{11}$ 可以是H和u可以是4。

[0131] 因此,本发明的缀合物可以优选地包括式(3a)的间隔基:



[0133] 因此,根据本发明的优选的缀合物(例如在所附实施例中评估的PSMA-ALB-03和PSMA-ALB-06)包括经由式(3a)的间隔基连接至“分支点”的式(2a)-(2c)的白蛋白结合实体。

[0134] 可选地或另外地,间隔基可以包括至少一种氨基酸残基。如本文所使用,术语“氨基酸残基”是指作为间隔基内的部分的具体氨基酸单体。

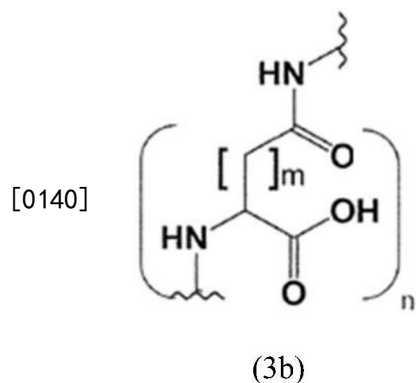
[0135] “氨基酸”是包括酸性(通常是羧基 $(-\text{COOH})$ )和胺 $(-\text{NH}_2)$ 官能团的任何有机分子。所述基团中的一个或两个可以任选地被衍生化。氨基和酸性基团可以相对于彼此在任何位置,但是氨基酸通常包括2-氨基羧酸、3-氨基羧酸、4-氨基羧酸等。胺基可以连接至氨基酸(一个或多个)的 $1^{\text{st}}$ 、 $2^{\text{nd}}$ 、 $3^{\text{rd}}$ 、 $4^{\text{th}}$ 、 $5^{\text{th}}$ 、 $6^{\text{th}}$ 、 $7^{\text{th}}$ 、 $8^{\text{th}}$ 、 $9^{\text{th}}$ 、 $10^{\text{th}}$ (等)上至 $20^{\text{th}}$ 碳原子。换句话说,氨基酸(一个或多个)可以是 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -、 $\epsilon$ - (等)上至 $\Omega$ -氨基酸(一个或多个)。优选地,酸性基团是羧基 $(-\text{COOH})$ 基团。然而,也可以考虑选自 $-\text{OPo}_3\text{H}$ 、 $-\text{Po}_3\text{H}$ 、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_3\text{H}$ 的其他酸性基团。

[0136] 优选地,氨基酸残基(一个或多个)源自天然存在的氨基酸(一个或多个)或其衍生物。进一步优选地,氨基酸残基(一个或多个)源自 $\alpha$ ( $\alpha$ -)氨基酸(一个或多个),其中氨基酸(一个或多个)可以是D-或L-氨基酸(一个或多个)。

[0137] 更优选地,所述氨基酸(一个或多个)是氨基酸的D-或L-对映体,所述氨基酸选自精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和/或缬氨酸。

[0138] 最优选地,所述氨基酸(一个或多个)是(D-/L-)天冬氨酸、谷氨酸或赖氨酸。间隔基可以包括1、2、3、4或5个氨基酸残基,具体地是D-天冬氨酸、D-谷氨酸或L-赖氨酸残基。在包括D-对映体的缀合物中,D-对映体的使用可以提供进一步降低代谢速率并因此降低其从血流中清除的有益作用。优选地,间隔基可以包括2-3个这样的氨基酸残基,具体地是D-天冬氨酸或D-谷氨酸残基。换句话说,间隔基可以包括肽,其优选地由2至5个氨基酸,更优选地2至3个氨基酸组成。可选地,间隔基可以包括选自L-赖氨酸的1至2个氨基酸。

[0139] 因此,本发明的缀合物可以包括式(3b)的间隔基:



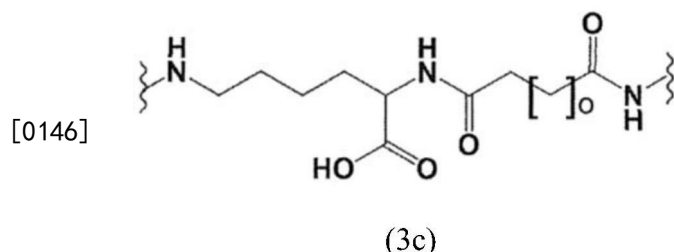
[0141] 其中

[0142] m是选自1或2的整数，

[0143] n是选自1、2、3、4或5的整数，优选地选自2或3。

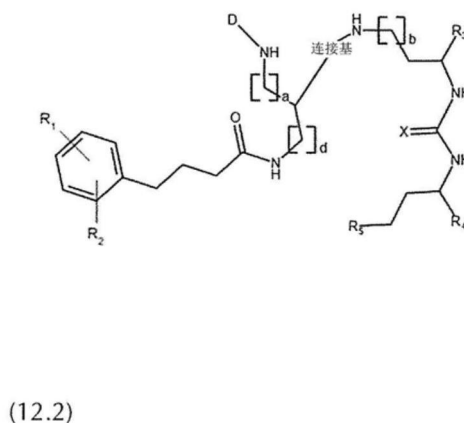
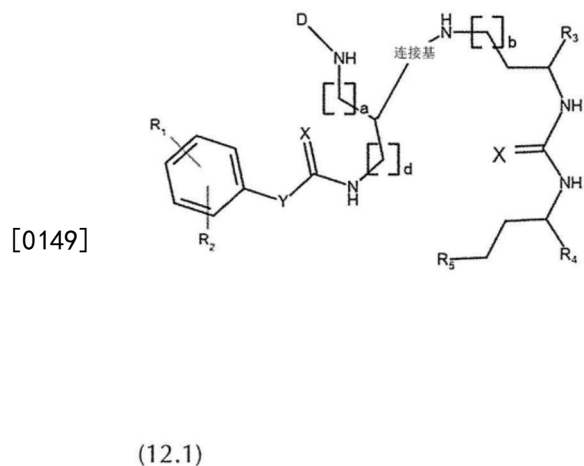
[0144] 可选地，间隔基可以包括经由包括至少一个N杂原子的任选地取代的直链或支链C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烃基连接至“分支点”的氨基酸残基。

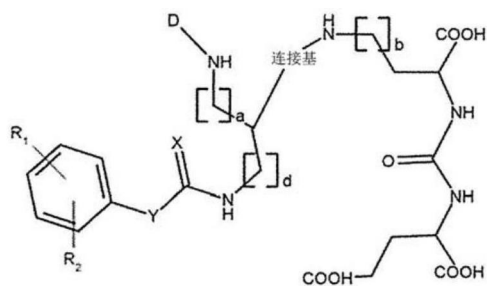
[0145] 因此，本发明的缀合物可以包括式 (3c) 的间隔基：



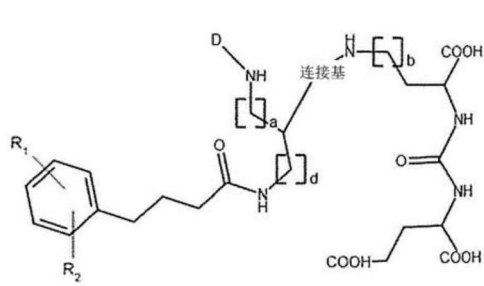
[0147] 其中o是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。优选地，o可以是5。

[0148] 因此，在优选的实施方式中，本发明的缀合物可以由通式 (12.1) - (12.4) 或 (13.1) - (13.4) 中的任一个表征：



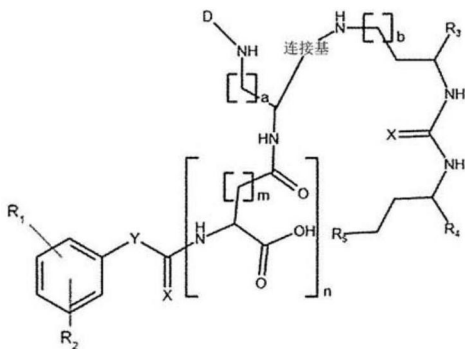


(12.3)

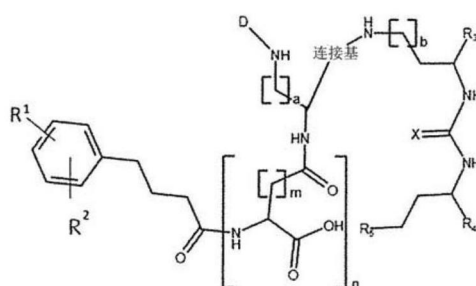


(12.4)

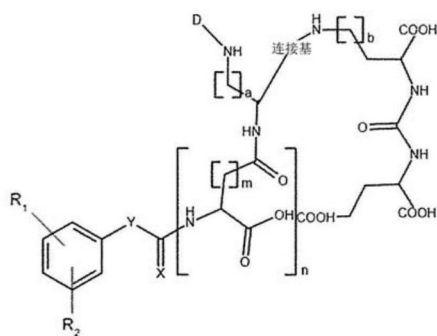
[0150]



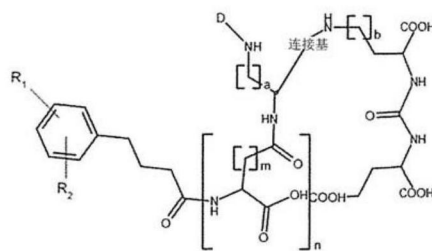
(13.1)



(13.2)



(13.3)



(13.4)

[0151] 其中在通式 (12.1) - (12.4) 和 (13.1) - (13.4) 中, D、间隔基、连接基、X、 $R^1$ - $R^5$ 、a、b、m、n 如在通式 (1) 和 (11) 的上下文所限定, 并且 d 是选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10, 更优选地选自 1、2、3、4、5 或 6 的整数。



[0152] 螯合剂

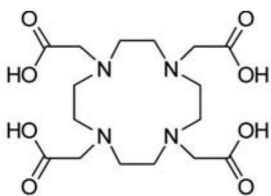
[0153] 本发明的缀合物进一步包括螯合剂。

[0154] 术语“螯合剂”或“螯合部分”在本文中可互换使用,是指能够与中心(金属)离子形成两个或更多个分开的配位键(或“配位”)的多齿(多键合)配体。具体地,共用一个电子对的这样一个或多个分子也可以称为“路易斯碱”。中心(金属)离子通常通过两个或更多个电子对与螯合剂配位。术语“二齿螯合剂”、“三齿螯合剂”和“四齿螯合剂”是本领域公认的,并且是指分别具有两个、三个和四个电子对的螯合剂,其容易地可用于同时供给(donation)由螯合剂配位的金属离子。通常,螯合剂的电子对与单个中心(金属)离子形成配位键;然而,在某些实例中,螯合剂可与多于一个的金属离子形成配位键,并且多种结合方式是可能的。

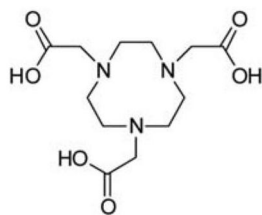
[0155] 术语“配位(coordinating)”和“配位(coordination)”是指一种相互作用,其中一个多电子对供体配位结合(“配位”)至一个中心(金属)离子,即与一个中心(金属)离子共用两个或更多个未共用的电子对。

[0156] 螯合剂优选基于其配位期望的中心(金属)离子的能力进行选择,中心(金属)离子通常是本文指定的放射性核素。

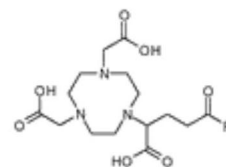
[0157] 因此,螯合剂D可以由下述式(4a) - (4jj)中的一个来表征:



DOTA (4a)

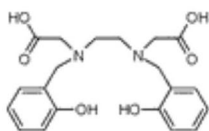


NOTA (4b)

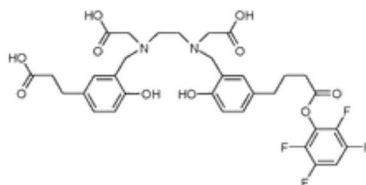


NODAGA (4c)

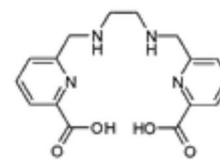
[0158]



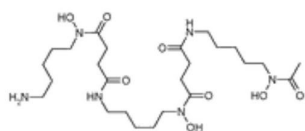
HBED (4d)



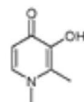
HBED-CC TFP (4e)



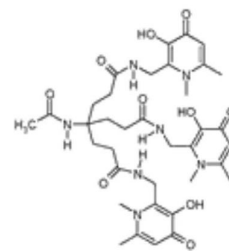
H<sub>2</sub>DEPDPA (4f)



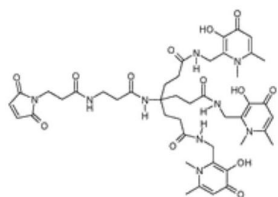
DFO-B (4g)



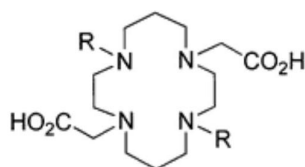
去铁酮(4h)



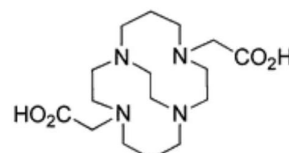
CP256 (4i)



YM103 (4j)

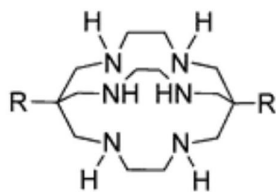


R = H  
R = CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H



CB-TE2A (4m)

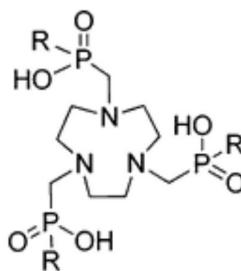
[0159]



R = H  
R = NH<sub>2</sub>

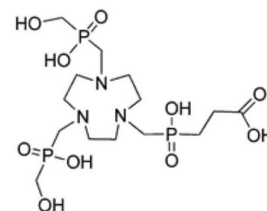
Sar (4n)

DiAmSar (4o)

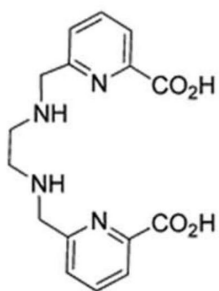


R = H  
R = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H  
R = CH<sub>2</sub>OH  
R = 苯基

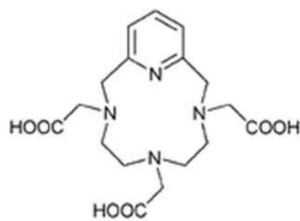
TRAPH  
(4p)  
TRAP-Pr  
(4q)  
TRAP-OH  
(4r)  
TRAP-Ph  
(4s)



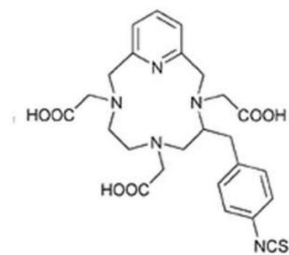
NOPO (4t)



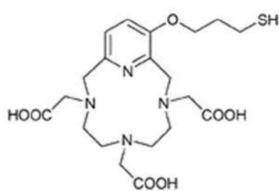
DEDPA (BCPE) (4u)



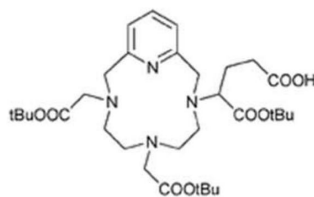
PCTA (4v)



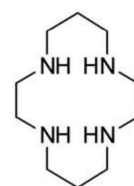
177 (4w)



178 (4x)

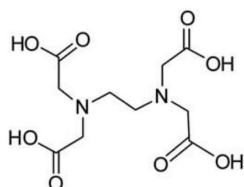


179 (4y)

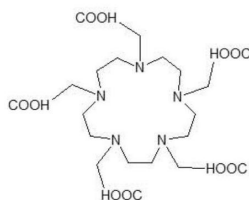


环拉胺(az)

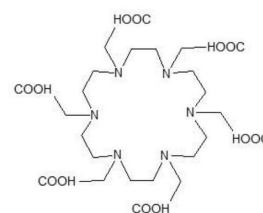
[0160]



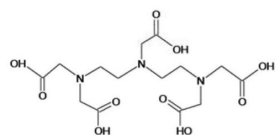
EDTA (4aa)



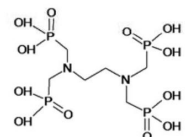
PEPA (4bb)



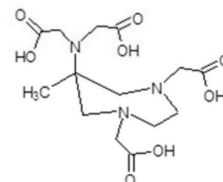
HEHA (4cc)



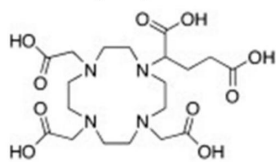
DTPA (4dd)



EDTMP (4ee)

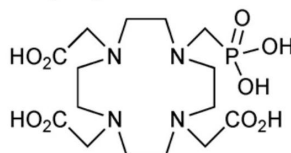


AAZTA (4ff)

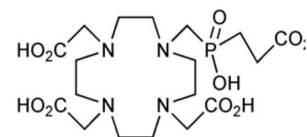


DOTAGA

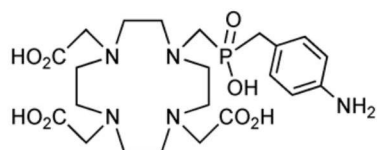
DOTAGA (4gg)



DO3AP(4hh)

DO3AP<sup>PrA</sup> (4ii)

[0161]

DO3AP<sup>ABn</sup> (4jj)

[0162] 优选地,螯合剂可以是DOTA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸,其可以由式(4a)表征),NODAGA(2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)-戊二酸,其可以由式(4c)表征),或其衍生物。

[0163] 在一些优选的实施方式中,螯合剂可以是DOTA。在一些优选的实施方式中,螯合剂可以是NODAGA。

[0164] 有利地,DOTA与诊断(例如 $^{68}\text{Ga}$ )和治疗(例如 $^{90}\text{Y}$ 或 $^{177}\text{Lu}$ )放射性核素有效地形成配合物,并且因此使得能够使用相同的缀合物用于成像和治疗目的二者,即作为治疗诊断剂。能够络合镓放射性核素( $^{43}\text{Sc}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ )的DOTA衍生物,包括D03AP(其可以由式(4hh)表征)、D03AP<sup>PrA</sup>(其可以由式(4ii)表征)或D03AP<sup>ABn</sup>(其可以由式(4jj)表征)也可以是优选的,并且在Kerdjoudj等人.Dalton Trans.,2016,45,1398-1409中描述。

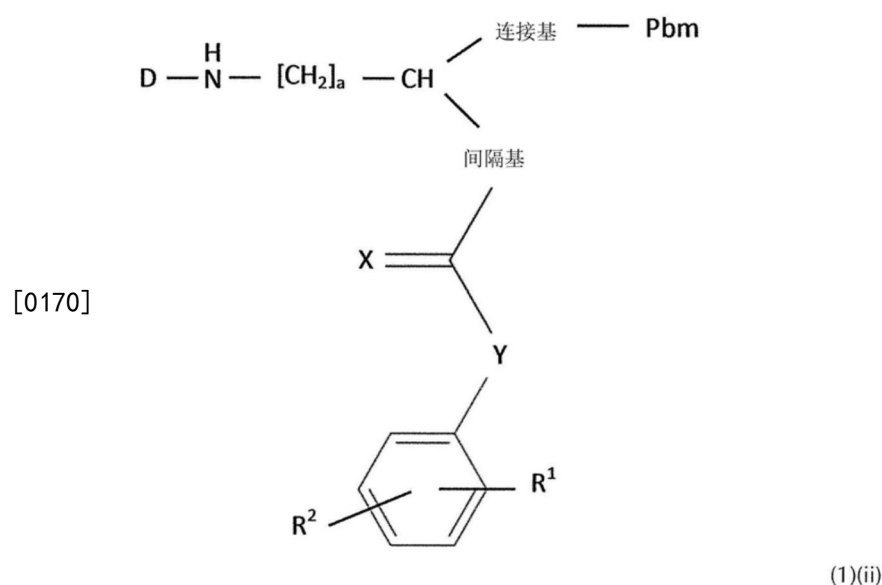
[0165] 在本发明的上下文中的其他优选的螯合剂包括N,N'-双[2-羟基-5-(羧乙基)苄基]乙二胺-N,N'-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环-壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环-壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双-[甲基(2-羟基甲基)-次膦酸](NOP0)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1]-十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]-戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}-氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基-三胺五乙酸(DTPA)。

[0166] 螯合剂基团,例如DOTA基团,可以与中心(金属)离子,特别是如本文所限定的放射性核素络合。可选地,螯合剂基团,例如DOTA,可不与中心(金属)离子,特别是如本文所限定的放射性核素络合,并且因此可以以未络合的形式存在。在其中螯合剂(例如DOTA)与所述金属离子没有络合的情况下,螯合剂的羧酸基团可能为游离酸的形式或盐的形式。

[0167] PSMA结合实体

[0168] 本发明的缀合物包括本文的PSMA结合实体(也称为“PSMA结合部分”),其优选地能够选择性地结合人PSMA。上面定义了术语“选择性地结合”。

[0169] 具体地,本发明提供了根据通式(1)(ii)的化合物或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:



[0171] 其中

[0172] Pbm是PSMA结合实体，

[0173] D是螯合剂，优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟甲基)次膦酸](NOP0)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基-三胺五乙酸(DTPA)或其衍生物，

[0174] X是O、N、S或P，

[0175]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、F、Cl、Br、I，支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ，或 $R^1$ 和 $R^2$ 被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基的环状结构，其中所述烷基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代，该基团独立地选自F、Cl、Br、I、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 和 $SR^7$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ ，

[0176] Y选自单键或任选地被至多两个杂原子中断的任选地取代的直链、支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ，其中一个或多个不相邻的 $CH_2$ -基团可以独立地被 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $SR^6-$ 、 $SO_3R^6$ -置换，

[0177]  $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烷基，

[0178] 间隔基包括至少一个C-N键，

[0179] 连接基由如本文限定的通式(6)表征，和

[0180] a、b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

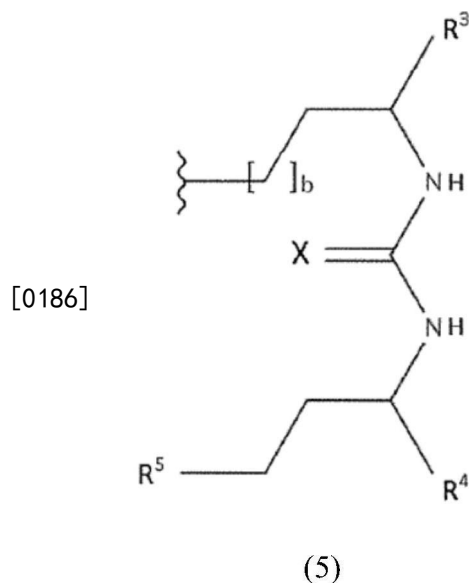
[0181] PSMA结合实体通常可以以小于约100 $\mu$ M(微摩尔)的结合亲和力可逆地或不可逆地与PSMA结合。

[0182] 人前列腺特异性膜抗原(PSMA)(也称为谷氨酸羧肽酶II(GCPII)、叶酸水解酶1、叶酰聚- $\gamma$ -谷氨酸羧肽酶(FGCP)和N-乙酰化- $\alpha$ -连接的酸性二肽酶I(NAALADase I))是II型跨膜锌金属肽酶，其在神经系统、前列腺、肾和小肠中表达最高。它被认为是前列腺癌中的肿瘤标志物。如本文使用的术语“人前列腺特异性膜抗原”或“PSMA”优选地指由人FOLH1基因编码的蛋白质。更优选地，术语指如UniProt Acc.No.Q04609(登记版本186,2017年5月10日最后一次修改)所表征的蛋白质，或其功能变体、同种型、片段或(翻译后或以其他方式修饰的)衍生物。

[0183] PSMA结合实体通常可以是能够选择性地(和任选地不可逆地)结合(人)前列腺特异性膜抗原的结合实体(cf.Chang Rev Urol.2004;6(Suppl 10):S13-S18)。

[0184] PSMA结合实体优选地通过其赋予对PSMA的选择性亲和力的能力进行选择。在W02013/022797A1、W02015/055318A1和EP2862857A1中描述了优选的PSMA结合部分，这些文献通过引用以它们的整体并入本文。

[0185] 因此,在本发明的缀合物中,PSMA结合实体可优选地由通式(5)表征:



[0187] 其中

[0188] X选自O、N、S或P,

[0189]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-NHR^8$ 或 $-C(O)-NR^8R^9$ ,其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(C_1-C_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、 $-C(S)-NH$ -苄基、 $-C(O)-NH$ -苄基、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 或 $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ 杂芳基,和

[0190] b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0191] 在优选的PSMA结合实体中,b可以是选自1、2、3、4或5的整数, $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的每个可以是 $CO_2H$ ,X可以是O。

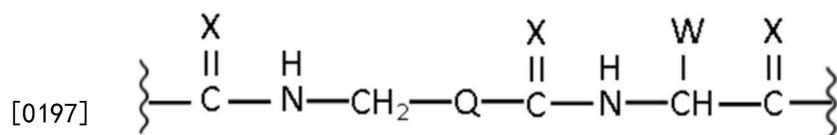
[0192] 连接基

[0193] 在本发明的缀合物中,经由合适的连接基将PSMA结合实体附连/连接至-CH-“分支点”。术语“连接基”在本文中用于具体指这样的基团,该基团连接或接合并因此跨越PSMA结合实体和-CH-“分支点”之间的距离,和/或将PSMA结合实体与其余缀合物“间隔”开。

[0194] 连接基可优选地避免本发明的缀合物的PSMA结合实体和其他基团或实体之间的空间位阻,并且确保足够的移动性和柔性。此外,连接基可以优选被设计为赋予、支持和/或允许足够的HSA结合、高亲和力PSMA结合,以及通过PSMA-缀合物配合物的内化快速和任选地选择性渗透PSMA阳性细胞。

[0195] PSMA结合实体,和具体而言优选地通式(5)的PSMA结合实体,可以优选地经由例如在EP 2 862 857 A1中所描述的合适的连接基连接至本发明的缀合物。所述连接基可优选地赋予本发明的缀合物优化的亲脂特性以增加PSMA结合以及细胞摄取和内化。连接基可以优选地包括至少一个环状基团和至少一个芳族基团(具体地在基团Q和W中)。

[0196] 因此,在本发明的缀合物中,优选的连接基可以由通式(6)表征:



(6)

[0198] 其中

[0199] X各自独立地选自O、N、S或P，

[0200] Q选自取代的或未取代的芳基、烷基芳基或环烷基，优选地选自取代的或未取代的C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>芳基、C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>烷基芳基或C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>环烷基，[0201] W选自-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-芳基或-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-杂芳基，其中c选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或1的整数。

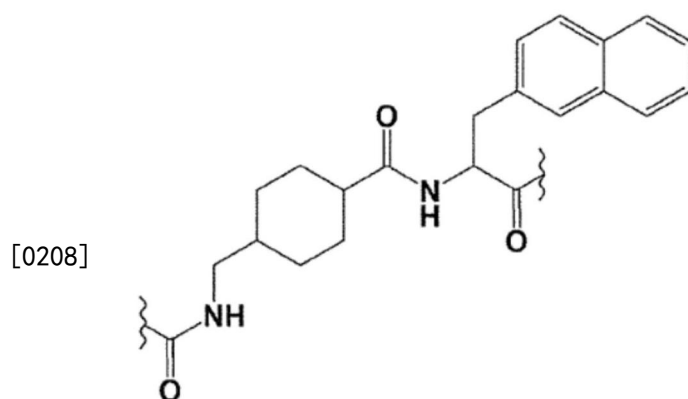
[0202] 不希望受具体理论束缚，认为在连接基（具体地为Q、W）内或从连接基悬垂（pendant）的亲水性或极性官能团可以有利地增强本发明的缀合物的PSMA-结合特性。

[0203] 其中Q是取代的芳基、烷基芳基或环烷基，在上面“定义”部分中列出了示例性取代基，并且包括但不限于卤素（即，F、Cl、Br和I）；羟基；烷氧基、烯氧基、炔氧基、芳氧基、芳烷氧基、杂环基氧基和杂环基烷氧基；羰基（氧代）；羧基；酯；氨基甲酸乙酯；肟；羟胺；烷氧基胺；芳烷氧基胺；硫醇；硫化物；亚砷；砷；磺酰；磺酰胺；胺；N-氧化物；肼；酰肼；脒；叠氮化物；酰胺；脲；脘；胍；烯胺；酰亚胺；异氰酸酯；异硫氰酸酯；氰酸酯；硫氰酸酯；亚胺；硝基；腈（即，CN）、卤代烷基、氨基烷基、羟烷基、环烷基。

[0204] 优选地，Q可以选自取代的或未取代的C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>环烷基。[0205] 优选地，W可以选自-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-萘基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-苯基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-联苯基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-吡啶基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-苯并噻唑基，其中c是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。更优选地，W可以选自-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-萘基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-苯基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-联苯基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-吡啶基或-(CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-苯并噻唑基。

[0206] 优选地，每个X可以是O。

[0207] 因此，连接PSMA结合实体与本发明缀合物的特别优选的连接基可以由下述结构式(6a)表征：



(6a)

[0209] 在根据本发明并以本文呈现的任何结构式表征的缀合物中，由占位符（placeholder）标识的取代基或基团可以（在适用时）定义如下。

[0210] D可以优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸（DOTA）、N,N''-双

[2-羟基-5-(羧乙基)-吡基]乙二胺-N,N"-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟甲基)次膦酸](NOPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-(4-(5-氨基戊基)(羟基)氨基)-4-氧代丁酰基]-氨基)-戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基三胺-五乙酸(DTPA)和其衍生物。更优选地,D可以选自DOTA、NODAGA或其衍生物。

[0211] X可以优选地各自独立地选自O、N、S或P。更优选地,每个X可以是O。

[0212]  $R^1$ 和 $R^2$ 可以优选地各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CONR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ ，或 $R^1$ 和 $R^2$ 被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1$ - $C_{10}$ 烷基的环状结构，其中所述烷基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代，该基团独立地选自F、Cl、Br、I、 $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $COOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 和 $SR^7$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ ，其中 $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烷基。更优选地， $R^1$ 可以是H，并且 $R^2$ 可以选自卤素，优选地碘或溴，和 $C_{1-6}$ 烷基，优选地 $C_{1-3}$ 烷基，甚至更优选地甲基。甚至更优选地， $R^1$ 可以是H。并且 $R^2$ 可以是H或可以在对位并且选自碘、溴和甲基。

[0213] Y可以优选地选自单键或任选地被至少一种卤素取代的任选地被至多两个杂原子中断的直链、支链或环状C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基,支链、无支链或环状C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烃基、OR<sup>6</sup>、OCOR<sup>6</sup>、CHO、COR<sup>6</sup>、CH<sub>2</sub>OR<sup>6</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、COOR<sup>6</sup>、CH<sub>2</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、SR<sup>6</sup>、=O、=S或=NH,其中一个或多个不相邻的CH<sub>2</sub>-基团可以独立地被-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR<sup>6</sup>-、-NR<sup>6</sup>-CO-、-CO-NR<sup>6</sup>-、-NR<sup>6</sup>-COO-、-O-CO-NR<sup>6</sup>-、-NR<sup>6</sup>-CO-NR<sup>6</sup>-、-CH=CH-、-C≡C-、-O-CO-O-、SR<sup>6</sup>-、SO<sub>3</sub>R<sup>6</sup>-置换,其中R<sup>6</sup>和R<sup>7</sup>各自独立地选自H或支链、无支链或环状C<sub>1-12</sub>烃基。更优选地,Y可以是任选地取代的直链或支链C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烃基,更优选地任选地取代的直链或支链C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烃基,甚至更优选地任选地取代的直链或支链C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烃基,甚至更优选地任选地取代的直链或支链C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烃基。最优选地,Y可以是-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-。

[0214]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 可以优选地各自独立地选自 $-\text{COH}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_4\text{H}$ 、 $-\text{PO}_2\text{H}$ 、 $-\text{PO}_3\text{H}$ 、 $-\text{PO}_4\text{H}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NHR}^8$ 或 $-\text{C}(\text{O})-\text{NR}^8\text{R}^9$ ，其中 $\text{R}^8$ 和 $\text{R}^9$ 各自独立地选自H、键、 $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、 $\text{C}(\text{O})$ 、 $\text{C}(\text{S})$ 、 $-\text{C}(\text{S})-\text{NH}$ -苄基、 $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}$ -苄基、 $-\text{C}(\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 亚烷基、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 亚烷基、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_q$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_q$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_p$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{CO}-\text{COH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{CO}-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{C}[(\text{CH}_2)_q-\text{COH}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p-\text{COH}]_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_p-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{C}[(\text{CH}_2)_q-\text{CO}_2\text{H}]_3$ 、 $-\text{C}[(\text{CH}_2)_p-\text{CO}_2\text{H}]_3$ 或 $-(\text{CH}_2)_n-(\text{C}_5-\text{C}_{14})$ 杂芳基。更优选地， $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 和 $\text{R}^5$ 可以是 $-\text{CO}_2\text{H}$ 。

[0215] 间隔基可以优选地包括至少一个C-N键。更优选地,间隔基可以由如本文所限定的式(3a)、(3b)或(3c)表征。

[0216] 连接基可优选地由如本文所限定的通式(6)表征。更优选地,连接基可以由如本文所限定的式(6a)表征。

[0217] Q可以优选地选自取代的或未取代的芳基、烷基芳基或环烷基,优选地选自取代的或未取代的C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>芳基、C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>烷基芳基或C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>环烷基。

[0218] W可以优选地选自 $-(CH_2)_c$ -芳基或 $-(CH_2)_c$ -杂芳基,其中c优选地选自0、1、2、3、4、



5、6、7、8、9或1的整数。

[0219] A可以优选地是氨基酸残基。更优选地,A可以选自(D-)天冬氨酸、(D-)谷氨酸或(L-赖氨酸)。

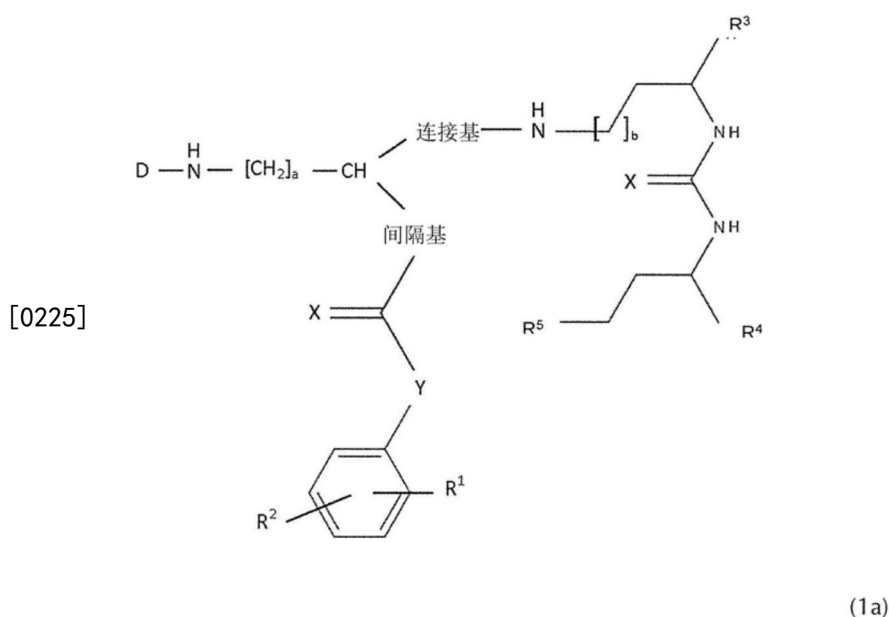
[0220] V可以优选地选自单键、N或包括至多3个杂原子的任选地取代的 $C_1-C_{12}$ 烃基,其中所述杂原子优选地选自N。

[0221] n可以为优选地选自1、2、3、4或5,优选地选自1、2或3的整数,

[0222] m可以优选地为0或1。

[0223] a、b、p、q、r、t可以优选地各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0224] 根据上述,根据本发明的优选的缀合物可以由通式(1a)表征,或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:



[0226] 其中

[0227] D是螯合剂,优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟基甲基)次膦酸](NOPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)或其衍生物,

[0228] X各自独立地选自O、N、S或P,

[0229] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地选自H、F、Cl、Br、I,支链、无支链或环状 $C_1-C_{12}$ 烃基、 $C_2-C_{12}$ 烯基、 $C_2-C_{12}$ 炔基、OR<sup>6</sup>、OCOR<sup>6</sup>、CHO、COR<sup>6</sup>、CH<sub>2</sub>OR<sup>6</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、CONR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、COOR<sup>6</sup>、CH<sub>2</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、SR<sup>6</sup>、=O、=S或=NH,或R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>被连接以形成包括支链、无支链或环状 $C_1-C_{10}$ 烃基的环状结构,其中所述烃基任选地被至多2个杂原子中断并且任选地被至多3个基团取代,该基团独立地选自F、Cl、Br、I、OR<sup>6</sup>、OCOR<sup>6</sup>、COOR<sup>6</sup>、CHO、COR<sup>6</sup>、CH<sub>2</sub>OR<sup>6</sup>、NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>、CH<sub>2</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>和SR<sup>7</sup>、=O、=S和=NH,

[0230] Y选自单键或任选地被至多两个杂原子中断的任选地取代的直链、支链或环状 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基,  $OR^6$ 、 $OCOR^6$ 、 $CHO$ 、 $COR^6$ 、 $CH_2OR^6$ 、 $NR^6R^7$ 、 $COOR^6$ 、 $CH_2NR^6R^7$ 、 $SR^6$ 、 $=O$ 、 $=S$ 或 $=NH$ , 其中一个或多个不相邻的 $CH_2$ -基团可以独立地被 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-$ 、 $-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-COO-$ 、 $-O-CO-NR^6-$ 、 $-NR^6-CO-NR^6-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-O-CO-O-$ 、 $SR^6-$ 、 $SO_3R^6-$ 置换,

[0231]  $R^6$ 和 $R^7$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烃基,

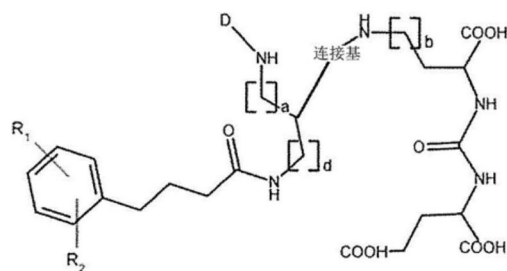
[0232]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-NHR^8$ 或 $-C(O)-NR^8R^9$ , 其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(C_1-C_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、C(O)、C(S)、 $-C(S)-NH-$ 苄基、 $-C(O)-NH-$ 苄基、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH-$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q-$ 、 $-(CH_2CH_2)_t-NH-C(O)-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-COH]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-COH]_3$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 或 $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ 杂芳基,

[0233] 间隔基包括至少一个C-N键,

[0234] 连接基由如上限定的通式(6)表征, 和

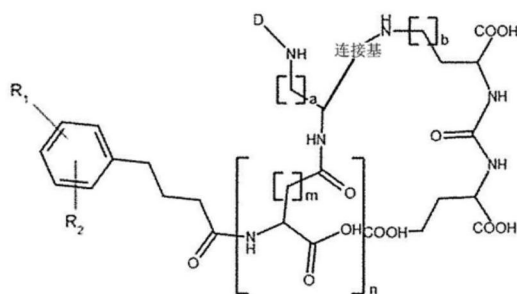
[0235] a、b、p、q、r、t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。

[0236] 更优选地, 本发明的缀合物可以由通式(12.4)或(13.4)表征:



(12.4)

[0237]



(13.4)

[0238] 其中

[0239] D是螯合剂, 优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、N,

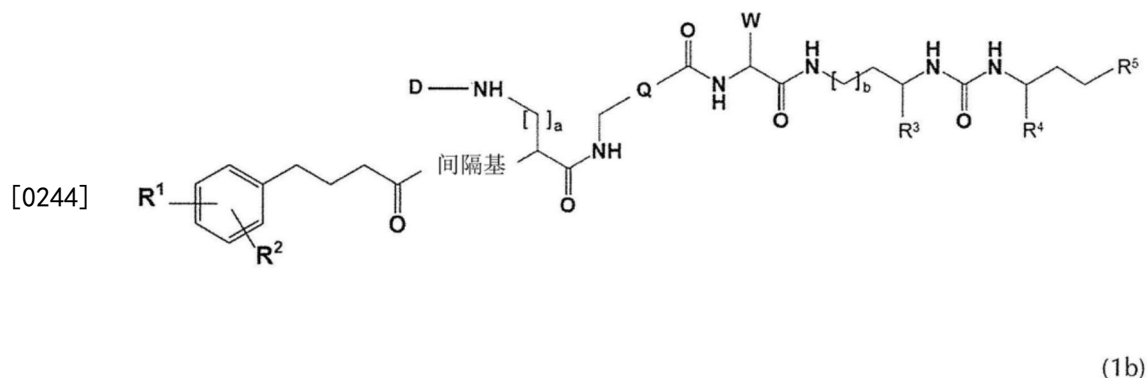
N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]乙二胺-N,N''-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)-次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟基甲基)次膦酸](NOPPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)或其衍生物,

[0240]  $R^1$ 和 $R^2$ 优选地各自独立地选自H;卤素,优选地碘或溴;和 $C_{1-6}$ 烷基,优选地 $C_{1-3}$ 烷基,甚至更优选地甲基;

[0241] 连接基由如上限定的通式(6)表征,更优选地,连接基由如上限定的通式(6a)表征,

[0242] a、b、d、m、n各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数,更优选地,a和b各自独立地为选自0、1、2、3、4、5或6的整数;b、d和m各自独立地为选自1、2、3、4、5或6的整数。

[0243] 更优选地,本发明的缀合物可以由通式(1b)表征,或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物,



[0245] 其中

[0246] D是螯合剂,优选地选自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、N,N''-双[2-羟基-5-(羧乙基)-苄基]-乙二胺-N,N''-二乙酸(HBED-CC)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、2-(4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑N烷-1-基)戊二酸(NODAGA)、2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)戊二酸(DOTAGA)、1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸(TRAP)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1-[甲基(2-羧乙基)次膦酸]-4,7-双[甲基(2-羟基甲基)次膦酸](NOPPO)、3,6,9,15-四氮杂双环[9,3,1.]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA)、N'-{5-[乙酰基(羟基)氨基]戊基}-N-[5-({4-[(5-氨基戊基)(羟基)氨基]-4-氧代丁酰基}-氨基)戊基]-N-羟基琥珀酰胺(DFO)和二亚乙基三胺-五乙酸(DTPA)或其衍生物,

[0247] Q选自取代的或未取代的芳基、烷基芳基或环烷基,

[0248] W选自 $-(CH_2)_d$ -芳基或 $-(CH_2)_d$ -杂芳基,

[0249]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、F、Cl、Br、I,支链、直链或环 $C_1$ - $C_{12}$ 烃基,其任选地包括至多2个杂原子并且任选地被至多3个基团取代,所述基团独立地选自F、Cl、Br、I,支链、无支

链或环状 $C_1-C_{12}$ 烃基,  $OR^7$ 、 $OCOR^7$ 、 $COOR^7$ 、 $CHO$ 、 $COR^7$ 、 $CH_2OR^7$ 、 $NR^7R^8$ 、 $CH_2NR^7R^8$ 、和 $SR^8$ 、 $=O$ 、 $=S$ 和 $=NH$ , 其中 $R^7$ 和 $R^8$ 各自独立地选自H或支链、无支链或环状 $C_{1-12}$ 烃基; 优选地 $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、Br、I和直链 $C_1-C_{12}$ 烷基;

[0250]  $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地选自 $-COH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-PO_2H$ 、 $-PO_3H$ 、 $-PO_4H_2$ 、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-O(C_1-C_{10})$ 烷基、 $-C(O)-NHR^8$ 或 $-C(O)-NR^8R^9$ , 其中 $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地选自H、键、 $(C_1-C_{10})$ 亚烷基、F、Cl、Br、I、 $C(O)$ 、 $C(S)$ 、 $-C(S)-NH$ -苄基、 $-C(O)-NH$ -苄基、 $-C(O)-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH$ 、 $-(CH_2)_p-(C_1-C_{10})$ 亚烷基、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_q$ 、 $-(CH_2)_p-NH-C(O)-(CH_2)_p$ 、 $-(CH_2)_p-CO-COH$ 、 $-(CH_2)_p-CO-CO_2H$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-C[(CH_2)_q-CO_2H]_3$ 、 $-C[(CH_2)_p-CO_2H]_3$ 或 $-(CH_2)_p-(C_5-C_{14})$ 杂芳基,

[0251] a、b、d、p、q、r、s和t各自独立地为选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数, 和

[0252] 间隔基包括至少一个C-N键。

[0253] 根据通式(1b)的本发明的优选的缀合物中, 下述定义中的任一个, 优选地至少两个, 更优选地至少三个, 更优选地至少四个, 或最优选地所有下述定义可适用于“D”、“Q”、“W”、“a”、“b”、“ $R^1$ ”、“ $R^2$ ”、“ $R^3$ ”、“ $R^4$ ”和/或“ $R^5$ ”:

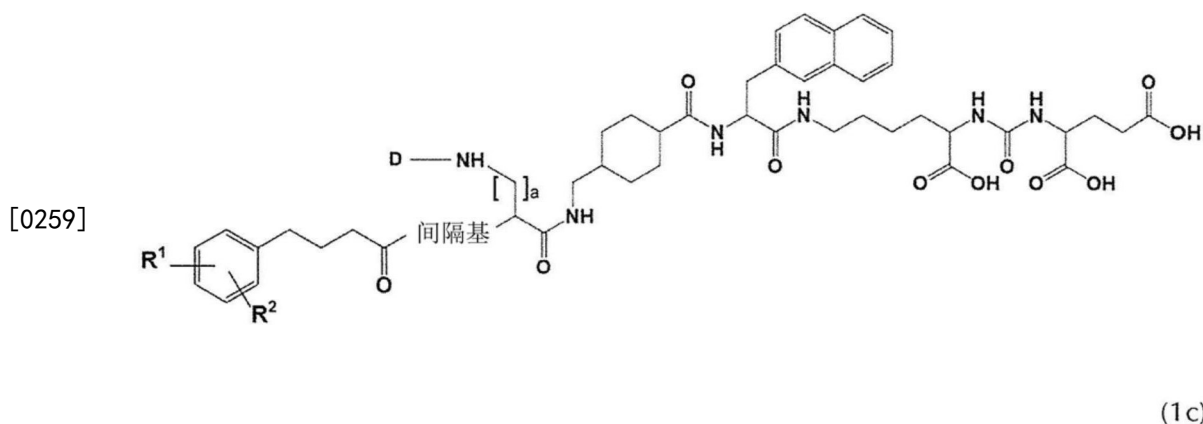
[0254] D可以选自任何合适的螯合剂(例如如本文所限定的), 更优选地, D可以选自DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA或其衍生物。最优选地, D可以选自DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP<sup>PrA</sup>或DO3AP<sup>ABn</sup>。

[0255] Q可以选自取代的或未取代的 $C_5-C_7$ 环烷基。W可以选自 $-(CH_2)$ -萘基、 $-(CH_2)$ -苯基、 $-(CH_2)$ -联苯基、 $-(CH_2)$ -吡啶基或 $-(CH_2)$ -苯并噻唑基, 更优选地, W可以是 $-(CH_2)$ -萘基。

[0256] a、b可以各自独立地为选自0、1、2、3、4、5或6的整数。

[0257]  $R^1$ 和 $R^2$ 可以各自独立地选自H、碘和 $C_1-C_3$ 烷基, 并且 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的每个可以是 $CO_2H$ 。

[0258] 这种优选的缀合物可以由通式(1c)表征, 或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:



[0260] 其中

[0261] 以下定义中的任一个, 优选地至少两个, 更优选地至少三个, 或最优选地全部可适用于“D”、“a”、“ $R^1$ ”和/或“ $R^2$ ”:

[0262] D可以选自DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA或其衍生物。最优选地, D可以选自DOTA、NODAGA、DO3AP、DO3AP<sup>PrA</sup>或DO3AP<sup>ABn</sup>,

[0263] a可以是选自0、1、2、3、4、5或6的整数,

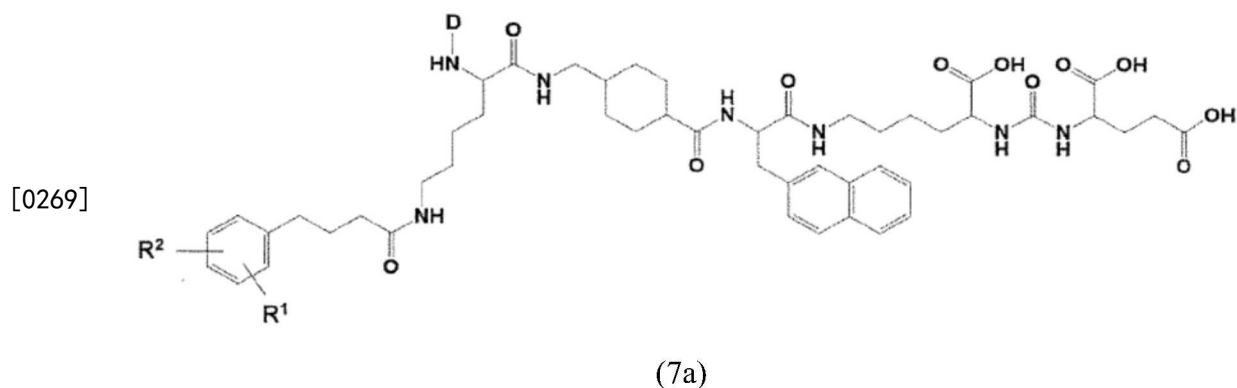
[0264]  $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立地选自H、碘或 $C_1-C_3$ 烷基,和

[0265] 间隔基包括至少一个C-N键。

[0266] 在通式(1c)的优选的缀合物中,

[0267] a可以是0,和

[0268] 间隔基可以是 $-[CHR^{10}]_u-NR^{11}-$ ,其中 $R^{10}$ 和 $R^{11}$ 可以各自独立地选自H和支链、无支链或环状 $C_1-C_{12}$ 烃基,并且其中u可以是选自1、2、3、4、5、6、7、8、9或10的整数。在通式(1a)的优选的缀合物中,间隔基由式(3a)表征。因此,这种优选的缀合物可以由通式(7a)表征,或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:

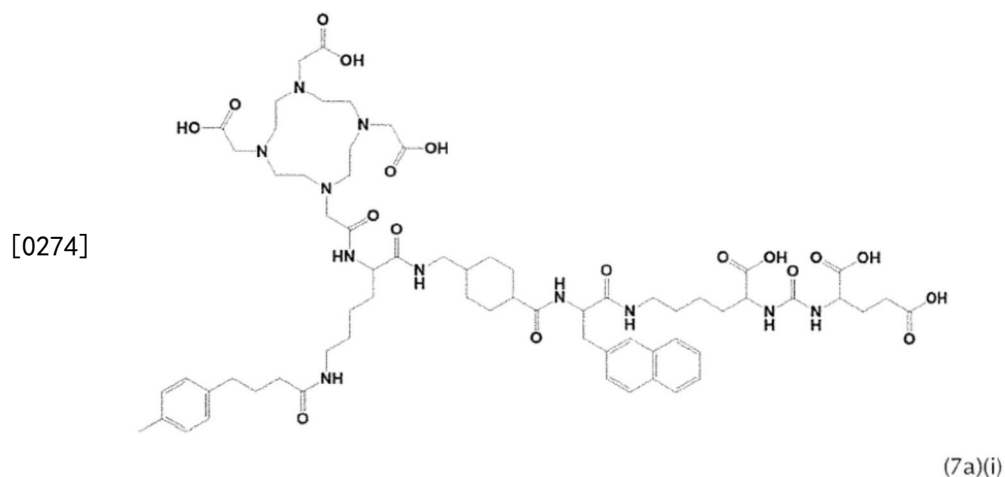


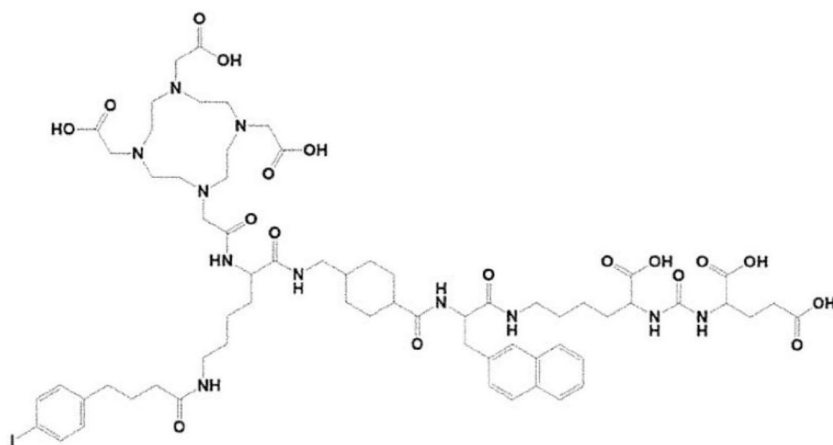
[0270] 其中

[0271] D可以选自DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA或其衍生物。最优选地,D可以选自DOTA、NODAGA、D03AP、D03AP<sup>PrA</sup>或D03AP<sup>ABn</sup>,

[0272]  $R^1$ 和 $R^2$ 可以各自独立地选自H、碘或 $C_1-C_3$ 烷基。

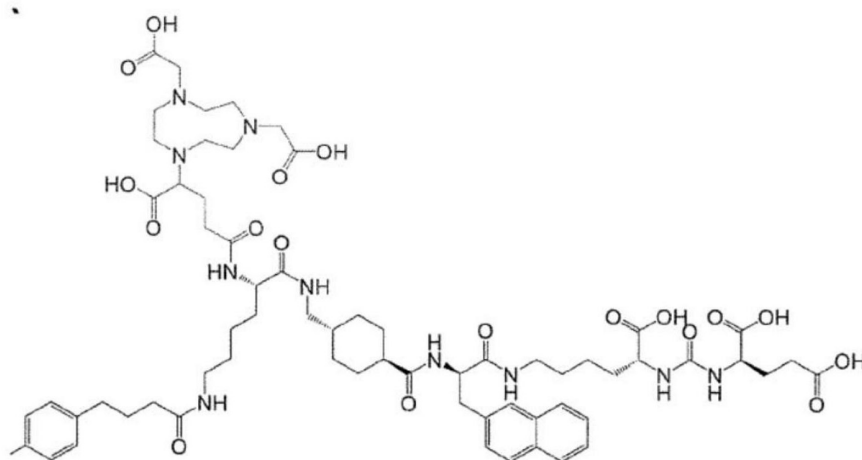
[0273] 具体地,根据本发明的优选的缀合物可以由式(7a)(i)、(7a)(ii)或(7a)(iii)表征,或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:





(7a)(ii)

[0275]



(7a)(iii)。

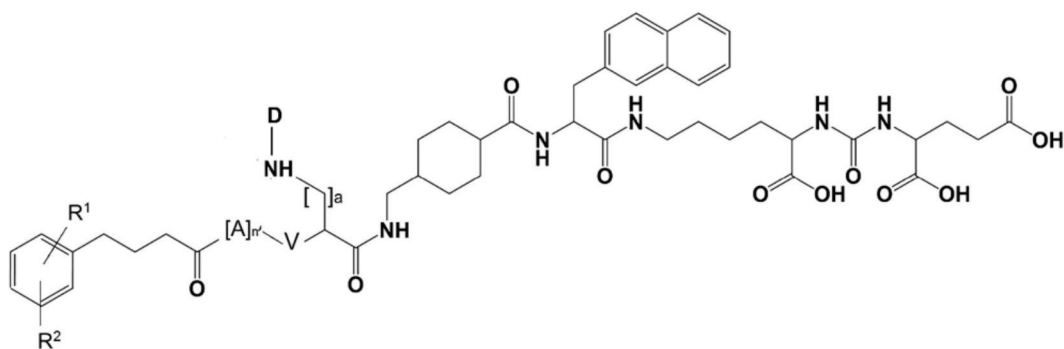
[0276] 由式 (7a) (i) 表征的缀合物在本文也被称为“PSMA-06”或“PSMA-ALB-06”。

[0277] 由式 (7a) (ii) 表征的缀合物在本文也被称为“PSMA-03”或“PSMA-ALB-03”。由式 (7a) (iii) 表征的缀合物在本文也被称为“PSMA-89”或“PSMA-ALB-89”。

[0278] 在通式 (1c) 的可选地优选的缀合物中, 间隔基包括至少一种氨基酸残基, 优选地选自 (D-/L-) 天冬氨酸、谷氨酸或赖氨酸。优选地, 间隔基可以包括至少1、2、3、4或至多五5氨基酸残基, 优选地独立地选自 (D-/L-) 天冬氨酸、谷氨酸或赖氨酸氨基酸残基。

[0279] 这种缀合物可以优选地包括根据通式 (3b) 或 (3c) 的间隔基。因此, 这种优选的缀合物可以由通式 (7b) 表征, 或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物:

[0280]



(7b)

[0281] 其中

[0282] D可以选自DOTA、DOTA、HBED-CC、NOTA、NODAGA、DOTAGA、TRAP、NOPO、PCTA、DFO、DTPA或其衍生物。最优选地，D可以选自DOTA、NODAGA、DO3AP<sup>PrA</sup>或DO3AP<sup>ABn</sup>，

[0283] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立地选自H、碘或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基，

[0284] A是氨基酸残基，优选地选自(D-)天冬氨酸、(D-)谷氨酸或(L-赖氨酸)，

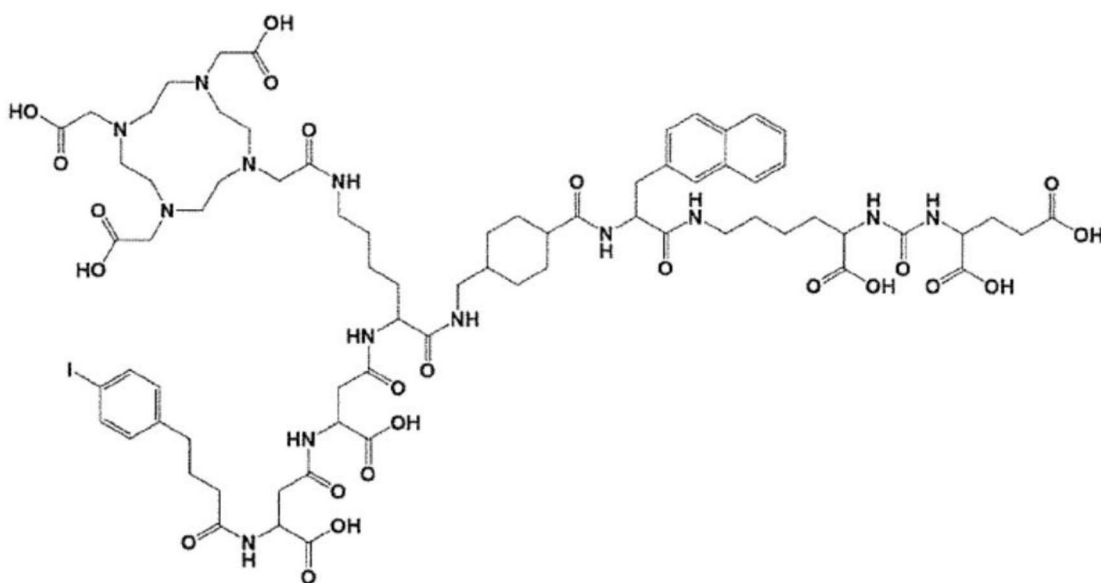
[0285] V选自单键、N或包括至多3个杂原子的任选地取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烃基，其中所述杂原子优选地选自N，

[0286] n'是选自1、2、3、4或5，优选地选自1、2或3的整数，

[0287] 和a是选自1、2、3、4、5或6的整数。

[0288] 具体地，这种缀合物可以由式(7b) (i)、(7b) (ii) 或(7b) (iii) 表征，或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物：

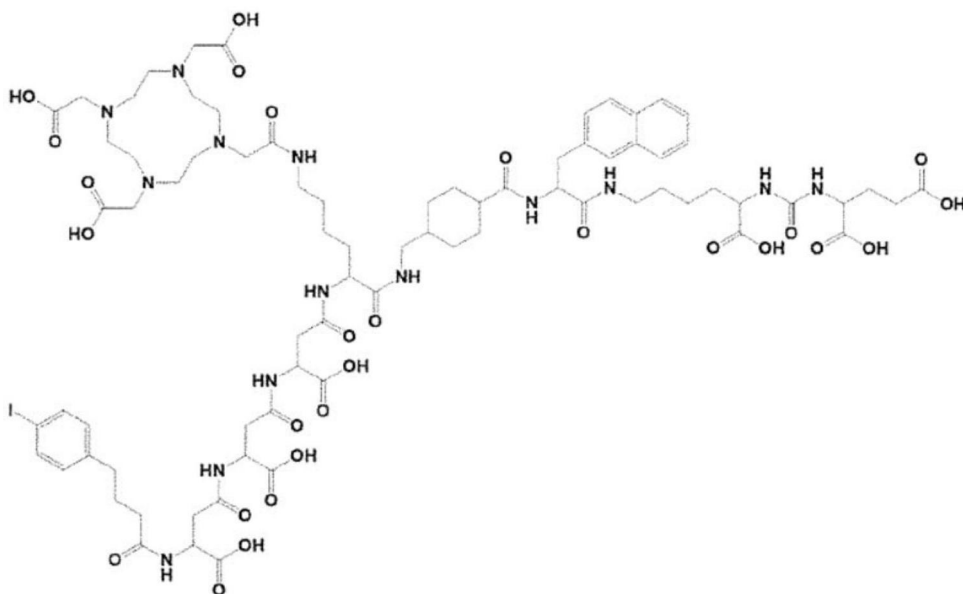
[0289]



(7b)(i)

[0290] 由式(7b) (i) 表征的缀合物在本文中也称为PSMA-05或“PSMA-ALB-05”。

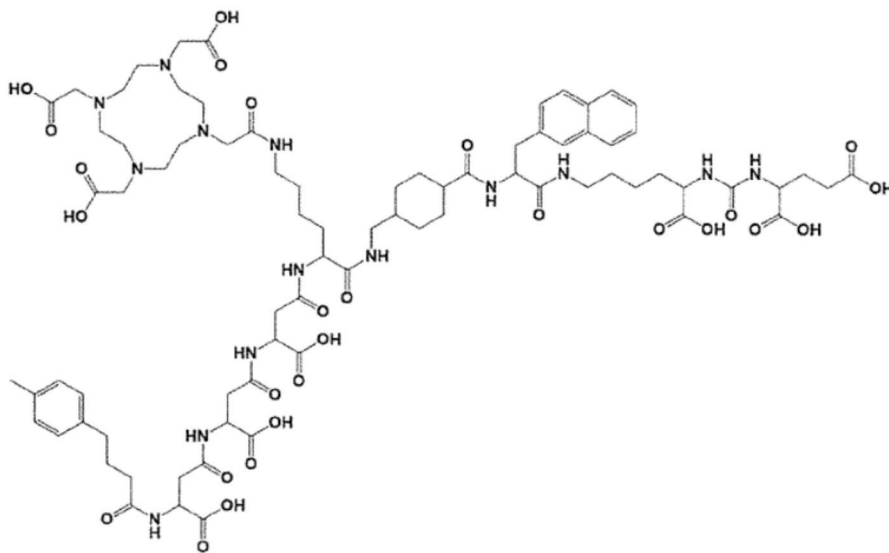
[0291]



(7b)(ii)

[0292] 由式 (7b) (ii) 表征的缀合物在本文中也被称为“PSMA-07”或“PSMA-ALB-07”。

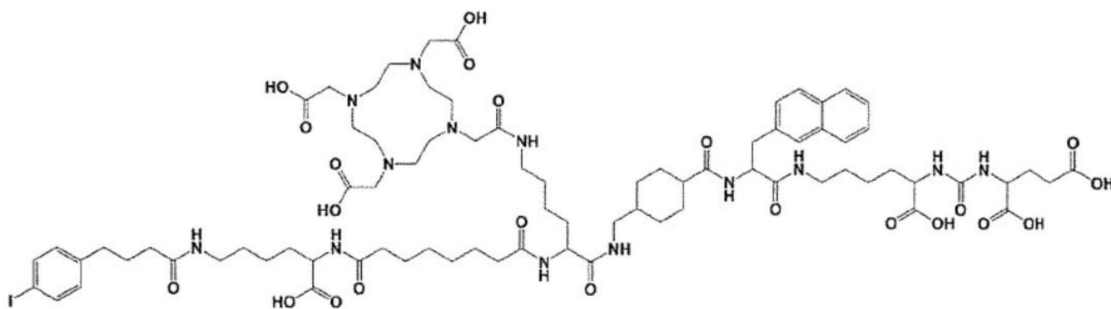
[0293]



(7b)(iii)

[0294] 由式 (7b) (iii) 表征的缀合物在本文中也被称为“PSMA-08”或“PSMA-ALB-08”。

[0295]



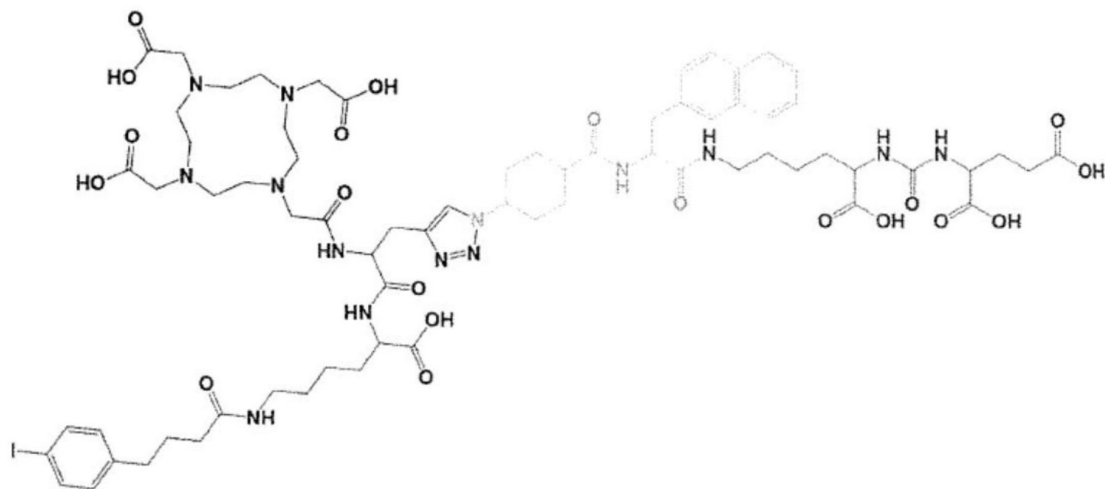
(7b)(iv)



[0296] 或其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物。

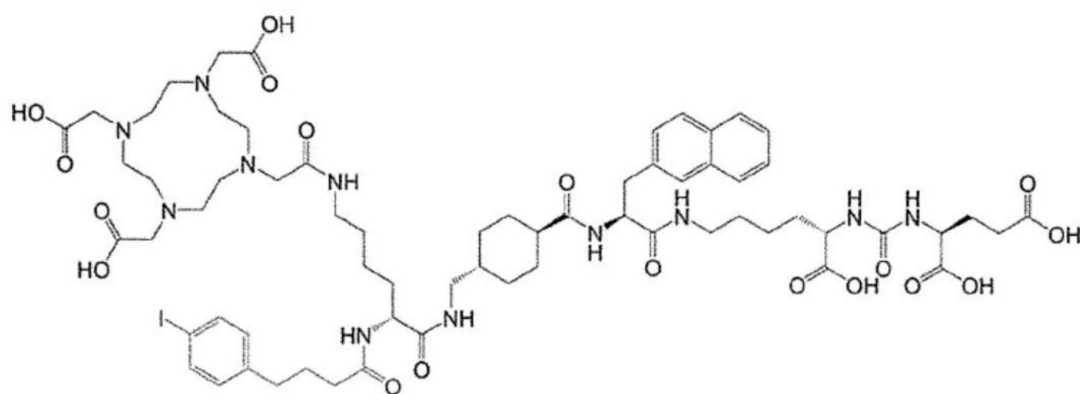
[0297] 由式 (7b) (iv) 表征的缀合物在本文中也称为“PSMA-04”或“PSMA-ALB-04”。

[0298] 本发明进一步提供了由结构式 (14)、(15) 和 (16) 表征的缀合物：

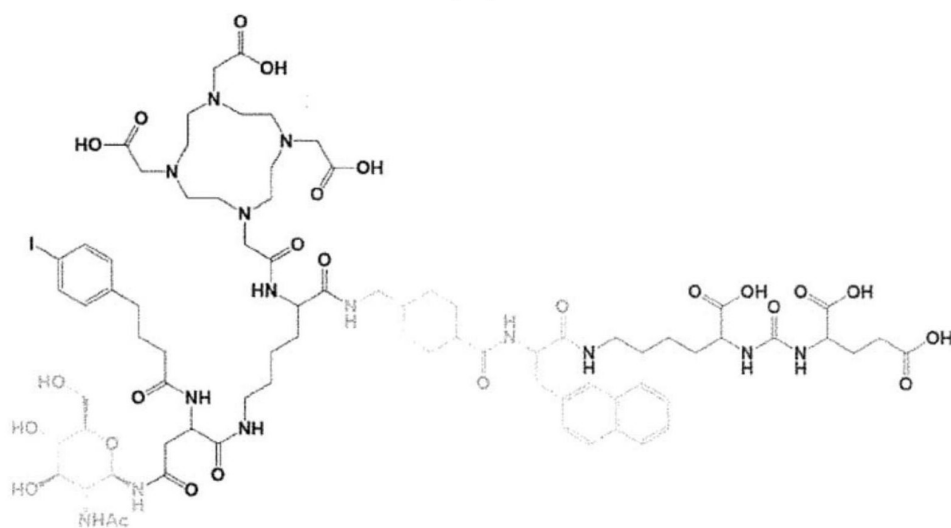


(14)

[0299]



(15)



(16)

[0300] 药学上可接受的盐

[0301] 本发明进一步包括本文描述的缀合物的药学上可接受的盐。

[0302] 药物组合物的制备是本领域技术人员众所周知的。本发明的缀合物的药学上可接受的盐可以通过常规方法制备,比如通过使根据本发明的缀合物的任何游离碱和/或酸分别与至少化学计量量的期望的成盐酸或碱反应。

[0303] 本发明的药学上可接受的盐包括具有无机阳离子比如钠、钾、钙、镁、锌和铵的盐,和具有有机碱的盐。合适的有机碱包括N-甲基-D-葡萄糖胺、argmme、苜蓿青霉素、二乙醇胺、乙醇胺、procaine和氨基丁三醇。根据本发明的药学上可接受的盐还包括源自有机或无机酸的盐。合适的阴离子包括乙酸根、己二酸根、苯磺酸根、溴根、樟脑磺酸根、氯根、柠檬酸根、乙二磺酸根、依托酸根、延胡索酸根、葡庚糖酸根、葡萄糖酸根、葡萄糖醛酸根、马尿酸根、海克酸根、氢溴酸根、盐酸根、碘根、羟乙基磺酸根、乳酸根、乳糖醛酸根、马来酸根、甲磺酸根、甲基溴根、甲基硫酸根、萘磺酸根、硝酸根、油酸根、双羟萘酸根、磷酸根、聚半乳糖醛酸根、硬脂酸根、琥珀酸根、硫酸根、磺基水杨酸根、单宁酸根、酒石酸根、对苯二酸根、甲苯磺酸根和三乙基碘根(triethiodide)。

[0304] 络合/非络合形式

[0305] 本发明进一步包括本文描述的缀合物,其中螯合剂D可以与金属离子(比如放射性核素)络合或可以不络合。

[0306] 术语“放射性核素”(或“放射性同位素”)是指具有不稳定的中子与质子比的天然或人工来源的同位素,该同位素随着微粒子(即质子( $\alpha$ -辐射)或电子( $\beta$ -辐射)或电磁辐射( $\gamma$ -辐射)的发射而分解。换句话说,放射性核素经历放射性衰变。螯合剂D可以与任何已知的放射性核素络合。所述放射性核素可以优选地用于癌症成像或治疗。这种放射性核素包括但不限于 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{90}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{151}\text{Tb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{43}\text{Sc}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{227}\text{Th}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{152}\text{Gd}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{157}\text{Gd}$ 或 $^{166}\text{Dy}$ 。合适的放射性核素的选择可尤其取决于螯合剂D的化学结构和螯合能力,和所得(络合的)缀合物的预期应用(例如诊断与治疗)。例如, $\beta$ -发射源比如 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 和 $^{177}\text{Lu}$ 可用于同时进行全身放射性核素疗法。提供DOTA作为螯合剂可以有利地使得能够使用 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{43,44,47}\text{Sc}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 作为放射性核素。

[0307] 在一些优选的实施方式中,放射性核素可以是 $^{177}\text{Lu}$ 。在一些优选的实施方式中,放射性核素可以是 $^{44}\text{Sc}$ 。在一些优选的实施方式中,放射性核素可以是 $^{64}\text{Cu}$ 。在一些优选的实施方式中,放射性核素可以是 $^{68}\text{Ga}$ 。

[0308] 选择缀合物和放射性核素的合适的组合在本领域技术人员的技术和知识之内。例如,在一些优选的实施方式中,螯合剂可以是DOTA,和放射性核素可以是 $^{177}\text{Lu}$ 。在其他优选的实施方式中,螯合剂可以是DOTA,和放射性核素可以是 $^{68}\text{Ga}$ 。在其他优选的实施方式中,螯合剂可以是DOTA,和放射性核素可以是 $^{44}\text{Sc}$ 。在又进一步优选的实施方式中,螯合剂可以是DOTA,和放射性核素可以是 $^{64}\text{Cu}$ 。在其他优选的实施方式中,螯合剂可以是NODAGA,和放射性核素可以是 $^{64}\text{Cu}$ 。

[0309] 酯和前药

[0310] 本发明进一步包括以其酯化形式的本发明的缀合物,具体而言其中游离羧酸基团被酯化。这种酯化化合物可以是本发明的缀合物的前药形式。合适的酯前药包括各种烷基酯,其包括饱和的和不饱和的 $\text{C}_8$ - $\text{C}_{18}$ 脂肪酸。

### [0311] 对映体

[0312] 本文公开的缀合物可以以具体的几何或立体异构形式存在。另外,化合物也可以是光学活性的。本发明的缀合物还可以包括顺式和反式异构体、R-和S-对映体、非对映体、(D)-异构体、(L)-异构体、其外消旋混合物和其他混合物。另外的不对称的碳原子可以存在于取代基比如烷基中。例如,如果基团或缀合物的特定对映体是期望的,则可以通过不对称合成或通过利用手性助剂衍生来制备,其中将所得非对映体混合物分离,并将助剂基团切割以提供纯的期望的对映体。可选地,在基团或缀合物包含碱性官能团比如氨基或酸性官能团比如羧基的情况下,由合适的光学活性酸或碱形成非对映体盐,随后通过本领域熟知的分级结晶或色谱手段分辨如此形成的非对映体,并且随后回收纯的对映体。

[0313] “立体异构体”是化合物的一种立体异构体,其基本上不含该化合物的其他立体异构体。因此,具有一个手性中心的立体异构纯的化合物将基本上不含该化合物的相反对映体。具有两个手性中心的立体异构纯的化合物将基本上不含该化合物的其他非对映体。典型的立体异构纯的化合物包括按重量计大于约80%的化合物的一种立体异构体,和按重量计小于约20%的化合物的其他立体异构体,例如按重量计大于约90%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约10%的化合物的其他立体异构体,或按重量计大于约95%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约5%的化合物的其他立体异构体,或按重量计大于约97%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约3%的化合物的其他立体异构体。

[0314] 因此,本文公开的所有式均包括其对映体和/或立体异构体。

### [0315] 放射性标记的配合物

[0316] 根据进一步方面,本发明涉及本发明的缀合物用于制备放射性标记的配合物的用途。这种放射性标记的配合物优选地包括根据本发明的缀合物和放射性核素。螯合剂D优选地配位放射性核素,形成放射性标记的配合物。合适的放射性核素可以选自治疗诊断的金属同位素,并且包括但不限于 $^{94}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{90}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{151}\text{Tb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{55}\text{Co}$ 、 $^{57}\text{Co}$ 、 $^{43}\text{Sc}$ 、 $^{44}\text{Sc}$ 、 $^{47}\text{Sc}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{227}\text{Th}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{152}\text{Gd}$ 、 $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{157}\text{Gd}$ 或 $^{166}\text{Dy}$ 。

[0317] 根据进一步方面,本发明进一步提供了包括放射性核素(优选地选自上述组)和根据本发明的缀合物的配合物。

### [0318] 药物组合物

[0319] 根据进一步方面,本发明提供了一种药物组合物,其包括本发明的缀合物(包括如本文所描述的药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物)和药学上可接受的载体和/或赋形剂。

[0320] 术语“药学上可接受的”是指与本发明的缀合物相容并且不干扰和/或基本上不降低其诊断或治疗活性的化合物或药剂。药学上可接受的载体优选具有足够高的纯度和足够低的毒性,以使其适于给药至待治疗的受试者。

### [0321] 制剂、载体和赋形剂

[0322] 药学上可接受的赋形剂可展现不同功能作用,并且包括但不限于稀释剂、填充剂、膨松剂、载体、崩解剂、结合剂、润滑剂、助流剂、包衣、溶剂和助溶剂、缓冲剂、防腐剂、助剂、抗氧化剂、润湿剂、消泡剂、增稠剂、甜味剂、调味剂和保湿剂。

[0323] 通常基于(药物)组合物的配方选择合适的药学上可接受的赋形剂。

[0324] 对于液体形式的(药物)组合物,有用的药学上可接受的赋形剂通常包括溶剂、稀释剂或载体比如(无热原)水,(等渗)盐溶液比如磷酸盐或柠檬酸盐缓冲盐水,不挥发油,植物油,比如例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等);卵磷脂;表面活性剂;防腐剂比如苯甲醇、对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等;等渗剂比如糖,多元醇比如甘露醇、山梨糖醇或氯化钠;单硬脂酸铝或明胶;抗氧化剂比如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂比如乙二胺四乙酸(EDTA);缓冲液比如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张度的药剂比如氯化钠或右旋糖。可以用酸或碱比如盐酸或氢氧化钠来调节pH。相对于具体的参考介质,缓冲液可以是高渗的、等渗的或低渗的,即相对于具体的参考介质,缓冲液可以具有更高的、相同的或更低的盐含量,其中优选地可以使用这种浓度的上述盐,这不会导致由于渗透作用或其他浓度效应引起的细胞损伤。参考介质是例如在体内方法中存在的液体,比如血液、淋巴、细胞溶质液体或其他体液,或例如液体,其可用作体外方法中的参考介质,比如常用的缓冲液或液体。这种常用的缓冲液或液体是本领域技术人员已知的。

[0325] 经由注射和具体地经由静脉内注射给药的液体(药物)组合物优选地在制造和存储条件下应该是无菌的并稳定的。这种组合物通常配制为肠胃外可接受的水溶液,其为无热原的,具有合适的pH,等渗的,并维持活性成分(一种或多种)的稳定性。

[0326] 对于液体药物组合物,合适的药学上可接受的赋形剂和载体包括水,通常为无热原水;等渗盐水或缓冲(水性)溶液,例如磷酸、柠檬酸盐等缓冲溶液。具体地可以使用水或优选地缓冲液,更优选地水性缓冲液用于注射本发明的(药物)组合物,该缓冲液可包含钠盐,例如至少50mM的钠盐、钙盐,例如至少0.01mM的钙盐,和任选地钾盐,例如至少3mM的钾盐。

[0327] 钠盐、钙盐和任选地钾盐可以以其卤化物例如氯化物、碘化物或溴化物的形式、以其氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐或硫酸盐的形式等存在。不限于此,钠盐的实例包括例如NaCl、NaI、NaBr、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,任选的钾盐的实例包括例如KCl、KI、KBr、 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{KHCO}_3$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,和钙盐的实例包括例如 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{CaI}_2$ 、 $\text{CaBr}_2$ 、 $\text{CaCO}_3$ 、 $\text{CaSO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 。此外,缓冲液中可以包含上述阳离子的有机阴离子。

[0328] 如上限定的适于注射目的的缓冲液可以包含选自氯化钠(NaCl)、氯化钙( $\text{CaCl}_2$ )和任选地氯化钾(KCl)的盐,其中除了氯根以外,还可以存在其他阴离子。 $\text{CaCl}_2$ 还可以用另一种盐,比如KCl代替。典型地,注射缓冲液中的盐以至少50mM氯化钠(NaCl)、至少3mM氯化钾(KCl)和至少0.01mM氯化钙( $\text{CaCl}_2$ )的浓度存在。相对于具体的参考介质,注射缓冲液可以是高渗的、等渗的或低渗的,即相对于具体的参考介质,缓冲液可以具有更高的、相同的或更低的盐含量,其中优选地,可以使用这种浓度的上述盐,其不会导致由于渗透作用或其他效应引起的细胞损伤。

[0329] 对于(半)固体形式的(药物)组合物,合适的药学上可接受的赋形剂和载体包括结合剂,比如微晶纤维素、黄蓍树胶或明胶;淀粉或乳糖;糖,比如例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,比如例如玉米淀粉或马铃薯淀粉;纤维素和其衍生物,比如例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、乙酸纤维素;崩解剂比如藻酸;润滑剂比如硬脂酸镁;助流剂比如硬脂酸、硬脂酸镁;硫酸钙、胶体二氧化硅等;甜味剂,比如蔗糖或糖精;和/或调味剂,比如薄荷、水杨酸甲酯或橙汁调味品。

[0330] 一般而言,用于局部给药的(药物)组合物可以配制为乳剂、药膏、凝胶、糊剂或散剂。用于口服给药的(药物)组合物可以配制为片剂、胶囊、液体、散剂或以持续释放形式。然而,根据优选的实施方式,本发明的(药物)组合物被肠胃外给药,具体地经由静脉内或瘤内注射,并且因此以液体或冻干形式配制用于肠胃外给药,如本文其他地方讨论的。肠胃外制剂通常存储在小瓶、静脉输液袋(IV bag)、安瓿、药筒(cartridge)或预装的注射器中,并且可以作为注射剂、吸入剂或气溶胶给药,其中注射是优选的。

[0331] (药物)组合物可以以冻干形式提供。冻干的(药学)组合物优选地在给药前在合适的缓冲液中有利地基于水性载体重构。

[0332] (药物)组合物优选地包括安全和有效量的本发明的缀合物(一种或多种)或放射性标记的配合物(一种或多种)。

[0333] 如本文所使用,“安全和有效量”是指药剂(一种或多种)的如此量,其足以允许诊断和/或显著诱导待治疗的疾病的正向改变。然而,同时,“安全和有效量”是足够小的以避免严重的副作用,也就是说,允许在优势和风险之间的合理关系。此外,“安全和有效量”将根据待诊断或治疗的具体病症,以及待治疗的患者的年龄和身体状况、疾病的严重程度、治疗的持续时间、伴随疗法的性质、所使用的具体的药学上可接受的赋形剂或载体以及类似因素而变化。

[0334] 本发明的缀合物还提供了用于制备如此药物的用途,该药物优选地用于治疗癌症,具体地用于治疗和/或预防前列腺癌、胰腺癌、肾癌或膀胱癌。

#### [0335] 试剂盒

[0336] 根据进一步方面,本发明涉及一种试剂盒,其包括本发明的缀合物(一种或多种)(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物或放射性标记的配合物)和/或本发明的药物组合物(一种或多种)。

[0337] 任选地,试剂盒可以包括在药物组合物的上下文中如本文所限定的至少一种另外的药剂,其包括放射性核素、抗微生物剂、增溶剂等。

[0338] 试剂盒可以是两部分或更多部分的试剂盒,其包括在合适的容器中的以上示例的任何组分。例如,每个容器可以是小瓶、瓶子、挤压瓶、广口瓶、密封套筒、封套(envelope)或袋、管或泡罩包装或任何其他合适的形式,条件是该容器优选地防止组分的过早混合。不同组分中的每种可以分开地提供,或不同组分中的一些可以一起提供(即在同一容器中)。

[0339] 容器也可以是小瓶、管、广口瓶或封套、或套筒、或泡罩包装或瓶子内的隔间或腔室,条件是在由药剂师或医师有意混合之前一个隔间的内容物不能与另一个隔间的内容物物理关联。

[0340] 此外,试剂盒或试剂盒的部分可以包含技术说明,其具有关于给药和其任意组分的剂量的信息。

#### [0341] 治疗和诊断方法及用途

[0342] 根据进一步方面,本发明涉及用于医学和/或诊断学的本发明的缀合物(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物和放射性标记的配合物)、药物组合物或试剂盒。优选地,所述本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒用于人类医学目的。因此,本发明进一步包括用作药物的这些本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒。

[0343] 本发明的缀合物优选地能够以选择性方式靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)。根据

一个具体方面,本发明因此提供了本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒,其用于检测表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞和/或组织的存在的方法中。

[0344] PSMA具体地在恶性癌细胞上表达。如本文所使用,术语“癌症”是指由趋于侵入周围组织并转移至远处身体部位的不受控制且通常快速增殖的细胞表征的赘生物。该术语包括良性和恶性赘生物。癌症的恶性肿瘤通常由间变、浸润和转移表征;而良性的恶性肿瘤通常不具有那些特性。该术语包括赘生物,其由肿瘤生长以及血液和淋巴系统的癌症表征。

[0345] 具体地,PSMA可以任选地以增加的量在前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肾癌细胞或膀胱癌细胞中表达。

[0346] 根据另一个具体方面,本发明提供了本发明的缀合物(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物和放射性标记的配合物)、药物组合物或试剂盒,其用于诊断、治疗和/或预防前列腺癌、胰腺癌、肾癌或膀胱癌的方法中。

[0347] 术语“诊断(diagnosis)”或“诊断(diagnosing)”是指由疾病的体征和症状和/或如在当前病例中分析指示疾病的生物标志物(比如基因或蛋白质)来识别疾病的行为。

[0348] 术语疾病的“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”包括预防疾病或使免于疾病(即引起临床症状不发展);抑制疾病(即阻止或抑制临床症状的发展);和/或缓解疾病(即引起临床症状的消退)。如将理解的,并非总是可能区分“预防(preventing)”和“抑制(suppressing)”疾病或病症,因为最终的诱导事件(一个或多个)可能是未知的或潜伏的。因此,术语“预防(prophylaxis)”应理解为构成包括“预防(preventing)”和“抑制(suppressing)”二者的“治疗(treatment)”类型。因此,术语“治疗(treatment)”包括“预防(prophylaxis)”。

[0349] 本文所使用的术语“受试者”、“患者”或“个体”通常包括人类和非人类动物,并且优选地包括哺乳动物(例如非人灵长类动物,包括狨猴、绢毛猴、蜘蛛猴、猫头鹰猴、黑长尾猴、松鼠猴以及狒狒、猕猴、黑猩猩、猩猩、大猩猩;牛;马;绵羊;猪;鸡;猫;狗;小鼠;大鼠;兔子;豚鼠等),其包括嵌合和转基因动物和疾病模型。在本发明的上下文中,术语“受试者”优选地指非人灵长类或人,最优选地是人。

[0350] 本文描述的并且涉及诊断、治疗或预防癌症,具体地前列腺癌、胰腺癌、肾癌或膀胱癌的用途和方法可以优选地包括以下步骤:(a)将本发明的缀合物(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物和放射性标记的配合物)、药物组合物或试剂盒给药至患者,和(b)从所述患者获得放射摄影图像。

[0351] 本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒通常在肠胃外给药。给药可优选地全身性地完成,例如通过静脉内(i.v.)、皮下、肌内或皮内注射。可选地,给药可以局部完成,例如通过瘤内注射。

[0352] 可以将本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒给药至需要其的受试者一天几次、每天一次、每隔一天、每周或每月。优选地,用有效剂量的本发明的缀合物、药物组合物或试剂盒来实现治疗、诊断或预防。

[0353] 本发明的缀合物的有效剂量可以通过常规实验来确定,例如通过使用动物模型。这种模型包括但不意味着限于兔子、绵羊、小鼠、大鼠、狗和非人灵长类动物模型。本发明的缀合物或放射性标记的配合物的治疗效力和毒性可以通过细胞培养或实验动物中标准药理学程序来确定,例如用以确定LD50(该剂量使50%的人群致死)和ED50(该剂量对50%的人

群治疗上有效)。毒性和疗效之间的剂量比是治疗指数,并且可以表达为比LD50/ED50。从细胞培养试验和动物研究获得的数据可用于确定用于人的剂量范围。所述缀合物的剂量优选地位于循环浓度的范围内,其包括很小毒性或没有毒性的ED50。

[0354] 例如,本发明的缀合物的治疗或诊断有效的剂量的范围为约0.001mg至10mg,优选地约0.01mg至5mg,更优选地每剂量单位约0.1mg至2mg或每剂量单位约0.01nmol至1mmol,具体地每剂量单位1nmol至1mmol,优选地每剂量单位1micromol至1mmol。还可以设想,本发明的缀合物的治疗或诊断有效的剂量的范围为(每kg体重)约0.01mg/kg至10g/kg,优选地约0.05mg/kg至5g/kg,更优选地约0.1mg/kg至2.5g/kg。有利地,由于它们有利的药代动力学特性,本发明的缀合物可优选地以比其他PSMA配体更低的剂量给药。

[0355] 如上所确立的,本发明的缀合物特别适合于涉及靶向表达PSMA的细胞的治疗诊断应用。如本文所使用,术语“治疗诊断(therangostic)”包括“仅治疗的”、“仅诊断的”和“治疗和诊断的”应用。在进一步方面中,本发明涉及检测表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞和/或组织的存在的体外方法,该方法包括(a)使所述表达PSMA的细胞和/或组织与本发明的缀合物(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物和放射性标记的配合物)、药物组合物或试剂盒接触,和(b)应用检测手段,任选地放射摄影成像,以检测所述细胞和/或组织。

[0356] 在本发明的体内和体外用途和方法中,可以使用本领域已知的任何手段和方法来完成放射摄影成像。优选地,放射摄影成像可涉及正电子发射断层扫描术(PET)或单光子发射计算机断层扫描术(SPECT)。本发明的缀合物的放射摄影成像检测的靶向细胞或组织可以优选地包括(任选地癌的)前列腺细胞或组织,(任选地癌的)脾细胞或组织,或(任选地癌的)肾细胞或组织。

[0357] 在本发明的体内和体外用途和方法中,表达PSMA的细胞或组织的存在可以指示前列腺肿瘤(细胞)、转移的前列腺肿瘤(细胞)、肾肿瘤(细胞)、胰腺肿瘤(细胞)、膀胱肿瘤(细胞)和其组合。因此,本发明的缀合物(包括其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物和放射性标记的配合物)、药物组合物和试剂盒具体可用于诊断(和任选地治疗)前列腺癌、肾癌、胰腺癌或膀胱癌。

## 附图说明

[0358] 图1:以50MBq/nmol标记的(A)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、(B)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03、(C)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04、(D)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05、(E)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06、(F)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07和(G)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08的基于HPLC的质量控制的色谱图。

[0359] 图2:与参考化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 (n=3)相比, $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01 (n=3)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03 (n=3)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08 (n=1)的正辛醇/PBS分配系数。

[0360] 图3:与参考化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 (n=2)相比,来自 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08 (n=2)的超滤试验的数据。

[0361] 图4:与参考化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 (n=3)相比, $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -

PSMA-ALB-03 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05 (n=1)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07 (n=2)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08 (n=2) 的摄取和内化。(A&C) 数据在PSMApos PC-3PIP细胞中获得。(B&D) 数据在PSMAneg PC-3流感细胞中获得。

[0362] 图5: 用 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03 (A),  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05 (B) 和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08 (C) 处理的PC-3PIP/流感肿瘤荷载(flu tumor-bearing)小鼠的生物分布数据。

[0363] 图6:  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01-08的所有(A) 肿瘤摄取、(B) 肿瘤/血液比、(C) 肿瘤/肾比和(D) 肿瘤/肝比的结论性选择。

[0364] 图7: 注射后不同时间点的闪烁图像。

[0365] 图8: 不同区域中的SPECT-CT融合扫描

[0366] 图9: 用镓-68放射性标记的PSMA-ALB-06化合物注射后1和3小时的PET图像。

[0367] 图10: (A) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后1小时、4小时和6小时(!) 在PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中获得的生物分布数据。(B) 在注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06之后1小时、4小时和24小时在PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中获得的生物分布数据。

[0368] 图11: PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的PET/CT图像显示为所有时间点具有相同比例的最大强度投影(MIP)。(A) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后1小时获得的PET/CT扫描。(B) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后4小时获得的PET/CT扫描。(C) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后20小时获得的PET/CT扫描。

[0369] 图12: PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的PET/CT图像显示为相同时间点具有不同比例的最大强度投影(MIP)。(A/B) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后1小时获得的PET/CT扫描。

[0370] 图13: PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的PET/CT图像显示为相同时间点具有不同比例的最大强度投影(MIP)。(A/B) 在注射 $^{44}\text{Sc}$ -PSMA-ALB-06之后20小时获得的PET/CT扫描。

[0371] 图14: 在不同浓度的人血浆(平均 $\pm$ SD,  $n \geq 3$ ) 中温育后, 由超滤数据计算 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06 ( $B_{50}=770$ ) 和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89 ( $B_{50}=454$ ) 的 $B_{50}$ 值的半对数图。

[0372] 图15: (A) PSMA-阳性PC-3PIP细胞和(B) PSMA-阴性PC-3流感细胞中 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06的细胞摄取和内化(平均 $\pm$ SD,  $n=3$ )。

[0373] 图16: 在注射后1小时、4小时和24小时在携带PC-3PIP和PC-3流感肿瘤异种移植物的Balb/c裸鼠中获得的 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的组织分布图。该值代表从 $n=3-6$ 只小鼠获得的平均值 $\pm$ 值的SD。

[0374] 图17: PET/CT图像显示为最大强度投影。(A-D) 在注射 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89之后1小时、4小时、16小时和24小时小鼠的PET/CT图像。已通过切割2%的背景来调整比例, 以使肿瘤、肾和肝更清晰可见。(PSMA+=PC-3PIP肿瘤异种移植体; PSMA-=PC-3流感肿瘤异种移植体; Ki=肾; Li=肝; Bl=膀胱)。

[0375] 图18: 用于合成PSMA-ALB-02/-05/-07的PSMA-靶向前体。

[0376] 图19: (A) PSMA-ALB-02、(B) PSMA-ALB-05和(C) PSMA-ALB-07的化学结构。

[0377] 图20: 图表呈现了在(A) 不存在和(B) 存在L-抗坏血酸的情况下, 在24小时的时间段内 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07以及 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617的稳定性。该值表示三个独立实验的平均值 $\pm$ SD。

[0378] 图21: 与 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617相比,  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05和 $^{177}\text{Lu}$ -



PSMA-ALB-07的摄取和内化。(A) 在PSMA-阳性PC-3PIP细胞中获得的数据。条形表示一式三份进行的三个独立实验的平均值 $\pm$ SD。(B) 在PSMA-阴性PC-3流感细胞中获得的数据。条形表示一式三份进行的一个实验的平均值 $\pm$ SD。

[0379] 图22:所有三种白蛋白结合 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA配体以及 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617获得的注射后上至192个小时的生物分布数据(衰减校正的)。(A)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02的生物分布数据,(B)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05,(C)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07,和(D)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617。由每组小鼠( $n=3-6$ )获得平均值 $\pm$ SD。

[0380] 图23:图表显示(A)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02、(B)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05和(C)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07注射后上至192小时的非衰减校正的生物分布数据。每个数据点表示一组小鼠的平均值 $\pm$ SD( $n=3-6$ )。

[0381] 图24:SPECT/CT图像为在注射(A)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMAALB-02、(B)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05和(C)  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07之后24小时PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的最大强度投影(MIP)。PSMA<sup>+</sup>=PSMA-阳性PC-3PIP肿瘤;PSMA<sup>-</sup>=PSMA-阴性PC-3流感肿瘤;Ki=肾;Bl=膀胱;Li=肝。

[0382] 图25:(A/B/C) SPECT/CT图像为在注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02之后4小时(A)、24小时(B)和72小时(C)PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的最大强度投影(MIP)。(D/E/F) SPECT/CT图像为在注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617之后4小时(D)、24小时(E)和72小时(F)PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的最大强度投影(MIP)。PSMA<sup>+</sup>=PSMA-阳性PC-3PIP肿瘤;PSMA<sup>-</sup>=PSMA-阴性PC-3流感肿瘤;Ki=肾;Bl=膀胱。

[0383] 图26:SPECT/CT图像为在注射 $^{177}\text{Lu}$ -ALB-03和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06之后的不同时间点PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的最大强度投影(MIP)。(A-C) 在注射 $^{177}\text{Lu}$ -ALB-03(25MBq, 1nmol)之后(A) 4小时、(B) 24h和(C) 72小时小鼠的MIP。(D-F) 在注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06(25MBq, 1nmol)之后(D) 24小时、(E) 24小时和(F) 72小时小鼠的MIP。PSMA<sup>+</sup>=PSMA-阳性PC-3PIP肿瘤,PSMA<sup>-</sup>=PSMA-阴性PC-3流感肿瘤;Ki=肾;Bl=膀胱。

[0384] 图27:在PC-3PIP肿瘤荷载小鼠中用 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617进行疗法研究。(A) 接受盐水的小鼠(组A),用2MBq  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617(组B)、5MBq  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617(组C)、2MBq  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06(组D)和5MBq  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06(组E)处理的小鼠相对于第0天肿瘤体积(设置为1)的肿瘤生长曲线。显示数据,直到各自组的第一只小鼠达到终点。(B) 组A-E的Kaplan-Meier图。(C) 组A-E的相对体重。

## 实施例

[0385] 实施例1:DOTA-官能化的白蛋白结合PSMA配体的设计和体外评估

### [0386] 1.1材料和方法

#### [0387] 1.1.1新型PSMA配体(概述):

[0388] 经由固相平台合成具有便携式白蛋白结合部分的所有七种建议的PSMA配体,固相平台对于开发上述白蛋白亲族PSMA配体非常有用

[0389] 多步骤合成(PSMA-ALB-01为19个步骤,PSMA-ALB-03为17个步骤,PSMA-ALB-04和PSMA-ALB-05为20个步骤,PSMA-ALB-06为17个步骤,PSMA-ALB-07和PSMA-ALB-08为23个步骤)以26-49%的分离总产率提供这些化合物。粗产物通过半制备型RP-HPLC纯化,这确保最终产物的纯度>98%。分别通过分析型RP-HPLC和MALDI-MS或ESI-MS进行上述化合物的表

征。分析数据呈现在表1.1中。

[0390] 表1.1:PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08的分析数据

化合物编号	化学式	MW	$m/z^a$	$t_r^b$
		[g/mol]		[min]
PSMA-ALB-01	C <sub>69</sub> H <sub>95</sub> IN <sub>14</sub> O <sub>20</sub>	1567.50	1568.59	8.15
PSMA-ALB-03	C <sub>65</sub> H <sub>92</sub> IN <sub>11</sub> O <sub>18</sub>	1442.41	1443.57	7.57
[0391] PSMA-ALB-04	C <sub>79</sub> H <sub>116</sub> IN <sub>13</sub> O <sub>22</sub>	1726.77	1727.42	8.17
PSMA-ALB-05	C <sub>73</sub> H <sub>102</sub> IN <sub>13</sub> O <sub>24</sub>	1672.59	1673.41	8.09
PSMA-ALB-06	C <sub>66</sub> H <sub>95</sub> N <sub>11</sub> O <sub>18</sub>	1330.55	1331.47	7.24
PSMA-ALB-07	C <sub>77</sub> H <sub>107</sub> IN <sub>14</sub> O <sub>27</sub>	1787.68	1788.63	7.89
PSMA-ALB-08	C <sub>78</sub> H <sub>110</sub> N <sub>14</sub> O <sub>27</sub>	1675.81	1676.79	7.13

[0392] <sup>a</sup>未标记配体的质谱检测为[M+H]<sup>+</sup>; <sup>b</sup>未标记配体在分析型RP-HPLC上的保留时间。分析柱(100×4.6mm)使用Chromolith RP-18e固定相,其中流动相由水中0.1%的TFA(A)和ACN(B)组成。对于分析试验,使用在1mL/min的流速下溶剂A(在10分钟内90-10%)在溶剂B中的线性梯度。

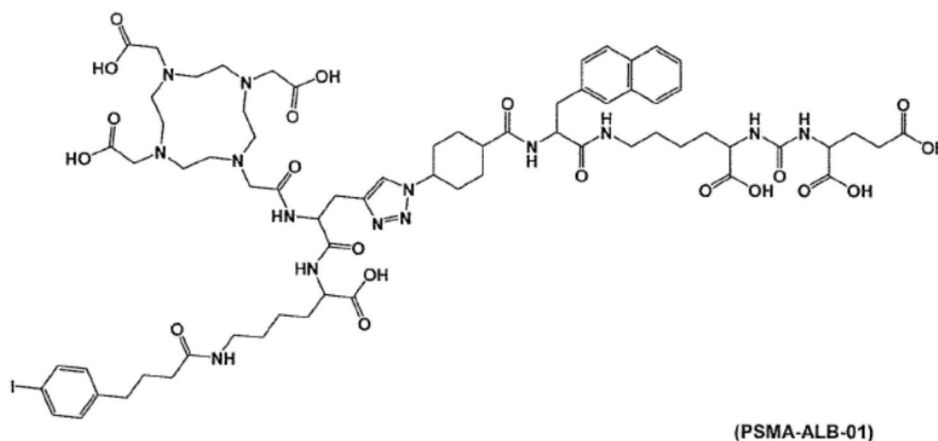
[0393] PSMA的拟肽药效团(L-Glu-NH-CO-NH-L-Lys结合实体;步骤1-6)按照Eder等.Bioconjug.Chem.2012,23:688-697的描述类似地合成。连接基部分(2-萘基-L-Ala-NH-CO-反式-CHX-N3或2-萘基-L-Ala-NH-CO-反式-CH<sub>X</sub>-Me-NH<sub>2</sub>;步骤7-10)根据先前由Benešová等.JNM 2015,56:914-920介绍的标准Fmoc(9-芴基甲氧羰基)方案制备。这两个提供PSMA配体前体的合成中间阶段被类似地应用于所有四种化合物(步骤1-8)。然而,在PSMA-ALB-03/04/05/06/07/08的情况中将PSMA-ALB-01[反式-4-叠氨基环己烷羧酸;步骤9-10]的连接基区域的最后结构单元替换为反式-4-(Fmoc-氨基)环己烷-羧酸(步骤9-10)。

#### [0394] PSMA-ALB-01

[0395] 对于PSMA-ALB-01的合成,采用时间有效的纯化PSMA-前体与游离叠氨基和纯化白蛋白结合部分[4-(对碘苯基)丁酸-L-Lys]与炔丙基-Gly的“头尾”点击偶联(步骤11-17)。在这两个前体经由三唑环的有效偶联(步骤18)之后,进行另外的纯化,以去除过量的CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O。最后,通过以其活性酯的形式的DOTA螯合剂的缀合获得PSMA-ALB-01(DOTA-NHS酯;步骤19)。

[0396] 如下显示PSMA-ALB-01的结构式:

[0397]



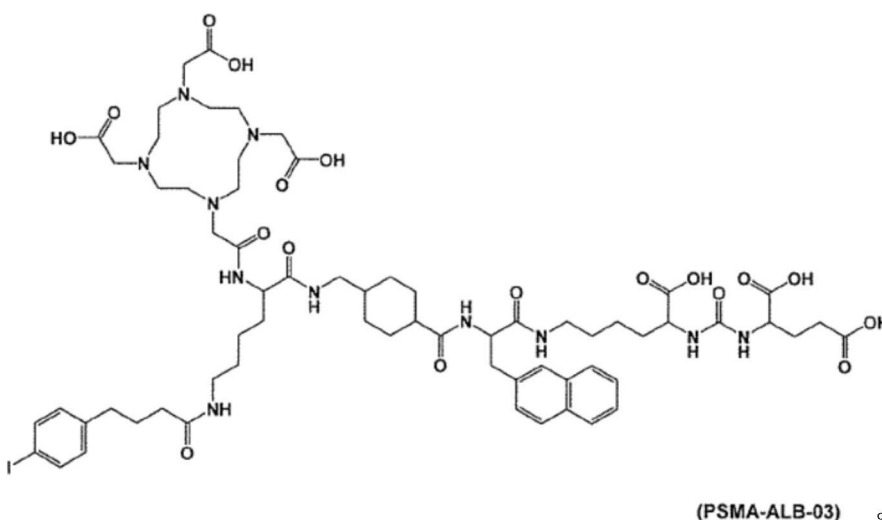
(8)。

[0398] PSMA-ALB-03

[0399] 对于PSMA-ALB-03的制备,采用树脂载体上的直接单向合成。在Fmoc-L-Lys (Alloc)-OH偶联至PSMA-前体之后,接着是Fmoc脱保护,DOTA三(tBu)-酯缀合,Alloc脱保护和4-(对碘苯基)丁酸缀合(步骤11-16)。最后,通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割获得PSMA-ALB-03(步骤17)。

[0400] 如下显示PSMA-ALB-03的结构式:

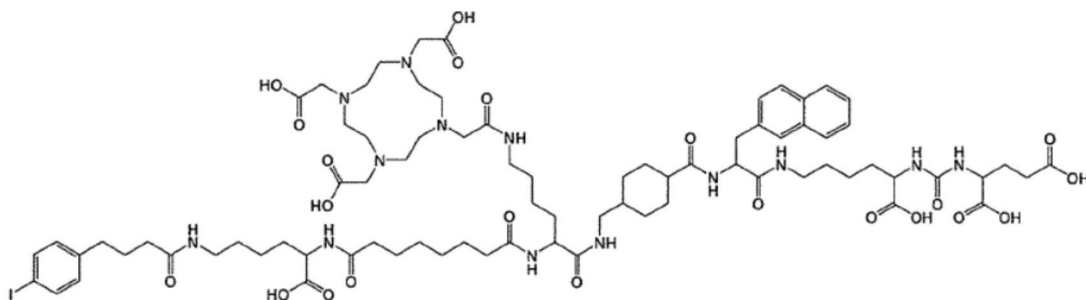
[0401]

[0402] PSMA-ALB-04

[0403] 对于PSMA-ALB-04的合成,通过两个仲胺的直接缀合,采用时间有效的包被树脂的PSMA-前体与DOTA-缀合的L-Lys和纯化的白蛋白结合部分[4-(对碘苯基)丁酸-L-Lys]的偶联(步骤11-18)。在使用辛二酸双(N-羟基琥珀酰亚胺)酯,这两个前体有效的偶联(步骤19)之后,通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割,获得PSMA-ALB-04(步骤20)。

[0404] 如下显示PSMA-ALB-04的结构式:

[0405]



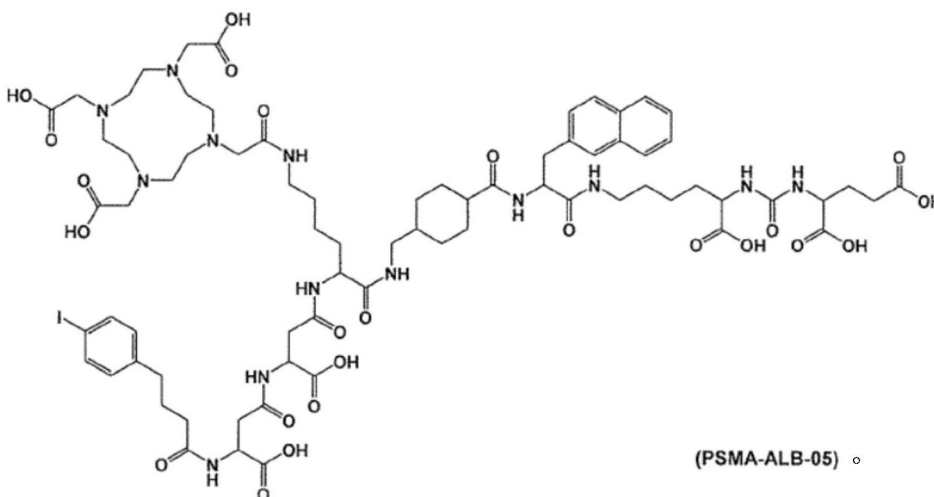
(PSMA-ALB-04)。

[0406] PSMA-ALB-05

[0407] 对于PSMA-ALB-05的制备,采用树脂载体上的直接单向合成。在Fmoc-L-Lys(Alloc)-OH偶联至PSMA-前体之后,接着是Fmoc脱保护,Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,第二Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,4-(对碘苯基)丁酸缀合,Alloc脱保护和DOTA三(tBu)-酯缀合(步骤11-19)。通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割,获得PSMA-ALB-05(步骤20)。

[0408] 如下显示PSMA-ALB-05的结构式:

[0409]



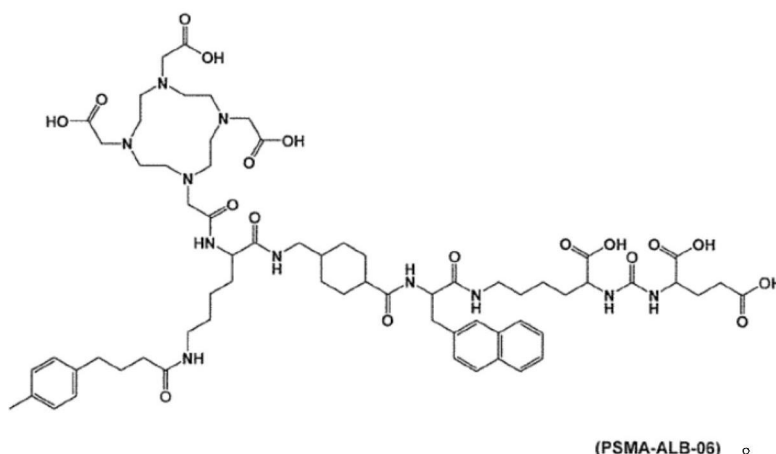
(PSMA-ALB-05)。

[0410] PSMA-ALB-06

[0411] 对于PSMA-ALB-06的合成,采用树脂载体上的直接单向合成。在Fmoc-L-Lys(Alloc)-OH偶联至PSMA-前体之后,接着是Fmoc脱保护,DOTA三(tBu)-酯缀合,Alloc脱保护和4-(对碘苯基)丁酸缀合(步骤11-16)。最后,通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割,获得PSMA-ALB-06(步骤17)。

[0412] 如下显示PSMA-ALB-06的结构式:

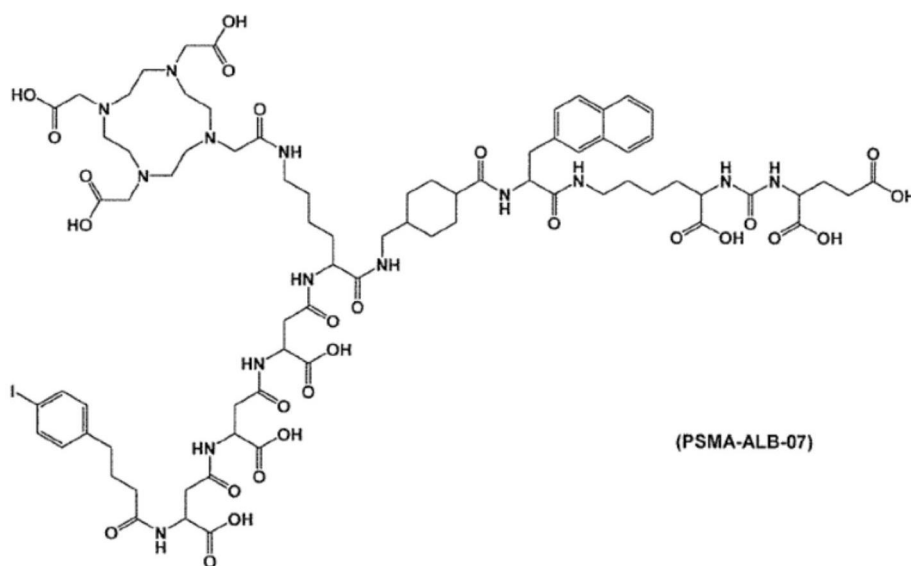
[0413]

[0414] PSMA-ALB-07

[0415] 对于PSMA-ALB-07的制备,采用树脂载体上的直接单向合成。在Fmoc-L-Lys(Alloc)-OH偶联至PSMA-前体之后,接着是Fmoc脱保护,Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,第二Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,第三Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,4-(对碘苯基)丁酸缀合,Alloc脱保护和DOTA三(tBu)-酯缀合(步骤11-22)。通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割,获得PSMA-ALB-07(步骤23)。

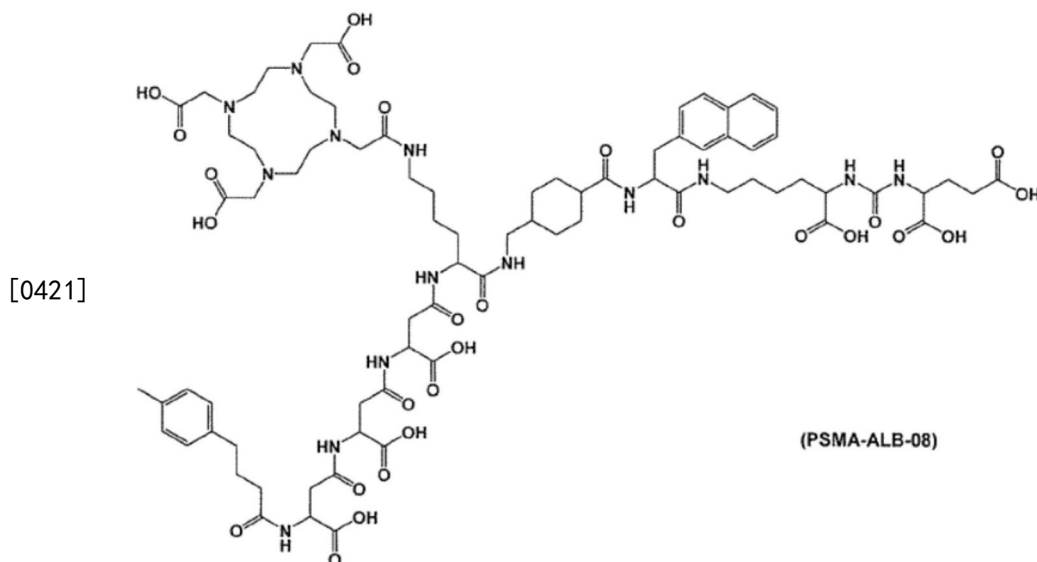
[0416] 如下显示PSMA-ALB-07的结构式:

[0417]

[0418] PSMA-ALB-08

[0419] 对于PSMA-ALB-08的制备,采用树脂载体上的直接单向合成。在Fmoc-L-Lys(Alloc)-OH偶联至PSMA-前体之后,接着是Fmoc脱保护,Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,第二Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,第三Fmoc-D-Asp-OtBu缀合,Fmoc脱保护,对(甲苯基)丁酸缀合,Alloc脱保护和DOTA三(tBu)-酯缀合(步骤11-22)。通过搅拌和随后用TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O混合物与树脂切割,获得PSMA-ALB-08(步骤23)。

[0420] 如下显示PSMA-ALB-08的结构式:



[0422] 1.1.2PSMA-ALB-03-08的合成(细节)

[0423] a) 谷氨酸-脲-赖氨酸结合实体的合成

[0424] 首先将具有过滤器和combi塞子的5mL注射器中的2-氯三苯甲基氯树脂{(2-CT-树脂;Merck;目录号8550170005),0.30mmol,置换容量1.63mmol/g,100-200MESH,1% DVB,以CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>计的总溶胀体积>4.2mL/g,[184mg]}在无水二氯甲烷(DCM)中搅拌45分钟。

[0425] 然后,将2-CT-树脂用无水DCM冲洗三次并且随后与1.2当量的Alloc(N-烯丙氧基羰基)以及Fmoc(N-苄基甲氧基羰基)保护的L-赖氨酸{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH;Merck;目录号8521240005),0.36mmol,452.50g/mol,[163mg] ,(1)}和4.8当量的N,N-二异丙基乙胺{(DIPEA),1.44mmol,129.24g/mol,0.742g/ml,[251μL]}在3ml的无水DCM中反应。缓慢搅拌,使树脂(2)上第一保护的氨基酸的偶联进行16小时的时程。用DCM1将L-赖氨酸-固定的树脂(2)冲洗三次并且用DCM2冲洗三次。用比例为17:2:1的DCM、甲醇(MeOH)和DIPEA的混合物(20mL),将保持在树脂上的未反应的氯三苯甲基冲洗五次。

[0426] 随后,将具有Alloc和Fmoc保护的L-赖氨酸的树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用N,N-二甲基甲酰胺(DMF1)冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。通过如下实现选择性去除Fmoc-保护基团:用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且然后再次冲洗一次5分钟,以便获得产物(3)。接着,将Alloc保护的L-赖氨酸用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,并且,最后,用DCM2冲洗三次。

[0427] 在接下来的步骤中,将10当量的tBu保护的L-谷氨酸盐酸盐{(H-Glu(OtBu)-OtBu·HCl;Merck;目录号8540960005),3.0mmol,295.8g/mol,[887mg],i}用于生成谷酰基部分iii的异氰酸酯。合适量的tBu-保护的L-谷氨酸溶解在150ml的DCM2中,然后不久之后,添加3ml的DIPEA。

[0428] 在4小时内将该溶液逐滴添加至5ml的干燥DCM中具有1mmol冰冷双(三氯甲基)碳酸酯{(BTC;Sigma;目录号15217-10G),296.75g/mol,[297mg],ii}的烧瓶中。

[0429] 之后,将具有一个游离NH<sub>2</sub>基团的L-赖氨酸-固定的树脂(3)一次加入至谷酰基部分iii的异氰酸酯溶液中并且搅拌16小时,以便获得树脂固定的双(tBu)-Glu-脲-Lys(Alloc)(4)。

[0430] 过滤掉包被在树脂上的获得的产物(4),并且用DCM1冲洗三次和用DCM2冲洗三次。

通过与0.15当量的TPP Pd{[四(三苯基膦)钯(0);Sigma;目录号216666-1G],0.045mmol, 1155.56g/mol,[105mg]}在存在15当量的吗啉{4.5mmol,87.12g/mol,0.999g/mL,[392μL]}的情况下在3mL的无水DCM中反应,实现Alloc-保护基团的切割。将Pd和吗啉的量分成2部分并且通过振荡连续反应,每次1小时。使用铝箔,在黑暗中进行反应。

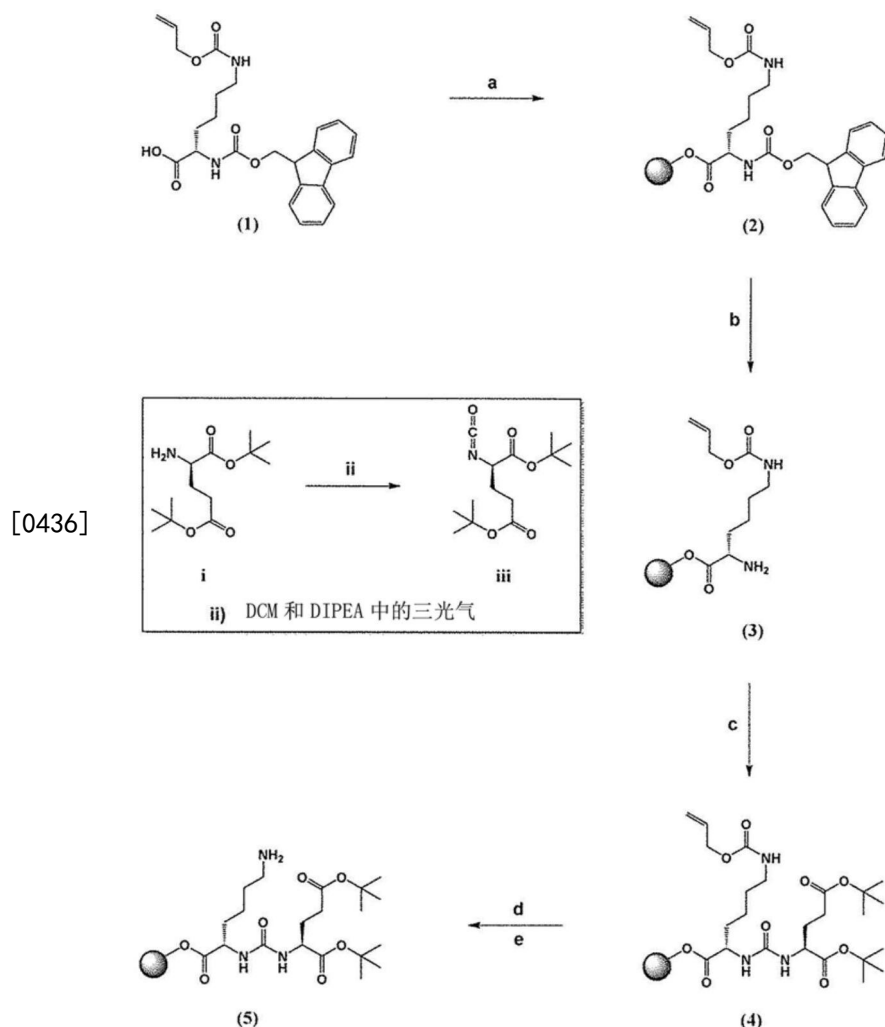
[0431] 接着,将树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物,将树脂用DMF中1%的DIPEA(30mL DMF2中300μL DIPEA)另外冲洗十次,并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral{ (三水二乙基二硫代氨基甲酸钠;Sigma;目录号D3506-100G),225.31g/mol}的溶液(30mL DMF2中450mg cupral)冲洗十次5分钟。

[0432] 接着,将树脂固定的和双(tBu)-保护的Glu-脲-Lys(5)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,并且,最后,用乙醚(Et<sub>2</sub>O)冲洗三次并在真空下干燥。

[0433] 这种制备的前列腺特异性膜抗原(PSMA)结合实体(5)用于接下来的反应,以便合成所有的7种化合物(PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08)。

[0434] 双(tBu)-保护的Glu-脲-Lys药效团的整个之前的合成大纲总结在方案1.1中。

[0435] 方案1.1:用于PSMA-ALB-01/03/04/05/06/07/08的谷氨酸-脲-赖氨酸结合实体的合成。



[0437] a) DCM和DIPEA中的2-CT树脂;b) DMF中50%的哌啶;c) DCM中的iii;d) DCM和吗啉中的TPP钨;e) DMF中1%的DIPEA、DMF中的二乙基二硫代氨基甲酸盐

[0438] 将树脂固定的和双(tBu)-保护的结合实体(5)首先在无水的DCM中搅拌45分钟。将预溶胀的药效团用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且用DMF2冲洗三次。

[0439] b) 连接基区域的合成

[0440] 相对于树脂(0.1mmol),将对应于连接基区域的第一结构单元的4当量的Fmoc保护的2-萘基-L-丙氨酸{(Fmoc-2NaI-OH;Bachem;目录号B-2100),0.40mmol,437.50g/mol,[175.0mg]}用3.96当量的HBTU{(O-(苯并三唑-1-基)-N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐;Sigma;目录号12804-25G-F),0.39mmol,379.24g/mol,[147.9mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[71μL]}的情况下在无水的DMF中活化。

[0441] 在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的药效团(5)并且搅拌1小时。

[0442] 随后,具有双(tBu)-保护的Glu-脲-Lys和Fmoc保护的2-萘基-L-丙氨酸的树脂(6)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且然后再次冲洗一次5分钟,实现从化合物(6)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(7)。

[0443] 在接下来的步骤中,将4当量的对应于用于PSMA-ALB-01的叠氮基环己烷羧酸{(N3-1,4-反式-CHC-OH;Iris Biotech;目录号HAA2235.0001),0.40mmol,169.18g/mol,[67.7mg]}或对应于用于PSMA-ALB-03/04/05/06/07/08的Fmoc保护的凝血酸{(反式-4-(Fmoc-氨基)环己烷-羧酸;Sigma;目录号58446-5G-F),0.40mmol,379.45g/mol,[151.8mg]}的第二结构单元用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.39mmol,379.24g/mol,[147.9mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[71μL]}的情况下在无水的DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的化合物(7)中并且搅拌1小时。

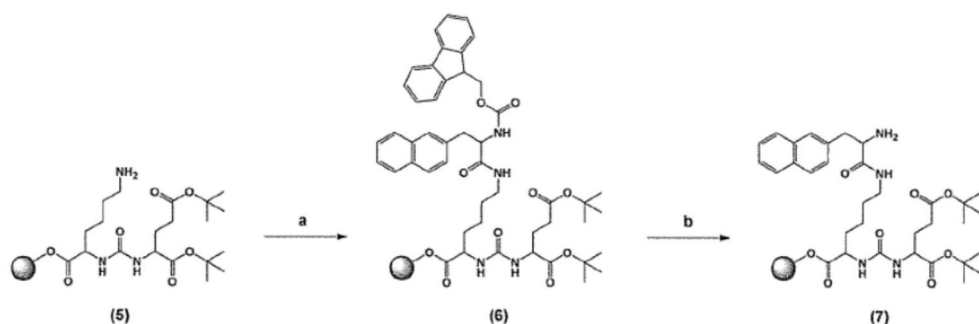
[0444] 随后,将具有双(tBu)-保护的Glu-脲-Lys-2-萘基-L-丙氨酸和叠氮基环己烷羧酸的树脂(8A)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。通过用由比例为95:2.5:2.5的三氟乙酸(TFA)、三异丙基硅烷(TIPS)和H<sub>2</sub>O组成的混合物在2小时内搅拌和随后从树脂切割,获得最终的PSMA-前体(9A)。将TFA蒸发,将粗产物溶解在比例为1:1的乙腈(ACN)和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0445] 另外,将具有双(tBu)-保护的Glu-脲-Lys-2-萘基-L-丙氨酸和Fmoc保护的凝血酸的树脂(8B)用DMF1冲洗三次和用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟并且然后再次冲洗一次5分钟,实现从化合物(8B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(9B)。

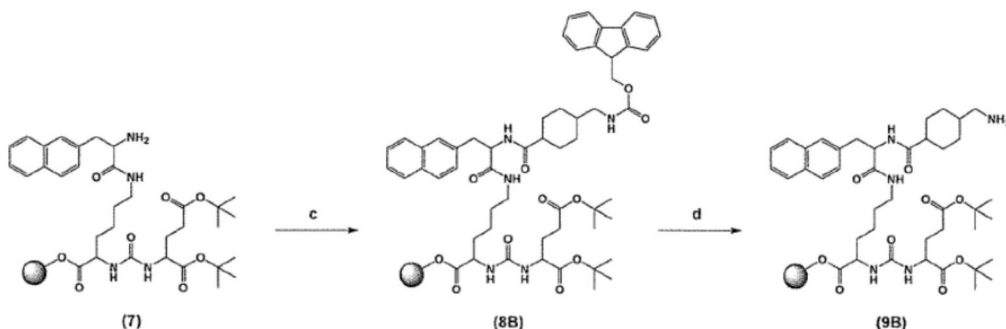
[0446] 连接基区域的整个之前的合成的大纲总结在方案1.2中。

[0447] 方案1.2:连接基区域,用于PSMA-ALB-03/04/05/06/07/08的前体的合成。





[0448]



[0449] a) Fmoc-2-NaI-OH、HBTU、DMF、DIPEA; b) 50%哌啶、DMF; c) Fmoc-AMCH, DMF、DIPEA中的HBTU; d) 50%哌啶、DMF

[0450] c) PSMA-ALB-03的合成

[0451] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体 (9B), 将4当量的Fmoc以及Alloc保护的L-赖氨酸 { (Fmoc-Lys (Alloc) -OH; Merck; 目录号8521240005), 0.40mmol, 452.50g/mol, [181mg]} 用3.96当量的HBTU { (Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.396mmol, 379.24g/mol, [149mg]} 在存在4当量的DIPEA {0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]} 的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双 (tBu) -保护的PSMA前体 (9B) 中并且搅拌1小时。

[0452] 通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟并且然后再次冲洗一次5分钟, 实现从所得化合物 (10B) 选择性去除Fmoc-保护基团, 以便获得产物 (11B)。

[0453] 用2当量的DOTA-三 (叔丁基) 酯 { ([2- (4, 7, 10-三 (2- (叔丁氧基) -2-氧乙基) -1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酸]; CheMatech; 目录号137076-54-1), 0.20mmol, 572.73g/mol [115mg]} 进行螯合剂与树脂固定的化合物 (11B) 的缀合。将螯合剂结构单元用1.98当量的HBTU { (Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.198mmol, 379.24g/mol, [75mg]} 在存在4当量的DIPEA {0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]} 的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物 (11B) 中。在缓慢搅拌下, 在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。接着, 将所得化合物 (12B) 用DMF1冲洗三次, 用DMF2冲洗三次, 用DCM1冲洗三次, 并且, 最后, 用DCM2冲洗三次。

[0454] 通过与0.03当量的TPPPd { (Sigma; 目录号216666-1G), 0.03mmol, 1155.56g/mol, [35mg]} 在存在30当量的吗啉 {3.0mmol, 87.12g/mol, 0.999g/mL, [262μL]} 的情况下在3mL的无水DCM中反应, 实现从化合物 (12B) 切割Alloc-保护基团。使用铝箔, 反应在黑暗中进行2小时。

[0455] 接着, 将树脂用DCM1冲洗三次, 用DCM2冲洗三次, 用DMF1冲洗三次, 并且, 最后, 用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物, 将树脂另外用DMF中1%的DIPEA (30mL DMF2中300μL

DIPEA) 冲洗十次并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral { (Sigma; 目录号D3506-100G), 225.31g/mol } 的溶液 (30mL的DMF2中450mg的cupral) 冲洗十次5分钟。接着, 将所得化合物 (13B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

[0456] 最后, 对于白蛋白结合部分的偶联, 将4当量的碘苯基-丁酸 { ([4- (对碘苯基) 丁酸]; Sigma; I5634-5G), 0.40mmol, 290.10g/mol, [116mg] } 用3.96当量的HBTU { (Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.396mmol, 379.24g/mol, [149mg] } 在存在4当量的DIPEA { 0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL] } 的情况下在无水的DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物 (13B) 中并且搅拌1小时。

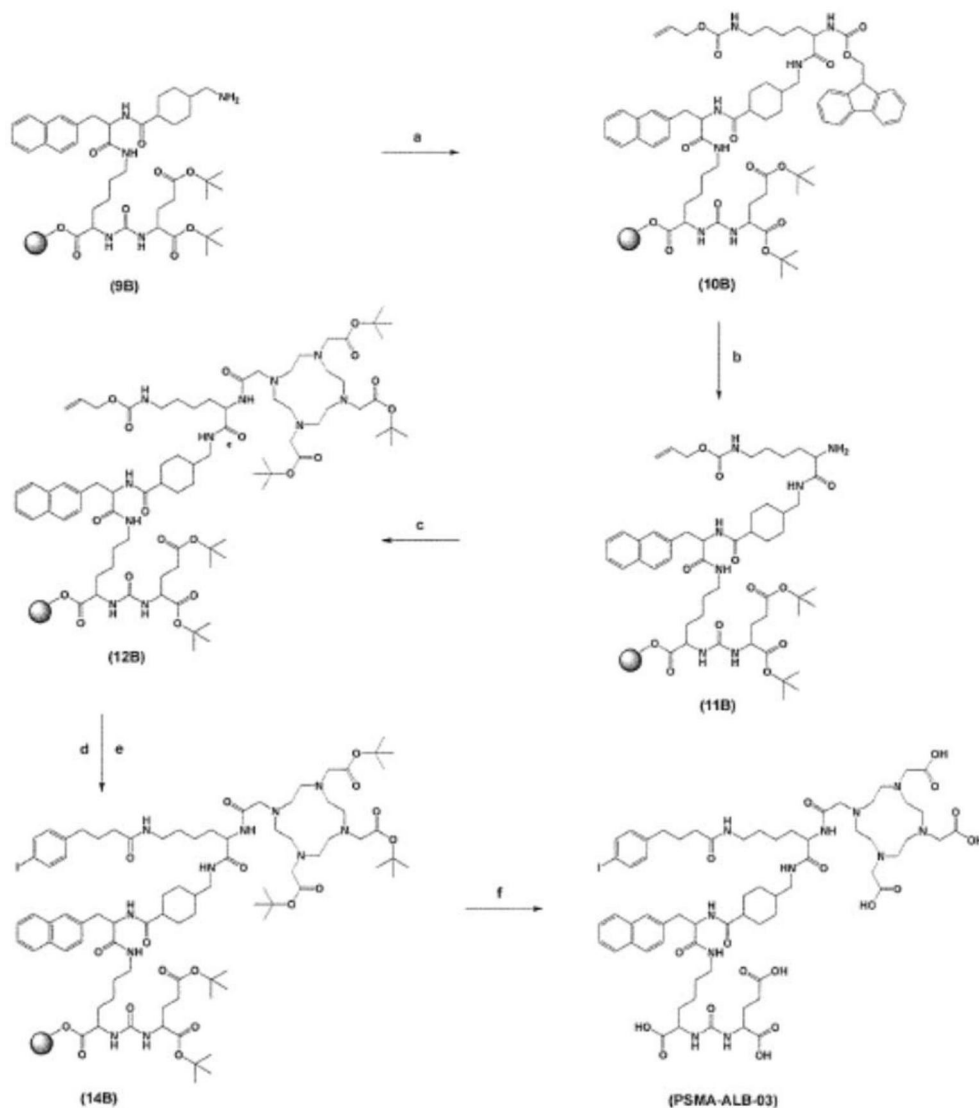
[0457] 接着, 将所得化合物 (14B) 用DMF1冲洗三次, 用DMF2冲洗三次, 用DCM1冲洗三次, 用DCM2冲洗三次, 并且, 最后, 用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0458] 通过搅拌和随后在2小时内用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物从树脂切割, 获得终化合物PSMA-ALB-03。将TFA蒸发, 将粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0459] 上述合成的大纲总结在方案1.3中。

[0460] 方案1.3: 用于PSMA-ALB-03的白蛋白结合剂、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。

[0461]



[0462] a) Fmoc-Lys (Alloc) -OH、HBTU、DMF、DIPEA; b) 50%哌啶、DMF; c) DOTA三 (tBu) 酯、HBTU、DIPEA、DMF; d) Pd催化剂、吗啉、DCM; e) 碘苯基丁酸、HBTU、DMF、DIPEA; f) TFA、TIPS、 $H_2O$  95:2.5:2.5;

[0463] d) PSMA-ALB-04的合成

[0464] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体 (9B), 将4当量的Dde以及Fmoc保护的L-赖氨酸{(Dde-Lys (Fmoc) -OH; Merck; 目录号8540000001), 0.40mmol, 532.63g/mol, [213mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.396mmol, 379.24g/mol, [149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双 (tBu) -保护的PSMA前体 (9B) 中并且搅拌1小时。

[0465] 接着, 将所得化合物 (10B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟, 并且接着再次冲洗一次5分钟, 实现从所得化合物 (10B) 选择性去除Fmoc-保护基团, 以便获得产物 (11B)。

[0466] 用3当量的DOTA-三 (叔丁基) 酯{([2-(4,7,10-三 (2-(叔丁氧基) -2-氧乙基) -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酸]; CheMatech; 目录号137076-54-1), 0.30mmol, 572.73g/mol [171mg]}进行螯合剂与树脂固定的化合物 (11B) 的缀合。用2.97当量的HBTU{(Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.297mmol, 379.24g/mol, [112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]}的情况下在无水DMF中活化螯合剂结构单元。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物 (11B) 中。在缓慢搅拌下, 在2小时的时程内, 进行DOTA螯合剂的偶联。

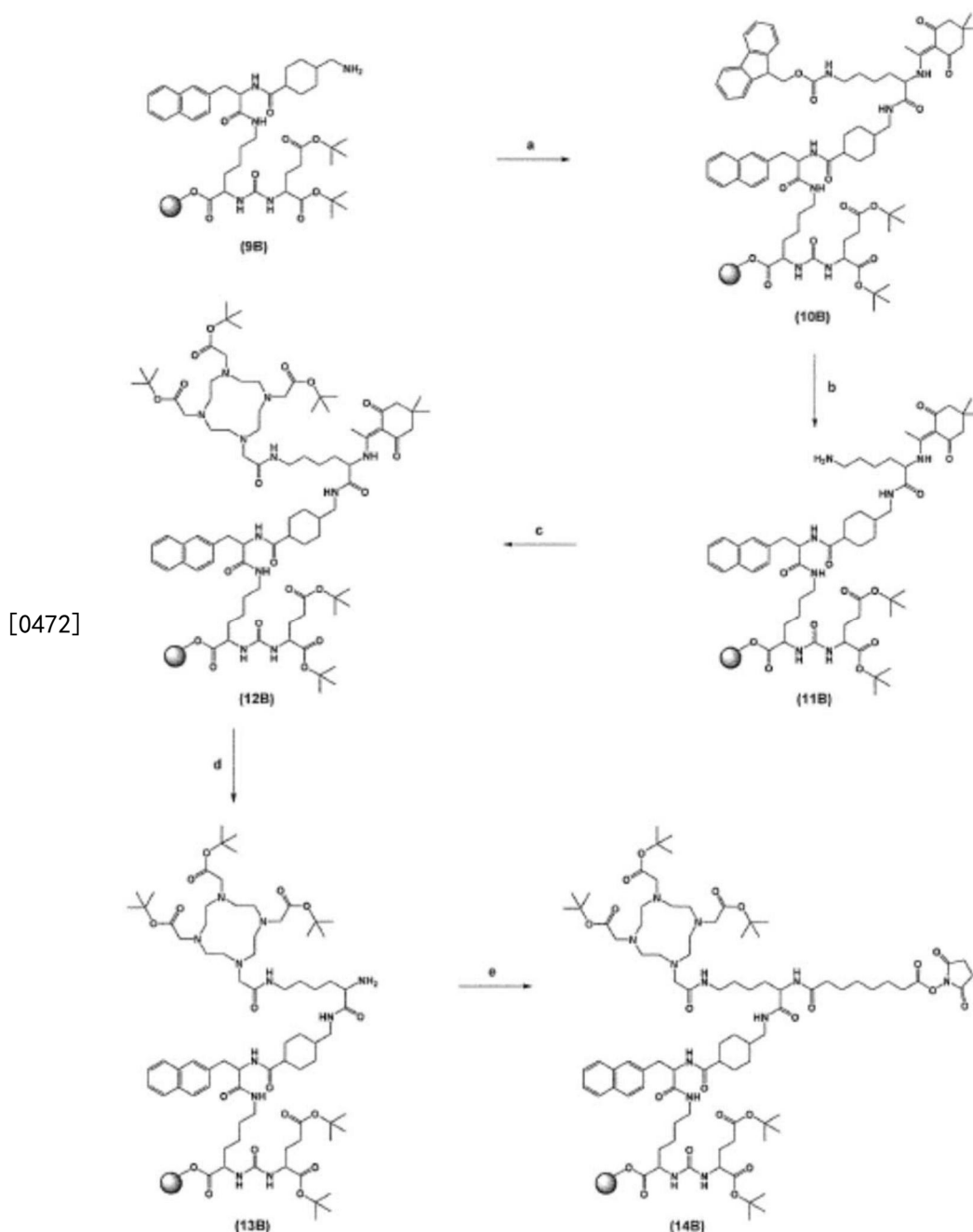
[0467] 接着, 将所得化合物 (12B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用DMF中的2%胂的混合物冲洗两次5分钟并且再次冲洗一次10分钟, 实现从所得化合物 (12B) 选择性去除Dde-保护基团, 以便获得产物 (13B)。

[0468] 相对于包被树脂的产物 (13B), 将2当量的双琥珀酰亚胺辛二酸酯{([辛二酸双 (N-羟基琥珀酰亚胺酯)]; Sigma; 68528-80-3), 0.20mmol, 368.34g/mol, [74mg]}用1.98当量的HBTU{(Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.198mmol, 379.24g/mol, [73mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟, 将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物 (13B) 并且搅拌1小时。

[0469] 接着, 将所得化合物 (14B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

[0470] 上述合成的大纲总结在方案1.4中。

[0471] 方案1.4: 用于PSMA-ALB-04的DOTA螯合剂、PSMA前体和活性酯的偶联。



[0473] a) Dde-Lys (Fmoc) -OH、HBTU、DMF、DIPEA；b) 50%哌啶、DMF；c) DOTA三 (tBu) 酯、HBTU、DIPEA、DMF；d) 2%胍、DMF；e) 双琥珀酰亚胺辛二酸酯、DMF、DIPEA；

[0474] 通过由首先在无氯二氯甲烷 (DCM) 中搅拌45分钟的2-氯三苯甲基氯树脂 { (2-CT-树脂；Merck；目录号8550170005) ，0.20mmol，置换容量1.63mmol/g，100-200MESH，1%DVB，CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的总溶胀体积>4.2mL/g，[123mg] } 开始，在具有过滤器和combi塞子的5mL注射器中平行制备白蛋白结合前体，完成合成。

[0475] 接着，将2-CT树脂用无水DCM冲洗三次并且随后与1.2当量的Dde以及Fmoc保护的L-赖氨酸 { (Dde-Lys (Fmoc) -OH；Bachem；目录号E-3385.0001) ，0.24mmol，532.64g/mol，[128mg] (15B) } 和4.8当量的DIPEA { 0.96mmol，129.24g/mol，0.742g/mL，[167μL] } 在3mL的无水DCM中反应。

[0476] 在缓慢搅拌下，在16小时的时程内进行树脂 (16B) 上的第一保护氨基酸的偶联。

[0477] 接着,将L-赖氨酸固定的树脂(16B)用DCM1冲洗三次并且用DCM2冲洗三次。保留在树脂上的未反应的氯三苯甲基用比例为17:2:1的DCM、MeOH和DIPEA的混合物(20mL)冲洗五次。

[0478] 随后,将具有Dde和Fmoc保护的L-赖氨酸的树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(17B)。

[0479] 接着,将Dde保护的L-赖氨酸用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0480] 这种制备的包被树脂的Dde保护的L-赖氨酸(17B)分成两份并且其中一份用于下一步反应。将该包被树脂的产物在无水DCM中搅拌45分钟并且随后用DMF冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

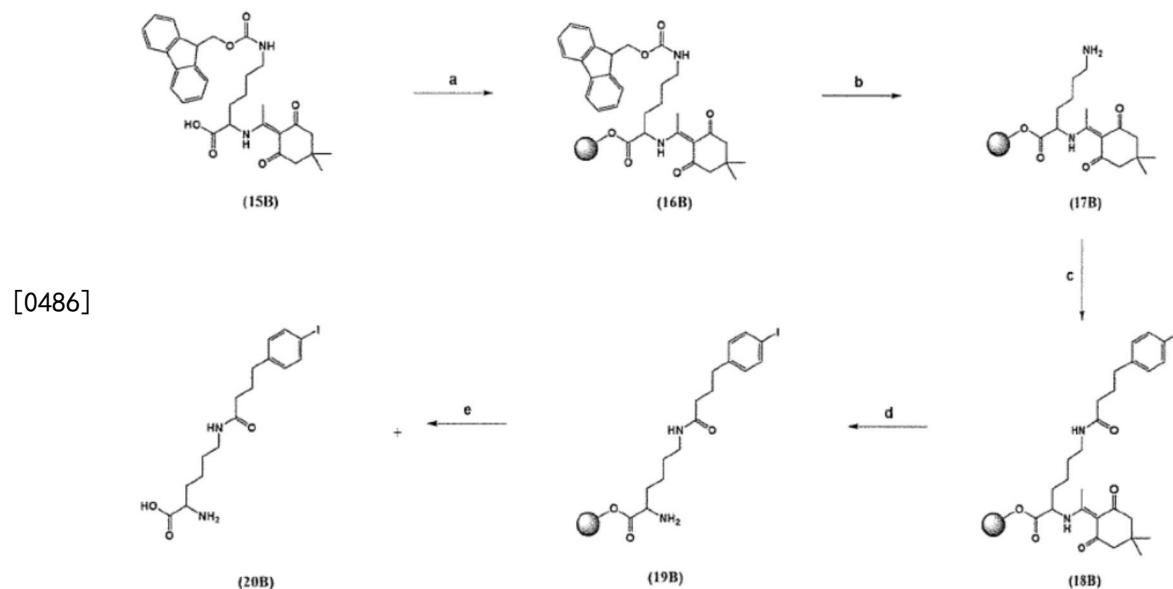
[0481] 相对于包被赖氨酸的树脂,将4当量的碘苯基-丁酸{([4-(对碘苯基)丁酸]; Sigma; I5634-5G), 0.40mmol, 290.10g/mol, [116mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.396mmol, 379.24g/mol, [149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(17B)中并且搅拌1小时。

[0482] 将具有Dde保护的L-赖氨酸和碘苯基-丁酸(18B)的树脂用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用DMF中的2%肼的混合物冲洗两次5分钟并且然后再次冲洗一次10分钟,实现从所得化合物(18B)选择性去除Dde-保护基团,以便获得产物(19B)。

[0483] 通过搅拌和随后在2小时内用由DCM中5%的TFA组成的混合物从树脂切割,获得白蛋白-靶向部分(20B)。将来自产物的溶剂的混合物蒸发,使粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0484] 上述合成的大纲总结在方案1.5中。

[0485] 方案1.5:用于PSMA-ALB-04的白蛋白结合剂的偶联。



[0487] a) DCM和DIPEA中的2-CT-树脂;b) DMF中的50%哌啶;c) 碘苯基丁酸、DMF和DIPEA中

的HBTU;d) DMF中的2%脒;e) DCM中的5% TFA;

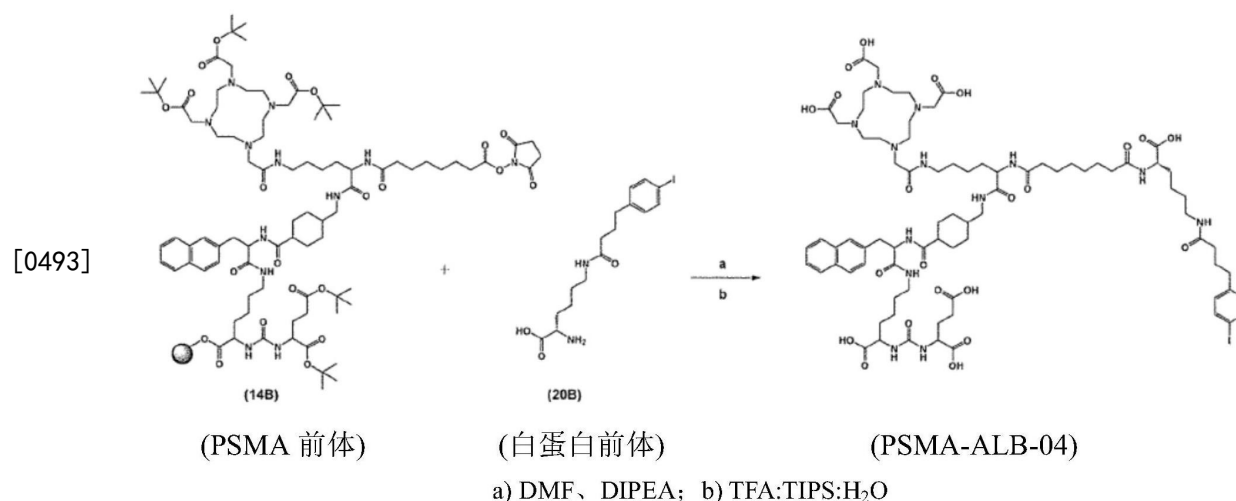
[0488] 最后,进行3当量的纯化的白蛋白-靶向部分(20B)与树脂固定产物(14B)的缀合。将产物(20B)溶解在干燥DMF中并且添加100 $\mu$ L的DIPEA。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液(20B)添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(14B)中并且搅拌1小时。

[0489] 接着,将所得化合物(21B)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0490] 通过搅拌和随后在2小时内用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物从树脂切割,获得终化合物PSMA-ALB-04。将TFA蒸发,使粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0491] 上述合成的大纲总结在方案1.6中。

[0492] 方案1.6:用于PSMA-ALB-04的白蛋白结合剂与DOTA缀合的PSMA前体的偶联。



[0494] e) PSMA-ALB-05的合成

[0495] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(9B),将4当量的Fmoc以及Alloc保护的L-赖氨酸{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH;Merck;目录号8521240005),0.40mmol,452.50g/mol,[181mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70 $\mu$ L]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(9B)中并且搅拌1小时。

[0496] 接着,将所得化合物(10B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(10B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(11B)。

[0497] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(11B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70 $\mu$ L]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(11B)中并且搅拌1小时。

[0498] 接着,将所得化合物(12B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:

1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(12B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(13B)。

[0499] 相对于包被赖氨酸和天冬氨酸的PSMA前体(13B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(13B)中并且搅拌1小时。

[0500] 接着,将所得化合物(14B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(14B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(15B)。

[0501] 相对于包被树脂的产物(15B),将4当量的碘苯基-丁酸{([4-(对碘苯基)丁酸];Sigma;I5634-5G),0.40mmol,290.10g/mol,[116mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(15B)中并且搅拌1小时。

[0502] 接着,将所得化合物(16B)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,并且,最后,用DCM2冲洗三次。

[0503] 通过与0.03当量的TPPPd{(Sigma;目录号216666-1G),0.03mmol,1155.56g/mol,[35mg]}在存在30当量的吗啉{3.0mmol,87.12g/mol,0.999g/mL,[262μL]}的情况下在3mL的无水DCM中反应,实现从化合物(16B)切割Alloc-保护基团。使用铝箔,反应在黑暗中进行2小时。

[0504] 接着,将树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物,将树脂另外用DMF中1%的DIPEA(30mL DMF2中300μL DIPEA)冲洗十次并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral{(Sigma;目录号D3506-100G),225.31g/mol}的溶液(30mL的DMF2中450mg的cupral)冲洗十次5分钟。接着,将所得化合物(17B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

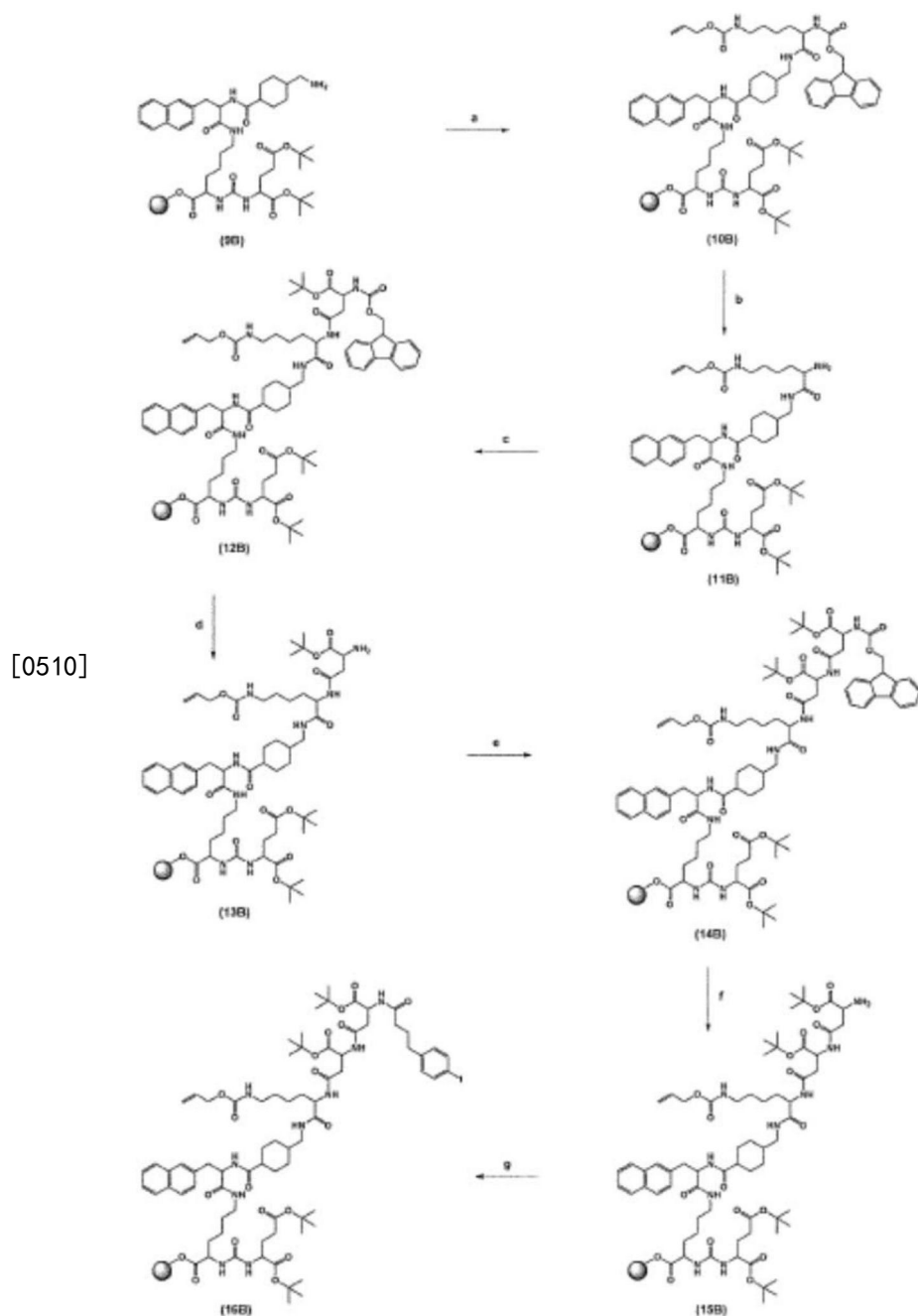
[0505] 用3当量的DOTA-三(叔丁基)酯{([2-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酸];CheMatech;目录号137076-54-1),0.30mmol,572.73g/mol[171mg]}进行螯合剂与树脂固定的化合物(17B)的缀合。将螯合剂结构单元用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物(17B)中。在缓慢搅拌下,在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。

[0506] 将这种产物(18B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0507] 通过搅拌和随后在2小时内用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物从树脂切割,获得终化合物PSMA-ALB-05。将TFA蒸发,将粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0508] 上述合成的大纲总结在方案1.7的两个部分中。

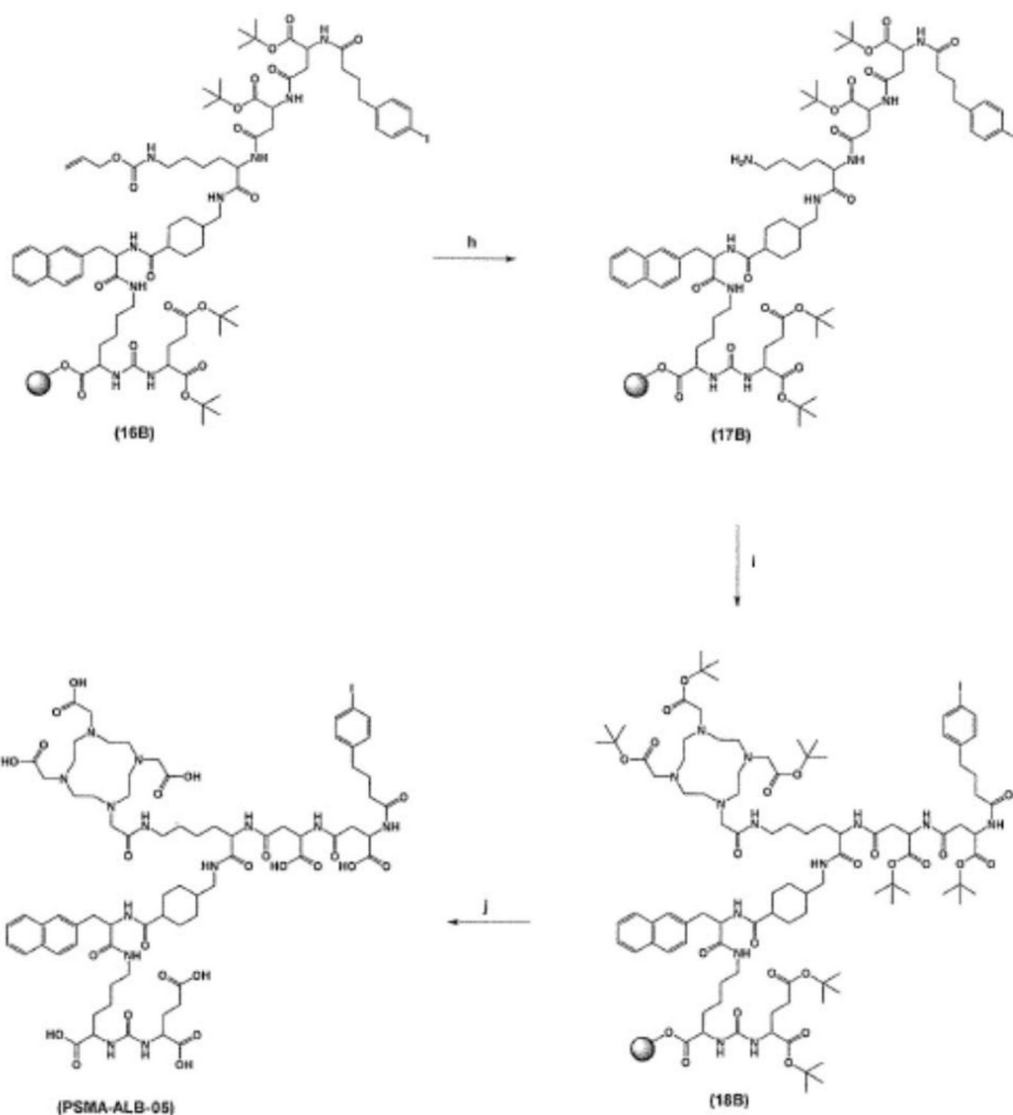
[0509] 方案1.7:用于PSMA-ALB-05的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。



[0511] a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% 哌啶, DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% 哌啶, DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% 哌啶, DMF; g) 碘苯基丁酸, HBTU, DMF, DIPEA;

[0512] 方案1.7(续):用于PSMA-ALB-05的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联……续





[0513]

[0514] h) Pd催化剂、吗啉、DCM; i) DOTA三(tBu)酯、HBTU、DIPEA、DMF; j) TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O

[0515] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(9),将4当量的Fmoc以及Alloc保护的L-赖氨酸{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH;Merck;目录号8521240005),0.40mmol,452.50g/mol,[181mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(9)并且搅拌1小时。

[0516] 通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟并且然后再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(10)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(11)。

[0517] 用2当量的DOTA-三(叔丁基)酯{[2-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酸];CheMatech;目录号137076-54-1),0.20mmol,572.73g/mol[115mg]}进行螯合剂与树脂固定的化合物(11)的缀合。将螯合剂结构单元用1.98当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.198mmol,379.24g/mol,[75mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物(11)中。在缓慢搅拌下,

在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。接着,将所得化合物(12)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,并且,最后,用DCM2冲洗三次。

[0518] 通过与0.03当量的TPP Pd{(Sigma;目录号216666-1G),0.03mmol,1155.56g/mol,[35mg]}在存在30当量的吗啉{3.0mmol,87.12g/mol,0.999g/mL,[262μL]}的情况下在3ml的无水DCM中反应,实现从化合物(12)切割Alloc-保护基团。使用铝箔,反应在黑暗中进行2小时。

[0519] 接着,将树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物,将树脂用DMF中1%的DIPEA(30mL DMF2中300μL的DIPEA)另外冲洗十次并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral{(Sigma;目录号D3506-100G),225.31g/mol}的溶液(30mL的DMF2中450mg的cupral)冲洗十次5分钟。接着,将所得化合物(13)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

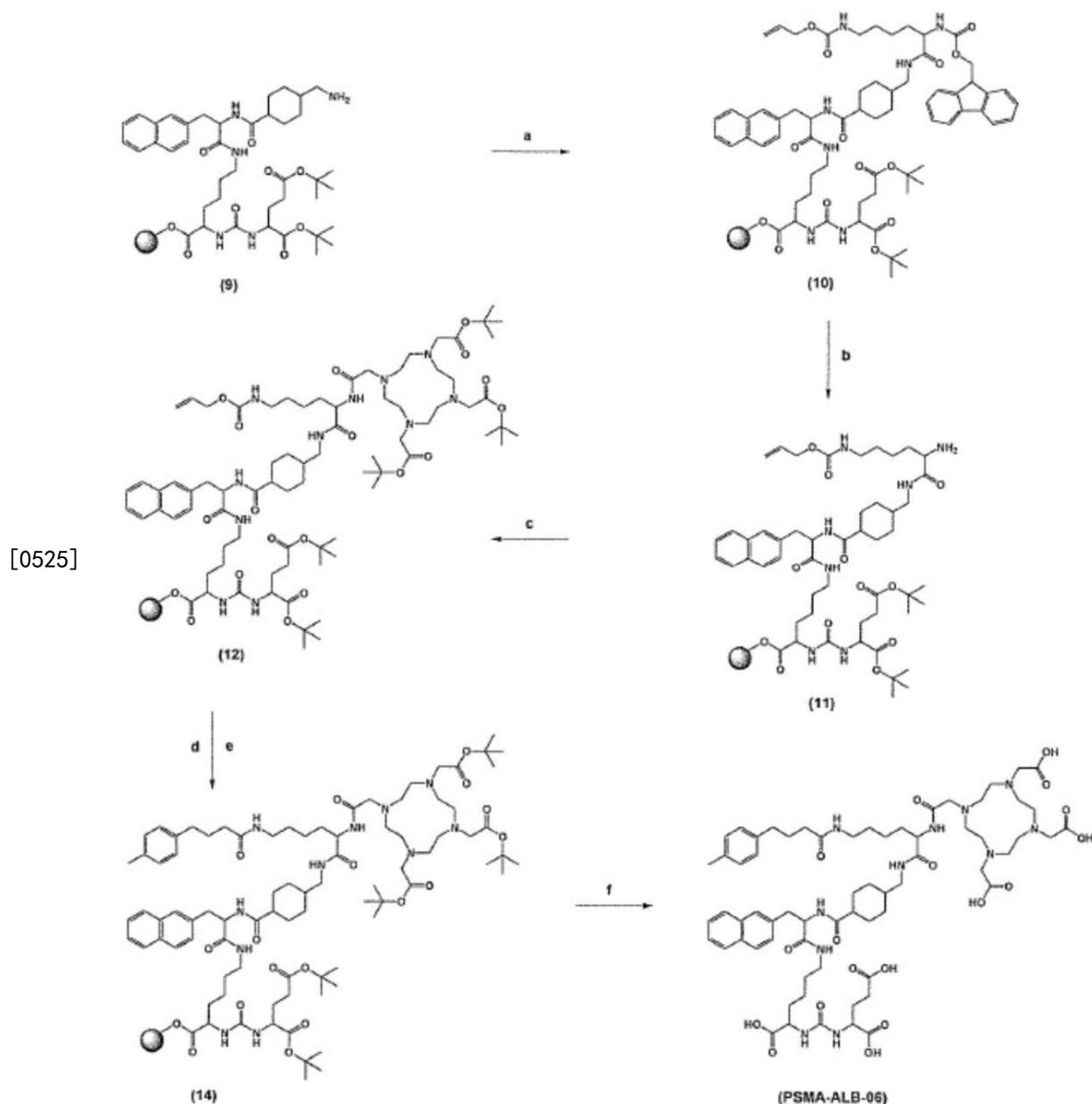
[0520] 最后,对于白蛋白结合部分的偶联,将4当量的甲基-丁酸{([4-(p-甲基)丁酸];ABCR;AB119212),0.40mmol,178.23g/mol,[71mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(13)中并且搅拌1小时。

[0521] 接着,将所得化合物(14)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0522] 通过搅拌并且随后用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物在2小时内从树脂切割,获得终化合物PSMA-ALB-06。使TFA蒸发,将粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0523] 上述合成的大纲总结在方案1.8中。

[0524] 方案1.8:用于PSMA-ALB-06的白蛋白结合剂、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。



[0526] a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH、HBTU、DMF、DIPEA; b) 50%哌啶、DMF; c) DOTA三(tBu)酯、HBTU、DIPEA、DMF; d) Pd催化剂、吗啉、DCM; e) 甲苯基丁酸、HBTU、DMF、DIPEA; f) TFA、TIPS、H<sub>2</sub>O 95:2.5:2.5;

[0527] f) PSMA-ALB-07的合成

[0528] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(9B),将4当量的Fmoc以及Alloc保护的L-赖氨酸{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH;Merck;目录号8521240005),0.40mmol,452.50g/mol,[181mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(9B)中并且搅拌1小时。

[0529] 接着,将所得化合物(10B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物

(10B) 选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(11B)。

[0530] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(11B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(11B)中并且搅拌1小时。

[0531] 接着,将所得化合物(12B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(12B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(13B)。

[0532] 相对于包被赖氨酸和天冬氨酸的PSMA前体(13B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(13B)中并且搅拌1小时。

[0533] 接着,将所得化合物(14B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(14B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(15B)。

[0534] 相对于包被赖氨酸和两个天冬氨酸的PSMA前体(15B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(15B)中并且搅拌1小时。

[0535] 接着,将所得化合物(16B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(14B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(17B)。

[0536] 相对于包被树脂的产物(17B),将4当量的碘苯基-丁酸{([4-(对碘苯基)丁酸];Sigma;I5634-5G),0.40mmol,290.10g/mol,[116mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(17B)中并且搅拌1小时。

[0537] 接着,将所得化合物(18B)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,并且,最后,用DCM2冲洗三次。

[0538] 通过与0.03当量的TPP Pd{(Sigma;目录号216666-1G),0.03mmol,1155.56g/mol,[35mg]}在存在30当量的吗啉{3.0mmol,87.12g/mol,0.999g/mL,[262μL]}的情况下在3ml的无水DCM中反应,实现从化合物(18B)切割Alloc-保护基团。使用铝箔,反应在黑暗中进行2小时。

[0539] 接着,将树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物,将树脂另外用DMF中1%的DIPEA (30mL DMF2中300 $\mu$ L DIPEA) 冲洗十次并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral { (Sigma; 目录号D3506-100G), 225.31g/mol } 的溶液 (30mL的DMF2中450mg的cupral) 冲洗十次5分钟。接着,将所得化合物 (19B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

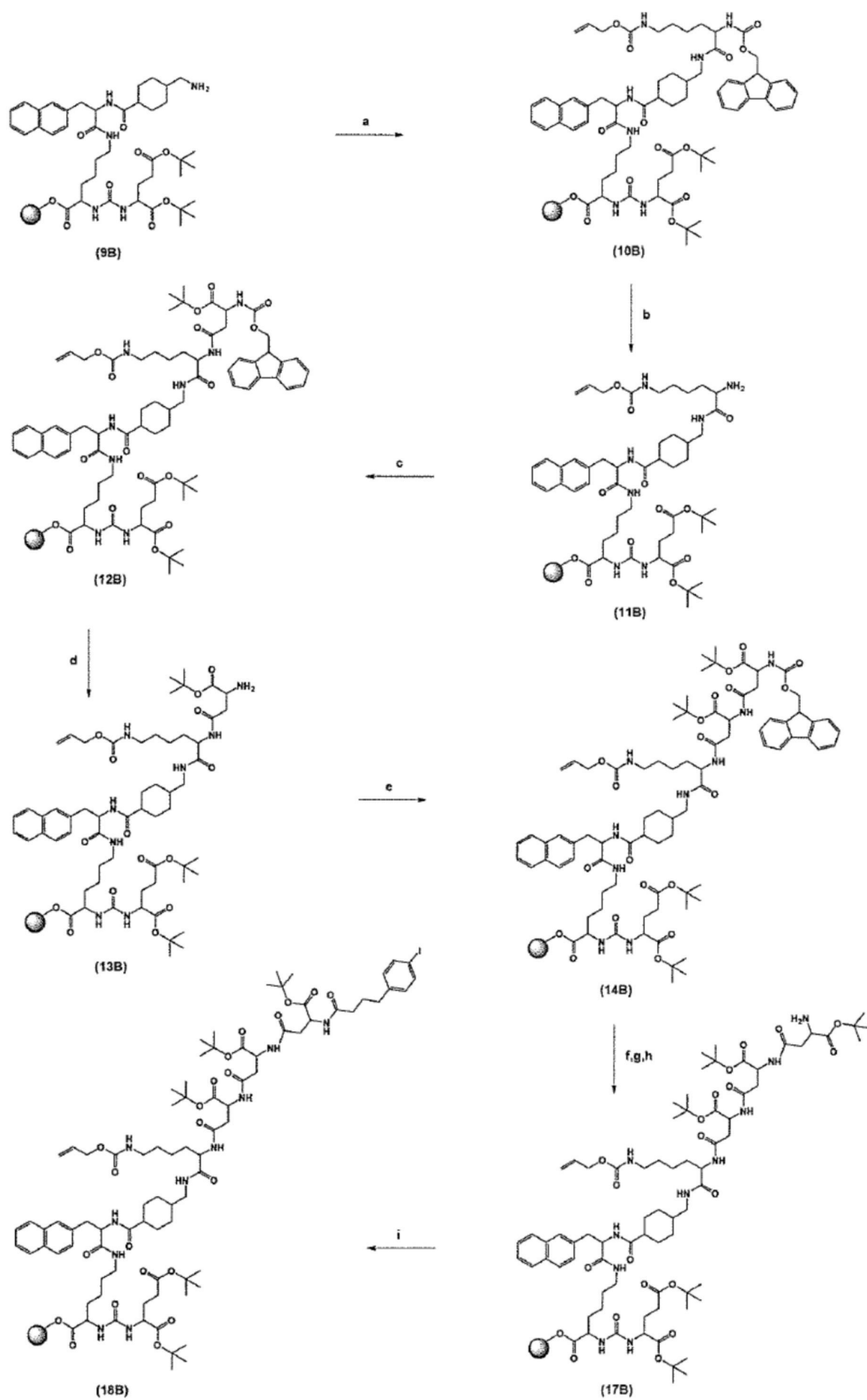
[0540] 用3当量的DOTA-三(叔丁基)酯 { ([2- (4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基) 乙酸]; CheMatech; 目录号137076-54-1), 0.30mmol, 572.73g/mol [171mg] } 进行螯合剂与树脂固定的化合物 (19B) 的缀合。将螯合剂结构单元用2.97当量的HBTU { (Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.297mmol, 379.24g/mol, [112mg] } 在存在4当量的DIPEA { 0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70 $\mu$ L] } 的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物 (17B) 中。在缓慢搅拌下,在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。

[0541] 这种产物 (20B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0542] 通过搅拌和随后在2小时内用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物从树脂切割,获得终化合物PSMA-ALB-07。将TFA蒸发,使粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。上述合成的大纲总结在方案1.9的两个部分中。

[0543] 方案1.9:用于PSMA-ALB-07的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。

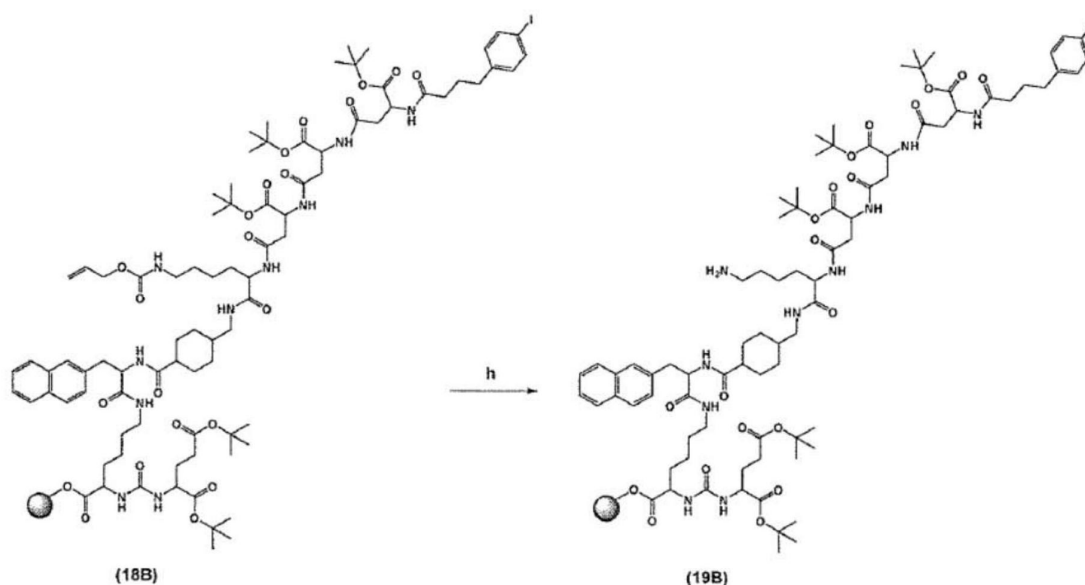
[0544]



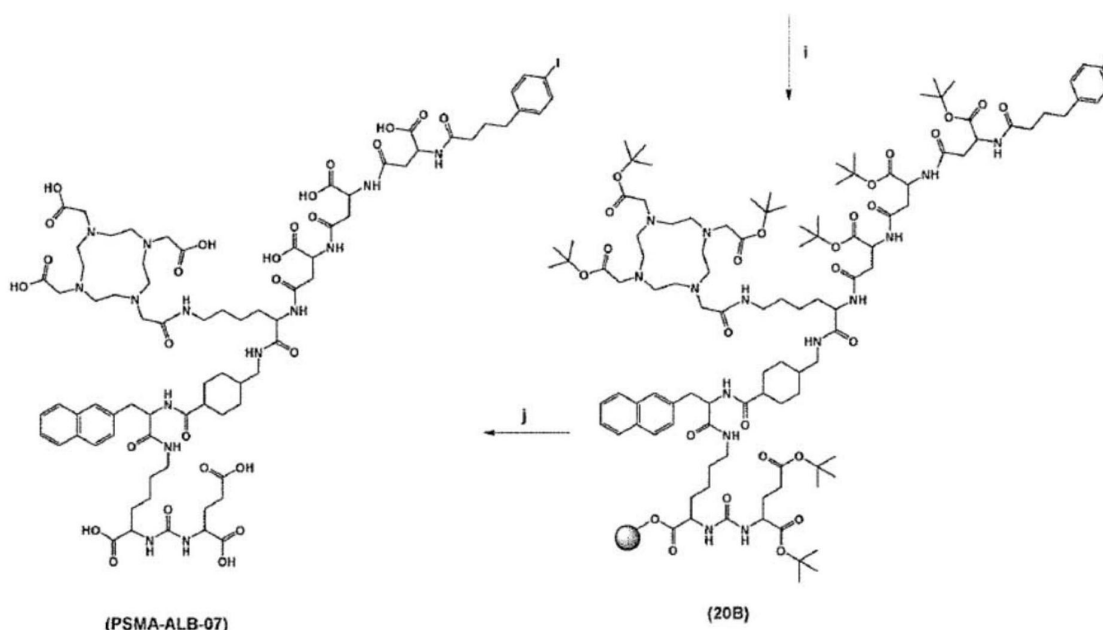
[0545] a) Fmoc-Lys(Alloc)-OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% 哌啶, DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% 哌啶, DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% 哌啶,

DMF; g) Fmoc-D-Asp-OtBu、HBTU、DIPEA、DMF; h) 50%吡啶、DMF; i) 碘苯基丁酸、HBTU、DMF、DIPEA;

[0546] 方案1.9(续):用于PSMA-ALB-07的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。



[0547]



[0548] h) Pd催化剂、吗啉、DCM; i) DOTA三(tBu)酯、HBTU、DIPEA、DMF; j) TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O

[0549] g) PSMA-ALB-08的合成

[0550] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(9B),将4当量的Fmoc以及Alloc保护的L-赖氨酸{(Fmoc-Lys(Alloc)-OH;Merck;目录号8521240005),0.40mmol,452.50g/mol,[181mg]}用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(9B)中并且搅拌1小时。

[0551] 接着,将所得化合物(10B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(10B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(11B)。

[0552] 相对于包被赖氨酸的PSMA前体(11B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(11B)中并且搅拌1小时。

[0553] 接着,将所得化合物(12B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(12B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(13B)。

[0554] 相对于包被赖氨酸和天冬氨酸的PSMA前体(13B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(13B)中并且搅拌1小时。

[0555] 接着,将所得化合物(14B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(14B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(15B)。

[0556] 相对于包被赖氨酸和两个天冬氨酸的PSMA前体(15B),将3当量的Fmoc以及tBu保护的D-天冬氨酸{(Fmoc-D-Asp-OtBu;Merck;目录号8521440001),0.30mmol,411.45g/mol,[123mg]}用2.97当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.297mmol,379.24g/mol,[112mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至DMF预溶胀的固定的双(tBu)-保护的PSMA前体(15B)中并且搅拌1小时。

[0557] 接着,将所得化合物(16B)用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。通过用比例为1:1的DMF和哌啶的混合物冲洗一次2分钟,并且接着再次冲洗一次5分钟,实现从所得化合物(16B)选择性去除Fmoc-保护基团,以便获得产物(17B)。

[0558] 相对于包被树脂的产物(17B),将4当量的甲基-丁酸(0.40mmol)用3.96当量的HBTU{(Sigma;目录号12804-25G-F),0.396mmol,379.24g/mol,[149mg]}在存在4当量的DIPEA{0.40mmol,129.24g/mol,0.742g/mL,[70μL]}的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的产物(17B)中并且搅拌1小时。

[0559] 接着,将所得化合物(18B)用DMF1冲洗三次,用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,并且,最后,用DCM2冲洗三次。

[0560] 通过与0.03当量的TPP Pd{(Sigma;目录号216666-1G),0.03mmol,1155.56g/mol,[35mg]}在存在30当量的吗啉{3.0mmol,87.12g/mol,0.999g/mL,[262μL]}的情况下在3ml的无水DCM中反应,实现从化合物(18B)切割Alloc-保护基团。使用铝箔,反应在黑暗中进行



2小时。

[0561] 接着,将树脂用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,用DMF1冲洗三次,并且,最后,用DMF2冲洗三次。为了去除钯的残留物,将树脂另外用DMF中1%的DIPEA (30mL DMF2中300 $\mu$ L DIPEA) 冲洗十次并且随后用浓度为15mg/mL的DMF2中的cupral { (Sigma; 目录号D3506-100G), 225.31g/mol} 的溶液 (30mL的DMF2中450mg的cupral) 冲洗十次5分钟。接着,将所得化合物 (19B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次。

[0562] 用3当量的DOTA-三(叔丁基)酯{([2-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酸];CheMatech;目录号137076-54-1), 0.30mmol, 572.73g/mol [171mg]} 进行螯合剂与树脂固定的化合物 (19B) 的缀合。将螯合剂结构单元用2.97当量的HBTU { (Sigma; 目录号12804-25G-F), 0.297mmol, 379.24g/mol, [112mg]} 在存在4当量的DIPEA {0.40mmol, 129.24g/mol, 0.742g/mL, [70 $\mu$ L]} 的情况下在无水DMF中活化。在添加DIPEA之后两分钟,将溶液添加至树脂固定的和DMF预溶胀的化合物 (17B) 中。在缓慢搅拌下,在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。

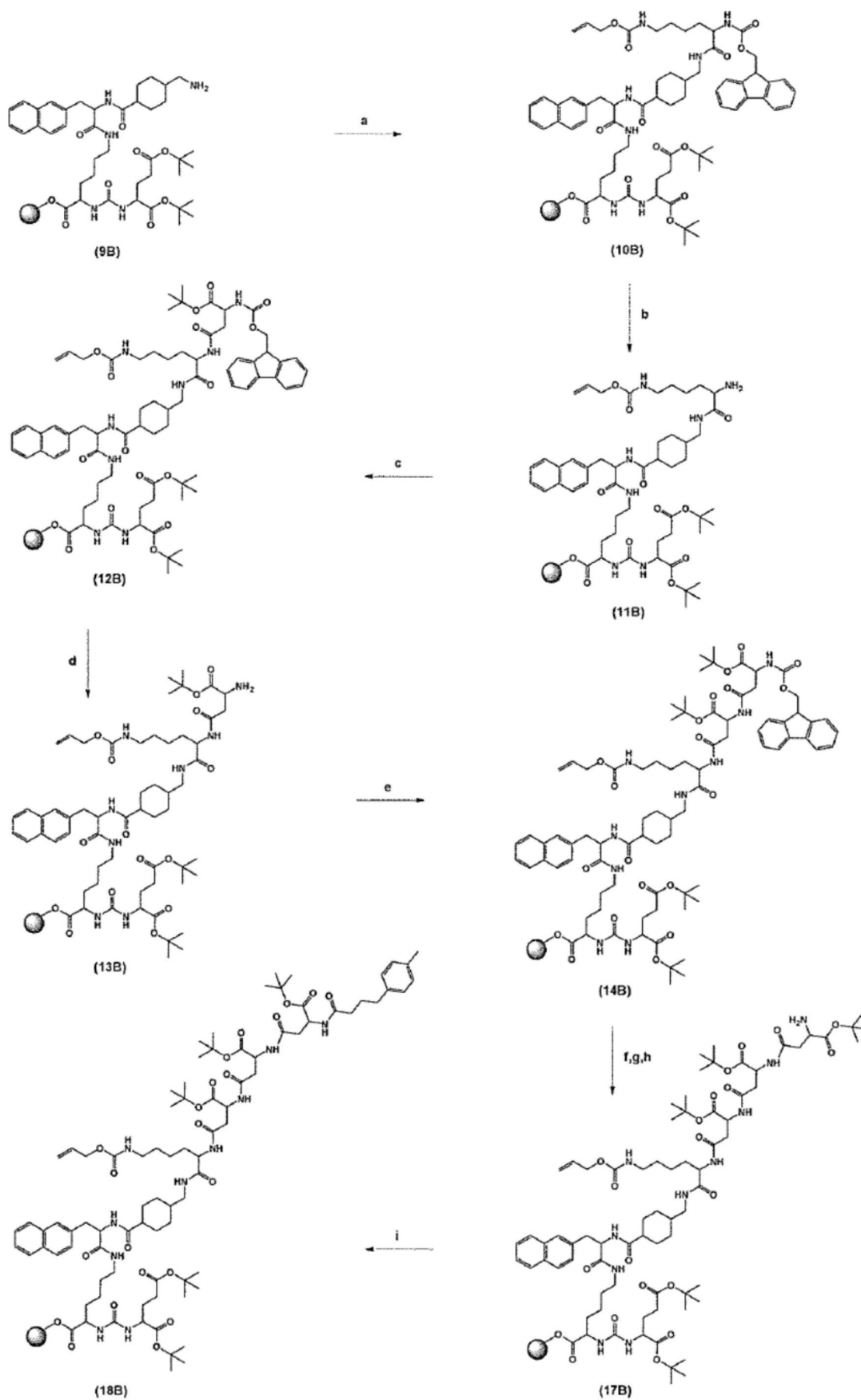
[0563] 将这种产物 (20B) 用DMF1冲洗三次并且用DMF2冲洗三次,用DCM1冲洗三次,用DCM2冲洗三次,并且,最后,用Et<sub>2</sub>O冲洗三次并且在真空下干燥。

[0564] 通过搅拌和随后在2小时内用由比例为95:2.5:2.5的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O组成的混合物从树脂切割,获得终化合物PSMA-ALB-07。将TFA蒸发,使粗产物溶解在比例为1:1的ACN和水中并且经由RP-HPLC纯化。

[0565] 上述合成的大纲总结在方案1.10的两个部分中。

[0566] 方案1.10:用于PSMA-ALB-08的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。

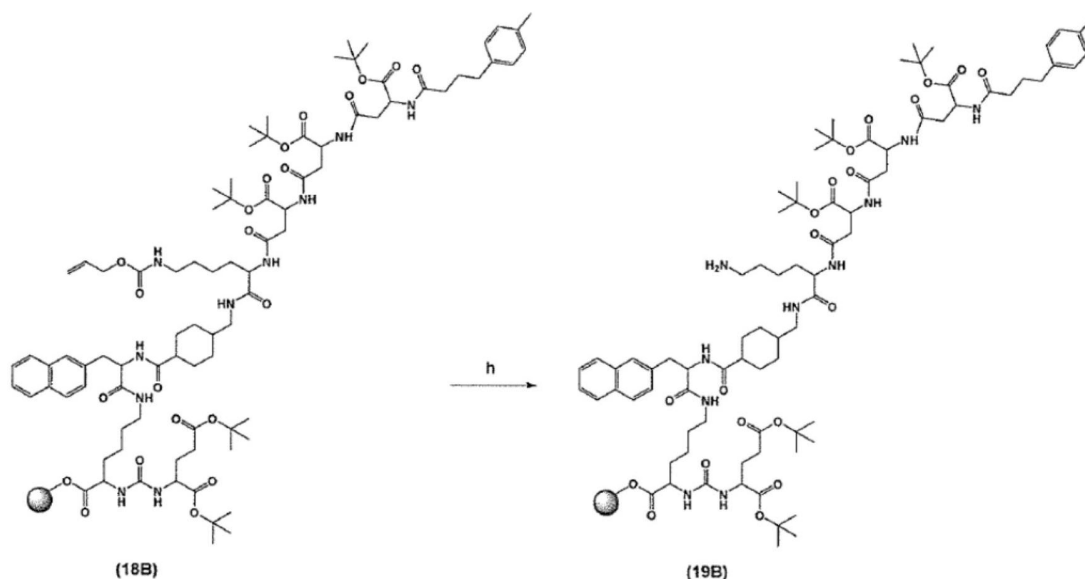
[0567]



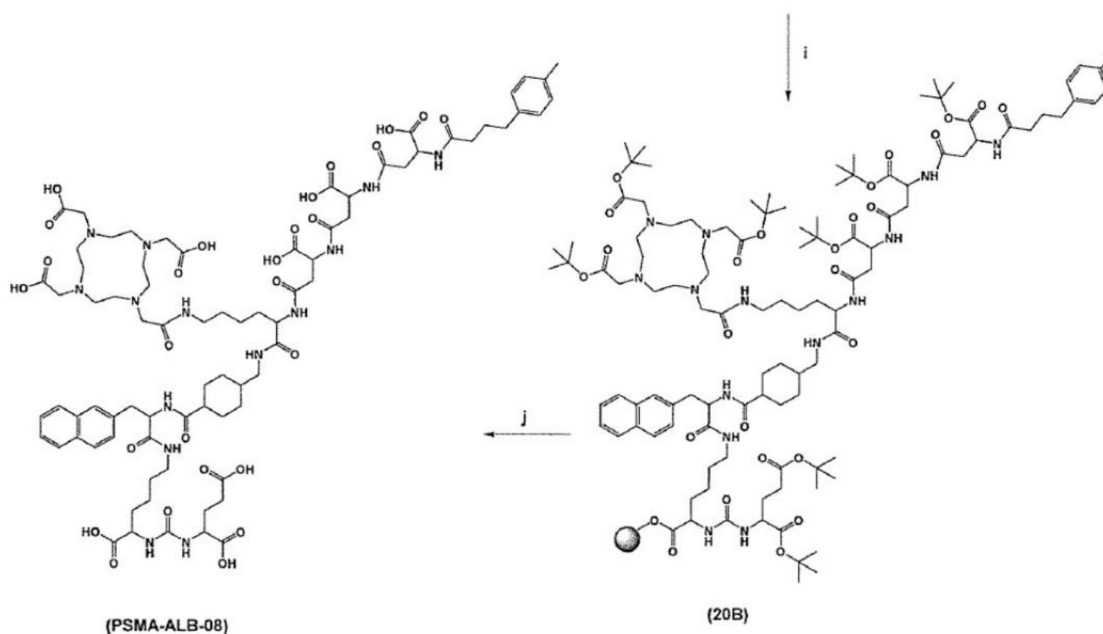
[0568] a) Fmoc-Lys (Alloc) -OH, HBTU, DMF, DIPEA; b) 50% 哌啶、DMF; c) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; d) 50% 哌啶、DMF; e) Fmoc-D-Asp-OtBu, HBTU, DIPEA, DMF; f) 50% 哌啶、

DMF; g) Fmoc-D-Asp-OtBu、HBTU、DIPEA、DMF; h) 50% 哌啶、DMF; i) 甲苯基丁酸、HBTU、DMF、DIPEA;

[0569] 方案1.10 (续): 用于PSMA-ALB-08的白蛋白结合-部分、DOTA螯合剂和PSMA前体的偶联。



[0570]



[0571] h) Pd催化剂、吗啉、DCM; i) DOTA三(tBu)酯、HBTU、DIPEA、DMF; j) TFA:TIPS:H<sub>2</sub>O

[0572] 1.1.3: PSMA配体的<sup>177</sup>Lu-标记和体外评估

[0573] 用<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08进行体外研究。这包括标记效率的初步评估、正辛醇/PBS分配系数和血清蛋白质结合研究。此外,使用PSMA-转染的PSMApos PC-3PIP细胞系(阳性对照)和空白对照转染的PSMAneg PC-3流感细胞系(阴性对照)进行摄取和内化实验。

[0574] a) PSMA-配体和放射性核素

[0575] 如上述合成PSMA-配体<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08。参考化合

物 (PSMA-617) 购买自 Advanced Biochemical Compounds (ABX GmbH, Radeberg, 德国)。由 Isotope Technologies Garching (ITG GmbH, 德国) 提供 0.05M HCl 中无载体添加的  $^{177}\text{Lu}$ 。

[0576] b) 放射性标记

[0577] 通过在 MilliQ 水中稀释至 1mM 的最终浓度而制备 PSMA-617 的储备溶液。将  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08 稀释在 MilliQ 水/DMSO 中, 以获得 1mM 的最终浓度。所有的化合物用乙酸钠 (0.5M, pH 8) 和 HCl (0.05M, pH ~ 1) 的 pH 3.5-4.5 的 1:5 混合物中的  $^{177}\text{Lu}$  标记。取决于实验条件, 将化合物用比活度在 5-50MBq/nmol 之间的  $^{177}\text{Lu}$  标记。将反应混合物在 95°C 下温育 15 分钟, 随后使用具有 C-18 反相柱的高效液相色谱 (Xterra<sup>TM</sup> MS, C18, 5 $\mu\text{m}$ , 150 $\times$ 4.6mm; Waters) 质量控制。流动相由含有 0.1% 的三氟乙酸 (A) 和乙腈 (B) 的 MilliQ 水组成, 其中在 15 分钟的时间段内, 梯度为 95% A 和 5% B 至 20% A 和 80% B, 流速为 1.0mL/min。将放射性配体在含有 Na-DTPA (50 $\mu\text{M}$  (微摩尔)) 的 MilliQ 水中稀释, 然后注入 HPLC 中。

[0578] c) 正辛醇/PBS 分配系数的测定

[0579] 将  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08 和 PSMA-617 用比活度为 50MBq/nmol 的  $^{177}\text{Lu}$  标记。接着, 将放射性配体 (0.5MBq; 10pmol, 25 $\mu\text{L}$ ) 添加至含有 1475 $\mu\text{L}$  的 PBS pH 7.4 和 1500 $\mu\text{L}$  的正辛醇的试管中。将小瓶强力涡旋, 随后经历离心步骤, 用于相分离。最后, 以  $\gamma$ -计数器 (Perkin Elmer, Wallac Wizard 1480) 测量限定体积的 PBS 和正辛醇中的放射性, 以计算分配系数, 其表示为在正辛醇相中测量的每分钟计数 (cpm) 与 PBS 相中测量的 cpm 的比的对数。

[0580] d) 过滤器试验

[0581] 使用超滤试验确定  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08 和  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 的血浆结合。

[0582] 因此, 将化合物用比活度为 50MBq/nmol 的  $^{177}\text{Lu}$  标记并且在人血浆样品或 PBS 中在室温下温育。使用离心 (centrifree) 超滤装置 (4104 离心过滤器单元 [Millipore]; 30000Da 标称分子量限度, 甲基纤维素微分区膜), 将游离部分和结合血浆部分分开。将温育溶液加载至超滤装置并且以 2500rpm 在 20°C 下离心 40 分钟。以  $\gamma$ -计数器分析来自滤液的样品的放射性。将结合血浆化合物的量计算为滤液中测量的放射性相对于相应的加载溶液 (设置为 100%) 的分数。

[0583] e) 细胞内化试验

[0584] 用  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01/-03/-04/-05/-06/-07/-08 和参考化合物  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 使用 PSMA-转染的 PSMA<sup>pos</sup> PC-3PIP 和空白对照转染的 PSMA<sup>neg</sup> PC-3 流感细胞进行细胞摄取和内化实验, 以便研究新型化合物的特异性。

[0585] 细胞在补充有 10% 胎牛血清、L-谷氨酰胺、抗生素和嘌呤霉素 (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的 RPMI 细胞培养基中, 在 37°C 和 5%  $\text{CO}_2$  (标准条件) 下生长。使用用于冲洗细胞的 PBS/EDTA (2mM) 和用于细胞分离的胰蛋白酶, 一周进行常规细胞培养两次。将细胞接种在 12 孔板 (每孔 2mL RPMI 培养基中约  $3 \times 10^5$  个细胞) 中, 允许在标准条件下粘附和生长过夜。去除上清液并且用 PBS pH 7.4 冲洗细胞, 然后添加没有补充的 RPMI 培养基 (975 $\mu\text{L}$ /孔)。化合物用比活度为 5MBq/nmol 的  $^{177}\text{Lu}$  标记并且在 0.05% 牛血清白蛋白 (BSA) / 0.9% NaCl 溶液中稀释至 1.5MBq/mL, 以防止粘附至塑料容器。将细胞用 25 $\mu\text{L}$  (~37.5kBq) / 孔放射性标记的 PSMA 配体

在标准条件下分别温育2小时和4小时。在温育之后,将细胞用冰冷的PBS冲洗三次并且确定放射性配体的总摄取(表面上结合PSMA的部分和内化的部分)。在用冰冷的PBS冲洗的细胞中评估内化的放射性配体的部分,随后用剥离缓冲液(100mM NaCl中0.05M甘氨酸剥离缓冲液,pH 2.8)温育10分钟并且用冰冷PBS的另外冲洗步骤。通过添加NaOH(1M,1mL)至每个孔,将细胞样品裂解。以 $\gamma$ -计数器(Perkin Elmer,Wallac Wizard 1480)测量细胞悬液的样品。在细胞悬液的匀化之后,使用Micro BCA蛋白质试验试剂盒(Pierce,Thermo Scientific),测定每个样品的蛋白质浓度。结果表示为每150 $\mu$ g/mL蛋白质的总添加的放射性的百分比。

#### [0586] 1.2结果

##### [0587] 1.2.1标记效率

[0588] 将PSMA-ALB-01和-03用比活度高达100MBq/nmol的 $^{177}\text{Lu}$ 成功地标记并且卓越的放射化学产率>98%。PSMA-ALB-04、-05、-06、-07和-08在初步测试中用比活度高达50MBq/nmol的 $^{177}\text{Lu}$ 标记并且卓越的放射化学产率>97%。用于实验的比活度(如果不另外叙述的话)为50MBq/nmol。用于体外和体内研究的化合物的放射化学纯度总是>97%(图1)。

##### [0589] 1.2.2正辛醇/PBS分配系数

[0590]  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、-03、-04和-06显示类似的正辛醇/PBS分配系数(LogD值),而 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05、-07和-08的系数指示稍微更亲水性的化合物。一般而言,数据显示白蛋白结合实体的引入与参考化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617相比,降低了亲水性,然而,所有的化合物仍为亲水性的,logD值>2.7(图2)。

##### [0591] 1.2.3白蛋白结合性能

[0592]  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、-03、-04、-05、-06和-07的超滤实验揭示了高血清蛋白质结合能力,如当在人血浆中温育时,>94%的化合物不渗透过滤器。当不存在蛋白质的PBS中温育化合物时,证明了过滤化合物的简单的可能性(图3)。与显示白蛋白结合部分为仅约44%的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617相比,所有新设计的化合物揭示了增加的血清蛋白质结合能力(图3)。

##### [0593] 1.2.4内化

[0594] 使用PC-3PIP/流感细胞,研究PSMA配体 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、-03、-04、-05、-06、-07和-08的细胞摄取和内化并且与参考化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617比较(图4)。分别在2小时或4小时,所有化合物摄取入PC-3PIP细胞(PSMA<sup>pos</sup>)与 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617相当。有趣地,在2小时和4小时的时间点,PSMA配体的内化的部分高于 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617。 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08的内化速率仍与 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617相当。PC-3流感细胞(PSMA<sup>neg</sup>)中所有放射性配体的摄取<0.5%,这证实了所有化合物的高度PSMA特异性摄取/内化。

#### [0595] 实施例2:肿瘤小鼠模型中PSMA配体的体内评估

[0596] 在体内表征 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、-03、-04、-05、-06、-07和-08。因此,将免疫缺陷Balb/c裸鼠接种PSMA<sup>pos</sup> PC-3PIP和PSMA<sup>neg</sup> PC-3流感细胞。在静脉内(i.v.)施用配体之后,进行广泛的生物分布和SPECT/CT研究。 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01-08的肿瘤摄取、肿瘤/血液比、肿瘤/肾比和肿瘤/肝比总结在图5和6中。

#### [0597] 2.1材料和方法

##### [0598] 2.1.1肿瘤小鼠模型

[0599] 小鼠获得自Charles River Laboratories,Sulzfeld,德国,5-6周龄。雌性,无胸

腺裸Balb/c小鼠在右肩皮下接种PC-3PIP细胞(在具有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的100 $\mu\text{L}$  Hank平衡盐溶液(HBSS)中 $6 \times 10^6$ 个细胞)并且在左肩皮下接种PC-3流感细胞(在100 $\mu\text{L}$  HBSS  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 中 $5 \times 10^6$ 个细胞)。两周之后,肿瘤达到适于进行生物分布和成像研究的约200-300 $\text{mm}^3$ 的尺寸。

#### [0600] 2.1.2生物分布研究

[0601] 使用在注射PSMA配体前两周接种肿瘤细胞的PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠进行生物分布研究。将放射性配体在0.9% NaCl中稀释并且以100-200 $\mu\text{L}$ 的体积i.v.注射。将小鼠在放射性配体注射后(p.i.)的不同时间点安乐死。收集选择的组织和器官、称重并且使用 $\gamma$ -计数器测量。将结果衰减校正并且列出为每克组织质量的注射活性的百分比(%IA/g)。

#### [0602] 2.1.3SPECT/CT成像研究。

[0603] 使用专用的小动物SPECT/CT相机(NanoSPECT/CTTM,Mediso Medical Imaging Systems,布达佩斯,匈牙利)进行SPECT/CT实验。PSMA配体在25MBq/nmol的比活度下标记并且在含有0.05% BSA的盐水中稀释。在注射放射性配体(25MBq,1nmol,100 $\mu\text{L}$ )之后4小时、24小时和72小时获取扫描。使用NanoSPECT/CTTM软件将数据重构并且使用VivoQuant(3.0版本,invicRO Imaging Services and Software,Boston USA)后处理。应用高斯后重构过滤器(FWHM=1mm)并且如在图像上指示的,设置放射性的规模(最小值=0.095Bq/体素至最大值=95Bq/体素)。

#### [0604] 2.1.4小鼠模型中的治疗

[0605] 在疗法研究的第0天,将具有统计学上类似体重和肿瘤体积的五组小鼠(组A至E,n=6)分别注射仅仅媒介(含有BSA0.05%的盐水;组A)、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617(组B和C)和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06(组D和E)(表2.1)。组B和D的小鼠接受2MBq的放射性配体(1nmol/小鼠),而组C和E的小鼠接受5MBq的放射性配体(1nmol/小鼠)。在12周内每隔一天,通过测量体重和肿瘤尺寸监测小鼠。当达到预先限定的终点标准时,或当在第84天研究结束时,将小鼠安乐死。相对体重(RBW)定义为 $[\text{BW}_x/\text{BW}_0]$ ,其中 $\text{BW}_x$ 为在给定的第x天按克计的体重并且 $\text{BW}_0$ 为在第0天按克计的体重。通过用数字测径器测量最长的肿瘤轴(L)和其垂直轴(W),确定肿瘤尺寸。根据公式 $[V=0.5*(L*W^2)]$ 计算肿瘤体积(V)。相对肿瘤体积(RTV)定义为 $[\text{TV}_x/\text{TV}_0]$ ,其中 $\text{TV}_x$ 为在给定的第x天按 $\text{mm}^3$ 计的肿瘤体积并且 $\text{TV}_0$ 为在第0天按 $\text{mm}^3$ 计的肿瘤体积。

#### [0606] 表2.1:疗法研究的设计

		注射的放射性 [MBq]		肿瘤的体积 <sup>b</sup> [mm <sup>3</sup> ](平 均 值±SD)	体重 <sup>b</sup> [g] (平均值 ±SD)
组	处理(n=6)	理论	测量的 <sup>a</sup> (平 均 值 ± SD)	第 0 天	第 0 天
[0607]					
A	盐水			88±21	16±1.6
B	<sup>177</sup> Lu-PSMA-617	2	2.2±0.1	103±24	16±1.2
C	<sup>177</sup> Lu-PSMA-617	5	5.7±0.4	104±25	17±0.9
D	<sup>177</sup> Lu-PSMA-ALB-56	2	2.1±0.3	81±25	15±1.3
E	<sup>177</sup> Lu-PSMA-ALB-56	5	5.4±0.5	92±34	15±1.3

[0608] <sup>a</sup>在注射各自小鼠之前和之后测量的注射器中的放射性。<sup>b</sup>在对于每个组测量的值

之间确定没有显著的差异 ( $p>0.05$ )。

[0609] 放射性核素疗法的效力表示为肿瘤生长延迟 ( $TGD_x$ )，其计算为肿瘤体积相对于在第0天的初始体积增加 $x$ 倍需要的时间。对于初始肿瘤体积的2倍 ( $x=2$ ,  $TGD_2$ ) 和5倍 ( $x=5$ ,  $TGD_5$ ) 增加, 肿瘤生长延迟指数 [ $TGDI_x = TGD_x(T) / TGD_x(C)$ ] 计算为处理的小鼠 (T) 相对于对照小鼠 (C) 的  $TGD_x$  比。作为鉴定非期望的副作用的量度, 比较当第一只对照小鼠必须安乐死时当天的体重。在安乐死之后, 收集肾、肝和脑并且称重。使用在安乐死当天获得的器官质量计算器官比 (肾与脑和肝与脑)。

[0610] 如结果部分指示的, 使用GraphPad Prism软件 (版本7), 使用单因素ANOVA和Tukey的多重比较后检验分析数据的显著性。 $p<0.05$ 的值视为统计学上显著的。用Kaplan-Meier曲线和对数秩检验 (Mantel Cox) 进行生存分析。

## [0611] 2.2结果

### [0612] 2.2.1 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03的生物分布

[0613] 在8天的时期内研究 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03的组织分布。化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-03显示高度类似的组织分布曲线 (图5A)。

[0614] 在早前时间点已经在血液库中可观察到高放射性水平, 并且随着时间的推移缓慢但稳定地清除。 $\text{PSMA}^{\text{pos}}$  PC-3PIP肿瘤中两种放射性配体的摄取都增加, 直到其达到平台期并且基本上不下降, 直到研究结束。PC-3流感肿瘤中的摄取明显低于血液水平, 这指示体内高度PSMA-特异性结合和摄取 (图5A)。 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01和-03的生物分布数据在下面表2.2和2.3中显示。

[0615] 表2.2:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-01的生物分布

		注射后 1	注射后 4	注射后 8	注射后 24	注射后 48	注射后 96
		小时	小时	小时	小时	小时	小时
[0616]	血液	29.7±4.49	25.6±1.53	21.0±2.86	14.2±1.40	12.0±2.18	6.68±0.85
	心脏	10.1±1.10	8.71±0.50	7.16±1.23	5.93±0.65	4.42±0.81	2.70±0.37
	肺	16.6±2.78	14.1±0.99	11.6±0.83	8.62±1.47	7.67±0.83	5.07±0.66
	脾	5.27±1.64	5.34±0.90	4.05±0.69	3.60±0.43	4.62±1.12	3.12±0.15
	肾	19.4±4.82	24.6±0.38	22.6±2.38	22.7±2.18	25.2±4.15	13.0±1.30
	胃	3.29±1.75	3.30±0.05	2.45±0.43	1.39±0.07	1.49±0.47	0.81±0.04
	肠	4.15±1.40	4.17±0.70	2.44±0.17	2.12±0.20	1.84±0.54	1.05±0.17
	肝	5.76±1.21	5.92±0.07	5.31±1.23	2.92±0.67	3.03±0.63	1.88±0.36
	唾液腺	5.52±1.08	5.20±0.73	4.45±0.56	3.38±0.32	3.96±0.98	2.22±0.38
	肌肉	2.22±0.88	2.06±0.80	1.63±0.27	1.34±0.14	1.35±0.46	0.82±0.12
	骨	3.15±0.47	3.01±0.09	2.54±0.26	1.58±0.06	1.64±0.34	1.07±0.22
	PC-3 PIP 肿瘤	8.98±2.77	20.4±0.39	25.5±2.02	38.2±2.59	65.6±1.84	62.3±3.56
	PC-3 流感肿瘤	3.64±2.30	5.03±1.61	4.01±0.79	3.95±0.82	4.64±1.84	2.76±0.23
	肿瘤-比-血液	0.30±0.06	0.80±0.03	1.22±0.08	2.71±0.39	5.54±0.76	9.39±0.65
	肿瘤-比-肝	1.56±0.30	3.45±0.03	4.97±1.21	13.5±2.79	22.2±4.11	33.7±4.33
	肿瘤-比-肾	0.46±0.04	0.83±0.03	1.13±0.07	1.69±0.07	2.64±0.40	4.80±0.20

	注 射 后	
	144 小时	192 小时
[0617]	血液	5.78±0.90
	心脏	2.23±0.29
	肺	4.90±0.58
	脾	4.32±0.57
	肾	10.2±3.41
	胃	0.84±0.13
	肠	1.07±0.13
	肝	1.56±0.16
	唾液腺	1.68±0.53
	肌肉	0.66±0.15
	骨	0.99±0.20
	PC-3 PIP 肿瘤	78.4±8.57
	PC-3 流感肿瘤	2.82±0.24
	肿瘤-比-血液	13.8±2.38
	肿瘤-比-肝	50.5±6.28
	肿瘤-比-肾	8.05±1.77

[0618] 表2.3:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-03的生物分布

	注 射 后					
	1 小时	4 小时	8 小时	24 小时	48 小时	96 小时
[0619]	血液	27.4±3.04	24.3±3.60	23.5±0.74	17.3±1.38	12.5±3.78
	心脏	9.64±1.21	8.54±1.18	8.12±0.46	6.60±1.01	4.40±1.18
	肺	16.6±3.29	14.21±3.49	12.21±1.32	9.86±0.57	7.45±2.06
	脾	4.63±0.56	4.76±1.12	4.10±0.14	3.75±0.21	3.79±0.89
	肾	17.8±2.49	24.5±4.38	28.8±1.49	24.7±1.85	22.6±2.69
	胃	3.19±0.95	2.86±1.03	2.92±0.17	1.39±0.27	1.49±0.48
	肠	3.70±0.73	3.71±1.09	3.70±0.40	2.19±0.23	1.73±0.50
	肝	5.81±2.65	4.56±1.18	4.87±0.42	3.35±0.26	2.53±0.77
	唾液腺	5.60±0.70	5.02±1.17	5.49±0.59	4.69±0.33	3.45±1.09
	肌肉	1.91±0.16	2.04±0.37	2.01±0.10	1.61±0.18	1.32±0.41
	骨	2.82±0.41	2.47 ±0.39	2.71±0.21	2.02±0.31	1.63±0.56
	PC-3 PIP 肿瘤	8.49±0.62	19.9±0.79	31.0±5.79	53.8±5.61	72.3±24.7
	PC-3 流感肿瘤	3.84±1.10	5.32±1.06	5.98±0.91	5.47±0.67	5.69±3.65
	肿瘤-比-血液	0.31±0.04	0.83±0.10	1.32±0.29	3.13±0.35	5.94±1.53
	肿瘤-比-肝	1.64±0.61	4.60±1.34	6.38±1.28	16.1±1.75	29.0±5.26
	肿瘤-比-肾	0.48±0.07	0.83±0.14	1.07±0.18	2.17±0.06	3.17±0.84



	注射后 144 小时	
	144 小时	192 小时
[0620]	血液	6.02±0.60
	心脏	2.55±0.25
	肺	4.99±1.00
	脾	2.94±0.39
	肾	11.2±3.82
	胃	0.73±0.10
	肠	0.88±0.18
	肝	1.50±0.14
	唾液腺	1.67±0.27
	肌肉	0.54±0.07
	骨	1.14±0.23
	PC-3 PIP 肿瘤	68.9±8.80
	PC-3 流感肿瘤	2.77±0.41
	肿瘤-比-血液	11.4±0.47
	肿瘤-比-肝	46.0±2.53
	肿瘤-比-肾	6.44±1.27

[0621] 2.2.2  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05的生物分布

[0622] 在8天的时期内研究 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05的组织分布(图5B)。注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04的动物中血液活性水平在早期的时间点非常高并且迄今仍最高。观察到了高的PSMA<sup>pos</sup> PC-3PIP肿瘤积聚,其朝着研究结束稍微降低。PSMA<sup>neg</sup> PC-3流感肿瘤和其他非靶标器官中的积聚活性明显低于血液水平,这指示体内高度的PSMA-特异性结合和摄取。

[0623] 注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05的动物的血库中的高水平快速降低并且在低水平下保持稳定,直到研究结束。在注射 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05的小鼠的PSMA<sup>pos</sup> PC-3PIP肿瘤中可观察到放射性的最高摄取,其随后从肿瘤组织稳定洗脱(wash-out)。PC-3流感肿瘤和其他组织中的摄取明显低于血液水平,这指示体内PSMA-特异性结合和摄取。 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04和-05的生物分布数据显示在下面表2.4和2.5中。

[0624] 表2.4:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-04的生物分布

	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 8 小时	注 射 后 24 小时	注射后 48 小时	注射后 96 小时	
[0625]	血液	46.7±9.64	n/d	n/d	55.3±3.10	38.2±1.48	11.65±1.22
	心脏	16.4±5.71	n/d	n/d	22.1±3.70	13.6±0.36	4.81±0.29
	肺	25.6±4.59	n/d	n/d	40.1±7.77	24.6±2.02	9.96±1.44
	脾	11.0±3.56	n/d	n/d	13.6±1.90	14.0±1.70	6.76±0.59
	肾	17.8±4.49	n/d	n/d	41.5±1.44	38.2±4.10	15.3±1.49
	胃	4.01±0.62	n/d	n/d	6.18±0.95	5.04±0.35	1.74±0.11
	肠	6.22±1.11	n/d	n/d	8.13±1.31	7.27±0.82	2.36±0.17
	肝	29.3±9.10	n/d	n/d	17.6±2.04	13.1±0.67	4.67±0.82
	唾液腺	9.93±2.33	n/d	n/d	12.5±0.42	10.6±0.42	4.08±0.44
	肌肉	1.96±0.40	n/d	n/d	5.82±1.62	4.62±0.38	1.56±0.56
	骨	4.74±1.31	n/d	n/d	8.88±0.19	6.80±0.67	2.54±0.31
	PC-3 PIP 肿 瘤	9.56±2.71	n/d	n/d	82.8±6.84	93.2±12.4	61.4±7.68
	PC-3 流 感 肿瘤	3.46±2.66	n/d	n/d	14.0±0.60	12.6±0.82	5.63±0.37
肿瘤-比-血 液	0.20±0.02	n/d	n/d	1.50±0.11	2.45±0.41	5.29±0.74	
肿瘤-比-肝	0.33±0.06	n/d	n/d	4.76±0.67	7.16±1.16	13.4±2.88	
肿瘤-比-肾	0.54±0.09	n/d	n/d	2.00±0.11	2.47±0.50	4.03±0.56	

	注射后 144 小时	注射后 192 小时
[0626]	n/d	3.75±1.49
	n/d	1.73±0.70
	n/d	4.10±1.77
	n/d	5.22±3.17
	n/d	8.82±3.83
	n/d	0.56±0.19
[0627]	n/d	0.67±0.15
	n/d	2.45±0.81
	n/d	1.96±0.73
	n/d	0.71±0.54
	n/d	1.17±0.61
	n/d	57.6±17.3
	n/d	3.31±1.43
	n/d	15.8±3.55
	n/d	23.9±5.12
	n/d	6.91±2.24

[0628] 表2.5:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-05的生物分布

	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 8 小时	注射后 24 小时	注射后 48 小时	注射后 96 小时
[0629] 血液	21.3±6.06	10.2±1.98	n/d	1.67±0.29	1.66±0.37	1.79±0.57
心脏	7.56±1.89	3.82±0.63	n/d	0.65±0.11	0.54±0.15	0.70±0.21
肺	15.0±1.24	7.07±1.44	n/d	1.80±0.78	1.48±0.62	1.36±0.29
脾	5.78±1.40	3.29±0.74	n/d	1.13±0.23	0.71±0.23	0.64±0.29
肾	59.3±1.38	52.8±7.17	n/d	23.9±4.02	12.8±2.62	6.89±0.31
胃	2.04±0.43	1.15±0.17	n/d	0.28±0.06	0.29±0.08	0.24±0.07
肠	2.71±0.40	1.33±0.25	n/d	0.28±0.05	0.28±0.10	0.30±0.11
肝	5.69±1.59	2.96±0.50	n/d	0.82±0.35	0.56±0.16	0.74±0.14
唾液腺	6.17±2.12	2.75±0.72	n/d	0.49±0.10	0.45±0.10	0.46±0.10
肌肉	2.36±1.01	1.30±0.23	n/d	0.19±0.06	0.20±0.08	0.15±0.06
骨	3.03±0.52	1.67±0.27	n/d	0.31±0.08	0.28±0.05	0.28±0.04
PC-3 PIP 肿瘤	46.9±0.43	75.3±15.3	n/d	79.4±11.1	60.3±10.7	45.0±7.94
PC-3 流感肿瘤	3.72±0.83	2.10±0.20	n/d	0.59±0.10	0.57±0.09	0.49±0.11
肿瘤-比-血液	2.31±0.58	7.43±1.43	n/d	48.2±7.04	36.7±1.81	27.1±10.0
肿瘤-比-肝	8.65±2.21	25.6±4.58	n/d	106±28.6	110±12.2	62.8±18.8
肿瘤-比-肾	0.79±0.02	1.42±0.19	n/d	3.38±0.58	4.72±0.18	6.51±0.98
	注射后 144 小时	注射后 192 小时				
[0630] 血液	1.75±0.35	1.48±0.13				
心脏	0.65±0.17	0.59±0.05				
肺	1.25±0.18	1.22±0.26				
脾	0.56±0.08	0.55±0.10				
肾	4.28±0.26	2.70±0.36				
胃	0.23±0.04	0.16±0.04				
肠	0.27±0.05	0.24±0.04				
肝	0.72±0.13	0.84±0.06				
唾液腺	0.46±0.09	0.37±0.04				
肌肉	0.17±0.04	0.14±0.01				
骨	0.25±0.05	0.26±0.04				
PC-3 PIP 肿瘤	33.9±0.80	27.9±3.24				
[0631] PC-3 流感肿瘤	0.52±0.13	0.45±0.06				
肿瘤-比-血液	19.9±3.88	19.0±2.97				
肿瘤-比-肝	47.9±8.28	33.4±1.64				
肿瘤-比-肾	7.93±0.30	10.4±0.25				

[0632] 2.2.3  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-08的生物分布注射后至多三天,研究 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06、-07和-08的组织分布(图5C)。

[0633] 所有化合物的血液活性水平快速降低并且贯穿整个研究相当。对于化合物 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06,观察到最高的PSMA<sup>pos</sup> PC-3PIP肿瘤积聚,其朝着研究结束时稍微降低。PSMA<sup>neg</sup> PC-3流感肿瘤和其他非靶标器官中的积聚活性低于血液水平,这指示所有测试的

化合物的体内PSMA-特异性结合和摄取。 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06、-07和-08的生物分布数据在下面表2.6、2.7和2.8中显示。

[0634] 表2.6:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06的生物分布

	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 8 小时	注射后 24 小时	注射后 48 小时	注射后 72 小时
血液	n/d	16.2±1.40	n/d	1.49±0.50	n/d	0.62±0.06
心脏	n/d	5.41±0.82	n/d	0.68±0.18	n/d	0.26±0.02
肺	n/d	9.40±1.55	n/d	2.48±2.68	n/d	0.67±0.05
脾	n/d	3.14±0.29	n/d	0.76±0.18	n/d	0.53±0.02
肾	n/d	18.9±0.77	n/d	10.5±2.13	n/d	5.58±0.62
胃	n/d	1.89±0.19	n/d	0.28±0.07	n/d	0.13±0.02
肠	n/d	2.64±0.27	n/d	0.30±0.06	n/d	0.15±0.00
肝	n/d	3.45±1.50	n/d	0.50±0.11	n/d	0.28±0.02
唾液腺	n/d	3.26±0.16	n/d	0.52±0.11	n/d	0.24±0.03
肌肉	n/d	1.60±0.38	n/d	0.21±0.04	n/d	0.07±0.02
骨	n/d	2.23±0.08	n/d	0.41±0.15	n/d	0.18±0.01
PC-3 PIP 肿瘤	n/d	76.08±7.67	n/d	108±11.6	n/d	77.9±7.52
PC-3 流感肿瘤	n/d	3.16±0.39	n/d	0.79±0.23	n/d	0.43±0.03
肿瘤-比-血液	n/d	4.72±0.51	n/d	77.6±21.8	n/d	127±24.9
肿瘤-比-肝	n/d	24.29±8.27	n/d	222±49.5	n/d	277±19.3
肿瘤-比-肾	n/d	4.02±0.25	n/d	10.4±1.16	n/d	14.1±2.02

	注射后 96 小时	注射后 192 小时
血液	n/d	n/d
心脏	n/d	n/d
肺	n/d	n/d
脾	n/d	n/d
肾	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
肠	n/d	n/d
肝	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
肌肉	n/d	n/d
骨	n/d	n/d
PC-3 PIP 肿瘤	n/d	n/d
PC-3 流感肿瘤	n/d	n/d
肿瘤-比-血液	n/d	n/d
肿瘤-比-肝	n/d	n/d
肿瘤-比-肾	n/d	n/d

[0638] (n/d=未测定)

[0639] 表2.7:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07的生物分布

	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 8 小时	注射后 24 小时	注射后 72 小时	注射后 96 小时
血液	n/d	6.67±2.04	n/d	0.79±0.08	0.40±0.06	n/d
心脏	n/d	2.43±0.78	n/d	0.40±0.00	0.21±0.01	n/d
肺	n/d	4.67±0.92	n/d	0.73±0.06	0.43±0.02	n/d
脾	n/d	3.41±1.46	n/d	1.14±0.04	0.49±0.03	n/d
肾	n/d	67.0±9.50	n/d	51.9±6.34	26.0±1.58	n/d
胃	n/d	1.09±0.30	n/d	0.18±0.06	0.10±0.01	n/d
肠	n/d	1.27±0.45	n/d	0.20±0.03	0.10±0.01	n/d
肝	n/d	1.94±1.02	n/d	0.52±0.04	0.44±0.08	n/d
唾液腺	n/d	2.09±0.50	n/d	0.43±0.04	0.21±0.01	n/d
[0640] 肌肉	n/d	0.78±0.22	n/d	0.13±0.01	0.08±0.01	n/d
骨	n/d	1.30±0.27	n/d	0.31±0.10	0.31±0.06	n/d
PC-3 PIP 肿瘤	n/d	63.5±27.4	n/d	84.6±14.2	62.6±6.35	n/d
PC-3 流感肿瘤	n/d	1.80±0.27	n/d	0.80±0.17	0.43±0.04	n/d
肿瘤-比-血液	n/d	9327±1.75	n/d	107±12.2	160±37.0	n/d
肿瘤-比-肝	n/d	33.6±6.56	n/d	162±17.3	147±38.4	n/d
肿瘤-比-肾	n/d	0.88±0.28	n/d	1.64±0.29	2.41±0.18	n/d

	注射后 144 小时	注射后 192 小时
[0641] 血液	n/d	n/d
心脏	n/d	n/d
肺	n/d	n/d
脾	n/d	n/d
肾	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
肠	n/d	n/d
肝	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
肌肉	n/d	n/d
[0642] 骨	n/d	n/d
PC-3 PIP 肿瘤	n/d	n/d
PC-3 流感肿瘤	n/d	n/d
肿瘤-比-血液	n/d	n/d
肿瘤-比-肝	n/d	n/d
肿瘤-比-肾	n/d	n/d

[0643] (n/d=未测定)

[0644] 表2.8:PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-08的生物分布

	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 8 小时	注射后 24 小时	注射后 72 小时	注射后 96 小时
血液	n/d	0.41±0.18	n/d	0.08±0.01	0.06±0.02	n/d
心脏	n/d	0.19±0.07	n/d	0.04±0.01	0.03±0.01	n/d
肺	n/d	0.48±0.21	n/d	0.09±0.02	1.28±2.02	n/d
脾	n/d	0.53±0.10	n/d	0.10±0.03	0.11±0.05	n/d
肾	n/d	27.2±5.93	n/d	13.9±2.32	7.98±0.62	n/d
胃	n/d	0.40±0.25	n/d	0.03±0.01	0.02±0.01	n/d
肠	n/d	0.20±0.09	n/d	0.03±0.01	0.02±0.01	n/d
肝	n/d	0.27±0.10	n/d	0.11±0.02	0.12±0.01	n/d
[0645] 唾液腺	n/d	0.19±0.06	n/d	0.07±0.05	0.03±0.02	n/d
肌肉	n/d	0.06±0.03	n/d	0.02±0.01	0.01±0.01	n/d
骨	n/d	0.16±0.03	n/d	0.07±0.02	0.09±0.05	n/d
PC-3 PIP 肿瘤	n/d	46.9±16.7	n/d	33.0±5.04	24.1±5.37	n/d
PC-3 流感肿瘤	n/d	0.25±0.19	n/d	0.09±0.05	0.09±0.07	n/d
肿瘤-比-血液	n/d	116±9.46	n/d	421±45.7	416±89.5	n/d
肿瘤-比-肝	n/d	177±2.72	n/d	295±40.1	207±47.1	n/d
肿瘤-比-肾	n/d	1.70±0.22	n/d	2.39±0.24	3.02±0.68	n/d

	注射后 144 小时	注射后 192 小时
血液	n/d	n/d
心脏	n/d	n/d
[0646] 肺	n/d	n/d
脾	n/d	n/d
肾	n/d	n/d
胃	n/d	n/d
肠	n/d	n/d
肝	n/d	n/d
唾液腺	n/d	n/d
肌肉	n/d	n/d
骨	n/d	n/d
[0647] PC-3 PIP 肿瘤	n/d	n/d
PC-3 流感肿瘤	n/d	n/d
肿瘤-比-血液	n/d	n/d
肿瘤-比-肝	n/d	n/d
肿瘤-比-肾	n/d	n/d

[0648] (n/d=未测定)

[0649] 2.2.4SPECT/CT成像研究。

[0650] 在注射<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-03和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-06之后的不同时间点进行PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠的SPECT/CT成像。<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-03和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-06的精确注射活性分别为25MBq和23MBq。<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-03和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-06的体内行为的有利方面显示在图26中。

## [0651] 2.2.5小鼠模型中的治疗

[0652] 随着时间的推移,对照小鼠(组A)显示恒定的肿瘤生长,其与用低活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617处理的小鼠的肿瘤生长(组B:2MBq/小鼠)相当。因此,组B的小鼠的肿瘤生长延迟指数( $\text{TGDI}_2=0.8$ ,  $\text{TGDI}_5=1.4$ ,表2.9)与其中TGDI定义为1的对照动物的值类似。第一对照小鼠在第16天达到终点,而在组B中,一只小鼠不得不已经在第12天安乐死(表2.9)。当使用更高活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617(组C:5MBq/小鼠)或低活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06(组D:2MBq/小鼠)时,小鼠被有效地处理。 $\text{TGDI}_2$ 和 $\text{TGDI}_5$ 对于两个组(组C和D)的小鼠类似,并且从而,小鼠不得不在相同的时间范围内安乐死(组C:第26天至第40天;组D:第28天至第44天;数据未显示)。在用更高活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06处理的小鼠(组E:5MBq/小鼠)中,有效抑制了肿瘤生长。在组E的四只小鼠中,肿瘤完全消失并且直到在第84天研究结束时,也未观察到再生长。

[0653] 表2.9: $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617的肿瘤生长抑制(TGI)和具有x倍增加的肿瘤尺寸的肿瘤生长延迟指数( $\text{TGDI}_x$ )

	组	处理组	安乐死的组中第一只小鼠[d]	中值存活[d]	$\text{TGDI}_2$	$\text{TGDI}_5$
[0654]	A	盐水	16	18	$1.0 \pm 0.8$	$1.0 \pm 0.1$
	B	$^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617	12	19	$0.8 \pm 0.3$	$1.4 \pm 0.1$
	C	$^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617	26	32	$2.1 \pm 0.3$	$2.5 \pm 0.3$
	D	$^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-56	28	36	$1.8 \pm 0.5$	$2.3 \pm 0.6$
	E	$^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-56	58	n.d. <sup>a</sup>	n.d. <sup>a</sup>	n.d. <sup>a</sup>

[0655] n.d.<sup>a</sup>未限定,因为研究结束时,小鼠仍活着。

[0656] 接受更高活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617或低活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06的小鼠显示显著增加的中值生存(组C:第32天,组D:第36天,表2.9,图27)。在第84天研究结束时,用更高活性的 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-06处理的四只小鼠(组E)仍是活的,并且,因此,对于该组,中值生存时间仍未限定。

## [0657] 实施例3:PSMA配体的临床评估

## [0658] 3.1:案例1

[0659] 用治疗性放射性核素镥- $^{177}$ 放射性标记的化合物PSMA-ALB-06用于患有广泛性双叶肝转移以及播散性成骨细胞转移(在骨盆区域中)和多灶性淋巴结转移(polytopic voluminous lymph node metastase)的轻度分化前列腺腺癌患者的个体防治试验的范围中。通过SPECT-CT测量对放射性标记的化合物PSMA-ALB-06的生物分布和体内行为进行评估。

[0660] 在注射后(p.i.)长达46小时的不同时间点进行SPECT-CT可视化。放射性标记的化合物PSMA-ABL-06表现出延长的血液循环和改善的生物利用度(图7)。血液清除会在最初的几小时之内完成,而健康器官(尤其是肝脏、唾液腺和肾)的非特异性摄取在这段时间内保持中等的。SPECT-CT指示放射性标记化合物在恶性组织中的大量特异性摄取(图8)。

[0661] 这些最初的人体内结果证实了该化合物的改善的药代动力学特性的临床前发现,这表明该化合物用于治疗PSMA阳性肿瘤的潜力。

[0662] 3.2:案例2:

[0663] 用正电子发射放射性核素镱68放射性标记的化合物PSMA-ALB-06在患有转移性去势抗性前列腺癌的患者中的个体防治试验中用作PET-CT的诊断剂。通过PET可以以高特异性可视化恶性组织,而脱靶的健康器官中的背景放射性保持中等的(图9)。图像的高对比度在注射后随时间增加,这证实了延长的血液清除和肿瘤中的高特异性摄取。

[0664] 实施例4:PSMA配体与<sup>44</sup>Sc组合用于PET成像的研究

[0665] 4.1 <sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB的生物分布数据

[0666] 如先前报告,在PSI的2号注射器设备上产生<sup>44</sup>Sc<sup>2</sup>。如先前由我们小组报告的,使用临床上建立的PSMA-617配体对PSMA-ALB-06进行了放射性标记<sup>5</sup>。在带有PSMA-阳性PC-3PIP肿瘤细胞(右肩)和PSMA-阴性PC-3流感肿瘤(左肩)的雌性Balb/c裸鼠中获得生物分布研究。出于该目的,在注射放射性配体之前12-14天,给小鼠接种肿瘤细胞。将小鼠安乐死,并在注射后(p.i.)1小时、4小时和6小时解剖(图10A,表4.1)。屏蔽室(Cave):在6小时内研究了<sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06,而在注射后24小时的时间段内数据对于<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-06可用(图10B)。

[0667] 表4.1:在PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠中<sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06的生物分布数据。



44Sc-PSMA-ALB-06			
	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 6 小时
[0668]	血液	26.6±2.82	18.4±1.00
	心脏	8.91±0.22	6.48±0.50
	肺	14.8±2.41	11.17±0.66
	脾	4.86±0.76	4.10±0.54
	肾	32.9±4.35	28.8±2.46
	胃	2.68±0.34	1.91±0.16
	肠	3.30±0.59	2.50±0.13
	肝	5.86±0.67	3.51±0.44
	肌肉	3.06±0.34	2.24±0.10
	骨	3.59±0.91	2.50±0.35
	唾液腺	5.83±0.28	4.55±0.41
	PC-3 PIP 肿瘤	25.3±5.91	61.7±7.32
	PC-3 流感肿瘤	5.02±1.23	4.37±0.43
	肿瘤-比-血液	0.94±0.11	3.35±0.20
	肿瘤-比-肝	4.28±0.52	17.93±3.32
	肿瘤-比-肾	0.77±0.12	2.14±0.15

#### [0669] 4.2 3. 注射<sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06的小鼠的PET/CT成像

[0670] 如先前由我们组所报告的, PET/CT实验使用小动物的PET/CT相机(G8, Perkin Elmer, U.S.)进行<sup>5</sup>。在注射5MBq <sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06之后1小时、4小时和20小时拍摄图像。图11显示了以相同比例制作的扫描。使用调整后的比例制作其他图像, 以使器官和组织尽可能清晰可见。图12显示了在1小时后的扫描, 此时放射性主要在血液中循环, 而尚未明确地在PSMA阳性肿瘤中积累。

[0671] 图13以调整的比例显示了注射后20小时的扫描。因此, 有可能使肿瘤很好地可见, 而背景活性已被大体上排出(excreted)。

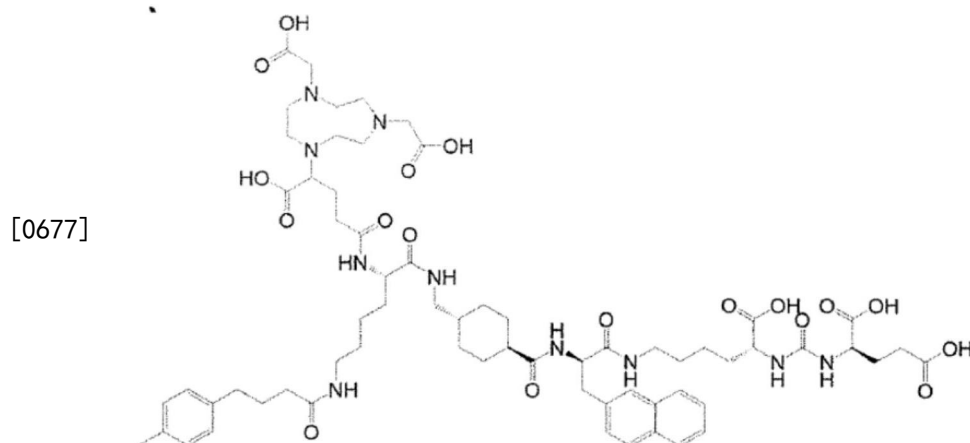
#### [0672] 4.3 结论

[0673] 用至少5MBq/nmol的比活度的<sup>44</sup>Sc成功地进行PSMA-ALB-06的标记。所得的生物分布研究和PET成像结果指示<sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06与先前对<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-06所确定的类似的特性。由于<sup>44</sup>Sc-PSMA-ALB-06的高度肿瘤摄取, 认为当排出背景活性时, 对于在稍晚的时间点(注射后>4小时)成像甚至小的病变, 这种放射性配体可能是有用的工具。这种方法的临床翻译似乎是最有前途的, 并且应该是接下来的步骤之一, 以便确认所提出的概念的潜力。

[0674] 实施例5:NODAGA官能化的白蛋白结合PSMA配体的设计和临床前评估

[0675] 设计了一种适用于铜的稳定络合的长循环PSMA靶向剂,其实现了前列腺癌在延迟时间点的PET成像。因此,将PSMA-ALB-06的DOTA-螯合剂用NODAGA-螯合剂替换以获得PSMA-ALB-89。用 $^{64}\text{Cu}$ 标记PSMA-ALB-89和PSMA-ALB-06,并测试其辐射分解稳定性、与血清白蛋白的结合以及摄取入PSMA-阳性PC-3PIP和PSMA-阴性PC-3流感肿瘤细胞。在PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠内进行了生物分布和PET/CT成像研究。

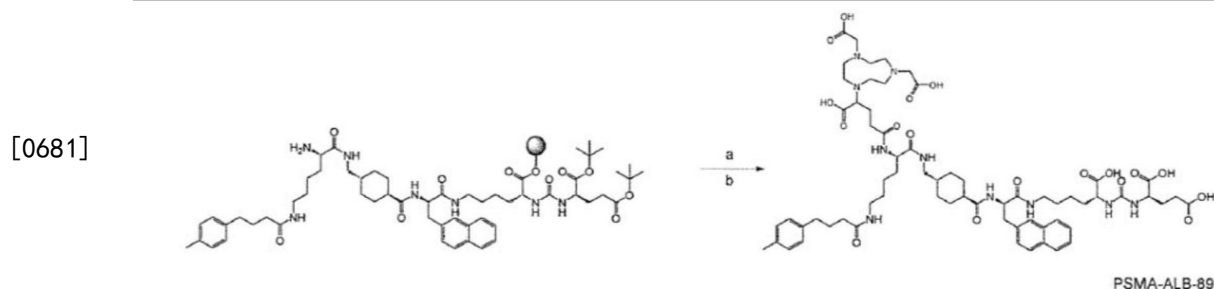
[0676] 如下显示了PSMA-ALB-89的结构式:



#### [0678] 5.1材料和方法

[0679] PSMA-配体的固相合成。使用先前针对PSMA-ALB-06 (参见实施例1) 报告的固相平台合成NODAGA-官能化的PSMA配体,称为PSMA-ALB-89。唯一的区别涉及在合成的最后一步中螯合剂的缀合(方案5.1)。在存在4当量N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)的情况下在无水N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,用2.97当量O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)活化的3当量NODAGA-三(叔丁基)酯[4-(4,7-双(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7-三氮杂环壬烷-1-基)-5(叔丁氧基)-5-氧戊酸]进行缀合。在缓慢搅拌下,在3小时的时程内进行NODAGA螯合剂的偶联。最终产物从树脂裂解,并且随后使用由比例为95:2.5:2.5 (v/v) 的三氟乙酸(TFA)、三异丙基硅烷(TIPS)和 $\text{H}_2\text{O}$ 组成的混合物在2小时内脱保护。

[0680] 方案5.1:NODAGA-官能化的PSMA配体的合成



[0682] a) NODAGA三(tBu)酯、HBTU、DIPEA、DMF; b) TFA:TIPS: $\text{H}_2\text{O}$  95:2.5:2.5

[0683] 放射性标记和稳定性。在PSI的研究回旋加速器2号注射器上,经由 $^{64}\text{Ni}$  (p,n)  $^{64}\text{Cu}$ 核反应产生 $^{64}\text{Cu}$   $^{28}$ 。将PSMA-ALB-89和PSMA-ALB-06溶解在包含高达5.5%乙酸钠(0.5M, pH 8)的MilliQ水中以制备1mM储备溶液。在pH 5的乙酸钠(0.5M)和HCl(0.05M)的混合物中,以5-50MBq/nmol之间的比活度用 $^{64}\text{Cu}$ 标记PSMA配体。将反应混合物在95℃下温育15分钟。使用

RP-HPLC进行放射性配体的质量控制。放射性配体被用于体外和体内实验,而无需进一步纯化步骤。

[0684] 在制备后立即( $t=0$ 小时)使用RP-HPLC测定 $^{64}\text{Cu}$ -标记的PSMA配体(250MBq在120 $\mu\text{L}$ 中;50MBq/nmol)的质量控制。将反应混合物在盐水中稀释至250MBq/500 $\mu\text{L}$ 的活性浓度,并且在室温下温育。在一天之内(分别为 $t=1$ 小时、4小时和24小时)研究化合物的完整性。完整的放射性配体的量通过关于设置为100%的未知结构的降解产物和痕量的释放 $^{64}\text{Cu}$ 的所有放射性峰的总和将HPLC色谱图的产物峰积分来定量。

[0685] 正辛醇/PBS分配系数(LogD值)的测定。通过使用液液萃取的摇瓶法,随后如先前所报告的相分离来测定 $^{64}\text{Cu}$ -标记的放射性配体(50MBq/nmol)的分配系数(logD值)。每个放射性配体进行三个实验,每个实验重复五次。使用未配对的t检验(GraphPad Prism软件,版本7)评估数据的统计学显著性( $p<0.05$ )。

[0686] 白蛋白结合特性的测定。通过超滤试验测定放射性配体与人血浆蛋白的结合。如先前所报告的,将 $^{64}\text{Cu}$ -标记的PSMA-配体(5-50MBq,0.01nmol)在不同稀释度的人血浆(Stiftung Blutspende SRK Aargau-Solothurn,瑞士)或PBS(作为对照实验)中稀释。使用两种放射性配体一式两份进行三个独立的实验,并将数据拟合到半对数图(非线性回归,一个位点(one-site),特异性结合),以在GraphPad Prism软件(版本7)中获得半最大结合(half maximum binding) ( $B_{50}$ )。

[0687] 细胞摄取和内化。使用PSMA-阳性PC-3PIP和PSMA-阴性PC-3流感细胞测定放射性配体(5MBq/nmol)的细胞摄取(表面结合和内化部分的总和)和内化。。

[0688] 体内研究。体内实验已由当地兽医部门批准,并根据瑞士动物保护法进行。所有小鼠均在5-6周时由查尔斯河实验室(Charles River Laboratories)(Sulzfeld,德国)获得。雌性,在进行实验之前12-14天,将无胸腺BALB/c裸鼠在右肩皮下接种PC-3PIP细胞(在具有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的100 $\mu\text{L}$  Hank's平衡盐溶液(HBSS)中 $6\times 10^6$ 个细胞)和在左肩皮下接种PC-3流感细胞(在具有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的100 $\mu\text{L}$  HBSS中 $5\times 10^6$ 个细胞)。

[0689] 生物分布研究。将小鼠用在含0.05%BSA的盐水中稀释的各自的放射性配体(5MBq,1nmol,100 $\mu\text{L}$ )注射入尾侧静脉。在注射后(p.i.)1小时、4小时和24小时处死小鼠,并收集选定的组织和器官,称重并使用 $\gamma$ -计数器进行测量。每个时间点使用成组4-6只小鼠。结果被衰减校正,并且列出为每克组织质量的注射活性的百分比(%IA/g)。数据呈现为平均值 $\pm$ 标准偏差(SD)。使用GraphPad Prism软件(版本7),使用单因素ANOVA和Bonferroni的多重比较后检验分析数据集的显著性。 $<0.05$ 的p-值被视为统计学上显著的。

[0690] PET/CT成像研究。在注射放射性配体(5MBq/1nmol)之后1小时、4小时和24小时进行PET/CT实验。将小鼠用在含有0.05%BSA的盐水中稀释的各自的放射性配体(5MBq,1nmol,100 $\mu\text{L}$ )注射入尾侧静脉。如先前所报告的,使用小动物PET/CT扫描仪(G8,Perkin Elmer,Massachusetts,美国)进行PET/CT扫描。PET扫描持续10分钟,并且随后CT扫描持续1.5分钟。在体内扫描期间,用异氟烷和氧气的混合物麻醉小鼠。使用G8扫描仪提供商的软件对获取的数据进行重构。所有图像均使用VivoQuant后处理软件(3.0版本,invivo Imaging Services and Software,Boston USA)制作。通过切割较低比例的2%来制作图像,以使肿瘤、肝脏和肾最佳可见。

[0691] 5.2结果

[0692] PSMA配体的合成。类似于PSMA-ALB-06的合成(实施例1),使用固相载体来合成PSMA-ALB-89。代替缀合DOTA-螯合剂,使用NODAGA-螯合剂(方案5.1)。在半制备的HPLC纯化之后,该多步合成(17个步骤)产生高纯度的化合物(>98%),总产率为8.7%。

[0693]  $^{64}\text{Cu}$ -标记的PSMA配体的放射性标记、稳定性和体外特性。PSMA-ALB-89和PSMA-ALB-06用 $^{64}\text{Cu}$ 标记,比活度高达50MBq/nmol。放射性配体显示高的放射化学纯度(>98%)和类似的保留时间(~11分钟)。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06在至少4小时的时间段内是稳定的(>92%)。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的正辛醇/PBS分配系数(logD值)( $-2.3 \pm 0.7$ )略微高于 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06的logD值( $-3.1 \pm 0.1$ ),但是不是显著性的( $p > 0.05$ )。

[0694] 白蛋白结合特性。当在人血浆中温育时, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06显示出与血浆蛋白类似的结合(>92%)。在[HSA]-比-[放射性配体]比为454时,达到 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的半最大结合( $B_{50}$ )。这表明当与在[HSA]-比-[放射性配体]比为770时达到半最大结合的 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89相比时略微增加的结合(图14)。

[0695] 细胞摄取和内化。在37℃下温育2小时后, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89在PC-3PIP细胞内的细胞摄取为~46%,并且内化的部分为~14%。在4小时温育时间之后,细胞摄取略微增加(~52%),而内化的部分保持不变(~14%)。对于 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06,测定了相似值(图15A)。两种放射性配体在PC-3流感细胞中的摄取均低于0.5%,表明PSMA特异性细胞摄取(图15B)。

[0696] 生物分布研究。在24小时的时间段内在肿瘤荷载小鼠内评估 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的组织分布图(图16,表5.1)。观察到随着时间的推移血库活性快速降低(在注射后24小时分别为<3.2% IA/g和<1.4% IA/g)。注射后不久PC-3PIP肿瘤中 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的积聚就已经很高(在注射后1小时为 $25.9 \pm 3.41\%$  IA/g),并在朝向研究结束时增加(在注射后24小时为 $97.1 \pm 7.01\%$  IA/g)。在不表达PSMA的PC-3流感肿瘤中,放射性的积聚通常低于血液水平。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的肝脏摄取模式揭示放射性水平在血液活性水平或更低的范围内(图17)。

[0697] 在注射 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89之后,随着时间的推移,肿瘤-比-肾的比增加,但是该值相当低。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的肿瘤-比-肝的比是高的。随着时间的推移,在注射后24小时肿瘤-比-肌肉的比增加至 $200 \pm 38.2$ 。

[0698] 表5.1: $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06的肿瘤-比-背景的比

$^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89				
	注射后 1 小时	注射后 4 小时	注射后 24 小时	
[0699]	肿瘤-比-血液*	$0.91 \pm 0.02$	$3.61 \pm 0.30$	$31.3 \pm 3.82$
	肿瘤-比-肌肉	$9.0 \pm 1.13$	$36.3 \pm 2.25$	$200 \pm 38.2$
	肿瘤-比-肾	$0.40 \pm 0.02$	$0.70 \pm 0.04$	$2.68 \pm 0.36$
	肿瘤-比-肝	$3.37 \pm 0.31$	$13.3 \pm 1.20$	$23.6 \pm 3.37$

[0700] \*对于所有的肿瘤-比-器官的比:肿瘤=PSMA-阳性PC-3PIP肿瘤

[0701] PECT/CT成像研究。在注射 $^{64}\text{Cu}$ 标记的放射性配体后的不同时间点,用PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠在24小时的时间段内进行PET/CT扫描(图17)。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89在PSMA阳性肿瘤异种移植物(PC-3PIP肿瘤)中积聚到显著程度,而在PSMA阴性肿瘤(PC-3流感肿瘤)中未观察到摄取。目视检查揭示在注射后16小时,积聚的放射性配体的肿瘤比肾的比明显

大于1,并随时间推移进一步增加。在注射后1小时拍摄的图像中可以清楚地看到器官和组织中源于血液中的放射性的背景信号。

#### [0702] 5.3讨论

[0703] 在这项工作中,合成了用 $^{64}\text{Cu}$ 标记的长循环PSMA配体,使得甚至在放射性配体应用后一天也可以实现PET。如先前针对PSMA-ALB-06所描述的,合成PSMA-ALB-89,然而,如我们小组先前对其他靶向剂所进行的,代替DOTA-螯合剂,而是采用NODAGA螯合剂。

[0704] PSMA-ALB-89可以以高比活度和放射化学纯度(50MBq/nmol; $>95\%$ )用 $^{64}\text{Cu}$ 可再现地放射性标记,这表明高质量的合成配体,以及在PSI内部生产的 $^{64}\text{Cu}$ 的优异的放射化学纯度。在体外, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06在室温下温育几小时后均稳定,在24小时后仅检测到有限的降解。这些结果表明,NODAGA和DOTA螯合剂在体外均与 $^{64}\text{Cu}$ 形成稳定的配合物。

[0705] 当在体外测试时, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的白蛋白结合特性与 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06在相同的范围内。PSMA的结合特异性不受不同螯合剂的影响,如通过对于 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89和 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-06体外观察到的相似的细胞结合和内化部分所证明的。

[0706] 在使用PSMA阳性和PSMA阴性肿瘤的良好建立的异种移植小鼠模型中获得的生物分布数据显示,在所有研究的时间点, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的肿瘤摄取均显著增加,这可能是由于更长的血液循环时间。仅在研究结束时(注射后24小时)才达到 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的最大肿瘤摄取。PET/CT图像证实了对于高的肿瘤摄取和肝脏中减少的积聚, $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的良好组织分布图有关。低的肝摄取是重要的,因为前列腺癌可能会导致肝转移,否则其可能会被非特异性放射性积聚所掩盖。

#### [0707] 5.4结论

[0708] 在该实施例中,将PSMA-ALB-06的DOTA螯合剂替换为NODAGA螯合剂,以实现 $^{64}\text{Cu}$ 的稳定配位以进行PET成像。 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89显示出增加的体内稳定性,这通过 $^{64}\text{Cu}$ -PSMA-ALB-89的增加的肿瘤积聚和减少的肝脏保留来体现。

[0709] 实施例6:进一步DOTA-官能化的PSMA-结合配体的设计和评估

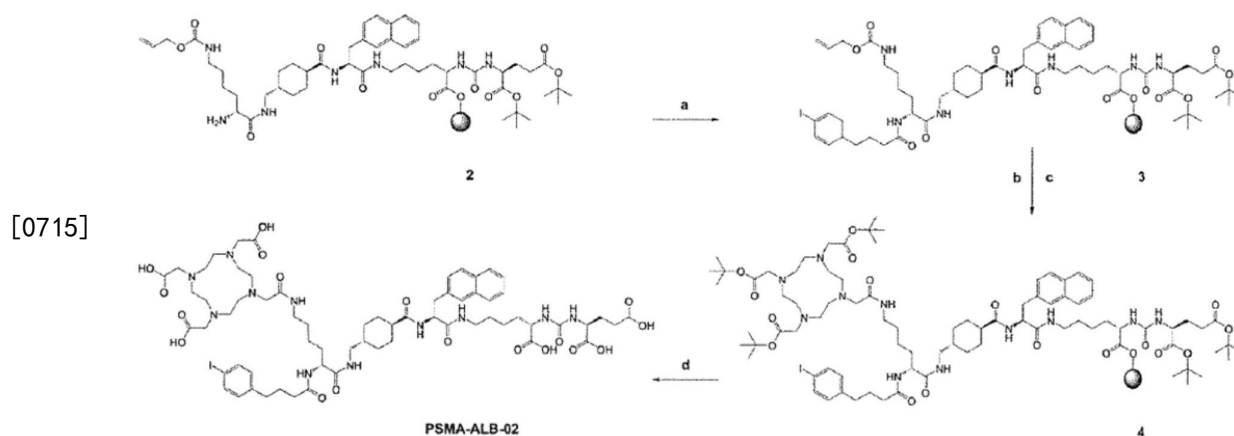
#### [0710] 6.1材料和方法

[0711] 白蛋白结合PSMA配体的固相合成。使用固相平台设计和合成分别称为PSMA-ALB-02、PSMA-ALB-05和PSMA-ALB-07的PSMA配体。靶向PSMA的基于脲的药效团L-Glu-NH-CO-NH-L-Lys-以类似于Eder (2012) 等人描述的方法在2-氯三苯甲基氯(2-CT)树脂上制备。如实施例1中所描述的,合成由2-萘基-L-Ala和反式环己基部分组成的连接基区域。将这种树脂固定的和双(叔丁基)-保护的前体——1-Glu-NH-CO-NH-1-Lys-2-Nal-1-Ala-NH<sub>2</sub>-Me-1,4-反式-CHX,称为化合物1——用作用于合成所有三种白蛋白结合PSMA配体的基础(图18)。

[0712] 对所有三种化合物同等地进行接下来的合成步骤,其包括基于赖氨酸的结构单元的缀合和Na-Fmoc保护基团的选择性切割。相对于树脂固定的和双(叔丁基)-保护前体(0.3mmol;化合物(1)),在存在4当量N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)的情况下,在N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中用3.96当量O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐(HBTU)将4当量的Na-Fmoc-和N $\epsilon$ -Alloc-保护的1-赖氨酸(Fmoc-Lys(Alloc)-OH)活化,并搅拌1小时。随后,用比为1:1(v/v)的DMF和哌啶的混合物进行Na-Fmoc-保护基团的选择性去除。然后将所得前体(2)用于随后的合成,该合成对于每种具体化合物都是特定的。

[0713] PSMA-ALB-02。PSMA-ALB-02的合成如此完成：通过将白蛋白结合部分偶联至树脂固定的前体(0.1mmol；化合物(2))，同时存在4当量DIPEA的情况下在1小时的时程中使用3.96当量HBTU在DMF中活化的4当量的4-(对碘苯基)丁酸，伴随缓慢搅拌。随后，在存在30当量吗啉的情况下在2小时内黑暗中用二氯甲烷(DCM)中0.03当量的四(三苯基膦)钯(0)(TPP Pd)进行N $\epsilon$ -Alloc-保护基团从化合物(3)的切割。为了除去钯的残留物，另外用DMF中1%的DIPEA冲洗树脂，并且然后再用DMF中的二乙基二硫代氨基甲酸钠的溶液冲洗(c=15mg/ml)。最后，在存在DMF中的4当量DIPEA的情况下，使用1.98当量HBTU活化的2当量的DOTA-三(叔丁基)酯[2-(4,7,10-三(2-(叔丁氧基)-2-氧乙基)-1,4,7,10-四氮杂环-十二烷-1-基)乙酸]进行螯合剂与树脂固定的化合物的缀合。在缓慢搅拌下，在2小时的时程内进行DOTA螯合剂的偶联。所得化合物(4)用DMF、DCM并且最后用Et<sub>2</sub>O冲洗，随后在真空下干燥。将产物从树脂切割，并且随后使用由比例为95:2.5:2.5(v/v)的三氟乙酸(TFA)、三异丙基硅烷(TIPS)和H<sub>2</sub>O组成的混合物在2小时内脱保护。蒸发TFA，将粗化合物溶解在比例为1:1(v/v)的ACN和H<sub>2</sub>O中，并使用半制备柱经由反相高效液相色谱(RP-HPLC)纯化(辅助信息)。分别通过分析RP-HPLC(辅助信息)和基质辅助激光解吸/电离质谱(MALDI-MS)或电喷雾电离质谱(ESI-MS)进行PSMA-ALB-02的表征。在方案6.1中总结了上面概述的合成。

[0714] 方案6.1：用于PSMA-ALB-02<sup>a</sup>的PSMA前体、白蛋白结合部分和DOTA螯合剂的缀合



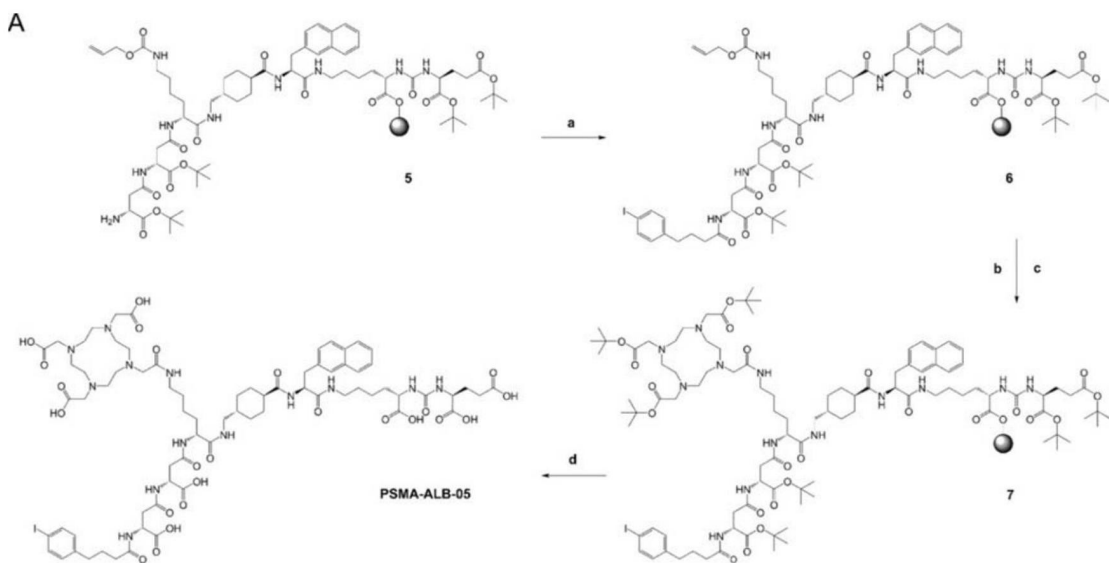
[0716] <sup>a</sup> (a) 4-(对碘苯基)丁酸、HBTU、DIPEA、DMF；(b) TPP Pd(0)、吗啉、DCM；(c) DOTA三(叔丁基)酯、HBTU、DIPEA、DMF；(d) TFA、TIPS、H<sub>2</sub>O 95:2.5:2.5。

[0717] PSMA-ALB-05和PSMA-ALB-07。PSMA-ALB-05的合成如下完成：通过在1小时的时程内将基于D-天冬氨酸的结构单元偶联至树脂固定的前体(0.1mmol；化合物(2))，同时存在DMF中的4当量DIPEA的情况下使用2.97当量HBTU活化的3当量的N-Fmoc-和O <sub>$\beta$</sub> -t-Bu-保护的D-天冬氨酸(Fmoc-d-Asp-O-t-Bu)，伴随缓慢搅拌。如上所述，从所得化合物选择性去除N-Fmoc保护基团。重复一种另外的Fmoc-D-Asp-O-t-Bu的类似偶联和随后的N-Fmoc切割，并且产生化合物(5)。在下一步中，在存在DMF中的4当量DIPEA的情况下用3.96当量HBTU活化4当量的4-(对碘苯基)丁酸，并搅拌1小时。如上所描述，进行从产物(6)选择性去除N $\epsilon$ -Alloc-保护基团。在存在DMF中的4当量DIPEA的情况下在2小时的时程内使用1.98当量的HBTU活化的2当量的DOTA-三(叔丁基)酯进行螯合剂与树脂固定的化合物的缀合，伴随缓慢搅拌。所得化合物(7)用DMF、DCM并且最后用Et<sub>2</sub>O冲洗，随后在真空下干燥。将产物从树脂切割，并且随后使用比例为95:2.5:2.5(v/v)的TFA、TIPS和H<sub>2</sub>O的混合物在2小时内脱保护。蒸发TFA，并将粗化合物溶解在比例为1:1(v/v)的ACN和H<sub>2</sub>O中，并经由RP-HPLC纯化(辅助信

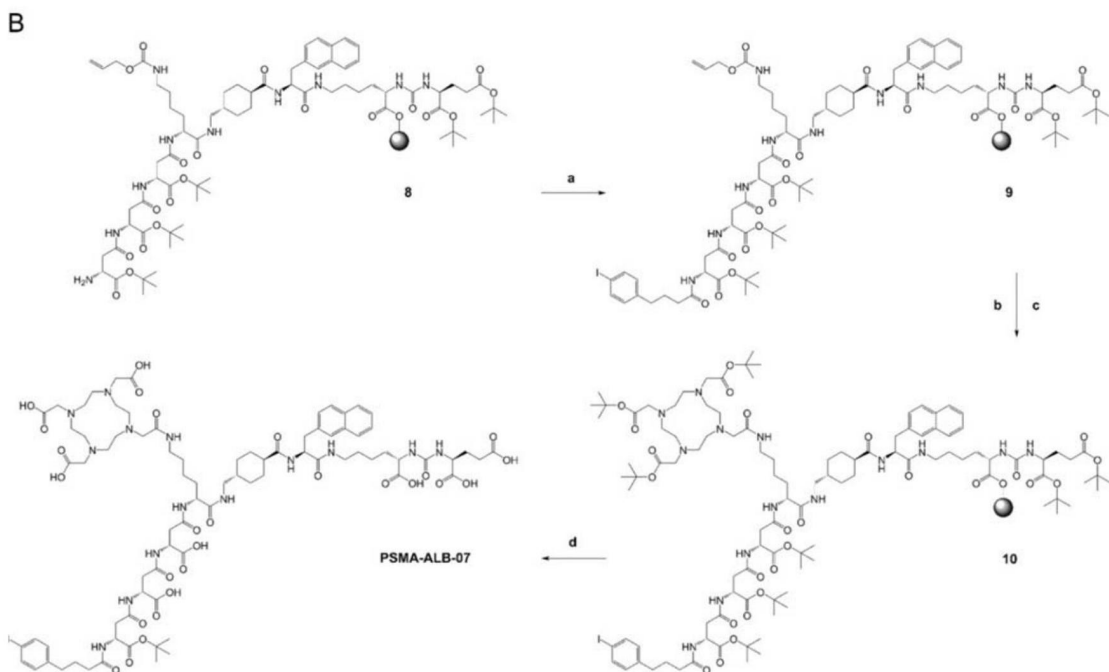
息)。分别通过分析RP-HPLC(辅助信息)和MALDI-MS或ESI-MS进行PSMA-ALB-05的表征。

[0718] PSMA-ALB-07的合成和纯化类似于PSMA-ALB-05进行,伴随与第三Fmoc-d-Asp-O-t-Bu的一个附加的偶联和随后的N-Fmoc切割(8)。接下来的步骤包括4-(对碘苯基)丁酸(9)的缀合,随后选择性地去除Ne-Alloc-保护基团并缀合DOTA-三(叔丁基)酯(10)。在从树脂切割之后,将化合物脱保护,并按照对于PSMA-ALB-05所描述进行纯化/表征(辅助信息)。在方案2中总结了PSMA-ALB-05和PSMA-ALB-07的合成。在冰箱(-18℃)中长时间存储(分别为2和4个月)之后使用分析RP-HPLC和MALDI-MS测试冻干散剂形式的每种PSMA配体的稳定性。

[0719] 方案6.2: (A) 用于PSMA-ALB-05和(B) PSMA-ALB-07a的PSMA前体、白蛋白结合部分和DOTA螯合剂的缀合:



[0720]



[0721] <sup>a</sup> (a) 4-(对碘苯基)丁酸、HBTU、DIPEA、DMF; (b) TTP Pd(0)、吗啉、DCM; (c) DOTA三(叔丁基)酯、HBTU、DIPEA、DMF; (d) TFA、TIPS、H<sub>2</sub>O 95:2.5:2.5。

[0722] 放射性标记和稳定性。将新型PSMA配体(分别为PSMA-ALB-02、PSMA-ALB-05和



PSMA-ALB-07) 以及PSMA-617 (Advanced Biochemical Compounds, ABX GmbH, Radeberg, 德国) 溶解在含有10-15% 乙酸钠溶液 (0.5M, pH 8) 的MilliQ水中以制备1mM储备溶液, 用于放射性标记。PSMA配体在pH 4的乙酸钠 (0.5M, pH 8) 和HCl (0.05M) 的混合物中以5-50MBq/nmol之间的比活度用 $^{177}\text{Lu}$  (由Isotope Technologies Garching (ITG GmbH, 德国) 提供的0.04M HCl中无载体添加的 $^{177}\text{LuCl}_3$ ) 标记。将反应混合物在95°C下温育10分钟。使用RP-HPLC进行放射性配体的质量控制(辅助信息)。放射性配体溶液被用于体外和体内实验中, 而无需进一步纯化步骤。

[0723] 使用RP-HPLC随着时间的推移确定放射性配体的稳定性。在不添加和添加1-抗坏血酸 (0.5M, 3mg) 的情况下, PSMA配体以50MBq/nmol的比活度用 $^{177}\text{Lu}$  (250MBq) 放射性标记, 随后在盐水中稀释至250MBq/500 $\mu\text{L}$ 的活性浓度。在制备之后立即 ( $t=0$ 小时) 测定配体的放射性标记效率, 并在室温下温育不同的时间段 (分别为 $t=1$ 小时、4小时和24小时) 之后研究化合物的完整性。完整化合物的量通过关于设置为100%的未知结构的降解产物和痕量的游离 $^{177}\text{Lu}$ 的所有放射性峰的总和将HPLC色谱图的产物峰积分来定量。

[0724] 正辛醇/PBS分配系数 (LogD值) 的测定。通过使用液液萃取的摇瓶法, 随后是如先前所报告的相分离来测定 $^{177}\text{Lu}$ -标记的放射性配体的分配系数 (logD值)。简言之, 将PSMA配体以50MBq/nmol的比活度用 $^{177}\text{Lu}$ 放射性标记。放射性配体的样品与磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 和正辛醇混合, 随后剧烈地涡旋。在离心以进行相分离之后, 用 $\gamma$ -计数器测量每层中的活性浓度 (Perkin Elmer, Wallac Wizard 1480)。对每种化合物进行三个实验, 每个实验进行五次。

[0725] 过滤器试验。通过如先前描述的超滤试验确定放射性配体与小鼠和人血浆蛋白的结合能力 (实施例1)。将 $^{177}\text{Lu}$ -标记的PSMA配体 (50MBq/nmol) 分别在小鼠血浆 (Rockland, USA) 和人血浆 (Stiftung Blutspende SRK Aargau-Solothurn, 瑞士) 中稀释, 并在室温下温育15分钟。另外, 将放射性配体在PBS (不含蛋白质的缓冲液溶液) 中稀释作为对照实验。将溶液的等分试样装载到超滤装置上并离心。用 $\gamma$ -计数器测量过滤的活性, 并用于计算血浆蛋白结合活性 (保留在过滤膜上) 作为总的增加的活性的百分比。每个放射性配体 (分别为 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-02、 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-05和 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-ALB-07) 一式两份进行三个独立实验。使用 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617一式两份进行两个附加实验。使用GraphPad Prism软件, 版本7进行统计分析 (单因素ANOVA和Bonferroni的多重比较后检验)。<0.05的p-值被认为是统计学上显著的。

[0726] 细胞摄取和内化。使用如先前描述的 (实施例1) PSMA-阳性PC-3PIP和PSMA-阴性PC-3流感细胞以5MBq/nmol的比活度测定细胞表面上PSMA结合部分和内化部分的总和 (称为细胞摄取) 以及放射性配体的内化部分。将放射性标记溶液在含有0.05% (w/v) 牛血清白蛋白 (BSA) 的盐水中稀释以防止粘附到实验室小瓶和试管。用细胞培养基进一步稀释放射性配体溶液产生最终的BSA浓度 (0.00125%), 其可以忽略不计并且对放射性配体的细胞摄取和内化没有影响。与使用新型放射性配体的每个实验平行, 也进行了使用 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617的对照实验。实验一式三份进行, 并且对于每种放射性配体重复三次。

[0727] 体内研究。在5-6周龄的雌性无胸腺BALB/c裸鼠 (Charles River Laboratories, Sulzfeld, 德国) 中进行体内实验, 用于这些研究。在进行实验之前约12-14天, 小鼠在右肩皮下接种PC-3PIP细胞 (在具有 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的100 $\mu\text{L}$  Hank's平衡盐溶液 (HBSS) 中 $6 \times 10^6$ 个细



胞)和在左肩皮下接种PC-3流感细胞(在100 $\mu$ L HBSS中 $5 \times 10^6$ 个细胞)。

[0728] 生物分布研究。在注射以5MBq/nmol的比活度标记的放射性配体之后1小时、4小时、24小时、48小时、96小时和192小时进行生物分布实验。在放射性配体注射时的肿瘤质量为 $150 \pm 40$ mg,其对应于约150mm<sup>3</sup>的平均肿瘤体积。将小鼠用在盐水中稀释的各自的放射性配体(5MBq,1nmol,100 $\mu$ L)注射入尾侧静脉。为了防止放射性配体吸附到小瓶和注射器中,将BSA(0.05%)添加到盐水中。在注射后(p.i.)不同时间点处死小鼠,并收集选定的组织和器官,称重并使用 $\gamma$ -计数器测量。每个时间点使用成组的3-6只小鼠。另外,通过注射在盐水中稀释的2-(膦酰基甲基)-戊二酸(2-PMPA,500nmol,100 $\mu$ L)进行阻断研究。在施加<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02之前15分钟注射2-PMPA溶液,并且分别在注射后1小时和4小时处死小鼠。结果被衰减校正,并列出为每克组织质量的注射活性的百分比(%IA/g)。使用GraphPad Prism软件,版本7,由从肿瘤、肾和血液的生物分布数据获得的非衰减校正数据,确定所有三种白蛋白结合PSMA配体和<sup>177</sup>Lu-PSMA-617的曲线下面积(AUC)。

[0729] 使用GraphPad Prism软件(版本7)进行统计分析以比较使用单因素ANOVA和Bonferroni的多重比较后检验的生物分布数据集获得的曲线下面积(AUC)。 $<0.05$ 的p-值被认为是统计学上显著的。

[0730] SPECT/CT成像研究。在注射放射性配体后4小时、24小时和72小时进行SPECT/CT实验。将小鼠用在含有0.05%BSA的盐水中稀释的各自的放射性配体(25MBq,1nmol,100 $\mu$ L)注射入尾侧静脉。另外,对小鼠注射<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02之后1小时、4小时和24小时进行SPECT/CT扫描,该小鼠在放射性配体注射之前15分钟接受2-PMPA(500nmol,100 $\mu$ L)或非放射性标记的PSMA-ALB-02(100nmol,100 $\mu$ L)以便阻断PSMA。使用小动物SPECT/CT扫描仪(NanoSPECT/CT<sup>TM</sup>,Mediso Medical Imaging Systems,Budapest,Hungary)进行SPECT/CT扫描。SPECT扫描持续45分钟,并且随后CT扫描持续7.5分钟。在体内扫描期间,用异氟烷和氧气的混合物麻醉小鼠。使用软件NanoSPECT/CT<sup>TM</sup>进行获取数据的重构。所有图像使用VivoQuant后处理软件(版本3.0,invicRO Imaging Services and Software,Boston USA)制作。将高斯后重构过滤器(FWHM=1mm)应用于SPECT图像,并如图像上指示的,设置放射性的比例(最小值=0.95Bq/体素:最大值=95Bq/体素)。

## [0731] 6.2结果

[0732] PSMA配体的合成。经由使用标准Fmoc(9-芴基甲氧羰基)方案的固相平台合成具有白蛋白结合部分的PSMA配体(图19)。合成从第一个氨基酸的C末端固定到2-CT树脂开始,并以C $\rightarrow$ N方向组装。作为最后一步,将化合物从树脂切割,接着完全脱保护,两者均在酸性条件下进行。在半制备型HPLC纯化之后,PSMA-ALB-02(17个步骤)、PSMA-ALB-05(20个步骤)和PSMA-ALB-07(22个步骤)的多步合成提供了高纯度( $>98\%$ )的化合物,总产率为12.9-21.2%(表6.1)。发现所有三种PSMA配体在-18 $^{\circ}$ C下作为冻干散剂是稳定的,持续至少4个月。

[0733] 表6.1:PSMA-ALB-02、PSMA-ALB-05和PSMA-ALB-07的分析数据

	化合物编号	化学式	MW[g/mol]	$m/z^a$	$t_r^b$ [min]	化学纯度[%]	logD
[0734]	PSMA-ALB-02	C <sub>63</sub> H <sub>42</sub> IN <sub>11</sub> O <sub>18</sub>	1442.41	1443.53	6.2	99.5	-2.8 $\pm$ 0.09
	PSMA-ALB-05	C <sub>73</sub> H <sub>102</sub> IN <sub>13</sub> O <sub>24</sub>	1672.59	1673.41	6.1	99.2	-3.5 $\pm$ 0.08
	PSMA-ALB-07	C <sub>77</sub> H <sub>107</sub> IN <sub>14</sub> O <sub>27</sub>	1787.68	1788.63	5.9	98.5	-3.9 $\pm$ 0.25
	PSMA-617	C <sub>49</sub> H <sub>71</sub> N <sub>9</sub> O <sub>16</sub>	1042.15	1043.32	4.8	98.4 <sup>c</sup>	-4.4 $\pm$ 0.15

[0735] <sup>a</sup>未标记配体的质谱检测为[M+H]<sup>+</sup>。<sup>b</sup>未标记配体在分析型RP-HPLC上的保留时间。分析柱(100×4.6mm)使用Chromolith RP-18e固定相,其中流动相由水(A)和ACN(B)中0.1%的TFA组成。对于分析试验,使用在1mL/min的流速下在溶剂B中的溶剂A的线性梯度(在10分钟内90-10%)。<sup>c</sup>PSMA-617的纯度由该化合物的ABX GmbH认证获得。

[0736] <sup>177</sup>Lu-PSMA配体的放射性标记、稳定性和体外特性。PSMA-ALB-02、PSMA-ALB-05和PSMA-ALB-07可以以高达50MBq/nmol的比活度容易地用<sup>177</sup>Lu标记。放射性配体显示出>98%的高放射化学纯度。1-抗坏血酸的添加在24小时之后产生~97%的完整<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02、~96%的完整<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-05和~89%的完整<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-07(图20B)。<sup>177</sup>Lu-PSMA-617较不稳定,在4小时之后产生~86%的完整化合物,然而,在24小时之后观察到完全降解(<2%的完整化合物)(图20A)。1-抗坏血酸的存在甚至在24小时之后仍能完全阻止辐射,产生>98%的完整<sup>177</sup>Lu-PSMA-617(图20B)。<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02的正辛醇/PBS分配系数(logD值)(-2.8±0.09)最高。<sup>177</sup>Lu-PSMA-617获得最低logD值(-4.4±0.15)。

[0737] 细胞摄取和结合白蛋白的体外测试。在37℃下2小时的温育时间段之后,在PC-3PIP细胞内摄取的<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02、<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-05和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-07在52-57%的范围内,而内化的部分在18-24%之间(图21A)。在温育4小时之后,细胞摄取和内化分别略微增加至60-63%和20-26%。<sup>177</sup>Lu-PSMA-617显示出细胞摄取的类似的值(58%),然而,在温育4小时之后仅12%的放射性配体被内化。所有的白蛋白结合放射性配体以及<sup>177</sup>Lu-PSMA-617在PC-3流感细胞中的摄取均低于0.5%(图21B)。

[0738] 超滤试验的结果表明当与小鼠血浆(分别为87±1.0%、77±2.1%和64±2.1%)和人血浆(分别为95±1.2%、95±0.6和95±0.1%)一起温育时,<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02、<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-05和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-07显著的血浆蛋白-结合能力。这些值显著高于(p<0.05)<sup>177</sup>Lu-PSMA-617的情况,<sup>177</sup>Lu-PSMA-617仅显示与小鼠血浆蛋白非常低的结合(9.3±1.1%),和与人血浆蛋白的一些结合(57±2.3%)。用PBS进行的对照实验揭示放射性配体在过滤器上<5%的保留,推测是由于对过滤器装置的非特异性吸附引起的(数据未显示)。

[0739] 生物分布研究。在192小时的时间段内分别在右肩和左肩上带有PC-3PIP和PC-3流感肿瘤的小鼠中评估<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02、<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-05和<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-07的组织分布(图22)。

[0740] 所有PSMA放射性配体在PC-3PIP肿瘤内的摄取均显示出类似的动力学曲线。<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02显示出快速的肿瘤积聚,其注射后4小时已经达到78.4±12.8% IA/g,并且在注射后24小时内保持在该水平(76.4±2.49% IA/g)。所有的新型化合物,特别是<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02,均展现高的血液活性水平(18-21% IA/g),血液中放射性的快速清除和快速的肾清除。<sup>177</sup>Lu-PSMA-617在注射后4小时已经达到~56% IA/g的最大肿瘤摄取,其在192小时之后减少至~20% IA/g。它在1小时后迅速从血液中清除,导致<1% IA/g,并且显示从肾的稳定洗脱,从注射后1小时的~10% IA/g至注射后24小时的<1% IA/g。在所有其他组织中的放射性水平均低于血液水平,并且随着时间的推移连续减少。

[0741] 对于所有的新型化合物,具体地<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02,肿瘤-比-血液、肿瘤-比-肾和肿瘤-比-肝的比很高。由于快速的肾清除,<sup>177</sup>Lu-PSMA-617显示出增加的肿瘤-比-背景的比。

[0742] 表6.2:在注射后24小时和48小时的肿瘤-比-背景的比

		<sup>177</sup> Lu-PSMA-ALB-02		<sup>177</sup> Lu-PSMA-ALB-05		<sup>177</sup> Lu-PSMA-ALB-07		<sup>177</sup> Lu-PSMA-617	
		24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.	24 h p.i.	48 h p.i.
[0743]	肿瘤-比-血液	176 ± 27	191 ± 37	48 ± 6.4	38 ± 2.5	107 ± 10	154 ± 7	2730 ± 195	3776 ± 585
	肿瘤-比-肾	7.2 ± 0.3	8.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	5.0 ± 0.7	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.1	49 ± 3.7	81 ± 11
	肿瘤-比-肝	164 ± 20	163 ± 32	106 ± 26	100 ± 32	162 ± 14	131 ± 13	528 ± 51	710 ± 97

[0744] 在注射<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02之前为了通过施加2-PMPA来阻断PSMA,进行了另外的研究。在PC-3PIP肿瘤中,当与相同时间点的未阻断的摄取相比时,在注射后1小时和4小时摄取分别降低了64% ( $17.6 \pm 3.24\%$  IA/g) 和41% ( $46.0 \pm 7.29\%$  IA/g)。在放射性配体注射后1小时和4小时,在肾中积聚的放射性分别降低了81%和59%。在所有其他器官和组织中,观察到轻微的但是未显著减少的放射性积聚(数据未显示)。

[0745] 生物分布研究的非衰减校正数据用于计算放射性配体在血库、肿瘤、肾和肝中积聚的曲线下面积(AUC)(图23,表6.3)。

[0746] 表6.3:基于<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02、-05和-07的非衰减校正、时间依赖性生物分布数据的曲线下面积(AUC)和AUC的比

	<sup>177</sup> Lu-PSMA- ALB-02	<sup>177</sup> Lu-PSMA- ALB-05	<sup>177</sup> Lu-PSMA- ALB-07	<sup>177</sup> Lu-PSMA- 617
	AUC [% IA/g·h]			
PC-3 PIP 肿瘤	6688 ± 485	6741 ± 421	7007 ± 459	3691 ± 156
血液	145 ± 6.3	387 ± 32	180 ± 7.2	52 ± 1.5
肾	1130 ± 62	1837 ± 112	3395 ± 201	99 ± 11
肝	57 ± 5.3	131 ± 11	72 ± 3.6	6.2 ± 1.6
	AUC的比			
AUC <sub>Tu</sub> -比-AUC <sub>Bl</sub>	46	17	39	71
AUC <sub>Tu</sub> -比-AUC <sub>Ki</sub>	5.9	3.7	2.1	37
AUC <sub>Tu</sub> -比-AUC <sub>Li</sub>	117	52	97	592

[0748] 所有新型的放射性配体显示出PC-3PIP肿瘤摄取的可比较的AUC,其几乎是<sup>177</sup>Lu-PSMA-617获得的AUC的两倍(p<0.05)。所有的放射性配体显示出AUC的高的肿瘤-比-血液、肿瘤-比-肾和肿瘤-比-肝的比。由于该放射性配体的快速的血液和肾清除获得了<sup>177</sup>Lu-PSMA-617的AUC的高肿瘤-比-背景值(表6.2)。

[0749] SPECT/CT成像研究。在注射新型放射性配体以及<sup>177</sup>Lu-PSMA-617之后4小时、24小时和72小时,用PC-3PIP/流感肿瘤荷载小鼠进行SPECT/CT扫描(图24和25)。在注射后24小时PC-3PIP肿瘤异种移植植物中的所有白蛋白结合放射性配体的积聚类似。肾摄取较低,特别是<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02。用<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02获得的时间依赖性SPECT/CT图像显示随着时间的推移增加的肿瘤-比-背景对比度。与<sup>177</sup>Lu-PSMA-617相比,在整个研究时间段内,<sup>177</sup>Lu-PSMA-ALB-02的肿瘤摄取显著增加并且对于肾中的积聚也是如此(图25)。在PSMA-阴性PC-3流感肿瘤中未检测到活性积聚。

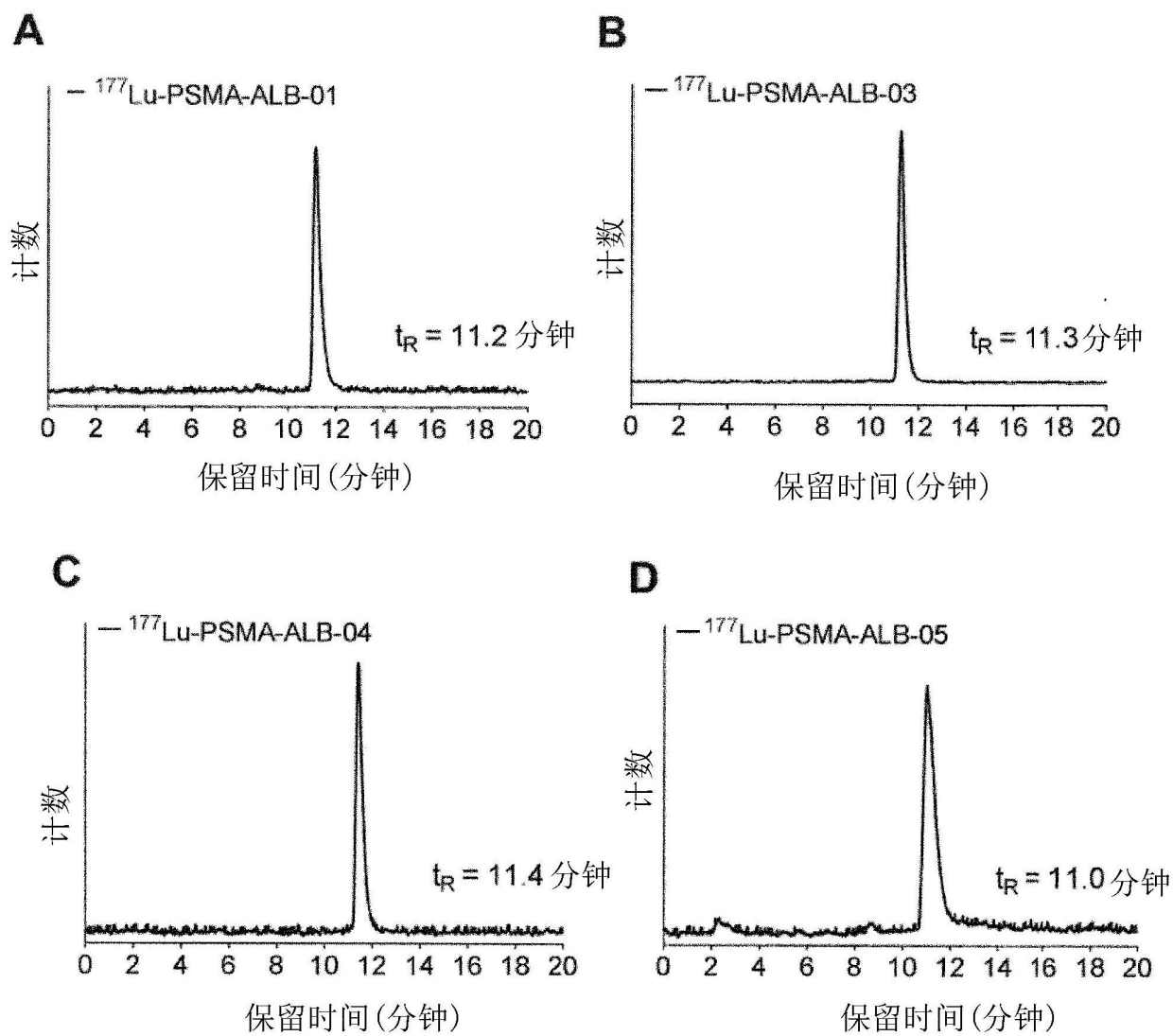


图1

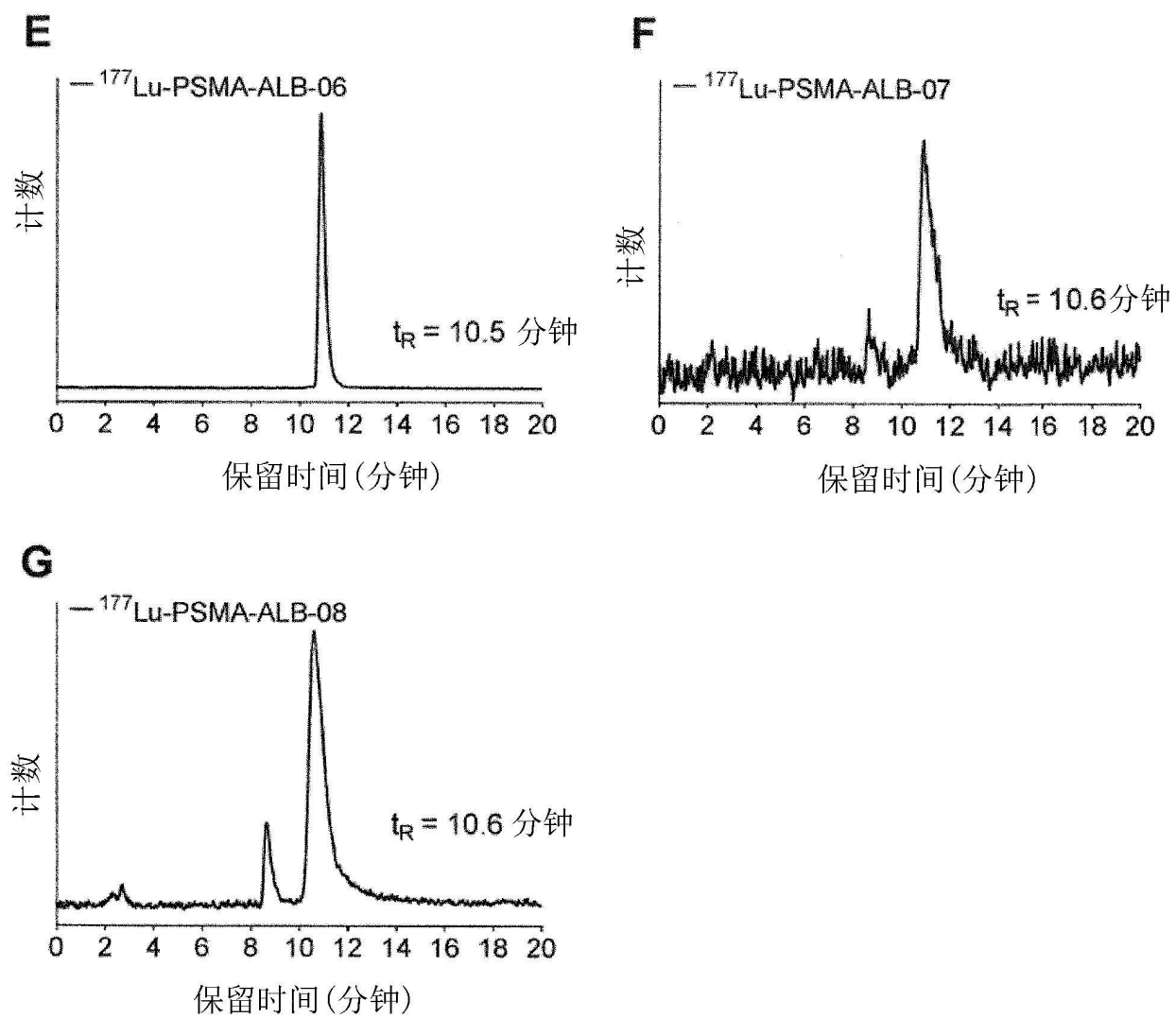


图1(续)

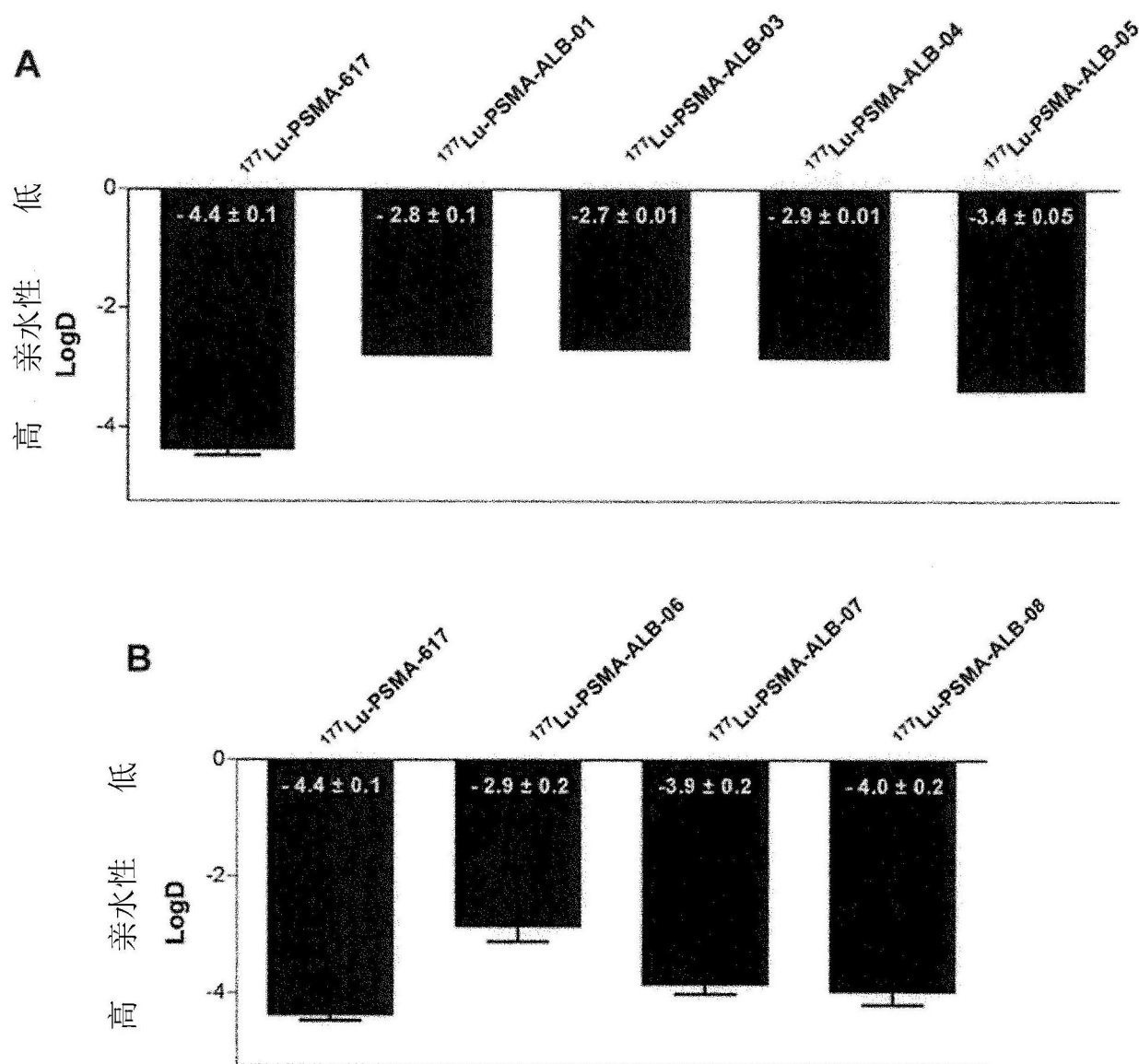


图2

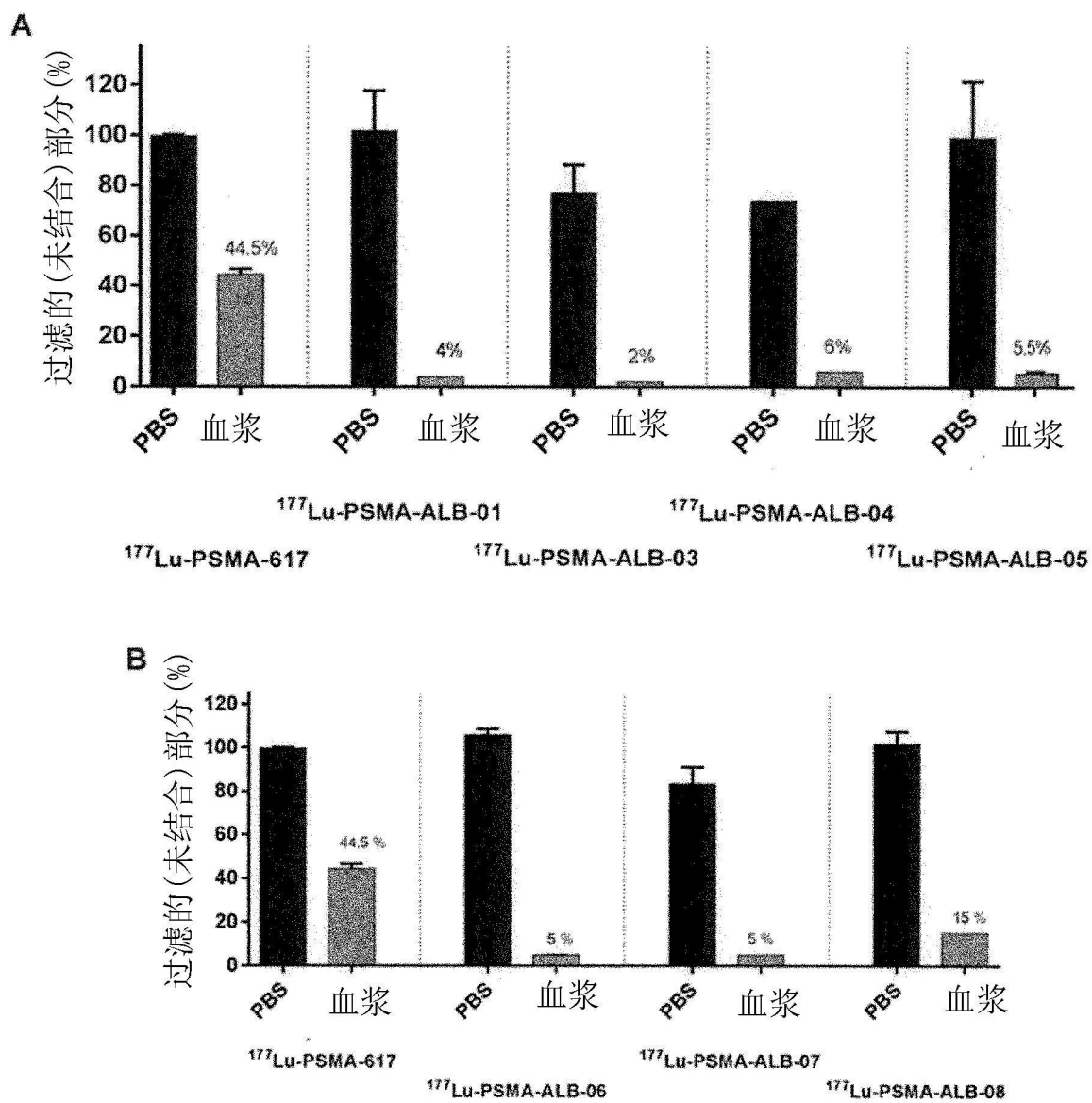


图3

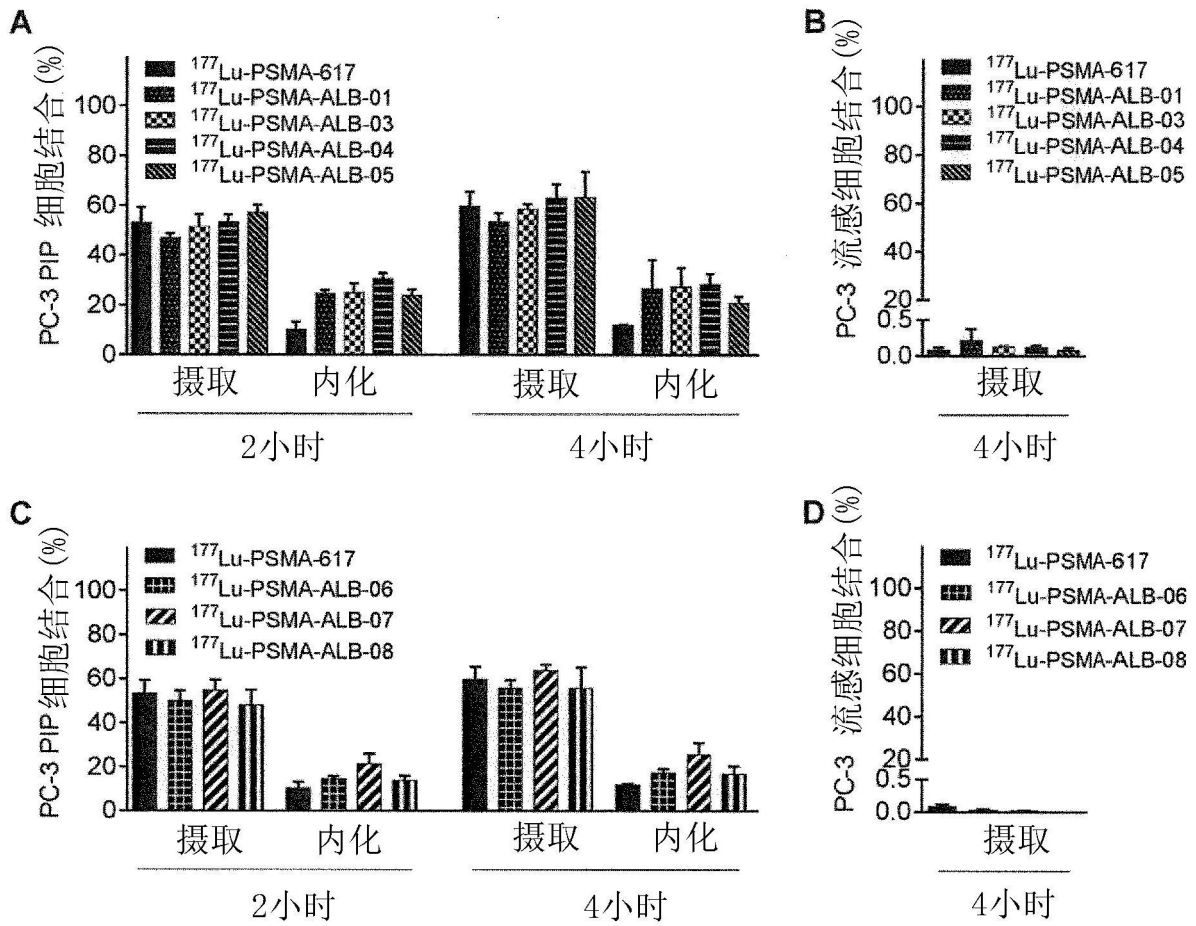


图4



A

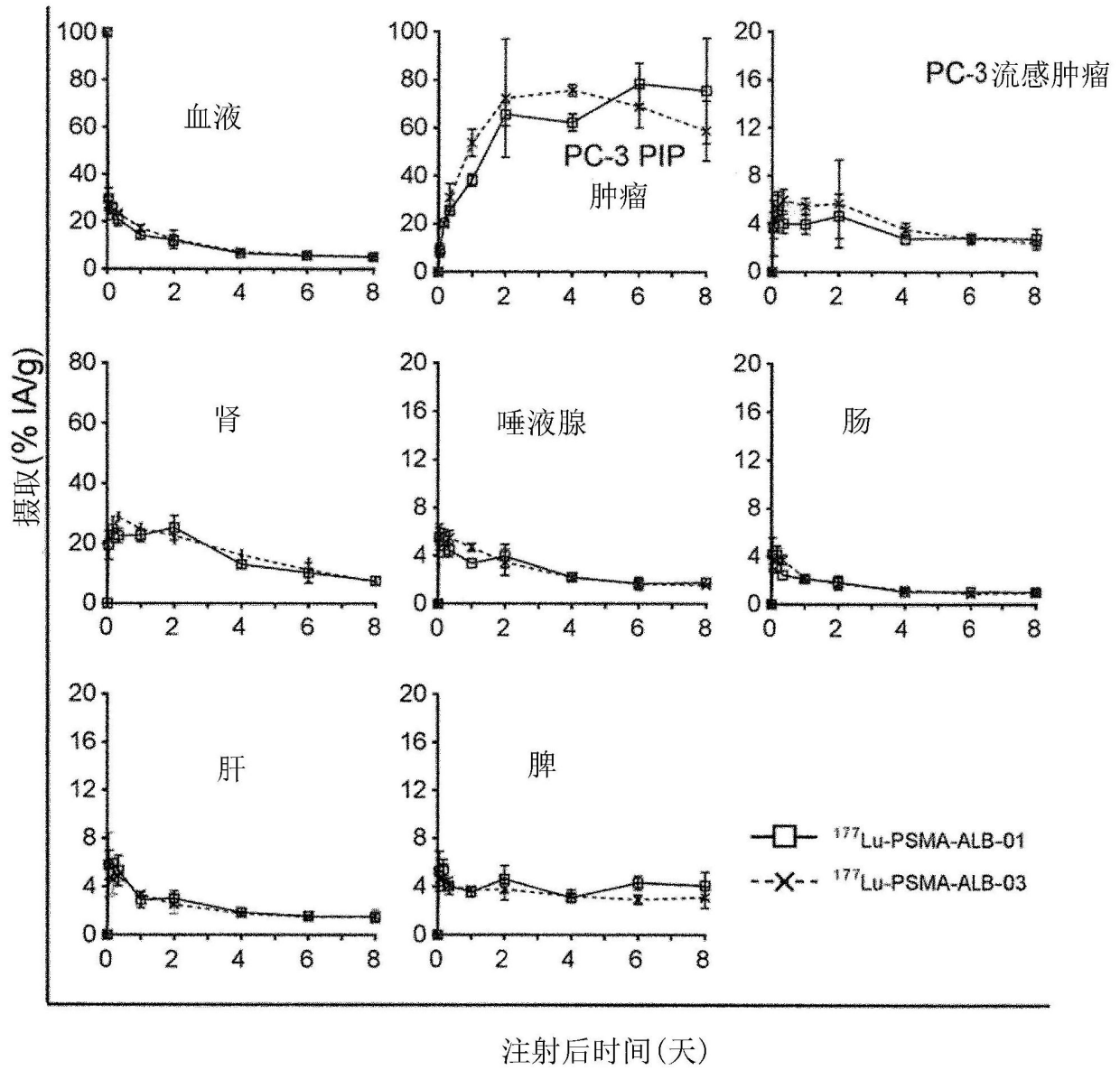


图5

B

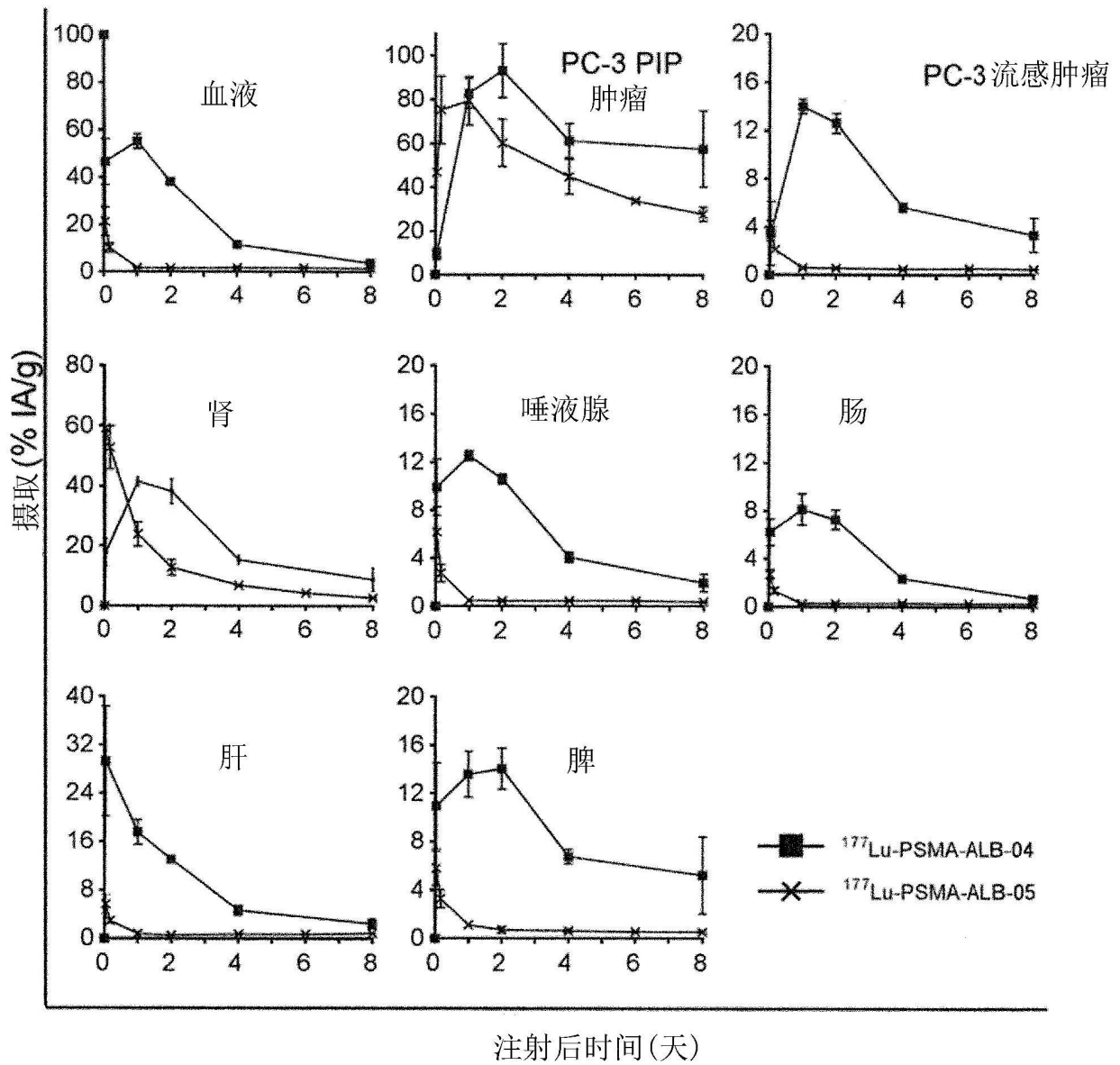


图5(续)

C

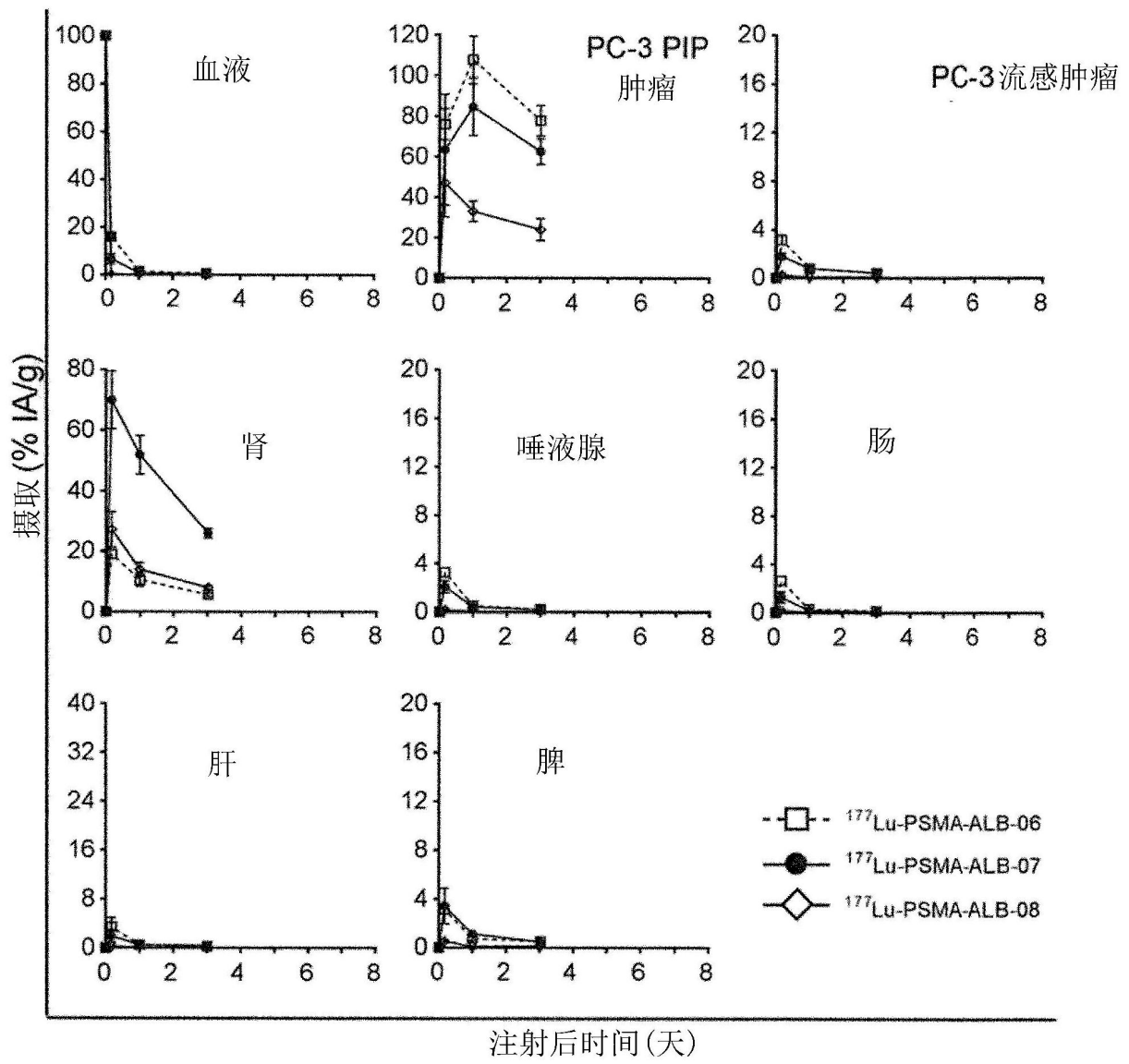


图5(续)

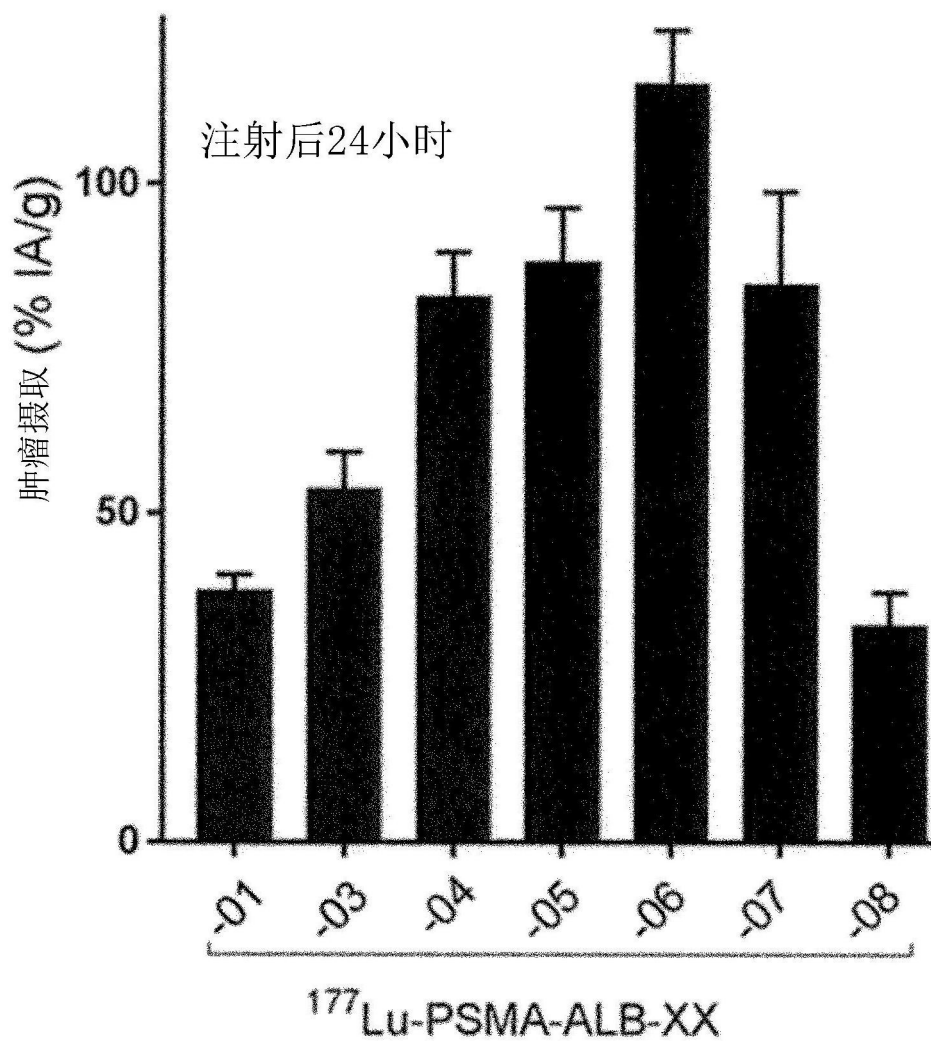
**A**

图6

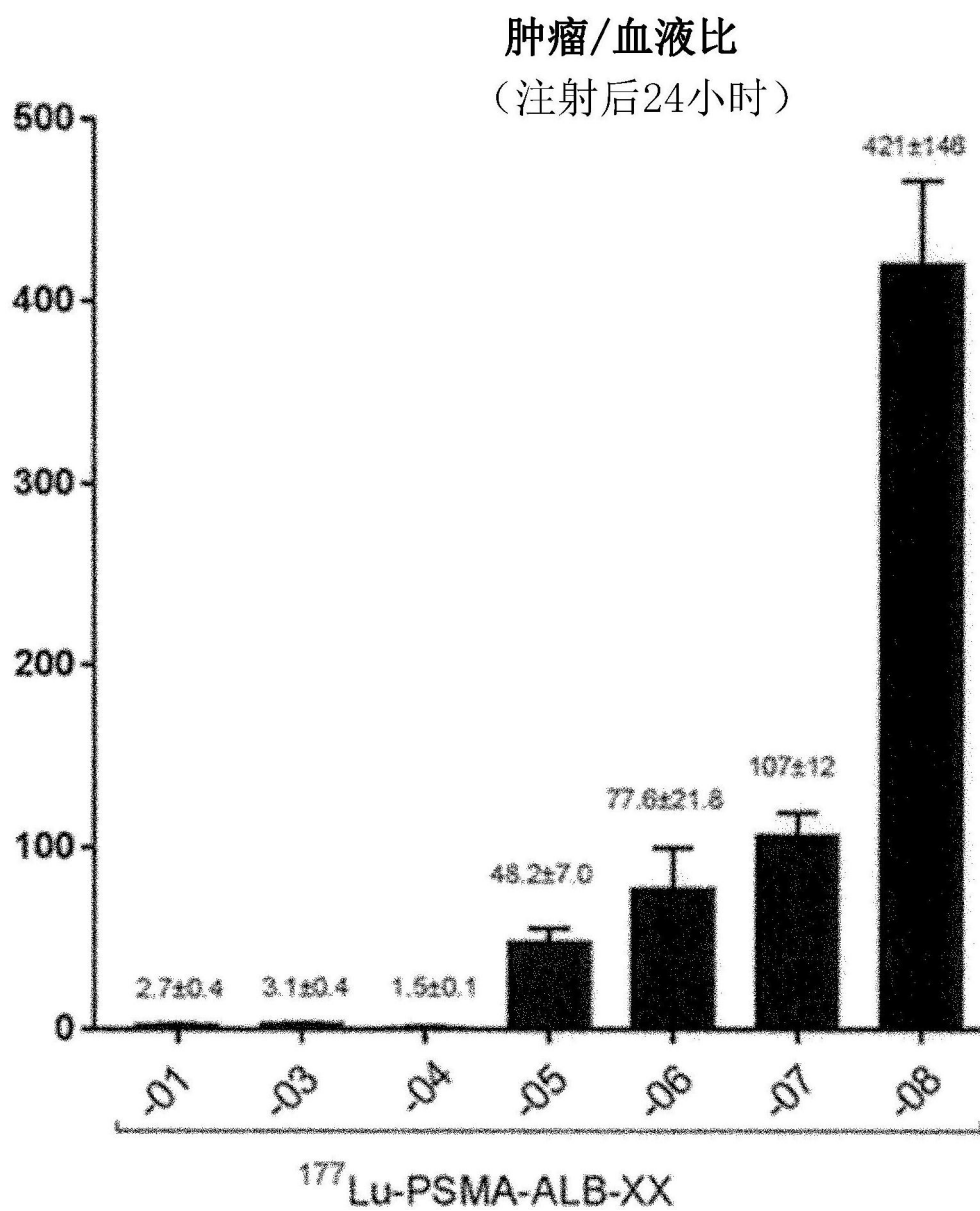
**B**

图6(续)

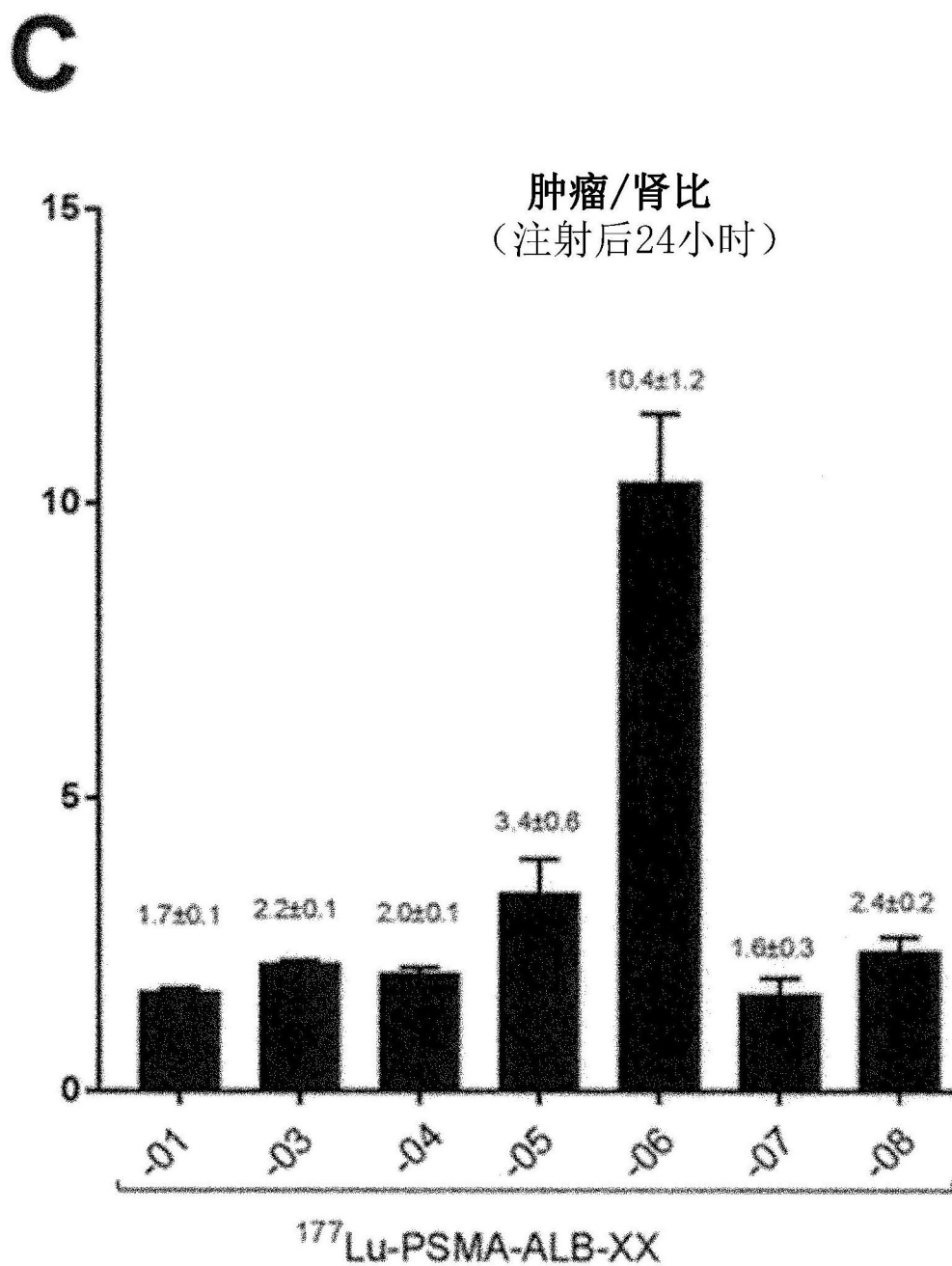


图6(续)

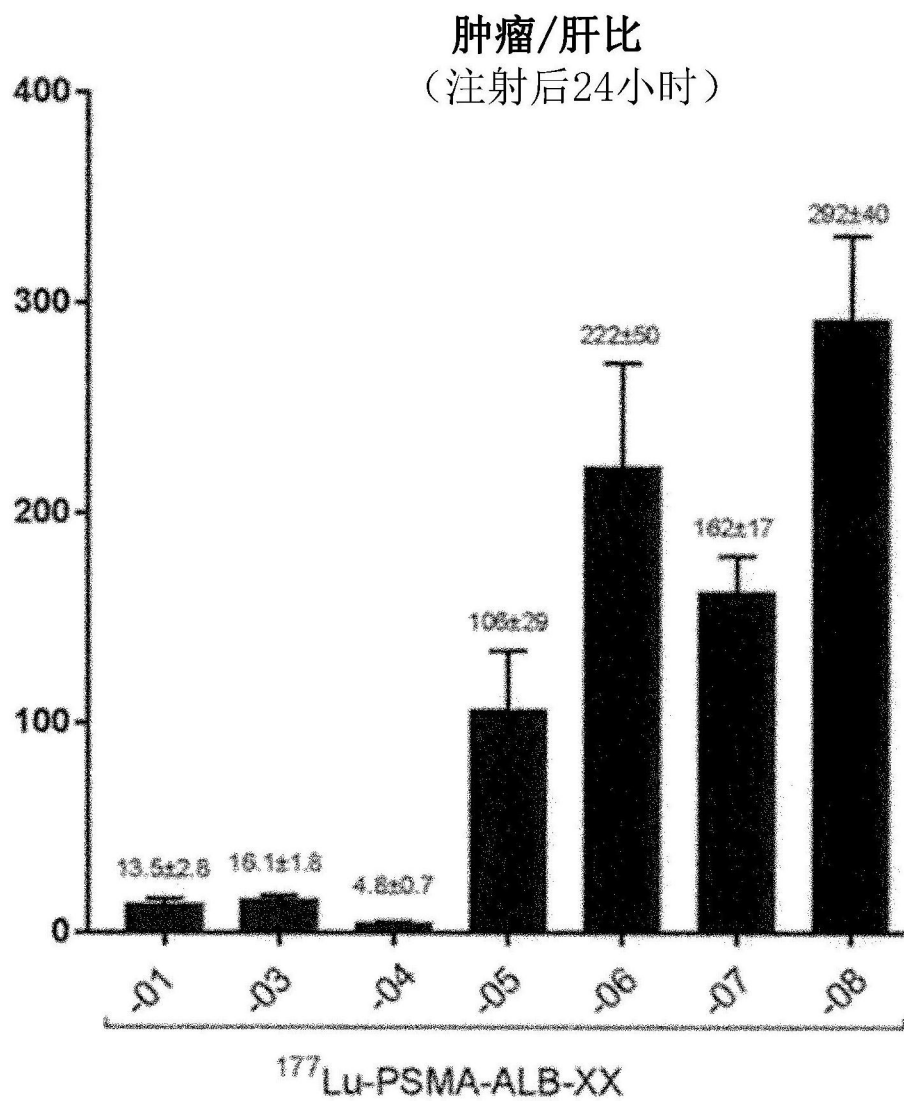
**D**

图6(续)

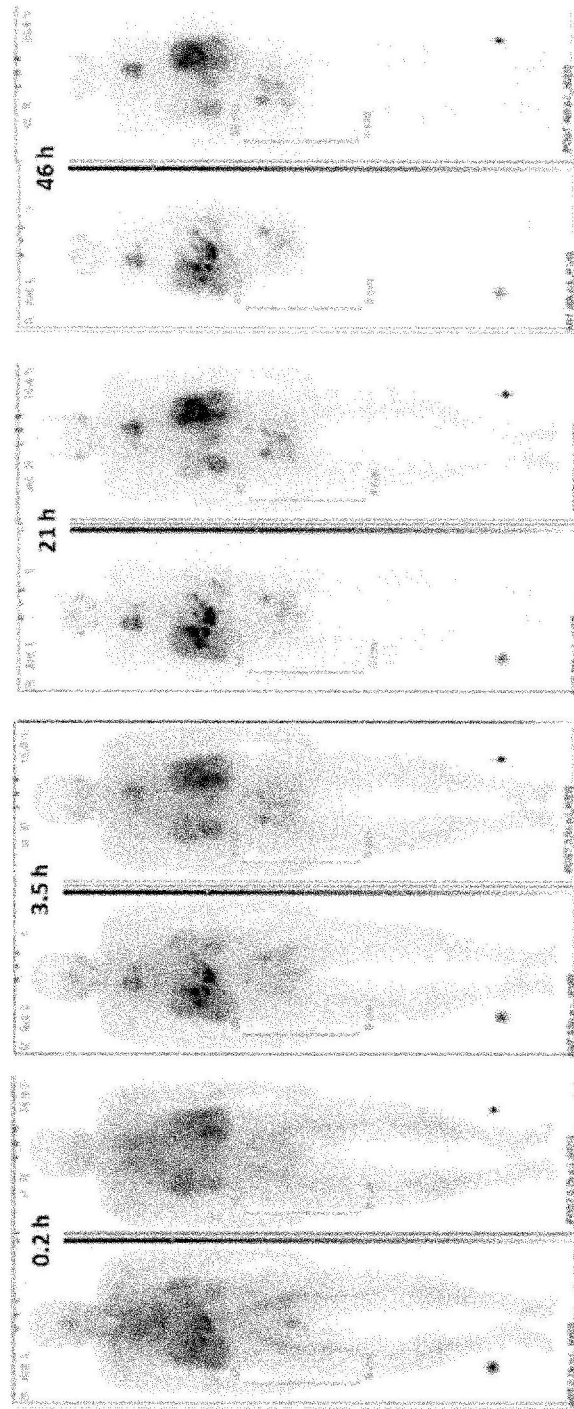


图7



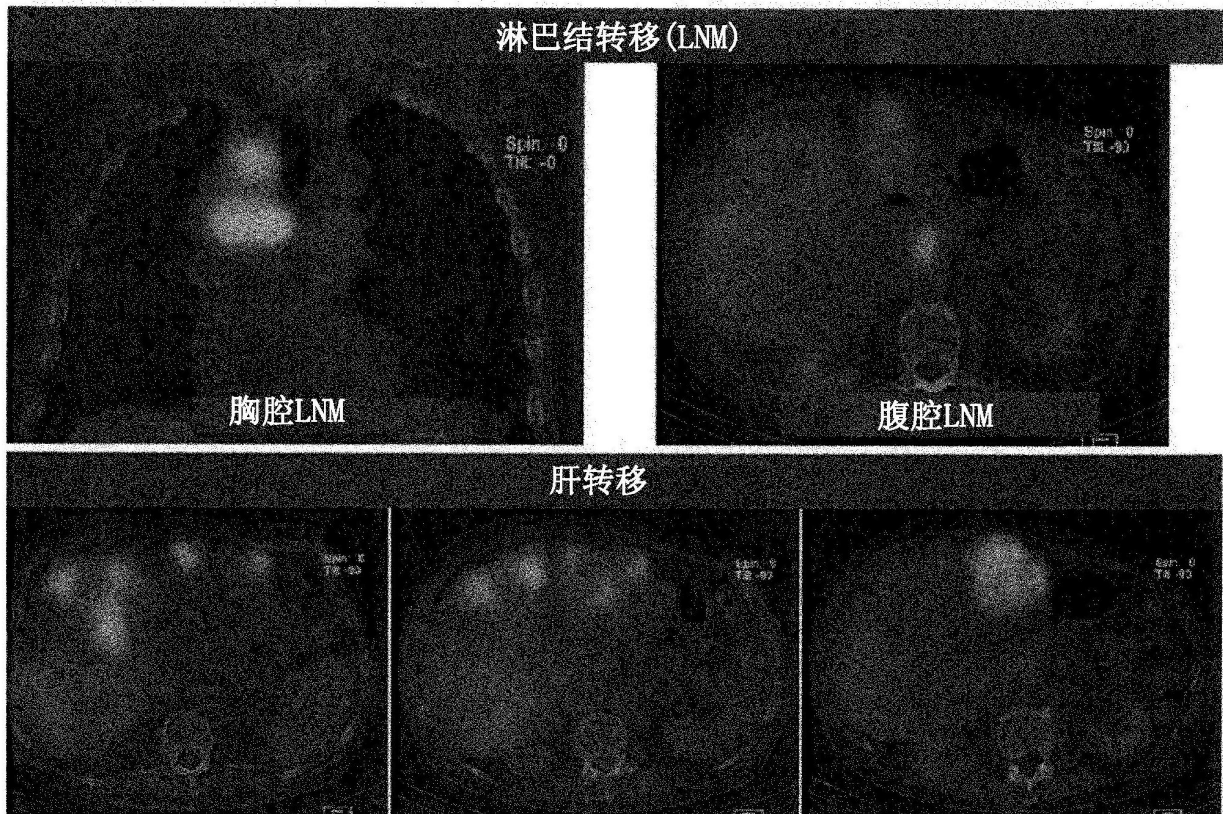


图8

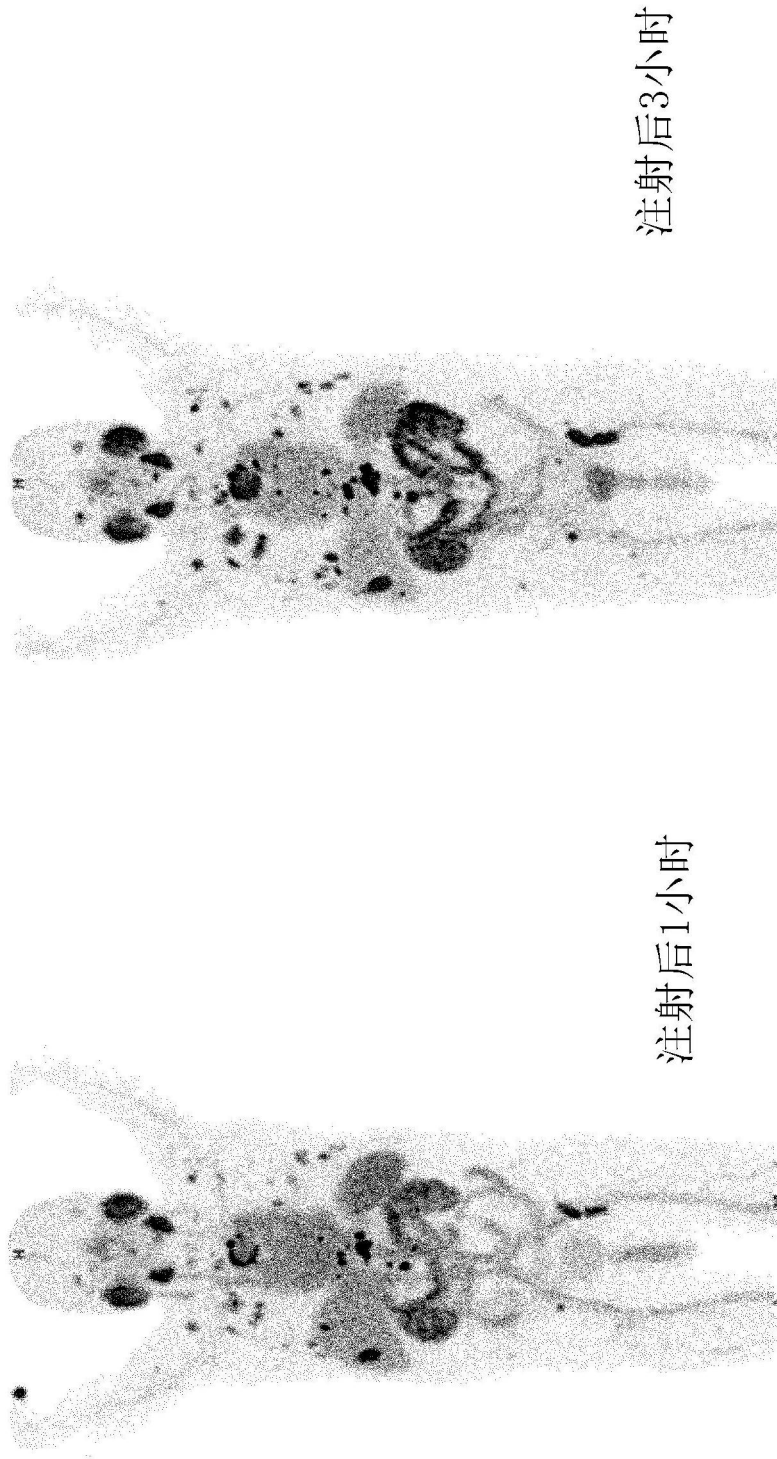


图9

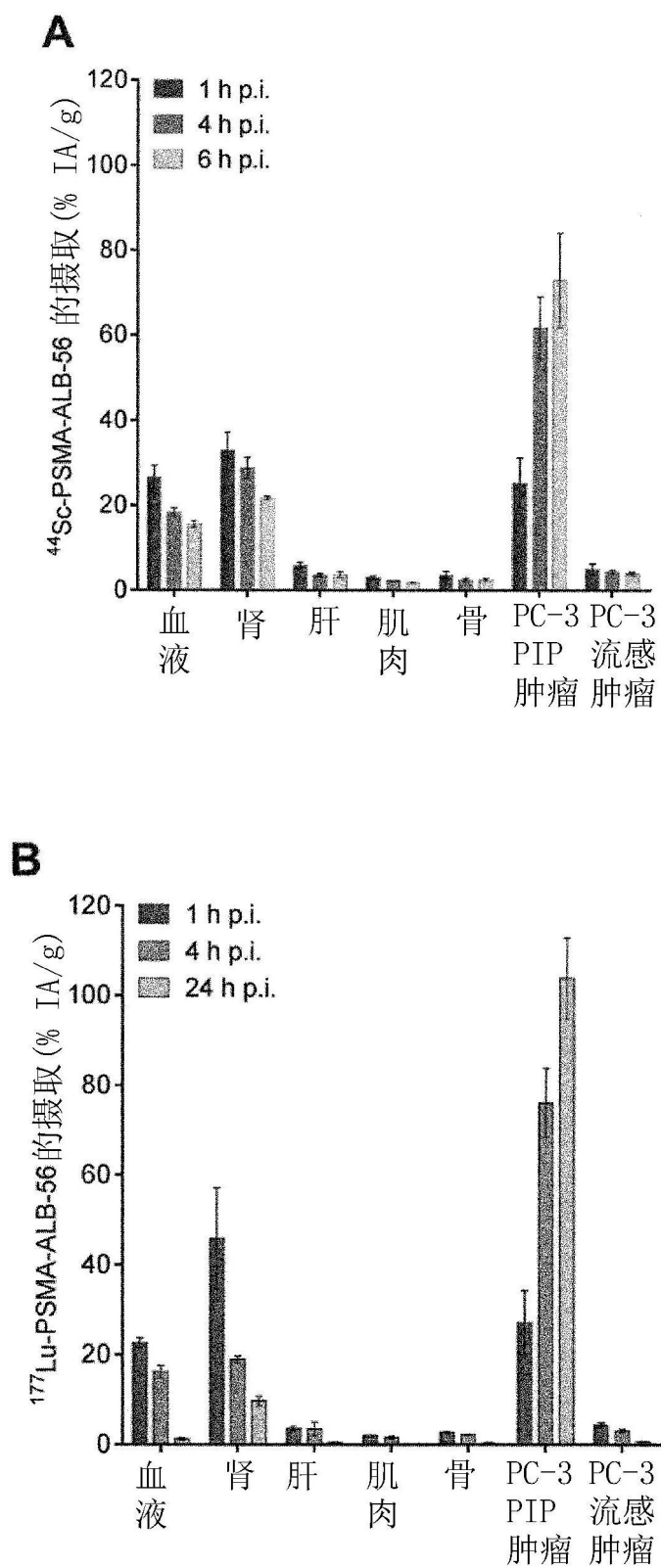


图10

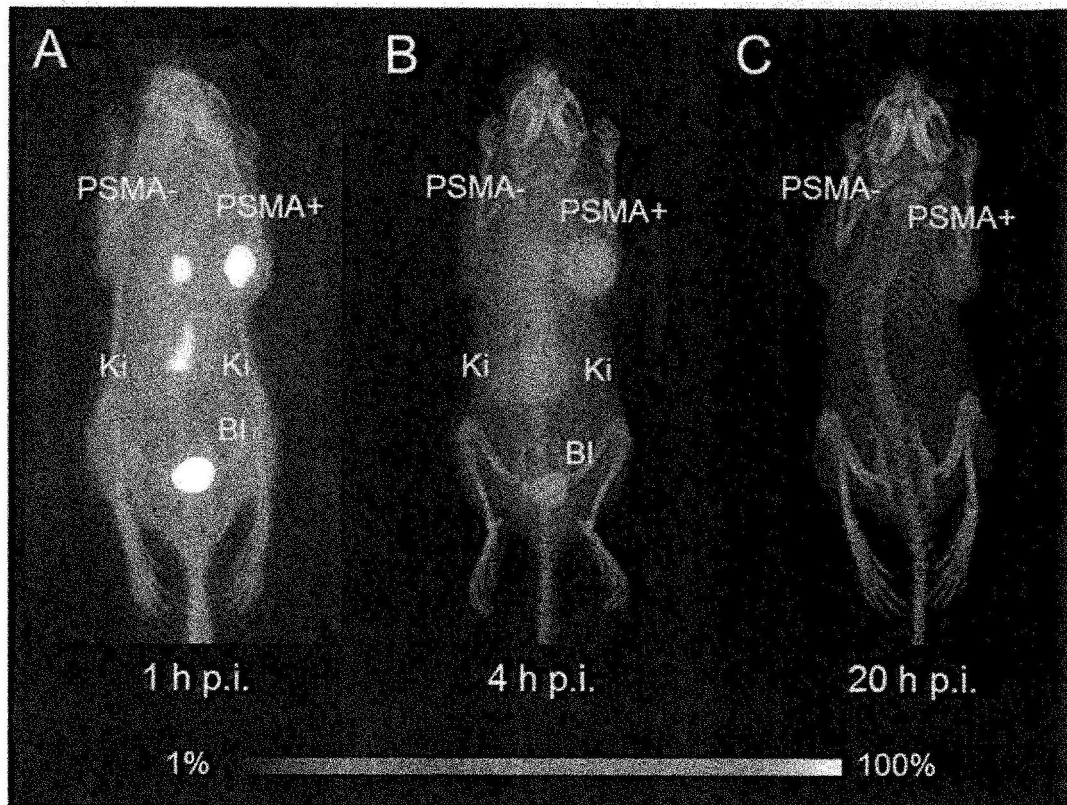


图11

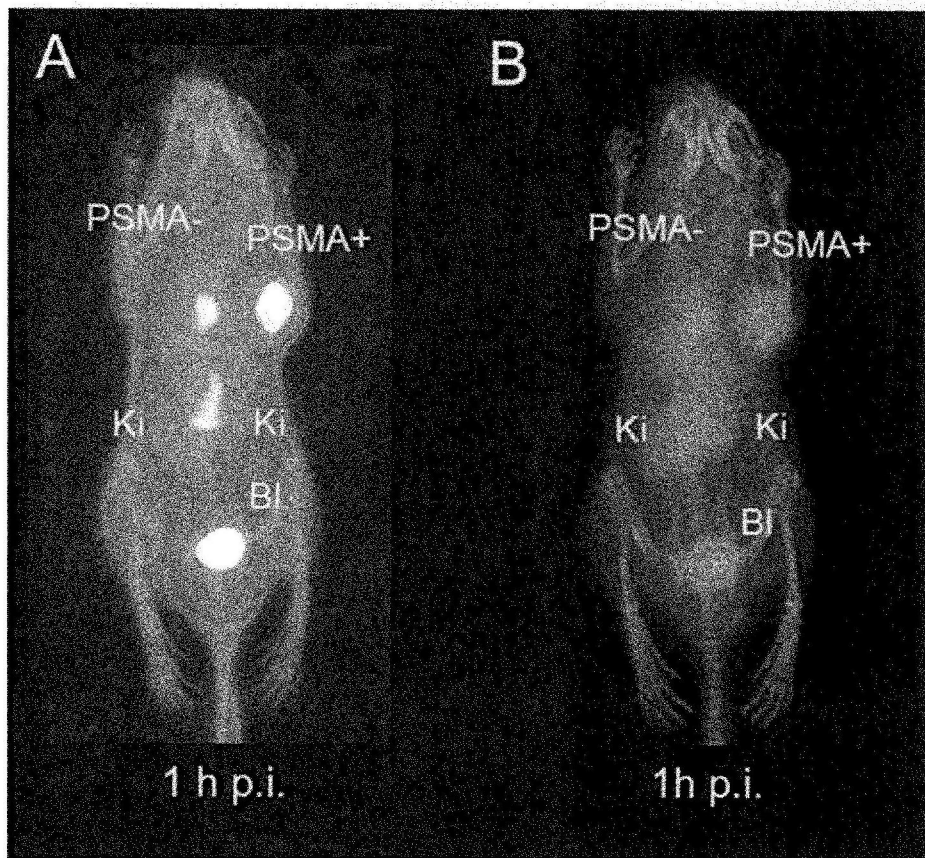


图12

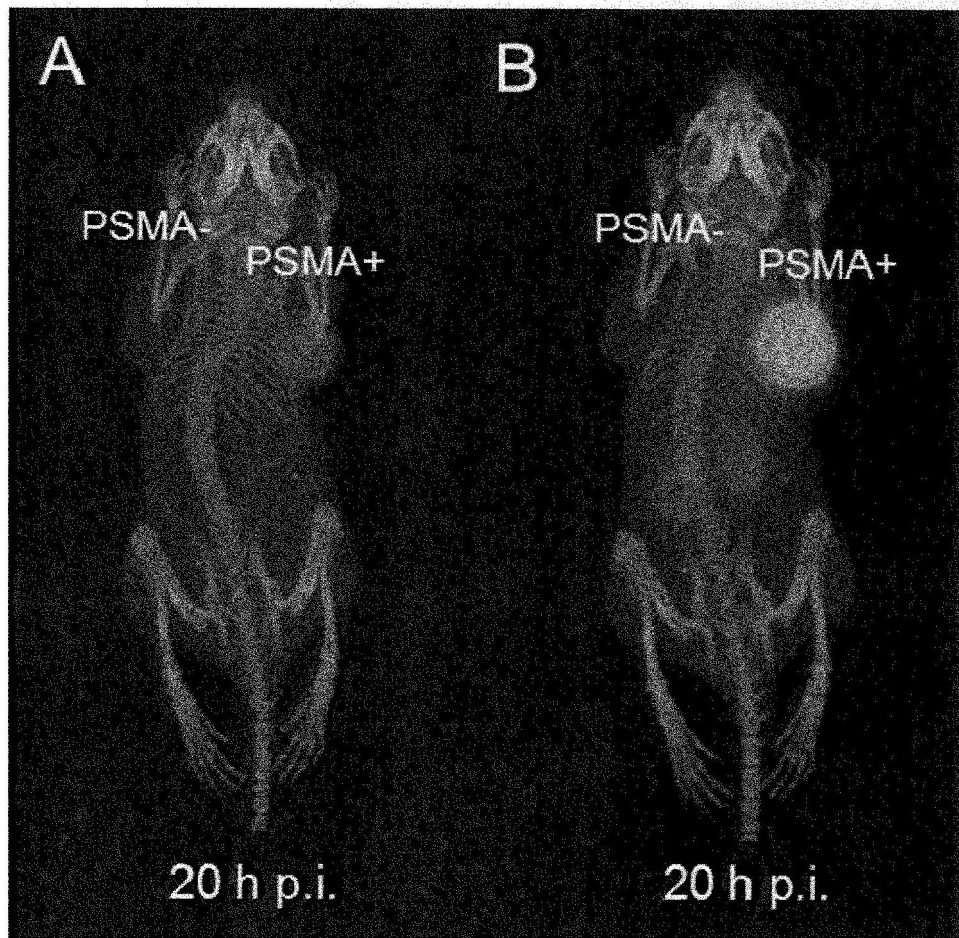


图13

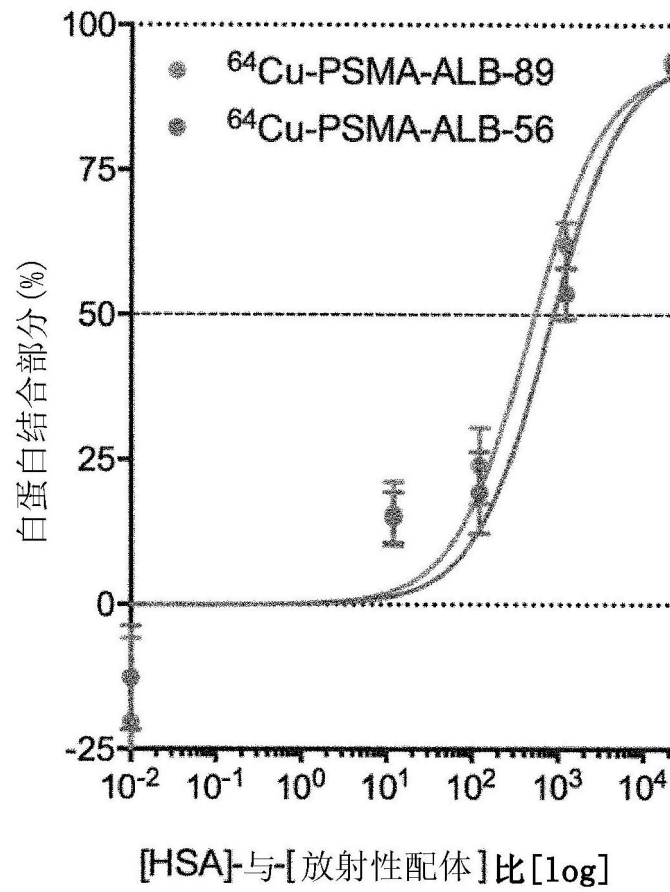


图14

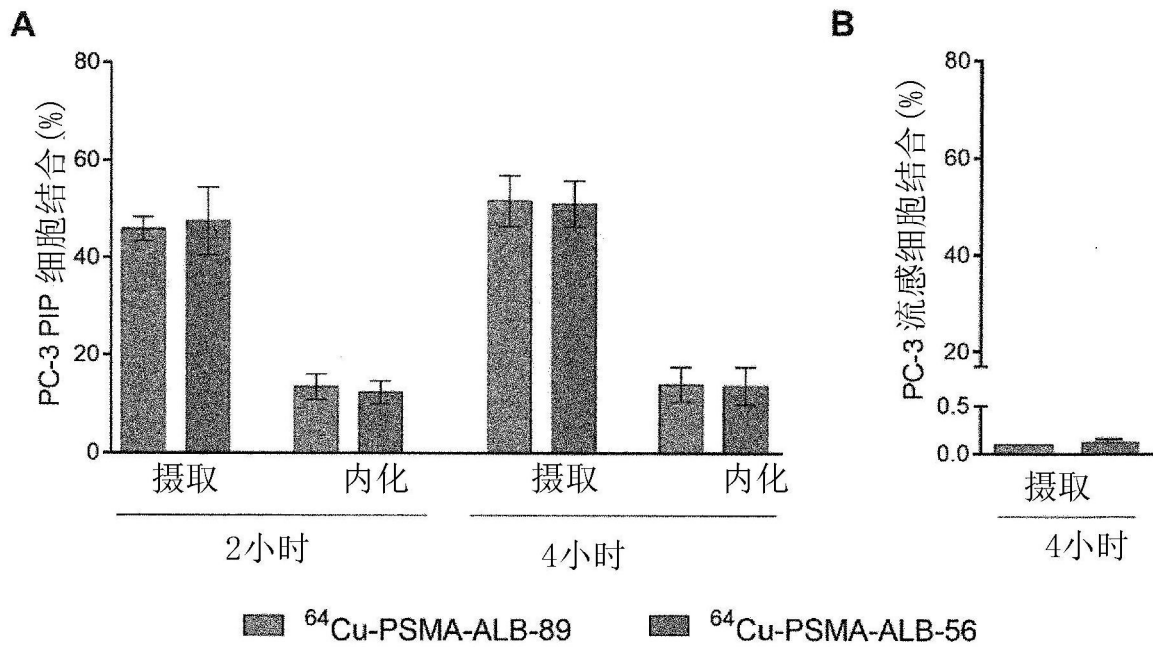


图15



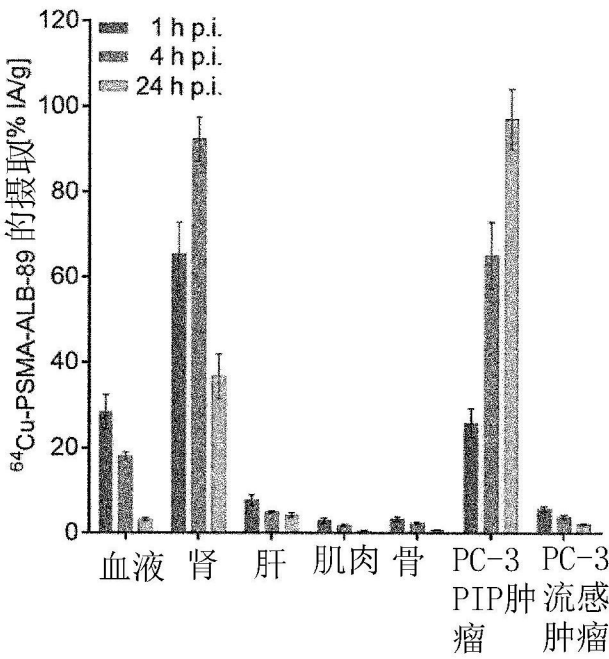


图16

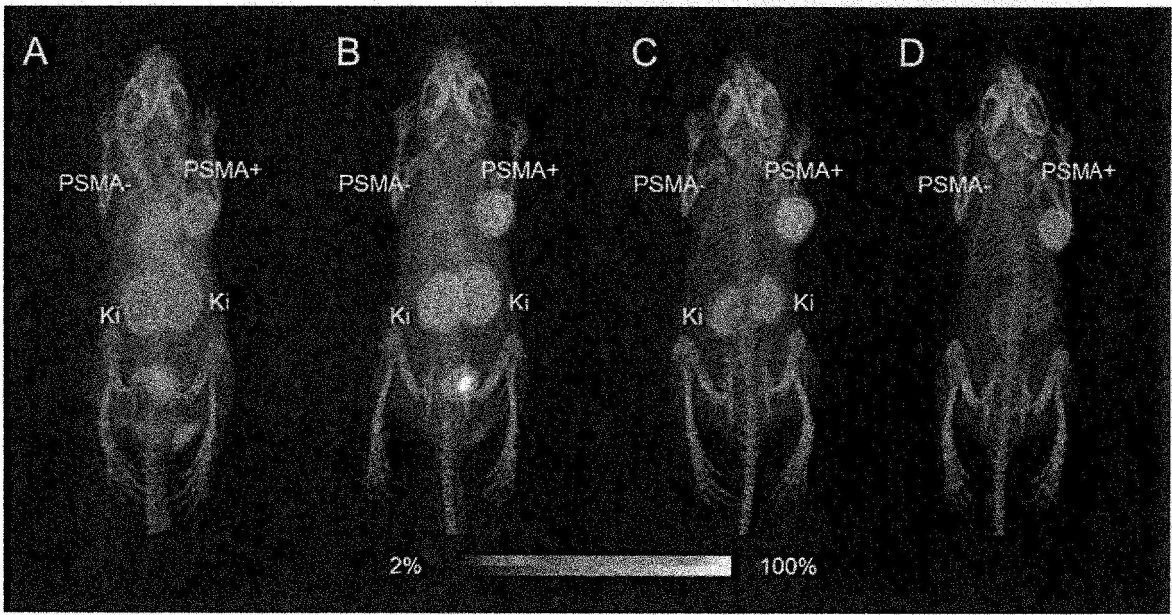


图17



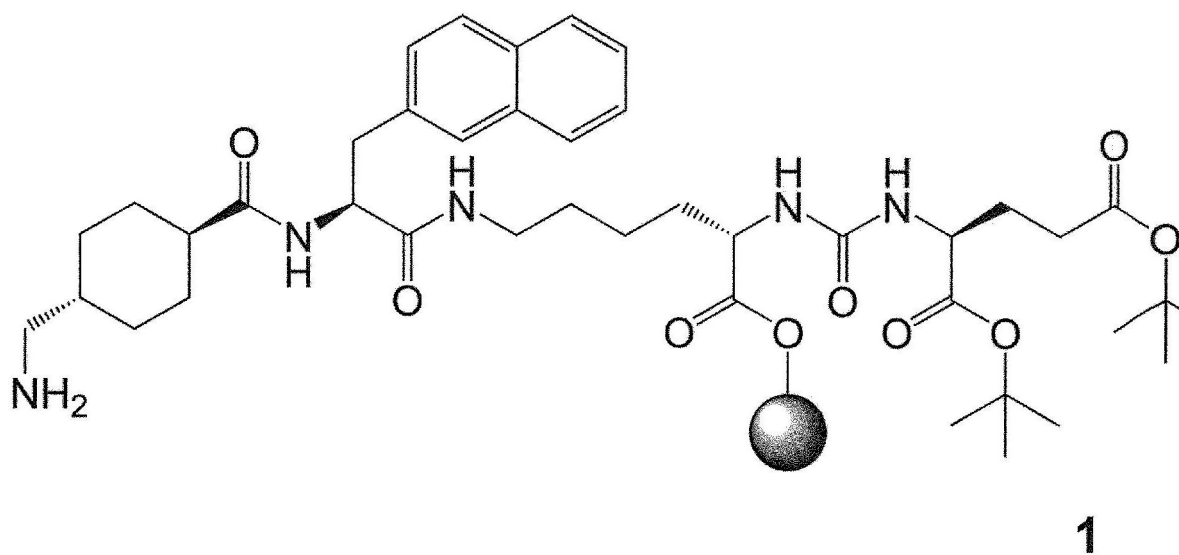
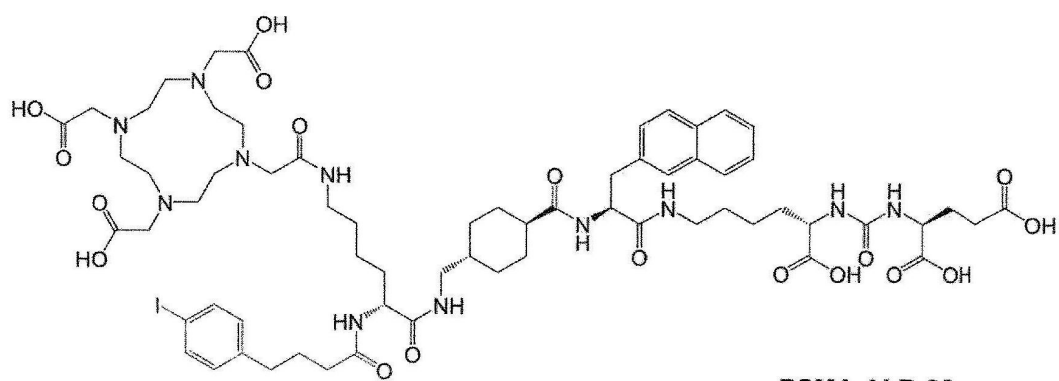


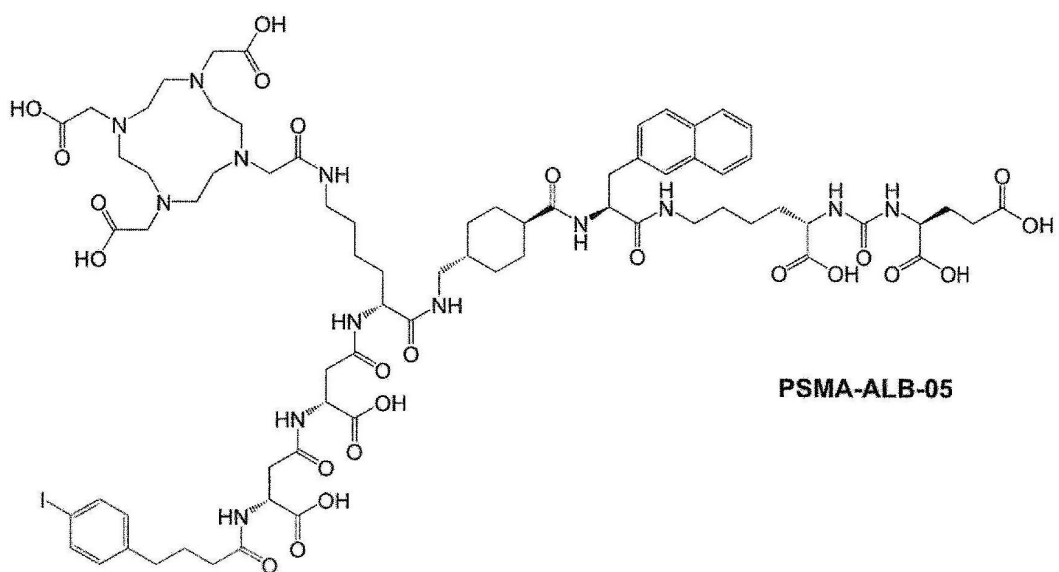
图18

A



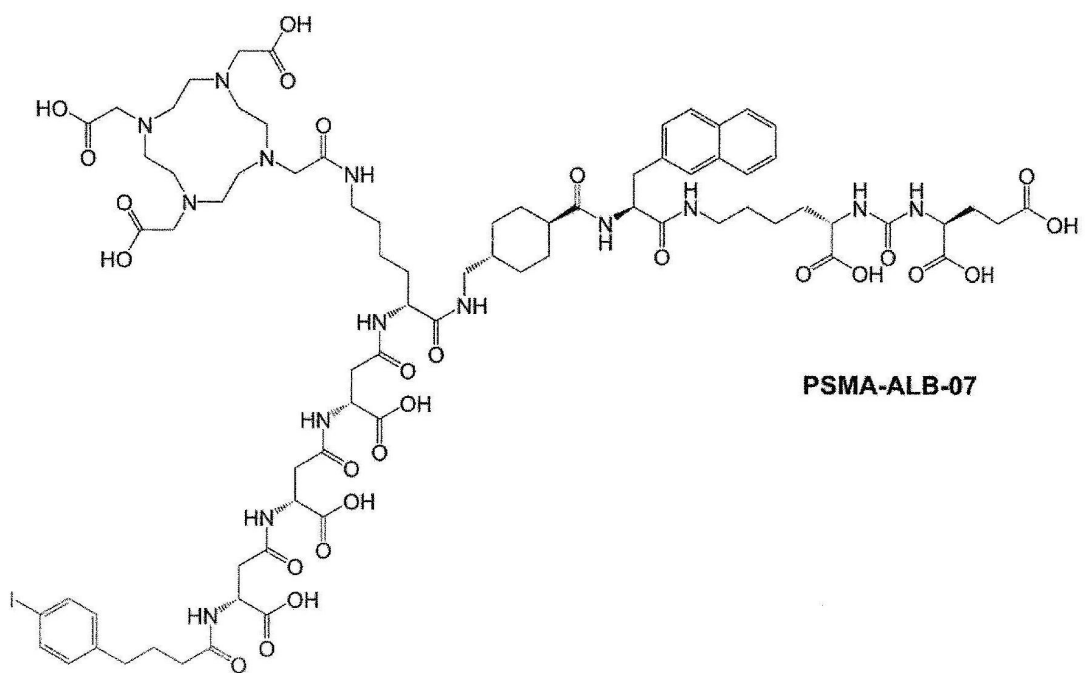
PSMA-ALB-02

B



PSMA-ALB-05

C



PSMA-ALB-07

图19

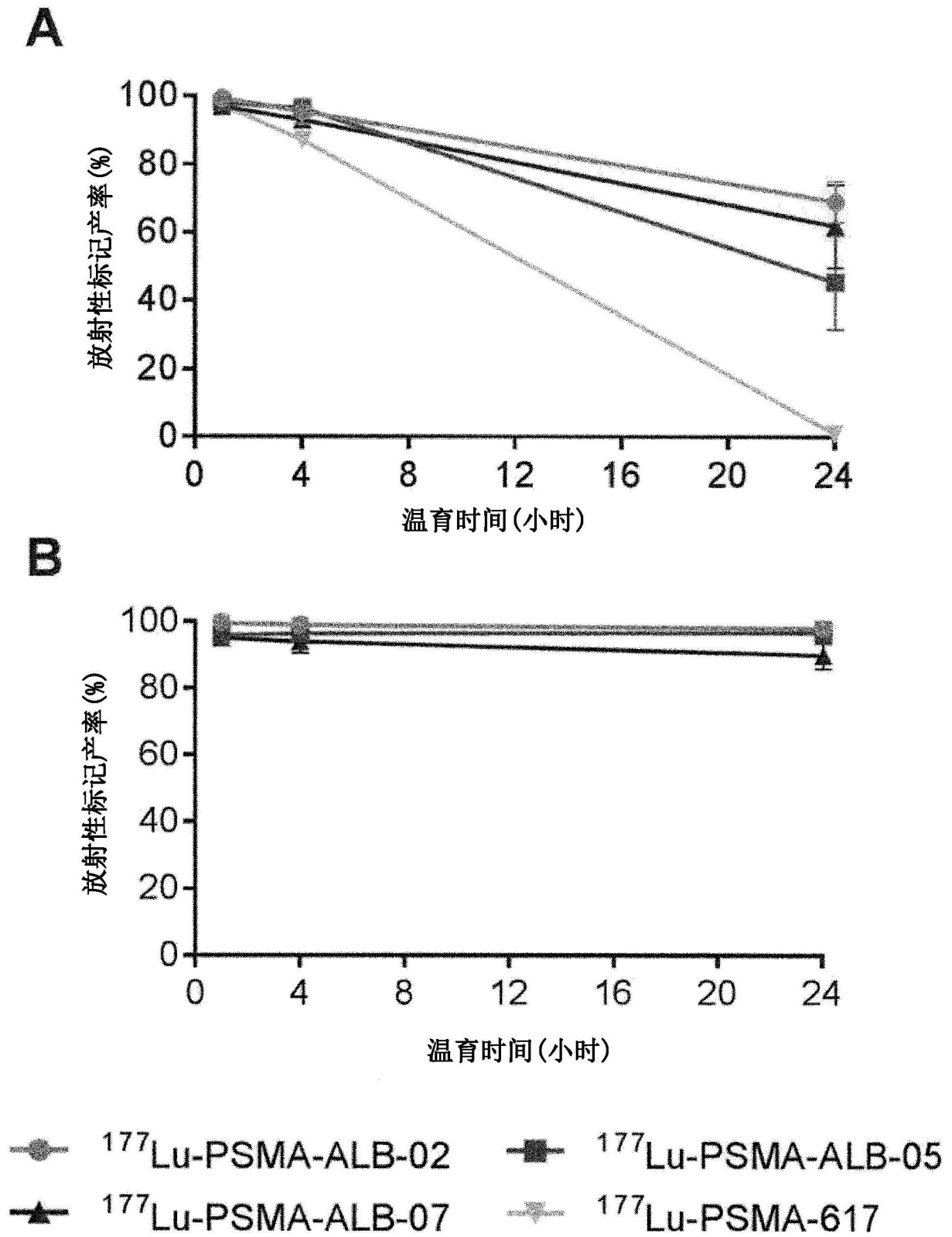


图20

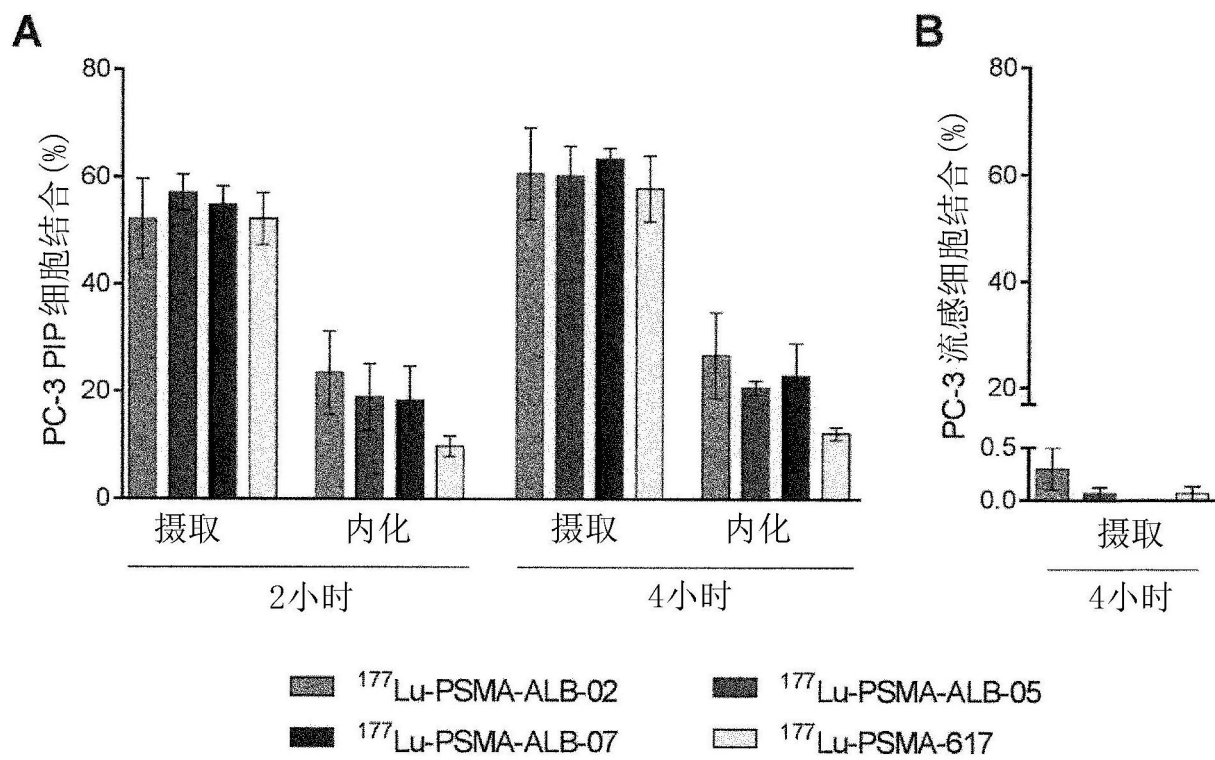


图21

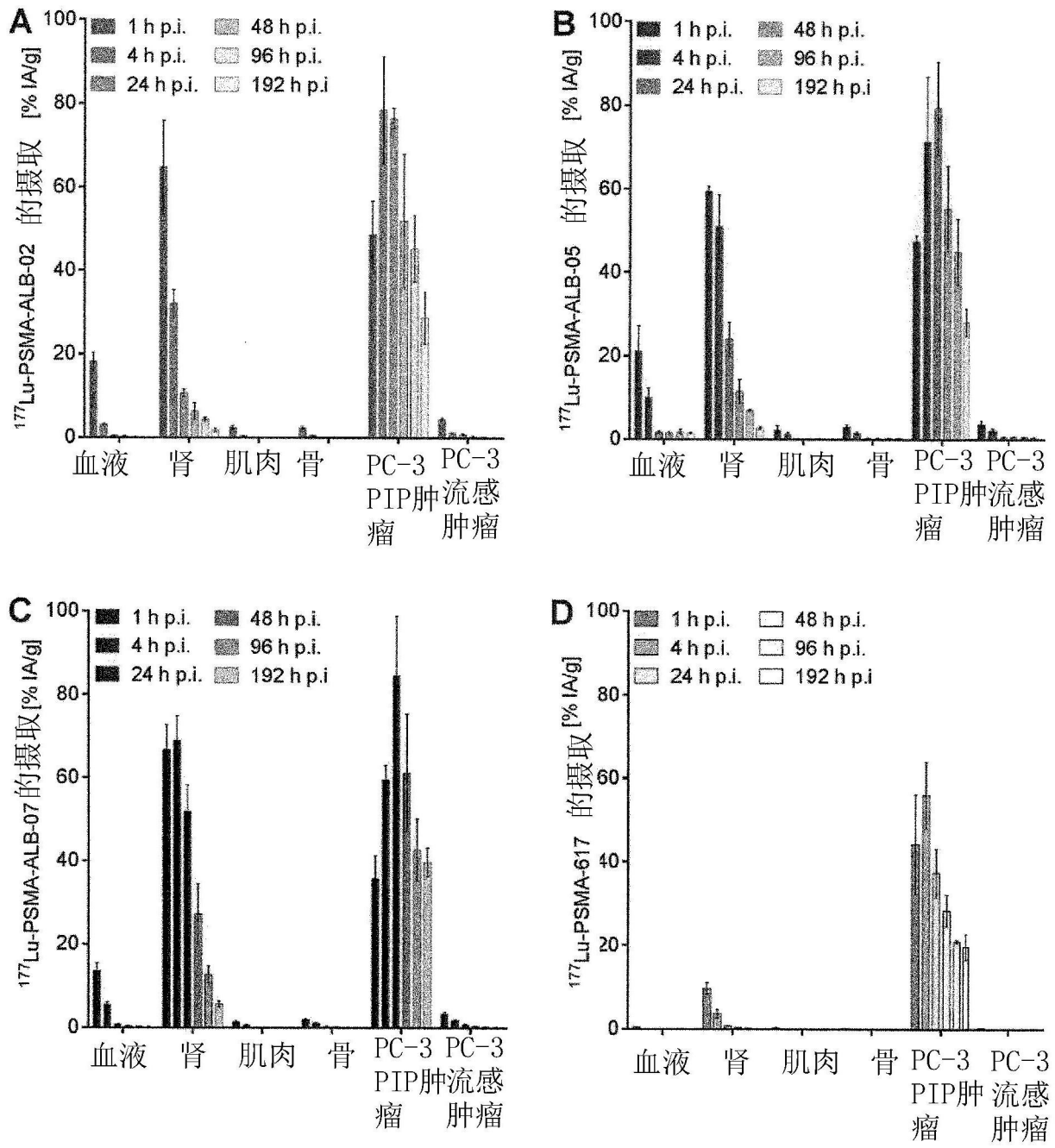


图22

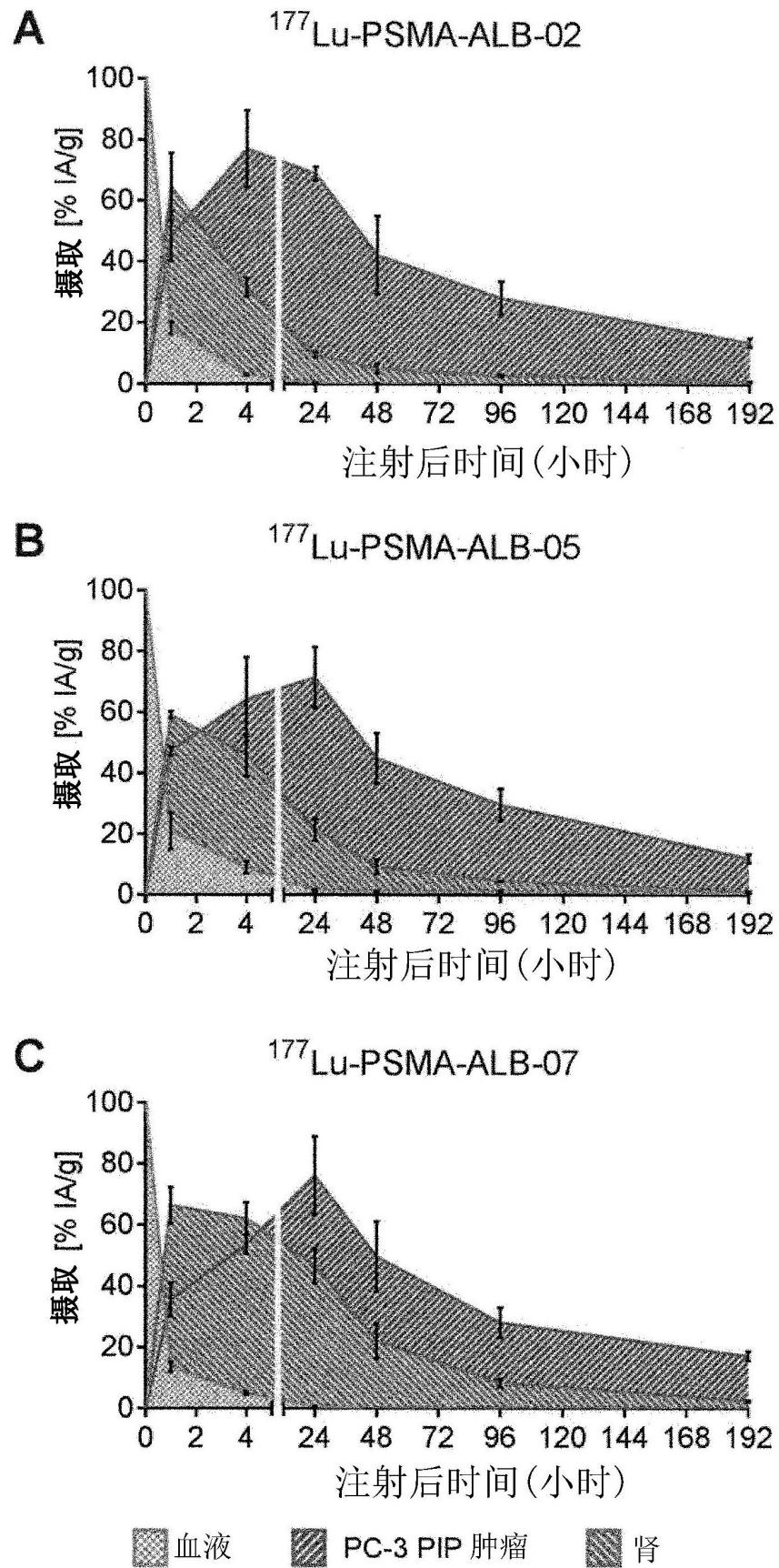


图23

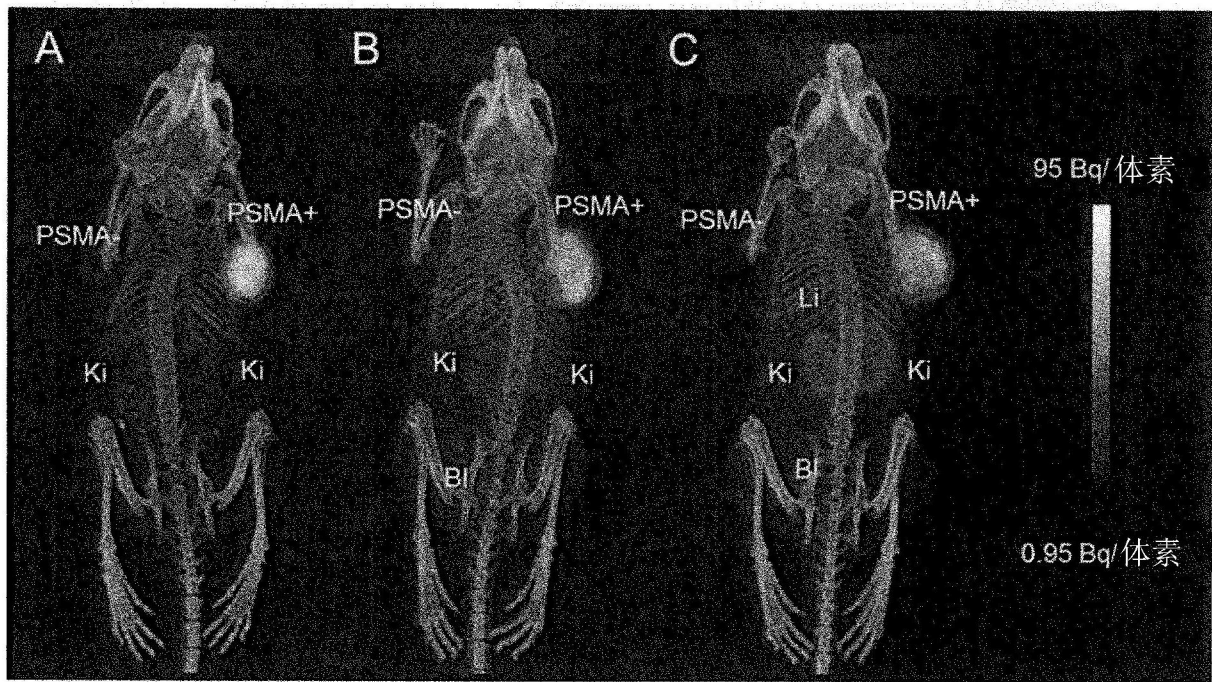


图24

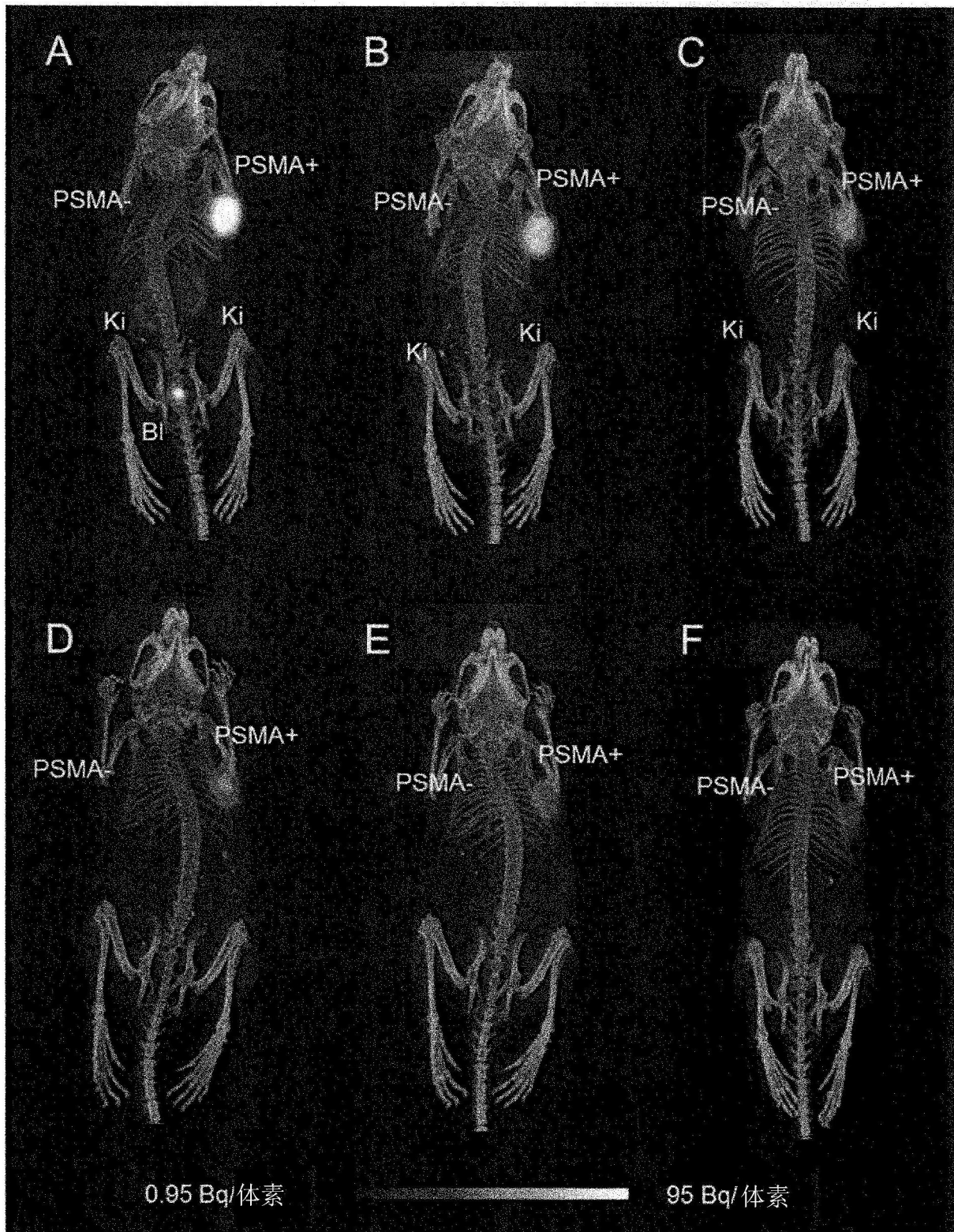


图25



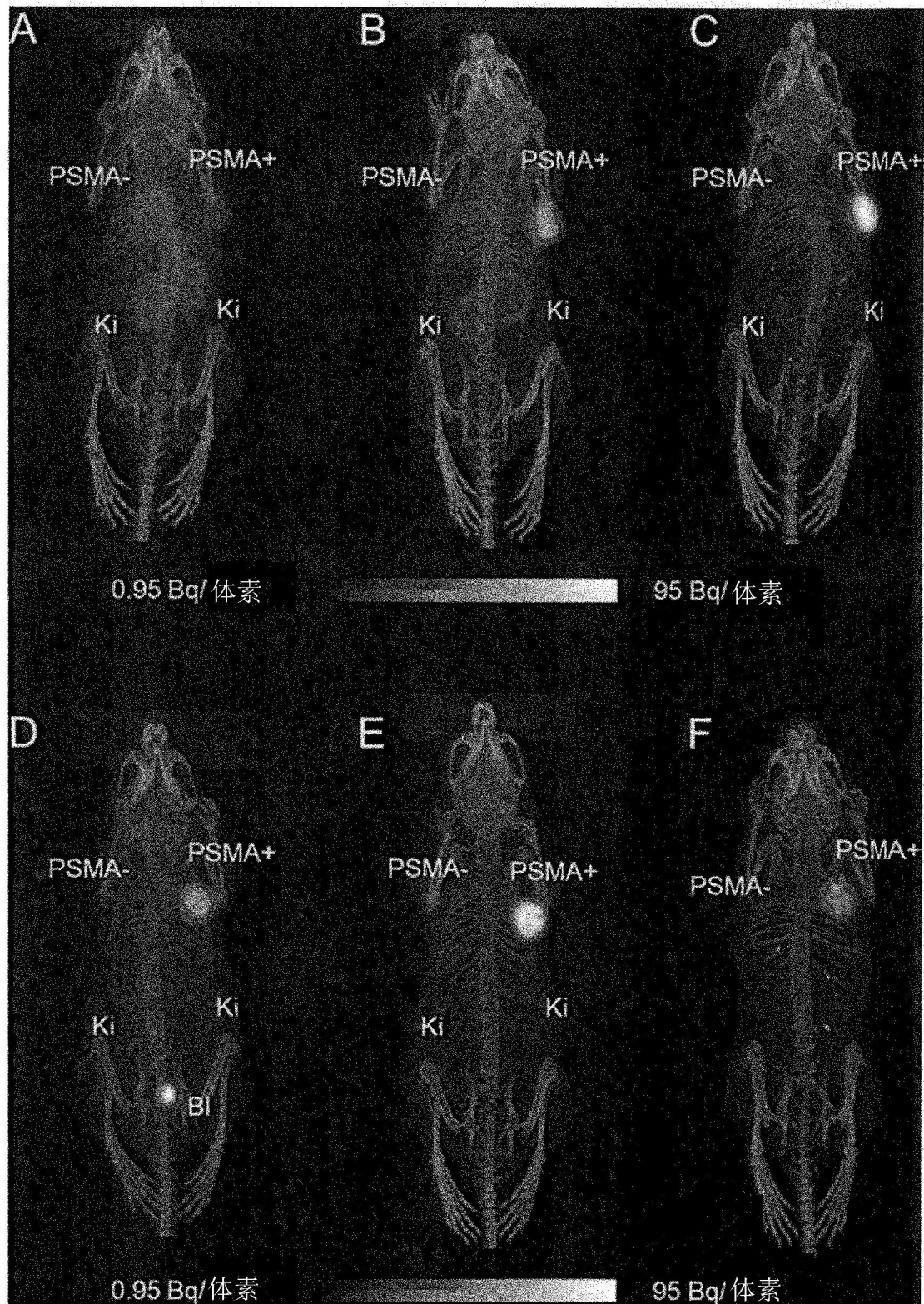


图26

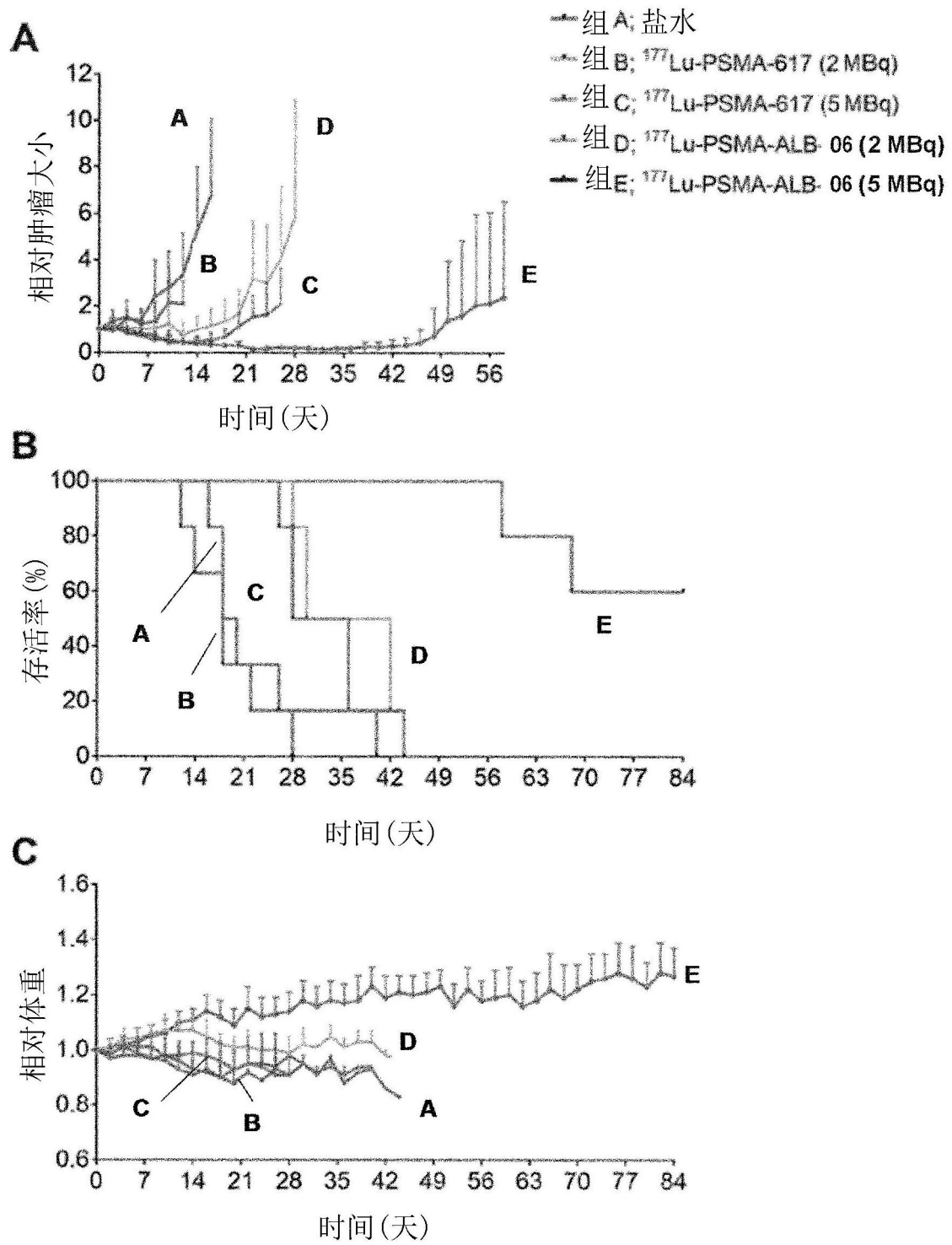


图27