(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114341118 A
(43)申请公布日 2022.04.12

(21)申请号 202080047295.1
(22)申请日 2020.06.30
(30)优先权数据
19184015.6 2019.07.02 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.12.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/068386 2020.06.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/001360 EN 2021.01.07
(71)申请人 先进加速器应用意大利公司
地址 意大利伊塞尔尼亚
申请人 约翰斯霍普金斯大学
(72)发明人 M·F·马里亚尼 L·富加扎 D·奇科 M·G·庞培 S·拉伊
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 胡晨曦 黄革生
(51)Int.Cl.
*C07D 257/02*(2006.01)
*C07F 5/00*(2006.01)
*A61K 31/395*(2006.01)
*A61P 35/00*(2006.01)
*A61K 51/04*(2006.01)

权利要求书5页 说明书24页 附图3页

(54)发明名称

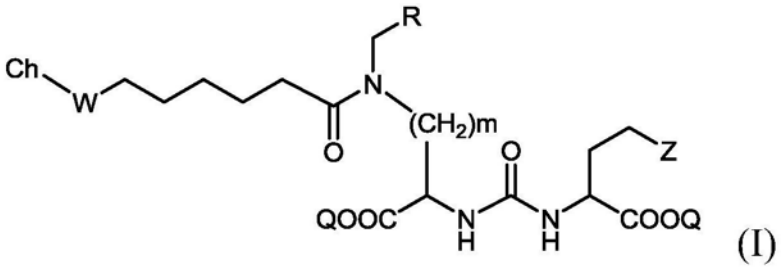
# 前列腺特异性膜抗原(PSMA)配体及其用途

(57)摘要

本披露内容涉及前列腺特异性膜抗原(PSMA)配体。特别地,本披露内容涉及具有谷氨酸-脲-赖氨酸(GUL)部分和可包含放射性金属的螯合剂的PSMA配体。本披露内容还涉及这些化合物在成像和前列腺癌治疗中的用途。

CN 114341118 A

1.一种具有式(I)的化合物：




(I)

其中：

Z是四唑或COOQ，优选地Z是COOQ；

Q是H或保护基团团，优选地Q是H；

m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数，优选地m是4；

R选自由取代的芳基、取代的吡啶和未取代的异喹啉组成的组；

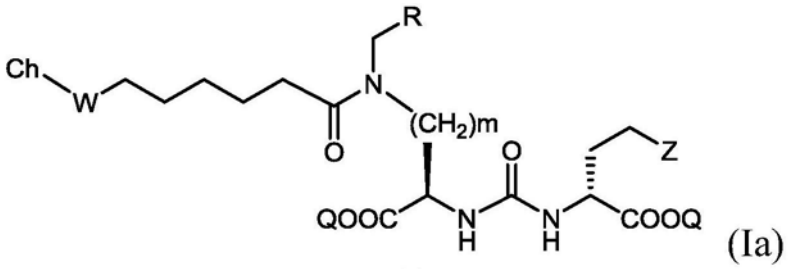
W选自由-$NR^2$-(C＝O)、-$NR^2$-(C＝S)、-(C＝O)-$NR^2$-和-(C＝S)-$NR^2$-组成的组，优选地，W是-(C＝O)-$NR^2$-；

$R^2$是H或C1-C4烷基，优选地$R^2$是H；

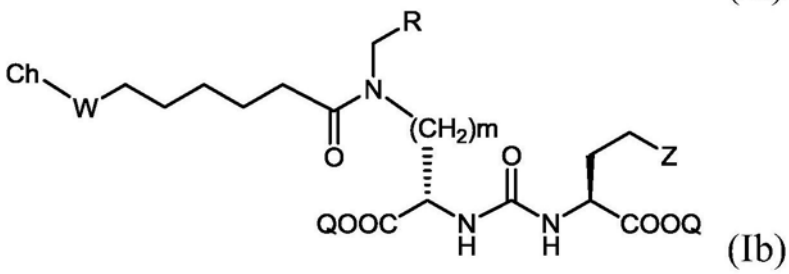
Ch是任选地包含金属或放射性金属的螯合剂；

及其药学上可接受的盐。

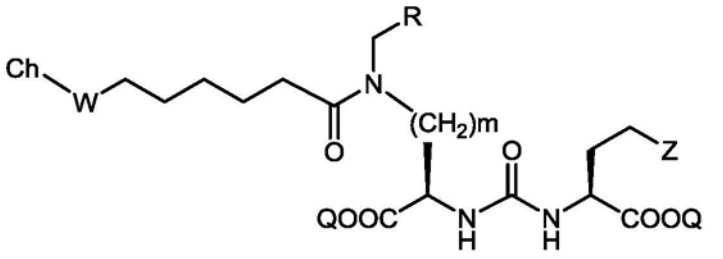
2.根据权利要求1所述的具有式(I)的化合物，其中所述化合物是具有式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)的化合物：



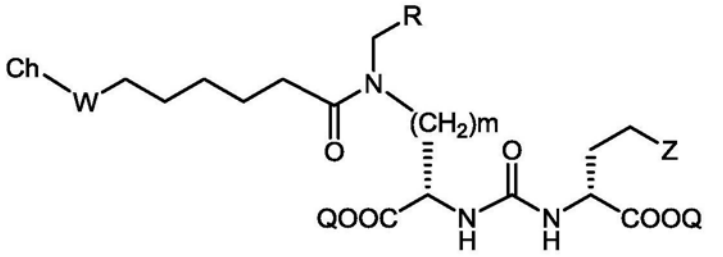

(Ia)




(Ib)



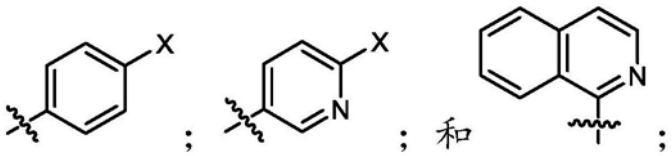

(Ic)




(Id)。

3.根据权利要求1或2所述的具有式(I)的化合物,其中R选自由以下组成的组:被一个或多个卤素取代的芳基、被一个或多个卤素取代的吡啶和未取代的异喹啉。

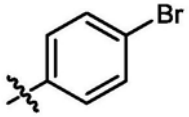
4.根据权利要求1至3所述的具有式(I)的化合物,其中R选自由以下组成的组:




; ; 和 ;

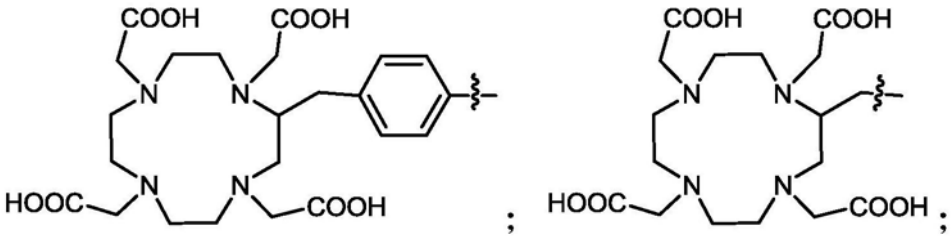
其中X独立地是Br或I。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的具有式(I)的化合物,其中R是

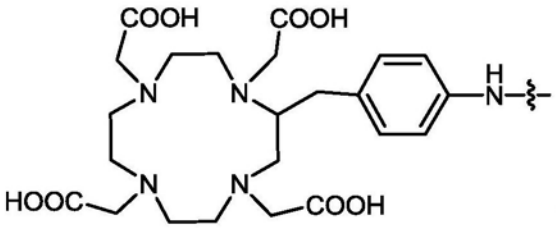


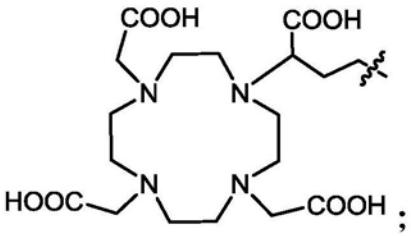

。

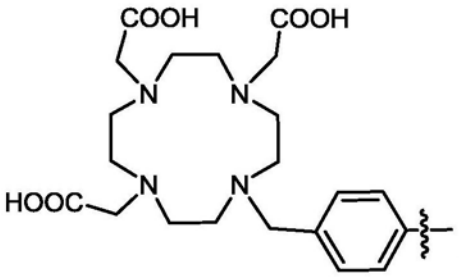
6.根据权利要求1至5中任一项所述的具有式(I)的化合物,其中Ch选自由以下组成的组:

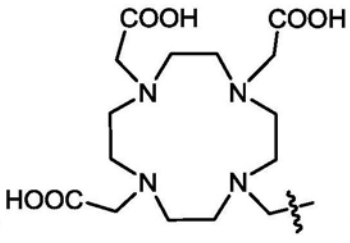



; ;


；


；


；和


；

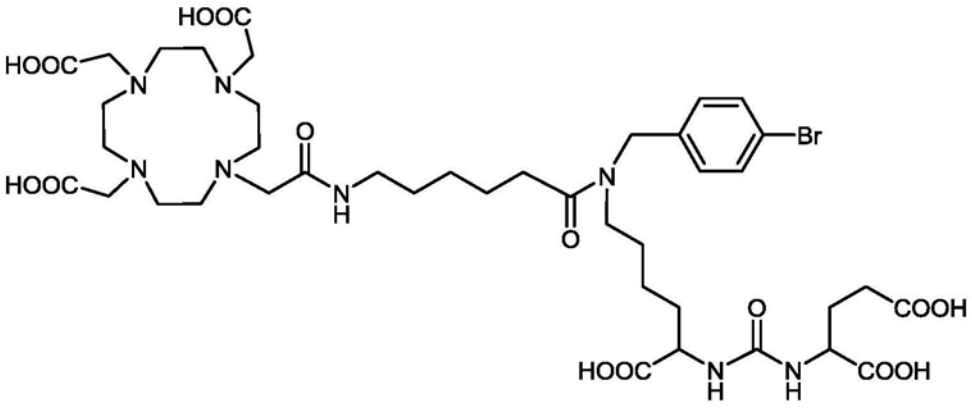
并且任选地包含金属或放射性金属。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的具有式(I)的化合物，其中Ch包含选自Y、Lu、Tc、Zr、In、Sm、Re、Cu、Pb、Ac、Bi、Al、Ga、Re、Ho和Sc的金属。

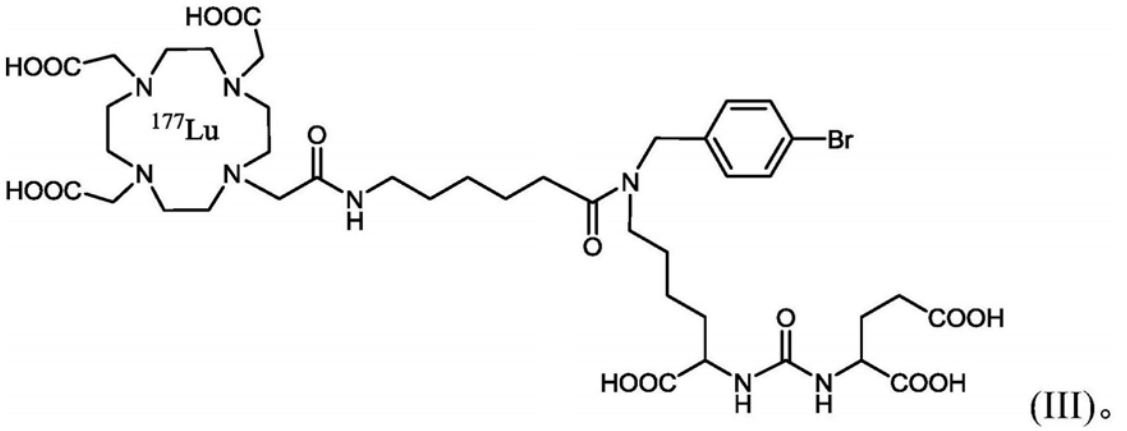
8.根据权利要求7所述的具有式(I)的化合物，其中所述金属是选自$^{68}$Ga、$^{64}$Cu、$^{86}$Y、$^{90}$Y、$^{89}$Zr、$^{111}$In、$^{99m}$Tc、$^{177}$Lu、$^{153}$Sm、$^{186}$Re、$^{188}$Re、$^{67}$Cu、$^{212}$Pb、$^{225}$Ac、$^{213}$Bi、$^{212}$Bi、$^{212}$Pb、$^{67}$Ga、$^{203}$Pb、$^{47}$Sc和$^{166}$Ho的放射性金属。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的具有式(I)的化合物，其中所述化合物在荷瘤动物或人体内的分布方式是使得静脉内注射所述化合物后1小时，肿瘤比肾的比率是至少5。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物，其中所述化合物是具有式(II)的化合物：

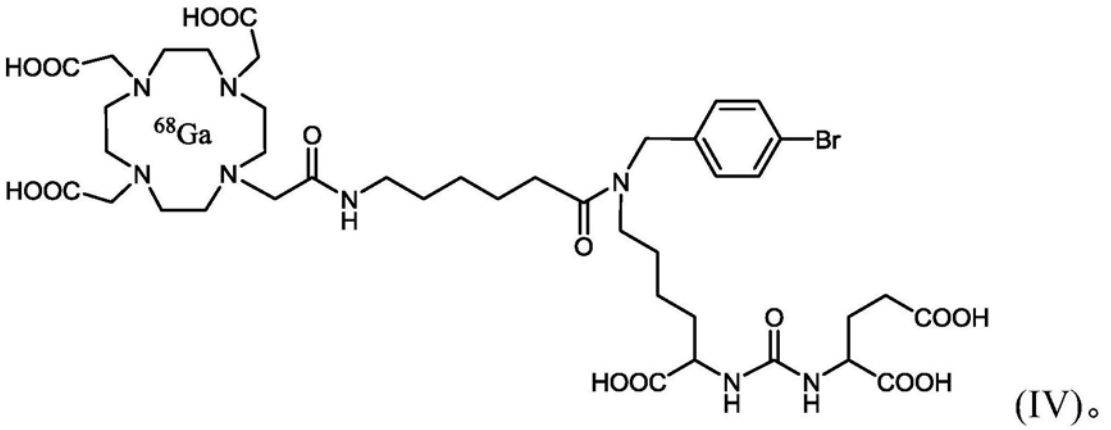

(II)。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的具有式(I)的化合物，其中所述化合物是具有式(III)的化合物：




(III)。

12.根据权利要求1至10中任一项所述的具有式(I)的化合物,其中所述化合物是具有式(IV)的化合物:




(IV)。

13.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物,和至少一种药学上可接受的载剂。

14.根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物,其用于作为药物使用。

15.根据权利要求14所述使用的化合物,其用于在治疗癌症中使用。

16.根据权利要求14或15所述使用的化合物,其用于在治疗前列腺癌中使用。

17.根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物,其用于在成像中使用。

18.根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物,其用于在诊断中使用,通常用于在诊断癌症障碍,例如表达PSMA的癌症中使用。

19.一种治疗癌症的方法,所述方法包括使癌细胞与治疗有效量的根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物接

触。

20.一种成像方法,所述方法包括使癌细胞与有效量的根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物接触。

21.一种用于诊断和/或检测受试者中癌细胞或表达PSMA的肿瘤或细胞的方法,所述方法包括向所述受试者,优选人施用治疗有效量的根据权利要求1至9中任一项所述的具有式(I)的化合物、根据权利要求10所述的具有式(II)的化合物、根据权利要求11所述的具有式(III)的化合物或根据权利要求12所述的具有式(IV)的化合物,并检测源自所述化合物中存在的放射性金属的衰变的信号。

# 前列腺特异性膜抗原(PSMA)配体及其用途

## 技术领域

[0001] 本披露内容涉及前列腺特异性膜抗原(PSMA)配体。特别地,本披露内容涉及具有谷氨酸-脲-赖氨酸(GUL)部分和可包含放射性金属的螯合剂的PSMA配体。

[0002] 本披露内容还涉及这些化合物在成像和前列腺癌治疗中的用途。

## 背景技术

[0003] 前列腺癌是美国和欧洲最普遍的癌症之一。特别是,转移性前列腺癌(mCRPC)与预后不良和生活质量下降有关。

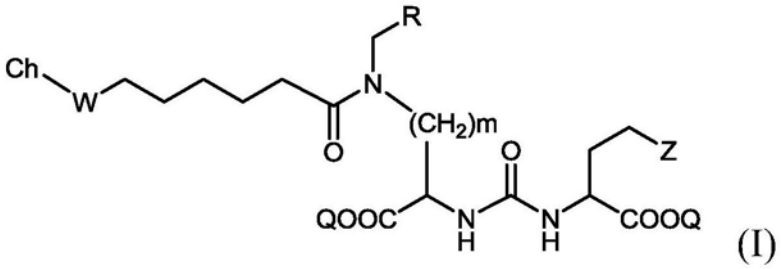
[0004] 最近,治疗前列腺癌的新开发流以基于PSMA配体的内放疗为代表,因为PSMA被认为是成像和疗法的合适靶点,这是由于它在原发癌病变和软组织/骨转移性疾病中过度表达。此外,PSMA表达似乎在该疾病最具侵袭性的去势抵抗性变体(这代表了医疗需求未得到满足的患者群体)中更高。(Marchal等人,Histol Histopathol[组织学和组织病理学],2004年7月;19(3):715-8;Mease等人,Curr Top Med Chem[药物化学的当前主题],2013,13(8):951-62)。

[0005] 在许多靶向PSMA的小分子配体中,基于脲的低分子量药剂是研究最广泛的配体。这些药剂被证明适用于前列腺癌临床评估以及PRRT疗法(Kiess等人,Q J Nucl Med Mol Imaging[核医学与分子成像季刊],2015;59:241-68)。这些药剂中的一些以谷氨酸-脲-赖氨酸(GUL)作为靶向支架。按照在螯合剂和GUL部分之间附接接头的策略创建了一类分子。这种方法允许脲到达结合位点,同时将金属螯合部分保持在结合位点的外部。该策略在异种移植PSMA阳性肿瘤中取得成功,因为它表现出高摄取和保留以及快速的肾清除(Banerjee等人,J Med Chem[药物化学杂志],2013;56:6108-21)。

[0006] 然而,这些化合物中的一些在不同器官(如肾脏)中仍显示出高摄取,这会在人类患者中引起毒性。因此,需要开发在不同器官中具有低摄取的新PSMA配体。

## 发明内容

[0007] 在第一方面,本披露内容涉及具有式(I)的化合物:

[0008] 

(I)

[0009] 其中:

[0010] Z是四唑或COOQ,优选地Z是COOQ;

[0011] Q是H或保护基团,优选地Q是H;

[0012] m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数,优选地m是4;

[0013] R选自由取代的芳基、取代的吡啶和未取代的异喹啉组成的组；

[0014] W选自由-$NR^2$-(C=O)、-$NR^2$-(C=S)、-(C=O)-$NR^2$-和-(C=S)-$NR^2$-组成的组，优选地，W是-(C=O)-$NR^2$-；

[0015] $R^2$是H或C1-C4烷基，优选地$R^2$是H；

[0016] Ch是任选地包含金属或放射性金属的螯合剂；

[0017] 及其药学上可接受的盐。

[0018] 谷氨酸-脲-赖氨酸(GUL)部分和螯合剂Ch之间的接头包含$C_5$-烷基链，其使得经放射性标记的分子在不同器官中的摄取较低，同时具有良好的肿瘤比肾的比率。这种低摄取表明这些类型的分子在人类患者中的毒性降低。此外，当用于成像时，肿瘤比肾的高比率表明肿瘤的良好可视化。

[0019] 在第二方面，本披露内容涉及包含具有式(I)的化合物和至少一种药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0020] 在第三方面，本披露内容涉及用作药物的具有式(I)的化合物。

[0021] 在第四方面，本披露内容涉及用于治疗癌症，尤其是前列腺癌的具有式(I)的化合物。

[0022] 在第五方面，本披露内容涉及用于成像的具有式(I)的化合物。

[0023] 在第六方面，本披露内容还涉及治疗前列腺癌的方法，该方法包括使癌细胞与有效量的具有式(I)的化合物接触。

[0024] 在第七方面，本披露内容还涉及成像方法，该方法包括使癌细胞与有效量的具有式(I)的化合物接触。

## 附图说明

[0025] 图1显示了根据实例1，$^{68}$Ga-PSMA-R2在健康CD-1小鼠中的生物分布(平均值±SD)。

[0026] 图2显示了根据实例1，$^{68}$Ga-PSMA-R2在健康CD-1小鼠(膀胱和肾脏)中的生物分布(平均值±SD)。

[0027] 图3显示了根据实例2，携带PSMA阳性肿瘤(PIP)和阴性肿瘤(Flu)的无胸腺裸鼠中的$^{68}$Ga-PSMA-R2生物分布(平均值±SD)。

[0028] 图4显示了根据实例2，携带PSMA阳性肿瘤(PIP)和阴性肿瘤(Flu)的无胸腺裸鼠中的$^{68}$Ga-PSMA-cpd 2生物分布(平均值±SD)。

[0029] 图5显示了根据实例3，携带肿瘤PSMA阳性(PIP)的无胸腺裸鼠中的$^{177}$Lu-PSMA-R2和$^{177}$Lu-PSMA-617功效研究。

## 具体实施方式

[0030] 定义

[0031] 如本文所用，关于具有式(I)的化合物的术语“保护基团”是指化学取代基，其可被容易获得的试剂选择性地去除，所述试剂不会攻击分子中的再生官能团或其他官能团。合适的保护基团是本领域已知的并且正在继续开发。合适的保护基团可以在例如Wutz等人中找到。(“Greene的Protective Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团]，第四版，”Wiley-Interscience[威利-跨科学出版社]，2007)。在某些实施例中使用如Wutz

等人所述(第533-643页)的用于保护羧基的保护基团。在一些实施例中,保护基团可通过酸处理去除。

[0032] 保护基团的代表性示例包括但不限于苄基、对甲氧基苄基(PMB)、叔丁基(t-Bu)、甲氧基甲基(MOM)、甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、四氢吡喃基(THP)、四氢呋喃基(THF)、苄基氧基甲基(BOM)、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)和三苯基甲基(三苯甲基,Tr)。本领域技术人员会认识到需要保护基团的适当情况,并且能够选择适当的保护基团用于特定情况。

[0033] 如本文所用,术语"芳基"是指多不饱和芳族烃基,其具有单环或稠合在一起的多个芳族环,含有6至10个环原子,其中至少一个环是芳族的。芳族环可任选地包括与其稠合的一到两个另外环(如本文定义的环烷基、杂环基或杂芳基)。合适的芳基包括苯基、萘基和与杂环基稠合的苯环,如苯并吡喃基、苯并间二氧杂环戊烯基、苯并二氧杂环己烷基等。

[0034] 如本文所用,术语"取代的芳基"和"取代的吡啶"是指被一个或多个选自以下的取代基取代的如上定义的芳基或吡啶:卤素、-OR'、-NR'R"、-SR'、-SiR'R"R'"、-OC(O)R'、-C(O)R'、-$CO_2$R'、-C(O)NR'R"、-OC(O)NR'R"、-NR"C(O)R'、-NR'-C(O)NR"R'"、-NR"C(O)OR'、-NR-C(NR'R"R'")=NR""、-NR-C(NR'R")=NR'"、-S(O)R'、-$S(O)_2$R'、-$S(O)_2$NR'R"、-$NRSO_2$R'、-CN、-$NO_2$、-R'、-$N_3$、-$CH(Ph)_2$、氟($C_1$-$C_4$)烷氧基和氟($C_1$-$C_4$)烷基,其数目范围从零到芳族环系统上的开环化合价的总数;其中R'、R"、R'"和R""可以独立地选自氢、烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基。当本披露内容的化合物包含多于一个R基团时,例如,当存在多于一个这些基团时,每个R基团被独立地选择为每个R'、R"、R'"和R""基团。

[0035] 如本文所用,术语"烷基"本身或作为另一取代基的一部分是指具有1至6个碳原子的直链或支链烷基官能团。合适的烷基包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基、戊基及其异构体(例如正戊基、异戊基)和己基及其异构体(例如正己基、异己基)。

[0036] 如本文所用,术语"杂烷基"是指具有1至6个碳原子和1至3个选自由O、N、Si和S组成的组的杂原子的直链或支链烷基官能团,并且其中氮和硫原子可任选地被氧化并且氮杂原子可任选地被季铵化。一个或多个杂原子O、N和S可位于杂烷基的任何内部位置或烷基与分子其余部分连接的位置。

[0037] 如本文所用,术语"环烷基"是指具有3至6个碳原子的饱和的或不饱和的环状基团。合适的环烷基包括环丙基、环丁基、环戊基和环己基。

[0038] 如本文所用,术语"卤素"是指氟(-F)、氯(-Cl)、溴(-Br)或碘(-I)基团。

[0039] 如本文所用,术语"烷氧基"是指-O-烷基,其中该烷基是如本文所定义的$C_1$-$C_6$烷基。合适的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基。

[0040] 如本文所用,术语"杂芳基"是指多不饱和芳族环系统,其具有稠合在一起或共价连接的单个环或多个芳族环,含有5至10个原子;其中至少一个环是芳族的并且至少一个环原子是选自N、O和S的杂原子。氮和硫杂原子可以任选地被氧化并且氮杂原子可以任选地被季铵化。此类环可稠合至芳基、环烷基或杂环基环。此类杂芳基的非限制性示例包括:呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、三唑基、噁二唑基、噻二唑基、四唑基、噁三唑基、噻三唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、噁嗪基、二噁嗪基、噻嗪基、三嗪基、吲哚基、异吲哚基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、异苯并

噻吩基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、嘌呤基、苯并噻二唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、喹唑啉基和喹喔啉基。

[0041] 如本文所用，术语“杂环基”或“杂环烷基”是指具有5至10个环原子的饱和的或不饱和的环状基团，其中至少一个环原子是选自N、O和S的杂原子。氮和硫杂原子可以任选地被氧化并且氮杂原子可以任选地被季铵化。杂环的示例包括但不限于四氢吡啶基、哌啶基、吗啉基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、哌嗪基、1-氮杂环庚烷基、咪唑啉基、1,4-二噁烷基等。

[0042] 本文描述了本披露内容的多种实施例。应认识到，每个实施例中指定的特征可以与其他指定特征组合以提供另外的实施例。

[0043] 本披露内容包括具有式(I)、(II)、(III)和(IV)的化合物、它们的立体异构体、互变异构体、对映异构体、非对映异构体、外消旋体或其混合物，以及它们的水合物、溶剂化物或药学上可接受的盐。

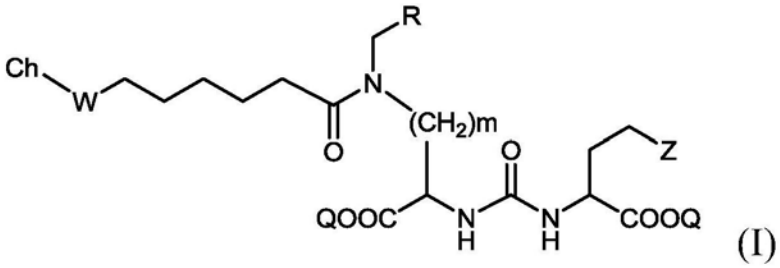
[0044] 术语“药学上可接受的盐”是指保留本披露内容化合物的生物有效性和特性，并且典型地不是生物学上或其他方面不希望的盐。

[0045] “药学上的”或“药学上可接受的”是指当适当地施用于哺乳动物特别是人时不产生不良反应、过敏反应或其他不想要的反应的分子实体和组合物。药学上可接受的载剂或赋形剂是指无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或任何类型的配制助剂。

[0046] 如本文所用，术语“受试者”是指动物，优选哺乳动物，更优选人。

[0047] 具有式(I)的化合物

[0048] 在第一方面，本披露内容涉及具有式(I)的化合物：

[0049] 

(I)

[0050] 其中：

[0051] Z是四唑或COOQ，优选地Z是COOQ；

[0052] Q是H或保护基团，优选地Q是H；

[0053] m是选自由1、2、3、4和5组成的组的整数，优选地m是4；

[0054] R选自由取代的芳基、取代的吡啶和未取代的异喹啉组成的组；

[0055] W选自由-$NR^2$-(C=O)、-$NR^2$-(C=S)、-(C=O)-$NR^2$-和-(C=S)-$NR^2$-组成的组，优选地，W是-(C=O)-$NR^2$-；

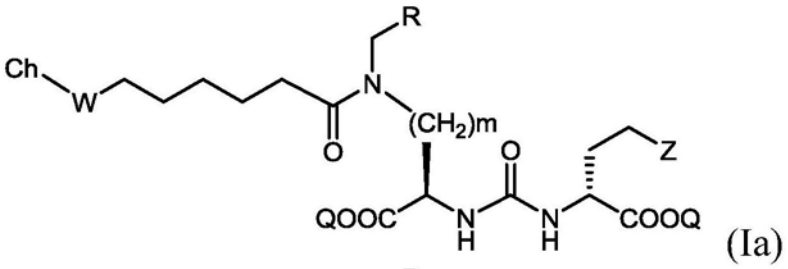
[0056] $R^2$是H或C1-C4烷基，优选地$R^2$是H；

[0057] Ch是任选地包含金属或放射性金属的螯合剂；

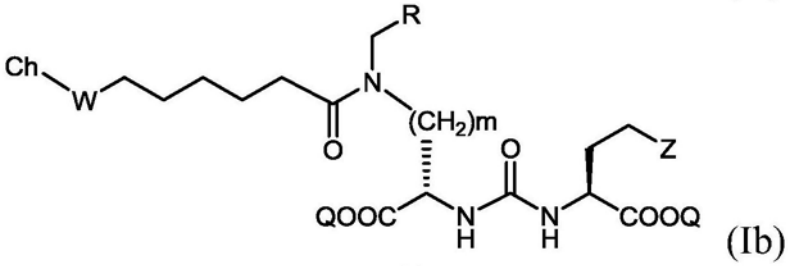
[0058] 及其药学上可接受的盐。

[0059] 具有式(I)的化合物包括具有式(Ia)、(Ib)、(Ic)和(Id)的立体异构体：

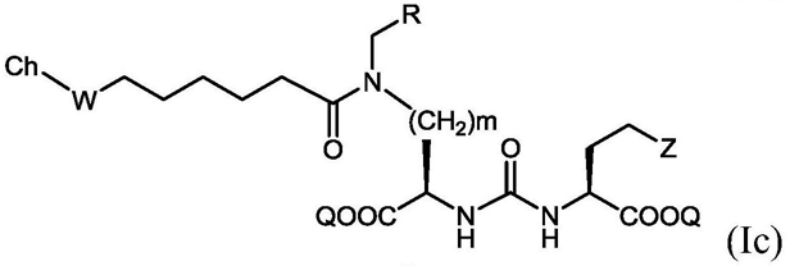
[0060]



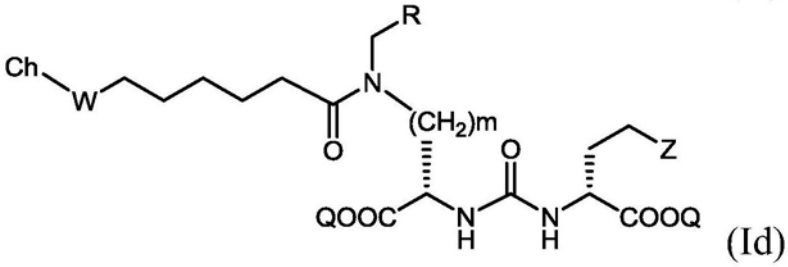

(Ia)




(Ib)



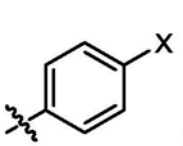

(Ic)

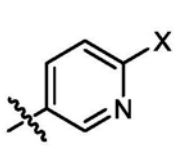


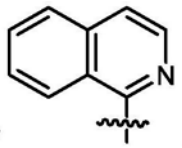

(Id)

[0061] 根据一个实施例,R选自由以下组成的组:被一个或多个卤素取代的芳基、被一个或多个卤素取代的吡啶和未取代的异喹啉。

[0062] 根据一个具体的实施例,R选自由以下组成的组:

[0063] 

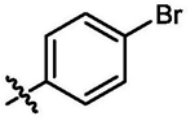
; 

; 和 

;

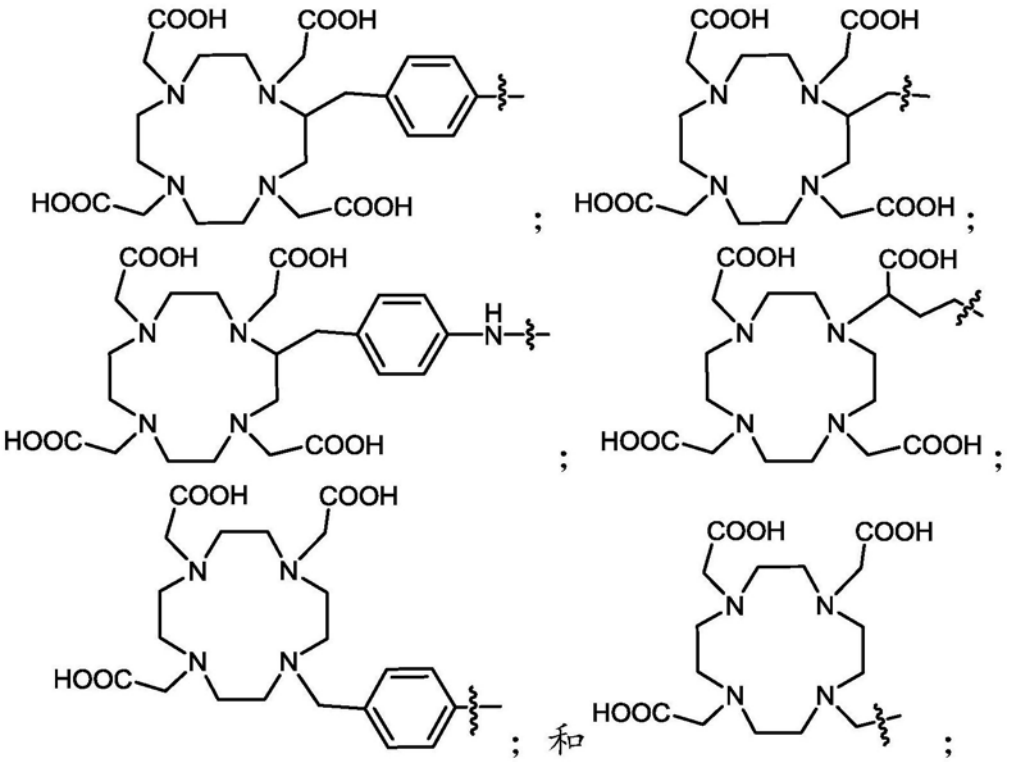
[0064] 其中X独立地是Br或I。

[0065] 有利地,R是

[0066] 

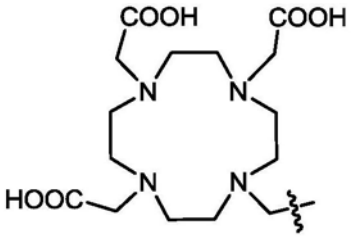
。

[0067] Ch可以选自由以下组成的组:

[0068] 

[0069] 并且任选地包含金属或放射性金属。

[0070] 根据一个具体实施例,Ch是

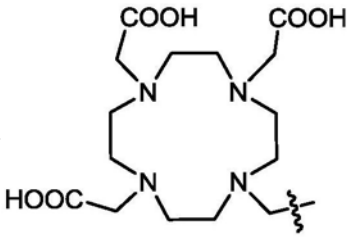
[0071]  并且任选地包含金属或放射性金属。

[0072] 金属或放射性金属优选选自适用于成像方法或疗法中的金属和放射性金属。

[0073] 根据一个实施例,Ch包括选自Y、Lu、Tc、Zr、In、Sm、Re、Cu、Pb、Ac、Bi、Al、Ga、Re、Ho和Sc的金属。金属可以是选自$^{68}$Ga、$^{64}$Cu、$^{86}$Y、$^{90}$Y、$^{89}$Zr、$^{111}$In、$^{99m}$Tc、$^{177}$Lu、$^{153}$Sm、$^{186}$Re、$^{188}$Re、$^{67}$Cu、$^{212}$Pb、$^{225}$Ac、$^{213}$Bi、$^{212}$Bi、$^{212}$Pb、$^{67}$Ga、$^{203}$Pb、$^{47}$Sc和$^{166}$Ho的放射性金属。

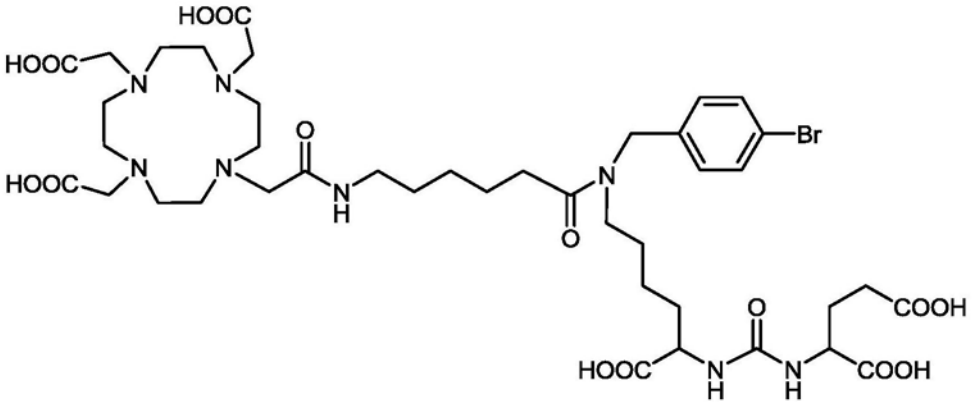
[0074] 有利地,Ch包含放射性金属$^{68}$Ga或$^{177}$Lu或$^{225}$Ac。

[0075] 具有式(I)的化合物在荷瘤动物或人体内的分布方式是使得静脉内注射该化合物后1小时,肿瘤比肾的比率是至少5(至少N=4的平均值)。

[0076] 根据一个实施例,W是-(C=O)-NR$^2$-,并且Ch是  并且任选地包含金属或放射性金属。

[0077] 根据一个实施例,m是4,Z是COOQ,并且Q是H。

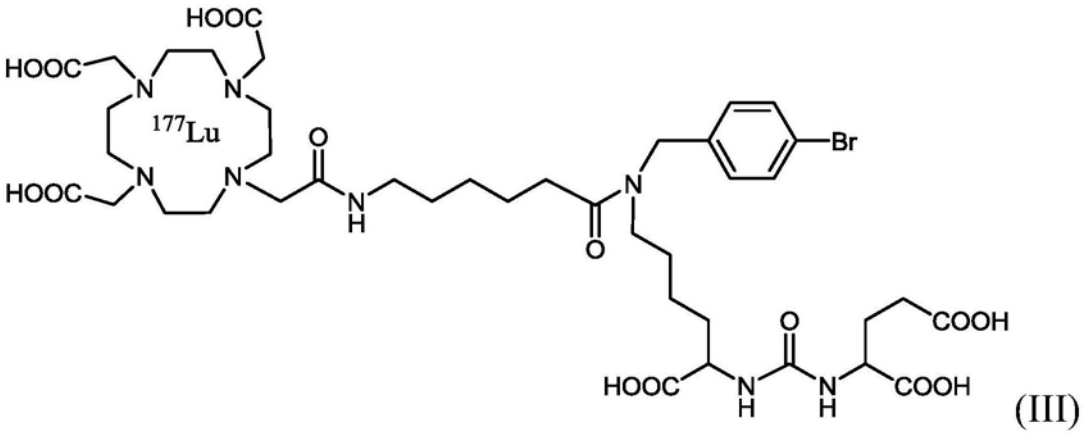
[0078] 根据一个具体实施例,具有式(I)的化合物是具有式(II)的化合物:

[0079] 

(II)。

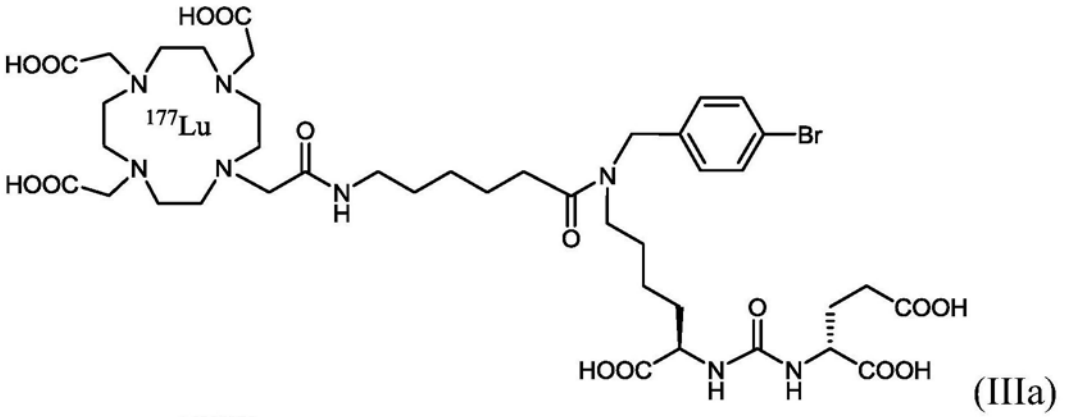
[0080] 具有式(II)的化合物可称为PSMA-R2。具有式(II)的化合物可包含金属或放射性金属,优选$^{68}$Ga或$^{177}$Lu。

[0081] 根据一个实施例,具有式(I)的化合物是具有式(III)的化合物:。

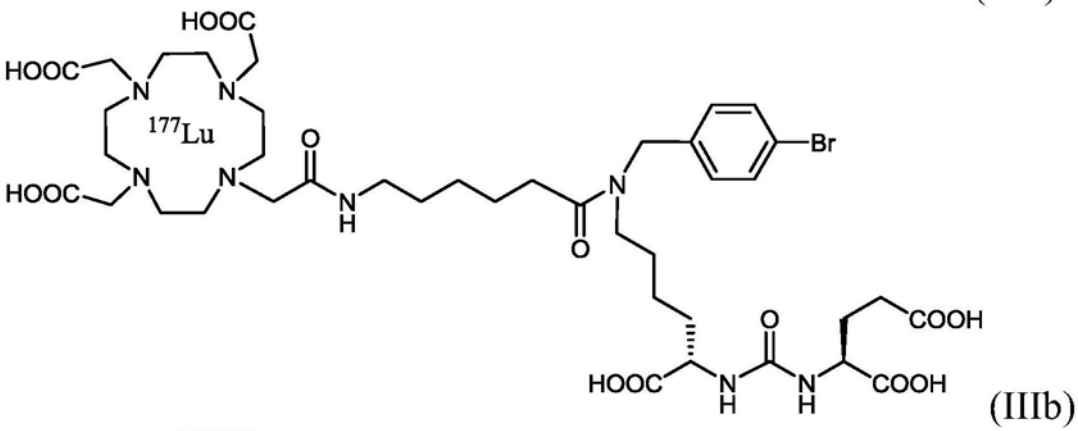
[0082] 

(III)

[0083] 具有式(III)的化合物可称为$^{177}$Lu-PSMA-R2。具有式(III)的化合物包括式具有(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)的立体异构体:

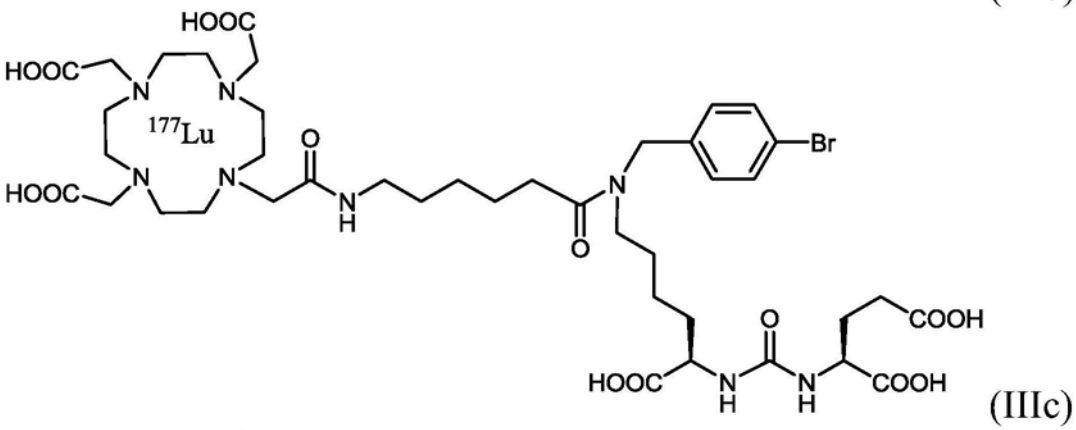



(IIIa)

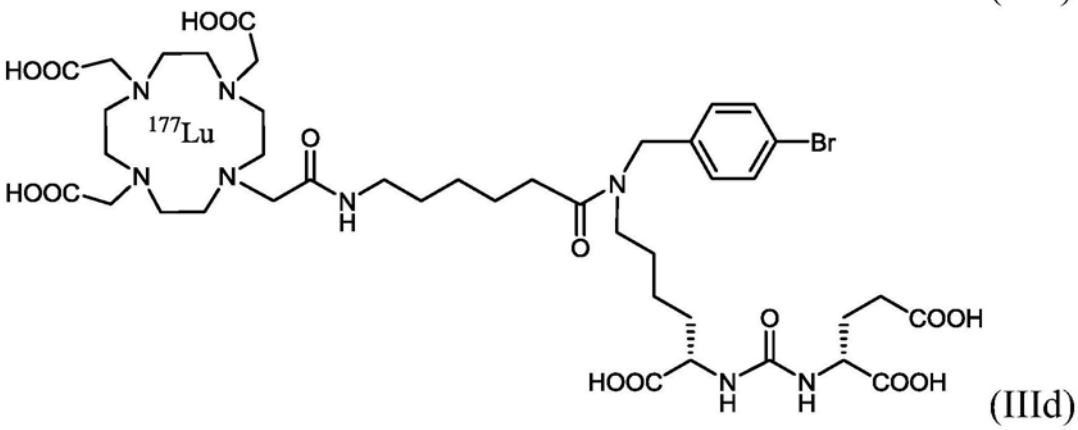



(IIIb)

[0084]

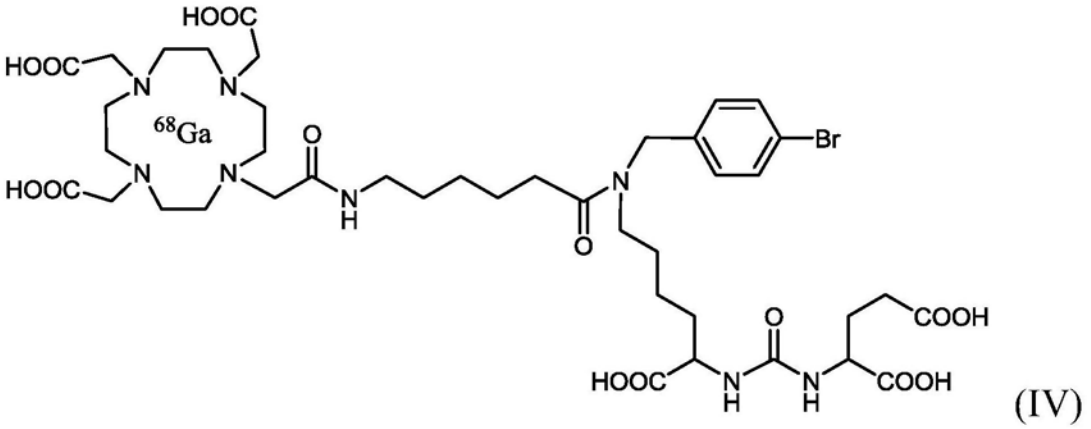



(IIIc)



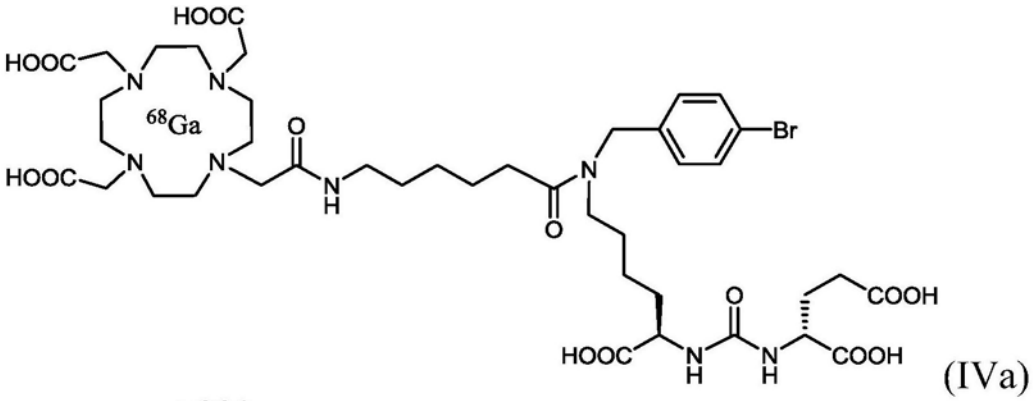

(IIId)。

[0085] 根据另一个实施例,具有式(I)的化合物是具有式(IV)的化合物:。

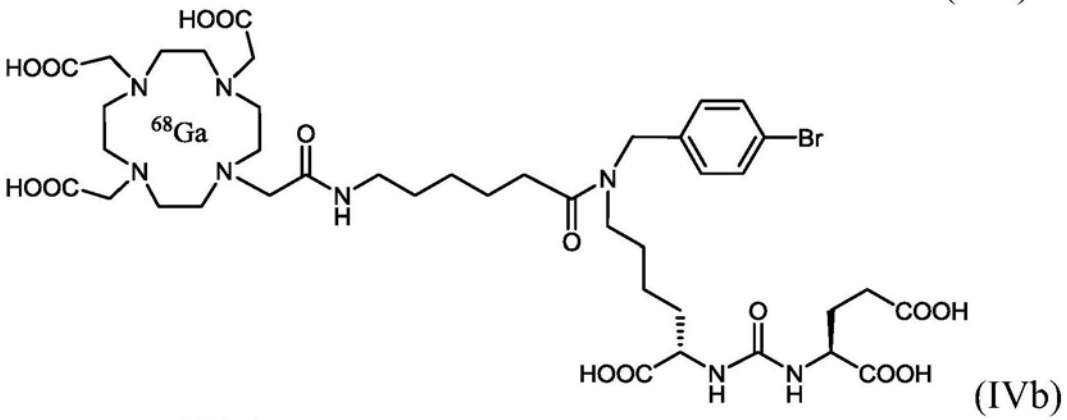
[0086] 

(IV)

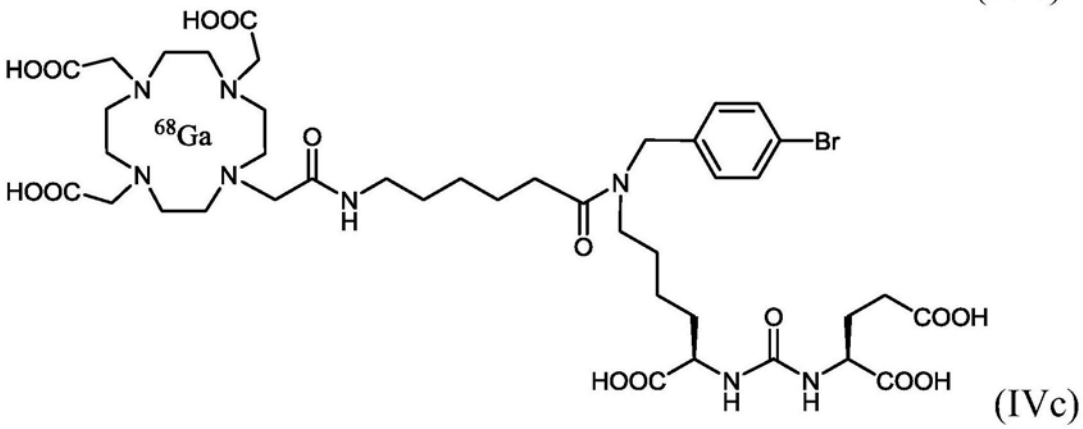
[0087] 具有式(IV)的化合物可称为$^{68}$Ga-PSMA-R2。具有式(IV)的化合物包括具有式(IVa)、(IVb)、(IVc)和(IVd)的立体异构体：



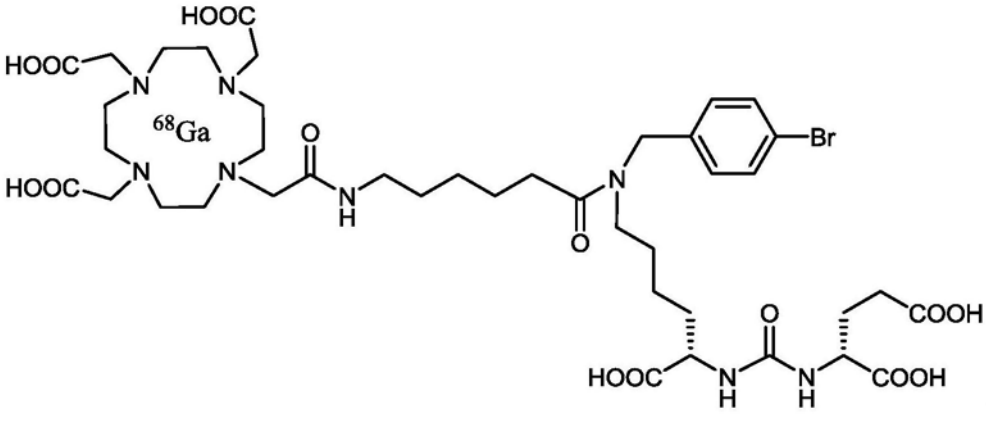
(IVa)

[0088] 

(IVb)



(IVc)

[0089] 

(IVd)。

[0090] 药物组合物

[0091] 本披露内容还涉及包含具有式(I)至(IV)的化合物和至少一种药学上可接受的载剂的药物组合物。

[0092] 药物组合物的形式、施用途径、剂量和方案自然取决于待治疗的病症、疾病的严重程度、患者的年龄、体重和性别等。

[0093] 本披露内容的药物组合物可以配制用于静脉内、肌肉内或皮下施用等。

[0094] 药物组合物可以采用水溶液的形式，例如包含至少一种根据本披露内容的化合物的可注射制剂。

[0095] 优选地，药物组合物包含对于能够注射的配制品而言药学上可接受的媒剂。这些可以特别是等渗的无菌的盐溶液(磷酸一钠或磷酸二钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙或氯化镁等或这些盐的混合物)，或干燥的，尤其是冷冻干燥的组合物，其在添加无菌水或生理盐水后取决情况，允许构成可注射溶液。

[0096] 无菌可注射溶液是通过将活性化合物以所要求的量与几种以上列举的其他成分(根据需要)合并在适当的溶剂中、随后进行过滤灭菌来制备的。一般来讲，通过将各种灭菌的活性成分掺入无菌媒介物中制备分散体，所述无菌媒介物含有碱性分散介质和所需的来自以上列举的那些的其他成分。就用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末而言，优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，所述方法产生活性成分以及来自其以前的无菌过滤溶液的任何另外的所希望成分的粉末。在配制后，溶液将以与剂量配制品相容的方式并且以治疗有效的量施用。这些配制品易于以多种剂型施用，例如上述可注射溶液的类型。

[0097] 例如，对于水溶液中的肠胃外施用，可以将溶液进行适当地缓冲并且首先用足够的盐水或葡萄糖使液体稀释剂等渗。这些特定的水溶液特别适用于静脉内、肌肉内、皮下和腹膜内施用。在这点上，根据本披露内容，可以使用的无菌水性介质对于本领域技术人员来说将是已知的。例如，可将一个剂量溶于1ml等渗NaCl溶液中，然后添加到1000ml皮下注射液中或在建议的输注部位进行注射(参见，例如，“Remington’s Pharmaceutical Sciences [雷明顿药物科学]”第15版，第1035-1038和1570-1580页)。取决于被治疗的受试者的状况，剂量必然会发生一些变化。在任何情况下，负责施用的人将确定用于个体受试者的适当剂量。

[0098] 在一个具体的实施例中，药物组合物包含一种或多种赋形剂，其选自抗辐射降解的稳定剂、螯合剂及其混合物。

[0099] 如本文所用，“抗辐射降解的稳定剂”是指保护有机分子免受放射性分解降解的稳

定剂，例如，当从放射性核素发射的γ射线裂解有机分子的原子与自由基之间形成的键时，那些自由基然后被稳定剂清除，这避免了自由基经历可能导致不希望的、潜在无效的或甚至有毒分子的任何其他化学反应。因此，这些稳定剂也被称为“游离自由基清除剂”或简称“自由基清除剂”。那些稳定剂的其他替代术语是“放射稳定性增强剂”，“放射稳定剂”或简称“猝灭剂”。

[0100] 如本文所用，“螯合剂”是指适合络合配制品中游离放射性核素金属离子(未与放射性标记肽络合)的螯合剂。

[0101] 用于施用的剂量可以根据各种参数进行调整，特别是根据所使用的施用模式、相关病理或可替代地所期望的治疗持续时间进行调整。应当理解，化合物和包含这些化合物的组合物的合适剂量可因患者而异。确定最佳剂量通常涉及治疗益处水平与本文所述治疗的任何风险或有害副作用的平衡。

[0102] 用作药物的具有式(I)至(IV)的化合物

[0103] 本披露内容还涉及用作药物的具有式(I)至(IV)的化合物。如实施例中提供的试验所示，具有式(I)至(IV)的化合物表现出有价值的药学特性，因此适用于疗法。

[0104] 本披露内容还涉及用于治疗癌症，特别是通过靶向α疗法和β辐射治疗癌症的具有式(I)至(IV)的化合物。

[0105] 具有式(III)的化合物特别适合用作药物，优选用于治疗癌症。

[0106] 如本文所用，术语“癌症”在具有其在本领域中的一般含义并且包括以快速增殖的细胞生长为特征的异常状态或病症。该术语意欲包括所有类型的癌性生长或致癌性过程、转移性组织或恶性转化的细胞、组织或器官，而不考虑组织病理学类型或侵袭的阶段。术语癌症包括各种器官系统的恶性肿瘤，例如影响皮肤、肺、乳腺、甲状腺、淋巴、胃肠道和泌尿生殖道的恶性肿瘤，以及腺癌，其包括恶性肿瘤，例如大多数结肠癌、肾细胞癌、前列腺癌和/或睾丸肿瘤、非小细胞肺癌、小肠癌和食道癌。

[0107] 癌症的示例包括但不限于血液恶性肿瘤，例如B细胞淋巴肿瘤、T细胞淋巴肿瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、B-NHL、T-NHL、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、NK细胞淋巴肿瘤和髓细胞系肿瘤。非血液癌症的示例包括但不限于皮肤癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、脑癌、前列腺癌、头颈癌、胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、骨癌、宫颈癌、肝癌、口腔癌、食道癌、甲状腺癌、肾癌、胃癌和睾丸癌。

[0108] 在一个具体实施例中，癌症是具有表达PSMA的肿瘤或细胞的癌症。

[0109] 在一个具体实施例中，本披露内容还涉及用于治疗前列腺癌的具有式(I)至(IV)的化合物。

[0110] 在一个具体实施例中，前列腺癌是转移性前列腺癌。

[0111] 本披露内容还涉及用于治疗表达PSMA的肿瘤或细胞的具有式(I)至(IV)的化合物。

[0112] 表达PSMA的肿瘤或细胞可以选自由以下组成的组：前列腺肿瘤或细胞、转移的前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、胶质母细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、肉瘤、黑色素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜铬细胞瘤、食道肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞，以及其组合。在一些其他实施例中，表达PSMA的肿瘤或细胞是前列腺肿瘤或细胞。

[0113] 因此，本披露内容还涉及治疗癌症的方法，该方法包括将癌细胞与治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物接触。

[0114] 如本文所用，术语“接触”是指导致构成本披露主题的治疗剂的至少一种化合物与至少一个癌细胞物理接触的任何动作。接触可以包括将一个或多个细胞或一个或多个肿瘤暴露于一定量的化合物，该量足以导致至少一种化合物与至少一个细胞或肿瘤接触。该方法可以通过在受控环境例如培养皿或管中引入并优选混合化合物和一个或多个细胞或一个或多个肿瘤而在体外或离体实施。该方法可以在体内实施，在这种情况下，接触是指将受试者中的至少一个细胞或肿瘤暴露于至少一种本披露主题的化合物，例如通过任何合适的途径向受试者施用该化合物。

[0115] 在一个具体实施例中，要治疗的癌症是具有表达PSMA的肿瘤或细胞的癌症。例如，要治疗的癌症可以是前列腺癌，包括转移性前列腺癌。

[0116] 本披露内容还涉及一种治疗癌症，通常是前列腺癌的方法，该方法包括向有需要的受试者，优选人，施用治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物。

[0117] 如本文所用，术语“治疗”包括逆转、减轻、抑制该术语所适用的疾病、障碍或病症或者或此类疾病、障碍或病症的一种或多种症状或表现的进展、预防或降低其可能性。预防是指使得疾病、障碍、病症或症状或者这些的表现或者这些的严重程度的恶化不发生。因此，本披露的化合物可以预防性施用以预防或减少疾病、障碍或病症的发生或复发。

[0118] 如本文所用，术语化合物的“治疗有效量”是指将引起受试者的生物学或医学应答(例如，改善症状、减轻病症、减缓或延迟疾病进展或预防疾病)的化合物的量。

[0119] 本披露内容还涉及治疗表达PSMA的肿瘤或细胞的方法，该方法包括使表达PSMA的肿瘤或细胞与治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物接触。

[0120] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)的化合物用于制造药物的用途。

[0121] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)的化合物在制备用于治疗癌症如前列腺癌的药物中的用途。

[0122] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)的化合物在制备用于治疗表达PSMA的肿瘤或细胞的药物中的用途。

[0123] 具有式(I)至(IV)的化合物用于成像及其方法

[0124] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)的化合物用于成像，优选体内成像。

[0125] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)的化合物用于对表达PSMA的肿瘤或细胞进行成像。

[0126] 具有式(IV)的化合物特别适合用于成像，优选用于对表达PSMA的肿瘤或细胞进行成像。

[0127] 在一个具体的实施例中，其中使用具有式(I)至(IV)的化合物的成像方法是PET(正电子发射断层扫描)或SPECT(单光子发射计算机断层扫描)。

[0128] 因此，本披露内容还涉及成像方法，该方法包括将癌细胞与有效量的具有式(I)至(IV)的化合物接触。

[0129] 本披露内容还涉及对表达PSMA的肿瘤或细胞进行成像的方法，该方法包括使表达PSMA的肿瘤或细胞与治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物接触。该方法还可包括检测源自存在于所述化合物中的放射性金属的衰变的信号的步骤。

[0130] 本披露内容还涉及用于对受试者中表达PSMA的肿瘤或细胞进行成像的方法，该方法包括向所述受试者，优选人施用治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物，并检测源自所述化合物中存在的放射性金属的衰变的信号。

[0131] 在一个具体的实施例中，本披露内容提供了用于检测受试者体内是否存在表达PSMA的肿瘤的方法，该方法包括：

[0132] (i)施用具有式(I)至(IV)的化合物，例如作为所述受试者中的静脉内注射；

[0133] (ii)获取图像，通常通过PET或SPECT成像获取；以及，

[0134] (iii)检测所述受试者中是否存在表达PSMA的肿瘤。

[0135] 本披露内容还涉及具有式(I)至(IV)化合物用于诊断，通常用于诊断癌症疾病，例如表达PSMA的癌症。

[0136] 本披露内容还涉及用于诊断和/或检测受试者中的癌细胞或表达PSMA的肿瘤或细胞，例如前列腺肿瘤或细胞的方法，该方法包括向所述受试者，优选人施用治疗有效量的具有式(I)至(IV)的化合物，并检测源自所述化合物中存在的放射性金属的衰变的信号。

[0137] 具有式(I)至(IV)的化合物的合成

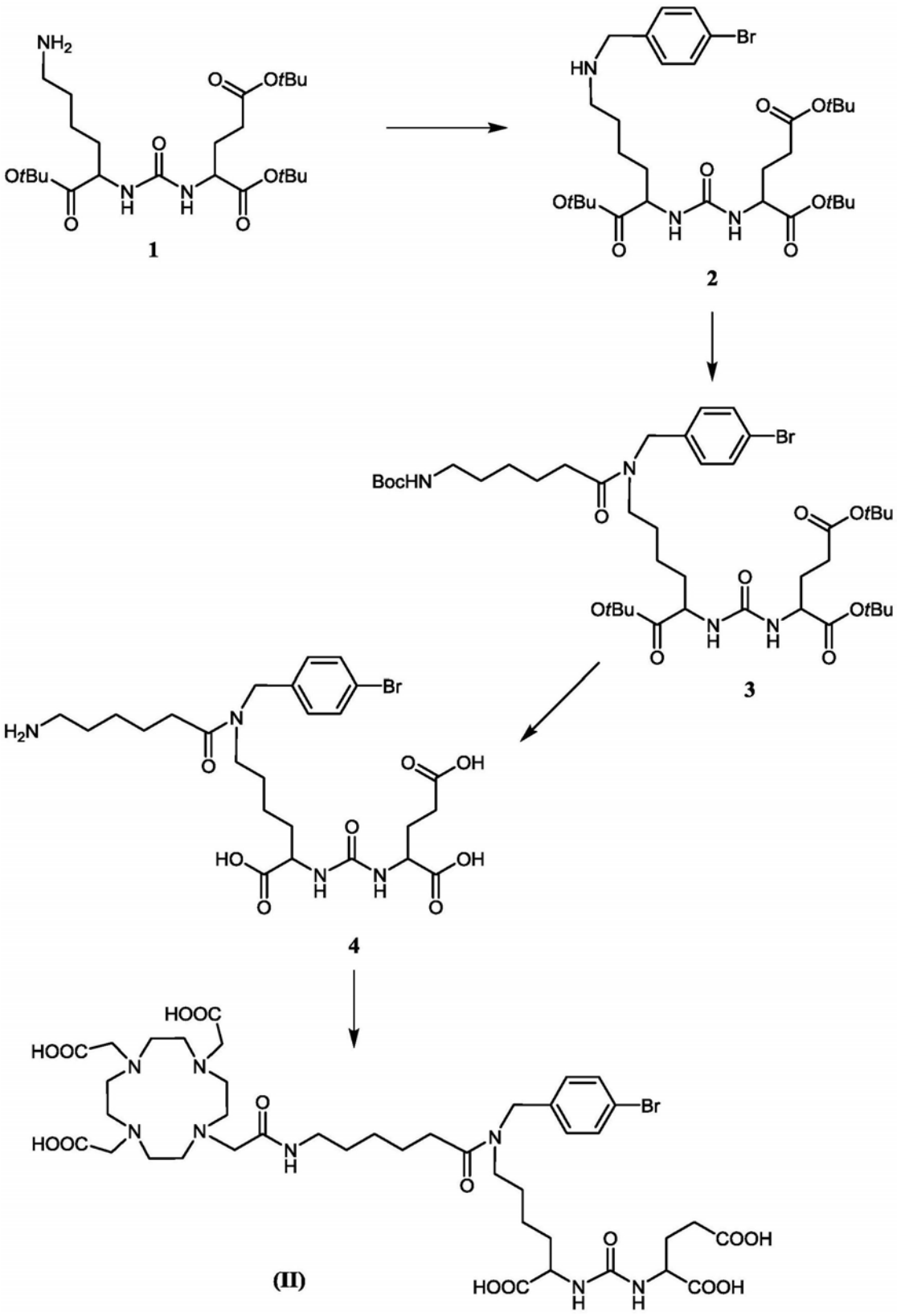
[0138] 具有式(I)和(II)的化合物可以使用WO 2017/165473中披露的方法合成。

[0139] 特别地，具有式(II)的化合物可以如方案1中披露的合成。Glu-Lys脲2的经修饰的对溴苄基基团可以通过在甲醇中在氰基硼氢化钠的存在下用对溴苯甲醛对Glu-Lys脲1进行还原烷基化来制备。该程序已在文献(Tykvart等人(2015)Journal of medicinal chemistry[药物化学杂志]58,4357-63)中进行了描述。然后，例如使用碱(如N,N-二异丙基乙胺)和偶联剂(如N,N,N′,N′-四甲基-O-(N-琥珀酰亚胺基)脲四氟硼酸盐或1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐)，可以将Boc-6-氨基己酸偶联在2的相同ε-Lys胺上以产生化合物3。然后可以例如使用酸如三氟乙酸将化合物3脱保护以产生化合物4。最后，可以进行与市售DOTA-NHS酯的缀合以产生化合物(II)。

[0140] 具有式(I)和(II)的化合物可以使用放射性标记领域中常用的方法进行放射性标记。具体地，还可以使用WO 2017/165473中描述的方法用$^{177}$Lu对具有式(II)的化合物进行放射性标记，以形成具有式(III)的化合物。还可以使用WO 024013中描述的方法用$^{68}$Ga对具有式(II)的化合物进行放射性标记，以形成具有式(IV)的化合物。

[0141] 方案1:具有式(II)的化合物的合成

[0142]




[0143] 实例

[0144] 实例1:健康动物中的体内分布(研究使用$^{68}$Ga-PSMA-R2进行)

[0145] 体内分布研究是在CD-1健康小鼠中使用Ga标记的PSMA-R2进行的,其以120-150μCi(4.44-5.55MBq)的剂量静脉内施用。在静脉内注射后的特定时间点处死动物(3或4只/

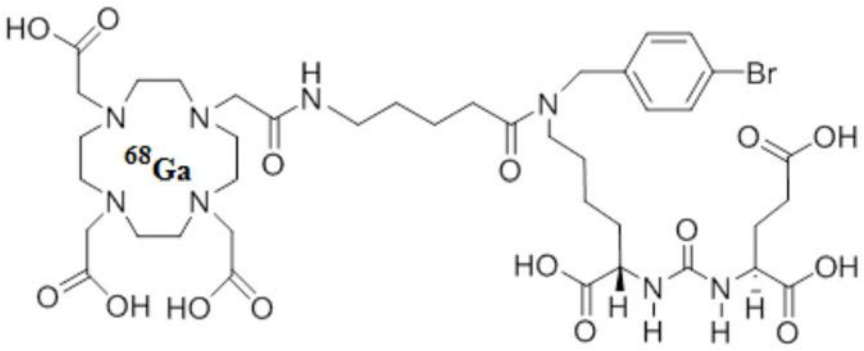
组),收集器官,称重并在伽马计数器中评估。图1和图2报告了计算的%ID/g值。

[0146] $^{68}$Ga-PSMA-R2在肾脏和膀胱中的摄取表明放射性示踪剂通过肾脏系统排泄(图2)。记录的肝脏摄取非常低(30分钟时的0.74%降至4小时时的0.21%),表明通过肝胆系统排泄最少(图1)。尽管在最早的时间点(30分钟)在血液和其他器官(如肾上腺、肺、甲状腺)中记录到略高的放射性示踪剂摄取,但%ID值在较晚的时间点迅速下降(图1)。在所有时间点(包括最早的在30分钟),在其余器官(肠、胰腺、肌肉、骨骼)中检测到放射性示踪剂低摄取。

[0147] 实例2:肿瘤模型中的体内分布(研究使用$^{68}$Ga-PSMA-R2)

[0148] 对携带PC-3PSMA阳性和PSMA阴性肿瘤异种移植物的无胸腺雄性裸鼠注射大约4.5MBq的$^{68}$Ga-PSMA-R2,然后评估生物分布和成像研究。在注射后(p.i.)的4个时间点(30分钟、1小时、2小时和4小时),使用伽马计数器确定肿瘤和器官摄取。为了评估受体特异性,另外的动物组同时注射了过量的未标记的PSMA-R2(40nmol)。结果如图3所示。

[0149] 使用$^{68}$Ga-PSMA-cpd2(具有下式的比较化合物)进行了相同的研究:

[0150] 


[0151] 结果如图4所示。

[0152] $^{68}$Ga-PSMA-R2和$^{68}$Ga-PSMA-cpd2的肿瘤摄取、肾摄取、唾液腺摄取和肿瘤比肾的比率总结在表1中。

[0153] 表1:$^{68}$Ga-PSMA-R2和$^{68}$Ga-PSMA-cpd2的比较

[0154]

| | $^{68}$Ga-PSMA-R2 | $^{68}$Ga-PSMA-cpd2 |
|---|---|---|
| 肿瘤摄取 | 29%(1h) | 36%(1h) |
| 肾脏摄取 | 6%(1h) | 13%(1h) |
| 肿瘤比肾的比率 | 5(1h) | 3(1h) |
| 唾液腺 | 0.81%(0.5h) | 0.95%(0.5h) |

[0155] 这些结果表明,与比较化合物$^{68}$Ga-PSMA-cpd2相比,1小时后,$^{68}$Ga-PSMA-R2的肾脏摄取和唾液腺摄取较低。此外,在$^{68}$Ga-PSMA-R2的情况下,肿瘤比肾的比率更高。

[0156] 这表明与$^{68}$Ga-PSMA-cpd2相比,$^{68}$Ga-PSMA-R2的毒性可能更低。此外,在$^{68}$Ga-PSMA-R2的情况下,1小时后肿瘤比肾的高比率表明肿瘤的更好可视化,因为最佳成像时间点是45分钟到1小时。

[0157] 实例3:在PC3-PIP PSMA阳性模型中对小鼠的体内功效

[0158] 使用Lu标记的PSMA-R2)在前列腺癌模型中进行了功效研究。

[0159] 携带PC3-PIP(PSMA阳性)肿瘤的小鼠被注射一次111MBq的$^{177}$Lu-PSMA-R2,$^{177}$Lu-PSMA-617(包括作为参考化合物),或与盐水(对照)。

[0160] 肿瘤体积表示为绝对值($mm^3$)或相对于在第一次注射时测量的体积。

[0161] 绝对肿瘤体积的结果表明，与对照组相比，$^{177}$Lu-PSMA-R2和$^{177}$Lu-PSMA-617组的肿瘤体积显著减小($p<0.001$)(参见图5A)。

[0162] 类似地，当数据表示为相对体积时，发现来自$^{177}$LuPSMA-R2和$^{177}$Lu-PSMA-617组两者的肿瘤体积与对照组相比显著减小($p<0.001$)(参见图5B)。

[0163] 当以绝对体积或相对体积表示时，两个治疗组的肿瘤体积之间没有观察到差异。在图5C-F中，显示了以两天为间隔治疗的两个亚组的绝对肿瘤体积和相对肿瘤体积。

[0164] 这些结果表明，$^{177}$Lu-PSMA-R2可有效减小小鼠中PSMA阳性肿瘤的肿瘤大小。$^{177}$Lu-PSMA-R2因此表现出有价值的药物特性，因此可以用于疗法。

[0165] 实例4:安全性药理学

[0166] 大鼠中单次静脉施用后的行为欧文(Irwin)测试和对体温的影响

[0167] 本研究的目的是根据表2的研究设计评估$^{175}$Lu-PSMA-R2(剂量为0.2、0.6和2.0mg/kg)对静脉内施用后大鼠中一般行为参数的可能影响。

[0168] 表2:行为欧文测试的实验设计

[0169]

| 组号 | 治疗 (mg/kg)+ | 剂量水平 | 剂量体积 (mL/kg) | 大鼠的数量和性别 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 媒剂 | 5 | 5M |
| 2 | 0.2 | 低 | 5 | 5M |
| 3 | 0.6 | 中 | 5 | 5M |
| 4 | 2.0 | 高 | 5 | 5M |
| | +:在提供的测试方面。 | | | |

[0170] 评估了以下参数:死亡率、体重、临床体征和欧文测试。

[0171] 施用后以下列时间间隔进行欧文测试:5、15、30分钟和1、2和24小时。

[0172] 单次静脉内以剂量0.2、0.6和2.0mg/kg施用$^{175}$Lu-PSMA-R2在欧文研究中在大鼠中在给药后达24小时未对行为、神经学或自主神经参数产生任何影响。在研究期间没有发生死亡，在6天的观察期内没有观察到临床体征。

[0173] 研究结果总结在表10中。

[0174] 单次静脉内施用后对自由清醒大鼠呼吸影响的评价

[0175] 本研究的目的是根据表3中详述的研究设计通过静脉内施用后的全身体积描记法评估0.2、0.6和2.0mg/kg $^{175}$LuPSMA-R2对清醒大鼠的呼吸功能的可能影响。

[0176] 表3:呼吸功能影响评估研究的实验设计

[0177]

| 组号 | 治疗 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 治疗 (mg/kg) | 剂量水平 | 剂量体积 (mL/kg) | 茶碱 (mg/kg) | 大鼠的数量和性别 |
| 1 | 0 | 媒剂 | 5 | 0 | 8M |
| 2 | 0.2 | 低 | 5 | 0 | 8M |
| 3 | 0.6 | 中 | 5 | 0 | 8M |
| 4 | 2.0 | 高 | 5 | 0 | 8M |
| 5 | 0 | 参考 | 5 | 25 | 8M |

[0178] 从给药前大约1小时到给药后达4小时连续记录吸气时间、呼气时间、峰吸气流量、峰呼气流量、潮气量、驰豫时间、分钟气量、呼吸频率和增强的停顿。在给药前和给药后5、15和30分钟以及给药后1、1.5、2、3和4小时报告大鼠的呼吸数量和性别参数。在给药当天记录

临床体征。

[0179] 研究结果总结在表10中。

[0180] 静脉内施用对清醒小型猪心血管功能的影响

[0181] 本研究的目的是研究$^{175}$Lu-PSMA-R2在以0.058、0.175和0.583mg/kg的剂量静脉内施用后对有意识的遥测雄性小型猪的心血管功能的潜在影响。实验设计如表4所示。

[0182] 以4mL/min的固定注射速率将测试物或媒剂静脉内施用到耳外静脉中。以1mL/kg体重的剂量体积向每只动物施用该剂量。

[0183] 按照表4中描述的交叉设计，按7天间隔，每只动物接受媒剂或接受测试物的三个剂量之一。

[0184] 表4:评估对雄性小型猪心血管功能影响的研究的实验设计

[0185]

| 动物编号 | 治疗：$^{175}$Lu-PSMA-R2 (mg/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 第1<br>第1天 | 第2<br>第8天 | 第3<br>第15天 | 第4<br>第22天 |
| 2 | 媒剂 | 0.058 | 0.175 | 0.583 |
| 4 | 0.058 | 0.175 | 0.583 | 媒剂 |
| 6 | 0.175 | 0.583 | 媒剂 | 0.058 |
| 8 | 0.583 | 媒剂 | 0.058 | 0.175 |

[0186] 从施用前1小时到给药后达24小时，连续记录收缩压、舒张压和平均血压(SBP、DBP和MBP)、心率(HR)、体温和II导心电图。在给药前和给药后5、15、30分钟和1、2、4、8和24小时报告血流动力学和心电图数据。

[0187] 研究结果总结在表10中。

[0188] 单次和重复剂量毒性研究

[0189] 已使用Lu-PSMA-R2溶液进行了单次和重复剂量毒性研究。临床前毒性研究是在$^{175}$Lu-PSMA-R2(作为$^{177}$Lu-PSMA-R2的替代品)上进行的。

[0190] 测试物$^{175}$Lu-PSMA-R2是在醋酸盐缓冲液中含有$^{175}$Lu-PSMA-R2和未标记的PSMA-R2的溶液，其中PSMA-R2在标称浓度1mg/mL，其部分以游离形式(PSMA-R2)存在，部分与Lu-175络合，两部分的比例约为1:1。剂量表示为游离形式和175Lu标记形式的总和。

[0191] 大鼠和小型猪的单次剂量毒性研究以及大鼠2周重复剂量毒性研究已经结束。

[0192] 大鼠单次剂量毒性研究

[0193] 本研究旨在评估Sprague Dawley(SD)大鼠中$^{175}$Lu-PSMA-R2急性静脉内注射2或4mg/kg后的毒性。

[0194] 两个30只动物组(1:1雄性:雌性比例)分别以2和4mg/kg施用。用媒剂处理具有相同特征的对照组(表5)。

[0195] 表5:大鼠单次剂量毒性研究的实验设计

[0196]

| 组号 | 治疗剂量 (mg/kg) | 剂量水平 | 注射体积 (mL/kg) | 大鼠的数量和性别 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 对照 | 5 | 15M + 15F |
| 2 | 2 | 第一 | 5 | 15M + 15F |
| 3 | 4 | 第二 | 5 | 15M + 15F |

[0197] 在注射后30、120和240分钟以及24小时后评估对所有剂量治疗的反应体征。在第2天，处死10只大鼠/性别/组。经14天每天观察其余5只动物/性别/组。

[0198] 在治疗组分配当天、第1天(注射日)、第8天和第15天记录体重。在第2天和此后每周测量食物消耗。在治疗结束时，收集尿液样品进行尿液分析。在第2天和第15天，对处死时抽取的血液样品进行临床病理筛查。解剖后，对器官进行称重，并对组织进行显微镜分析(分析了超过50种不同的组织)。

[0199] 研究结果总结在表10中。他们表明以2和4mg/kg的剂量水平单次静脉内施用测试物$^{175}$Lu-PSMA-R2(大约是预期人剂量的480和960倍，基于mg/kg比例缩放，考虑到人体重量为60kg)，不会引起毒性体征，因此在大鼠中被良好耐受。

[0200] 小型猪单次剂量毒性研究

[0201] 根据表6中详述的实验设计，研究了在哥廷根(Göttingen)小型猪中单次静脉推注施用后$^{175}$Lu-PSMA-R2的毒性和毒代动力学特征。

[0202] 施用后允许两周的无治疗期。

[0203] 所有动物均静脉内施用。在第1天收集血浆样品用于毒代动力学分析。

[0204] 表6:小型猪单次剂量毒性研究的实验设计

[0205]

| 组编号 | 治疗剂量 (mg/kg) | 剂量水平 | 注射体积 (mL/kg) | 小型猪的数量和性别 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 对照 | 2.5 | 3M + 3F |
| 2 | 0.175 | 第一 | 2.5 | 3M + 3F |
| 3 | 0.583 | 第二 | 2.5 | 3M + 3F |
| 4 | 1.750 | 第三 | 2.5 | 3M + 3F |

[0206] 在尸体剖检时对死亡率、临床体征、体重、食物消耗、临床病理学调查、检眼镜检查、ECG评估和宏观观察进行索引。然后对选定的器官称重并收集组织。

[0207] 此外，在第1天收集血浆样品进行毒代动力学分析。

[0208] 研究结果总结在表10中。他们表明以0.175、0.583和1.754mg/kg的剂量水平单次静脉内施用测试物$^{175}$Lu-PSMA-R2(大约是预期人剂量的42，140和420倍，基于mg/kg比例缩放，考虑到体重为60kg)，没有引起小型猪的毒性体征。因此，可以得出结论，这些量的测试物被小型猪良好耐受。

[0209] 大鼠重复剂量毒性研究

[0210] 本研究的目的是研究$^{175}$Lu-PSMA-R2在每日静脉内施用2周后对大鼠的毒性，以及在2周恢复期内从任何治疗相关效应中恢复(主要组)。

[0211] 测试的剂量为0.13、0.39和1.29mg/kg/天，即PSMA-R2预期人剂量的约31、93和310倍。

[0212] 每个主要治疗组由10只雄性和10只雌性大鼠组成。在第1组和第4组恢复2周后，还有另外5只雄性和5只雌性被杀死。毒代动力学的两个卫星组(低剂量和中剂量)有9只雄性和9只雌性动物，一个组(高剂量)包括12只雄性和12只雌性动物。另一个组(对照)包括3只雄性和3只雌性动物。

[0213] 实验设计如表7和表8所示。

[0214] 表7:大鼠重复剂量毒性研究的实验设计-主要组。

[0215]

| 组号 | 治疗剂量 (mg/kg/天) | 剂量水平 | 注射体积 (mL/kg) | 大鼠的数量和性别 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 主要阶段 | 恢复阶段 |
| 1 | 0 | 对照 | 2.5 | 10M + 10F | 5M + 5F |
| 2 | 0.13 | 低 | 2.5 | 10M + 10F | |
| 3 | 0.39 | 中 | 2.5 | 10M + 10F | |
| 4 | 1.29 | 高 | 2.5 | 10M + 10F | 5M + 5F |

[0216] 表8:大鼠重复剂量毒性研究的实验设计-用于TK评价的卫星组

[0217]

| 组号 | 治疗剂量 (mg/kg/天) | 剂量水平 | 注射体积 (mL/kg) | 大鼠的数量和性别 |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 0 | 对照 | 2.5 | 3M + 3F |
| 6 | 0.13 | 低 | 2.5 | 9M + 9F |
| 7 | 0.39 | 中 | 2.5 | 9M + 9F |
| 8 | 1.29 | 高 | 2.5 | 12M + 12F |

[0218] 在本研究中，研究了$^{175}$Lu-PSMA-R2在Sprague Dawley大鼠中以0.13、0.39和1.29mg/kg/天的剂量每日静脉内施用2周后的毒性和毒代动力学特征。对于对照组和高剂量组，允许2周的无治疗期以从在2周给药阶段期间观察到的任何治疗相关效应或持续的不良效应中恢复。

[0219] 在日常临床观察中没有记录到毒理学意义的体征。体重和食物消耗不受治疗影响。在检眼镜检查中未观察到与治疗相关的异常。在临床病理学检查中未发现毒理学相关性发现。在尸检、器官重量或组织病理学检查中没有发现治疗相关效应的证据。

[0220] 毒代动力学评估表明，以三种剂量水平治疗的所有动物均暴露于测试物。一般而言，暴露大致与剂量成比例。雄性和雌性的暴露相似。考虑到性别和所有剂量水平，该药物以大约0.4-0.8小时的半衰期消除。清除率与剂量无关，显示线性动力学行为。从第1天到第14天，每天施用后未观察到累积。

[0221] 根据本研究中获得的结果，与对照相比，治疗的混合组中未观察到毒性作用。因此，1.29mg/kg/天可以被视为NOAEL(无观察到的不良效应水平)，其比可预见的人剂量高310倍。

[0222] 研究结果总结在表10中。

[0223] 小型猪重复剂量毒性研究

[0224] 本研究的目的是研究LuPSMA-R2在小型猪中每日静脉内施用2周后的毒性和毒代动力学谱，以及在2周的恢复期内从任何治疗相关效应中的恢复。

[0225] 测试的剂量是:0.058、0.175和0.583mg/kg/天，即PSMA-R2预期人剂量的约14、42

和140倍。

[0226] 每组包括3只雄性和3只雌性小型猪。第1组和第4组包括每性别2只额外的动物，在恢复2周后将被处死。实验设计总结在表9中。

[0227] 所有动物每天静脉内给药一次，连续14天。

[0228] 表9：小型猪重复剂量毒性研究的实验设计

[0229]

| 组编号 | 治疗剂量（mg/kg/天） | 剂量水平 | 注射体积（mL/kg） | 小型猪的数量和性别 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 主要阶段 | 恢复阶段 |
| 1 | 0 | 对照 | 1 | 3M＋3F | 2M＋2F |
| 2 | 0.058 | 低 | 1 | 3M＋3F | |
| 3 | 0.175 | 中 | 1 | 3M＋3F | |
| 4 | 0.583 | 高 | 1 | 3M＋3F | 2M＋2F |

[0230] 体重和食物摄入不受治疗影响。进行的体格检查没有显示任何动物中的明显变化。在检眼镜和心电图检查中未检测到与治疗相关的异常。临床病理学(即：血液学、凝血、血液化学和尿液分析)以及宏观病理学、终末体重和绝对和相对器官重量在任何剂量下均未显示显著或治疗相关的变化，没有与治疗相关的组织病理学修改。

[0231] 毒代动力学评估表明，以三种剂量水平治疗的所有动物均暴露于测试物。在第1天，考虑到每种性别的平均值，在雄性和雌性小型猪中估计的$^{175}$Lu-PSMA-R2半衰期分别为0.71和0.63小时。这些值在第14天得到确认。血浆清除率与剂量无关，显示线性动力学行为。全身暴露的增加(就Cmax和AUC0-t最后而言)大致与剂量成比例。从第1天到第14天，在每日施用后没有观察到相关的累积。

[0232] 本研究的结果表明，0.583mg/kg/天可被视为本研究的NOAEL。

[0233] 安全性药理学和毒理学研究的结果总结在表10中。

[0234] 表10：在安全性药理学和毒理学研究中获得的结果总结

[0235]

| 研究 | 剂量（mg/kg）[人剂量的倍数] | 状态/结果 |
|---|---|---|
| 安全性药理学：对大鼠 CNS 的影响（欧文测试） | 0.2、0.6、2 mg/kg [48x、144x、480x] | 给药后达 24 小时对行为、神经或自主神经参数没有影响。研究期间没有发生死亡。<br>在 6 天观察期未观察到临床体征。 |
| 安全性药理学：对大鼠呼吸功能的影响 | 0.2、0.6、2 mg/kg [48x、144x、480x] | 在注射后经 4 小时记录的呼吸参数方面没有观察到毒理学意义的变化。 |
| 对小型猪血压、心 | 0.058、0.175、0.58 mg/kg | 在测试剂量下在有意识的小型猪中未观察到心率、动脉血压或心电图活 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 率、心电图和体温的影响评估 | [14x、42x、140x] | 动的相关变化。 |
| | 大鼠中的延长的单次剂量毒性 | 2、4 mg/kg [480x、960x] | 没有观察到毒性体征。<br>给药（高剂量）后 30 分钟时死亡 1 只。组织病理学检查后无法确定死因。在该动物（以及高剂量组的其他 5 只动物）中在给药后立即仅观察到活动减少。<br>结论：在测试物中，$^{175}$Lu-PSMA-R2 单次静脉内施用后没有引起毒性体征，因此在大鼠中被良好耐受。 |
| [0236] | 小型猪中的单次剂量毒性 | 0.175、0.58、1.75 mg/kg [42x、140x、420x] | 没有相关的治疗相关毒性体征，在所测试的剂量下，化合物在小型猪中良好耐受。<br>无治疗相关的体征、眼部发现或心电图异常。<br>在高剂量组的一些动物中观察到血液学和临床化学方面的一些变化<br>没有观察到器官重量的变化，也没有观察到与治疗相关的宏观或微观变化。 |
| | 大鼠重复剂量（2 周）毒性 | 0.13、0.39、1.29 mg/kg [31x、93x、310x] | 与对照相比时，在治疗组中没有发现治疗相关效应的证据。因此，1.29 mg/kg/天可以被称为 NOAEL（无观察到的不良效应水平）。 |

[0237]

| | | |
|---|---|---|
| 小型猪重复剂量（2周）毒性 | 0.058、0.175、0.58 mg/kg [14x、42x、10x] | 当每天一次施用连续2周时，该化合物在小型猪中良好耐受。<br>与对照相比时，在治疗组中没有发现治疗相关效应的证据。因此，0.58 mg/kg/天可以被称为NOAEL（无观察到的不良效应水平）。 |

[0238] 基因毒性研究:细菌突变测定

[0239] 检测了测试物$^{175}$Lu标记的PSMA-R2溶液在鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌的测试菌株中诱导基因突变的能力,如通过营养缺陷型菌株回复至原养型测量。使用了五个测试菌株TA1535、TA1537、TA98、TA100和WP2 uvrA。在没有和存在代谢激活的情况下进行实验,使用来自用苯巴比妥和5,6-苯并黄酮预处理的大鼠的肝脏S9级分。

[0240] 测试物作为醋酸钠缓冲液中的溶液使用,本报告中的所有浓度均关于活性成分表示。测试物$^{175}$Lu标记的PSMA-R2溶液在毒性测试中以1000μg/板的最大可行浓度和以大约半对数间隔而隔开的四个较低浓度进行测定:316、100、31.6和10.0μg/板。在任何浓度的孵育期结束时均未观察到测试物的沉淀。在不存在或存在S9代谢的情况下,在任何剂量水平的任何测试菌株中均未观察到毒性或回复体数量的相关增加。

[0241] 在初步毒性测试中获得的结果的基础上,在主要测定中,使用平板掺入法,用以下剂量水平的所有测试菌株对测试物进行测定:1000、500、250、125和62.5μg/板。在任何浓度的孵育期结束时均未观察到测试物的沉淀。在不存在或存在S9代谢的情况下,在任何剂量水平的任何测试菌株中均未观察到毒性或回复体数量的相关增加。由于获得了明显的阴性结果,因此没有进行进一步的实验。

[0242] 得出的结论是,在报告的实验条件下,在不存在或存在S9代谢的情况下,测试物$^{175}$Lu标记的PSMA-R2溶液不会在鼠伤寒沙门氏菌或大肠杆菌中诱导回复突变。

[0243] 血浆中的体外稳定性

[0244] 在与来自四种不同物种(小鼠、大鼠、小型猪和人)的血浆孵育后,体外评估PSMA-R2配体的稳定性。PSMA-R2在不同基质中在37℃以10μg/mL的终浓度孵育30、60和120分钟。通过LC-MS/MS方法分析样品。

[0245] PSMA-R2在人血浆中表现出良好的稳定性,2小时后恢复率为85%。

[0246] 血浆蛋白结合研究

[0247] PSMA-R2和$^{175}$Lu-PSMA-R2的血浆蛋白结合已在化合物以两种不同的浓度1和5μg/mL在人、小鼠、大鼠和小型猪血浆中孵育后通过超滤法确定。结果(未结合级分的百分比)报告在表11中。

[0248] 表11:PSMA-R2血浆蛋白结合结果表示为未结合级分的百分比

[0249]

| 物种 | PSMA-R2 fu (%) | | 175Lu-PSMA-R2 fu (%) | |
|---|---|---|---|---|
| 5 μg/mL | 1 μg/mL | 5 μg/mL | 1 μg/mL | |
| 人 | 23.0 ± 0.5 | 29.9 ±4.6 | 45.0 ± 9.6 | 43.9 ± 5.1 |
| 小鼠 | 72.7 ± 1.5 | 86.2 ± 11.1 | 71.0 ± 2.2 | 71.1 ± 4.4 |
| 大鼠 | 22.6 ± 1.1 | 25.6 ± 1.8 | 50.8 ± 4.4 | 37.4 ± 4.9 |
| 小型猪 | 35.3 ± 8.5 | 40.7 ± 4.3 | 46.1 ± 12.5 | 41.1 ± 4.2 |

[0250] 结果支持$^{175}$Lu-PSMA-R2是非高度结合的化合物，人血浆中$^{175}$Lu-标记的或未标记的PSMA-R2的未结合级分的范围为约25％到45％。蛋白结合大鼠血浆和小型猪血浆的结果在同一范围内。与其他物种相比，小鼠表现出较低的蛋白质结合，未结合级分的范围从约70％到86％。一般来说，在所有物种中，测试的两种不同浓度的结果非常相似。

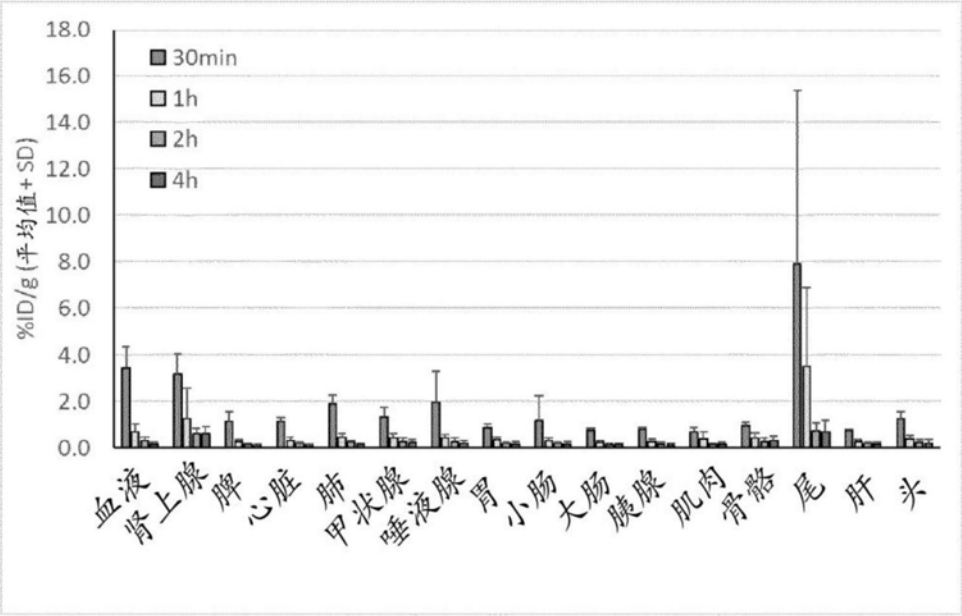

18.0
16.0
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
%ID/g(平均值+SD)
30min
1h
2h
4h
血液
肾上腺
脾
心脏
肺
甲状腺
唾液腺
胃
小肠
大肠
胰腺
肌肉
骨骼
尾
肝
头

图1

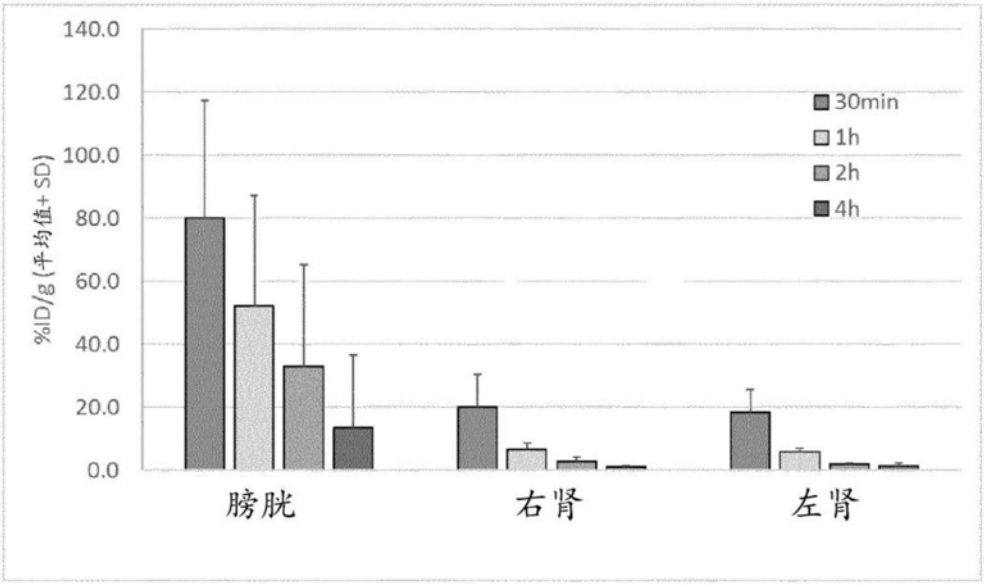

140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
%ID/g(平均值+SD)
30min
1h
2h
4h
膀胱
右肾
左肾

图2

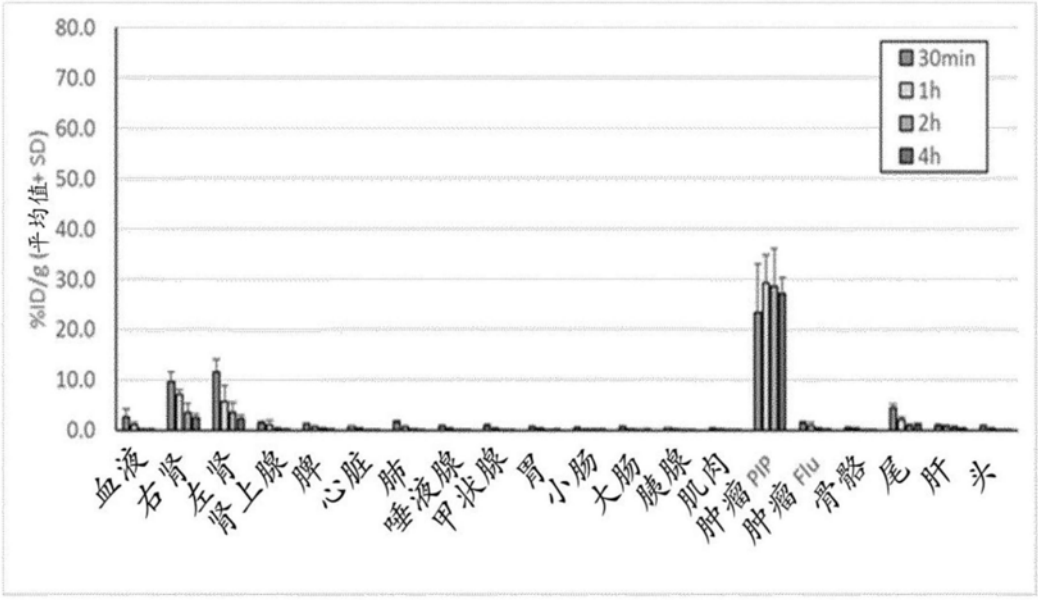

80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
%ID/g (平均值+ SD)
30min
1h
2h
4h
血液
右肾
左肾
肾上腺
脾
心脏
肺
唾液腺
甲状腺
胃
小肠
大肠
胰腺
肌肉
肿瘤 PIP
肿瘤 Flu
骨骼
尾
肝
头

图3

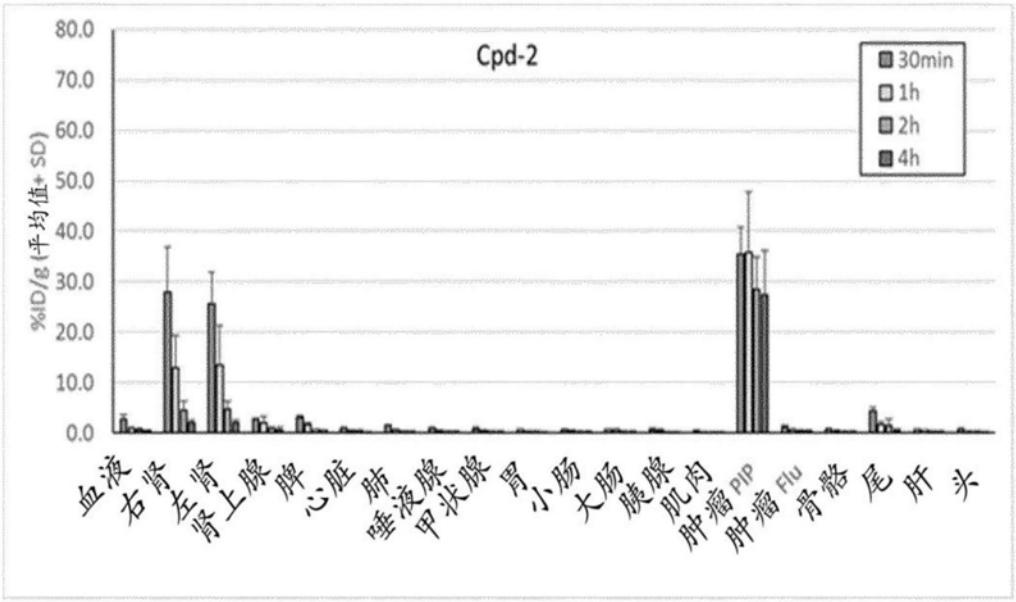

Cpd-2
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
%ID/g (平均值+ SD)
30min
1h
2h
4h
血液
右肾
左肾
肾上腺
脾
心脏
肺
唾液腺
甲状腺
胃
小肠
大肠
胰腺
肌肉
肿瘤 PIP
肿瘤 Flu
骨骼
尾
肝
头

图4

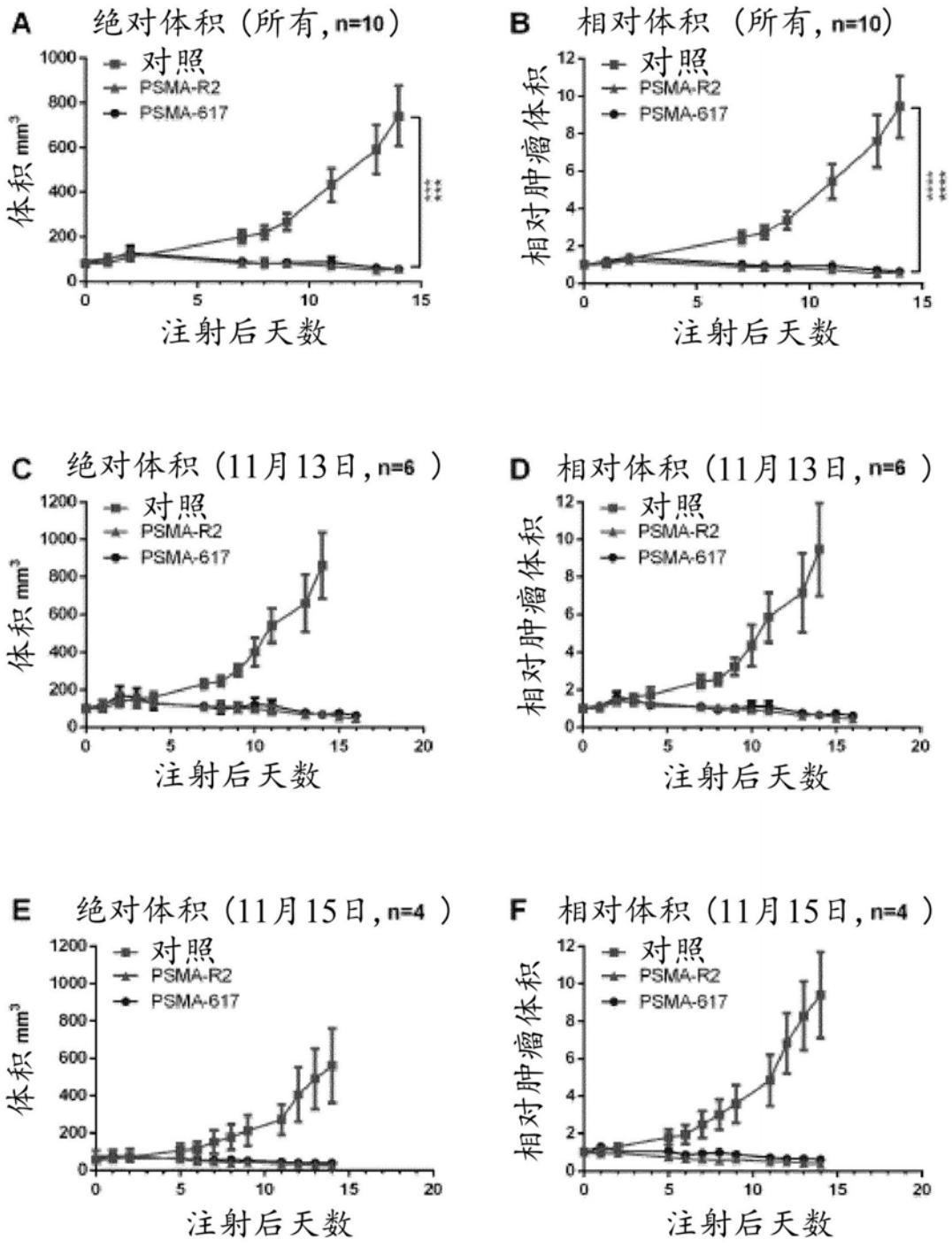

A 绝对体积（所有，n=10）
对照
PSMA-R2
PSMA-617
体积 mm³
注射后天数
B 相对体积（所有，n=10）
相对肿瘤体积
C 绝对体积（11月13日，n=6）
D 相对体积（11月13日，n=6）
E 绝对体积（11月15日，n=4）
F 相对体积（11月15日，n=4）

图5