



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113164615 A

(43) 申请公布日 2021.07.23

(21) 申请号 201980077232.8

(22) 申请日 2019.11.29

(30) 优先权数据

2018904548 2018.11.29 AU

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.05.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/AU2019/051312 2019.11.29

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/107078 EN 2020.06.04

(71) 申请人 星法马私人有限公司

地址 澳大利亚墨尔本

(72) 发明人 D·J·欧文 R·哈夫顿

K·J·舒尔特

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 肖轶 庞东成

(51) Int.Cl.

A61K 47/60 (2006.01)

A61K 47/62 (2006.01)

A61K 47/56 (2006.01)

A61K 47/64 (2006.01)

A61K 49/12 (2006.01)

A61K 51/06 (2006.01)

C08G 83/00 (2006.01)

C08G 73/02 (2006.01)

C08L 101/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 487/00 (2006.01)

C07D 305/14 (2006.01)

A61K 47/54 (2006.01)

权利要求书5页 说明书60页 附图12页

(54) 发明名称

用于治疗 and 成像的树状聚体

(57) 摘要

本文提供了一种树状聚体,其包含:i)核单元(C);和ii)构建单元(BU),其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;并且所述树状聚体进一步包含:iii)与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含含放射性核素部分;和iv)与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分;或其盐。还提供了包含树状聚体的组合物,以及在诊断和治疗应用中使用树状聚体和组合物的方法。



1. 一种树状聚体,其包含:
 - i) 核单元 (C); 和
 - ii) 构建单元 (BU);其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;
所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和
所述树状聚体进一步包含:
 - iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含含放射性核素部分;和
 - iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分;
或其盐。
2. 如权利要求1所述的树状聚体,其中所述第一端基包含络合基团和放射性核素。
3. 如权利要求2所述的树状聚体,其中所述络合基团是DOTA、苄基-DOTA、NOTA、DTPA、sarcophagine或DF0基团。
4. 如权利要求3所述的树状聚体,其中所述络合基团是DOTA、苄基-DOTA、NOTA、DTPA或DF0基团。
5. 如权利要求1至4中任一项所述的树状聚体,其中所述含放射性核素部分中的放射性核素为镱、钆、镓、锆、铜、铋、碲、钨或铜放射性核素。
6. 如权利要求5所述的树状聚体,其中所述放射性核素是钆、锆或镱放射性核素。
7. 如权利要求1至5中任一项所述的树状聚体,其中所述放射性核素是铜、锆、镱、铜、或碲放射性核素。
8. 如权利要求7所述的树状聚体,其中所述放射性核素是铜-64、铜-67、锆-89、镱-177、铜-225、或碲-211放射性核素。
9. 如权利要求1至8中任一项所述的树状聚体,其中所述放射性核素是 α -发射体。
10. 如权利要求1至9中任一项所述的树状聚体,其中所述放射性核素是 β -发射体。
11. 如权利要求1至10中任一项所述的树状聚体,其中所述药代动力学修饰部分是聚乙二醇 (PEG) 基团或聚乙基恶唑啉 (PEOX) 基团。
12. 如权利要求11中任一项所述的树状聚体,其中所述药代动力学修饰部分是平均分子量为至少500道尔顿的的PEG基团。
13. 如权利要求12所述的树状聚体,其中所述药代动力学修饰部分是平均分子量为500至3000道尔顿范围内的PEG基团。
14. 如权利要求11至13中任一项所述的树状聚体,其中所述PEG基团是甲氧基封端的PEG。
15. 如权利要求1至14中任一项所述的树状聚体,其中所述树状聚体包含与最外构建单元连接的第三端基,所述第三端基包含药物活性剂的残基。
16. 如权利要求15所述的树状聚体,其中所述药物活性剂是抗癌药或放射致敏剂。
17. 如权利要求16所述的树状聚体,其中所述抗癌剂选自由以下组成的组: 澳瑞他汀 (auristatin)、美登木素生物碱 (maytansinoid)、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂和核苷类似物。

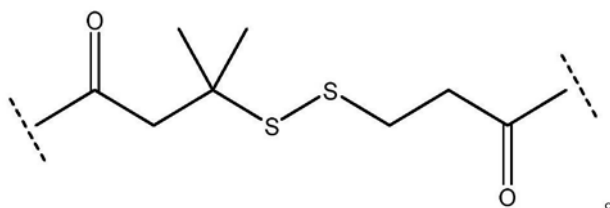
18. 如权利要求17所述的树状聚体,其中所述抗癌剂选自由以下组成的组:澳瑞他汀A、单甲基澳瑞他汀F、卡巴他赛(cabazitaxel)、多西他赛(docetaxel)、SN-38和吉西他滨(gemcitabine)。

19. 如权利要求18所述的树状聚体,其中所述抗癌剂选自由以下组成的组:卡巴他赛、多西他赛和SN-38。

20. 如权利要求15至19中任一项所述的树状聚体,其中所述药物活性剂的残基经由连接基与最外构建单元共价连接。

21. 如权利要求20所述的树状聚体,其中所述药物活性剂的残基经由可裂解连接基与最外构建单元共价连接。

22. 如权利要求21所述的树状聚体,其中所述连接基是:



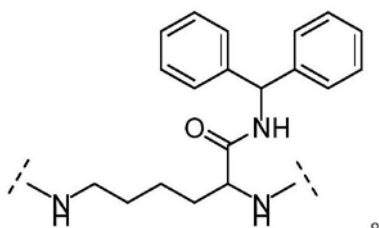
23. 如权利要求1至22中任一项所述的树状聚体,其中所述核单元不提供除经由所述构建单元以外的端基连接点。

24. 如权利要求1至23中任一项所述的树状聚体,其中所述构建单元的代是完整代。

25. 如权利要求1至24中任一项所述的树状聚体,其中所述核单元经由酰胺键与至少两个构建单元共价连接,每个酰胺键在存在于所述核单元中的氮原子与存在于构建单元中的酰基的碳原子之间形成。

26. 如权利要求25中任一项所述的树状聚体,其中所述树状聚体的所述核单元由包含两个氨基的核单元前体形成。

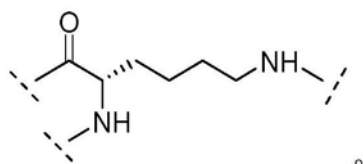
27. 如权利要求26所述的树状聚体,其中所述核单元是:



28. 如权利要求1至27中任一项所述的树状聚体,其中不同代的构建单元经由存在于一个构建单元中的氮原子与存在于另一构建单元中的酰基的碳原子之间形成的酰胺键彼此共价连接。

29. 如权利要求28所述的树状聚体,其中所述构建单元是赖氨酸残基或其类似物。

30. 如权利要求29所述的树状聚体,其中所述构建单元各自是:



31. 如权利要求28至30中任一项所述的树状聚体,其中所述第一端基与最外构建单元

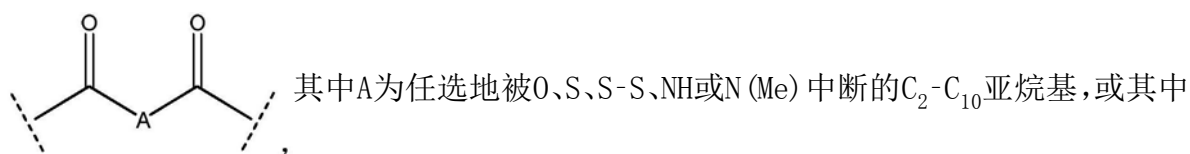
的氮原子连接,所述第二端基与最外构建单元的氮原子连接。

32. 如权利要求31所述的树状聚体,其中存在于所述最外构建单元中的1至3个氮原子与第一端基连接。

33. 如权利要求31至32中任一项所述的树状聚体,其中存在于所述最外构建单元中的氮原子的至少40%与所述第二端基连接。

34. 如权利要求28至33中任一项所述的树状聚体,其中所述树状聚体包含与最外构建单元的氮原子连接的第三端基,所述第三端基包含药物活性剂的残基。

35. 如权利要求34所述的树状聚体,其中所述药物活性剂包含羟基,其中药物活性剂的残基经由所述羟基的氧原子通过可裂解连接基与最外构建单元共价连接,其中所述可裂解连接基是下式的二酰基连接基



A为选自由以下组成的组的杂环:四氢呋喃、四氢噻吩、吡咯烷和N-甲基吡咯烷。

36. 如权利要求35所述的树状聚体,其中所述二酰基连接基是:

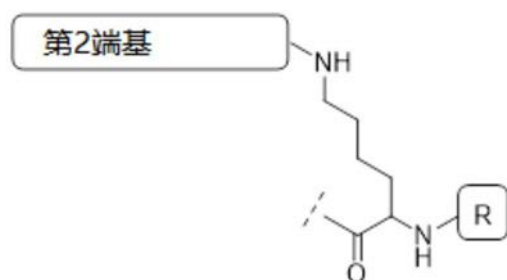


39. 如权利要求34至36中任一项所述的树状聚体,其中存在于所述最外构建单元中的氮原子的至少三分之一与第三端基连接。

40. 如权利要求28至39中任一项所述的树状聚体,其中所述树状聚体包含最外构建单元,所述最外构建单元含有-NH₂基团和/或含有用乙酰基封端的氮原子。

41. 如权利要求28至40中任一项所述的树状聚体,其中存在于所述最外代构建单元中的氮原子的至少80%被取代。

42. 如权利要求1至41中任一项所述的树枝状聚体,其中所述树枝状聚体包含表面单元,所述表面单元包含外部构建单元和具有下式的第二端基:



其中R表示第一端基或第三端基。

43. 如权利要求1至42中任一项所述的树状聚体,其中所述树状聚体是任何实施例树状聚体。

44. 一种包含多种树状聚体或其盐的组合物,其中至少一些所述树状聚体如权利要求1至43中任一项所定义,且其中所述组合物中每个树状聚体的第一端基的平均数量在0.2至8的范围内,且所述组合物中每个树状聚体的第二端基的平均数量在10至32的范围内。

45. 如权利要求44所述的组合物, 其中所述组合物中每个树状聚体的第三端基的平均数量在10至31的范围内。

46. 如权利要求44或45所述的组合物, 其中所述组合物是包含药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

47. 一种确定受试者是否患有癌症的方法, 其包含:

向受试者施用如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对受试者的身体或其部分进行成像; 和

基于所述成像结果确定所述受试者是否患有癌症。

48. 一种对受试者中的癌症进行成像的方法, 其包含:

向患有癌症的受试者施用如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对受试者的身体或其部分进行成像。

49. 一种确定受试者中癌症进展的方法, 其包含:

向患有癌症的受试者施用第一量的如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对所述受试者的身体或其部分进行第一成像步骤;

随后向所述受试者施用第二量的如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对所述受试者的身体或其部分进行第二成像步骤; 和

基于所述第一和第二成像结果确定所述癌症是否已经进展。

50. 一种为患有癌症的受试者确定适当疗法的方法, 其包含:

向所述受试者施用如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对受试者的身体或其部分进行成像; 和

如果成像结果指示所述癌症对用疗法治疗的易感性, 则向所述受试者施用所述疗法。

51. 一种确定向患有癌症的受试者施用的癌症疗法的有效性的方法, 其包含:

向所述受试者施用第一量的如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对所述受试者的身体或其部分进行第一成像步骤;

向所述受试者施用癌症疗法;

随后向所述受试者施用第二量的如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物;

对所述受试者的身体或其部分进行第二成像步骤; 和

基于第一和第二成像结果确定所述癌症疗法的有效性。

52. 如权利要求50或51所述的方法, 其中所述疗法是如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物。

53. 一种治疗癌症的方法, 所述方法包含向有需要的受试者施用治疗有效量的如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物。

54. 如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物,用于诊断受试者的癌症、用于确定针对患有癌症的受试者的适当疗法、用于确定向受试者施用的癌症疗法的有效性、或用于确定受试者的癌症进展。

55. 如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体,或如权利要求46所述的药物组合物,其用于治疗癌症。

56. 如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物在制备用于诊断癌症的药物、用于确定针对患有癌症的受试者的适当疗法、用于确定向受试者施用的癌症疗法的有效性、或用于确定受试者的癌症进展中的用途。

57. 如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体或如权利要求46所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

58. 如权利要求47至57中任一项所述的方法、用途或所用的树状聚体或组合物,其中所述癌症是前列腺癌、胰腺癌、胃肠癌、胃癌、肺癌、子宫癌、乳腺癌、脑癌或卵巢癌。

59. 如权利要求58所述的方法、用途或所用的树状聚体或组合物,其中所述癌症是前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌或脑癌。

60. 如权利要求58至59中任一项所述的方法、用途或所用的树状聚体或组合物,其中所述癌症是成胶质细胞瘤、脑膜瘤、垂体瘤、神经鞘瘤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤或颅咽管瘤的脑癌。

61. 如权利要求58至60中任一项所述的方法、用途或所用的树状聚体或组合物,其中所述树状聚体与另外的抗癌药物组合施用。

62. 一种用于生产含放射性核素的树状聚体的中间体,其包含:

i) 核单元(C);和

ii) 构建单元(BU);

其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

所述树状聚体进一步包含:

iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含用于络合放射性核素的络合基团;和

iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分。

63. 一种用于生产如权利要求1至43中任一项所限定的树状聚体的试剂盒,其包含:

a) 如权利要求62所限定的中间体;和

b) 放射性核素。

64. 一种用于生产如权利要求1至43中任一项所述的树状聚体的工艺,所述工艺包含:

使如权利要求62所限定的中间体与放射性核素接触,从而生产所述树状聚体。

用于治疗 and 成像的树状聚体

技术领域

[0001] 本发明涉及包含含放射性核素的部分的树状聚体。树状聚体可用于诊断、治疗诊断和治疗应用,例如与肿瘤成像。本发明还涉及包含树状聚体的药物组合物,以及使用树状聚体的诊断、成像、确定疗法和治疗的方法。

背景技术

[0002] 分子成像技术包括单模态,诸如正电子发射断层摄影(PET)、单光子发射计算机断层摄影(SPECT)、磁共振成像(MRI)、磁共振波谱(MRS)、计算机断层摄影(CT)、超声、生物发光、荧光成像、以及多模态,例如PET/CT、SPECT/CT和PET/MRI。基于放射性核素的成像方法,特别是PET,由于其高灵敏度(皮摩尔水平)和无限的组织穿透而继续成为诊断和治疗应用研究的活跃领域。

[0003] 放射治疗由于其诱导DNA损伤和细胞周期停滞的能力,是抗癌的强有力工具。大约50%的癌症患者接受放射治疗,大约40%的成功。内部放射主要向肿瘤递送 α 或 β 发射放射性核素。在使有害的场外辐射暴露最小化的同时将放射疗法递送至所需部位的现有方法包括模拟剂,诸如Xifigo(Ra223, Bayer)放射性珠,诸如西罗莫司(Y-90Sirtex),和靶向疗法,诸如Lutathera(AAA/Novartis)。然而,需要允许放射疗法和放射成像剂向肿瘤部位的改善递送的疗法。此外,需要允许使用相同或紧密相关的药剂进行成像和治疗的放射治疗诊断。

发明内容

[0004] 已经发现,树状聚体的放射性标记对于提高早期疾病检测的灵敏度、准确诊断和各种疾病类型特别是癌症的个性化疗法具有巨大潜力。树状聚体具有在一个表面上呈现各种表面官能团的能力,诸如放射性核素络合物,以提供成像稳定性和药代动力学修饰剂,其可以显著增加溶解度和提供隐身。

[0005] 本发明部分基于以下发现:基于赖氨酸或赖氨酸类似物构建单元的树状聚体在肿瘤成像应用中出乎意料地有效,所述树状聚体具有与含放射性核素部分连接的最外氮原子,并且具有与药代动力学修饰部分连接的最外氮原子。已令人惊奇地发现含放射性核素的树状聚体的示例在肿瘤(包括脑肿瘤)中高度累积。

[0006] 相应地,在第一方面,提供了一种树状聚体,其包含:

[0007] i) 核单元(C);和

[0008] ii) 构建单元(BU);

[0009] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0010] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0011] 所述树状聚体进一步包含:

[0012] iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含含放射性核素部分;和

[0013] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动

力学修饰部分；

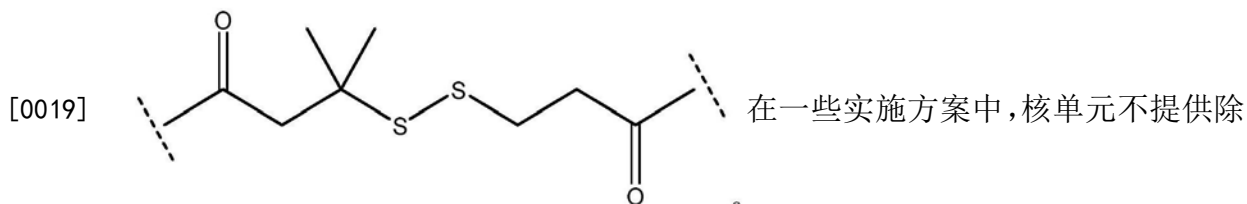
[0014] 或其盐。

[0015] 在一些实施方案中，第一端基包含络合基团和放射性核素。在一些实施方案中，络合基团是DOTA、NOTA、DTPA、sarcophagine或DF0基团。在一些实施方案中，络合基团是DOTA、苄基-DOTA、NOTA、DTPA或DF0基团。在一些实施方案中，含放射性核素部分中的放射性核素为镅、钆、镓、锆、钬、铈、镨或铜放射性核素。在一些实施方案中，放射性核素是钆、锆或镅放射性核素。在一些实施方案中，放射性核素是铜、锆、镅或铈放射性核素。在一些实施方案中，放射性核素是铜-64、铜-67、锆-89、镅-177、钬-225或铈-211放射性核素。在一些实施方案中，放射性核素是 α -发射体。在一些实施方案中，放射性核素是 β -发射体。

[0016] 在一些实施方案中，药代动力学修饰部分是聚乙二醇 (PEG) 基团或聚乙基恶唑啉 (PEOX) 基团。在一些实施方案中，药代动力学修饰部分是具有至少500道尔顿的平均分子量的PEG基团。在一些实施方案中，药代动力学修饰部分是平均分子量为500至3000道尔顿范围内的PEG基团。在一些实施方案中，PEG基团是甲氧基封端的PEG。

[0017] 在一些实施方案中，树状聚体包含与最外构建单元连接的第三端基，该第三端基包含药物活性剂的残基。在一些实施方案中，药物活性剂是抗癌药或放射致敏剂。在一些实施方案中，所述抗癌剂选自由以下组成的组：澳瑞他汀 (auristatin)、美登木素生物碱 (maytansinoid)、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂和核苷类似物。在一些实施方案中，抗癌剂选自由以下组成的组：单甲基澳瑞他汀E、单甲基澳瑞他汀F、卡巴他赛、多西他赛、SN-38和吉西他滨。在一些实施方案中，抗癌剂选自由以下组成的组：卡巴他赛、多西他赛和SN-38。

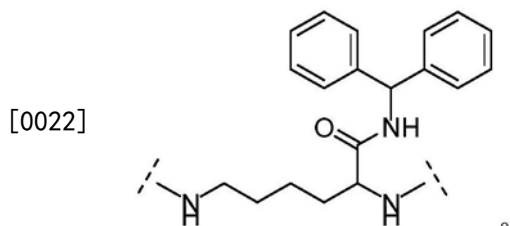
[0018] 在一些实施方案中，药物活性剂的残基经由连接基与最外构建单元共价连接。在一些实施方案中，药物活性剂的残基经由可裂解连接基与最外构建单元共价连接。在一些实施方案中，连接基是：



经由构建单元以外的端基连接点。

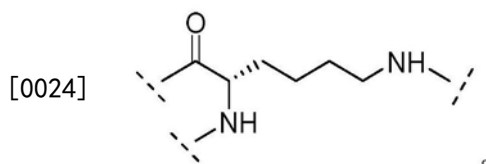
[0020] 在一些实施方案中，构建单元的代为完整代。

[0021] 在一些实施方案中，所述核单元经由酰胺键共价连接至至少两个构建单元，每个酰胺键在存在于所述核单元中的氮原子与存在于构建单元中的酰基的碳原子之间形成。在一些实施方案中，树状聚体的核单元由包含两个氨基的核单元前体形成。在一些实施方案中，核单元为：



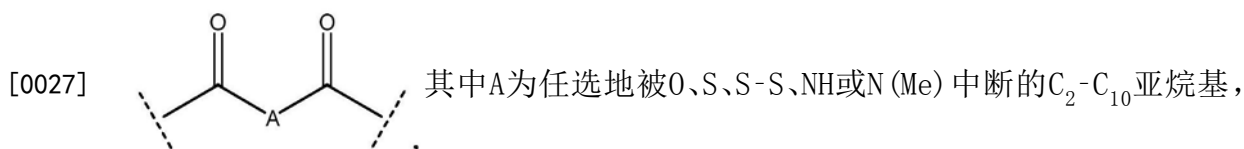
[0023] 在一些实施方案中，不同代的构建单元经由存在于一个构建单元中的氮原子与存

在于另一构建单元中的酰基的碳原子之间形成的酰胺键彼此共价连接。在一些实施方案中,构建单元是赖氨酸残基或其类似物。在一些实施方案中,构建单元各自为:

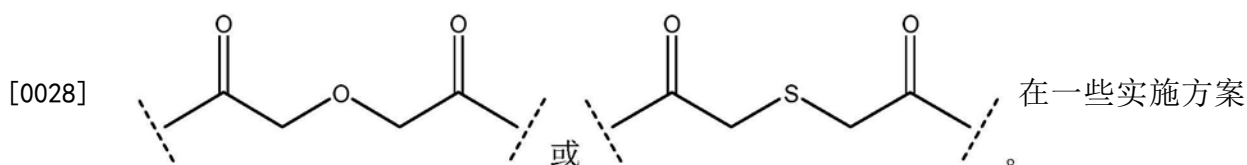


[0025] 在一些实施方案中,第一端基连接与最外构建单元的氮原子连接,第二端基与最外构建单元的氮原子连接。在一些实施方案中,存在于最外构建单元中的1至3个氮原子与第一端基连接。在一些实施方案中,存在于最外构建单元中的氮原子的至少40%与第二端基连接。

[0026] 在一些实施方案中,树状聚体包含与最外构建单元的氮原子连接的第三端基,第三端基包含药物活性剂的残基。在一些实施方案中,所述药物活性剂包含羟基,其中药物活性剂的残基经由羟基的氧原子通过可裂解的连接基共价连接至最外构建单元,并且其中可裂解连接基是二酰基连接基。在一些实施方案中,二酰基连接基具有下式:



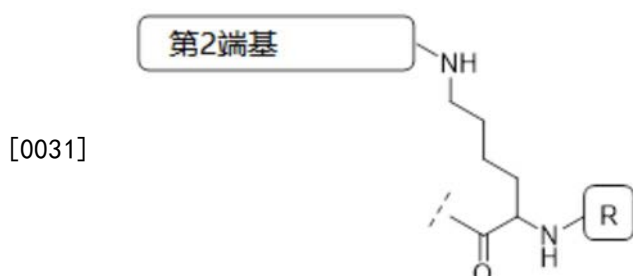
或其中A为选自由以下组成的组的杂环:四氢呋喃、四氢噻吩、吡咯烷和N-甲基吡咯烷。在一些实施方案中,二酰基连接基是:



中,存在于最外构建单元中的氮原子的至少三分之一与第三端基连接。

[0029] 在一些实施方案中,所述树状聚体包含最外构建单元,所述最外构建单元含有-NH₂基团和/或含有用乙酰基封端的氮原子。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的氮原子的至少80%被取代。

[0030] 在一些实施方案中,所述树枝状聚体包含表面单元,所述表面单元包含外部构建单元和具有下式的第二端基:



[0032] 其中R表示第一端基或第三端基。

[0033] 在一些实施方案中,树状聚体是本文所述的任何实施例树状聚体。

[0034] 在另一方面,提供了包含多种树状聚体或其盐的组合物,

[0035] 其中所述组合物中的树状聚体中的至少一些如本文根据其方面、实施方案或实施

例中的任一个或多个所描述，

[0036] 所述组合物中每个树状聚体的第一端基的平均数量在约0.2至8的范围内，且

[0037] 所述组合物中每个树状聚体的第二端基的平均数量在约10至32的范围内。

[0038] 在一些实施方案中，所述组合物中每个树状聚体的第三端基的平均数量在约10至31的范围内。在一些实施方案中，所述组合物是包含药学上可接受的赋形剂的药物组合物。

[0039] 在另一方面，提供了确定受试者是否患有癌症的方法，其包含：

[0040] 向受试者施用根据任何一个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0041] 对受试者的身体或其部分进行成像；和

[0042] 基于成像结果确定所述受试者是否患有癌症。

[0043] 在另一方面，提供了对受试者中的癌症进行成像的方法，其包含：

[0044] 向患有癌症的受试者施用根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0045] 对受试者的身体或其部分进行成像。

[0046] 在另一方面，提供了确定受试者中癌症进展的方法，其包含：

[0047] 向患有癌症的受试者施用第一量的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0048] 对受试者的身体或其部分进行第一成像步骤；

[0049] 随后向受试者施用第二量的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0050] 对所述受试者的身体或其部分进行第二成像步骤；和

[0051] 基于所述第一和第二成像结果确定所述癌症是否已经进展。

[0052] 在另一方面，提供了为患有癌症的受试者确定适当疗法的方法，其包含：

[0053] 向受试者施用根据本文所述的任何一个或多个方面、实施方案或实施例的树状聚体或根据本文所述的任何一个或多个方面、实施方案或实施例的药物组合物；

[0054] 对受试者的身体或其部分进行成像；和

[0055] 确定如果成像结果指示所述癌症对用疗法治疗的易感性，则向所述受试者施用所述疗法。

[0056] 在另一方面，提供了一种确定向患有癌症的受试者施用的癌症疗法的有效性的方法，其包含：

[0057] 向受试者施用第一量的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0058] 对所述受试者的身体或其部分进行第一成像步骤；

[0059] 向受试者施用癌症疗法；

[0060] 随后向受试者施用第二量的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本

文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物；

[0061] 对所述受试者的身体或其部分进行第二成像步骤；和

[0062] 基于第一和第二成像结果确定所述癌症疗法的有效性。

[0063] 在其中施用疗法的任何上述方法的一些实施方案中，所述疗法是根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物。

[0064] 在另一方面，提供了治疗癌症的方法，其包含向有需要的受试者施用治疗有效量的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物。

[0065] 在另一方面，提供了根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体，或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物，用于诊断受试者中的癌症、用于确定对患有癌症的受试者的适当疗法、用于确定癌症的进展、或用于确定癌症疗法的有效性。

[0066] 在另一方面，提供了用于治疗癌症的根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体，或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物。

[0067] 在另一方面，提供了根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体的用途，或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物的用途，其用于制造用于诊断癌症的药物、或用于确定对患有癌症的受试者的适当疗法、或用于确定癌症进展、或用于确定癌症疗法的有效性。

[0068] 在另一方面，提供了根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体，或根据任何一个或多个方面、实施方案或实施例的如本文所述的药物组合物，在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0069] 在一些实施方案中，癌症是前列腺癌、胰腺癌、胃肠癌、胃癌、肺癌、子宫癌、乳腺癌、脑癌或卵巢癌。在一些实施方案中，癌症是前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌或脑癌。在一些实施方案中，癌症是成胶质细胞瘤、脑膜瘤、垂体瘤、神经鞘瘤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤或颅咽管瘤的脑癌。

[0070] 在一些实施方案中，树状聚体与其它抗癌药物组合施用。

[0071] 在进一步的方面，提供了一种用于生产含放射性核素的树状聚体的中间体，其包含：

[0072] i) 核单元 (C)；和

[0073] ii) 构建单元 (BU)；

[0074] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接；

[0075] 所述树状聚体具有二至六代构建单元；其中不同代的构建单元彼此共价连接；和

[0076] 所述树状聚体进一步包含：

[0077] iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基，其中每个第一端基包含用于络合放射性核素的络合基团；和

[0078] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基，其中每个第二端基包含药代动

力学修饰部分；

[0079] 或其盐。

[0080] 在另一方面，提供了用于生产根据本文所述的任何一个或多个方面、实施方案或实施例的树状聚体的试剂盒，其包含：

[0081] a) 根据其实施方案或实施例中的任一个或多个，用于生产如本文所述的含放射性核素的树状聚体的中间体；和

[0082] b) 放射性核素。

[0083] 在另一方面，提供了用于生产根据本文所述的任何一个或多个方面、实施方案或实施例的树状聚体的工艺，其包含：

[0084] 使本文限定的中间体与放射性核素接触，从而生产含放射性核素的树状聚体。

[0085] 应当理解，本文描述了进一步的方面、实施方案和实施例，其可以包括如上所述的一个或多个方面、实施方案或实施例。

附图说明

[0086] 图1显示了用⁸⁹Zr标记的树状聚体化合物1b和3的放射-TLC图像。

[0087] 图2显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b在携带DU-145异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0088] 图3显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b在携带PC3异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0089] 图4显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物3在携带DU-145异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0090] 图5显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物3在携带PC3异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0091] 图6示出显示在注射后8小时，施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的小鼠群在DU145和PC3前列腺癌异种移植植物中的体内生物分布的图。

[0092] 图7示出显示在注射后9天，施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的小鼠群在DU145和PC3前列腺癌异种移植植物中的体内生物分布的图。

[0093] 图8示出了对于在DU145和PC3前列腺癌异种移植植物中施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的小鼠群，相对累积作为时间函数的曲线图的图表。

[0094] 图9显示了用⁸⁹Zr标记的树状聚体化合物1b和3的放射-TLC图像。

[0095] 图10显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b在携带MDA-MB-468异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0096] 图11显示了代表性的体内图像，其显示了在注射后9天(216小时)时，标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物3在携带MDA-MB-468异种移植物的小鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像

中用白色箭头标记。

[0097] 图12显示了代表性的体内图像,其显示了在注射后9天(216小时)时,标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b在携带PANC-1异种移植物的老鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0098] 图13显示了代表性的体内图像,其显示了在注射后9天(216小时)时,标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物3在携带PANC-1异种移植物的老鼠(n=4)中的生物分布。肿瘤在图像中用白色箭头标记。

[0099] 图14显示了显示在注射后8小时,在MDA-MB-468和PANC-1乳腺癌和胰腺癌异种移植中施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的老鼠群的体内生物分布的图。

[0100] 图15显示了显示在注射后9天,在MDA-MB-468和PANC-1乳腺癌和胰腺癌异种移植中施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的老鼠群的体内生物分布的图。

[0101] 图16是显示对于MDA-MB-468和PANC-1乳腺癌和胰腺癌异种移植中施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的老鼠群,相对累积作为时间函数的曲线图的图表。

[0102] 图17显示注射标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b后40小时携带神经胶质瘤的老鼠的PET-MR图像。肿瘤区域用白色箭头表示。

[0103] 图18显示注射标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b后5天携带神经胶质瘤的老鼠的PET-MR图像。肿瘤区域用白色箭头表示。

[0104] 图19显示了显示在注射后9天,在DU145、PC3、MDA-MB-468和PANC-1乳腺癌和胰腺癌异种移植中施用标记有⁸⁹Zr的树状聚体化合物1b或3的老鼠群的体外生物分布的图。

[0105] 图20示出了显示施用了树状聚体化合物4b、5和/或含卡巴他赛的树状聚体的老鼠群的肿瘤体积随时间的百分比变化的图。

具体实施方式

[0106] 一般定义

[0107] 除非另有明确定义,否则本文所用的所有技术和科学术语应具有与本领域普通技术人员通常所理解的含义(例如,化学、生物化学、药物化学、聚合物化学等)。

[0108] 在整个说明书中,单词“包含(comprise)”或诸如“包含(comprises)”或“包含(comprising)”的变体将被理解为暗示包括陈述的元素、整数或步骤,或元素、整数或步骤的组,但不排除任何其他元素、整数或步骤,或元素、整数或步骤的组。

[0109] 如本文所用,术语“和/或”,例如“X和/或Y”应被理解为表示“X和Y”或“X或Y”,并且应被理解为对这两种含义或无论哪种含义提供明确的支持。

[0110] 如本文所用,除非有相反的说明,否则术语“约”是指指定值的+/-20%,更优选地+/-10%。

[0111] 如本文所用,除非上下文另外明确指出,否则术语“一(a/an)”和“该”既包括单数形式也包括复数形式。

[0112] 除非另外指明,否则诸如“第一”、“第二”等术语在本文中仅用作标签,并且不旨在对这些术语所提及的项目施加顺序、位置或分级要求。此外,对“第二”项目的引用不要求或排除较低编号项目(例如,“第一”项目)和/或较高编号项目(例如,“第三”项目)的存在。

[0113] 如本文所用,短语“...中的至少一个”当与项目列表一起使用时,意指可使用所列

项目中的一个或一个以上的不同组合,且可能仅需要列表中的项目中的一个。该项目可以是特定的对象、事物或类别。换句话说,“...中的至少一个”意味着可以使用来自列表的项目的任何组合或多个项目,但是可能不需要列表中的所有项目。例如,“项目A、项目B和项目C中的至少一个”可以意指项目A;项目A,项目B;项目B;项目A,项目B,项目C;或项目B和项目C。在一些情况下,“项目A、项目B和项目C中的至少一个”可以意指例如但不限于项目A中的两个、项目B中的一个和项目C中的十个;项目B中的四个和项目C中的七个;或一些其它合适的组合。

[0114] 如本文所用,术语“受试者”是指易受疾病或病症影响的任何生物体。例如,受试者可以是动物,哺乳动物,灵长类动物,牲畜动物(例如,绵羊、牛、马、猪),伴侣动物(例如,狗、猫)或实验动物(例如,小鼠、兔子、大鼠、豚鼠、仓鼠)。在一个实施例中,受试者是哺乳动物。在一个实施例中,受试者是人。在一个实施方案中,受试者是非人类动物。

[0115] 如本文所用,术语“治疗”包括减轻与特定病状或病症相关的症状。例如,如本文所用,术语“治疗癌症”包括减轻与癌症相关的症状。在一个实施方案中,术语“治疗癌症”是指癌性肿瘤尺寸的减小。在一个实施方案中,术语“治疗癌症”是指无进展存活的增加。如本文所用,术语“无进展存活”是指在治疗癌症期间和之后的时间长度,患者患有该疾病,即癌症,但该疾病没有复发或症状增加的时间长度。

[0116] 如本文所用,术语“预防”包括预防特定病况或病症。例如,如本文所用,术语“预防癌症”是指预防与癌症相关的症状的发作或持续时间。在一个实施方案中,术语“预防癌症”是指减缓或停止癌症的进展。在一个实施方案中,术语“预防癌症”是指减缓或预防转移。

[0117] 本文所用的术语“治疗有效量”是指以足以在一定程度上减轻或预防所治疗的病况或病症的一种或多种症状的量施用的树状聚体。结果可以是疾病或病症的体征、症状或病因的减少和/或减轻,或生物系统的任何其他期望的改变。在一个实施方案中,术语“治疗有效量”是指以足以导致癌性肿瘤尺寸减小的量施用的树状聚体。在一个实施方案中,术语“治疗有效量”是指以足以导致无进展存活增加的量施用的树状聚体。本文所用的术语“有效量”是指有效实现期望的药理学效果或治疗性改善而没有不适当的不良副作用或实现期望的药理学效果或治疗性改善且副作用分布减少的树状聚体的量。治疗有效量可以例如通过常规实验确定,包括但不限于剂量递增临床试验。术语“治疗有效量”包括例如预防有效量。在一个实施方案中,预防有效量是足以防止转移的量。应理解,“有效量”或“治疗有效量”可因受试者不同而变化,这归因于化合物的代谢以及受试者的年龄、体重、一般病症、所治疗的病症、所治疗的病症的严重程度和开处方医师的判断中的任一者的变化。在任何个别情况下,适当的“有效量”可以由本领域普通技术人员使用常规实验来确定。

[0118] 如本文所用,术语“烷基”是指单价直链(即直链)或支链饱和烃基。在一个实施例中,烷基含有1至10个碳原子(即, C_{1-10} 烷基)。在一个实施例中,烷基含有1至6个碳原子(即, C_{1-6} 烷基)。烷基的示例包括甲基、乙基、丙基(例如正丙基、异丙基)、丁基(例如正丁基、仲丁基、叔丁基)、戊基和己基)。

[0119] 如本文所用,术语“亚烷基”是指二价直链(即直链)或支链饱和烃基。在一个实施例中,亚烷基含有2至10个碳原子(即, C_{2-10} 亚烷基)。在一个实施例中,亚烷基含有2至6个碳原子(即, C_{2-6} 亚烷基)。亚烷基的示例包括例如 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 等。

[0120] 树状聚体的合适的盐包括与有机或无机酸或碱形成的那些。如本文所用,短语“药学上可接受的盐”是指药学上可接受的有机或无机盐。示例性的酸加成盐包括但不限于硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸酯、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸、蔗糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羧基萘酸盐(即1,1'-亚甲基-双(2-羟基-3-萘甲酸盐))盐。示例性碱加成盐包括但不限于铵盐,碱金属盐,例如钾和钠的那些,碱土金属盐,例如钙和镁的那些,以及与有机碱的盐,例如二环己胺,N-甲基-D-葡萄糖胺,吗啉,硫代吗啉,哌啶,吡咯烷,单-、二-或三-低级烷基胺,例如乙基-、叔丁基-、二乙基-、二异丙基-、三乙基-、三丁基-或二甲基-丙胺,或单-、二-或三羟基低级烷基胺,例如单-、二-或三乙醇胺。药学上可接受的盐可涉及包含另一种分子,诸如乙酸根离子、琥珀酸根离子或其它抗衡离子。抗衡离子可以是稳定母体化合物上的电荷的任何有机或无机部分。此外,药学上可接受的盐在其结构中可以有多个带电原子。多个带电原子是药学上可接受的盐的一部分的情况可以有多个抗衡离子。因此,药学上可接受的盐可具有一个或多个带电原子和/或一个或多个抗衡离子。还将理解,非-药学上可接受的盐也落入本发明的范围内,因为这些可用作制备药学上可接受的盐的中间体或可在储存或运输期间使用。

[0121] 有机和/或药物化学领域的技术人员将理解,许多有机化合物可以与它们在其中反应或它们从其中沉淀或结晶的溶剂形成络合物。这些络合物称为“溶剂化物”。例如,与水的络合物称为“水合物”。如本文所用,短语“药学上可接受的溶剂化物”或“溶剂化物”是指一个或多个溶剂分子与本发明的化合物的缔合。形成药学上可接受的溶剂化物的溶剂的实例包括但不限于水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺。

[0122] 如本文所用,术语“树状聚体”是指含有核和连接到核的树枝化基元的分子。每个树枝化基元由多代支化构建单元组成,从而导致具有随着每代构建单元而增加的支链数的支化结构。树状聚体可以包括如上定义的药学上可接受的盐或溶剂合物。

[0123] 如本文所用,术语“构建单元”是指包含赖氨酸残基或其类似物的支链分子,至少一个官能团用于连接至核或前一代构建单元,并且至少两个官能团用于连接至下一代构建单元或形成树状聚体分子的表面。

[0124] 如本文所用,术语“附接”是指化学组分之间通过共价键合的连接。术语“共价键合”与术语“共价连接”可互换使用。

[0125] 树状聚体

[0126] 在第一方面,提供了一种树状聚体,其包含:

[0127] i) 核单元(C);和

[0128] ii) 构建单元(BU);

[0129] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0130] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0131] 所述树状聚体进一步包含:

[0132] iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含放射性核素部分;和

[0133] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分;

[0134] 或其盐。

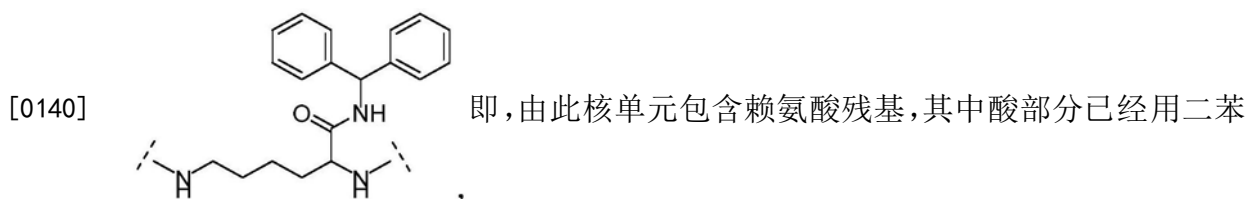
[0135] 已经发现本发明的树状聚体是优异的成像剂,其含有结合了药代动力学修饰基团部分和含放射性核素部分的树状聚体支架,所述成像剂在肿瘤中累积并提供优异的成像性质,诸如PET成像。此外,树状聚体在诸如成胶质细胞瘤的脑肿瘤中有效累积,并且已经观察到穿过血脑屏障,这进一步支持它们具有有用的成像、诊断和治疗特性。

[0136] 核单元

[0137] 树状聚体的核单元(C)为由构建单元形成的树状聚体提供连接点。可以使用含有可以与构建单元上存在的官能团形成共价键的官能团的任何合适的核单元。

[0138] 在一些实施方案中,核单元经由酰胺键共价连接至至少两个构建单元。在一些实施方案中,每个酰胺键在存在于所述核单元中的氮原子与存在于构建单元中的酰基的碳原子之间形成。在其它实施方案中,每个酰胺键在核单元中存在的酰基的碳原子与构建单元中存在的氮原子之间形成。

[0139] 在一些实施方案中,核单元与2、3或4个构建单元共价连接。在一个特定实施方案中,核单元与2个构建单元共价连接。核单元可以例如由包含氨基的核单元前体形成。作为另一示例,核单元可以由包含羧酸基团的核单元前体形成。在与2个构建单元连接的核单元的情况下,树状聚体的核单元可以例如由包含两个氨基的核单元前体形成。在一些实施方案中,核单元为:



甲基胺(BHA-Lys)封端以形成相应的酰胺,并且可以例如由核单元前体形成:

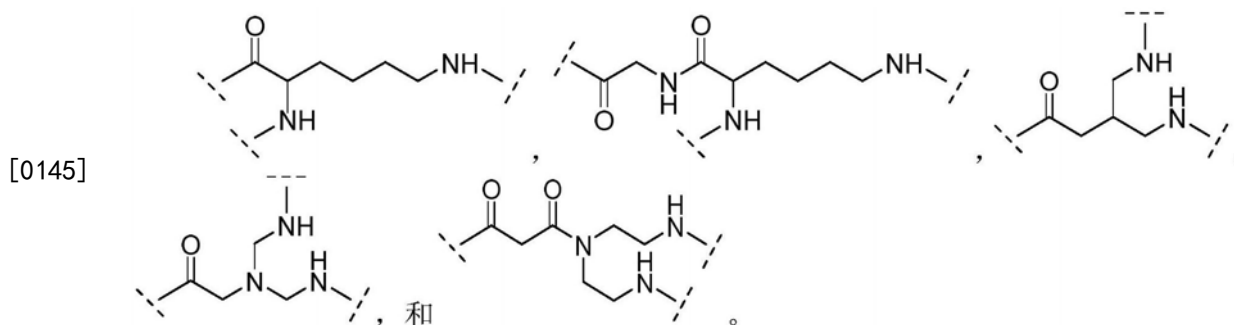


[0142] 本发明的树状聚体允许多个端基以受控方式呈现在树状聚体的表面上。特别地,对于赖氨酸构建单元,构建单元在 α 或 ϵ 氮原子上的位置可以如下所述预先确定。在一些优选的实施方案中,所有的络合基团(含放射性核素部分,和含稳定同位素的络合基团(冷物质),药物动力学修饰部分,以及如果存在的话,药物活性剂的残基)经由构建单元的连接提供在树状聚体的表面上。换言之,在那些实施方案中,核单元不提供除经由构建单元以外的端基连接点。应当理解,在这样的实施方案中,存在于核单元中的不用于共价连接到构建单元的任何官能团将是未反应的,或者将已经用合适的封端基团封端以防止进一步反应。这种核单元的示例是上述BHA-Lys基团。

[0143] 构建单元

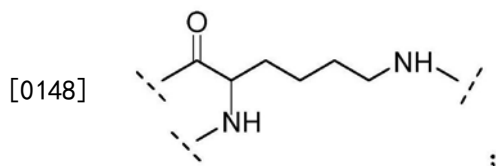
[0144] 任何合适的构建单元(BU)可用于制备树状聚体,只要其含有能够与存在于另一构

建单元或核单元上的官能团形成键的第一官能团,并且含有能够(例如在脱保护之后)与存在于另一构建单元上的官能团形成键的至少两个另外的官能团。在一些优选实施方案中,不同代的构建单元经由存在于一个构建单元中的氮原子与存在于另一构建单元中的酰基的碳原子之间形成的酰胺键彼此共价连接。例如,在一些实施方案中,构建单元(BU)是赖氨酸残基或其类似物,并且可以由合适的构建单元前体形成,例如含有适当保护基团的赖氨酸或赖氨酸类似物。赖氨酸类似物具有两个用于与随后生成的构建单元结合的氨基氮原子和用于与先前生成的构建单元或核结合的酰基。合适的构建单元的示例包括



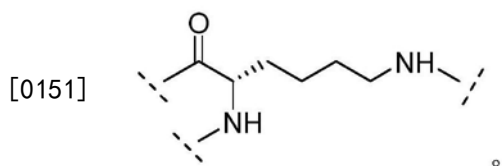
[0146] 其中每个构建单元的酰基提供用于连接至核或前一代构建单元的共价连接点;并且其中每个氮原子提供共价连接点,所述共价连接点可用于与后续代构建单元或端基共价连接。

[0147] 在一些优选的实施方案中,构建单元各自为:



[0149] 其中每个构建单元的酰基提供用于连接至核或前一代构建单元的共价连接点;并且其中每个氮原子提供共价连接点,所述共价连接点可用于与后续代构建单元或端基共价连接。

[0150] 在一些优选的实施方案中,构建单元各自为:



[0152] 在其它实施方案中,构建单元是天冬氨酸残基、谷氨酸残基或其类似物,即由含有合适保护基的合适前体(例如天冬氨酸、谷氨酸或其类似物)形成。在这样的实施方案中,核单元可以由包含羧酸基团(即,其可以与天冬氨酸/谷氨酸/类似物中存在的氨基反应)的核单元前体形成。

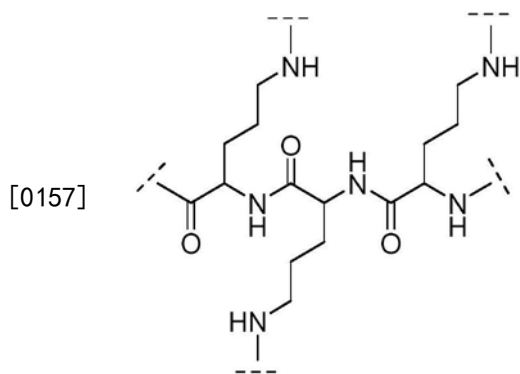
[0153] 如上所述,最外代的构建单元(BU_{outer})可以通过用于其他代建筑单元(BU)(例如赖氨酸或赖氨酸类似物构建单元)中的构建单元来形成。最外代构建单元(BU_{outer})是树状聚体的核的最外代的一代构建单元,即,在最外代构建单元(BU_{outer})上没有附着其他代的构建单元。

[0154] 应当理解,树状聚体的树枝化基元可以例如通过相应地连接构建单元(BU)而合成

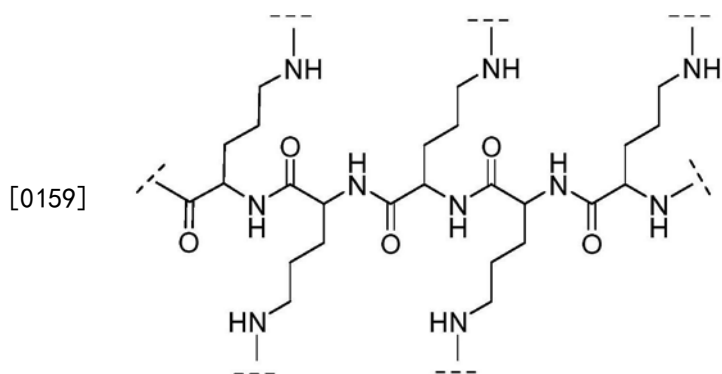
至所需数量的代。在一些实施方案中,每一代构建单元(BU)可以由相同的构建单元形成,例如所有代的构建单元可以是赖氨酸构建单元。在一些其它实施方案中,一代或多代构建单元可以由与其它代构建单元不同的构建单元形成。

[0155] 树状聚体有二至六代构建单元,即2、3、4、5或6代构建单元。

[0156] 在一些实施方案中,树状聚体具有三代构建单元。三代构建单元树状聚体是具有包括彼此共价连接的三个构建单元的结构树状聚体,例如在构建单元是赖氨酸的情况下,它可以包含以下子结构:



[0158] 在一些实施方案中,树状聚体具有五代构建单元。五代构建单元树状聚体是具有包括彼此共价连接的五个构建单元的结构树状聚体,例如在构建单元是赖氨酸的情况下,它可以包含以下子结构:



[0160] 在一些实施方案中,构建单元的代为完整代。例如,在树状聚体具有三代构建单元的情况下,在一些实施方案中,树状聚体具有三代完整的构建单元。对于具有两个反应性胺基的核,这种树状聚体将包含14个构建单元(即,核单元+2BU+4BU+8BU)。

[0161] 类似地,例如,在树状聚体具有五代构建单元的情况下,在一些实施方案中,树状聚体具有五代完整的构建单元。对于具有两个反应性胺基的核,这种树状聚体将包含62个构建单元(即,核单元+2BU+4BU+8BU+16BU+32BU)。

[0162] 然而,应当理解,由于用于制备树状聚体的合成方法的性质,为制备树状聚体而进行的一个或多个反应可能没有完全完成。因此,在一些实施方案中,树状聚体可以包含不完全代的构建单元。例如,可以获得树状聚体群体,其中树状聚体具有每个树状聚体的构建单元数量的分布。

[0163] 在一些实施方案中,在树状聚体具有三代构建单元的情况下,获得树状聚体群体,其每个树状聚体的平均建筑单元数量为至少8或至少9或至少10或至少11或至少12或至少13。在一些实施方案中,获得树状聚体群体,其中至少60%、至少70%、至少80%、至少90%

或至少95%的树状聚体具有10个或更多个构建单元。在一些实施方案中,获得树状聚体群体,其中至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体具有12个或更多个构建单元。

[0164] 在一些实施方案中,在树状聚体具有五代构建单元的情况下,获得树状聚体群体,其每个树状聚体的平均建筑单元数量为至少55或至少56或至少57或至少58或至少59或至少60。在一些实施方案中,获得树状聚体群体,其中至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体具有55个或更多个构建单元。在一些实施方案中,获得树状聚体群体,其中至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体具有60个或更多个构建单元。

[0165] 在一些实施方案中,所述核单元前体的每个反应性(氨基)基团表示包含构建单元的树枝化基元的缀合位点。

[0166] 在一些实施方案中,每个树枝化基元(X)中的每一代构建单元可以由式 $[BU]_2(b-1)$ 表示,其中b是代数量。具有三代完整构建单元的树枝化基元(X)表示为

[0167] $[BU]_1-[BU]_2-[BU]_4$ 。

[0168] 具有五代完整构建单元的树枝化基元(X)表示为

[0169] $[BU]_1-[BU]_2-[BU]_4-[BU]_8-[BU]_{16}$ 。

[0170] 第一端基

[0171] 第一端基(T1)包含含放射性核素部分。通常,含放射性核素部分包含放射性核素和络合基团。

[0172] 放射性核素

[0173] 任何合适的放射性核素可用于本发明的树状聚体中。放射性核素,也称为放射性同位素,是放射性衰变的化学元素的不稳定形式,导致核辐射的发射。

[0174] 放射性核素用于医学诊断和治疗领域。诸如单光子发射、正电子发射断层摄影(PET)成像和正电子发射断层摄影-磁共振成像(PET-MRI)的技术可用于检测施用合适的含放射性核素的物质的受试者内的放射性核素,并产生告知诸如肿瘤的疾病的存在和/或进展的图像。放射性核素还可用于治疗疾病,诸如癌症。在这样的情况下,将含放射性核素的物质施用给患者导致将放射性核素递送至肿瘤,并且在放射性衰变和放射之后,杀死肿瘤细胞。

[0175] 优选地,放射性核素是金属放射性核素,例如金属离子。在一些实施方案中,放射性核素是 α 发射体(α -发射体)。在一些实施方案中,放射性核素为 β 发射体(β -发射体)。在一些实施方案中,放射性核素是 β 和 γ 发射体。

[0176] 在一些实施方案中,放射性核素是锕(例如 Ac^{225})、砷(例如 As^{211})、铋(例如 Bi^{212} 、 Bi^{213})、铅(例如 Pb^{212})、锝(例如 Tc^{99m})、钍(例如 Th^{227})、镭(例如 Ra^{223})、镥(例如 Lu^{177})、钇(例如 Y^{90})、铟(例如 In^{111} 、 In^{114})、钆(例如 Gd^{153})、镓(例如 Ga^{68})、锆(例如 Zr^{89})或铜放射性核素。在一些实施方案中,放射性核素是镥(例如 Lu^{177})、钆、镓(例如 Ga^{68})、锆(例如 Zr^{89})、锕(例如 Ac^{225})、铋(例如 Bi^{212} 、 Bi^{213})、砷(例如 As^{211})、锝(例如 Tc^{99m})、或铜(例如 Cu^{60} 、 Cu^{61} 、 Cu^{62} 、 Cu^{64} 、 Cu^{67})放射性核素。在一些实施方案中,放射性核素是镥(例如 Lu^{177})、钆、镓(例如 Ga^{68})、锆(例如 Zr^{89})或铜(例如 Cu^{60} 、 Cu^{61} 、 Cu^{62} 、 Cu^{64} 、 Cu^{67})放射性核素。在一些实施方案中,放射性核素是镓(例如 Ga^{68})、锆(例如 Zr^{89})或镥(例如 Lu^{177})放射性核素。在一些实施方案中,放射性

核素是铜(例如 Cu^{64} 、 Cu^{67})、锆(例如 Zr^{89})、镧(例如 Lu^{177})、锕(例如 Ac^{225})或砷(例如 As^{211})放射性核素。

[0177] 在一些实施方案中,放射性核素用于病症(例如癌症)的诊断或成像。这样的放射性核素的示例包括镓(例如 Ga^{68})、锝(例如 $\text{Tc}^{99\text{m}}$)、锆(例如 Zr^{89})和铜(例如 Cu^{60} 、 Cu^{61} 、 Cu^{62} 、 Cu^{64})。

[0178] 在一些实施方案中,放射性核素用于病症(例如癌症)的治疗。这样的放射性核素的示例包括锕(例如 Ac^{225})、砷(例如 As^{211})、铋(例如 Bi^{212} 、 Bi^{213})、铅(例如 Pb^{212})、钍(例如 Th^{227})、镭(例如 Ra^{223})、镧(例如 Lu^{177})、钇(例如 Y^{90})、钆(例如 Gd^{153})、和铜(例如 Cu^{60} 、 Cu^{61} 、 Cu^{62} 、 Cu^{64})。

[0179] 理想地,治疗性放射性核素的发射特性应考虑损害尺寸以将能量集中在肿瘤内,并且具有合适的半衰期以与树状聚体的延长递送对准。在一些实施方案中,放射性核素是半衰期小于20天或小于12天的 α 发射体。在一些实施方案中,放射性核素是具有2至20天或5至10天的半衰期的 β 发射体。 ^{177}Lu 是中能量 β -发射器(490keV),具有0.5MeV的最大能量和<2mm的最大组织穿透。 ^{177}Lu 还发射208和113keV的低能量 γ 射线,其允许离体成像并因此收集与肿瘤定位和剂量测定有关的信息。

[0180] 如本领域技术人员将理解的,放射性以贝克勒尔(Bq)测量。一个贝克勒尔定义为每秒一个核衰减的一定量放射性物质的活性。

[0181] 在一些实施方案中,治疗性放射性核素的注射剂量为1至50GBq/单次注射。在其它实施方案中,注射剂量为2至20GBq/单次注射/输注。在其它实施方案中,注射剂量为2至10GBq/单次注射。可以根据疾病负担、患者体重和肾功能的组合来确定个体患者的剂量计算。推荐在每个治疗周期的基于图像的剂量测定,例如使用SPECT-CT。

[0182] 在一些实施方案中,树状聚体在组合物中作为单位剂型提供,例如具有期望的放射性水平。

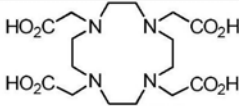
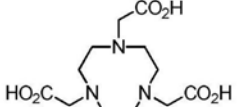
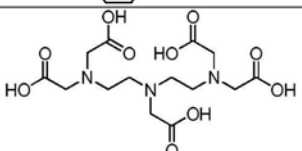
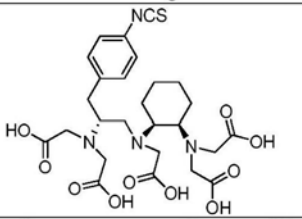
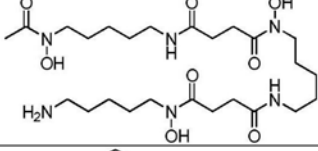
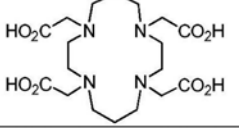
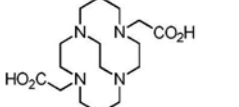
[0183] 在一些实施方案中,将放射性核素以单位剂量组合物配制,使得每个单位剂量含有的放射性核素的量在0.1至10MBq、0.1至5MBq、0.1至2MBq、0.1至1MBq、0.5至10MBq、1至10MBq、1至5MBq、5至10MBq的范围内,或约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9或约10MBq。

[0184] 例如,在单位剂量为注射/输注形式的情况下,注射/输注将被配制为使得期望量的辐射被递送至靶部位(例如,肿瘤)。在一些实施方案中,放射性核素以用于注射的单位剂量组合物提供,使得每个单位剂量含有一定量的放射性核素,所述放射性核素的放射性在0.5至10MBq、或1至10MBq、或1至5MBq、或5至10MBq的范围内,或约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9或约10MBq。在一些实施方案中,在即将施用树状聚体之前,即即将使用之前的时间点测量放射性。

[0185] 放射性核素络合基团

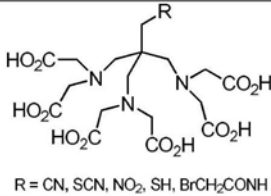
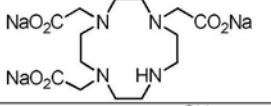
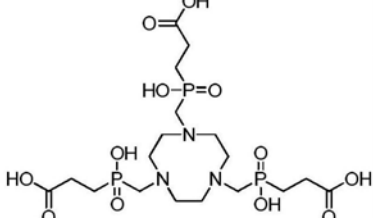
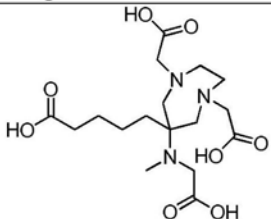
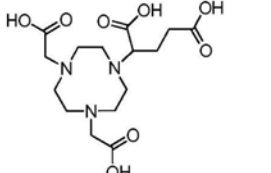
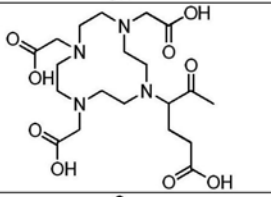
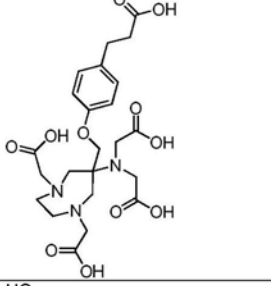
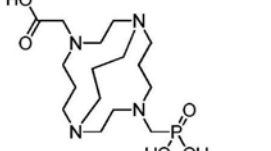
[0186] 含放射性核素部分通常含有放射性核素络合基团。可以使用任何合适的络合基团。络合基团提供可络合放射性核素的官能部分。此类官能部分的实施例包括羧酸、胺、酰胺、羟基、硫醇基、脲、硫脲、-N-OH基、磷酸酯和次膦酸酯基。在一些实施方案中,使用与放射性核素形成螯合物的络合基团。合适的络合基团的实施例提供于下表中:

[0187]

配体	结构	化学名称
DOTA		(1,4,7,10-四氮杂环癸烷-N,N',N'',N'''-四乙酸)
NOTA		(1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N',N''-三乙酸)
DTPA		(二亚乙基三胺五乙酸酐)
CHX-A DTPA		[(R)-2-氨基-3-(4-异硫氰酸根合苯基)丙基]-反式-(S,S)-环己烷-1,2-二胺-五乙酸
去铁胺		(N'-[5-[[4-[[5-(乙酰基羟基氨基)戊基]氨基]-1,4-二氧丁基]羟基氨基]戊基]-N-(5-氨基戊基)-N-羟基丁二酰胺)
TETA		(1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸)
cb-TE2A		1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷-4,11-二乙酸

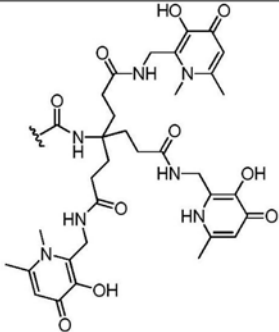
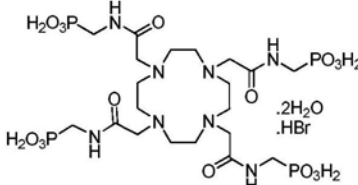
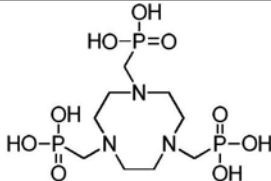
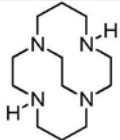
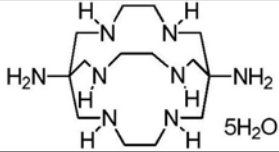
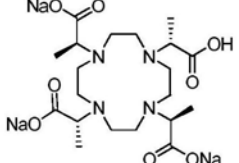
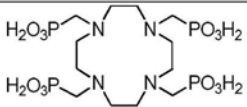
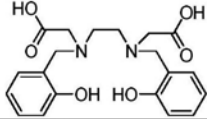
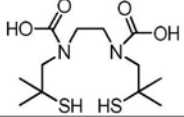
[0188]

AAZTA		1,4-双(羧甲基)-6-[双(羧甲基)]氨基-6-甲基全氢-1,4-二氮杂卓)
TRAP		(1,4,7-三氮杂环壬烷次膦酸)
NOPO		1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4-双[亚甲基(羟甲基)次膦酸]-7-[亚甲基(2-羧乙基)次膦酸]
HOPO		6-[(3-[(1-氧化-6-氧代-1,6-二氢-2-吡啶基)羰基]氨基}丙基)(4-[(1-氧化-6-氧代-1,6-二氢-2-吡啶基)羰基](3-[(1-氧化-6-氧代-1,6-二氢-2-吡啶基)羰基]氨基}丙基)氨基}丁基)氨基甲酰基]-2-氧代-1(2H)-吡啶鎓
NOGADA		2-[4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑烷-1-基]戊二酸
HYNIC		6-胍基烟酸
MAG3		巯替肽 (Mertiatide)
OPTT		9-氧杂-3,6,12,15,21-五氮杂三环[15,3,2,1]二十三-1(21),17,19-三烯-2,7,11,16-四二酮
TBPD		3,6,9,15-四氮杂双环[9.3.1]十五碳-1(15),11,13-三烯-2,10-二酮

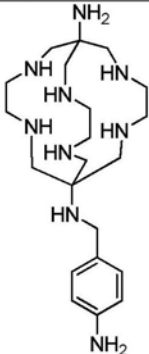
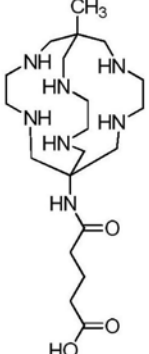
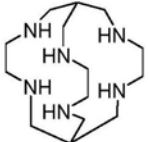
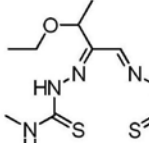
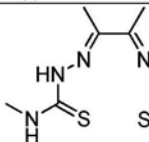
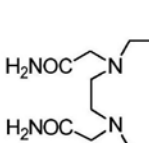
TAME-Hex	 R = CN, SCN, NO₂, SH, BrCH₂CONH	1,1,1-三(氨基甲基)乙烷 (基本骨架)
DO3A		1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸三钠盐
TRAP		1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三[(2-羧乙基)亚甲基次膦酸]
DATA		(2,2'-(6-((羧甲基)氨基)-1,4-二氮杂烷-1,4-二基)二乙酸))
NODAGA		2-[4,7-双(羧甲基)-1,4,7-三唑烷-1-基]戊二酸
DOTAGA		1,4,7,10-四氮杂环十二烷,1-(戊二酸)-4,7,10-三乙酸)
PhenA		(2,2'-(6-(双(羧甲基)氨基)-6-((4-(2-羧乙基)苯氧基)甲基)-1,4-二氮杂烷-1,4-二基)二乙酸)
PCB-TE1A1P		11-羧甲基-1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷-4-甲基膦酸

[0189]

[0190]

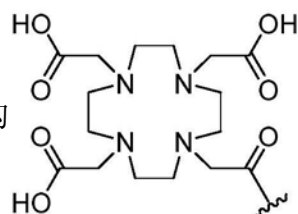
H3THP		三(6-羟基吡啶-2-基甲基)胺
DOTA-4AMP		1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(乙酰胺基亚甲基膦酸) (.2H ₂ O .HBr)
NOTP		1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三(亚甲基膦酸)
CB-Cyclam		1,4,8,11-四氮杂双环[6.6.2]十六烷
DiAmSar		1,8-二氨基-3,6,10,13,16,19-六氮杂双环[6,6,6]-二十烷 (5H ₂ O)
DOTMA		(1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸四钠盐
DOTP		1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(亚甲基膦酸)
HBED		2,2'-{1,2-乙二基双[(2-羟基苄基)亚氨基]}二乙酸
6SS		N,N'-双(2,2-二甲基-2-巯基乙基)乙二胺-N,N'-二乙酸

[0191]

SarAr		(1-N-(4-氨基苄基)-3,6,10,13,16,19-六氮杂双环[6.6.6]-二十烷-1,8-二胺)
MeCOSar		5-(8-甲基-3,6,10,13,16,19-六氮杂-双环[6.6.6]二十烷-1-基氨基)-5-氧代戊酸
Sar (sarcophagine)		3,6,10,13,16,19-六氮杂双环[6.6.6]二十烷
H ₂ KTSM		3-乙氧基-2-氧代丁醛-双(N ⁴ -甲基缩胺基硫脲)
H ₂ ATSM		二乙酰基-2-(N ⁴ -甲基-3-缩胺基硫脲)-3-(N ⁴ -氨基-3-缩胺基硫脲)
TCMC		1,4,7,10-四氮杂-1,4,7,10-四(2-氨基甲酰基甲基)环十二烷

[0192] 在一些实施方案中,络合基团是DOTA、NOTA、DTPA、sarcophagine或DF0。在一些实施方案中,络合基团是DOTA、NOTA、DTPA或DF0。

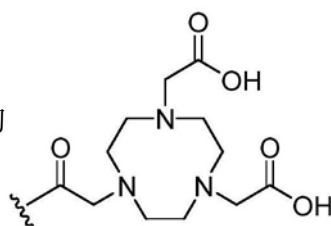
[0193] 在一些实施方案中,络合基团是具有结构



的含DOTA的基团,

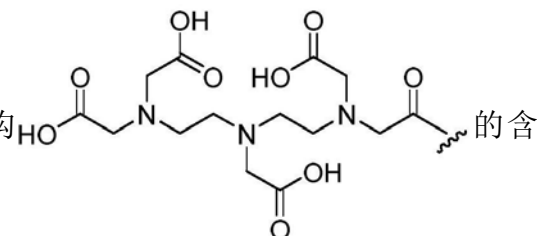
并且其中含DOTA的基团与缀合物连接。

[0194] 在一些实施方案中,络合基团是具有结构



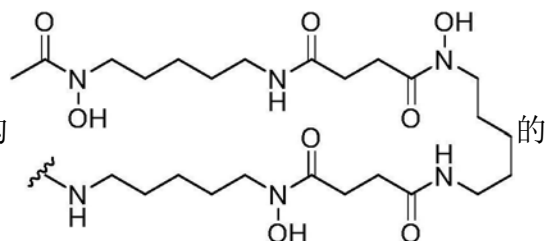
的含NOTA的基团,并且其中含NOTA的基团与缀合物连接。

[0195] 在一些实施方案中,络合基团是具有结构



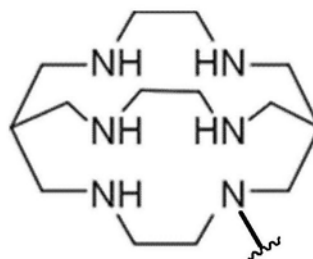
DTPA的基团,其中含DTPA的基团与缀合物连接。

[0196] 在一些实施方案中,络合基团是具有结构



含DFO的基团,其中含DFO的基团与缀合物连接。

[0197] 在一些实施方案中,络合基团是具有结构

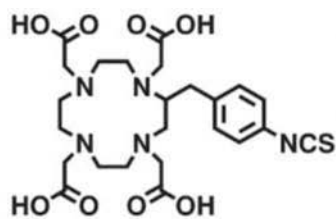
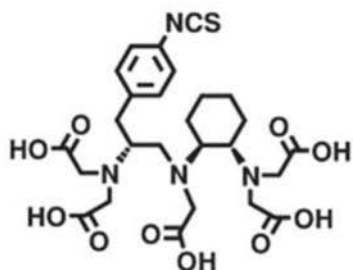


的含

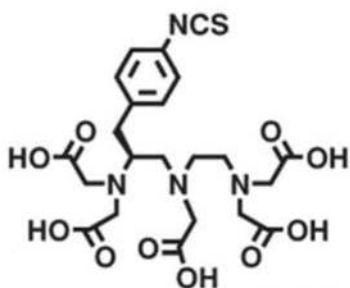
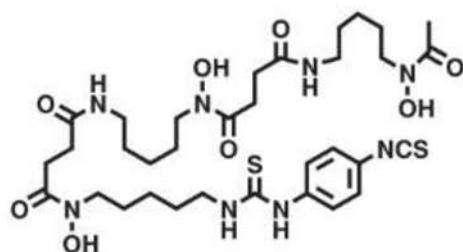
sarcophagine的基团,其中含sarcophagine的基团与缀合物连接。

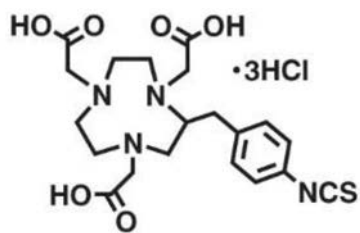
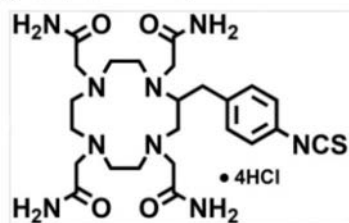
[0198] 第一端基例如经由最外构建单元的氮原子与最外构建单元连接,其中构建单元是赖氨酸残基或其类似物。在一些实施方案中,当络合基团包含适于与最外构建单元直接反应的基团时,络合基团可与构建单元直接反应。在其它实施方案中,负载基团可用于将络合基团负载到树状聚体上,即在第一末端与络合基团的基团共价连接,并且其在第二末端具有适于与存在于最外构建单元上的官能团反应的官能团(例如其中第一端基经由最外构建单元的氮原子连接。例如,负载基团可具有适于与氨基反应的官能团。

[0199] 为了形成最外构建单元和第一端基之间的连接,可以在合适的络合前体基团和具有可用于反应的官能团(例如胺基)的树状聚体中间体之间进行反应。在一些实施方式中,络合前体是含DOTA、含NOTA、含DTPA、含sarcophagine或含DFO的基团。合适的络合前体基团的示例包括以下:

*p*-SCN-Bn-DOTA*p*-SCN-Bn-CHX-A''-DTPA

[0200]

*p*-SCN-Bn-DTPA*p*-SCN-Bn-DFO

[0201] *p*-SCN-Bn-NOTA*p*-SCN-Bn-TCMC。

[0202] 上述这些基团可与存在于最外构建单元上的胺基反应以形成硫脲连接的第一端基。

[0203] 第二端基

[0204] 该树状聚体包含多个第二端基(T2),每个第二端基包含药代动力学修饰部分,即可以修饰或调节树状聚体的药代动力学曲线的部分。药代动力学修饰部分可以调节树状聚体的吸收、分布、代谢、排泄和/或毒性。药代动力学修饰部分(T2)可以改变树状聚体的溶解度曲线,增加或降低树状聚体在药学上可接受的载体中的溶解度。药代动力学修饰部分(T2)可以例如降低树状聚体的清除率。

[0205] 在树状聚体包含第三端基的情况下,其中第三端基包含药物活性剂,药代动力学修饰部分(T2)可通过减慢或增加活性剂通过化学(例如,水解)或酶促降解途径从树状聚体释放的速率来影响药物活性剂的释放速率。药代动力学修饰部分(T2)可以帮助树状聚体将药物活性剂递送至特定组织(例如,肿瘤)。

[0206] 在一些实施方案中,药代动力学修饰部分是聚乙二醇(PEG)基团或聚乙基恶唑啉(PEOX)基团。

[0207] 在一些实施方案中,第二端基包含PEG基团。PEG基团是聚乙二醇基团,即包含式-CH₂CH₂O-的重复单元的基团。用于生产本发明的树状聚体的PEG材料通常含有分子量具有一些变化(即,±10%)的PEG的混合物,因此在指定分子量的情况,通常是PEG组合物的平均分子量的近似值。例如,术语“PEG_{~2100}”是指具有约2100道尔顿的平均分子量,即±约10%的聚乙二醇(PEG₁₈₉₀至PEG₂₃₁₀)。术语“PEG_{~2300}”是指具有约2300道尔顿的平均分子量,即±约10%的聚乙二醇(PEG₂₀₇₀至PEG₂₅₃₀)。通常使用三种方法来计算MW平均值:数均分子量、重均分子量和z均分子量。如本文所用,短语“分子量”是指可以使用本领域众所周知的技术测量的重均分子量,所述技术包括但不限于NMR、质谱法、基质辅助的激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF)、凝胶渗透色谱法或其他液相色谱技术、光散射技术、超速离心和粘度测定法。

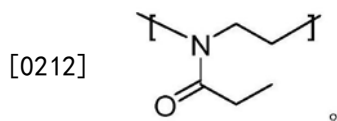
[0208] 在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为约200至5000道尔顿的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为至少500道尔顿、或至少750道尔顿的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为200至4000道尔顿、或500至3000道尔

顿、或500至2500道尔顿、或1500至2500道尔顿范围内的PEOX基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为220至2500Da、或570至2500道尔顿、或220至1100道尔顿、或570至1100道尔顿、或1000至5500道尔顿、或1000至2500道尔顿、或1000至2300道尔顿范围内的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为1900至2300道尔顿范围内的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为2100至2500道尔顿范围内的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为2400至2800道尔顿范围内的PEG基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为约1900、约2000、约2100、约2200、约2300、约2400、约2500、约2600、约2700或约2800道尔顿的PEG基团。

[0209] 在一些实施方案中,PEG基团的多分散指数(PDI)为约1.00至约1.50、约1.00至约1.25或约1.00至约1.10。在一些实施方案中,PEG基团具有约1.05的多分散指数(PDI)。术语“多分散性指数”是指给定聚合物样品中分子质量分布的量度。多分散性指数(PDI)等于重均分子量(M_w)除以数均分子量(M_n)并指示一批聚合物中单个分子质量的分布。多分散指数(PDI)具有等于或大于一的值,但当聚合物接近均匀变化的长度和平均分子量时,多分散指数(PDI)将更接近一。

[0210] 在第二端基包含PEG基团的情况,PEG基团可以是线性的或支化的。如果需要,可以使用封端的PEG基团。在一些实施方案中,PEG基团是甲氧基封端的PEG。

[0211] 在一个实施方案中,第二端基包含PEOX基团。PEOX基团是聚乙基恶唑啉基团,即包含下式的重复单元的基团

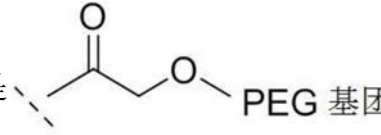


[0213] PEOX基团之所以如此命名是因为它们可以通过乙基恶唑啉的聚合来制备。用于生产本发明的树状聚体的PEOX材料通常含有分子量具有一些变化(即, $\pm 10\%$)的PEOX的混合物,因此在指定分子量的情况,通常是PEOX组合物的平均分子量的近似值。在一些实施方案中,第二端基包含具有至少750道尔顿、至少1000道尔顿、或至少1500道尔顿的平均分子量的PEOX基团。在一些实施方案中,第二端基包含平均分子量为750道尔顿至2500道尔顿或1000道尔顿至2000道尔顿的范围内的PEOX基团。如果需要,可以使用封端PEOX基团。在一些实施方案中,PEOX基团是甲氧基封端的PEOX。

[0214] 第二端基可以经由任何合适的方式与最外构建单元连接。在一些实施方案中,在第二端基包括PEG基团或PEOX基团的情况下,连接基用于将PEG基团或PEOX基团连接到外部构建单元。

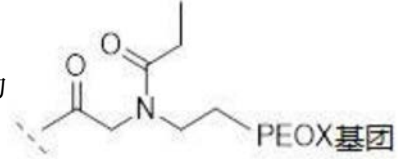
[0215] 第二端基通常经由使用第二端基前体连接,所述第二端基前体含有可与胺基反应的反应性基团,诸如反应性酰基(其可以形成酰胺键)或醛(其可以在还原胺化条件下形成胺基)。

[0216] 在一些实施方案中,第二端基各自包含经由存在于PEG基团中的碳原子与存在于PEG连接基的氧原子之间形成的醚键共价连接至PEG连接基(L1),并且每个第二端基经由存在于构建单元中的氮原子与存在于PEG连接基中的酰基的碳原子之间形成的酰胺键共价连

接至构建单元。在一些实施方案中,第二端基各自是  并且其中

PEG基团是平均分子量为约500至3000道尔顿或2000至2700道尔顿范围内的甲氧基封端的PEG。

[0217] 在一些实施方案中,第二端基各自包含经由存在于PEOX基团中的氮原子与存在于PEOX连接基的碳原子之间形成的醚键共价连接至PEOX连接基(L1'),并且每个第二端基经由存在于构建单元中的氮原子与存在于PEOX连接基中的酰基的碳原子之间形成的酰胺键

共价连接至构建单元。在一些实施方案中,第二端基各自为  。

[0218] 第三端基

[0219] 在一些实施方案中,树状聚体包含与最外构建单元连接的一个或多个第三端基(T3),该第三端基包含药物活性剂的残基。当构建单元是赖氨酸残基或其类似物时,第三端基可以例如与最外层构建单元的氮原子连接。将药物活性剂掺入树状聚体中可以提供改善的治疗性质,并且可以导致相同的树状聚体试剂能够用于诊断/治疗诊断成像和疾病治疗。例如,在被怀疑患有或已经被诊断为患有癌症的受试者的情况下,最初可以施用本发明的树状聚体并且对受试者身体的一个或多个相关部分进行成像,以便通过成像和/或在存在癌症的情况下诊断患者的病况,以确定癌症对使用树状聚体的疗程的可能易感性。在其中肿瘤可能对用树状聚体治疗敏感的情况下,则可以例如向受试者施用相同树状聚体或本发明的另一种树状聚体(例如含有不同放射性核素)的另外疗程。

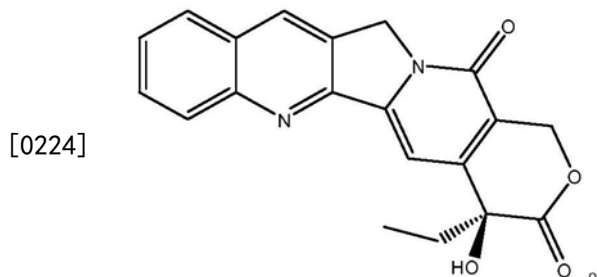
[0220] 药物活性剂

[0221] 任何合适的药物活性剂可以作为第三端基例如经由连接基团缀合至树状聚体。在一些实施方案中,其它药物活性剂是抗癌剂。在一些实施方案中,抗癌剂是从树状聚体释放以发挥生物活性的抗肿瘤药物。在一些实施方案中,抗癌剂是超毒剂。在一些实施方案中,抗癌剂是澳瑞他汀(auristatin)。在一些实施方案中,抗癌剂是美登木素生物碱(maytansinoid)。在一些实施方案中,抗癌剂是烷化剂、抗代谢物、长春花生物碱、抗生素、紫杉烷或拓扑异构酶抑制剂。在一些实施方案中,当树状聚体包含药物活性剂时,抗癌剂选自以下组成的组:含铂的部分、澳瑞他汀、美登木素生物碱、紫杉烷、拓扑异构酶抑制剂和核苷类似物。在一些实施方案中,当树状聚体包含药物活性剂时,药物活性剂是抗癌剂,例如,选自由以下组成的组的抗癌剂:顺铂、卡铂、奥沙利铂(oxaliplatin)、替莫唑胺(temozolomide)、多西他赛(docetaxel)、卡巴他赛(cabazitaxel)、紫杉醇、伊立替康(irinotecan)、SN-38、喜树碱、托泊替康(topotecan)、吉西他滨(gemcitabine)、barasertib、多柔比星(doxorubicin)、环磷酰胺、博来霉素(bleomycin)、顺铂、5-氟尿嘧啶、卡培他滨(capecitabine)、长春新碱、达卡巴嗪(dacarbazine)、米托蒽醌(mitoxanthrone)、替尼泊苷(teniposide)、依托泊苷(etoposide)、阿柔比星(aclarubicin)、帕博西林(palbociclib)、醋酸阿比特龙、来那度胺(lenalidomide)、依维

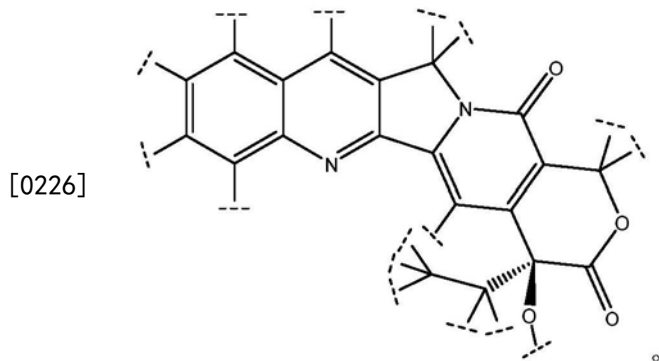
莫司和尼洛替尼。在一些实施方案中,当树状聚体包含作为抗癌剂的药物活性剂时,抗癌剂选自自由以下组成的组:卡巴他赛、多西他赛、SN-38和吉西他滨。

[0222] 在一些实施例中,在树状聚体包含是抗癌剂的药学活性剂的情况下,抗癌剂是拓扑异构酶抑制剂。拓扑异构酶抑制剂包括但不限于喜树碱活性物质。

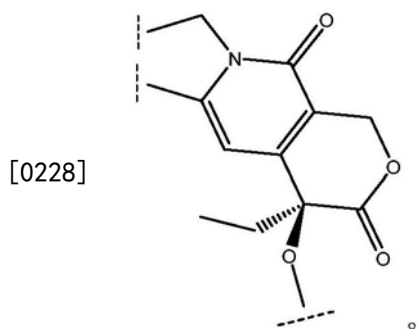
[0223] 喜树碱是具有以下结构的拓扑异构酶抑制剂:



[0225] 还鉴定了也具有拓扑异构酶抑制活性的结构相关的化合物的家族。在一个实施方案中,喜树碱活性物质是具有以下子结构的化合物:

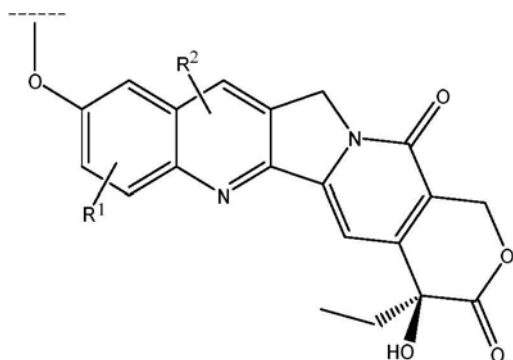


[0227] 喜树碱活性物质(其残基可形成第三端基的部分)的示例包括SN-38、伊立替康(CPT-11)、托泊替康(topotecan)、silatecan、cositecan、依喜替康(exatecan)、勒托替康(lurtotecan)、吉马替康(gimatecan)、贝洛替康(belotecan)和鲁比替康(rubitecan)。在一些实施方案中,喜树碱活性物质的残基通过C-10或C-20位置与二酰基连接基连接。在一些实施方案中,喜树碱活性物质的残基具有以下子结构:



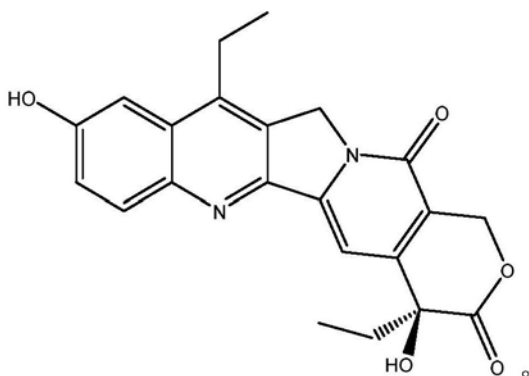
[0229] 在一些实施方案中,喜树碱活性物质的残基具有以下子结构:

[0230]



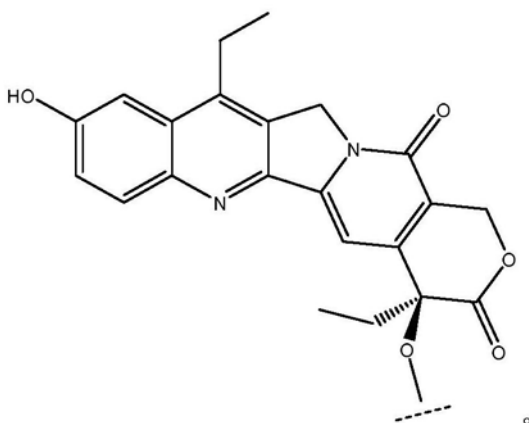
[0231] 其中 R^1 选自由以下组成的组:氢、 C_{1-6} 烷基、 $-OR^3$ 和 $-C_{1-6}$ 烷基- $N(R^3)_2$; R^2 选自由以下组成的组:氢、 C_{1-6} 烷基、 $-OR^3$ 和 $-C_{1-6}$ 烷基- $N(R^3)_2$; 每个 R^3 独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基。在一些实施方案中,第三端基包含喜树碱活性物质的残基,其为SN-38的残基。SN-38具有以下结构:

[0232]



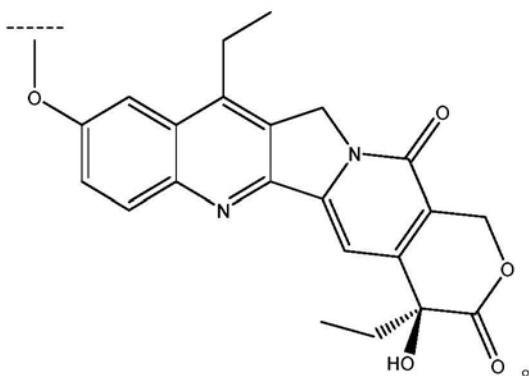
[0233] 在一些实施方案中,所述喜树碱活性物质的残基是通过C-10或C-20位与所述二酰基连接基连接的SN-38的残基。在一些优选的实施方案中,SN-38的残基是

[0234]



[0235] 在其它实施方案中,SN-38的残基是

[0236]

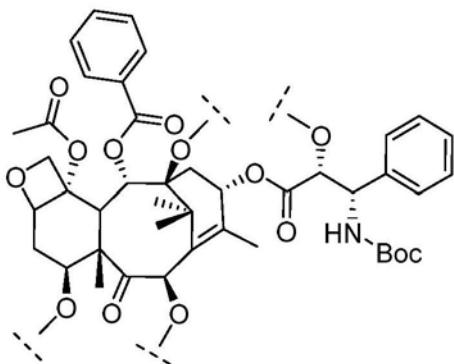


[0237] 在体内施用,典型地,树状聚体释放喜树碱活性物质(例如,SN-38)。

[0238] 在一些实施方案中,药物活性剂是伊立替康。

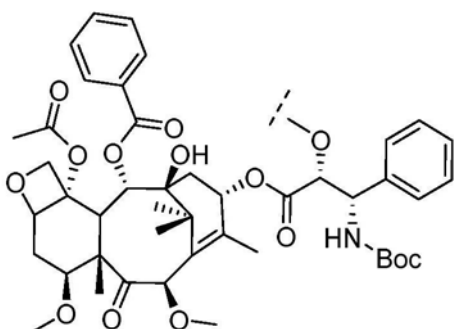
[0239] 在一些实施方案中,在树状聚体包含是抗癌剂的药物活性剂的情况下,抗癌剂是紫杉烷。紫杉烷活性物质包括紫杉醇、卡巴他赛和多西他赛。在一些实施方案中,药物活性剂是紫杉醇。在一些实施方案中,药物活性剂是卡巴他赛。在一些实施方案中,药物活性剂是多西他赛。在一些实施方案中,紫杉烷活性物质的残基具有以下子结构:

[0240]



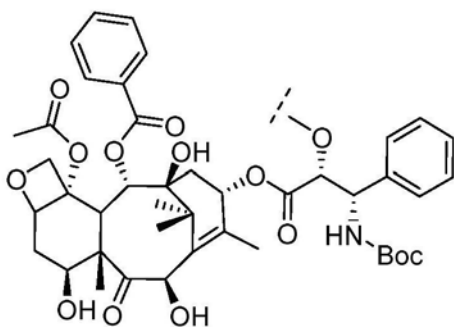
[0241] 在一些实施方案中,紫杉烷活性物质的残基为卡巴他赛的残基,其为:

[0242]



[0243] 在一些实施方式中,紫杉烷活性剂的残基为多西他赛的残基,其为:

[0244]



[0245] 在一些实施方案中,抗癌剂选自自由以下组成的组:喜树碱活性物质和紫杉烷活性物质。

[0246] 在一些实施方案中,抗癌剂选自自由以下组成的组:卡巴他赛、多西他赛和SN-38。

[0247] 如本文所用,术语“超毒性剂”是指表现出高度有效的化疗特性的药剂,但其本身太有毒而不能作为抗癌剂单独施用。即,超毒性剂,尽管表现出化疗性质,但通常不能安全施用于受试者,因为有害的、毒性副作用超过化疗益处。在一些实施方案中,超毒性剂具有针对癌细胞系(例如SKBR3和/或HEK293细胞和/或MCF7细胞)的体外 IC_{50} ,其小于100nM、或小于10nM、或小于5nM、或小于3nM、或小于2nM、或小于1nM、或小于0.5nM。超毒性剂包括,例如,多拉司他汀(dolastatin)(例如,多拉司他汀-10、多拉司他汀-15)、澳瑞他汀(例如,单甲基澳瑞他汀-E、单甲基澳瑞他汀-F),美登木素生物碱(例如,美登木素、mertansine/emtansine(DM1),ravtansine(DM4)),加利车霉素(calicheamicin)(例如,加利车霉素 γ 1),esperamicins(例如,esperamicin A1)和吡咯并苯并二氮杂(PDB)等。

[0248] 在一些实施方案中,药物活性剂是澳瑞他汀。在一些实施方案中,药物活性剂是单甲基澳瑞他汀。在一个实施方案中,药物活性剂是单甲基澳瑞他汀E(MMAE)。在一个实施方案中,药物活性剂是单甲基澳瑞他汀F(MMAF)。MMAE和MMAF都被理解为通过阻断微管蛋白的聚合来抑制细胞分裂。

[0249] 在一些实施方案中,超毒性剂是美登木素生物碱。在一些实施方案中,超毒性剂是美登木素。在一些实施方案中,超毒性剂是安丝菌素(ansamitocin)。在一个实施方案中,超毒性剂是emtansine/mertansine(DM1)。在一个实施方案中,超毒性剂是ravtansine(DM4)。美登木素生物碱被理解为通过结合微管蛋白来抑制微管的组装。

[0250] 在一些实施方案中,药物活性剂不是超毒性剂。

[0251] 在一些实施方案中,药物活性剂是放射敏化剂。

[0252] 在一些实施方案中,药物活性剂减少DNA修复。在一些实施方案中,药物活性剂选自自由以下组成的组:靶向DNA依赖性蛋白激酶、关卡激酶1、聚(ADP-核糖)聚合酶(诸如奥拉帕尼)、共济失调性毛细血管扩张和/或Rad3相关蛋白(诸如AZD6738)的试剂。

[0253] 在一些实施方案中,药物活性剂是免疫治疗剂。在一些实施方案中,免疫治疗剂选自自由以下组成的组:阻断共抑制分子、CTLA-4、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4、PD-1、程序性细胞死亡蛋白1和/或为检查点抑制剂的试剂。

[0254] 在一些实施方案中,药物活性剂是存活信号传导抑制剂(促凋亡剂)。在一些实施方案中,药剂选自自由以下组成的组:靶向以下的试剂:mTOR、雷帕霉素(rapamycin)的机械靶标;PI3K,磷酸肌醇3-激酶;和NF- κ B,核因子- κ B;

[0255] 在一些实施方案中,药物活性剂是抗缺氧药。在一些实施方案中,试剂选自自由以下组成的:靶向以下的试剂:CA9,碳酸酐酶9;HIF-1- α ,缺氧诱导因子1- α ;和UPR,未折叠蛋白应答。在一些实施方案中,试剂是替拉扎明(tirapazamine)。

[0256] 连接基

[0257] 在一些实施方案中,在树状聚体包含包含药物活性剂的残基的第三端基(T3)的情况下,药物活性剂的残基经由连接基(例如可裂解的连接基)与最外构建单元连接。连接基基团可用于例如提供用于将药物活性剂与树状聚体连接的合适基团,例如其中药物活性剂中的可用官能团不适于与构建单元直接连接。连接基基团也可以或替代地用于促进药物活

性剂从树状聚体骨架的控制释放,在合适的(例如延长的)时间段内提供药物活性剂的治疗有效浓度和期望的药代动力学曲线。

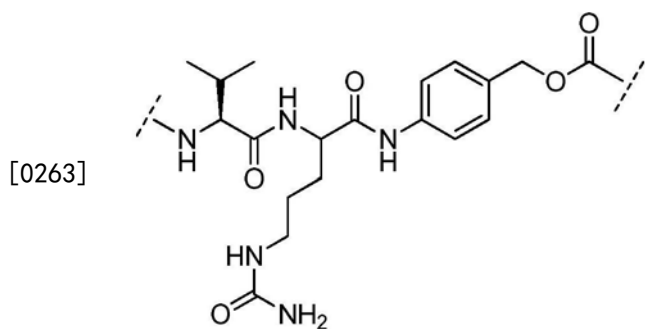
[0258] 本领域技术人员将理解,可以使用多种合适的连接基中的任何一种。连接基应在体循环期间提供足够的稳定性,尽管允许药物活性剂(例如细胞毒性药物)以活性形式在其作用位点快速和有效地释放。

[0259] 在一些实施方案中,连接基是可裂解的连接基,其自身或结合其与药物活性剂的连接,包含一个或多个以下可裂解部分:酯基、胺基、肟基、亚胺基或二硫化物基。在一些实施方案中,连接基是肿瘤环境可裂解的、酸不稳定的,还原环境不稳定的、水解不稳定的或蛋白酶敏感的。

[0260] 化学不稳定连接基包括但不限于酸不稳定连接基(即胺)和二硫化物连接基。酶可裂解的连接基包括但不限于肽连接基(例如含有Val-Cit或Phe-Lys基团的那些)和 β -葡萄糖苷酸连接基。肽连接基及其肽键被有利地预期具有良好的血清稳定性,因为溶酶体蛋白水解酶在血液中具有非常低的活性。Val-Cit和Phe-Lys连接基均被组织蛋白酶B快速水解。

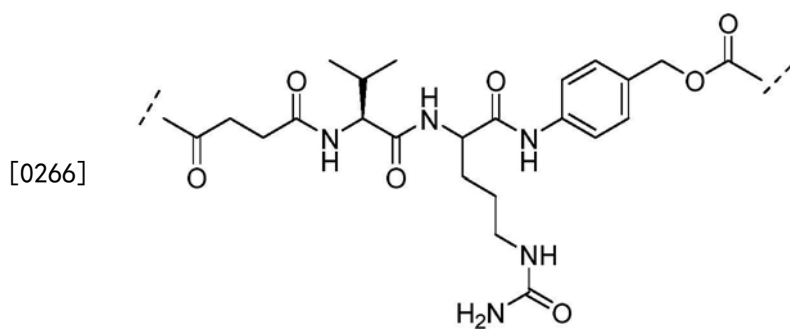
[0261] 在一些实施方案中,连接基是酶促-可裂解连接基。例如,在一些实施方案中,连接基包含能够被酶识别和切割的氨基酸残基。

[0262] 在一些实施方案中,连接基包含肽基团。在一些实施方案中,连接基包含含有缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄基醇的基团(Val-Cit-PAB),例如具有以下结构:



[0264] 例如,PAB基团可以经由羰基与存在于治疗剂部分上的胺基共价连接,形成氨基甲酸酯键,并且可以经由与缬氨酸胺基和存在于外部构建单元上的胺基形成酰胺键的二酰基连接基与存在于外部构建单元上的胺基连接。

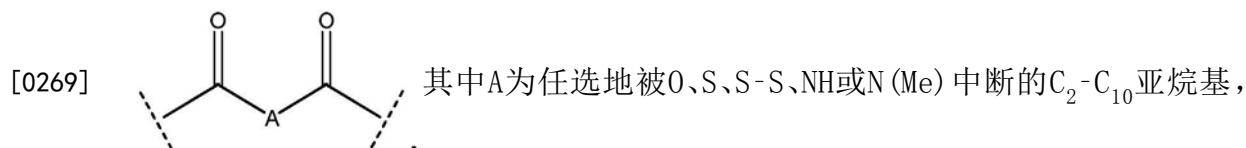
[0265] 在一些实施例中,连接基包含以下或由以下组成:戊二酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄基醇基,例如具有以下结构:



[0267] 在一些实施方案中,药物活性剂包含羟基,并且药物活性剂的残基经由羟基的氧原子与连接基连接。该方法允许经由酯基与连接基连接,并且已经发现这样的酯基团在体

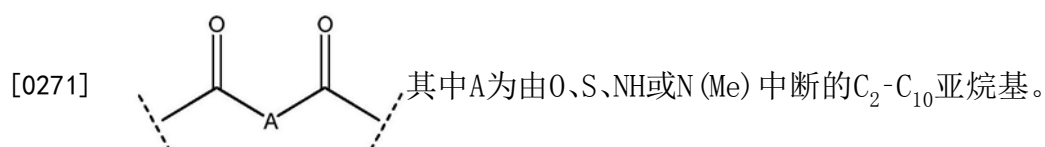
内是可裂解的,从而以期望的速率释放药物活性剂。

[0268] 在一些实施方案中,核单元由包含氨基的核单元前体形成,构建单元是赖氨酸残基或其类似物,药物活性剂包含羟基,药物活性剂的残基经由羟基的氧原子连接并且可裂解连接基是二酰基连接基,使得在药物活性剂的残基与连接基之间存在酯键,并且在连接基与存在于最外构建单元上的氮原子之间存在酰胺键。在一些实施方案中,药物活性剂包含羟基,药物活性剂的残基经由羟基的氧原子连接,并且可裂解连接基为下式的二酰基连接基基团

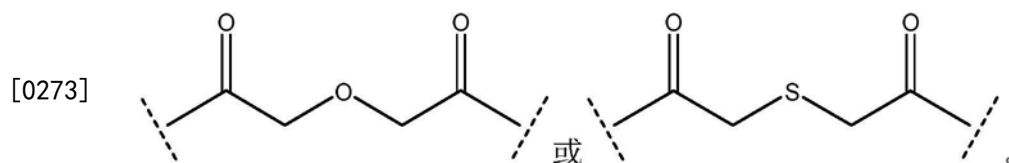


或其中A为选自以下组成的组的杂环:四氢呋喃、四氢噻吩、吡咯烷和N-甲基吡咯烷。

[0270] 在一些实施方案中,药物活性剂包含羟基,药物活性剂的残基经由羟基的氧原子连接,并且可裂解连接基为下式的二酰基连接基基团

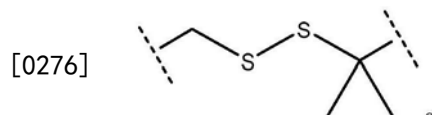


[0272] 在一些实施方案中,药物活性剂包含羟基,药物活性剂的残基经由羟基的氧原子连接,并且二酰基连接基是

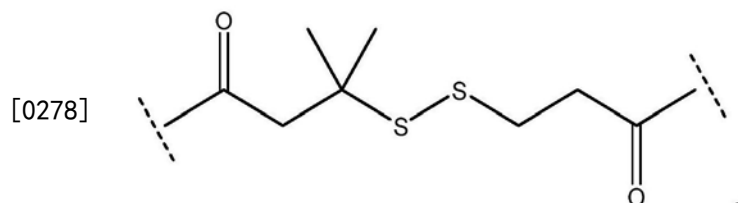


[0274] 特定类型的可裂解连接基是含有二硫化物部分的连接基。这类连接基易于被谷胱甘肽裂解。例如,这种类型的连接基可以包含经由被二硫化物部分中断的烷基链连接的两个酰基。

[0275] 在一些实施方案中,连接基包含被二硫化物部分中断的烷基链,其中与二硫化物基团相邻的碳原子中的一个或两个被一个或多个甲基取代。例如,与二硫化物部分相邻的碳原子之一可以被gem-二甲基基团取代,例如连接基可以包含以下基团:

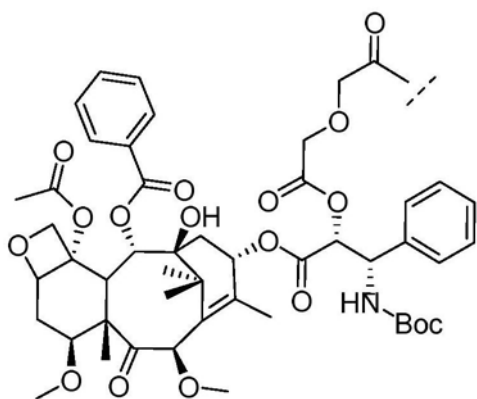


[0277] 在一些实施方案中,连接基是:

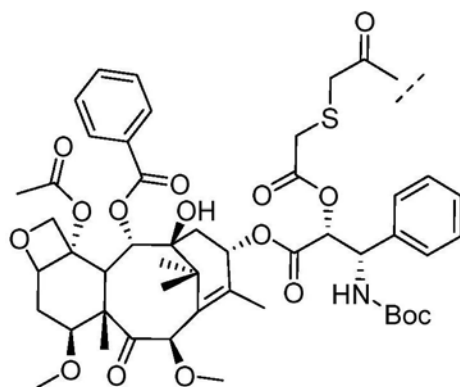


[0279] 在一些实施方案中,每个第三端基(T3)是:

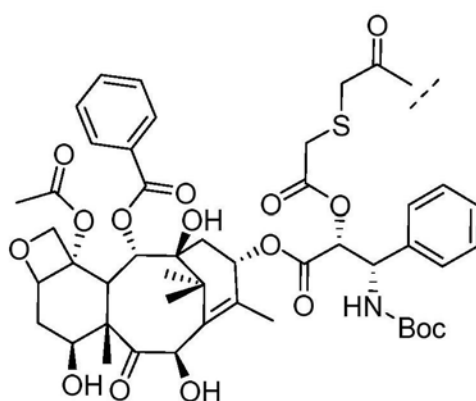
[0280]



[0281] 在一些实施方案中,每个第三端基(T3)是:

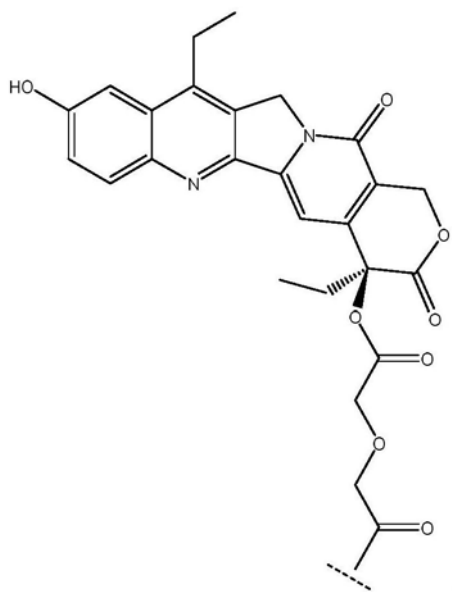


[0282] 在一些实施方案中,每个第三端基(T3)是:



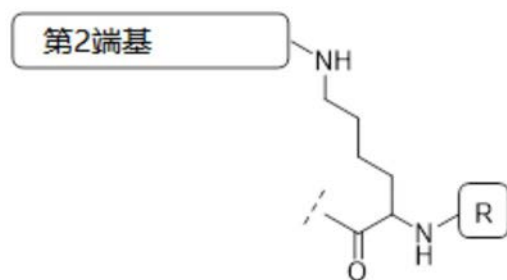
[0283] 在一些实施方案中,每个第三端基(T3)是:

[0284]



[0285] 在一些实施方案中,所述树枝状聚体包含表面单元,所述表面单元包含外部构建单元和具有下式的第二端基:

[0286]



[0287] 其中R表示第一端基或第三端基。

[0288] 在一些实施方案中,本发明的树状聚体具有一个或多个与最外构建单元连接的第一端基,其中每个第一端基包含含放射性核素部分或含稳定同位素的络合基团(冷物质);和与最外构建单元的氮原子连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分。

[0289] 在一些实施方案中,第一端基连接与最外构建单元的氮原子连接,第二端基与最外构建单元的氮原子连接。在一些实施方案中,在树状聚体包含包含药物活性剂的残基的第三端基的情况下,第三端基与最外构建单元的氮原子连接。

[0290] 因此,树状聚体可被认为具有受控的化学计量和/或拓扑结构。例如,树状聚体通常使用允许高度控制存在于树状聚体上的第一和第二(第三)端基的数量和排列的合成工艺来制备。树状聚体可以使用正交保护基来合成,以允许端基与外部构建单元以预定的或受控的方式缀合。

[0291] 有利地,本发明的树状聚体可以提供有效的成像和诊断性质,尽管含有相对低负荷的放射性核素部分。这从合成观点来看是合乎需要的,并且因为其在树状聚体构建单元上提供了可用于与构建体中的其它有用部分(诸如药物活性剂)缀合的附加位点。

[0292] 因此,在核单元由包含氨基的核单元前体形成并且构建单元是赖氨酸残基或其类似物的一些实施方案中,存在于最外构建单元中的小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于1%的氮原子与第一端基(即包含含放射性核素部分的基团)连接。在一些实施方案

中,例如在树状聚体具有五代构建单元的情况下,存在于最外构建单元中的1至5个(即1、2、3、4或5个)氮原子与第一端基连接。在树状聚体的组合物的实施方式中,平均第一端基可以小于1。在一些实施方案中,存在于最外构建单元中的1至3个氮原子与第一端基连接。

[0293] 在核单元由包含氨基的核单元前体形成并且构建单元是赖氨酸残基或其类似物的一些实施方案中,存在于最外构建单元中的氮原子的至少40%各自与第二端基共价连接。在一些实施方案中,存在于外部构建单元中的氮原子的至少45%各自与第二端基共价连接。在一些实施方案中,存在于外部构建单元中的氮原子的约50%各自与第二端基共价连接;在一些实施方案中,例如在树状聚体具有五代构建单元的情况下,存在于最外构建单元中的氮原子中的至少25、26、27、27、29、30、31或32各自与第二端基共价连接。

[0294] 如上所述,尽管放射性核素的负载相对较低,但实现良好治疗性质的能力在树状聚体外部构建单元上提供可用于与构建体中的其它有用部分(诸如药物活性剂)缀合的附加位点。因此,在核单元由包含氨基的核单元前体形成并且构建单元是赖氨酸残基或其类似物的一些实施方案中,存在于外部构建单元中的氮原子的至少25%、至少30%、至少三分之一、至少35%或至少45%各自与第三端基共价连接。在一些实施方案中,例如在树状聚体具有五代构建单元的情况下,存在于最外构建单元中的氮原子的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或31各自与第三端基共价连接。

[0295] 在核单元由包含氨基的核单元前体形成并且构建单元是赖氨酸残基或其类似物的一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过四分之一的氮原子是未取代的。在一些实施方案中,被取代的存在于最外代构建单元中的氮原子的数量可以为至少70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一个实施方案中,存在于最外代构建单元中的氮原子的至少80%被取代。

[0296] 在一些实施方案中,树状聚体包含含有 $-NH_2$ 基团的最外构建单元,例如其中并非存在于最外构建单元上的所有氮原子都与第一或第二(或第三)端基连接。

[0297] 在核单元由包含氨基的核单元前体形成并且构建单元是赖氨酸残基或其类似物的一些实施方案中,例如在树状聚体具有五代构建单元的情况下,存在于最外代构建单元中的不超过20个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过10个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过5个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过3个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过2个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的不超过1个氮原子是未取代的。在一些实施方案中,存在于最外代构建单元中的基本上所有氮原子被取代。

[0298] 形成树状聚体的一部分的第一、第二和(当存在时)第三端基的数量可以变化,以便根据需要调整树状聚体的性质。例如,可以改变包含放射性核素络合部分的第一端基与包含药物活性剂的第三端基的摩尔比。在一些实施方案中,树状聚体的络合基团与药物活性剂的摩尔比为1:1至1:100、或1:1至1:50、或1:1至1:40、或1:1至1:30、或1:1至1:20、或1:1至1:10、或1:2至1:100、或1:2至1:50、或1:2至1:40、或1:2至1:30、或1:2至1:20、或1:2至1:10、或1:5至1:100、或1:5至1:50、或1:5至1:40、或1:5至1:40、或1:5至1:30、或1:5至1:20、或1:5至1:10、或1:10至1:100、或1:10至1:50、或1:10至1:40、或1:10至1:30、或1:10至1:20的范围内。

[0299] 应当理解,除了第一、第二和第三端基之外,其他部分可以与树状聚体连接。例如,如果需要,存在于最外代构建单元中的一些氮原子可以用合适的封端基团封端,例如在使用的典型条件下对进一步反应基本上惰性的封端基团。合适的封端基团的示例是乙酰基。

[0300] 在一些实施方案中,最外构建单元的 α -氮原子与第一端基(即包含含放射性核素部分)连接。

[0301] 在一些实施方案中,最外构建单元的 ϵ -氮原子与第二端基(即,包含药代动力学修饰部分)连接。

[0302] 在一些实施方案中,最外构建单元的 α -氮原子与第三端基(即包含药物活性剂的残基)连接。

[0303] 在一些实施方案中,最外构建单元的 α -氮原子与第一端基连接,最外构建单元的 α -氮原子与第三端基连接,并且最外构建单元的 ϵ -氮原子与第二端基连接。

[0304] 应当理解,当第一端基包含络合基团和含放射性核素的部分时,其它

[0305] 在一些实施方案中,树状聚体是任何实施例树状聚体。

[0306] 树状聚体组合物

[0307] 在一些实施方案中,树状聚体呈现为组合物,优选药物组合物。因此,还提供了包含本文所述的多种缀合物的组合物。在一些实施方案中,组合物是包含树状聚体和药学上可接受的赋形剂的药物组合物(即适于出于治疗或诊断目的向受试者施用的组合物)。

[0308] 应当理解,由于生产树状聚体的合成工艺的性质,给定组合物中存在的树状聚体之间的分子组成可能会有一些变化。例如,如上所述,用于制备树状聚体的一个或多个合成步骤可能不完全进行至完成,这可能导致树状聚体的存在,所述树状聚体不全部包含相同数量的第一端基或第二端基,或含有不完全代的构建单元。

[0309] 因此,在一个实施方案中,提供了一种包含多种树状聚体或其盐的组合物,其中树状聚体中的至少一些如本文所定义,并且其中组合物中每个树状聚体的第一端基的平均数量在0.2至8的范围内,且组合物中每个树状聚体的第二端基的平均数量在10至32的范围内。

[0310] 例如,实现良好成像或治疗效力所需的标记程度可以相对较低,在一些情况下可能甚至需要每个树状聚体少于一个放射性标记的基团。然而,组合物中每个树状聚体的第一端基的平均数量在1至5的范围内,组合物中每个树状聚体的第二端基的平均数量在10至32的范围内。

[0311] 在一些实施方案中,组合物包含树状聚体,所述树状聚体具有包含药物活性剂的残基的第三端基,并且组合物中每个树状聚体的第三端基的平均数量在10至31的范围内。

[0312] 在一些实施方案中,所述组合物是药物组合物,并且所述组合物包含药学上可接受的赋形剂。

[0313] 在一些实施方案中,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体含有第一端基。

[0314] 在一些实施方案中,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体含有第二端基。

[0315] 在一些实施方案中,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的树状聚体含有第三端基。

[0316] 在一些实施方案中,至少50%的树状聚体含有至少一个第一端基。

[0317] 在一些实施方案中,至少75%的树状聚体含有至少26个、至少28个或至少30个第二端基。

[0318] 在一些实施方案中,至少75%的树状聚体含有至少20、至少22、至少24、至少26或至少28个包含药物活性剂残基的第三端基。

[0319] 如上所述,本发明还提供用于兽医和人类医学用途两者的药物制剂或组合物,其包含本发明的树状聚体或其药学上可接受的盐,与一种或多种药学上可接受的载体,和任选的任何其它治疗成分、稳定剂等。载体必须在与制剂的其它成分相容的意义上是药学上可接受的,并且不会对其接受者过度有害。

[0320] 本发明的组合物还可包括聚合物赋形剂/添加剂或载体,例如聚乙烯吡咯烷酮,衍生化纤维素,诸如羟甲基纤维素、羟乙基纤维素和羟丙基甲基纤维素,聚蔗糖(一种聚合糖),羟乙基淀粉(HES),右旋糖苷(例如环糊精,诸如2-羟丙基- β -环糊精和磺基丁基醚- β -环糊精),聚乙二醇,和果胶。组合物可以进一步包括稀释剂,缓冲剂,柠檬酸盐,海藻糖,粘合剂,崩解剂,增稠剂,润滑剂,防腐剂(包括抗氧化剂,无机盐(例如氯化钠),抗微生物剂(例如氯化苄烷铵),甜味剂,抗静电剂,脱水山梨糖醇酯,脂质(例如磷脂,诸如卵磷脂和其它磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、脂肪酸和脂肪酸酯、类固醇(例如胆固醇)),和螯合剂(例如EDTA、锌和其它此类合适的阳离子)。适用于根据本发明的组合物中的其他药物赋形剂和/或添加剂列“雷明顿:药学的科学与实践”,第19版,威廉姆斯和威廉姆斯出版社(1995年) (“Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 19^{sup}.th ed., Williams & Williams, (1995)), 以及在“医师办公桌参考”中,第52版,医学经济学,蒙特维尔,新泽西州(1998) (“Physician's Desk Reference”, 52^{sup}.nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998)), 和在“药物赋形剂手册”,第三版,编辑.A.H.Kibbe, 制药出版社,2000年 (“Handbook of Pharmaceutical Excipients”, Third Ed., Ed.A.H.Kibbe, Pharmaceutical Press, 2000)。

[0321] 本发明的缀合物可以被配制成包括适合于通过任何合适途径施用的那些组合物,包括例如肠胃外(包括腹膜内、静脉内、皮下或肌内注射)施用。

[0322] 施用。本发明的树状聚体可配制成适于给予诊断和/或治疗诊断目的的组合物。

[0323] 组合物可以方便地以单位剂型存在并且可以通过药学领域熟知的任何方法制备。所有方法包括使树状聚体与构成一种或多种辅助成分的载体缔合的步骤。通常,通过使树状聚体与液体载体缔合以形成溶液或悬浮液,或可选地,使树状聚体与适于形成固体、任选地颗粒产物的制剂组分缔合,且然后,如果有保证,则使产物成形为期望的递送形式来制备组合物。当为颗粒时,本发明的固体制剂通常将包含尺寸范围为约1纳米至约500微米的颗粒。通常,对于用于静脉内施用的固体制剂,颗粒的直径通常将在约1nm至约10微米的范围内。组合物可以含有本发明的树状聚体,所述树状聚体是具有低于1000nm的颗粒直径的纳米颗粒,例如介于5和1000nm之间、特别是5和500nm之间、更特别是5和400nm之间,诸如5至50nm和特别是5和20nm之间。在一个实施例中,组合物含有平均尺寸为介于5和20nm之间的树状聚体。在一些实施方案中,树状聚体多分散在组合物中,PDI为1.01-1.8,特别是1.01-1.5、更特别是1.01-1.2。在一个示例中,树状聚体单分散在组合物中。

[0324] 在一些优选的实施方案中,组合物被配制用于肠胃外递送。例如,在一个实施方案

中,所述制剂可以是适于在注射前在水性溶媒中重构的无菌冻干组合物。

[0325] 在一个实施方案中,适于肠胃外施用的制剂方便地包含树状聚体的无菌水性制剂,其可以例如被配制成与接受者的血液等渗。

[0326] 在一些实施方案中,组合物被配制用于肿瘤内递送。可以使用任何合适的递送方式。例如,在一些实施方案中,递送可以通过灌洗或气雾剂进行。在一个实施方案中,所述组合物被配制用于腹膜内递送,并且用于治疗腹膜腔中的癌症,所述癌症包括恶性上皮肿瘤(例如卵巢癌)和腹膜癌病(例如,胃肠癌,特别是结肠直肠癌、胃部癌、妇科癌症和原发性腹膜肿瘤)。

[0327] 还提供了适于作为气雾剂通过吸入施用的药物制剂。这些制剂包含期望的树状聚体或其盐的溶液或悬浮液。可将期望的制剂置于小室中并雾化。雾化可通过压缩空气或通过超声能量完成以形成多个包含树状分子或其盐的液滴或固体颗粒。

[0328] 如下所述,本发明的树状聚体可以例如与一种或多种另外的药学活性剂组合施用。在一些实施方案中,树状聚体与其它活性物质组合提供。在一些实施方案中,提供了一种组合物,其包含如本文定义的树状聚体或其药学上可接受的盐,一种或多种药学上可接受的载体和一种或多种另外的药学活性剂,例如另外的抗癌/肿瘤学药剂,诸如小分子细胞毒性剂、检查点抑制剂、或抗体疗法。不仅本发明的树状聚体可以与其它化疗药物一起施用,而且也可以与其它药物一起施用,诸如皮质类固醇、抗组胺药、镇痛药和帮助恢复或防止血液毒性的药物,例如细胞因子。

[0329] 在一些实施方案中,所述组合物用于作为化疗方案的一部分的肠胃外输注而配制。

[0330] 树状聚体的诊断和治疗应用

[0331] 如本文所述的根据其任何方面、实施方案或实施例的树状聚体可用于各种诊断和治疗应用。本文所述的树状聚体可用作唯一的诊断剂,诸如成像剂,或用作双重诊断和治疗剂。诊断和/或治疗应用的示例包括成像、治疗诊断、伴随诊断-治疗、监测疾病进展、评价治疗效力、确定患者组结果、以及开发用于特定患者或患者组的治疗方案。

[0332] 在一个实施方案中,提供了确定受试者是否患有癌症的方法。该方法的第一步骤可包含根据任何方面、实施方案或实施例向受试者施用如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第二步可以包含对受试者的身体或其部分进行成像。该方法的第三步可以包含基于成像结果确定受试者是否患有癌症。

[0333] 在另一个实施方案中,提供了使受试者中的癌症成像的方法。该方法的第一步骤可包括根据任何方面、实施方案或实施例向患有癌症的受试者施用如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第二步可以包含对受试者的身体或其部分进行成像。

[0334] 在另一个实施方案中,提供了确定受试者中癌症进展的方法。第一步骤可包含根据任何方面、实施方案或实施例向患有癌症的受试者施用第一量的如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第二步骤可以包含对受试者的身体或其部分进行成像步骤。该方法的第三步骤可以包含随后向受试者施用第二量的根据任何方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第四步骤可以包含对受试者的身体或其部分进行第二成像步骤。该方法的第五步骤可以包含基于第一和第二成像结果确定癌症是否已经进展。

[0335] 在另一个实施方案中,提供了为患有癌症的受试者确定适当疗法的方法。该方法的第一步骤可包含根据任何方面、实施方案或实施例向受试者施用如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第二步可以包含对受试者的身体或其部分进行成像。该方法的第三步骤可以包括确定成像结果是否指示癌症对用疗法治疗的易感性,并且随后作为另外的步骤向受试者施用疗法。

[0336] 在另一个实施方案中,提供了确定向患有癌症的受试者施用的癌症疗法的有效性的方法。该方法的第一步骤可以包含向受试者施用第一量的根据任何方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或药物组合物。该方法的第二步骤可以包含对受试者的身体或其部分进行第一成像步骤。第三步骤可以包含向受试者施用癌症疗法。第四步骤可以包含随后向受试者施用第二量的根据任何方面、实施方案或实施例的如本文所述的树状聚体或药物组合物。第五步骤可以包含对受试者的身体或其部分进行第二成像步骤。第六步骤可以包含基于第一和第二成像结果确定癌症疗法的有效性。

[0337] 本文所述的成像,包括任何上述实施方案的成像,可以是PET成像。在另一个实施方案中,成像是PET-MRI、SPECT、SPECT-CT、CT、闪烁照相术和PET-CT成像中的至少一种。

[0338] 该疗法可以涉及如在此根据其任何方面、实施方案或实施例所述的树状聚体或组合物。

[0339] 除了用作诊断和治疗诊断成像剂之外,本发明的树状聚体还可用于治疗病症,诸如癌症。因此,还提供了本文所述的树状聚体或药物组合物,用于治疗,更具体地,用于癌症的治疗。在一些实施方案中,树状聚体用于治疗或预防癌症的方法中,例如用于抑制肿瘤的生长。在一些实施方案中,树状聚体用于治疗癌症。还提供了治疗癌症的方法,包含向有需要的受试者施用治疗有效量的树状聚体。还提供了如本文定义的树状聚体或如本文定义的组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0340] 在一些实施方案中,癌症是实体瘤。所述癌症可以是原发性或转移性肿瘤。在一些实施方案中,癌症是原发性肿瘤。在一些实施方案中,癌症是转移性肿瘤。

[0341] 在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的组:结肠直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌和子宫颈癌。在一些实施方案中,癌症是前列腺癌、胰腺癌、胃肠癌、胃癌、肺癌、子宫癌、乳腺癌、脑癌或卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌或脑癌。在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的组:前列腺癌、脑癌、乳腺癌、睾丸癌、卵巢癌、胃癌、肺腺癌、胃部癌、胰腺癌、唾液腺导管癌、食道癌、子宫癌(例如,子宫内膜癌)。

[0342] 在一些实施方案中,癌症选自由以下组成的组:结肠直肠癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌和乳腺癌。

[0343] 在一些实施方案中,癌症是脑癌。脑癌包括但不限于:成胶质细胞瘤、脑膜瘤、垂体瘤、神经鞘瘤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤或颅咽管瘤。脑癌可以是:成胶质细胞瘤、脑膜瘤、垂体瘤、神经鞘瘤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤或颅咽管瘤。在一个具体的实施方案中,脑癌是成胶质细胞瘤。在一些实施方案中,脑癌是脑膜瘤。在一些实施方案中,脑癌是垂体瘤。在一些实施方案中,癌症是神经鞘瘤。在一些实施方案中,脑癌是星形细胞瘤。在一些实施方案中,脑癌是少突神经胶质瘤。在一些实施方案中,脑癌是室管膜瘤。在一些实施方案中,脑癌是成神经管细胞瘤。在

一些实施方案中,脑癌是颅咽管瘤。在一些实施方案中,癌症是前列腺癌。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌。在一些实施方案中,癌症是睾丸癌。在一些实施方案中,癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是胃癌。在一些实施方案中,癌症是转移性肺腺癌。在一些实施方案中,癌症是胃部癌。在一些实施方案中,癌症是胰腺癌。在一些实施方案中,癌症是唾液腺导管癌。在一些实施方案中,癌症是食管癌。在一些实施方案中,癌症是子宫癌。

[0344] 树状聚体可以通过任何合适的途径施用,包括例如静脉施用。在一些实施方案中,树状聚体作为IV推注递送。在一些实施方案中,在0.5至60分钟、或0.5至30分钟、或0.5至15分钟、或0.5至5分钟的时间段内IV施用树状聚体。在另一个示例中,树状聚体可以腹膜内给药。施用途径可以例如针对受试者具有的疾病或病症。例如,在一些实施方案中,疾病或病症可以是腹腔内恶性肿瘤,诸如妇科或胃肠癌,并且缀合物可以腹膜内施用。在一些实施方案中,树状聚体可以用于治疗腹膜腔的癌症,诸如恶性上皮肿瘤(例如卵巢癌)或转移性腹膜癌(例如胃肠癌,特别是结肠直肠癌、胃部癌、妇科癌症和原发性腹膜肿瘤),并且将树状聚体腹膜内施用。

[0345] 在树枝状聚合物包含第三端基团的情况下,其中第三端基团是另一种药物活性剂,在一些实施方案中,施用的树状聚体的量足以递送介于2和100mg活性剂/ m^2 之间、介于2和50mg活性剂/ m^2 之间、介于2和40mg活性剂/ m^2 之间、介于2和30mg活性剂/ m^2 之间、介于2和25mg活性剂/ m^2 之间、介于2和20mg活性剂/ m^2 之间、介于5和50mg活性剂/ m^2 之间、介于10和40mg活性剂/ m^2 之间、介于15和35mg活性剂/ m^2 之间、介于10和20mg/ m^2 之间、介于20和30mg/ m^2 之间、或介于25和35mg活性剂/ m^2 之间。小鼠中10mg/kg的活性剂的剂量应该大约等于30mg/ m^2 的人类剂量(FDA指导2005)。(为了将人类mg/kg剂量转换为mg/ m^2 ,可将该数字乘以37,FDA指南2005)。

[0346] 在一些实施方案中,以预定频率向有需要的受试者施用治疗有效量的树状聚体。在一些实施方案中,根据其中树状聚体每一至四周施用一次的给药方案向需要其的受试者施用树状聚体。在一些实施方案中,根据其中树状聚体每三至四周施用一次的给药方案向需要其的受试者施用树状聚体。

[0347] 如上所述,施用治疗有效量的树状聚体。例如,在一些实施方案中,当施用树状聚体的剂量提供至多50GBq、1至20GBq或1至10GBq范围内的放射性量。在一些实施方案中,当施用树状聚体的剂量提供以下范围内的放射性量:0.1至10MBq、0.1至5MBq、0.1至2MBq、0.1至1MBq、0.5至10MBq、1至10MBq、1至5MBq、5至10MBq、或约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9或约10MBq。在一些实施方案中,在即将使用树状聚体之前的时间点测量放射性。

[0348] 组合

[0349] 药物通常与其它药物组合给药,特别是在化疗期间。因此,在一些实施方案中,树状聚体与一种或多种其它药物活性剂,例如一种或多种其它抗癌剂/药联合施用。树状聚体和一种或多种其它药物活性剂可以同时、随后或分别给药。例如,它们可以作为相同组合物的一部分施用,或通过单独的组合物施用。

[0350] 一种或多种另外的药物活性剂可以是例如用于治疗以下癌症的抗癌剂:前列腺癌、脑癌、乳腺癌、睾丸癌、卵巢癌、胃癌、肺腺癌、胃部癌、胰腺癌、唾液腺导管癌、食道癌、或子宫癌(例如,子宫内膜癌)。

[0351] 一种或多种其他药物活性剂可以是例如用于治疗结直肠癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌或乳腺癌的抗癌剂。

[0352] 其他药物活性剂的示例包括化学治疗剂和细胞毒性剂,小分子细胞毒素,酪氨酸激酶抑制剂,检查点抑制剂,EGFR抑制剂,抗体疗法,紫杉烷(例如紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛、白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel)),拓扑异构酶抑制剂(例如SN-38、伊立替康(CPT-11)、托泊替康、silatecan、cositecan、依喜替康(exatecan)、勒托替康(lurtotecan)、吉马替康(gimatecan)、贝洛替康(belotecan)或rubitecan(鲁比替康)),核苷类似物和芳香酶抑制剂。

[0353] 可与树状聚体组合使用的药物活性剂的其它示例包括放射致敏剂、减少DNA修复的药物活性剂、免疫治疗剂、存活信号传导抑制剂和抗缺氧剂。

[0354] 在一些实施方案中,药物活性剂是放射敏化剂。在一些实施方案中,药物活性剂减少DNA修复。在一些实施方案中,药物活性剂选自以下组成的组:靶向以下的试剂:DNA依赖性蛋白激酶;关卡激酶1;聚(ADP-核糖)聚合酶,诸如奥拉帕尼;共济失调毛细血管扩张症和/或Rad3相关蛋白,诸如AZD6738。在一些实施方案中,药物活性剂是免疫治疗剂。因此,在一些实施方案中,所述免疫治疗剂选自以下组成的组:阻断共抑制分子的试剂;CTLA-4、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4;PD-1、程序性细胞死亡蛋白1;检查点抑制剂。在一些实施方案中,药物活性剂是存活信号传导抑制剂(促凋亡剂)。在一些实施方案中,药剂选自以下组成的组:靶向以下的试剂:mTOR、雷帕霉素(rapamycin)的机械靶标;PI3K,磷酸肌醇3-激酶;和NF- κ B,核因子- κ B;在一些实施方案中,药物活性剂是抗缺氧药。在一些实施方案中,试剂选自以下组成的:靶向以下的试剂:CA9,碳酸酐酶9;HIF-1- α ,缺氧诱导因子1- α ;和UPR,未折叠蛋白应答。在一些实施方案中,试剂是替拉扎明(tirapazamine)。

[0355] 树状聚体的制备

[0356] 放射性物质是有害物质,并且使用这种材料的处理步骤理想地最小化。期望仅在后期阶段,理想地在刚好使用缀合物之前的时间将放射性核素组分引入树状聚体中。

[0357] 包含如本文所述的放射性核素的树状聚体可以由中间体和放射性核素制备。中间体树状聚体可以含有至少一些端基,这些端基包含用于络合放射性核素的络合基团。

[0358] 因此,提供了用于生产含放射性核素的树状聚体的中间体,其包含:

[0359] i) 核单元(C);和

[0360] ii) 构建单元(BU);

[0361] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0362] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0363] 所述树状聚体进一步包含:

[0364] iii) 与最外构建单元连接的一个或多个第一端基,其中每个第一端基包含用于络合放射性核素的络合基团;和

[0365] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分。

[0366] 如本文所述的针对核心单元(C)、构建单元(BU)、末端基团或树状聚体的任何一个或多个各种实施方案或实施例,也可被提供用于中间树状聚体。

[0367] 在另一个实施方案中,提供了用于制备根据本文所述的任意方面、实施方案或实

施例的树状聚体的试剂盒,该试剂盒包含树状聚体中间体和放射性核素,它们各自独立地根据本文所述的任意方面、实施方案或实施例提供。

[0368] 根据本文所述的至少一些实施方案或实施例制备树状聚体的方法可包括使树状聚体中间体与放射性核素接触以制备树状聚体。可以使用任何合适的生产树状聚体的方法。例如,可以将中间体和放射性核素盐在含有适当缓冲液的水性溶剂中混合,使得发生放射性核素的络合。

[0369] 上述试剂盒和工艺可用于通过在施用前在临床中放射性标记树状聚体来提供药物组合物的有效临床制备。

[0370] 中间树状聚体本身可以例如由具有官能团的前体树状聚体制备,所述官能团作为最外构建单元的一部分或作为与最外构建单元连接的第一端基的一部分,用于与络合基团反应和引入络合基团。或者,前体树状聚体可以是受保护的形式,具有可以脱保护然后反应引入络合基团的保护基,从而制备中间体树状聚体。

[0371] 例如,络合基团可以与前体树状聚体反应以形成包含至少一些端基的中间体树状聚体,所述端基包含用于络合放射性核素的络合基团。

[0372] 一种前体树状聚体,可以例如包含:

[0373] i) 核单元(C);和

[0374] ii) 构建单元(BU);

[0375] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0376] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0377] 所述树状聚体进一步包含:

[0378] iii) 一个或多个与最外构建单元连接的第一端基,所述第一端基包含可用于反应以引入络合基团的官能团,或包含此类官能团的受保护形式;和

[0379] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分。

[0380] 或者,一种前体树状聚体可以包含:

[0381] i) 核单元(C);和

[0382] ii) 构建单元(BU);

[0383] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0384] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0385] 所述树状聚体进一步包含:

[0386] iii) 最外构建单元,其包含可用于反应以引入络合基团的官能团,或包含此类官能团的受保护形式;和

[0387] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分。

[0388] 可用于反应以引入络合基团的合适官能团的示例包括存在于最外面的赖氨酸构建单元上的胺官能团。合适的保护基可以包括例如Boc或Cbz保护基。

[0389] 根据本文所述的至少一些实施方案或实施例的用于制备树状聚体的方法可以包含任选地将存在于树状聚体上的任何保护基脱保护,使前体树状聚体与络合基团接触以产生树状聚体中间体,并使树状聚体中间体与放射性核素接触以产生树状聚体。

[0390] 可以通过与药物活性剂的残基进一步反应在中间体树状聚体上提供第三端基。应理解,络合基团、放射性核素、第三端基、药物活性剂的残基和药物活性剂可根据本文所述的任何实施方案或其实施例各自独立地提供。

[0391] 还可能需要在该工艺的后期阶段引入药物活性剂,例如假定该组分通常是树状聚体的有价值组分。

[0392] 因此,在一些实施方案中,前体树状聚体包含:

[0393] i) 核单元(C);和

[0394] ii) 构建单元(BU);

[0395] 其中所述核单元与至少两个构建单元共价连接;

[0396] 所述树状聚体具有二至六代构建单元;其中不同代的构建单元彼此共价连接;和

[0397] 所述树状聚体进一步包含:

[0398] iii) 最外构建单元,包含可用于反应的官能团(例如氨基);和

[0399] iv) 与最外构建单元连接的一个或多个第二端基,其中每个第二端基包含药代动力学修饰部分;

[0400] 可与包含络合基团的部分反应,使得最外构建单元上的一些可用位点含有络合基团。随后,最外构建单元上的其它可用官能团可例如与连接基-药物活性剂基团反应,使得其它可用位点含有药物活性剂,从而产生中间体树状聚体。然后可使中间体树状聚体与放射性核素(例如放射性核素盐)反应,使得放射性核素络合,产生最终的树状聚体。

[0401] 例如,官能团与含络合基团部分和与连接基-药物活性剂基团的反应可涉及酰胺形成反应,例如存在于最外构建单元上的氨基与存在于其它配偶体上的羧酸或活化羧基(例如活性酯)之间的酰胺形成反应。

[0402] 在这种方法中,可以通过例如控制反应中使用的试剂的化学计量来控制含有第一端基相对于第三端基的最终树状聚体的表面上的位点的比例。

[0403] 如上所述,形成树状聚体的一部分的第一、第二和(当存在时)第三端基的数量可以变化,以便根据需要调整树状聚体的性质。在一些实施方案中,中间树状聚体(即放射性核素络合之前的树状聚体物质)的络合基团与药物活性剂的摩尔比为1:1至1:100、或1:1至1:50、或1:1至1:40、或1:1至1:30、或1:1至1:20、或1:1至1:10、或1:2至1:100、或1:2至1:50、或1:2至1:40、或1:2至1:30、或1:2至1:20、或1:2至1:10、或1:5至1:100、或1:5至1:50、或1:5至1:40、或1:5至1:30、或1:5至1:20、或1:5至1:10、或1:10至1:100、或1:10至1:50、或1:10至1:40、或1:10至1:30、或1:10至1:20的范围内。

[0404] 包含核、构建单元(例如赖氨酸构建单元)和包含药代动力学修饰基团(诸如PEG基团)的第二端基的前体树状聚体描述于例如WO 2007/082331和WO2012/167309中。

[0405] 上述工艺可包括本文所述的前体树状聚体、中间体树状聚体和树状聚体的各种实施方案或实施例。

[0406] 还提供了用于产生根据本文所述的任何方面、实施方案或实施例的树状聚体的试剂盒,该试剂盒包含各自根据本文所述的任何方面、实施方案或实施例独立提供的前体树状聚体、络合基团和放射性核素。

[0407] 试剂盒可以提供足够量的放射性核素以向受试者施用合适剂量的放射性,并且通常还含有合适量的前体树状聚体以络合所述量的放射性核素。在一些实施方案中,试剂盒

包含放射性核素,其提供至多50GBq、1至20GBq或1至10GBq的放射性量。在一些实施方案中,试剂盒包含放射性核素,提供以下范围内的放射性量:0.1至10MBq、0.1至5MBq、0.1至2MBq、0.1至1MBq、0.5至10MBq、1至10MBq、1至5MBq、5至10MBq、或约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9或约10MBq。在一些实施方案中,在紧接放射性核素被树枝状大分子络合之前的时间点,即紧接在使用之前的时间点,测量放射性。

[0408] 实施例

[0409] 核单元和构建单元合成

[0410] BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG_x]₃₂,其中X是指PEG基团的近似分子量,通过与W02007/082331中描述的那些类似的合成方法制备。

[0411] 术语BHALys[Lys]₃₂是指具有BHALys核单元和五代赖氨酸构建单元的树状聚体,使得其在最外层含有32个赖氨酸构建单元,即:BHALys[Lys]₂[Lys]₄[Lys]₈[Lys]₁₆[Lys]₃₂。

[0412] 实施例1:

[0413] (a) BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂)₃₀(α-DFO)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0414] (b) BHALys[Lys]₃₂[(α-TDA-DTX)₃₀(α-DFO)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0415] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](151mg,1.98μmol)(以与实施例1中所述类似的方式制备)于DMF(4.0mL)中的搅拌溶液中加入p-SCN-去铁胺(p-SCN-DFO)(4.83mg,6.41μmol,3.24eq),然后加入NMM(56μL,514μmol)。将所得反应混合物在环境温度下搅拌3.5h,取出反应混合物的一半(2.0mL)并在单独的小瓶中搅拌(反应A)。向剩余溶液(反应B)中添加TDA-DTX(硫代二乙酸-多西他赛)(60mg,58.9μmol)和PyBOP(35mg,67.8μmol)于DMF(1.5mL)中的溶液,然后进一步添加NMM(56μL,514μmol)。然后将两种反应混合物在环境温度下搅拌过夜。

[0416] 反应A(对照):

[0417] 19小时后,将反应混合物真空浓缩干燥,然后溶于MeOH(1.0mL)中,并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干,得到产物1a,为白色絮状固体(65.8mg)。

[0418] HPLC(亲水性,甲酸铵)Rt=8.98min。¹H NMR(300MHz,CD₃OD-d₄)δ(ppm):1.29-2.06(m,468H),2.43-2.53(m,13H),2.71-2.82(m,13H),3.06-3.28(m,121H),3.36(s,96H),3.39-3.42(m,39H),3.51-4.06(m,5781H),4.25-4.45(m,36H),6.17(宽s,1H),7.24-7.58(m,19H),8.09(s,1H)。¹H NMR分析表明约2.3DFO/树状聚体;DFO的%(w/w)=2.3%。

[0419] 反应B(TDA-DTX):

[0420] 24小时后,将反应混合物真空浓缩干燥,然后溶于MeOH(1.0mL)中,并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干,得到产物1b,为白色絮状固体(96.8mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵)Rt=8.51min。¹H NMR(300MHz,CD₃OD-d₄)δ(ppm):0.80-2.66(m,1183H),3.36(s,96H),3.38-3.41(m,47H),3.50-3.77(m,5100H),3.85-3.90(m,62H),3.98(宽s,67H),4.12-4.48(m,129H),4.96-5.07(m,41H),5.19-5.49(m,80H),5.54-5.75(m,31H),6.00-6.26(m,26H),7.16-7.97(m,255H),8.05-8.22(m,62H)。¹H NMR分析表明约30DTX/树状聚体和2.3DFO/树状聚体;DFO的%(w/w)=1.7%。

[0421] 实施例2:

[0422] BHALys[Lys]₃₂[(α-TDA)₃₁(α-DFO)₁(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0423] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](100mg, 1.32μmol)和p-SCN-去铁胺(1.0mg, 1.32μmol, 1.0当量)于DMF(2.5mL)中的搅拌溶液中加入NMM(10μL, 91μmol)。将反应混合物在环境温度搅拌5h,之后加入TDA(11mg, 84.4μmol),并将内容物搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩,然后溶于MeOH(1.0mL),并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干,得到标题产物,为蓬松的白色粉末(89.4mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵)R_t=8.43min。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.29-1.99(m, 371H), 3.19-3.26(m, 77H), 3.36(s, 96H), 3.38-3.49(m, 149H), 3.50-3.77(m, 5131), 3.84-3.90(m, 35H), 4.01(宽s, 59H), 4.27-4.43(m, 74H), 6.19(宽s, 1H), 7.26-7.36(m, 10H), 8.09(s, 1H)。¹H NMR分析表明约1.0DFO/树状聚体;DFO的%(w/w)=1.0%。

[0424] 实施例3:

[0425] BHALys[Lys]₃₂[(α-DGA-CTX)₃₁(α-DFO)₁(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0426] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](71.2mg, 0.93μmol)于DMF(1.0mL)中的搅拌溶液中加入p-SCN-去铁胺(1.0mg, 1.33μmol, 1.42当量),然后加入NMM(20μL, 182μmol)。将得到的浑浊反应混合物在环境温度搅拌3h,此后加入DGA-CTX(二甘醇酸-卡巴他赛)(56.1mg, 58.9μmol)和PyBOP(29.8mg, 57.3μmol)于DMF(2.0mL)中的溶液,随后进一步加入NMM(20μL, 182μmol)。19h后,将反应混合物真空浓缩,然后溶于MeOH(1.0mL),并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μmacrodisc过滤器)并且冻干,得到标题产物,为白色絮状固体(84.6mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵)R_t=9.19min。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 0.88-2.51(m, 1283H), 2.65-2.80(m, 55H), 3.36(s, 96H), 3.37-3.41(m, 103H), 3.50-4.57(m, 5045H), 4.97-5.07(m, 33H), 5.30-5.46(m, 52H), 5.54-5.69(m, 29H), 6.08-6.24(m, 30H), 7.23-7.73(m, 248H), 8.05-8.17(m, 59H)。¹H NMR分析表明约31CTX/树状聚体和1.0DFO/树状聚体;DFO的%(w/w)=0.74%。

[0427] 实施例4:

[0428] (a) BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂)₃₀(α-DFO)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0429] (b) BHALys[Lys]₃₂[(α-DGA-CTX)₂₇(α-DOTA)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0430] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](301mg, 3.97μmol)于DMF(6.0mL)中的搅拌溶液中加入p-SCN-Bn-DOTA(8.13mg, 11.8μmol, 2.98eq),然后加入NMM(114μL, 1.03mmol)。将所得反应混合物在环境温度下搅拌4.5h,然后将一部分(2.0mL)溶液移到单独的小瓶中(反应A)。向剩余溶液(反应B)中加入TDA-CTX(105mg, 110.4μmol)和PyBOP(57.0mg, 109.5μmol)于DMF(2mL)中的溶液。45min后,加入NMM(56μL, 514μmol),然后将两种反应混合物在环境温度下搅拌过夜。

[0431] 反应A(对照):

[0432] 24h后,将反应混合物真空浓缩干燥,然后溶于MeOH(1.0mL),并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μmacrodisc过滤器)并且冻干,得到化合物4a,为白色固体(82.5mg)。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.17-2.29(m, 401H), 3.36(s, 96H), 3.39-3.43(m, 43H), 3.50-4.08(m, 5564H),

4.21-4.67 (m, 84H), 6.17 (宽s, 1H), 7.18-7.64 (m, 18H), 8.09 (s, 1H)。¹H NMR分析表明约2.1DOTA/树状聚体;DOTA的% (w/w) = 2.0%。

[0433] 反应B (TDA-CTX):

[0434] 19h后,将反应混合物真空浓缩干燥,溶于MeOH (1.0mL),并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤 (0.45μm acrodisc过滤器) 并且冻干,得到化合物4b,为白色固体 (238mg)。LCMS (亲水性, TFA) Rt = 8.83min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 0.95-2.76 (m, 1020H), 3.36 (s, 96H), 3.38-3.41 (m, 83H), 3.52-4.56 (m, 5081H), 4.99-5.11 (m, 34H), 5.38-5.61 (m, 74H), 6.16 (宽s, 26H), 7.29-8.17 (m, 300H)。¹H NMR分析表明约26.5CTX/树状聚体和2.1DOTA/树状聚体;DOTA的% (w/w) = 1.5%。

[0435] 实施例5:

[0436] BHALys[Lys]₃₂[(α-NHAc)₃₀(α-DOTA)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0437] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-DOTA)₂(α-NH₂.TFA)₃₀(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂] (63mg, 860μmol) 于DMF (0.6mL) 中的搅拌溶液中加入TEA (25μL, 228μmol), 然后加入乙酸酐 (41μL, 430μmol)。将随后的反应混合物在环境温度下搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩, 溶于甲醇 (1.0mL) 中并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩, 并且将所得残余物溶解在MQ水中, 过滤 (0.45μm acrodisc过滤器) 并且冻干, 得到化合物4c, 为白色固体 (52.2mg)。将固体溶解在MQ水 (50mL) 中并通过在水中的超滤 (minimate切向流超滤膜包) 纯化。收集11Dv渗透物后, 将保留物浓缩, 过滤 (0.22μm acrodisc过滤器), 然后冻干, 得到标题化合物 (52.2mg/ml)。LCMS (亲水性, 甲酸铵) Rt = 8.56min。¹H NMR (300MHz, D₂O) δ (ppm): 1.16-1.90 (m, 359H), 2.02 (宽s, 101H), 3.01-3.31 (m, 133H), 3.38 (s, 96H), 3.45-3.48 (m, 43H), 3.52-4.40 (m, 5267H), 6.09 (宽s, 1H), 7.13-7.54 (m, 17H)。¹H NMR分析表明约1.8DOTA/树状聚体;DOTA的% (w/w) = 1.7%。

[0438] 实施例6:

[0439] BHALys[Lys]₃₂[(α-DGA-C20-SN38)₂₈(α-DFO)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0440] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂.TFA)₃₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂] (455mg, 6.00μmol) 和NMM (169μL, 1.54mmol) 于DMF (3mL) 中的搅拌溶液中加入p-SCN-Bn-去铁胺 (13.7mg, 18.2μmol)。将悬浮液在环境温度在氮气气氛下搅拌4h 40min。此后, 将一部分混浊反应混合物 (1.75mL) 加入到搅拌的DGA-C20-SN-38 (82.4mg, 162μmol) 和PyBOP (85.2mg, 164μmol) 于DMF (0.5mL) 中的溶液中。将所得混合物用DMF (1.0mL) 稀释并在氮气气氛下搅拌过夜。16小时后, 真空除去挥发性物质, 将残余物溶于甲醇 (1.0mL) 中, 过滤 (0.7μm acrodisc过滤器, 然后用0.45μm和0.2μm acrodisc过滤器), 然后用SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩, 并且将所得残余物溶解在MQ水中, 过滤 (0.45μm acrodisc过滤器) 并且冻干, 得到标题化合物, 为黄色固体 (243mg)。HPLC (亲水性, 甲酸铵) Rt = 8.61min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 0.32-2.53 (m, 622H), 2.53-3.26 (m, 182H), 3.36 (s, 97H), 3.37-4.04 (m, 5, 530H), 4.04-4.73 (m, 145H), 4.92-6.42 (m, 68H), 6.81-8.19 (m, 123H)。¹H NMR分析表明约27.5SN-38/树状聚体和1.7DFO/树状聚体;DFO的% (w/w) = 1.5%。

[0441] 实施例7:

[0442] (a) BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂)₃₀(α-DOTA)₂(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0443] (b) BHALys[Lys]₃₂[α-DGA-C20-SN38]₃₀[α-DOTA]₂[ε-PEG₂₀₀₀]₃₂

[0444] 向BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂·TFA]₃₂[ε-PEG₂₀₀₀]₃₂ (456mg, 6.00μmol) 和NMM (169μL, 1.54mmol) 于DMF (9mL) 中的搅拌溶液中加入p-SCN-Bn-DOTA (12.6mg, 18.3μmol)。将混合物在环境温度在氮气气氛下搅拌3.5h, 然后将反应混合物的一部分 (3.75mL) 移到单独的小瓶中 (反应A)。将剩余的溶液加入到搅拌的DGA-C20-SN-38 (82.7mg, 163μmol) 和PyBOP (85.3mg, 164μmol) 于DMF (1.75mL) 中的溶液中 (反应B)。将两种反应混合物搅拌过夜。

[0445] 反应A:

[0446] 16h后, 将反应混合物真空浓缩干燥, 然后溶于MeOH (1.0mL), 并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩, 并且将所得残余物溶解在MQ水中, 过滤 (0.45μm acrodisc过滤器) 并且冻干, 得到化合物7a, 为灰白色固体 (175mg)。HPLC (亲水性, 甲酸铵) Rt=8.58min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 0.78-2.41 (m, 388H), 2.64-3.29 (m, 122H), 3.36 (s, 95H), 3.38-4.19 (m, 5, 546H), 4.19-4.59 (m, 37H), 6.98-7.82 (m, 18H)。¹H NMR分析表明约2.4DOTA/树状聚体; DOTA的% (w/w) = 2.2%。

[0447] 反应B:

[0448] 16h后, 将反应混合物真空浓缩干燥, 然后溶于MeOH (1.0mL), 并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩, 并且将所得残余物溶解在MQ水中, 过滤 (0.45μm acrodisc过滤器) 并且冻干, 得到化合物7b, 为黄色固体 (269mg)。HPLC (亲水性, 甲酸铵) Rt=8.59min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 0.28-2.51 (m, 580H), 2.53-3.25 (m, 178H), 3.36 (s, 98H), 3.37-4.06 (m, 5, 546H), 4.07-4.69 (m, 128H), 4.91-6.10 (m, 66H), 6.71-8.26 (m, 167H)。¹H NMR分析表明约35.3SN-38/树状聚体和2.4DOTA/树状聚体; DOTA的% (w/w) = 1.8%。

[0449] 实施例8:

[0450] (a) BHALys[Lys]₃₂[(α-NOTA)₂ (α-NH₂)₃₀ (ε-PEG₁₁₀₀)₃₂]

[0451] (b) BHALys[Lys]₃₂[(α-NOTA)₂ (α-NHAc)₃₀ (ε-PEG₁₁₀₀)₃₂]

[0452] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA) (ε-PEG₂₀₀₀)₃₂] (60mg, 807nmol) 和p-SCN-Bn-NOTA (1.0mg, 1.61μmol, 2.0eq) 于DMF (0.5mL) 的搅拌溶液中加入NMM (10μL, 91.0μmol)。将得到的反应混合物在环境温度搅拌5h, 然后除去一半 (0.25mL) 反应混合物, 真空浓缩 (反应A)。将剩余的溶液 (反应B) 用乙酸酐 (24μL, 258μmol) 处理并搅拌过夜。

[0453] 反应A:

[0454] 将粗物质吸收在MQ水 (5.0mL) 中, 然后通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。合并收集的滤液并冻干, 得到化合物8a, 为蓬松白色粉末 (28.1mg)。HPLC (亲水性, TFA) Rt=8.18min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 1.17-2.04 (m, 392H), 3.12-3.28 (m, 97H), 3.36 (s, 96H), 3.39-3.42 (m, 39H), 3.51-3.80 (m, 5584H), 3.86-3.89 (m, 35H), 3.97-4.06 (m, 60H), 4.22-4.47 (m, 34H), 6.18 (宽s, 1H), 7.20-7.60 (m, 20H), 8.08 (s, 1H)。¹H NMR分析表明约2.5DOTA/树状聚体; % (w/w) of NOTA=1.9%。

[0455] 反应B:

[0456] 17小时后, 将反应混合物真空浓缩, 然后溶于MQ水 (5.0mL) 中, 并通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。合并收集的滤液并冻干, 得到化合物8b, 为蓬松白色粉末 (32.5mg)。HPLC (亲水性, TFA) Rt=8.32min。¹H NMR (300MHz, CD₃OD-d₄) δ (ppm): 1.17-1.89 (m, 372H), 2.00 (宽s,

97H), 3.18-3.29 (m, 86H), 3.36 (s, 96H), 3.38-3.42 (m, 38H), 3.51-3.77 (m, 5535H), 3.84-3.90 (m, 37H), 3.97-4.07 (m, 62H), 4.20-4.49 (m, 62H), 6.17 (宽s, 1H), 7.16-7.61 (m, 18H), 8.07 (宽s, 1H)。¹H NMR分析表明约2.0DOTA/树状聚体; % (w/w) of NOTA=1.5%。

[0457] 实施例9:

[0458] BHALys[Lys]₃₂[(α-NOTA)₃(α-TDA-CTX)₂₈(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0459] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](51mg, 686nmol)和p-SCN-Bn-NOTA(1.3mg, 2.32μmol, 3.4eq)于DMF(0.5mL)的搅拌溶液中加入NMM(14μL, 132μmol)。将所得反应混合物在环境温度下搅拌4h, 此后添加TDA-CTX(43mg, 43.9μmol)和PyBOP(23mg, 43.9μmol)于DMF(1.0mL)中的溶液。将随后的反应混合物搅拌过夜, 然后真空浓缩。然后将内容物溶解在甲醇(1.0mL)中并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩, 并且将所得残余物溶解在MQ水中, 过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干, 得到标题化合物, 为蓬松的白色粉末(61.0mg)。HPLC(亲水性, TFA) Rt=8.87。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 0.90-2.43 (m, 877H), 2.64-3.19 (m, 151H), 3.36 (s, 96H), 3.38-3.41 (m, 84H), 3.50-4.59 (m, 4808H), 4.96-5.13 (m, 29H), 5.31-5.61 (m, 64H), 6.16 (宽s, 24H), 7.29-8.13 (m, 296H)。¹H NMR分析表明约28CTX/树状聚体和3.0DOTA/树状聚体; % (w/w) of NOTA=1.7%。

[0460] 实施例10:

[0461] (a) BHALys[Lys]₃₂[(α-NOTA)₂(α-NH₂)₃₀(ε-PEG₅₇₀)₃₂]

[0462] (b) BHALys[Lys]₃₂[(α-NOTA)₂(α-NHAc)₃₀(ε-PEG₅₇₀)₃₂]

[0463] 向BHALys[Lys](α-NH₂·TFA)(ε-PEG₅₇₀)₃₂(60mg, 1.99μmol)和p-SCN-Bn-NOTA(2.2mg, 3.98μmol, 2.0eq)于DMF(0.5mL)中的搅拌溶液中加入NMM(10μL, 91.0μmol)。将所得反应混合物在环境温度下搅拌过夜。此后, 除去一半(0.25mL)反应混合物, 真空浓缩(反应A)。将剩余的溶液(反应B)用乙酸酐(60μL, 636μmol)处理并搅拌过夜。

[0464] 反应A:

[0465] 将粗物质吸收在MQ水(5.0mL)中, 然后通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干, 得到化合物10a, 为浅黄色粘性固体(22.4mg)。LC(亲水性, TFA) Rt=7.51min。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.29-2.04 (m, 431H), 2.41-2.52 (m, 89H), 3.13-3.26 (m, 119H), 3.36 (s, 96H), 3.39-3.44 (m, 24H), 3.52-4.50 (m, 1651H), 6.18 (宽s, 1H), 7.18-7.63 (m, 19H)。¹H NMR分析表明约2.3NOTA/树状聚体; % (w/w) of NOTA=4.6%。

[0466] 反应B:

[0467] 将反应混合物真空浓缩, 然后溶于MQ水(5.0mL)中, 并通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干, 得到化合物10b, 为浅黄色粘性固体(26.9mg)。HPLC(亲水性, TFA) Rt=8.10min。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.29-2.05 (m, 546H), 2.40-2.52 (m, 85H), 3.12-3.26 (m, 137H), 3.36 (s, 96H), 3.39-3.44 (m, 22H), 3.53-4.00 (m, 1621H), 4.16-4.47 (m, 103H), 6.18 (宽s, 1H), 7.22-7.56 (m, 21H), 7.82-8.14 (m, 27H)。¹H NMR分析表明约2.3NOTA/树状聚体; % (w/w) of NOTA=4.4%。

[0468] 实施例11:

[0469] BHALys[Lys]₃₂[(α-CHX-A-DTPA)₁₀(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0470] 将BHALys[Lys](α-NH₂·TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂(25mg, 332nmol)和CHX-A-DTPA(9.7mg, 13.8μmol, 41.5eq)于甲酸铵缓冲液(100mM, pH 9, 1.0mL)中的混合物在环境温度下搅拌过

夜。然后将反应混合物用MQ水(1.5mL)稀释并通过PD-10脱盐柱。将收集的滤液合并并冻干,得到标题化合物,为白色固体(32.5mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵) $R_t = 8.53\text{min}$ 。 ^1H NMR(300MHz, D_2O) δ (ppm): 0.92-2.50 (m, 420H), 3.01-3.34 (m, 136H), 3.40 (s, 96H), 3.54-4.45 (m, 4906H), 6.10 (宽s, 1H), 7.15-7.82 (m, 51H)。 ^1H NMR分析表明约10DTPA/树状聚体;DTPA的% (w/w) = 7.7%。

[0471] 实施例12:

[0472] BHALys[Lys]₃₂[(α -CHX-A-DTPA)₃(α -TDA-DTX)₂₆(ϵ -PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0473] 向BHALys[Lys(α -NH₂·TFA)(ϵ -PEG₂₀₀₀)]₃₂(109mg, 1.45mmol)于DMF(2.0mL)中的搅拌溶液中加入DIPEA(33 μ L, 189 μ mol)。5-10分钟后,加入CHX-A-DTPA(3mg, 4.26 μ mol, 2.9eq)并将随后的反应混合物在环境温度下搅拌1h。此后,然后将反应混合物加入到TDA-DTX(67mg, 70.8 μ mol/L, PyBOP(31mg, 60.2 μ mol)于DMF(1.0mL)中的搅拌溶液中,并将内容物搅拌过夜。将随后的反应混合物搅拌过夜,然后真空浓缩。将粗物质溶于甲醇(1.0mL)中并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,并且将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45 μ m macrodisc过滤器)并且冻干,得到标题化合物,为白色固体(123mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵) $R_t = 6.51\text{min}$ 。 ^1H NMR(300MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) δ (ppm): 0.87-2.55 (m, 1380H), 3.06-3.25 (m, 89H), 3.36 (s, 96H), 3.39-3.42 (m, 49H), 3.51-4.05 (m, 4965H), 5.31-5.64 (m, 120H), 6.03-6.23 (m, 34H), 7.26-7.67 (m, 224H), 8.06-8.18 (m, 57H)。 ^1H NMR分析表明约26DTX/树状聚体和3.0CHX-A-DTPA/树状聚体;CHX-A-DTPA%的(w/w) = 1.8%。

[0474] 实施例13:

[0475] BHALys[Lys]₃₂[(α -CHX-A-DTPA)₂(α -NH₂)₃₀(ϵ -PEG₂₆₀₀)₃₂]

[0476] 反应A:

[0477] 将BHALys[Lys(α -NH₂·TFA)(ϵ -PEG₂₆₀₀)]₃₂(50mg, 532nmol)和CHX-A-DTPA(1.0mg, 1.45 μ mol, 2.7eq)于甲酸铵缓冲液(100mM, pH 9, 1.0mL)中的混合物在环境温度搅拌1h。然后将反应混合物用MQ水稀释至5mL,然后通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干,得到标题化合物,为白色固体(47.2mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵) $R_t = 6.0\text{min}$ 。 ^1H NMR(300MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) δ (ppm): 1.04-2.11 (m, 381H), 3.12-3.28 (m, 79H), 3.36 (s, 96H), 3.38-3.42 (m, 57H), 3.47-4.46 (m, 6823H), 6.17 (宽s, 1H), 7.24-7.64 (m, 21H)。 ^1H NMR分析表明约2.7CHX-A-DTPA/树状聚体;CHX-A-DTPA的% (w/w) = 1.7%。

[0478] 反应B:

[0479] 向BHALys[Lys(α -NH₂·TFA)(ϵ -PEG₂₆₀₀)]₃₂(50mg, 532nmol)于DMF(0.5mL)中的搅拌溶液中加入DIPEA(13 μ L, 74.6 μ mol)。5-10分钟后,加入CHX-A-DTPA(1.0mg, 1.45 μ mol, 2.7eq)并将随后的反应混合物在环境温度下搅拌1小时。将反应混合物真空浓缩,用MQ水(5mL/min)稀释,然后通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干,得到标题化合物,为白色固体(41.9mg)。HPLC(亲水性,甲酸铵) $R_t = 6.0\text{min}$ 。 ^1H NMR(300MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) δ (ppm): 1.02-2.25 (m, 369H), 3.12-3.28 (m, 63H), 3.36 (s, 96H), 3.38-3.42 (m, 53H), 3.51-4.50 (m, 6736H), 6.17 (broad s, 1H), 7.22-7.57 (m, 18H)。 ^1H NMR分析表明约2.0CHX-A-DTPA/树状聚体;CHX-A-DTPA的% (w/w) = 1.3%。

[0480] 实施例14:

[0481] BHALys[Lys]₃₂[(α -CHX-A-DTPA)₂(α -TDA-DTX)₂₁(ϵ -PEG₂₆₀₀)₃₂]

[0482] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-CHX-A-DTPA)₂(α-NH₂)₃₀(ε-PEG₂₆₀₀)₃₂](69mg, 723nmol)于DMF(2.0mL)中的搅拌溶液中加入DIPEA(15μL, 86.1μmol)。5min后,将反应混合物加入到TDA-DTX(31mg, 33.0μmol), PyBOP(16mg, 30.7μmol)于DMF(1.0mL)中的搅拌溶液中,并将内容物在环境温度下搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩,溶于甲醇(1.0mL)中并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干,得到标题化合物,为白色固体(60.4mg)。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 0.89-2.65(m, 1074H), 3.05-3.25(m, 88H), 3.36(s, 96H), 3.39-3.42(m, 55H), 3.52-3.81(m, 6451H), 3.86-3.90(m, 60H), 3.94-4.06(m, 56H), 5.29-5.78(m, 90H), 5.99-6.30(m, 20H), 7.26-7.70(m, 188H), 8.11-8.13(m, 45H)。¹H NMR分析表明约21DTX/树状聚体和2.0CHX-A-DTPA/树状聚体;CHX-A-DTPA的%(w/w)=1.1%。

[0483] 实施例15:

[0484] BHALys[Lys]₃₂[(α-CHX-A-DTPA)₂(α-NH₂)₃₀(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂]

[0485] 将BHALys[Lys(α-NH₂.TFA)(ε-PEG₂₀₀₀)₃₂](109mg, 1.45μmol)和CHX-A-DTPA(2.0mg, 2.90μmol, 2.0eq)于甲酸铵缓冲液(100mM, pH 9, 2.0mL)中的混合物在环境温度搅拌1h。然后将反应混合物用MQ水稀释至10mL,然后通过四个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干,得到标题化合物,为白色固体(112mg)。HPLC(亲水性, TFA) Rt=8.55min。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.15-2.12(m, 419H), 3.17-3.28(m, 84H), 3.36(s, 96H), 3.38-3.42(m, 43H), 3.47-3.80(m, 5460H), 3.84-3.89(m, 46H), 4.00-4.07(m, 67H), 4.24-4.48(m, 35H), 6.18(宽s, 1H), 7.21-7.51(m, 20H), 8.07(宽s, 2H)。¹H NMR分析表明约2.5CHX-A-DTPA/树状聚体;CHX-A-DTPA的%(w/w)=2.0%。

[0486] 实施例16:

[0487] BHALys[Lys]₃₂[(α-DTPA)₂(α-NH₂)₃₀(ε-PEG₂₆₀₀)₃₂]

[0488] 向BHALys[Lys(α-NH₂.TFA)(ε-PEG₂₆₀₀)₃₂](50mg, 532nmol)于DMF(0.5mL)中的搅拌溶液中加入DIPEA(13μL, 74.6μmol)。5-10分钟后,加入p-SCN-Bn-DTPA(1.0mg, 1.54μmol, 2.9eq)并将随后的反应混合物在环境温度下搅拌30min。将反应混合物真空浓缩,用MQ水(5mL/min)稀释,然后通过两个PD-10脱盐柱均匀分配。将收集的滤液合并并冻干,得到标题化合物,为白色固体(27.0mg)。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 1.08-2.23(m, 351H), 3.17-3.28(m, 72H), 3.36(s, 96H), 3.38-3.42(m, 55H), 3.50-3.80(m, 7032H), 3.85-3.89(m, 58H), 3.96-4.05(m, 68H), 4.23-4.52(m, 35H), 6.19(宽s, 1H), 7.20-7.57(m, 16H)。¹H NMR分析表明约1.5DTPA/树状聚体;DTPA的%(w/w)=1.1%。

[0489] 实施例17:

[0490] BHALys[Lys]₃₂[(α-DTPA)₂(α-TDA-DTX)₂₆(ε-PEG₂₆₀₀)₃₂]

[0491] 向BHALys[Lys]₃₂[(α-DTPA)₂(α-NH₂)₃₀(ε-PEG₂₆₀₀)₃₂](15.3mg, 161nmol)于DMF(0.5mL)中的搅拌溶液中加入DIPEA(4μL, 20.6μmol)。5min后,将反应混合物加入到TDA-DTX(1.3mg, 1.38μmol), PyBOP(3.5mg, 6.69μmol)于DMF(1.0mL)中的搅拌溶液中,并将内容物在环境温度下搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩,溶于甲醇(1.0mL)中并通过SEC纯化。将含有产物的级分合并并且在真空中浓缩,将所得残余物溶解在MQ水中,过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并且冻干,得到标题化合物,为蓬松白色固体(8.3mg)。¹H NMR(300MHz, CD₃OD-d₄) δ(ppm): 0.99-2.53(m, 770H), 3.13-3.26(m, 50H), 3.36(s, 96H), 3.38-3.41(m, 56H), 3.47-

3.77 (m, 6440H), 3.84-3.88 (m, 72H), 3.95-4.07 (m, 65H), 4.13-4.49 (m, 102H), 5.22-5.47 (m, 50H), 5.57-5.70 (m, 22H), 6.06-6.21 (m, 19H), 7.27-8.15 (m, 280H)。¹H NMR分析表明约26DTX/树状聚体和1.5DTPA/树状聚体;DTPA的% (w/w) = 0.85%。

[0492] 实施例18:

[0493] BHA-[Lys]₈[(α-(MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄)₁(α-NH₂)₇(ε-NHPEG₁₁₀₀)₈], G3, 化合物18

[0494] 在室温下制备BHA[Lys(NH₂·TFA)(NHPEG₁₁₀₀)]₈(100mg, 0.00786mmol, 1.0eq)于DMF(300μL)中的搅拌溶液。向其中加入MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄-CO₂H(16mg, 0.01mmol, 1.3当量), PyBOP(8mg, 0.013mmol, 1.6当量)和DMF(200μL)。将反应混合物搅拌3min, 然后加入NMM(40mg, 50μL, 0.38mmol, 48eq)。将内容物避光并在室温下搅拌过夜。将反应混合物用MQ水稀释并冻干过夜。冻干物在甲醇(1mL)中吸收并通过SEC(400滴/管, 甲醇sephadex LH20, 35滴/min)纯化。通过HPLC检查含有产物的级分并以2种不同的级分收集。将每个级分在减压下浓缩, 然后将得到的残余物溶于MQ水中, 过滤(0.45μm acrodisc过滤器)并冷冻干燥, 得到标题产物, 为粉红色固体(69mg, 66%)。

[0495] HPLC(C8 XBridge, 3×100mm)梯度: 5%ACN/H₂O(0-1min), 5-80%ACN(1-7min), 80%ACN(7-12min), 80-5%ACN(12-13min), 5%ACN(13-15min), 214nm, 0.4mL/min, R_f(min) = 8.4(宽峰)。¹HNMR(300MHz, D₂O) δ(ppm): 1.00-2.00 (m, 90H), 2.51 (t, 3H), 2.60 (br s, 3H), 3.00-3.12 (m, 6H), 3.12-3.35 (br s, 27H), 3.35-3.45 (m, 26H), 3.45-4.15 (m, 937H), 4.15-4.45 (m, 12H), 6.12 (s, 1H), 7.15-7.50 (m, 12H), 8.40-8.50 (m, 2H)。

[0496] 实施例19:

[0497] BHA-[Lys]₈[(α-MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄)₁(α-DFO)₂(Glu-VC-PAB-MMAE)₅(ε-NHPEG₁₁₀₀)₈], 化合物19

[0498] 在室温下制备p-SCN-去铁胺(2.0mg, 2.66μmol)于DMSO(100μL)中的搅拌溶液。向其中加入于DMF(200μL)中的BHA-[Lys]₈[(α-(MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄)₁(α-NH₂)₇(ε-NHPEG₁₁₀₀)₈](化合物18)(17.0mg, 1.27μmol)。将随后的反应混合物搅拌3min, 然后加入NMM(10μL, 91.0μmol/L)。将所得溶液避光并在室温下搅拌4h。加入PyBOP(7.0mg, 13.5μmol), 5分钟后将反应混合物加入到纯HO-Glu-VC-PAB-MMAE(9.17mg, 7.41μmol)中。将随后的反应混合物放置过夜。用PBS缓冲液稀释反应混合物(4.5mL), 并通过4Amicon超离心过滤器(10K MWCO)分离, 过滤器离心(14K rcf, 15min)。将保留物针对PBS(400μL, 14K rcf, 15min×10次)渗滤。合并保留物, 得到粉红色溶液, 大约浓度为16mg/2mL。HPLC(C8 XBridge, 3×100mm)梯度: 5%ACN/H₂O(0-1min), 5-80%ACN(1-7min), 80%ACN(7-12min), 80-5%ACN(12-13min), 5%ACN(13-15min), 214nm, 0.4mL/min, R_t(min) = 9.3-9.7min(宽峰)。

[0499] 实施例20:

[0500] MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄-CO[N(PN)₂][Lys]₈[(α-DFO)₂(α-Glu-VC-PAB-MMAE)₆(ε-NHPEG₁₁₀₀)₈], 化合物20

[0501] 在室温下制备p-SCN-去铁胺(2.1mg, 2.79μmol)于DMSO(100μL)中的搅拌溶液。向其中加入在DMF(200μL)中的MeTzPh-PEG₄-PEG₂₄-CO[N(PN)₂][Lys(α-NH₂·HCl)(ε-NHPEG₁₁₀₀)]₈(如WO 2008/017125所述)(17.0mg, 1.35μmol)。将随后的反应混合物搅拌3min, 然后加入NMM(10μL, 91.0μmol/L)。将所得溶液避光并在室温下搅拌4h。加入PyBOP(7.0mg, 13.5μmol), 5min后将反应混合物加入到纯HO-Glu-VC-PAB-MMAE(9.76mg, 7.89μmol)中。将

随后的反应混合物放置过夜。用PBS缓冲液稀释反应混合物(4.5mL),并通过4Amicon超离心过滤器(10KMWC0)分离,过滤器离心(14K rcf,15min)。将保留物针对PBS(400μL,14Krcf,15min×10次)渗滤。合并保留物,得到粉红色溶液,大约浓度为16mg/2mL。HPLC(C8 XBridge,3×100mm)梯度:5%ACN/H₂O(0-1min),5-80%ACN(1-7min),80%ACN(7-12min),80-5%ACN(12-13min),5%ACN(13-15min),214nm,0.4mL/min,Rt(min)=8.7-9.8min(宽峰)。

[0502] 在掺入放射性核素之前用于树状聚体的纯化技术

[0503] 尺寸排阻色谱(SEC)使用Sephadex LH-20(柱高度=370mm,直径=25mm),洗脱液=甲醇重力洗脱,滴速~每秒1滴,每级分400滴)进行。含有产物的级分用BaCl₂/I₂染剂染色阳性。

[0504] HPLC(亲水,甲酸铵)方法:XBridge C8(3.5μm,3×100mm)柱。以0.4mL/min的流速(缓冲液100mM甲酸铵)如下洗脱样品:5至80%ACN/水(1-7min);80%ACN/water(7-12min);80至5%ACN/水(12-13min);5%ACN/水(13-15min)。

[0505] LCMS(亲水性,TFA)方法:XBridge C18(3.5μm,3×100mm)柱。以0.4mL/min的流速(缓冲液0.1%TFA)如下洗脱样品:20至90%ACN/水(1-10min);90%ACN/water(10-11min);90至20%ACN/水(11-12min);20%ACN/水(12-15min)。

[0506] 用于络合Gd³⁺的一般程序

[0507] 向搅拌的树状聚体(30mg)于pH 5.5乙酸铵缓冲液(500μL)中的溶液中加入0.1M GdCl₃溶液(pH 7,50当量的Gd³⁺)。将反应混合物在室温下搅拌16h,并且然后通过使用Amicon超离心柱(MWC0=10kDa)在室温下离心(6.5min,14k rcf)浓缩至~100μL的体积。将浓缩物用水(400μL)稀释并且通过离心再次浓缩至100μL的体积。用水(×2),50mM DTPA(×2)和水(×3)重复该程序。然后将保留物转移到小瓶中并冻干以得到期望产物。

[0508] 合成的树状聚体缀合物的列表

[0509]

化合物#	MW (kDa)	络合基团	放射性金属	药物	化合物详情
1a	74.3	DFO		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -NH ₂) ₃₀ (α -DFO) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
1b	101.6	DFO	⁸⁹ Zr	DTX	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -TDA-DTX) ₃₀ (α -DFO) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
2	76.4	DFO		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -TDA) ₃₁ (α -DFO) ₁ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
3	102.2	DFO	⁸⁹ Zr	CTX	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -DGA-CTX) ₃₁ (α -DFO) ₁ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
4a	73.5	DOTA		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -NH ₂) ₃₀ (α -DOTA) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
4b	98.3	DOTA	¹⁷⁷ Lu, Gd ³⁺	CTX	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -DGA-CTX) ₂₇ (α -DOTA) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
5	74.7	DOTA	¹⁷⁷ Lu, Gd ³⁺	N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -NHAc) ₃₀ (α -DOTA) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
6	86.9	DFO		SN38	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -DGA-C20-SN38) ₂₈ (α -DFO) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
7a	73.8	DOTA		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -NH ₂) ₃₀ (α -DOTA) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
7b	91.1	DOTA	Gd ³⁺	SN38	BHALys[Lys] ₃₂ [(α -DGA-C20-SN38) ₃₀ (α -DOTA) ₂ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
8a	72.1	NOTA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α -NOTA) ₂ (α -NH ₂) ₃₀ (ϵ -PEG ₁₁₀₀) ₃₂]
8b	73.0	NOTA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α -NOTA) ₂ (α -NHAc) ₃₀ (ϵ -PEG ₁₁₀₀) ₃₂]
9	98.9	NOTA		CTX	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α -NOTA) ₃ (α -TDA-CTX) ₂₈ (ϵ -PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
10a	27.8	NOTA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α -NOTA) ₂ (α -NH ₂) ₃₀ (ϵ -PEG ₅₇₀) ₃₂]
10b	29.1	NOTA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α -NOTA) ₂ (α -

[0510]

					NHAc) ₃₀ (ε-PEG ₅₇₀) ₃₂]
11	77.6	CHX-A-DTPA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α-CHX-A-DTPA) ₁₀ (ε-PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
12	97.4	CHX-A-DTPA		DTX	BHALys[Lys] ₃₂ [(α-CHX-A-DTPA) ₃ (α-TDA-DTX) ₂₆ (ε-PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
13	92.0	CHX-A-DTPA		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α-CHX-A-DTPA) ₂ (α-NH ₂) ₃₀ (ε-PEG ₂₆₀₀) ₃₂]
14	110.9	CHX-A-DTPA		DTX	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α-(CHX-A-DTPA) ₂ (α-TDA-DTX) ₂₁ (ε-PEG ₂₆₀₀) ₃₂]
15	73.2	CHX-A-DTPA		N/A	BHALys[Lys] ₃₂ [(α-CHX-A-DTPA) ₂ (α-NH ₂) ₃₀ (ε-PEG ₂₀₀₀) ₃₂]
16	91.3	DTPA		N/A	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α-DTPA) ₂ (α-NH ₂) ₃₀ (ε-PEG ₂₆₀₀) ₃₂]
17	115.3	DTPA		DTX	[BHALys][Lys] ₃₂ [(α-DTPA) ₂ (α-TDA-DTX) ₂₆ (ε-PEG ₂₆₀₀) ₃₂]
18				N/a	BHA-[Lys] ₈ [(α-(MeTzPh-PEG ₄ -PEG ₂₄) ₁ (α-NH ₂) ₇ (ε-NHPEG ₁₁₀₀) ₈]
19		DFO		MMAE	BHA-[Lys] ₈ [(α-MeTzPh-PEG ₄ PEG ₂₄) ₁ (α-DFO) ₂ (α-Glu-VC-PAB-MMAE) ₅ (ε-NHPEG ₁₁₀₀) ₈]
20		DFO		MMAE	MeTzPh-PEG ₄ PEG ₂₄ -CO[N(PN) ₂][Lys] ₈ [(α-DFO) ₂ (α-Glu-VC-PAB-MMAE) ₆ (ε-NHPEG ₁₁₀₀) ₈]

[0511] Cu-64放射性标记和树状聚体的放射TLC分析的一般程序

[0512] 向含NOTA的树状聚体样品于0.1M乙酸铵缓冲液 (pH5.5) 中的溶液中加入⁶⁴Cu (OAc)₂溶液 (50μL, 70Mbq) 并将样品在室温下搅拌1h。然后使用Zeba旋转脱盐柱 (7kDa MWC0, 赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)) 将样品缓冲液交换成磷酸盐缓冲盐水。取出反应混合物的等分试样, 加入到大量过量的EDTA (1000:1摩尔过量) 中并孵育15min。取各溶液的1μL样品并点样于薄层层析纸 (用硅胶浸渍的Agilent iTLC-SG玻璃微纤维层析纸) 上, 并用50mM二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 作为洗脱剂进行跑样。进行对照实验以监测用于质量控制的未结合的⁶⁴Cu的洗脱行为。然后在Bruker体内MS FX Pro成像系统上使用放射性同位素荧光屏对板成像。放射化学纯度 (RCP) 大于95%的样品用于成像实验。

[0513] 实施例19:

[0514] 含放射性核素树状聚体的肿瘤成像研究-前列腺癌

[0515] 研究了两种不同的树状聚体构建体在两种不同的前列腺癌 (DU145和PC3细胞系) 的鼠异种移植模型中的累积。两种不同的构建体为化合物1b和3, 其与DF0预缀合, 用⁸⁹Zr标记, 用于随后的成像研究。在两种不同的肿瘤异种移植模型中通过PET-CT测量生物分布直至9天, 然后在第9天通过离体器官的离体 γ 闪烁验证生物分布。

[0516] 将树状聚体标记并纯化, 在注射到动物中之前通过放射性TLC验证。对于每种细胞系和每种树状聚体, 在n=4只小鼠的群中进行成像。在研究的整个时间范围内, 通过分数表和小鼠重量监测小鼠的标准健康。

[0517] Zr-89的放射性标记及树状聚体的放射TLC分析将1M草酸 (Perkin Elmer) 中的91 μ L的Zr-89草酸盐用78 μ L的1M Na₂CO₃稀释以中和pH。在0.5M HEPES (pH 7.5) 中制备树状聚体1b和3。将33 μ L中和的⁸⁹Zr储备液 (约15Mbq) 加入到每个树状聚体 (146 μ g) 的等分试样中以使树状聚体对Zr-89过量100倍, 并且使标记在环境温度下进行1h。然后使用Zeba旋转脱盐柱 (7kDa MWC0, 赛默飞世尔科技) 将样品缓冲液交换成磷酸盐缓冲盐水。取各溶液的1 μ L样品并点样于薄层层析纸 (用硅胶浸渍的Agilent iTLC-SG玻璃微纤维层析纸) 上, 并用50mM二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 作为洗脱剂进行跑样。进行对照实验以监测用于质量控制的未结合的Zr-89的洗脱行为。然后在Bruker体内MA FX Pro成像系统上使用放射性同位素荧光屏对板成像。

[0518] 在超过树状聚体500倍孵育后, 使树状聚体1b标记1h, 然后用超过1000倍的DTPA洗涤。旋转纯化后, 获得约90%的最大纯度 (TLC显示在图1中)。

[0519] 动物:

[0520] 从ARC获得8周龄的健康雄性Balb/C裸鼠 (~20g) 并用于本研究。将小鼠导入动物饲养设备中并在研究前监测1周, 以便在注射细胞前适应环境。在由动物伦理委员会批准的成像实验之前和期间, 向所有动物提供自由获取食物和水。

[0521] 肿瘤起始和生长

[0522] 所有小鼠在8周龄时获得, 但在略微不同的时间注射以在成像时产生相当的肿瘤。这基于以前对这些模型和增长率的经验。

[0523] 将 5×10^6 Du-145细胞 (于50 μ L盐水中) 注射 (27G针) 到9周龄雄性balb/c裸鼠的左肋腹中。在注射成像化合物之前使肿瘤生长4周。

[0524] 将 1×10^6 PC3细胞 (于50 μ L盐水中) 注射 (27G针) 到11周龄雄性balb/c裸鼠的左肋腹中。在注射成像化合物之前使肿瘤生长2周。所有肿瘤在成像时可触知, 在成像实验时大小为~3-5mm。

[0525] 研究详情

[0526] 下表描述了研究中使用的所有小鼠的注射详情。

[0527]

鼠ID	化合物	注射体积 (μ L)	注射剂量 (MBq)
M566	DU145-化合物1b	100	2.35
M567	DU145-化合物1b	100	2.54
M568	DU145-化合物1b	100	2.28
M569	DU145-化合物1b	100	1.51
M570	PC3-化合物1b	100	2.52

M571	PC3-化合物1b	100	2.56
M572	PC3-化合物1b	100	2.58
M573	PC3-化合物1b	100	2.58
M574	DU145-化合物3	100	2.81
M575	DU145-化合物3	100	2.96
M576	DU145-化合物3	100	2.95
M577	DU145-化合物3	100	2.94
M578	PC3-化合物3	100	3.33
M579	PC3-化合物3	100	3.09
M580	PC3-化合物3	100	2.97
M581	PC3-化合物3	100	2.88

[0528] 结果:

[0529] 在优化条件下,用Zr-89标记两种树状聚体(化合物1b和3)并用于生物分布分析。除了肿瘤损伤的明显生长之外,在该研究期间任何动物都没有记录到不利的健康影响。

[0530] PET-CT成像

[0531] 通过尾静脉注射Zr-89标记的树状聚体(化合物1b和3)给携带DU-145或PC3异种移植物的老鼠(n=4/组)。在注射后8h、24h、48h、72h、144h和216h成像。在注射后216h,取出器官并通过离体 γ 分析定量信号强度。在该时间点还测量排泄物颗粒的活性。图2和3分别显示了在注射树状聚体6天后DU-145和PC3异种移植物的化合物1b的代表性图像。图4和5分别显示了在注射树状聚体6天后DU-145和PC3异种移植物的化合物3的代表性图像。

[0532] 为了更好地理解不同群的生物分布曲线,提供了在体内和体外测定的器官的累积图(参见图6-7和19)。为了进一步评估数据的趋势,绘制了在不同时间点的肿瘤摄取之间的比较以显示累积的时间效应作为肿瘤类型的函数。通过在不同时间点在肿瘤块周围绘制感兴趣区域,从体内图像中提取数据(图8)。

[0533] 结论:

[0534] 所有小鼠均显示良好的肿瘤生长,并且显示DU-145肿瘤的肿瘤累积达到约4% ID/g并且PC3肿瘤达到2% ID/g。两种不同的树状聚体之间没有可观察到的差异。差异累积可能是由于脉管系统水平和肿瘤类型之间的异质性,然而这将需要进一步研究,包括组织分析。

[0535] 就累积速率而言,图8显示所有树状聚体显示缓慢累积直至6天,此时观察到最大吸收。这表明EPR机制由于树状聚体的长循环而有助于累积。

[0536] 在清除器官中没有观察到异常累积,其中肝和脾信号显示如对于类似系统通常观察到的预期浓度范围。在9天时在所有动物组的粪便中存在显著信号表明树状聚体仍然通过该途径被清除。同样,体内图像显示所有动物在9天时膀胱中存在统计学显著的信号强度,表明代谢产物可能通过肾脏机制清除。在注射后9天,在骨样品中测量的信号强度大约或略高于背景,表明在该组织中存在最小的累积。

[0537] 实施例20:

[0538] 含放射性核素的树状聚体的肿瘤成像研究-胰腺癌和乳腺癌

[0539] 研究了两种不同的树状聚体构建体在两种不同的胰腺癌和乳腺癌(分别为PANC-1和MDA-MB-468细胞系)的老鼠异种移植模型中的累积。两种不同的构建体为化合物1b和3,

其已经与DF0预缀合,并且准备用于用 ^{89}Zr 标记以用于后续成像研究。在两种不同的肿瘤异种移植物中通过PET-CT测量生物分布直至9天,然后在第9天通过离体器官的离体 γ 闪烁验证生物分布。

[0540] 将树状聚体标记并纯化,在注射到动物中之前通过放射性TLC验证。将两种树状聚体良好地标记并纯化至适于用单一纯化步骤成像的高纯度。在研究的整个时间范围内,通过分数表和小鼠重量监测小鼠的标准健康。

[0541] Zr-^{89} 的放射性标记及树状聚体的放射TLC分析

[0542] 将在1M草酸(Perkin Elmer)中的91 μL ^{89}Zr 草酸盐用78 μL 1M Na_2CO_3 稀释以中和pH。在0.5M HEPES (pH 7.5)中制备树状聚体1b和3。将33 μL 中和的 ^{89}Zr 原料液(约15Mbq)加入到每份树状聚体(146 μg)的等分试样中,得到相对于 ^{89}Zr 100倍过量的树状聚体,并使标记在室温下进行1小时。然后使用Zeba旋转脱盐柱(7kDa MWC0,赛默飞世尔科技)将样品缓冲液交换成磷酸盐缓冲盐水。取各溶液的1 μL 样品并点样于薄层层析纸(用硅胶浸渍的Agilent iTLC-SG玻璃微纤维层析纸)上,并用50mM二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)作为洗脱剂进行跑样。进行对照实验以监测用于质量控制的未结合的 ^{89}Zr 的洗脱行为。然后在Bruker体内MS FX Pro成像系统上使用放射性同位素荧光屏对板成像(TLC显示在图9中)。

[0543] 动物:

[0544] 从ARC获得8周龄的健康雌性Balb/C裸鼠($\sim 20\text{g}$)并用于本研究。将小鼠导入动物饲养设备中并在研究前监测1周,以便在注射细胞前适应环境。在由动物伦理委员会批准的成像实验之前和期间,向所有动物提供自由获取食物和水。

[0545] 肿瘤起始和生长

[0546] 所有小鼠在8周龄时获得,但在略微不同的时间注射以在成像时产生相当的肿瘤。这基于以前对这些模型和增长率的经验。

[0547] 将 5×10^6 PANC-1细胞(于50 μL 盐水中)注射(27G针)到9周龄雄性balb/c裸鼠的左肋腹中。在注射成像化合物之前使肿瘤生长4周。

[0548] 将 5×10^6 MDA-MB-468细胞(于50 μL 盐水中)注射(27G针)到11周龄雄性balb/c裸鼠的左肋腹中。在注射成像化合物之前使肿瘤生长2周。

[0549] 所有肿瘤在成像时可触知,在成像实验时大小为 $\sim 3\text{-}5\text{mm}$ 。应当注意的是,这些肿瘤具有巨大差异的生长速率(MDA-MB-468在生长上比PANC-1更具攻击性),并且这可以导致在更长的时间点的图像中的可观察到的差异(c.f. % ID/g)。PANC-1肿瘤生长非常缓慢,并且具有比MDA-MB-468低得多的摄取率。

[0550] 研究详情

[0551] 下表描述了研究中使用的所有小鼠的注射详情。

鼠 ID	化合物	注射体积 (μL)	注射剂量 (MBq)
F656	MDA-MB-468- 化合物 1b	100	2.87
F657	MDA-MB-468- 化合物 1b	100	2.84
F658	MDA-MB-468- 化合物 1b	100	2.75
F659	MDA-MB-468- 化合物 1b	100	2.89
F660	MDA-MB-468- 化合物 3	100	3.05
F661	MDA-MB-468- 化合物 3	100	3.01
F662	MDA-MB-468- 化合物 3	100	3.02
F663	MDA-MB-468- 化合物 3	100	3.21
F664	PANC-1-化合物 1b	100	2.77
F665	PANC-1-化合物 1b	100	2.68
F666	PANC-1-化合物 1b	100	2.78
F667	PANC-1- 化合物 1b	100	无肿瘤
F668	PANC-1-化合物 3	100	2.84
F669	PANC-1-化合物 3	100	3.03
F670	PANC-1-化合物 3	100	无肿瘤
F671	PANC-1-化合物 3	100	无肿瘤

[0554] 结果:

[0555] 在优化条件下,两种树状聚体用⁸⁹Zr标记并用于生物分布分析。除了肿瘤损伤的明显生长之外,在该研究期间任何动物都没有记录到不利的健康影响。

[0556] PET-CT成像

[0557] 将带有乳腺或胰腺异种移植物的老鼠(对于MDA-MB-468,n=4/组,对于PANC-1,n=3或2)经由尾静脉注射⁸⁹Zr标记的树状聚体。在注射后8h、24h、48h、72h、144h和216h成像。在注射后216h,取出器官并通过离体γ分析定量信号强度。在该时间点还测量排泄物颗粒的活性。图10至13显示了注射树状聚体后9天每种树状聚体和异种移植物的代表性图像。

[0558] 在图14、15和19中提供了体内和体外测定的器官的累积图,以突出生物分布和清除的趋势。

[0559] 为了进一步评估数据的趋势,绘制了在不同时间点的肿瘤摄取之间的比较以显示累积的时间效应作为肿瘤类型的函数。通过在不同时间点在肿瘤块周围绘制感兴趣区域从体内图像提取该数据,以及从用于比较的离体分析提取该数据。结果如16所示。

[0560] 结论:

[0561] 放射性TLC显示化合物1b和3均使用标准方案高效标记,并且需要单个纯化步骤以实现>99%的纯度。

[0562] 使用体内成像数据,所有小鼠显示良好的肿瘤生长,并且显示MDA-MB-468和PANC-

1肿瘤的肿瘤累积达到约4% ID/g。两种不同的树状聚体的肿瘤累积没有显著差异。肿瘤类型之间确实存在可变性(在所有四种肿瘤模型中),这可能是由于脉管系统水平和肿瘤类型之间的异质性,然而这将需要进一步研究,包括组织分析。

[0563] 就累积速率而言,所有树状聚体显示缓慢累积直至3-6天,此时观察到最大吸收。这表明EPR机制由于树状聚体的长循环而有助于累积。在较长的时间,信号开始降低,这可以指示肿瘤组织中的细胞(肿瘤细胞或免疫细胞)对树状聚体的加工和/或成像探针的缓慢损失(通过解络合或降解)。

[0564] 在清除器官中没有观察到异常累积,其中肝和脾信号显示如对于类似系统通常观察到的预期浓度范围。在6天时在所有动物组的粪便中存在显著信号表明两种树状聚体仍然通过该途径被清除。同样地,体内图像显示所有动物在9天时血液中存在统计学显著的信号强度,表明树状聚体也具有在此点仍循环的比例。在所有肿瘤模型注射后9天,在骨样品中测量的信号强度显示出在背景附近或仅略高于背景的信号,表明在该组织中存在最小的累积。

[0565] 实施例21:

[0566] 含放射性核素的树状聚体的肿瘤成像研究-胶质母细胞瘤

[0567] 本研究的目的是评估实施例的含放射性核素的树状聚体在患有自发性神经胶质瘤的小鼠中的累积水平。该模型提供了有效评估穿过血脑屏障(BBB)以及在肿瘤组织中累积的能力的途径。

[0568] 小鼠模型

[0569] 根据用于科学目的的动物护理和使用的澳大利亚实践法典并经动物伦理委员会批准进行所有饲养和实验。

[0570] Gt (ROSA) 26Sor^{rtm14 (CAG-tdTomato) Hze} 20023653与以下杂交:Pten^{tm2MAK};Rb1^{tm2Brn};Trp53^{tm1Brn};Tg (GFAP-cre/Esr1*, -lacZ) BSbk^{31,44-47} (等位基因),回交六代以使后者小鼠产生Gt (ROSA) 26Sor^{rtm14 (CAG-tdTomato) Hze};Pten^{tm2MAK};Rb1^{tm2Brn};Trp53^{tm1Brn};Tg (GFAP-cre/Esr1*, -lacZ) BSbk (高级胶质瘤小鼠模型;HGG)。将小鼠维持在主要为FVB/NJ的背景上,贡献来自129/SV和C57Bl6。为诱导Cre重组酶并由此诱导肿瘤形成,腹膜内注射溶于玉米油(西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich))的20mg/ml他莫昔芬(Tamoxifen) (西格玛奥德里奇)。在出生后第30天(P)后连续3周(范围P30-44),每周施用多达200mg/kg体重。每天监测动物的健康和福利至多两次,根据发病率要求对动物实施安乐死。

[0571] 树状聚体的放射性标记和TLC分析。

[0572] 将1M草酸(Perkin Elmer)中的91μL的Zr-89草酸盐用78μL的1M Na₂CO₃稀释以中和pH。将树状聚体1b溶解在0.5M HEPES (pH 7.5)中。将33μL中和的Zr-89原料液(约15Mbpq)加入到树状聚体(146μg)中,得到相对于Zr-89 100倍过量的树状聚体,并使标记在室温下进行1小时。然后使用Zeba旋转脱盐柱(7kDa MWC0,赛默飞世尔科技)将样品缓冲液交换成磷酸盐缓冲盐水。取溶液的1μL样品并点样于薄层层析纸(用硅胶浸渍的Agilent iTLC-SG玻璃微纤维层析纸)上,并用50mM二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)作为洗脱剂进行跑样。进行对照实验以监测用于质量控制的未结合的Zr-89的洗脱行为。然后在Bruker体内MS FX Pro成像系统上使用放射性同位素荧光屏对板成像。观察到Zr-89的~100%螯合,因此将树状聚体直接用于成像实验。

[0573] PET-MRI成像

[0574] 将具有插管的尾静脉的麻醉小鼠放置在组合的MRI/PET系统中,在西门子倒置采集装置 (IAW) 下操作的磁体口径中心 (Bruker, 德国) 处,该系统包括运行西门子 (Siemens) VB17的300mm口径7T倾斜扫描,和可移除的PET插入物,该可移除的PET插入物含有3环16个检测器块,每个块具有 15×15 LSO晶体 ($1.6 \times 1.6 \times 10$ mm)。PET环内的23mm ID小鼠头部MRI RF线圈用于在PET采集的同时采集小鼠头部图像。

[0575] 给小鼠注射约5MBq的Zr-89标记的树状聚体1b,并在注射后40小时和5天成像。在每个成像点注射一定剂量的Gadovist®造影剂以获得对比前和对比后的T1、T2和动态图像数据。在每个时间点的注射剂量由用PBS (1×) 稀释的50μl Gadovist®组成以得到200μl的总体积。通过插入尾静脉的导管以缓慢推注注射该体积。收集时,动态PET数据采集进行60min。在注射前,获得快速定位器图像和3D T1加权体积内插的屏气检查VIBE序列。使用梯度回波FLASH序列获得动态MRI图像,每2秒间隔获得3个切片。同时开始PET采集和动态MRI成像,采集2-3min的基线期,然后注射该溶液。在动态MRI扫描15min后,重复T1加权的VIBE,获得结构T2加权的自旋回波图像,并获得3T T1加权的VIBE_DIXON序列,以生成3D T1图。

[0576] 使用Tubingen大学为PET插入物开发的专用PET重建软件对PET数据进行重建。使用有序子集期望最大化 (OSEM2D) 算法重建具有 $128 \times 128 \times 89$ 矩阵的PET图像。使用IRW软件 (西门子) 使用利用具有已知特征的体模生成的变换矩阵来对齐MRI和PET数据集。

[0577] 图像处理

[0578] 所有MRI图像均使用上述ClinScan软件获取,减影图像使用内置函数计算。所有图像均作为DICOMS从ClinScan软件输出,并用Osirix MD进一步处理和分析动态摄取、T1-和T2-加权图像,作为单独MRI (v 9.0.1)。使用西门子倒置研究工作场所 (Inveon Research Workplace) 软件制备PET数据和所产生的PET-MRI融合最大强度投影图像。

[0579] 数据分析

[0580] 在微软Excel (Mac 2016, v 16, 9) 中汇总数据,并在工作表中进行基本数学计算。使用GraphPad Prism 7进行所有绘图,并且使用内置函数进行所有统计分析和曲线下面积测量。放射性示踪剂摄取的计算以每克注射剂量的百分比 (%ID/g) 表示,并使用西门子倒置研究工作场所软件从体内图像计算。

[0581] 在注射SPL9149后40小时和5天时获得PET-MR图像,并示于图17和18中。肿瘤区域用白色箭头表示。其它信号强度来自高度血管化区域中小鼠头骨周围的血流。

[0582] 在不同时间点与脑和脉管系统 (脑累积通过测量远离肿瘤的脑区域中的信号强度来确定) 相比,用Zr-89放射性标记的化合物1b的相对摄取和累积示于下表中:

[0583]	器官	40 小时 时的 %ID/g	5 天时%ID/g
[0584]	脑 (去肿瘤)	2.0	1.5
	脉管系统	2.3	2.0
	肿瘤	4.3	4.0

[0585] 结论:

[0586] 发现树状聚体在脑肿瘤中的累积较高。图像表明树状聚体穿过BBB并在肿瘤组织

中累积至比其它区域高得多的程度,表明对脑肿瘤的治疗潜力。

[0587] 实施例22:

[0588] 含放射性核素的树状聚体的治疗研究

[0589] 动物模型

[0590] 从ARC获得8周龄的健康雄性Balb/C裸鼠 (~20g) 并用于本研究。将小鼠导入动物饲养设备中并在研究前监测1周,以便在注射细胞前适应环境。在由动物伦理委员会批准的成像实验之前和期间,向所有动物提供自由获取食物和水。

[0591] 树状聚体

[0592] 在该研究中使用以下化合物:

[0593] -实施例4b:

[0594] -实施例5:

[0595] -Jevtana® (卡巴他赛)

[0596] -对比例A:不含放射性核素的树状聚体,其为BHALys[Lys]₃₂[α-DGA-Cabazitaxel]_{32†}[ε-PEG_{~2100}]_{32†}。

[0597] 注意: 32†涉及可用PEG_{~2100}取代的树状聚体上的ε表面氨基的理论数。通过¹H NMR实验测定与BHALys[Lys]₃₂连接的PEG_{~2100}基团的实际平均数。

[0598] 树状聚体的放射性标记和TLC分析。

[0599] 所有树状聚体与100倍过量的聚合物的Lu-177于0.1M pH 5.5乙酸铵缓冲液中于37°C孵育60分钟。取各溶液的样品并与50mM DTPA以2:1混合。取各溶液的5uL点样于TLC纸(用硅胶浸渍的Agilen tiTLC-SG玻璃微纤维色谱纸)上并用50:50水:乙醇(v/v)进行跑样。然后在Carestream MSFX成像系统上使用放射性同位素荧光屏对板成像。必要时,通过使用7K MWC0 Zeba旋转柱(赛默科技)按照制造商的方案进行纯化来除去未结合的铜。树状聚体显示>95%标记,并用于随后的回归研究。对于所讨论的每个分析,通过将样品与过量的DTPA(50mM)混合以清除任何未结合的Lu-177来获得放射性同位素TLC。在该TLC系统中,树状聚体将保持在基线($R_f=0$),而与DTPA络合的Lu-177将与溶剂前沿一起移动到纸的顶部($R_f=1$)。

[0600] 肿瘤起始和生长

[0601] 对78只小鼠右肋腹内注射于Matrigel中的 4×10^6 DU-145细胞以诱导皮下肿瘤。每周监测肿瘤体积和体重两次,然后将具有明显肿瘤生长(约100mm²体积,肿瘤体积=1/2(长×宽²))的小鼠随机分组,并在第0、7和14天根据下表中列出的时间表注射化合物。注射后,每周三次监测小鼠的肿瘤体积和体重。如果肿瘤达到显著尺寸(>1cm³)或符合伦理要求,则对小鼠进行剔除。没有小鼠由于治疗方案被剔除。

[0602]

组别	化合物	第 0 天 药物等效剂量 (LU-177 剂量)	第 7 天 药物等效剂 量	第 14 天 药物等效剂 量
1	对照 (盐水)	0	0	0
2	Jevtana®	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
3	比较例 A	8 mg/kg	8 mg/kg	8 mg/kg
4	4b (CTX/DOTA)	8 mg/kg (6 MBq)	0	0
	比较例 A	0	8 mg/kg	8 mg/kg
5	Jevtana®	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
6	比较例 A	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
7	4b (CTX/DOTA)	5 mg/kg (6 MBq)	0	0
	比较例 A	0	5 mg/kg	5 mg/kg
8	5 (DOTA)	(6 MBq)	0	0

[0603] 如图20所示,放射性核素树状聚体(第8组)和同时含有卡巴他赛和放射性核素的树状聚体(第4组和第7组)在抑制肿瘤生长方面都是有效的,更高剂量的化合物4b(第4组)是最有效的。

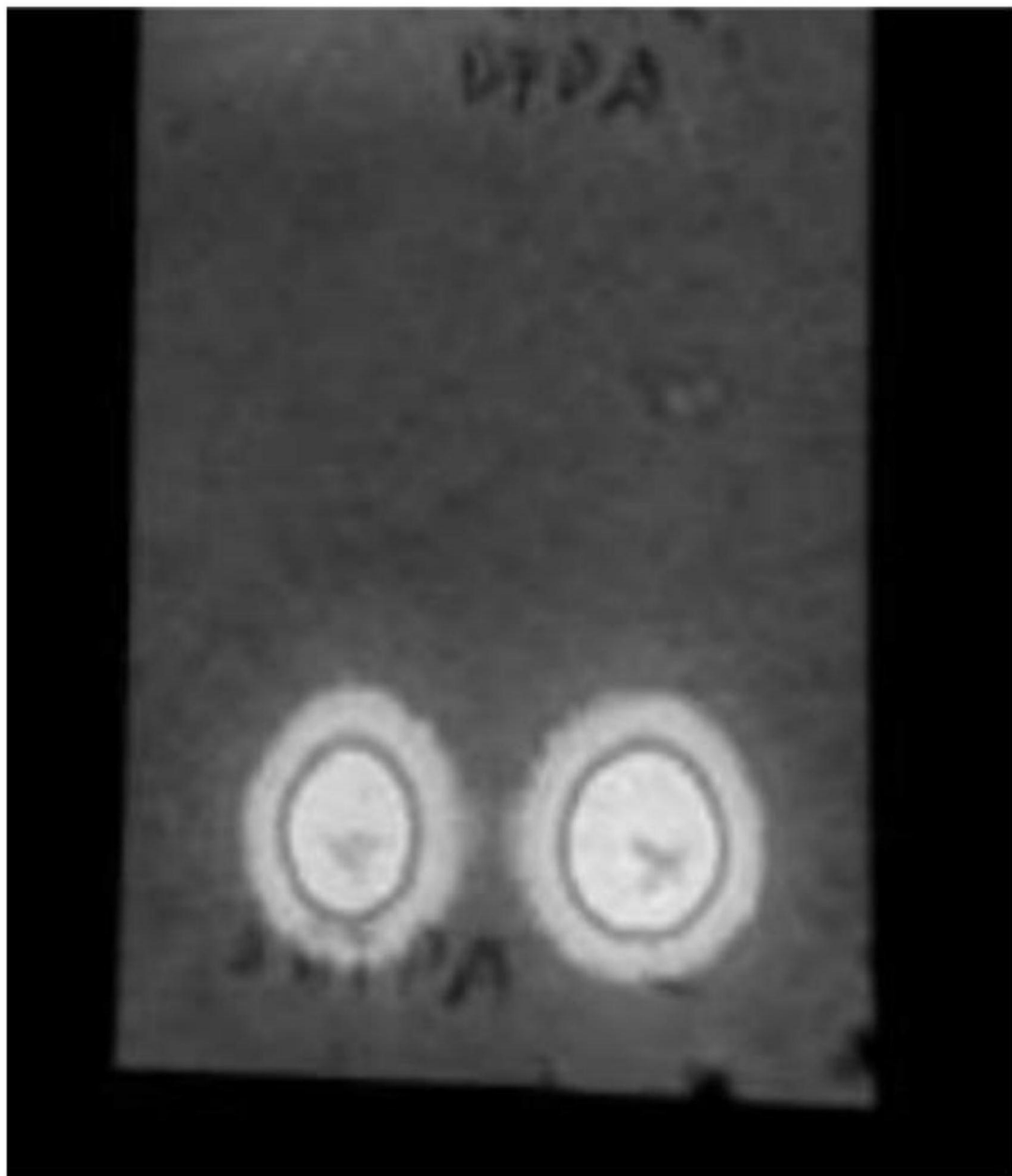


图1



图2

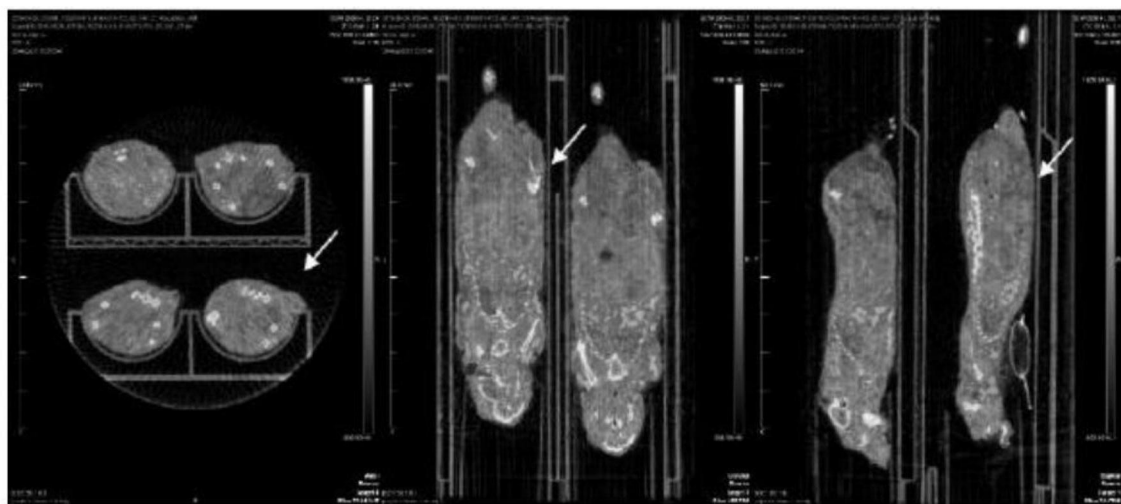


图3

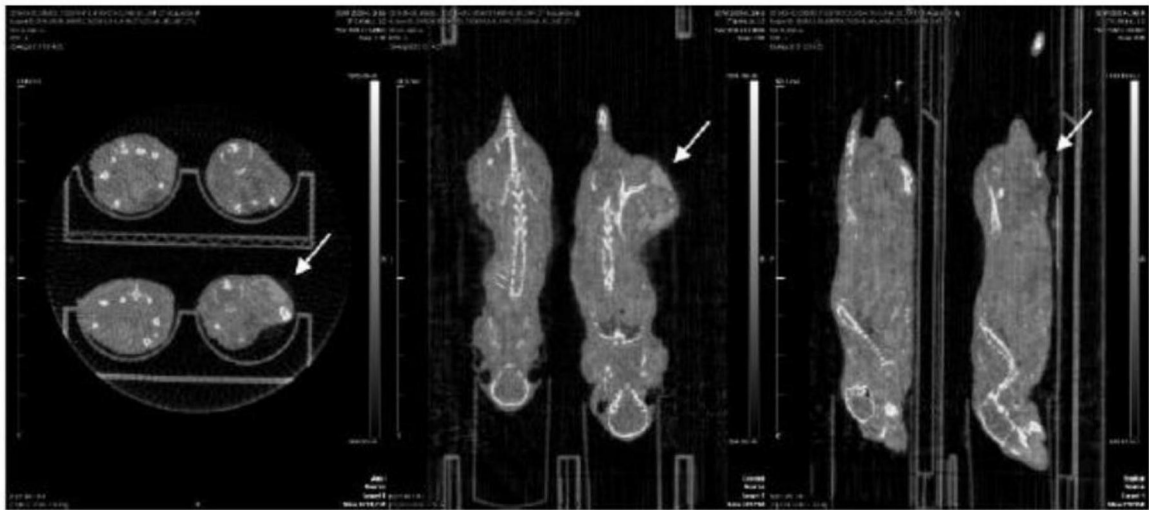


图4

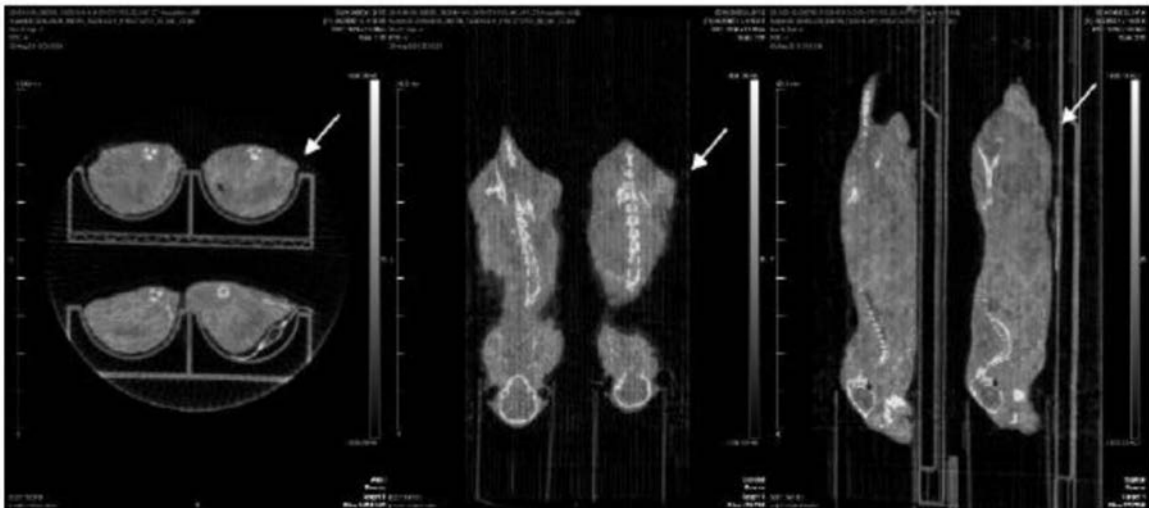


图5

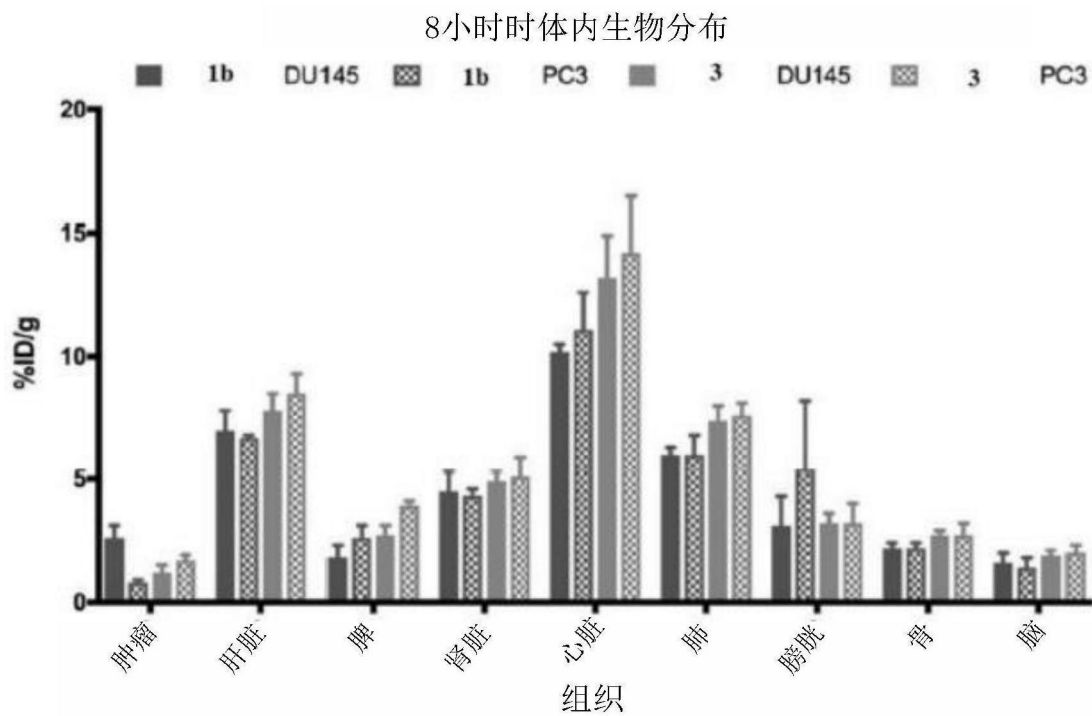


图6

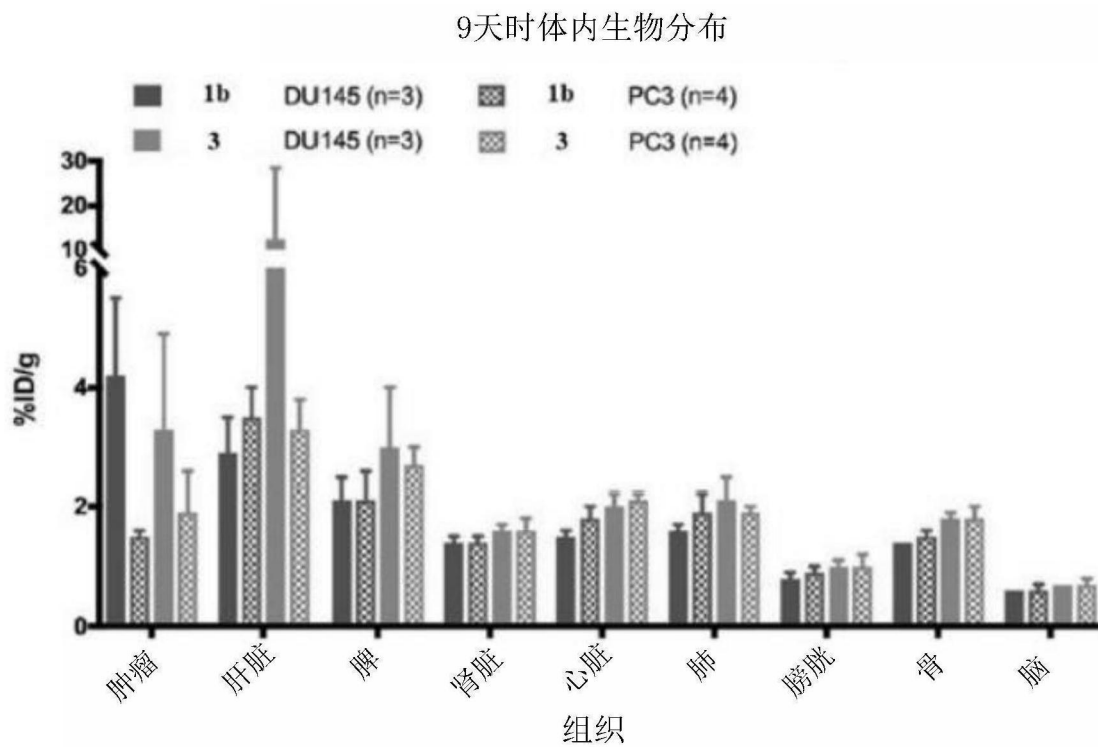


图7

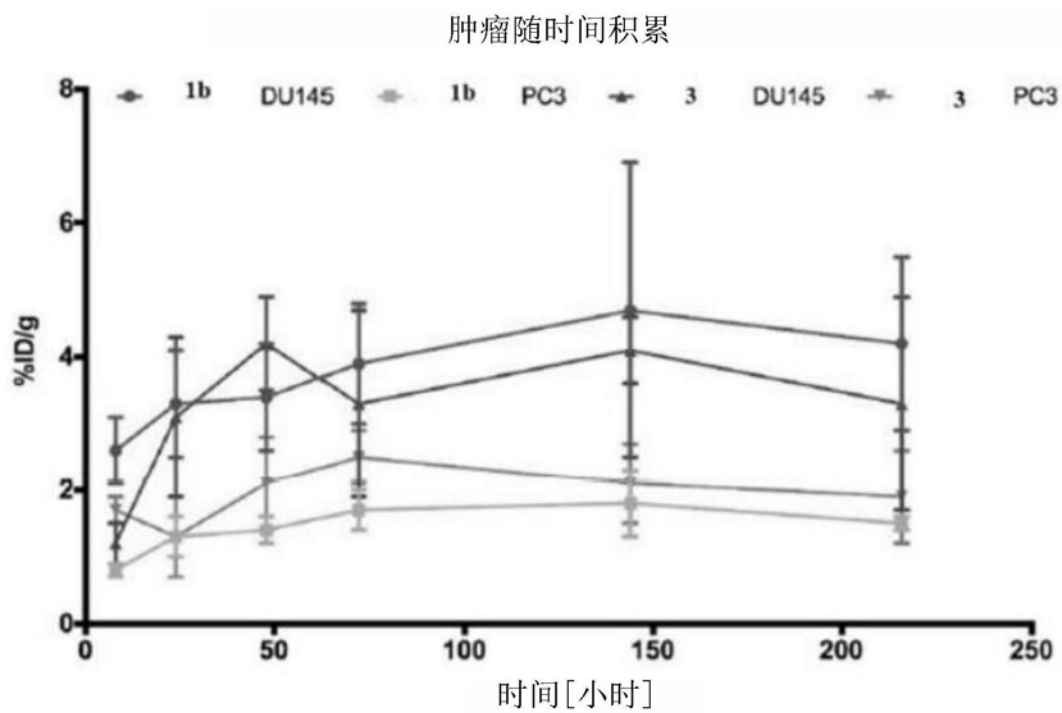


图8

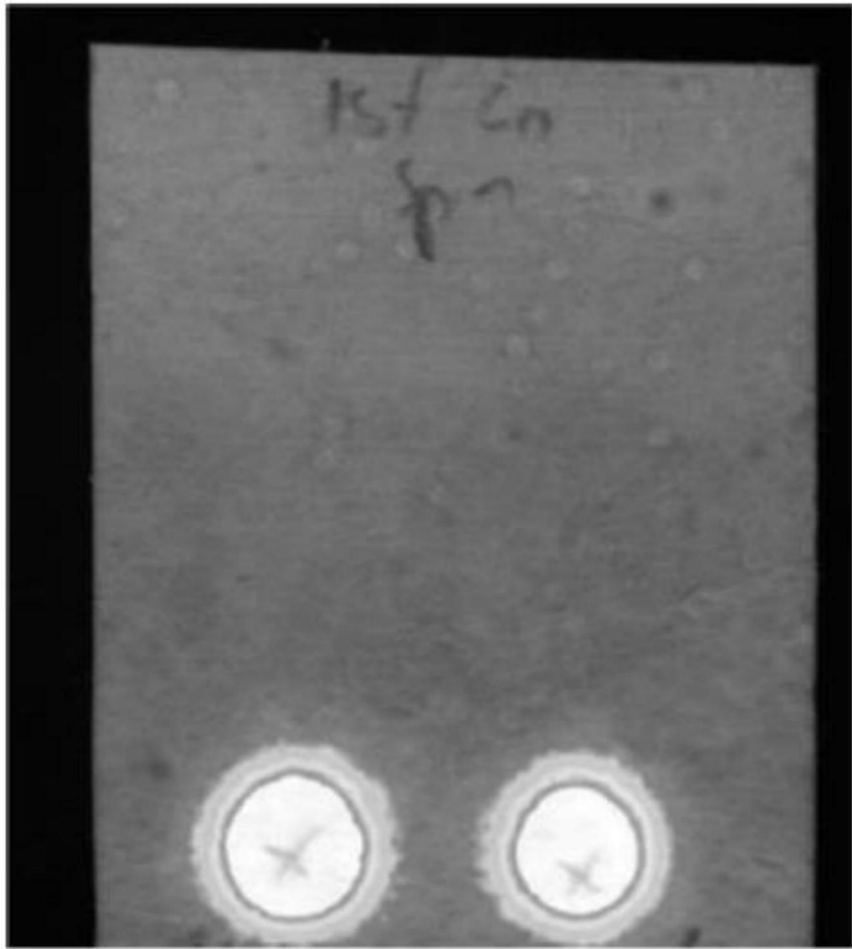


图9

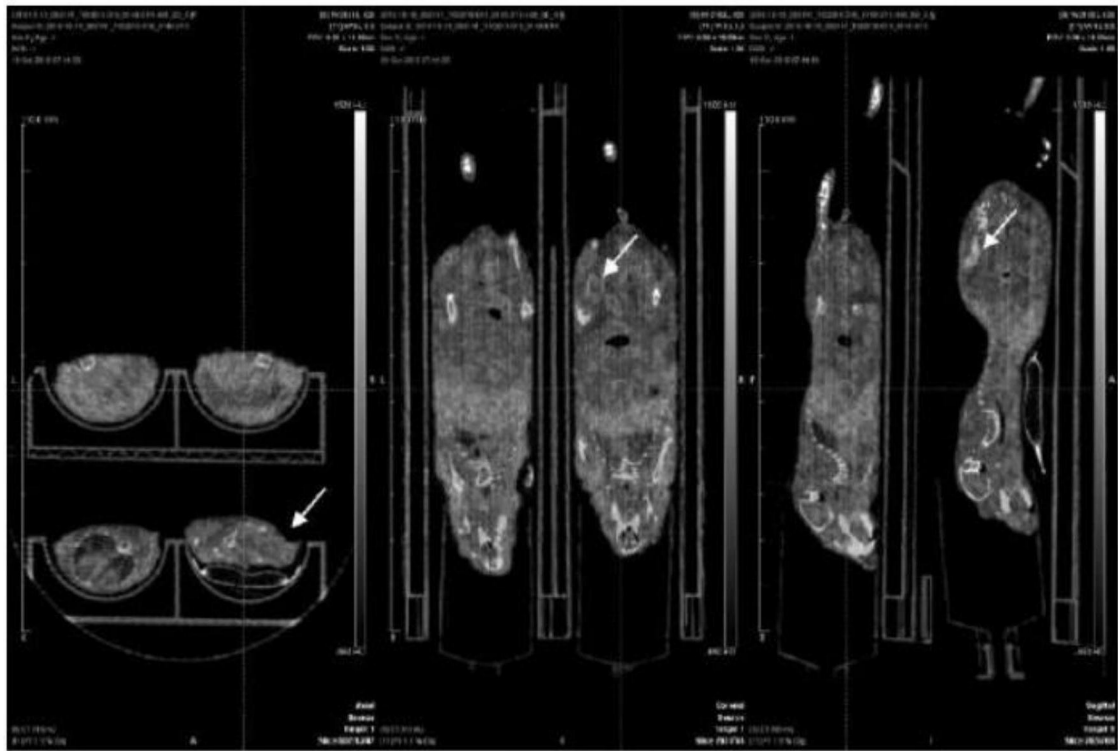


图10

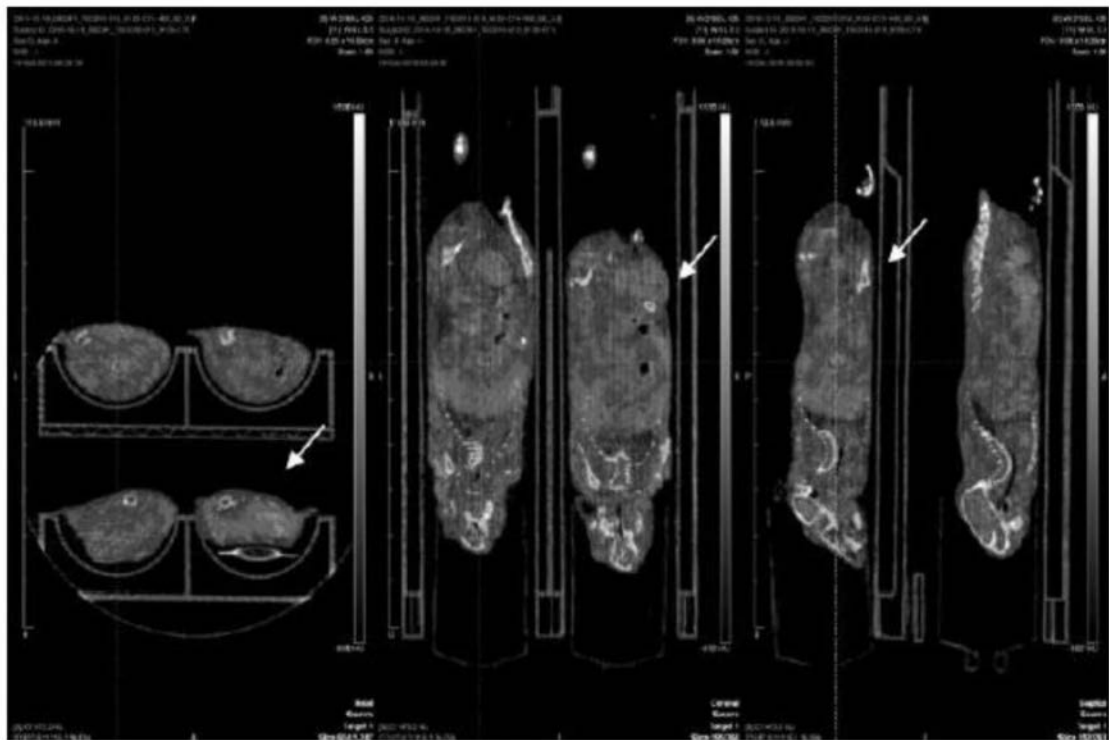


图11

8小时时体内生物分布

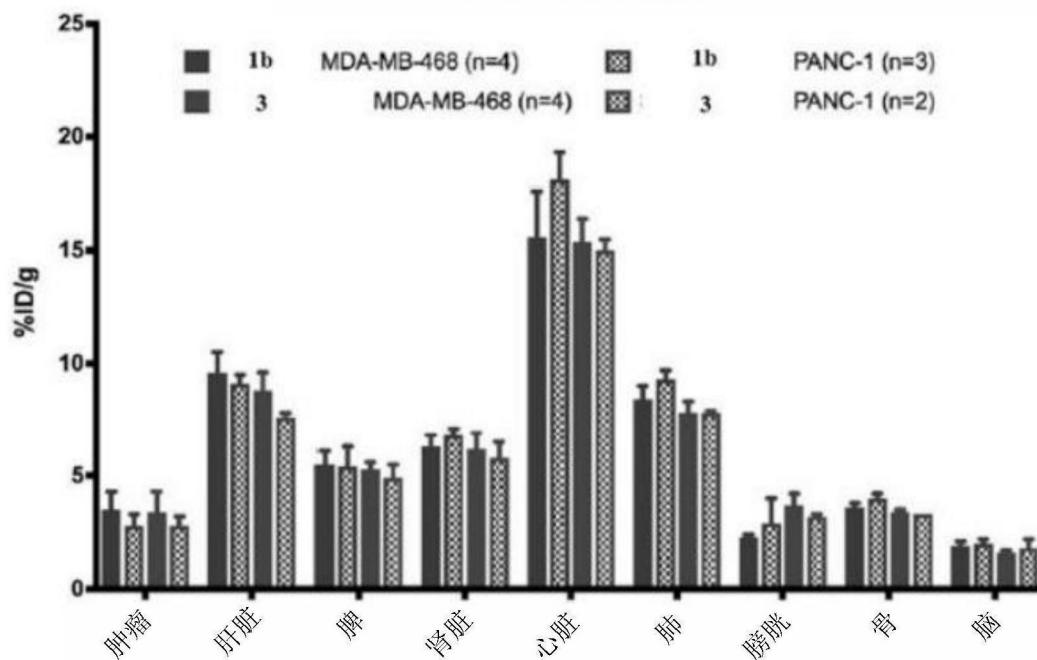


图14

9天时体内生物分布

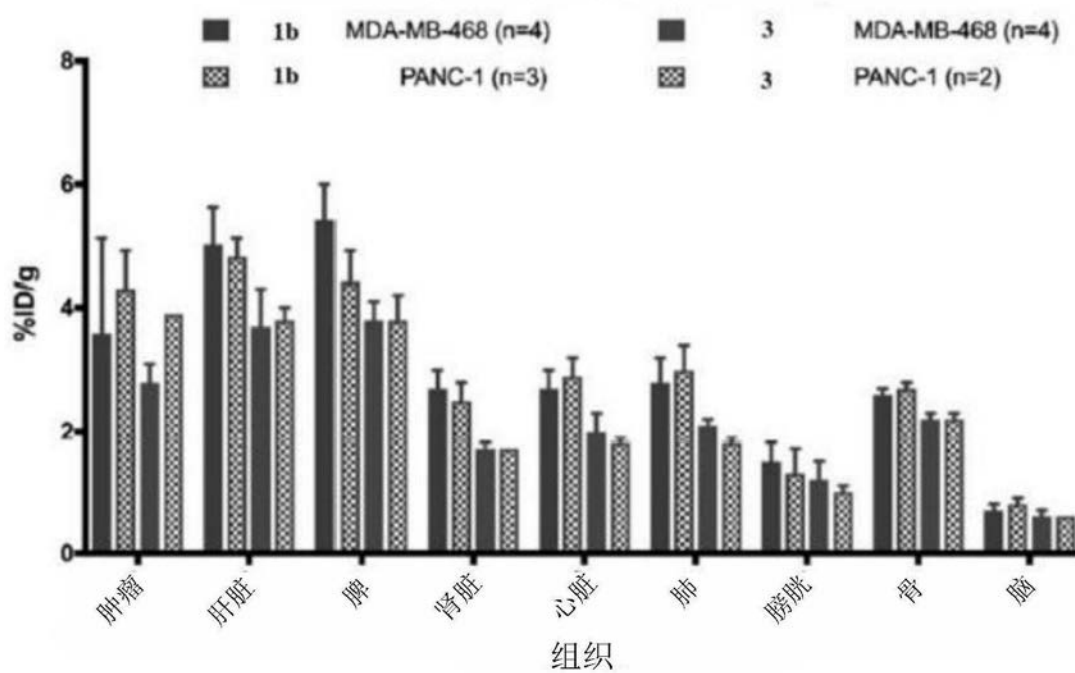


图15

肿瘤随时间积累

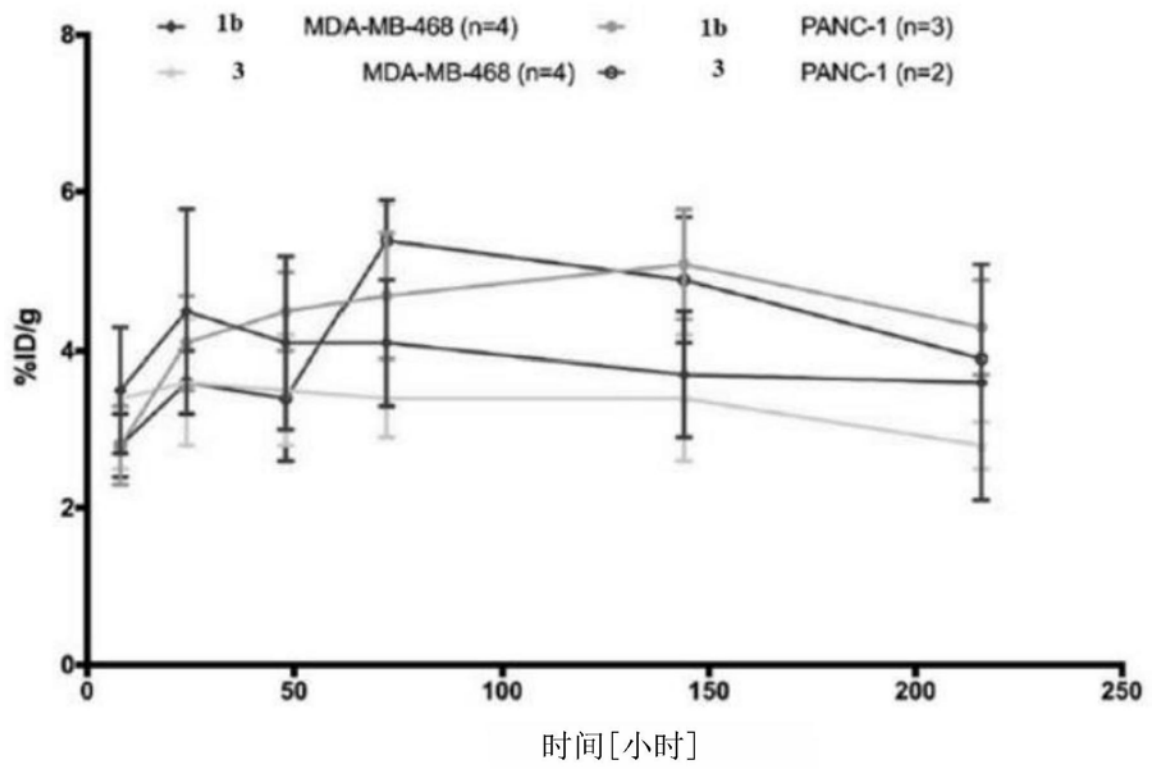


图16

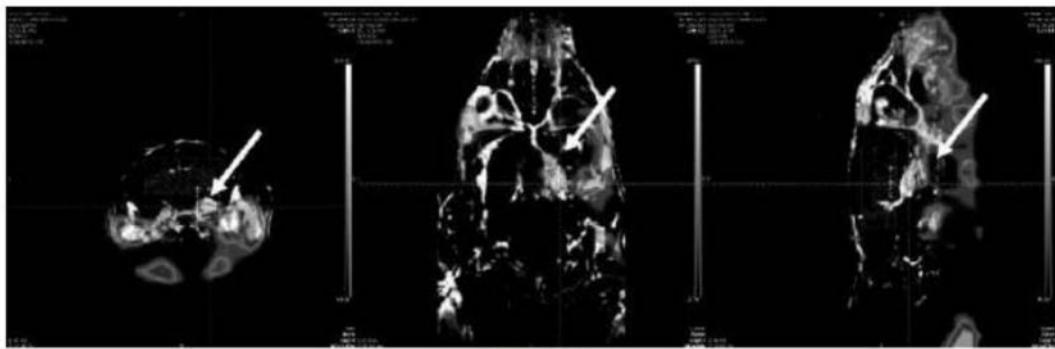


图17

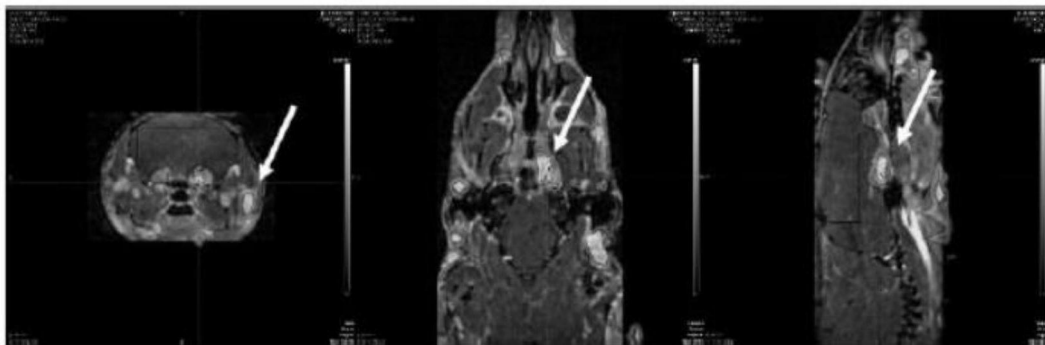


图18

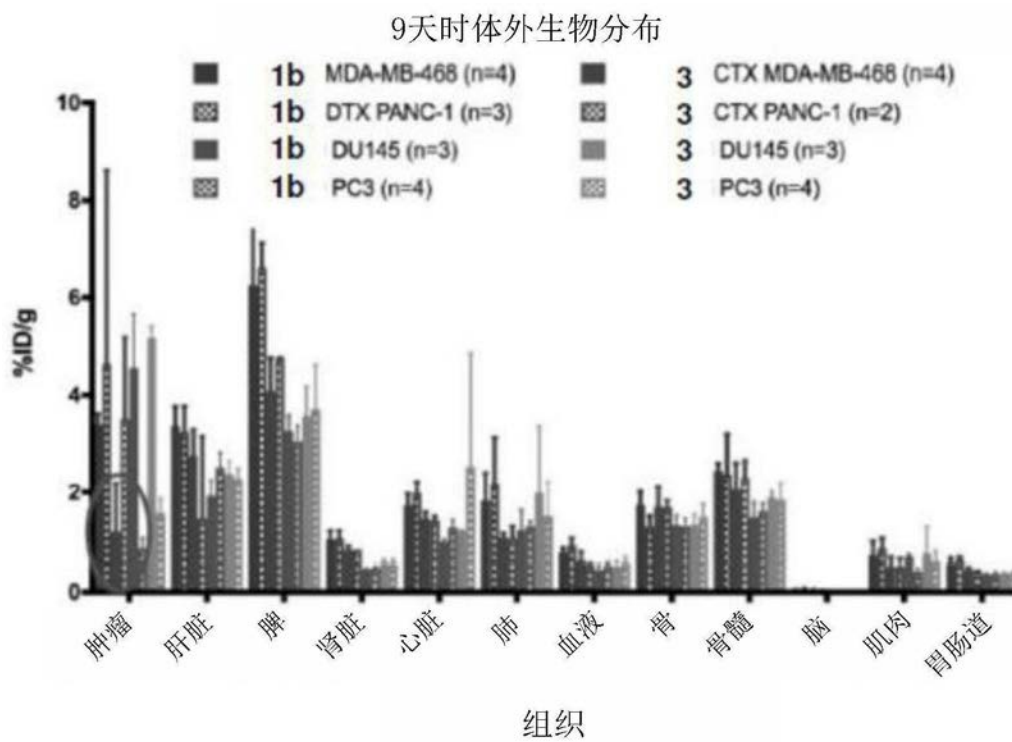


图19

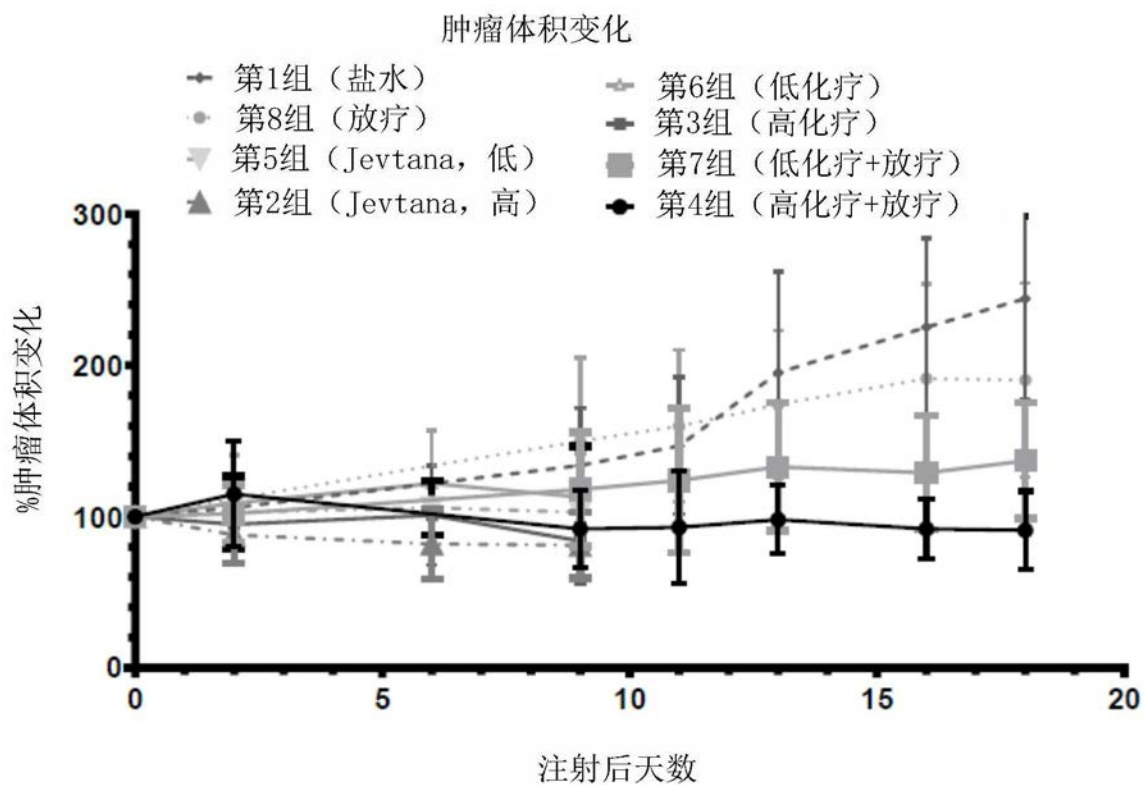


图20