



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118647412 A

(43) 申请公布日 2024. 09. 13

(21) 申请号 202380018495.8

S · D · 巴斯林格

(22) 申请日 2023.01.30

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

(30) 优先权数据

22154652.6 2022.02.01 EP

专利代理师 邹智弘

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.07.24

(51) Int. Cl.

A61K 51/04 (2006.01)

A61K 103/30 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/052117 2023.01.30

A61P 35/00 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/148116 EN 2023.08.10

(71) 申请人 默克专利股份有限公司

地址 德国

(72) 发明人 V · 格罗恩 M · L · 伦茨 R · 莫瑟

R · 施布利 C · M · 穆勒

L · M · 德贝勒 A · E · 贝克尔

权利要求书5页 说明书21页 附图5页

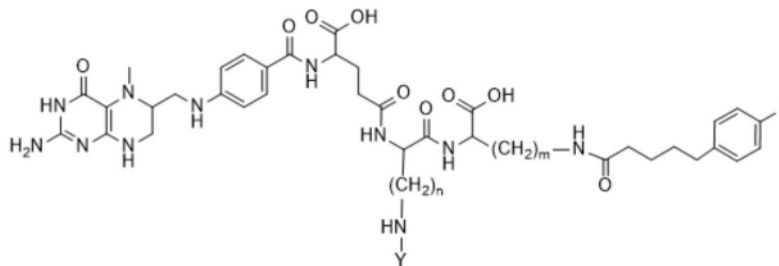
(54) 发明名称

治疗诊断学叶酸酯缀合物

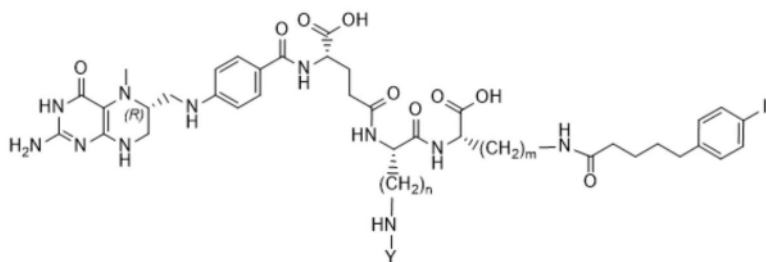
(57) 摘要

本公开内容涉及新的叶酸酯-缀合物,其包含5-甲基四氢叶酸酯、任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂和白蛋白结合剂5-(对碘苯基)戊酸酯,并且还提供了这样的缀合物和/或其药物组合物在诊断成像、放射性核素治疗或治疗诊断学(theragnostic)应用中的用途。

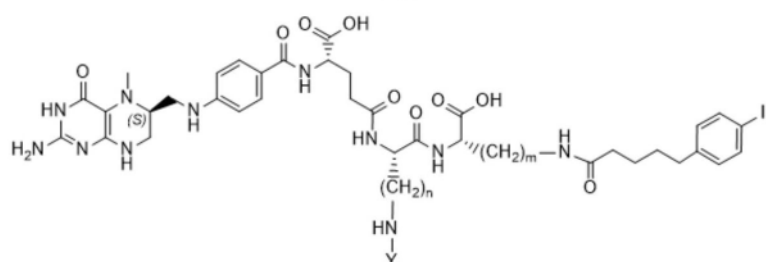
1. 式I、Ia或Ib的化合物或其药学上可接受的盐



I



Ia



Ib

其中

Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂，

n为1至8，和

m为1至8。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中所述放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯，如DTPA、DOTA（及其衍生物，如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯）、DFO、DFO*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA（及衍生物如p-SCN-NOTA）、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM和MECAM。

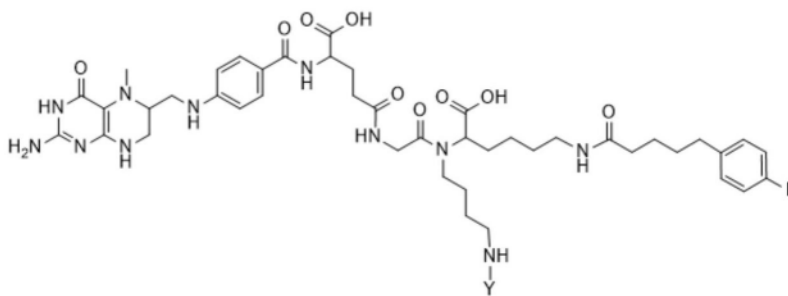
3. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中所述任选地配位的放射性金属M选自⁵¹Cr、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁴³Sc、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、¹⁶⁷Tm、¹⁴¹Ce、¹¹¹In、¹⁶⁸Yb、¹⁷⁵Yb、¹⁴⁰La、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁸⁸Y、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、⁵²Mn、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Dy、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁹⁷Ru、¹⁰³Ru、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²⁰³Pb、²¹¹Bi、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹⁴Bi、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、²¹²Pb、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁵²Tb、¹⁵⁵Tb、^{99m}Tc、¹⁶⁵Er、¹⁶⁹Er、¹⁷²Yb、¹⁶⁵Tm、¹⁷⁷Lu、²²⁵Ac、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au和²²⁷Th。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中n为2、3、4、5或6，优选4。

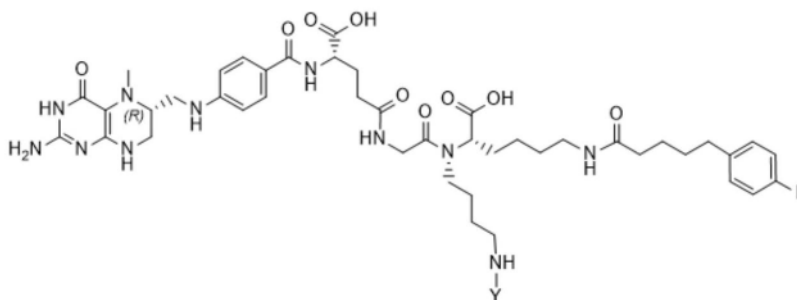
5. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中m为2、3、4、5或6，优选4。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的化合物，其中n为4和m为4。

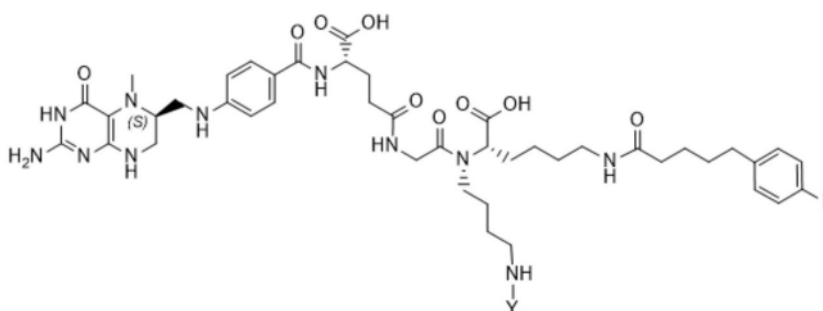
7. 根据权利要求1所述的化合物,其具有式II、IIa或IIb



II



IIa



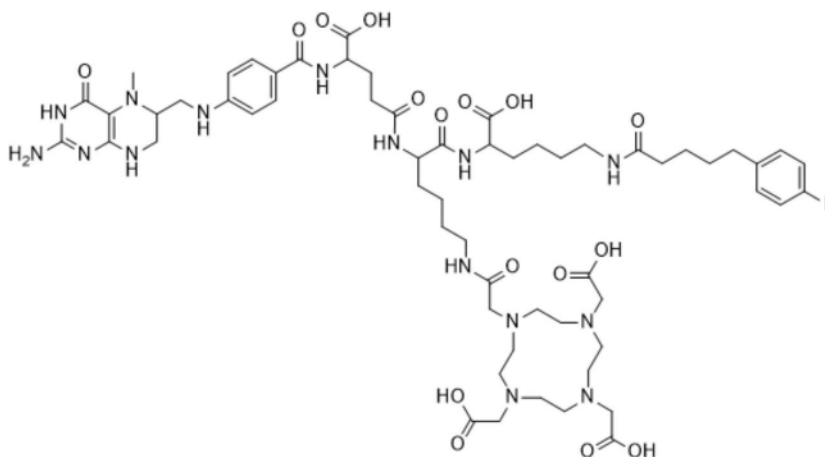
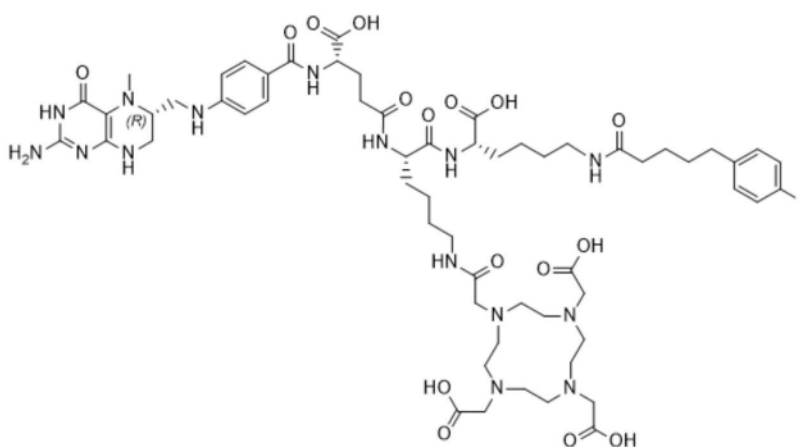
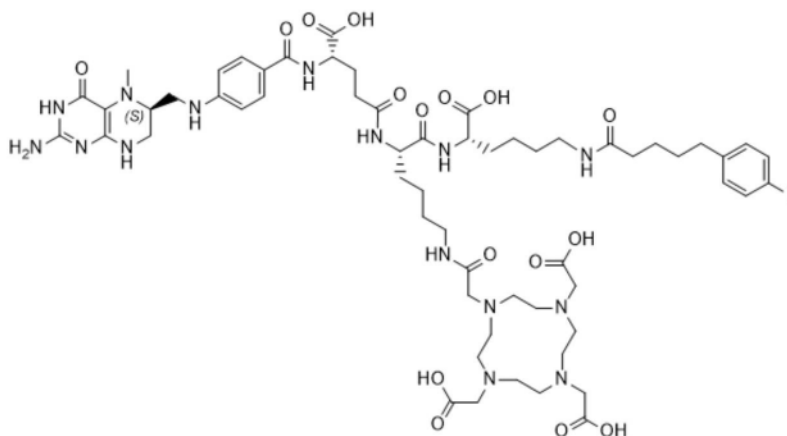
IIb

其中Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂。

8. 根据权利要求7所述的化合物,其中所述放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA(及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DF0、DF0*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA(及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM和MECAM。

9. 根据权利要求7或8所述的化合物,其中所述任选地配位的放射性金属M选自⁵¹Cr、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁴³Sc、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、¹⁶⁷Tm、¹⁴¹Ce、¹¹¹In、¹⁶⁸Yb、¹⁷⁵Yb、¹⁴⁰La、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁸⁸Y、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、⁵²Mn、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Dy、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁹⁷Ru、¹⁰³Ru、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²⁰³Pb、²¹¹Bi、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹⁴Bi、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、²¹²Pb、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁵²Tb、¹⁵⁵Tb、^{99m}Tc、¹⁶⁵Er、¹⁶⁹Er、¹⁷²Yb、¹⁶⁵Tm、¹⁷⁷Lu、²²⁵Ac、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au和²²⁷Th。

10. 根据权利要求1所述的化合物,其具有任选地与放射性金属M配位的式III、IIIa或IIIb

**III****IIIa****IIIb.**

11. 根据权利要求10所述的化合物,其中所述任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

12. 药物组合物,其包含至少一种根据前述权利要求中任一项所述的化合物。

13. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其作为诊断成像剂或作为放射治疗剂或作为治疗诊断剂使用。

14. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于体外或体内表达叶酸受体细胞或细胞群的诊断成像中。

15. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于体外或体内表达叶酸受体细胞或细胞群的诊断成像,包括以下步骤:施用诊断有效量的至少一种根据权利要求1至11中任一项所述的化合物和获得表达叶酸受体的细胞或细胞群的诊断图像。

16. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其作为诊断成像剂用于治疗计划和/或监测正在进行的治疗性治疗的有效性。

17. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于对其有需要的受试者的放射性核素治疗中。

18. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于放射性核素治疗中,包括以下步骤:向对其有需要的受试者施用治疗有效量的至少一种根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,将所述至少一种化合物定位在待治疗的组织中,和使所述组织经受辐射以实现期望的治疗效果。

19. 根据权利要求1至11中任一项所述的化合物,其用于肿瘤的治疗计划和/或监测和/或治疗中,包括以下步骤:(i)施用诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的化合物以获得诊断图像,和(ii)施用治疗有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种另外的化合物用于肿瘤治疗。

20. 根据权利要求19所述的化合物,其中步骤(i)的至少一种化合物为诊断化合物和步骤(ii)的至少一种另外的化合物为放射治疗性化合物。

21. 根据权利要求19或20所述的化合物,其中将从在步骤(i)中以诊断有效量施用的至少一种化合物获得的诊断图像用于确定用于治疗的在步骤(ii)中所施用的至少一种另外的化合物的治疗有效量。

22. 用于表达叶酸受体的细胞或细胞群的诊断成像的方法,所述方法包括以下步骤:施用诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种化合物,和获得所述细胞或细胞群的诊断图像。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中对体外或体内表达叶酸受体的细胞或细胞群进行诊断成像。

24. 用于组织样品中的表达叶酸受体的细胞的体外检测方法,所述方法包括使所述组织样品与诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的化合物接触并且达到足够的时间和条件,以允许发生结合,和通过PET成像来检测这样的结合。

25. 用于受试者中的诊断成像或监测的方法,包括以下步骤:(i)施用诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种化合物,和(ii)使用PET通过检测来自所述至少一种化合物的信号来进行诊断成像。

26. 用于受试者中的治疗的治疗计划的方法,包括以下步骤:(i)向对其有需要的受试者施用诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种化合物,以获得诊断图像,和(ii)确定用于治疗的待施用的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种另外的

化合物的治疗有效量。

27. 用于治疗诊断学应用的方法,包括以下步骤:(i) 向对其有需要的受试者施用诊断有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种化合物,(ii) 获得在待治疗的组织中的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种化合物的诊断图像,(iii) 施用治疗有效量的根据权利要求1至11中任一项所述的至少一种另外的化合物,和(iv) 使组织经受辐射,以实现期望的治疗效果。

28. 根据权利要求27所述的方法,其中步骤(i)的至少一种化合物为诊断成像化合物和步骤(ii)的至少一种另外的化合物为放射治疗性化合物。

29. 根据权利要求27或28所述的方法,其中将在步骤(ii)中获得的诊断图像用于确定用于治疗在步骤(iii)中所施用的至少一种另外的化合物的治疗有效量。

30. 根据权利要求22至29中任一项所述的方法,其与癌症诊断或疗法的任何其他方法组合。

治疗诊断学叶酸酯缀合物

技术领域

[0001] 本公开内容涉及新的叶酸酯-缀合物,其包含5-甲基四氢叶酸酯、任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂和白蛋白结合剂5-(对碘苯基)戊酸酯,并且还提供了这样的缀合物和/或其药物组合物在诊断成像、放射性核素治疗或治疗诊断学(theragnostic)应用中的用途。

背景技术

[0002] 叶酸受体 α (在本文称为FR)是一种膜相关糖蛋白,其在各种肿瘤类型,其中如卵巢癌、肺癌、乳腺癌、肾癌和结肠直肠癌等上过度表达(Parker,N.et al,Anal Bioch 2005, 338, (2),284-93;Low,P.S.et al.,Curr Opin Chem Biol 2009,13, (3),256-62)。在健康组织中,FR仅在少数位点处表达,其中最重要的是在肾脏的近端小管细胞中(Holm,J.et al.,Kidney Int 1992,41, (1),50-5;Birn,H.et.al.,J Am Soc Nephrol:JASN 2005,16, (3),608-15)。它因此是用于核成像和靶向放射性核素治疗的有希望的肿瘤相关蛋白(Low, P.S.et al.,Acc Chem Res 2008,41, (1),120-9;Müller,C.Curr Pharm Design 2012,18, (8),1058-83.)。叶酸(叶酸盐/酯维生素的氧化形式)以及5-甲基四氢叶酸(5-MTHF;可以以四种立体异构体[6R-/6S-和L-Glu/D-Glu形式制备]中的任一种的还原叶酸盐/酯形式)以高亲和力结合FR(K_D 在纳摩尔范围内),其通过内吞作用内化(Kamen,B.A.et al.,Adv Drug Deliv Rev 2004,56, (8),1085-97)。因此,叶酸已被用作靶向剂以递送附着的诊断和治疗有效载荷,用于表达FR的癌症的成像和治疗(Low,P.S.et al.,Acc Chem Res 2008,41, (1))。只有少数开发的叶酸酯放射性缀合物用于临床,其中有用于单光子发射计算机断层成像(SPECT)的 $[^{111}\text{In}]\text{In-DTPA-叶酸酯}$ 和 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-EC20(Etarfolatide}^{\text{TM}},\text{Endocyte Inc.)}$ (Siegel,B.A.et al.,J Nucl Med 2003,44, (5),700-7;Fisher,R.E.et al,J Nucl Med 2008,49, (6),899-906)和用于正电子发射断层成像(PET)的 $^{18}\text{F-AzaFol}(3'\text{-氮杂-2'}-[^{18}\text{F}]\text{氟叶酸})$ (Gnesin,S.et al.,EJNMMI Res 2020,10, (1),32)。

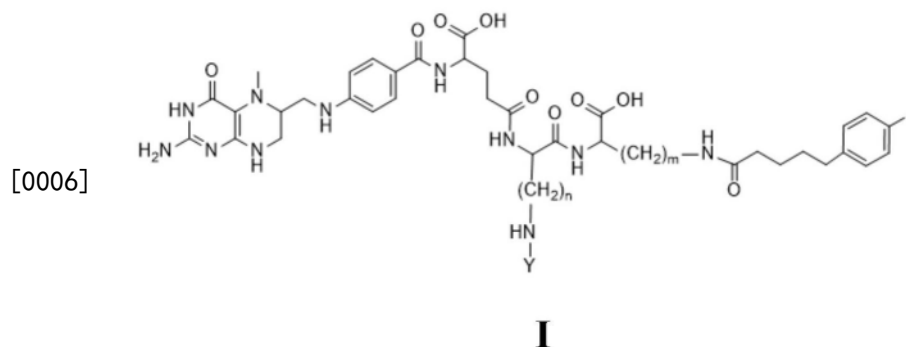
[0003] 基于小鼠中的临床前研究,关于叶酸酯放射性缀合物的治疗应用的主要关注涉及由于叶酸酯放射性缀合物的高肾累积而导致对肾的损伤(放射性肾毒性)的潜在风险(Müller,C.et al.,Nucl Med Biol 2011,38, (5),715-23)。4-(对碘苯基)丁酸(Dumelin, C.E.et al.,Angew Chem Int Ed Engl2008,47, (17),3196-201)作为白蛋白结合剂引入叶酸酯放射性缀合物($[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-cm09}$ (Müller,C.et al.,J Nucl Med 2013,54, (1),124-31)和 $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-cm10}$ (Müller et al,J Nucl Med 2014,55, (10),1658-64,在本文中称为 $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-OxFol-1}$)的结构中对它们的药代动力学性质具有积极影响。由于白蛋白结合性质,叶酸酯放射性缀合物的血液循环增强,这导致增加的肿瘤累积和减少的在肾脏中的停留,因此显著改善了肿瘤与肾脏的比率(Müller,C.et al.,J Nucl Med 2013,54, (1),124-31;Siwowska,K.et al.Mol Pharm 2017,14, (2),523-532)。使用包含5-甲基四氢叶酸酯(5-MTHF)作为靶向剂的白蛋白结合性放射性缀合物显示出高肿瘤与肾脏比率,并且因此与相应的基于叶酸的化合物 $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-OxFol-1}$ 相比具有优异的治疗效果 $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-OxFol-1}$

(Guzik, P. et al., Eur J Nucl Med Mol Imaging 2021, 48, 972-983)。

发明内容

[0004] 本公开内容在第一方面涉及新的叶酸酯-缀合物,其包含5-甲基四氢叶酸酯、任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂和作为白蛋白结合剂的5-(对碘苯基)戊酸酯。

[0005] 在一个具体实施方案中,新的叶酸酯缀合物为式I的化合物、或其立体异构体(或立体异构体的组合)、或其药学上可接受的盐



[0007] 其中,Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂,n为1至8,和m为1至8。

[0008] 在一些实施方案中,放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA(及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DFO、DFO*、DO3A、AAZTA、HP-DO3A、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA(及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM、AAZTA,优选大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、DO3A、HP-DO3A、EDTA、TETA、DOTMA、AAZTA。放射性金属螯合剂,例如大环多氨基羧酸盐/酯通过其羧酸根/酯基团之一的酰胺偶联而共价地结合至本公开内容的化合物。

[0009] 放射性金属螯合剂可以与或不与放射性金属M配位。在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0010] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0011] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0012] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0013] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0014] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0015] 在一些实施方案中,n为2、3、4、5或6,优选4。在一些实施方案中,m为2、3、4、5或6,

优选4。在一些实施方案中,n为4和m为4。

[0016] 在另一方面,本公开内容提供了本公开内容的化合物和/或药物组合物在诊断成像、放射性核素治疗或治疗诊断学应用中的用途。在一些实施方案中,本公开内容的方法的受试者为哺乳动物,如动物或人类。在一些实施方案中,本公开内容的方法的受试者为人类。

[0017] 在另一方面,本公开内容提供了单或多小瓶试剂盒,其含有制备本公开内容的化合物所需要的所有组分。

[0018] 由以下具体实施方式和权利要求书,本公开内容的其他特征和有利之处将是显而易见的。

[0019] 应当理解的是,说明书和实施方案旨在提供用于理解本公开内容的特性和特征的概述或框架,而不限其范围。

附图说明

[0020] 图1.RedFol-24的合成方案:a) Fmoc-Lys (Alloc) -OH, DIPEA于DMF中;o/n;b) 50% 哌啶于DMF中;2x 5min;c) Dde-Lys (Fmoc) -OH, HBTU, DIPEA于DMF中;1h;d) DOTA-三叔丁酯, HBTU, DIPEA于DMF中;3h;e) Pd (PPh₃)₄, 吗啉于DCM中;1h;f) 5-(对碘苯基) 戊酸, HBTU, DIPEA于DMF中;1h;g) 2% 胍于DMF中;1.5h;h) Fmoc-Glu-OtBu, HBTU, DIPEA于DMF中;1.5h;i) 10-甲酰基-5-甲基四氢蝶酸, HBTU;DIPEA于DMF中;2h;j) TFA, TIPS, H₂O (95:2.5:2.5);2h;k) NaOH 水溶液 (1M);5h。

[0021] 图2.在37℃孵育2h和4h时间之后,叶酸酯放射性缀合物在KB肿瘤细胞中的吸收量和内化。(A) 叶酸酯放射性缀合物在KB肿瘤细胞中的吸收量。(B) 叶酸酯放射性缀合物在KB肿瘤细胞中的内化的分数。

[0022] 图3.注射之后1h、4h、24h,叶酸酯放射性缀合物在KB肿瘤和荷瘤小鼠的各种其他组织中的衰变校正吸收量。

[0023] 图4.基于在注射相应的放射性缀合物之后1h、4h和24h获得的生物分布数据确定的肿瘤比血液的比率。

[0024] 图5.基于在注射相应的放射性缀合物之后1h、4h和24h获得的生物分布数据确定的肿瘤比肾脏的比率。

[0025] 图6.基于在注射相应的放射性缀合物之后1h、4h和24h获得的生物分布数据确定的肿瘤比肝脏的比率。

[0026] 图7.SPECT/CT图像显示为KB荷瘤小鼠在注射¹⁷⁷Lu-叶酸酯放射性缀合物 (25MBq; 每只小鼠0.5nmol) 后1h、4h和24h的最大强度投影 (MIP)。(A) [¹⁷⁷Lu]Lu-OxFO1放射性缀合物的SPECT/CT扫描;(B) 基于6R-5-MTHF的放射性缀合物的SPECT/CT扫描;(C) 基于6S-5-MTHF的放射性缀合物的SPECT/CT扫描;Tu=KB肿瘤;Ki=肾脏;H=心脏。

具体实施方式

[0027] 本公开内容在第一方面涉及新的叶酸酯缀合物(在下文也称为本公开内容的缀合物或化合物),其包含5-甲基四氢叶酸酯 (5-MTHF)、任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂、和白蛋白结合剂5-(对碘苯基) 戊酸酯。

[0028] 术语“放射性金属螯合剂”(或(金属)螯合剂)可以是本领域已知的用于络合放射性金属或放射性核素(并且可用于预期应用)的任何金属螯合剂。螯合剂到放射性金属的结合可以通过测量螯合剂与放射性金属之间的解离常数来确定。出于本公开内容的目的,螯合剂与放射性金属之间的解离常数 K_D 为约 10^{-3} 至约 $10^{-15}M^{-1}$ 。优选地,螯合剂和放射性金属之间的解离常数 K_D 为约 10^{-6} 至约 $10^{-15}M^{-1}$ 。在一些实施方案中,用于本公开内容中的放射性金属是在体内施用后可以以非侵入性方式在外部检测的放射性金属。在一些实施方案中,放射性金属特别是适合于使用SPECT或PET成像的放射性金属。

[0029] 螯合剂的实例是本领域公知的,并且包括直链、三足和大环形式的二齿、三齿和四齿配体。典型的实例包括联吡啶(bipy);三联吡啶(terpy);冠醚;氮杂冠醚;琥珀酸;柠檬酸;水杨酸类;组氨酸类;咪唑类;乙二醇-双-(β -氨基乙基醚)N,N'-四乙酸(EGTA);次氨基三乙酸(nitroloacetic acid);乙酰丙酮酸根(acac);硫酸根;二硫代氨基甲酸根类;羧酸根类;烷基二胺类;乙二胺(en);二乙三胺(dien);硝酸根;硝基;亚硝基; $(C_6H_5)_2PCH_2CH_2P(C_6H_5)_2$ (diphos);乙二醇二甲醚;二乙二醇二甲醚;双(乙酰丙酮)乙二胺(acacen);乙二氨基四乙酸(EDTA)、二亚乙基三氨基五乙酸(DTPA);N-[2-[双(羧甲基)氨基]-3-(4-乙氧基苯基)丙基]-N-[2-[双(羧甲基)-氨基]乙基]-L-甘氨酸(EOB-DTPA);N,N-双[2-[双(羧甲基)氨基]-乙基]-L-谷氨酸(DTPA-Glu);N,N-双[2-[双(羧甲基)氨基]-乙基]-L-赖氨酸(DTPA-Lys);DTPA的单或双酰胺衍生物如N,N-双[2-[羧甲基[(甲基氨基甲酰基)甲基]氨基]-乙基]甘氨酸(DTPA-BMA);N'-[5-(乙酰基-羟基-氨基)戊基]-N-[5-[3-(5-氨基戊基-羟基-氨基甲酰基)丙酰基氨基]戊基]-N-羟基-丁二酰胺(DFO);N1-(27-氨基-11,22-二羟基-7,10,18,21-四氧代-6,11,17,22-四氮杂二十七烷基)-N1-羟基-N4-(5-(N-羟基乙酰氨基)戊基)琥珀酰胺(DFO*);4-羧基-5,8,11-三(羧甲基)-1-苯基-2-氧杂-5,8,11-三氮杂十三烷(triazamidecan)-13-酸(BOPTA);2,2'-(6-(双(羧甲基)氨基)-6-(4-羧丁基)-1,4-二氮杂环庚烷-1,4-二基)二乙酸(AAZTA);1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(DO3A);1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA);1,4,7,10-四氮杂环十二烷,1-(戊二酸)-4,7,10-三乙酸(DOTAGA);10-(2-羟丙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(HPDO3A);2-甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(MCTA);四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTMA);3,6,9,15-四氮杂双环[9.3.1]十五烷-1(15),11,13-三烯-3,6,9-三乙酸(PCTA);PCTA12;环-PCTA12;N,N'-双(2-氨基乙基)-1,2-乙烷二胺(TETA);1,4,7,10-四氮杂环十三烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(TRITA);1,12-二羰基,15-(4-异硫氰酸酯基苄基)1,4,7,10,13-五氮杂环十六烷-N,N',N''-三乙酸(HETA);1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸单-(N-羟基琥珀酰亚氨基)酯(DOTA-NHS);N,N'-双(2-氨基乙基)-1,2-乙烷二胺-N-羟基-琥珀酰亚胺酯(TETA-NHS);[(2S,5S,8S,11S)-4,7,10-三-羧甲基-2,5,8,11-四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酸(M4DOTA);[(2S,5S,8S,11S)-4,7-双-羧甲基-2,5,8,11-四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酸(M4DO3A);(R)-2-[(2S,5S,8S,11S)-4,7,10-三-((R)-1-羧乙基)-2,5,8,11-四甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丙酸(M4DOTMA);10-膦酰基甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(MPDO3A);羟苄基-乙二胺-二乙酸(HBED)和N,N'-亚乙基双-[2-(邻羟基苯酚)甘氨酸](EHPG)。

[0030] 用于本公开内容的化合物中的合适的金属螯合剂包括直链、三足和大环形式的二

齿、三齿和四齿配体,如上文所定义。在一些实施方案中,用于本公开内容的金属螯合剂包括直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA(及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DFO、DFO*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA(及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM。在一些实施方案中,用于本公开内容的金属螯合剂包括大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、DO3A、HP-DO3A、EDTA、TETA、DOTMA、AAZTA。如本文中定义的放射性金属螯合剂通过其羧酸盐/酯基团之一连接至本公开内容的化合物,例如通过与氨基基团偶联以产生酰胺连接。

[0031] 放射性金属螯合剂可以与或者可以不与放射性金属M配位。如本文中所使用,术语“放射性金属”(也被称为放射性核素)是指能够经受放射性衰变并且可以被用作诊断成像试剂或治疗剂的原子,如下文所描述。在一些实施方案中,用于核成像或放射性核素治疗的放射性金属包括 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0032] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0033] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0034] 金属的选择将基于预期的治疗或诊断用途来确定。技术人员将知晓为预期应用选择何种放射性金属。

[0035] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0036] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

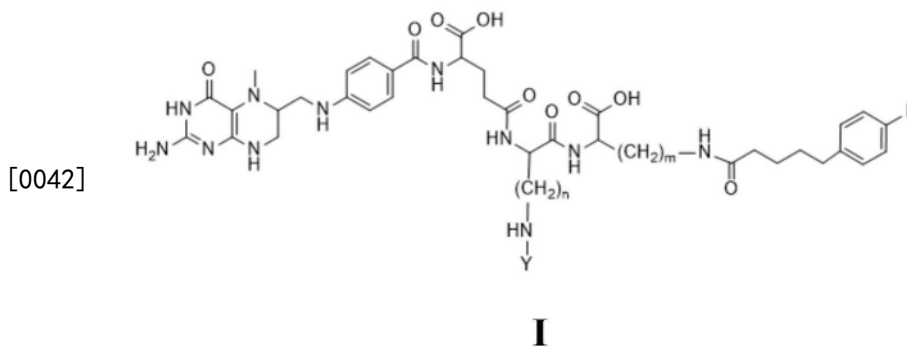
[0037] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0038] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0039] 术语“本公开内容的化合物”涵盖式(I)至(III)的化合物及其任何立体异构体(如明确地,(6R)-或(6S)-异构体)以及其任何药学上可接受的盐。

[0040] 本公开内容还涵盖这样的本公开内容的化合物,其中一个或多个原子被相应原子的特定同位素替代,例如其中一个或多个或全部氢原子被氘原子D替代以形成富集了氘的本公开内容的化合物。

[0041] 在一些实施方案中,本公开内容的化合物为式I的化合物或其药学上可接受的盐或立体异构体



[0043] 其中

[0044] Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂,

[0045] n为1至8,和m为1至8。

[0046] 在一些实施方案中,放射性金属螯合剂如上文中所定义。在一些实施方案中,放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA (及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DF0、DF0*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA (及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM。

[0047] 在一些实施方案中,用于本公开内容中的金属螯合剂包括大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、D03A、HP-D03A、AAZTA、EDTA、TETA、DOTMA。

[0048] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自⁵¹Cr、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁴³Sc、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、¹⁶⁷Tm、¹⁴¹Ce、¹¹¹In、¹⁶⁸Yb、¹⁷⁵Yb、¹⁴⁰La、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、⁸⁸Y、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、⁵²Mn、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Dy、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁹⁷Ru、¹⁰³Ru、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²⁰³Pb、²¹¹Bi、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹⁴Bi、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、²¹²Pb、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁵²Tb、¹⁵⁵Tb、^{99m}Tc、¹⁶⁵Er、¹⁶⁹Er、¹⁷²Yb、¹⁶⁵Tm、¹⁷⁷Lu、²²⁵Ac、¹⁹⁸Au、¹⁹⁹Au和²²⁷Th。

[0049] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0050] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0051] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

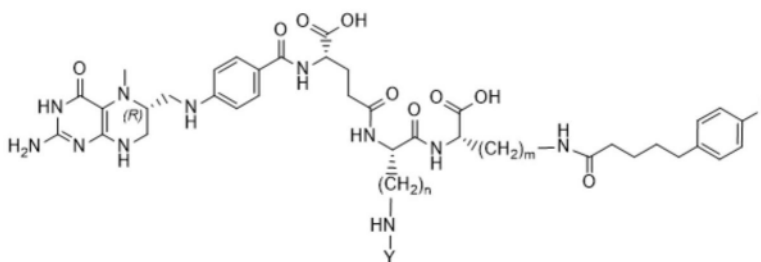
[0052] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0053] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

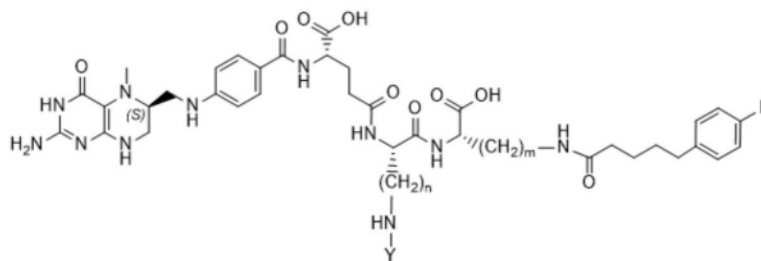
[0054] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自⁶⁷Cu、⁹⁰Y、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁷⁷Lu和²²⁵Ac。

[0055] 在一些实施方案中,n为2、3、4、5或6,优选4。在一些实施方案中,m为2、3、4、5或6,优选4。在一些实施方案中,其中n为4,和m为4。

[0056] 在一些实施方案中,式I的化合物具有式Ia或Ib

**Ia**

[0057]

**Ib**

[0058] 其中

[0059] Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂,

[0060] n为1至8,和m为1至8。

[0061] 在一些实施方案中,放射性金属螯合剂如上文中所定义。在一些实施方案中,放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA(及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DF0、DF0*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA(及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM。

[0062] 在一些实施方案中,用于本公开内容的金属螯合剂包括大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、DOTMA。

[0063] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0064] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0065] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0066] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0067] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

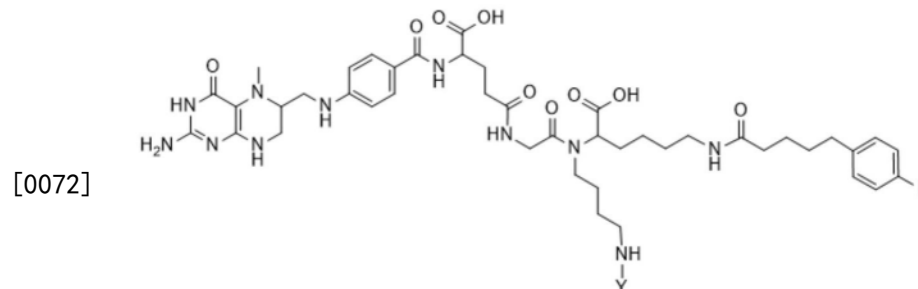
[0068] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和

^{213}Bi 。

[0069] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0070] 在一些实施方案中,n为2、3、4、5或6,优选4。在一些实施方案中,m为2、3、4、5或6,优选4。在一些实施方案中,其中n为4,和m为4。

[0071] 在一些实施方案中,式I的化合物具有式II



II

[0073] 其中,Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂。

[0074] 在一些实施方案中,放射性金属螯合剂如上文中所定义。在一些实施方案中,放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA(及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DFO、DFO*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA(及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM。

[0075] 在一些实施方案中,用于本公开内容的金属螯合剂包括大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、DOTMA。

[0076] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0077] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0078] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0079] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

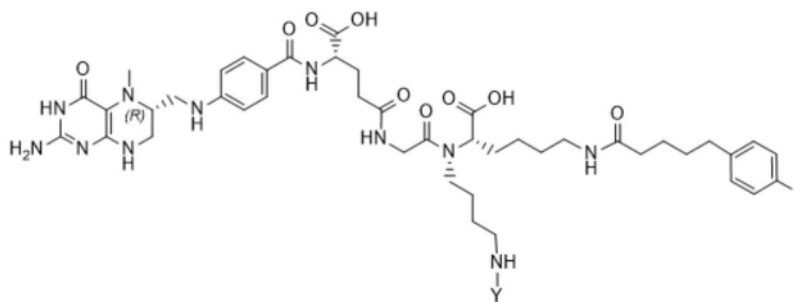
[0080] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0081] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0082] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自

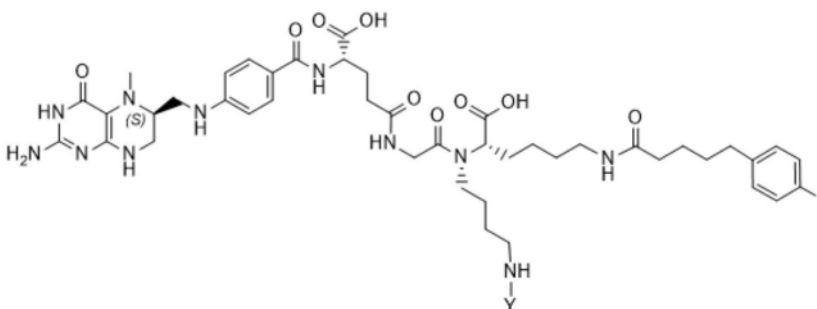
^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0083] 在一些实施方案中,式I的化合物具有式IIa或IIb



IIa

[0084]



IIb

[0085] 其中,Y为任选地与放射性金属M配位的放射性金属螯合剂。

[0086] 在一些实施方案中,放射性金属螯合剂如上文中所定义。在一些实施方案中,放射性金属螯合剂选自直链或大环多氨基羧酸盐/酯,如DTPA、DOTA (及其衍生物,如p-SCN-DOTA、马来酰亚氨基-DOTA、DOTA-NHS-酯)、DFO、DFO*、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA (及衍生物如p-SCN-NOTA)、DOTAGA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM。

[0087] 在一些实施方案中,用于本公开内容的金属螯合剂包括大环多氨基羧酸盐/酯,如NOTA、DOTA、DTPA、DO3A、HP-DO3A、AAZTA、EDTA、TETA、DOTMA。

[0088] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0089] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0090] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

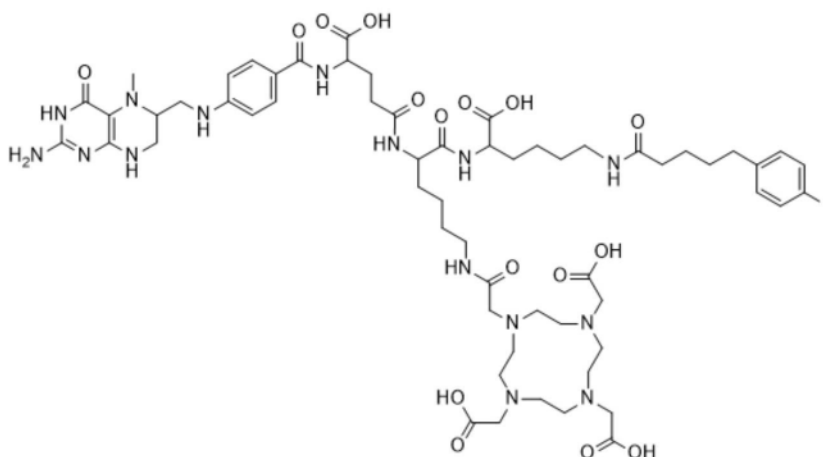
[0091] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0092] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0093] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0094] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0095] 在一些实施方案中,式I的化合物具有式III并且任选地与放射性金属M配位



[0096]

III

[0097] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0098] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0099] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

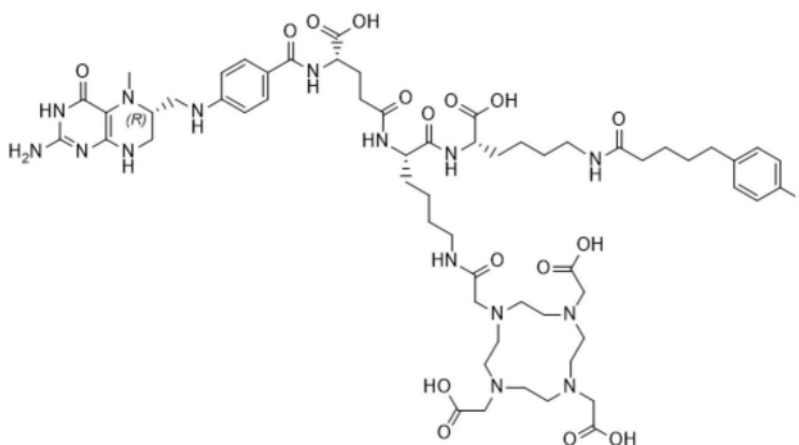
[0100] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于诊断成像中,并且选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0101] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于诊断成像中,并且选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

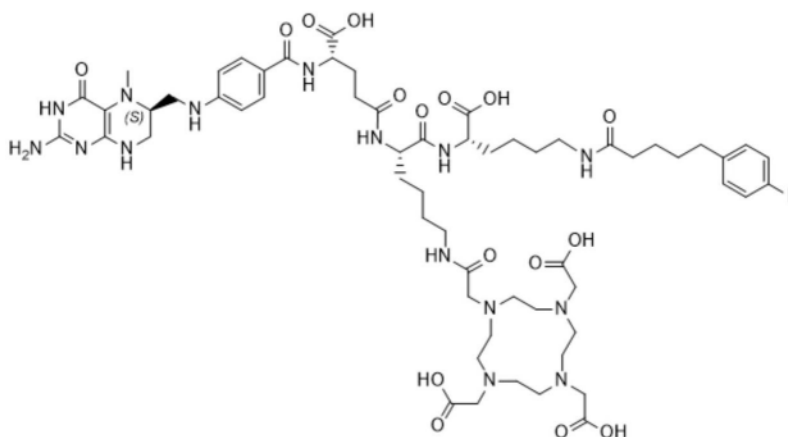
[0102] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于放射性核素治疗中,并且选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0103] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于放射性核素治疗中,并且选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0104] 在一些实施方案中,式I的化合物具有式IIIa或IIIb并且任选地与放射性金属M配位

**IIIa**

[0105]

**IIIb**

[0106] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0107] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0108] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0109] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于诊断成像中,并且选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0110] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于诊断成像中,并且选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0111] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于放射性核素治疗中,并且选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。

[0112] 在一些实施方案中,任选地配位的放射性金属M用于放射性核素治疗中,并且选

自⁶⁷Cu、⁹⁰Y、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁷⁷Lu和²²⁵Ac。

[0113] 本公开内容的化合物可以通过合成化学领域中已知的方法和如本公开内容的实施例中描述的方法制备。

[0114] 在另一方面,本公开内容提供了药物组合物,其包含诊断有效量或治疗有效量的本公开内容的至少一种化合物及其药学上可接受的载体。如本文中所使用,以适当剂量存在的药学上可接受的载体包括生理上可接受的溶剂、分散介质、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂等。这样的介质和试剂的使用是本领域公知的。

[0115] 在另一方面,本公开内容提供了本公开内容的化合物和/或药物组合物,其(i)用作诊断成像剂、(ii)用于放射性核素治疗中或(iii)用作治疗诊断剂,例如用于靶向、可视化和治疗肿瘤中,特别是用于监测和评估肿瘤的不同阶段、进展和迁移中,以确定合适的放射性核素治疗方案(频率、剂量等)。

[0116] 在一些实施方案中,本公开内容的方法的受试者是哺乳动物,如动物或人类。在一些实施方案中,受试者是人类。

[0117] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物用于诊断成像,即用于体外或体内表达叶酸受体的细胞或细胞群的诊断成像,即用于向需要诊断成像的受试者方便和有效地施用。

[0118] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物用于表达叶酸受体的细胞或细胞群的诊断成像,包括以下步骤:以诊断有效量施用本公开内容的至少一种化合物和/或药物组合物和获得表达叶酸受体的细胞或细胞群的诊断图像。

[0119] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物用作诊断成像剂,用于治疗计划和/或监测正在进行的治疗性治疗的有效性。

[0120] 在一些实施方案中,本公开内容提供了表达FR的细胞或细胞群的诊断成像的方法,所述方法包括以下步骤:以诊断有效量施用本公开内容的至少一种化合物或组合物,和获得所述细胞或细胞群的诊断图像。

[0121] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于体外检测组织样品,例如取自受试者的组织活检中表达叶酸受体的细胞,例如肿瘤细胞的方法,其包括使所述组织样品与诊断有效量的本公开内容的化合物或组合物接触足够的时间和条件以允许发生结合,并通过成像技术,如PET成像检测这样的结合。

[0122] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于诊断成像或监测,例如癌症治疗受试者的方法,其包括以下步骤:(i)向受试者施用诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物和/或药物组合物,和(ii)使用PET通过检测来自本公开内容的至少一种化合物和/或药物组合物的信号来进行诊断成像(以跟踪癌症疗法的过程和/或确定用于治疗的待施用的本公开内容的组合物的至少一种另外的化合物的治疗有效量)。

[0123] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物用于放射性核素治疗,即,用于向需要放射性核素治疗的受试者方便和有效地施用。

[0124] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物用于放射性核素治疗,其包括以下步骤:向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本公开内容的至少一种和/或药物组合物,将所述至少一种化合物和/或药物组合物定位在待治疗的组织中,和使组织经受辐射以实现期望的治疗效果。

[0125] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于放射性核素治疗的方法,包括以下步骤:向对其有需要的受试者施用治疗有效量的本公开内容的至少一种化合物或药物组合物,和在将所述至少一种化合物或药物组合物定位在期望的组织中之后,使组织经受辐射以实现期望的治疗效果。

[0126] 在一些实施方案中,可以将本公开内容的化合物和/或药物组合物作为治疗诊断剂用于治疗诊断学应用。

[0127] 术语“治疗诊断(学)”源自治疗 and 诊断,并且就应用或试剂/药剂而言,是指利用最终含有不同放射性核素的相同放射性标记的药物进行诊断和进行治疗的策略。这允许用与有效用于诊断和治疗计划目的的放射性核素配位的本公开内容的化合物拍摄疾病的图像。然后可以通过变成对肿瘤治疗有效的放射性核素来治疗疾病。这就是所谓的“所见即所治(treat what you see)”原则。更具体地,可以将本公开内容的相同化合物用作治疗诊断剂,首先作为诊断有效量的诊断成像剂(“本公开内容的诊断化合物”)与对肿瘤定位、评估、监测或治疗计划有效的放射性核素一起使用,其次作为治疗有效量的治疗剂(“本公开内容的治疗性化合物”)与对肿瘤治疗有效的放射性核素一起使用。组合这两种功能允许优化选择性(即,生物分布)和功效(即,有效剂量),例如通过首先使用本公开内容的诊断化合物定位和监测肿瘤或癌组织,并且随后根据个体受试者的需要定制本公开内容的治疗性化合物的合适施用方案(即,频率、剂量等)。

[0128] 因此,在一些实施方案中,可以通过向对其有需要的受试者施用以下来将本公开内容的化合物用于肿瘤(或癌组织)的治疗计划和/或监测和/或治疗中:(i) 诊断有效量(即,对获得诊断图像和/或对于治疗计划,即建立治疗方案有效的量)的本公开内容的至少一种化合物或组合物,和(ii) 对肿瘤治疗(通过使肿瘤(或癌组织)经受辐射)以实现期望的治疗效果而言治疗有效量的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物。

[0129] 诊断有效量是对诊断成像有效的量,即有效获得用于治疗计划的诊断图像的量,即有效获得这样的诊断图像的量,基于该诊断图像可以设计治疗方案(即,可以确定或计算待施用的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物的治疗有效量)或可以修改正在进行治疗的方案。

[0130] 在一些实施方案中,诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物或组合物为用于如本文中所定义的诊断成像中的与放射性金属M配位的诊断化合物。

[0131] 在一些实施方案中,治疗有效量的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物为用于如本文中所定义的放射性核素治疗中的与放射性金属M配位的治疗性化合物。

[0132] 待施用的本公开内容的化合物或组合物的“诊断有效量”是足以产生受试者的肿瘤、癌组织、器官或其他部位的诊断图像的量 and/或足以确定治疗的治疗有效量的量。施用诊断有效量的本公开内容的化合物或组合物,以在放射性核素治疗之前、期间和之后监测肿瘤生长或尺寸,并且允许在治疗过程期间计划、定制和调整疗法。在治疗诊断学应用中,施用诊断有效量的本公开内容的化合物或组合物所获得的结果用于计算治疗有效量。

[0133] 待施用的本公开内容的化合物或组合物的“治疗有效量”为足以产生期望的放射治疗效果的量。更具体地,治疗有效量为足以实质上改善(即改善、降低或抑制与疾病或病症相关的至少一种症状 and/或延迟、阻碍或预防疾病或病症发作的本公开内容的至少一种化合物的量)。

[0134] 在一些实施方案中,本公开内容的诊断化合物为这样的本公开内容的化合物,其中放射性金属M为允许诊断肿瘤的诊断性放射性核素。在一些实施方案中,诊断性放射性核素选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。在一些实施方案中,诊断性放射性核素选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 和 ^{155}Tb 。

[0135] 在一些实施方案中,本公开内容的治疗性化合物为这样的本公开内容的化合物,其中放射性金属M为允许治疗肿瘤的治疗性放射性核素。在一些实施方案中,治疗性放射性核素选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{105}Rh 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{166}Dy 、 ^{166}Ho 、 ^{175}Yb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{225}Ac 和 ^{213}Bi 。在一些实施方案中,治疗性放射性核素选自 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0136] 应理解的是,将本公开内容的诊断化合物和本公开内容的治疗性化合物依次施用于受试者。

[0137] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于在受试者中治疗的治疗计划的方法,包括以下步骤:(i) 向对其有需要的受试者施用诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物或组合物以获得诊断图像,和(ii) 确定用于治疗的待施用的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物的治疗有效量。

[0138] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于在受试者中的治疗诊断学应用的方法,包括以下步骤:(i) 向对其有需要的受试者施用诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物或组合物以获得诊断图像,和(ii) 施用治疗有效量的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物以进行治疗(即,通过使组织经受辐射以实现期望的治疗效果)。

[0139] 在一些实施方案中,将待治疗的组织中的至少一种化合物或组合物的所获得的诊断图像用于确定(或计算)用于治疗中的本发明的化合物或组合物的治疗有效量。

[0140] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于治疗诊断学应用的方法,即涵盖诊断和放射性核素治疗两者,包括以下步骤:(i) 向对其有需要的受试者施用诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物或组合物,(ii) 获得在待治疗组织中的至少一种化合物或组合物的诊断图像,(iii) 施用治疗有效量的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物,和(iv) 使组织经受辐射,以实现期望的治疗效果。

[0141] 在一些实施方案中,诊断有效量的本公开内容的至少一种化合物或组合物为如本文中所定义的用于诊断成像中的与放射性金属M配位的诊断化合物。

[0142] 在一些实施方案中,诊断有效量的本公开内容的至少一种另外的化合物或组合物为如本文中所定义的用于放射性核素治疗中的与放射性金属M配位的治疗性化合物。

[0143] 在一些实施方案中,将在待治疗的组织中的至少一种化合物或组合物的诊断图像用于确定(例如,计算)施用来获得治疗效果的至少一种另外的化合物或组合物的治疗有效量。

[0144] 可以使用辐射检测器(例如 γ -辐射检测器)检测用本公开内容的一种或多种化合物或组合物标记的表达FR的细胞或组织(即肿瘤细胞或组织)的图像。一种这样的程序利用闪烁照相术。也可以将断层成像程序,如SPECT用于改善可视化。这样的辐射检测器的选择和使用在本领域普通技术人员的技能范围内。

[0145] 应理解的是,所选择的放射性成像金属离子的比活性例如包括 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、

^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th ，将在诊断成像或放射性核素治疗的剂量的确定中纳入考虑。

[0146] 在一些实施方案中，待施用的单位剂量具有约0.1MBq至约 10^4 MBq的放射性。在一些实施方案中，待施用用于诊断成像的单位剂量具有约1MBq至约1,000MBq，如约100MBq至600MBq的放射性。在一些实施方案中，待施用用于放射性核素治疗的单位剂量具有约1,000MBq至约 10^4 MBq，如约5,000MBq至8,000MBq的放射性。对于待注射的溶液，优选的单位剂量为约0.01mL至约10mL。在例如静脉内施用之后，如果需要，可以在将放射性标记的试剂施用至受试者之后在数分钟至数小时内或甚至更长时间内进行体内器官或肿瘤的成像。

[0147] 本公开内容的化合物和/或组合物可以通过适当的途径施用，例如肠胃外（例如静脉内）、肌肉内或腹膜内或通过任何其他合适的方法。例如，本公开内容的化合物和/或组合物可以通过推注或缓慢输注静脉内注射施用至受试者。用于注射的合适形式包括本公开内容的上述化合物和/或组合物的无菌水溶液或分散体和无菌粉末。

[0148] 化合物或药物组合物通常是无菌的。灭菌可以通过任何本领域公认的技术完成，包括但不限于无菌过滤、添加抗菌剂或抗真菌剂，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等。

[0149] 样品可以通过本领域技术人员已知的程序收集，例如，通过收集组织活检或体液，通过抽吸气管或肺样品等。

[0150] 待测试的组织样品包括怀疑含有表达FR的细胞的任何组织，例如肿瘤细胞、上皮细胞、肾脏、胃肠道或肝胆系统等。可以例如用切片机将样品切片，以便于显微镜检查和观察结合的络合物。样品也可以在与本公开内容的化合物或组合物之一温育之前或之后用适当的固定剂固定，以改善样品组织的组织学质量。

[0151] 足以使本公开内容的络合物与细胞上的FR结合的时间和条件包括标准组织培养条件，即样品可以在体外培养并与本公开内容的化合物或组合物之一在生理培养基中孵育。这样的条件是本领域技术人员熟知的。或者，可以将样品固定，然后与本公开内容的络合物或组合物在等渗或生理缓冲液中孵育。

[0152] 用于体外检测肿瘤细胞的本公开内容的所述络合物的典型量可以在约1ng/L至约1,000μg/L的范围内。在一些实施方案中，所述量为约1μg/L至约100μg/L。

[0153] 在一些实施方案中，用于肿瘤细胞的体外诊断和用于体内应用的本公开内容的化合物是其中放射性金属螯合剂与选自以下的放射性金属M结构部分配位的本公开内容的化合物： ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、 ^{175}Yb 、 ^{140}La 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{88}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{52}Mn 、 ^{165}Dy 、 ^{166}Dy 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、 ^{103}Ru 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{203}Pb 、 ^{211}Bi 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{214}Bi 、 ^{105}Rh 、 ^{109}Pd 、 ^{212}Pb 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{149}Pm 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{165}Er 、 ^{169}Er 、 ^{172}Yb 、 ^{165}Tm 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{198}Au 、 ^{199}Au 和 ^{227}Th 。

[0154] 在一些实施方案中，任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{149}Tb 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0155] 在一些实施方案中，任选地配位的放射性金属M选自 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{43}Sc 、 ^{44}Sc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{161}Tb 、 ^{149}Tb 、 ^{177}Lu 和 ^{225}Ac 。

[0156] 在一些实施方案中，用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu

、⁶⁴Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁴³Sc、⁴⁴Sc、⁵²Mn、⁸⁹Zr、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹⁵²Tb和¹⁵⁵Tb。

[0157] 在一些实施方案中,用于诊断成像中的任选地配位的放射性金属M选自⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁶⁴Cu、⁴³Sc、⁴⁴Sc、^{99m}Tc、¹⁵²Tb和¹⁵⁵Tb。

[0158] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自⁶⁷Cu、⁹⁰Y、¹⁰⁵Rh、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁵³Sm、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁶⁶Dy、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁵Yb、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²²⁵Ac和²¹³Bi。

[0159] 在一些实施方案中,用于放射性核素治疗中的任选地配位的放射性金属M选自⁶⁷Cu、⁹⁰Y、¹⁶¹Tb、¹⁴⁹Tb、¹⁷⁷Lu和²²⁵Ac。

[0160] 为了检测本公开内容的化合物之一的细胞结合,可以在化合物存在下孵育样品,然后洗涤并在标准闪烁计数器中计数。替代方法适用并且是技术人员已知的。

[0161] 应理解的是,本公开内容的上述方法可以与癌症诊断或疗法的任何其他方法组合进行,包括使用其他已经开发的诊断和/或治疗剂并利用X射线计算机断层扫描法(CT)、磁共振成像(MRI)、功能性磁共振成像(fMRI)、SPECT、光学成像和超声的方法。

[0162] 对于诊断成像或放射性核素治疗或治疗诊断应用,在待使用本公开内容的化合物的位置处或附近制备它们可能是方便的。因此,在另一个方面,本公开内容提供了单或多小瓶试剂盒,其包含制备本公开内容的化合物或组合物所需要的所有组分,而不是放射性金属离子本身。因此,本公开内容的优选的单小瓶试剂盒包含本公开内容的化合物,而放射性金属螯合剂没有被配位,以及药学上可接受的还原剂如亚锡盐的来源。此外,试剂盒任选地包含另外的添加剂,例如将试剂盒用药学上可接受的酸或碱缓冲,以将pH调节至络合物形成所期望的值。这样的单小瓶试剂盒可以任选地含有交换配体,例如葡萄糖庚酸盐/酯、葡萄糖酸盐/酯、甘露醇、马来酸盐/酯、柠檬酸或酒石酸,并且还可以含有反应调节剂,如二亚乙基三胺五乙酸或乙二胺四乙酸。可以将另外的添加剂,如增溶剂(例如环糊精)、抗氧化剂(例如抗坏血酸)和/或填充剂(例如NaCl)用于改善最终产物的放射化学纯度和稳定性,或有助于试剂盒的生产。放射性金属将会典型地以溶液的形式单独添加。

[0163] 同样,本公开内容的优选的多小瓶试剂盒在一个小瓶中包含除放射性金属本身之外的组分,即交换配体和药学上可接受的还原剂如亚锡盐。本公开内容的化合物(其中放射性金属螯合剂)以及任选的添加剂(如适合于将pH调节至其最佳值的缓冲液)包含在第二小瓶中。任选地,放射性金属将以待添加的溶液的形式提供。

[0164] 试剂盒的所有组分可以是液体、冷冻或干燥形式。在一些实施方案中,试剂盒组分以冻干形式提供。

[0165] 根据本公开内容,本文中公开和要求保护的所有化合物、组合物和/或方法可以在没有过度实验的情况下制备和实施。对于本领域技术人员将显而易见的是,在不脱离本公开内容的范围的情况下,可以将变体应用至本公开内容。本文中提供的实施例旨在为说明性的,而并非穷举;因此,所示出的实施例不应被视为以任何方式限制本公开内容。

[0166] 实施例

[0167] 方法:概述:所有商业上可得的溶剂和化学品均购自abcR、Bachem、Fluka、CheMatech、Iris Biotech、Merck KGaA或Sigma Aldrich,并且不进行另外的纯化来使用。叶酸酯和蝶酸盐/酯前体得自Merck&Cie, Schaffhausen, 瑞士。

[0168] 从树脂裂解和脱保护。从树脂的裂解如此进行:使用在二氯甲烷(DCM)(v/v)中的

2%三氟乙酸(TFA),然后在磷酸(60%,水溶液,24h)中除去三叔丁基和甲酰基保护基。添加氢氧化钠(NaOH)溶液(32%,w/v,水溶液)直至pH约4。随后添加HCl溶液(1M,水溶液)以获得pH 4,导致最终产物沉淀。在将混合物以14000rpm离心5min之后,弃去上清液,将粗制叶酸酯缀合物再溶解并使用RP-HPLC纯化。

[0169] 叶酸酯缀合物的纯化。使用Merck-Hitachi LaChrom HPLC系统进行最终产物的纯化,该系统配备有D-7000接口、L-7200自动进样器、L-7400UV检测器、L-7100泵和半制备型反相C18柱(5 μ m,10 $\times$ 150mm,SunfireTM,Waters,Milford,美国马萨诸塞州)。在Milli-Q水/乙腈(MeCN)/TFA或Milli-Q水/MeCN/NH₄HCO₃体系中以4mL/min的流速使用可变梯度条件洗脱产物。将含有纯产物的级分收集在圆底烧瓶中,在液氮中冷冻并冻干 $\geq$ 24h。

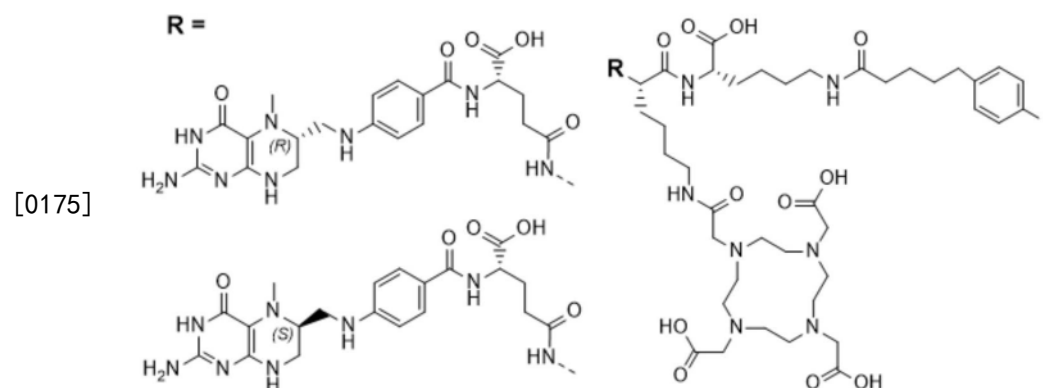
[0170] 叶酸酯缀合物的表征。使用高分辨率MALDI-TOF-MS (Bruker UltraFlex II; Billarica,美国马萨诸塞州)表征最终产物。

[0171] 放射性标记:将叶酸酯缀合物在含有4-6%L-抗坏血酸钠(0.5M)的Milli-Q水中溶解以获得1mM的最终叶酸酯浓度,将其作为储备溶液在-20 $^{\circ}$ C冷冻。将缀合物用镱-177(无载体添加,在0.04M HCl中;ITM Medical Isotopes GmbH,德国慕尼黑)标记至摩尔活性为50MBq/nmol。将储备溶液在乙酸钠(0.5M)和HCl(0.05M)和抗坏血酸(0.5M)的混合物中解冻之后,在pH约4.5进行放射性标记。将反应混合物在95 $^{\circ}$ C孵育10-15min。

[0172] 质量控制:将经放射性标记的缀合物的等分试样在含有二亚乙基三胺五乙酸五钠(Na₅-DTPA;50 μ M)的Milli-Q水中稀释,并使用Merck Hitachi LaChrom HPLC系统进行评估,该系统由L-7100泵、D-7000接口、L-7200自动进样器、放射性检测器(LB 506B,Berthold Technologies GmbH)和反相C18柱(5 μ m,4.6 $\times$ 150mm,XterraTM,Waters,美国)组成。以1.0mL/min的流速使用含有0.1%TFA(95-20%,15分钟内)在MeCN(5-80%,15分钟内)中的Milli-Q水的线性梯度。

[0173] 放射分解稳定性:在使用HPLC对放射性缀合物(50MBq/nmol)进行质量控制(t_0 =0h)之后,将放射性缀合物在pH 7.4的PBS中稀释以获得100MBq/500 μ L的活性浓度。将放射性缀合物稀释液在室温孵育。分别在4h和24h之后,使用HPLC评估放射性缀合物的完整性。通过测定经放射性标记的产物、释放的镱-177以及未知结构的降解产物的峰面积来分析HPLC色谱图。将完整产物的量表示为整个色谱图的积分峰面积总和的百分比,并与 t_0 时测定的原始值相关(放射化学纯度 $\geq$ 95%设定为100%)。

[0174] 实施例1:6R-RedFol-24和6S-RedFol-24的固相合成



[0176] 将2-氯三苯基氯甲烷(2-CTC)树脂(0.1mmol)称重至含有过滤器的5mL注射器中,并在无水DCM中溶胀45min。在二异丙基乙胺(DIPEA,0.8mmol,8.0当量)存在下,将 α -苄基

甲氧羰基-N ϵ -(4-烯丙氧羰基)-L-赖氨酸(Fmoc-Lys(Alloc)-OH(0.12mmol,1.2当量))溶于干燥DCM中,添加至树脂中,搅拌过夜(o/n)。在每个反应步骤之后,根据所用溶剂,通过用二甲基甲酰胺(DMF)或DCM洗涤树脂三次来除去残留的反应物。用DCM、甲醇和DIPEA(17:2:1,v/v/v)的溶液封端2-CTC树脂的潜在未反应的碳正离子。在DMF中调节之后,通过在DMF和哌啶以1:1(v/v)的比例的混合物中振荡两次5min除去Fmoc保护基,以生成化合物1。然后,将N α -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧化代环己-1-亚基)乙基-N ϵ -Fmoc-L-赖氨酸(Dde-Lys(Fmoc)-OH,0.4mmol,4.0当量)在DIPEA(0.8mmol,8.0当量)存在下在干燥的DMF中用O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓-六氟磷酸盐(HBTU,0.396mmol,3.96当量)活化1分钟,将其添加至经树脂固定的化合物1,并反应1h。在除去Fmoc保护基以获得化合物2之后,将活化的1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸三叔丁酯(DOTA-三(叔丁)酯,0.3mmol,3.0当量)在3h的过程中与经树脂固定的化合物2偶联。在吗啉(1.0mmol,10当量)存在下,用四(三苯基膦)合钯(0)(Pd(PPh₃)₄,0.045mmol,0.45当量)在干燥DCM中在黑暗中1h内进行赖氨酸残基的Alloc保护基的裂解。为了除去残留的钯,用在DMF中的1%DIPEA(v/v)和二乙基二硫代氨基甲酸钠(35mg/mL)的DMF溶液洗涤经树脂固定的化合物,以生成经树脂固定的化合物3。

[0177] 将活化的5-(对碘苯基)戊酸(0.4mmol,4.0当量)添加至化合物3并搅拌1h,然后通过肼溶液(2%于DMF中,v/v)中搅拌1.5h来除去Dde保护基,以产生化合物4。通过将活化的Fmoc-L-谷氨酸5-叔丁酯(Fmoc-Glu-O(叔丁基),0.4mmol,4.0当量)偶联1.5h并除去Fmoc保护基团获得化合物5。将10-甲酰基-5-甲基-(6S)-四氢蝶酸(6S-5-MTHP)活化,添加至经树脂固定的化合物5,并搅拌2h。将所得的经树脂固定的化合物6用DMF、DCM和乙醚(Et₂O)洗涤,并在降低的压力下干燥。如下文描述那样从树脂裂解和除去保护基。将沉淀物在MeCN和氢氧化铵水溶液(NH₄HCO₃水溶液,50mM;1:1,v/v)的混合物中溶解,用于使用反相高效液相色谱(RP-HPLC)纯化。

[0178] 根据针对6R-RedFol-24描述的程序进行还原的叶酸酯缀合物6S-RedFol-24的合成,不同之处在于在氮气气氛和避光下将10-甲酰基-5-甲基-(6S)-四氢蝶酸(6S-5-MTHP)与经树脂固定的连接前体缀合,而不是10-甲酰基-5-甲基-(6R)-四氢蝶酸(6R-5-MTHP)。

[0179] 实施例2:本公开内容的叶酸酯缀合物的表征

[0180] 表1.叶酸酯缀合物的化学表征(*:通过MALDI-MS测量并且检测为[M+H]⁺; **:通过ESI-MS测量并检测为[M+2H]²⁺; n.d.=未测定)。

[0181]

化合物	m/z _{计算}	m/z _{实测}	产率[%]	纯度[%]
6R-RedFol-24**	694.78	694.27	4	>95
6S-RedFol-24**	694.78	694.78	2	>93

[0182] 实施例3:叶酸酯放射性缀合物的稳定性

[0183] 表2.产物峰表示为整个色谱图的积分峰面积之和(设定为100%)相对于标记之后立即获得的值(n=2-3个单独进行的实验的平均值)的百分比。

	放射性缀合物	完整的放射性标记的产物[%]		n
		4h	24 h	
[0184]	[¹⁷⁷ Lu]Lu-6R-RedFol-24	≥99	≥99	2
	[¹⁷⁷ Lu]Lu-6S-RedFol-24	≥99	≥99	2

[0185] 实施例4:PBS/正辛醇分配系数(LogD值)

[0186] 测定本公开内容的每种叶酸酯放射性缀合物的正辛醇/PBS分配系数(logD值)以评估它们的亲水/疏水性质。在PBS pH 7.4中稀释以获得10MBq/500μL的活性浓度之后,如先前报道那样测定本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的logD值(50MBq/nmol)。将每种放射性叶酸酯的样品(约0.5MBq,25μL,0.01nmol)添加至1475μL PBS pH 7.4和1500μL正辛醇的混合物。将小瓶剧烈涡旋1min,然后以2500 rpm离心6min以进行相分离。从每个相中取出等分试样并在伽马计数器(Perkin Elmer,Wallac Wizard 1480)中测量。分配系数计算为在正辛醇相中测量的每分钟计数(cpm)相对于在PBS相中测量的cpm的比率的对数。结果列示为从3个独立实验获得的数据的平均值±SD,每个实验重复5次。

[0187] 本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的logD值指示它们通常的亲水性特征(表3)。然而,由于基于5-MTHF的靶向分子中的另外的甲基基团和5-(对碘苯基)戊酸酯单元中的另外的亚甲基基团,本公开内容的放射性缀合物的疏水性增加。

[0188] 表3.本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的LogD值。

[0189]	化合物	m/z _{计算}	m/z _{实测}
	[¹⁷⁷ Lu]Lu-6R-RedFol-24	-3.5±0.2	3
	[¹⁷⁷ Lu]Lu-6S-RedFol-24	-3.1±0.1	3

[0190] 实施例5.白蛋白结合性质(滤膜测定(Filter Assay))

[0191] 在小鼠和人血浆中测定白蛋白结合性质。使用超滤法(Deberle,L.M.et al., Molecules 2020,25,(11))测定本公开内容的叶酸酯放射性缀合物在小鼠血浆(Rockland Immunochemicals,Inc.,美国)和人血浆(Stiftung Blutspende SRK Aargau-Solothurn,瑞士)中的白蛋白结合性质。基于使用干化学分析仪(DRI-CHEM 4000i,FUJIFILM,日本)的测量,小鼠(MSA)和人(HSA)血浆中血清白蛋白的量分别定义为550μM和800μM。将本公开内容的叶酸酯放射性缀合物(50MBq/nmol,约300kBq,0.006nmol在15μL中)添加至小鼠和人血浆样品(150μL)中,然后将样品在37℃孵育30min。将样品加载至Amicon离心过滤器上(截留值为10kDa;Merck Millipore),然后离心(14,000rcf,30min,4℃),以允许分离每个样品的血浆结合部分和血浆未结合(游离)级分。将过滤装置的插入物倒置并在200rcf离心3min以回收蛋白质结合级分。在γ计数器(Perkin Elmer,Wallac Wizard 1480)中分别测量蛋白结合级分的活性以及滤液和过滤器单元中的活性。分别与小鼠和人白蛋白结合的放射性缀合物的百分比相对于测量的总活性设定(表4)。

[0192] 表4.本公开内容的叶酸酯放射性缀合物在小鼠和人血浆的白蛋白结合级分。数据表示为3个实验的白蛋白结合分数的平均值。

[0193]	放射性缀合物	小鼠血浆[%]	人血浆[%]	n
--------	--------	---------	--------	---

[¹⁷⁷ Lu]Lu-6R-RedFol-24	73	94	3
[¹⁷⁷ Lu]Lu-6S-RedFol-24	74	86	3

[0194] 实施例6:细胞吸收和内化

[0195] 如先前报道那样进行实验 (Deberle, L.M. et al; Bioconj Chem 2021, 32, p. 1617)。使用补充有10%胎牛血清、L-谷氨酰胺、抗生素的不含叶酸酯的RPMI (FFRPMI) 培养基将KB肿瘤细胞(人宫颈癌细胞系, ACC-136)接种在12孔板(0.5×10^6 个细胞, 每孔2mL)中。将肿瘤细胞孵育过夜以允许在37°C和5%CO₂粘着和生长过夜。在除去上清液之后, 在添加不含补充剂的FFRPMI培养基(975μL/孔)之前, 用PBS冲洗KB细胞。将本公开内容的叶酸酯放射性缀合物(50MBq/nmol)以25μL(0.75pmol, 38kBq)的体积添加至每个孔。在一些孔中, 将KB肿瘤细胞与过量叶酸(100μM)共孵育以阻断细胞表面上的FR。将孔板在37°C和5%CO₂孵育2h或4h之后, 将KB肿瘤细胞用冰冷的PBS冲洗三次以测定本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的总吸收量。为了评估内化的分数, 应用剥离缓冲液(0.1M乙酸和0.15M NaCl水溶液, pH 3)以从细胞表面释放本公开内容的FR结合的叶酸酯放射性缀合物。通过将NaOH溶液(1M, 水溶液, 1mL)添加至每个孔来裂解细胞样品。在伽马计数器(Perkin Elmer, Wallac Wizard 1480)中对细胞裂解物的活性进行计数。在通过涡旋使细胞悬浮液均质化后, 使用Micro BCA蛋白测定试剂盒(Pierce, Thermo Scientific)测定每个样品的蛋白浓度, 以便将测量的活性标准化为单个孔中的蛋白质的平均含量。将吸收量和内化的分数表示为总添加的活性的百分比, 并表示为n=2-6个独立实验的平均值±SD(图2A/B)。

[0196] 实施例7:FR结合亲和力(K_D值)

[0197] 如先前报道那样进行K_D值的测定 (Deberle, L.M. et al; Bioconj Chem 2021, 32, p. 1617)。将FR阳性IGROV-1细胞(人卵巢癌细胞系, 由荷兰阿姆斯特丹Free University Medical Center Amsterdam的Gerit Janssen博士友好提供)接种在48孔板(2.5×10^5 个细胞/孔)中的500μL FFRPMI培养基中, 并添加补充剂。将细胞在37°C和5%CO₂孵育以允许细胞粘着过夜。实验在冰上使用冰冷的培养基和缓冲溶液进行。在除去上清液之后, 将细胞用PBS冲洗一次, 然后添加不含补充剂的FFRPMI培养基(450μL/孔)。将本公开内容的相应叶酸酯放射性缀合物(20MBq/nmol)以可变浓度(在0.1至500nM的范围内, 每孔50μL)添加至每个孔。为了确定本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的非特异性结合, 将一半的细胞样品与过量的叶酸(100μM)共孵育以阻断细胞表面上的FR。将IGROV-1肿瘤细胞在振荡器上于4°C孵育1h, 然后除去上清液并用PBS冲洗细胞两次。在用NaOH溶液(1M, 水溶液, 500μL)裂解细胞之后, 在伽马计数器(Wallac Wizard 1480, Perkin Elmer)中对样品的活性进行计数。将特异性结合的每分钟计数(cpm)(通过从总结合的cpm减去非特异性结合的cpm测定)相对于添加的本公开内容的叶酸酯放射性缀合物的摩尔浓度作图。使用GraphPad Prism软件(版本8)进行用于确定K_D值的非线性回归分析。结果表示为一式三份进行的3个实验的K_D值的平均值和分别95%置信区间。所有叶酸酯放射性缀合物在低纳摩尔范围(K_D=1.4-5.6nM)内显示FR结合亲和力(表6)。

[0198] 表6. 针对本公开内容的每种叶酸酯放射性缀合物测定的K_D值

放射性缀合物	K _D 值[nM]	95%置信区间	n
[¹⁷⁷ Lu]Lu-6R-RedFol-24	5.6	3.3-8.8	3
[¹⁷⁷ Lu]Lu-6S-RedFol-24	4.6	3.2-6.4	3

[0200] 实施例8:生物分布研究

[0201] 从Charles River Laboratories (Sulzfeld, 德国) 购买五周龄雌性无胸腺裸鼠 (CD-1Foxnlnu), 并随意饲喂缺乏叶酸酯的啮齿动物饲料 (ssniff **Spezialdiäten** GmbH, 德国)。在至少7天的习服 (acclimatization) 期之后, 将KB肿瘤细胞 (5×10^6 个细胞在100 μ L的PBS中) 皮下接种在小鼠的肩部上。大约2周后, 在静脉内施用本公开内容的叶酸酯放射性缀合物 (3MBq, 0.5nmol, 含有0.05% BSA的100 μ L PBS) 之后, 使用每个时间点n=3-4只小鼠进行生物分布研究。在注射 (p.i.) 后1h、4h和24h, 处死小鼠并收集选定的组织和器官, 称重并使用伽马计数器 (PerkinElmer Wallac Wizard 1480) 对活性进行计数。结果报告为每克组织质量注射活性的百分比 (% IA/g), 使用同时测量的规定体积的原始注射液的计数以获得衰减校正数据。

[0202] 在注射本公开内容的叶酸酯放射性缀合物之后的可变时间点获得生物分布数据 (特别是在KB肿瘤和各种其他组织中的吸收量以及在血液中的停留) (图3)。

[0203] 对于本公开内容的缀合物观察到的肿瘤与血液、肿瘤与肾脏和肿瘤比肝脏的比率分别显示在图4、图5和图6中。

[0204] 实施例9: SPECT/CT成像研究

[0205] 进行SPECT/CT成像研究以研究本公开内容的叶酸盐/酯放射性缀合物在KB荷瘤小鼠中的全身分布 (图7)。当肿瘤尺寸达到约300mm³的体积时, 在肿瘤细胞接种之后大约2周进行SPECT/CT实验。向小鼠注射本公开内容的叶酸盐/酯放射性缀合物 (25MBq, 0.5nmol, 100 μ L, 在含有0.05% BSA的PBS中稀释), 并在1h、4h、24h和48h p.i. 扫描。如先前所报道, 使用四头、多路复用 (multiplexing)、多针孔小动物SPECT相机 (NanoSPECT/CTTM, Mediso Medical Imaging Systems, 匈牙利布达佩斯) 进行成像研究。每个头都配备有9个直径为1.4mm针孔和厚度为10mm的钨基开孔。约7.5min时长的CT扫描之后是约40min的SPECT扫描。使用Nucline软件 (版本1.02, Mediso Ltd., 匈牙利布达佩斯) 获取图像。实时CT重建使用锥束滤波反投影。用HiSPECT软件 (版本1.4.3049, Scivis GmbH, 德国哥廷根) 使用对于镥-177的56.1keV ($\pm 10\%$)、112.9keV ($\pm 10\%$) 和208.4keV ($\pm 10\%$) 的 γ 能量进行SPECT数据的重建。使用VivoQuant后处理软件 (3.5版本, inviCRO Imaging Services and Software, 美国波士顿) 制作图像。应用高斯重建后滤波器 (FWHM=1.0mm), 并如图像上所示设置活动尺度 (最小值=2Bq/体素至最大值=30Bq/体素)。

[0206] 图7显示了在注射¹⁷⁷Lu-叶酸盐/酯放射性缀合物 (25MBq; 0.5nmol/小鼠) 之后1h、4h和24h作为KB荷瘤小鼠的最大强度投影 (MIP) 的SPECT/CT图像。(A) 基于6R-5-MTHF的放射性缀合物的SPECT/CT扫描; (B) 基于6S-5-MTHF的放射性缀合物的SPECT/CT扫描; Tu=KB肿瘤; Ki=肾脏; H=心脏。

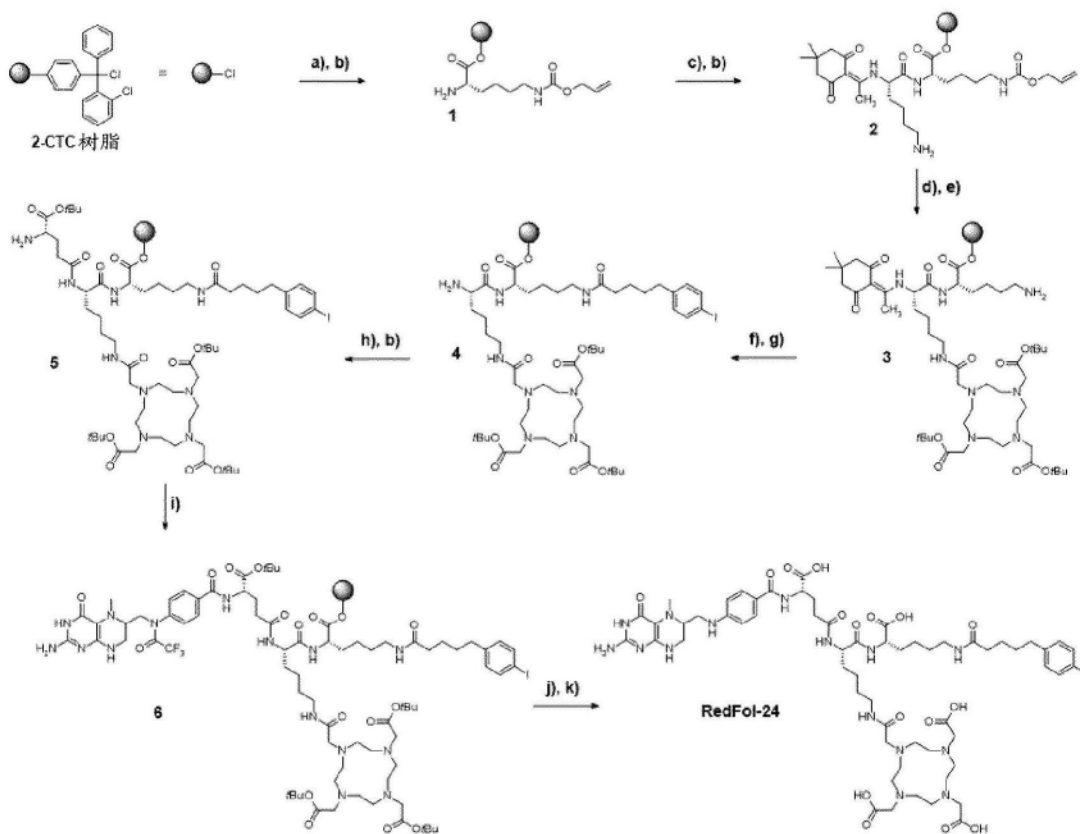


图1

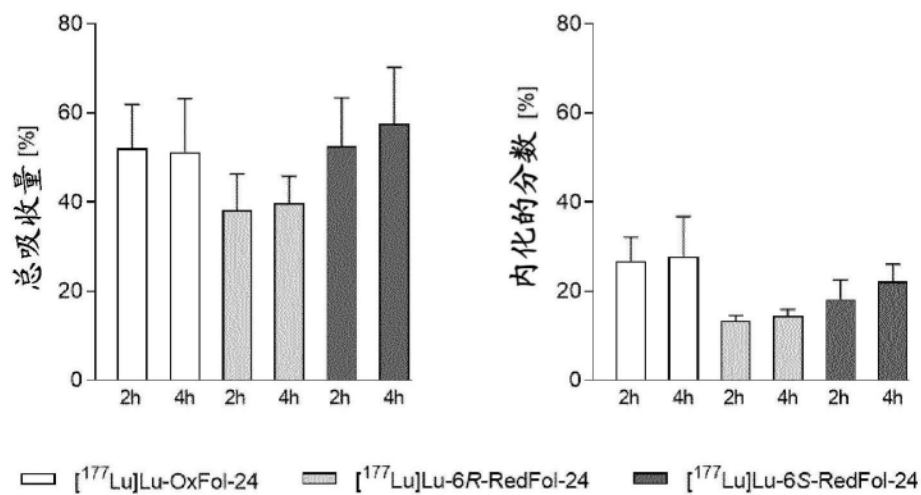


图2

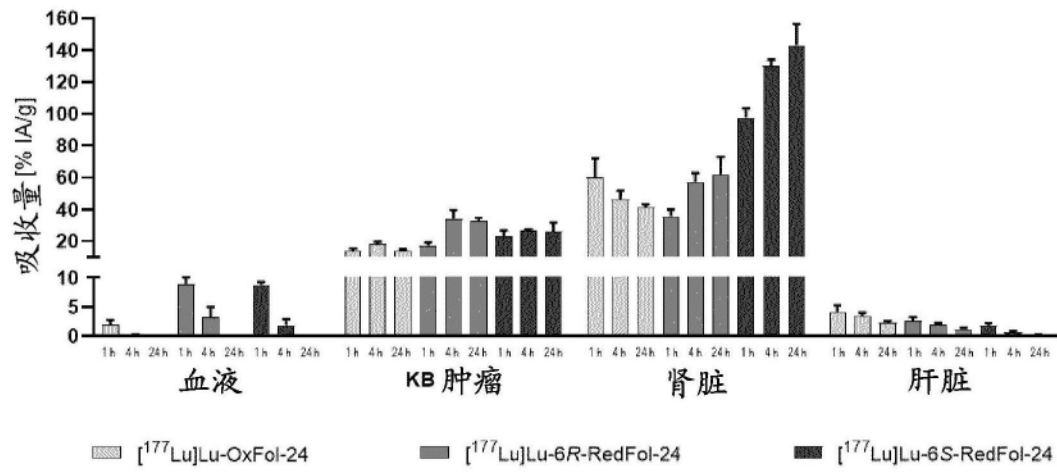


图3

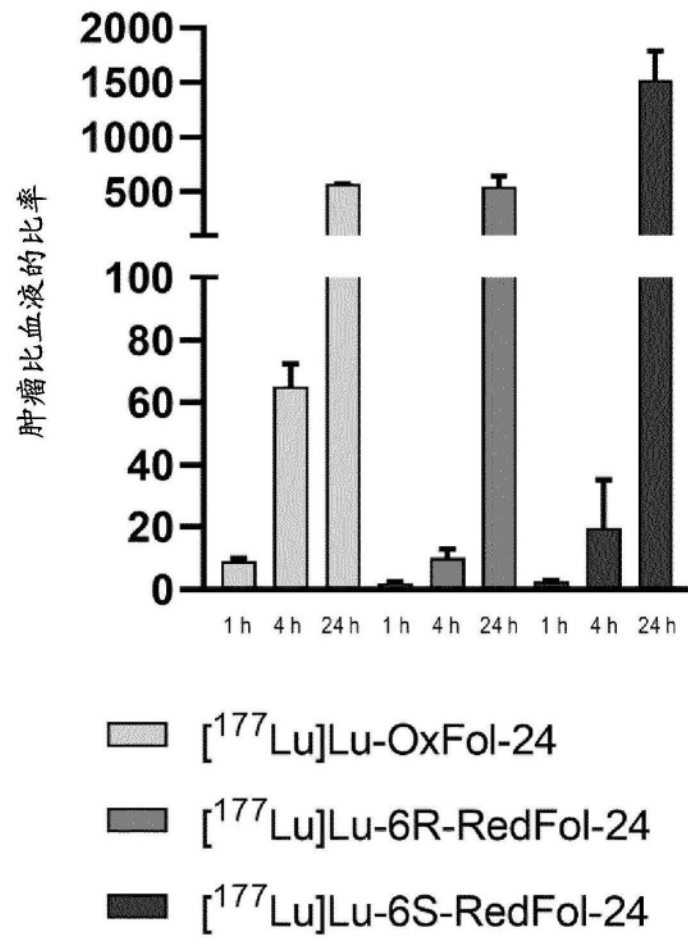


图4

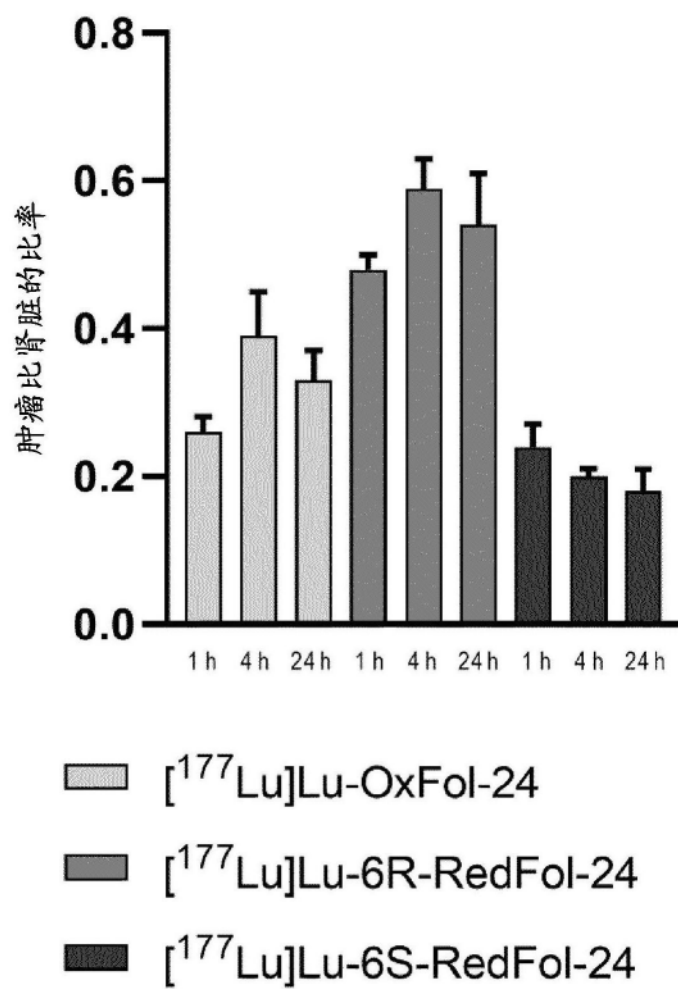


图5

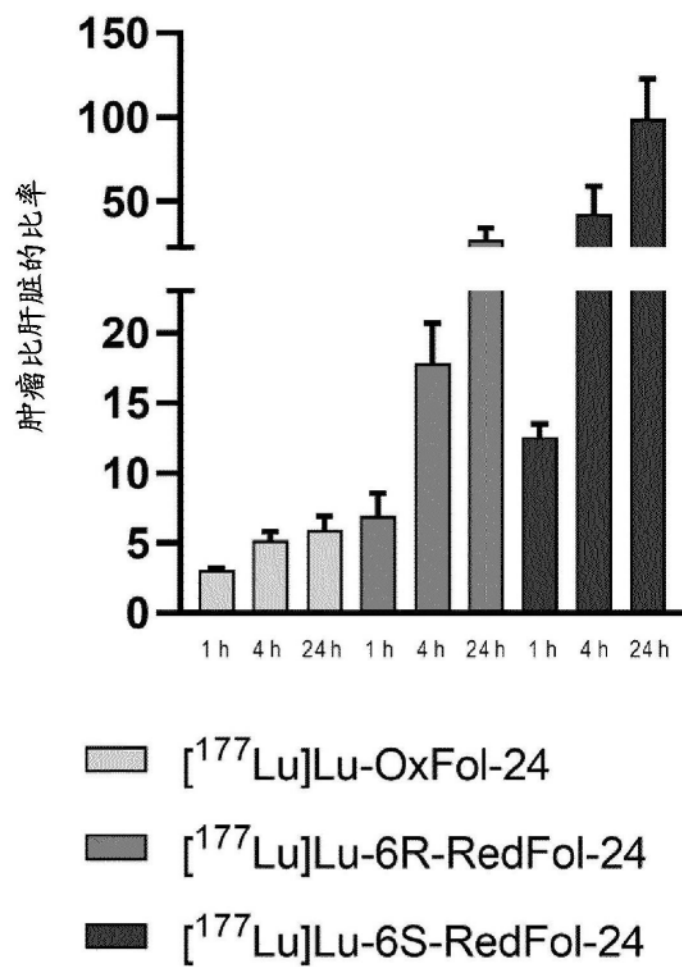


图6

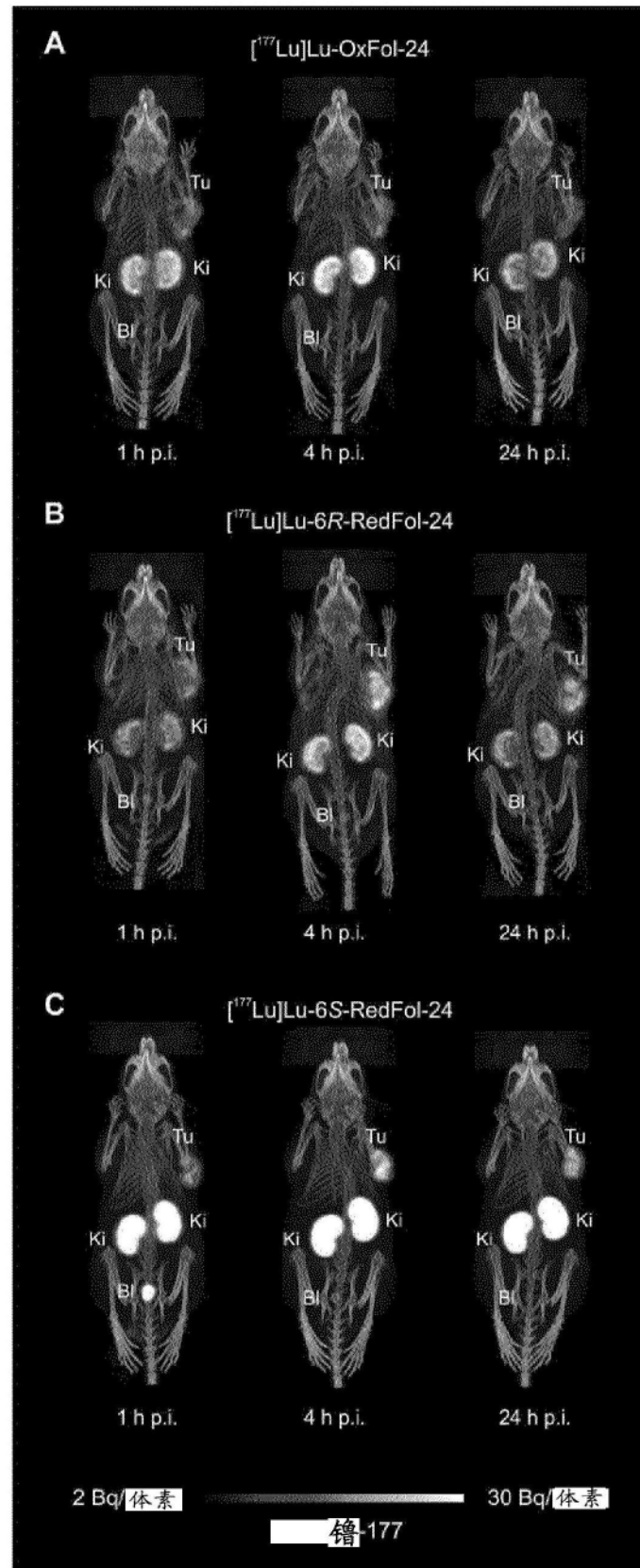


图7