

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 49/00 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200380108715.9

[43] 公开日 2006年2月22日

[11] 公开号 CN 1738650A

[22] 申请日 2003.12.24

[21] 申请号 200380108715.9

[30] 优先权

[32] 2003.1.13 [33] US [31] 10/341,577

[86] 国际申请 PCT/US2003/041328 2003.12.24

[87] 国际公布 WO2004/065407 英 2004.8.5

[85] 进入国家阶段日期 2005.7.13

[71] 申请人 伯拉考成像股份公司

地址 意大利米兰

[72] 发明人 E·卡普勒缇 L·拉图阿达

K·E·林德 E·玛利尼里

P·南雅潘 N·拉俞

R·E·斯文森 M·特维德勒

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所
代理人 陈轶兰

权利要求书 30 页 说明书 142 页 附图 48 页

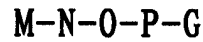
[54] 发明名称

改进的胃泌素释放肽化合物

[57] 摘要

具有式 M - N - O - P - G 的用于诊断成像或治疗的新的和改进的化合物，其中 M 为光标记或金属螯合剂(与金属放射性核素络合或不络合的形式)，N - O - P 为连接基，G 为 GRP 受体靶向肽。还提供用本发明的化合物对患者成像和/或对患者提供放射治疗或光治疗的方法。还提供由所述化合物制备诊断显像剂的方法和试剂盒。还提供用于制备放射治疗剂的方法和试剂盒。

1. 以下通式的化合物:



其中

M 为光标记或金属螯合剂, 任选与放射性核素络合;

N 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基;

O 为 α 或非 α -氨基酸; 和

P 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基, 和

G 为 GRP 受体靶向肽,

其中 N、O 或 P 中至少一个为非 α -氨基酸。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 G 为激动剂或赋予激动剂活性的肽。

3. 权利要求 1 的化合物, 其中非 α -氨基酸选自:

8-氨基-3,6-二氧杂辛酸;

N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪-乙酸; 和

具有式 $NH_2-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CO_2H$ 或 $NH_2-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2CO_2H$ 的聚乙二醇衍生物, 其中 $n=2-100$ 。

4. 权利要求 1 的化合物, 其中所述金属螯合剂选自 DTPA、DOTA、DO3A、HP-DO3A、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM 和 CMDOTA。

5. 权利要求 1 的化合物, 其中所述金属螯合剂选自:

N,N-二甲基 Gly-Ser-Cys;

N, N-二甲基 Gly-Thr-Cys;
N, N-二乙基 Gly-Ser-Cys; 和
N, N-二苄基 Gly-Ser-Cys.

6. 权利要求 1 的化合物, 其中所述的金属螯合剂选自:

N, N-二甲基 Gly-Ser-Cys-Gly;
N, N-二甲基 Gly-Thr-Cys-Gly;
N, N-二乙基 Gly-Ser-Cys-Gly; 和
N, N-二苄基 Gly-Ser-Cys-Gly.

7. 权利要求 1 的化合物, 选自:

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Lys-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Arg-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Asp-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Ser-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Gly-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Glu-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Dala-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-Lys-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-Arg-BBN (7-14), 其中 BBN (7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Glu-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Dala-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-二氨基丙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-Asp-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Asp-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Ser-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Arg-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ.

ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-二氨基丙酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Lys-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-2,3-二氨基丙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-2,3-二氨基丙酸 BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-4-羟基脯氨酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-4-氨基脯氨酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-Lys-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-Arg-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-Ser-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-Asp-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Asp-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Ser-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Arg-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-二氨基丙酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID

NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Lys-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1; 和

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

8. 权利要求 1 的化合物, 选自:

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Lys-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Arg-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Asp-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Ser-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Glu-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Dala-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸

-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Glu-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Dala-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨
基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-
二氨基丙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-
二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Asp-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Asp-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Ser-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸
-Arg-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨
基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID
NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-
二氨基丙酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸

- Lys-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-2,3-二氨基丙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Asp-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Ser-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-2,3-二氨基丙酸 BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-N-1-哌嗪乙酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;
- N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-4-羟基脯氨酸-8-氨基-3,6-二

氧杂辛酸-**BBN(7-14)**，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-4-氨基脯氨酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Lys-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Arg-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Ser-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-Asp-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Asp-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Ser-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Arg-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-2,3-二氨基丙酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1;

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Lys-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1; 和

N,N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly-2,3-二氨基丙酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-Gly-BBN(7-14)****，其中 **BBN(7-14)** 序列为 SEQ. ID NO: 1.

9. 权利要求 1 的化合物，选自：

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-二氨基丙酸-BBN(7-14)****，

其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-联苯丙氨酸-BBN(7-14),
其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-二苯丙氨酸-BBN(7-14),
其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-4-苯甲酰基苯丙氨酸
-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-5-氨基戊酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14),
其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-D-苯丙氨酸-BBN(7-14),
其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1; 和

D03A-一酰胺-8-氨基辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-BBN(7-14),
其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

10. 权利要求 1、2 或 3 任一项的化合物, 其中所述的光标记选自有机发色团、有机荧光团、光吸收化合物、光反射化合物、光散射化合物和生物发光分子。

11. 一种成像的方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含其中 M 为与诊断性放射性核素络合的金属螯合剂的权利要求 1 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

12. 一种成像的方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含与诊断性放射性核素络合的权利要求 8 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

13. 一种成像的方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含其中 M 为光标记的权利要求 1 的化合物的诊断显像剂，和
对该患者成像。

14. 一种成像的方法，所述方法包括步骤：
给患者施用包含权利要求 10 的化合物的诊断显像剂，并
对该患者成像。

15. 一种制备诊断显像剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射
介质加入包含权利要求 1 的化合物的物质。

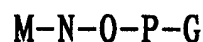
16. 一种治疗患者的方法，所述方法包括步骤：给患者施用包含
与治疗性放射性核素络合的权利要求 7、8 或 9 的化合物的放射治疗剂。

17. 一种治疗患者的方法，所述方法包括步骤：给患者施用包含
与治疗性放射性核素络合的权利要求 4 的化合物的放射治疗剂。

18. 一种制备放射治疗剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射
介质加入包含权利要求 7、8 或 9 的化合物的物质。

19. 一种制备放射治疗剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射
介质加入包含权利要求 4 的化合物的物质。

20. 以下通式的化合物：



其中

M 为光标记或金属螯合剂，任选与放射性核素络合；

N 为 0、 α -氨基酸、取代的胆汁酸或其它连接基；
O 为 α -氨基酸或取代的胆汁酸；和
P 为 0、 α -氨基酸、取代的胆汁酸或其它连接基；和
G 为 GRP 受体靶向肽，和
其中 N、O 或 P 中至少一个为取代的胆汁酸。

21. 权利要求 20 的化合物，其中 G 为激动剂或赋予激动剂活性的肽。

22. 权利要求 20 的化合物，其中所述取代的胆汁酸选自：

3 β -氨基-3-脱氧胆酸；

(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸；

(3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷-24-酸；

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸；

Lys-(3, 6, 9)-三氧杂十一烷-1, 11-二羰基-3, 7-二脱氧-3-氨基胆酸)；

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7-羟基-12-氧代胆烷-24-酸；和

(3 β , 5 β , 7 α)-3-氨基-7-羟基胆烷-24-酸。

23. 权利要求 20 的化合物，其中 M 选自：DTPA、DOTA、DO3A、HPDO3A、EDTA、TETA 和 CMDOTA。

24. 权利要求 20 的化合物，其中 M 选自 EHPG 及其衍生物。

25. 权利要求 20 的化合物，其中 M 选自 5-C1-EHPG、5-Br-EHPG、5-Me-EHPG、5-t-Bu-EHPG 和 5-sec-Bu-EHPG。

26. 权利要求 20 的化合物，其中 M 选自苯并二亚乙基三胺五乙酸(苯并-DTPA)及其衍生物。

27. 权利要求 20 的化合物,其中 M 选自二苯并-DTPA、苯基-DTPA、二苯基-DTPA、苜基-DTPA 和二苜基 DTPA。

28. 权利要求 20 的化合物,其中 M 选自 HBED 及其衍生物。

29. 权利要求 20 的化合物,其中 M 为包含至少 3 个碳原子和至少 2 个杂原子(O 和/或 N)的大环化合物,所述大环化合物可以由 1 个环,或者在杂环元素处结合在一起的 2 或 3 个环组成。

30. 权利要求 20 的化合物,其中 M 选自苯并-DOXA、二苯并-DOXA 和苯并-NOTA、苯并-TETA、苯并-DOTMA 和苯并-TETMA。

31. 权利要求 20 的化合物,其中 M 选自 1,3-丙二胺四乙酸(PDTA)和三亚乙基四胺六乙酸(TTHA)的衍生物; 1,5,10-N,N',N''-三(2,3-二羟基苯甲酰基)-三儿茶酸酯(LICAM)和 1,3,5-N,N',N''-三(2,3-二羟基苯甲酰基)氨基甲基苯(MECAM)的衍生物。

32. 权利要求 20 的化合物,选自:

D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7,12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-Lys-(3,6,9)-三氧杂十一烷-1,11-二羰基-3,7-二脱氧-3-氨基胆酸)-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7,12-二羟基胆烷-24-酸-3,6,9-三氧

杂十一烷-1, 11-二羧基 Lys (D03A-一酰胺-Gly)-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1; 和

D03A-一酰胺-1-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

33. 权利要求 20、21 或 22 任一项的化合物, 其中光标记选自有机发色团、有机荧光团、光吸收化合物、光反射化合物、光散射化合物和生物发光分子。

34. 一种成像方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含其中 M 为与诊断性放射性核素络合的金属螯合剂的权利要求 20 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

35. 一种成像方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含权利要求 32 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

36. 一种成像方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含其中 M 为光标记的权利要求 20 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

37. 一种成像方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含权利要求 33 的化合物的诊断显像剂, 和
对该患者成像。

38. 一种制备诊断显像剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含权利要求 20 的化合物的物质。

39. 一种治疗患者的方法，所述方法包括步骤：给患者施用包含与治疗性放射性核素络合的权利要求 20 的化合物的放射治疗剂。

40. 一种制备放射治疗剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含权利要求 20 的化合物的物质。

41. 化合物 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)，其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1。

42. 一种成像方法，所述方法包括步骤：

给患者施用包含与诊断性放射性核素络合的 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)的诊断显像剂，其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1，和对该患者成像。

43. 一种制备诊断显像剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的化合物，其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1。

44. 一种治疗患者的方法，所述方法包括步骤：给患者施用包含与治疗性放射性核素络合的权利要求 41 的化合物的放射治疗剂。

45. 一种制备放射治疗剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含权利要求 41 的化合物的物质。

46. 化合物 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

47. 一种成像方法, 所述方法包括步骤:

给患者施用包含与诊断性放射性核素络合的 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的诊断显像剂, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 和

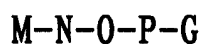
对该患者成像。

48. 一种制备诊断显像剂的方法, 所述方法包括步骤: 向可注射介质加入包含 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的化合物, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

49. 一种治疗患者的方法, 所述方法包括步骤: 给患者施用包含与治疗性放射性核素络合的权利要求 46 的化合物的放射治疗剂。

50. 一种制备放射治疗剂的方法, 所述方法包括步骤: 向可注射介质加入包含权利要求 46 的化合物的物质。

51. 以下通式的化合物:



其中

M 为光标记或任选与放射性核素络合的金属螯合剂;

N 为 0、 α -氨基酸、具有环状基团的非 α -氨基酸或其它连接基;

O 为 α -氨基酸或具有环状基团的非 α -氨基酸;

P 为 0、 α -氨基酸、具有环状基团的非 α -氨基酸或其它连接基;

和

G 为 GRP 受体靶向肽，
其中 N、O 或 P 中至少一个为具有环状基团的非 α -氨基酸。

52. 权利要求 51 的化合物，其中 G 为激动剂或赋予激动剂活性的肽。

53. 权利要求 51 的化合物，其中具有环状基团的非 α -氨基酸选自：

4-氨基苯甲酸；

4-氨基甲基苯甲酸；

反式-4-氨基甲基环己烷甲酸；

4-(2-氨基乙氧基)苯甲酸；

六氢异烟酸；

2-氨基甲基苯甲酸；

4-氨基-3-硝基苯甲酸；

4-(3-羧甲基-2-酮-1-苯并咪唑基)-哌啶；

6-(哌嗪-1-基)-4-(3H)-喹唑啉酮-3-乙酸；

(2S, 5S)-5-氨基-1, 2, 4, 5, 6, 7-六氢-吡啶因并[3, 21-hi]吲哚-4-酮-2-甲酸；

(4S, 7R)-4-氨基-6-氮杂-5-氧代-9-硫杂二环[4.3.0]壬烷-7-甲酸；

3-羧甲基-1-苯基-1, 3, 8-三氮杂螺[4.5]癸烷-4-酮；

N1-哌嗪乙酸；

N-4-氨基乙基-N-1-乙酸；

(3S)-3-氨基-1-羧甲基己内酰胺； 和

(2S, 6S, 9)-6-氨基-2-羧甲基-3, 8-二氮杂二环[4, 3, 0]-壬烷-1, 4-二酮。

54. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自: DTPA、DOTA、D03A、HPD03A、EDTA 和 TETA。

55. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自 EHPG 及其衍生物。

56. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自 5-Cl-EHPG、5-Br-EHPG、5-Me-EHPG、5-t-Bu-EHPG 和 5-sec-Bu-EHPG。

57. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自苯并二亚乙基三胺五乙酸(苯并-DTPA)及其衍生物。

58. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自二苯并-DTPA、苯基-DTPA、二苯基-DTPA、苄基-DTPA 和二苄基 DTPA。

59. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自 HBED 及其衍生物。

60. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 为包含至少 3 个碳原子和至少 2 个杂原子(O 和/或 N)的大环化合物, 所述大环化合物可以由 1 个环, 或者在杂环元素处结合在一起的 2 或 3 个环组成

61. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自苯并-DOTA、二苯并-DOTA 和苯并-NOTA、苯并-TETA、苯并-DOTMA 和苯并-TETMA。

62. 权利要求 51 的化合物, 其中 M 选自 1, 3-丙二胺四乙酸(PDTA)和三亚乙基四胺六乙酸(TTHA)的衍生物; 1, 5, 10-N, N', N"-三(2, 3-二羟基苯甲酰基)-三儿茶酸酯(LICAM)和 1, 3, 5-N, N', N"-三(2, 3-二羟基苯甲酰基)氨基甲基苯(MECAM)的衍生物。

63. 权利要求 51 的化合物, 选自

D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-氨基甲基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己基甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-(2-氨基乙氧基)苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-六氢异烟酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-2-氨基甲基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-氨基甲基-3-硝基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-1-萘基丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-(3-羧甲基-2-酮-1-苯并咪唑基-哌啶-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-6-(哌嗪-1-基)-4-(3H)-喹唑啉酮-3-乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-(2S, 5S)-5-氨基-1, 2, 4, 5, 6, 7-六氢-吡啶因并[3, 21-hi]吡啶-4-酮-2-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-(4S, 7R)-4-氨基-6-氮杂-5-氧代-9-硫杂二环[4.3.0]壬烷-7-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-N,N-二甲基甘氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-3-羧甲基-1-苯基-1, 3, 8-三氮杂螺[4.5]癸烷-4-酮

-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-N1-哌嗪乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-(3S)-3-氨基-1-羧甲基己内酰胺-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-(2S, 6S, 9)-6-氨基-2-羧甲基-3, 8-二氮杂二环-[4, 3, 0]-壬烷-1, 4-二酮-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-5-氨基戊酸-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-D-苯丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-氨基甲基苯甲酸-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-苯甲酰基-(L)-苯丙氨酸-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-Arg-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-Lys-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-二苯丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-1-萘基丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-Ser-BBN(7-14),

其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-2,3-二氨基丙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-联苯丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-(2S, 5S)-5-氨基-1,2,4,5,6,7-六氢-吡啶因并[3,21-hi]吡啶-4-酮-2-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-苯丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-苯丙氨酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-8-氨基辛酸-反式-4-氨基甲基环己烷-1-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4'-氨基甲基-联苯-1-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-3'-氨基甲基-联苯-3-甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

CMDOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-4-氨基甲基苯氧基乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯基乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

HPD03A-4-苯氧基-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A-一酰胺-3-氨基甲基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序

列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A--酰胺-4-氨基甲基苯基乙酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

D03A--酰胺-4-氨基甲基-3-甲氧基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1;

Boa-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly, -4-胍基苯甲酰基-BBN(7-14)

D03A--酰胺-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-4-氨基苯甲酸-Gly-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-6-氨基烟酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-4'-氨基-2'-甲基联苯-4-甲酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-3'-氨基联苯-3-甲酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-1, 2-二氨基乙基-对苯二酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-EWAVGHLM-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QWAVGHLM-OH

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-(D)-Phe-BBN(7-14)

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QRLGNQWAVGHLM-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QRYGNQWAVGHLM-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QKYGNQWAVGHLM-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-结构见图表

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-(D)-Phe-QWAVGHL-NH-戊基

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QWSVaHLM-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-(D)-Phe-QWAVGHLL-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-(D)-Tyr-QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-Phe-QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QWAGHFL-NH₂

D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-LWAVGSFM-NH₂

- D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-HWAVGHLM-NH₂
- D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-LWAVGSFM-NH₂
- D03A--酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-QWAVGHFM-NH₂
- D03A--酰胺-Gly-3-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-6-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-4-甲基氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- Cm4pm10d2a-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys (Acm)-Gly-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-3-甲氧基-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-3-氟-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-3-甲基-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- D03A--酰胺-Gly-3-羟基-4-氨基苯甲酸-BBN (7-14)
- (D03A--酰胺)₂-N, N'-双(2-氨基乙基)-琥珀酰胺酸-BBN (7-14)。

64. 权利要求 51、52 或 53 之任一项的化合物，其中光标记选自有机发色团、有机荧光团、光吸收化合物、光反射化合物、光散射化合物和生物发光分子。

65. 一种成像方法，所述方法包括步骤：

给患者施用包含权利要求 51 的化合物的诊断显像剂，其中 M 为与诊断性放射性核素络合的金属螯合剂，和对该患者成像。

66. 一种成像方法，所述方法包括步骤：

给患者施用包含权利要求 63 的化合物的诊断显像剂，和对该患者成像。

67. 一种成像方法，所述方法包括步骤：

给患者施用包含权利要求 51 的化合物的诊断显像剂，其中 M 为光标记，和
对该患者成像。

68. 一种制备诊断显像剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含权利要求 51 的化合物的物质。

69. 一种治疗患者的方法，所述方法包括步骤：给患者施用包含与治疗性放射性核素络合的权利要求 51 的化合物的放射治疗剂。

70. 一种制备放射治疗剂的方法，所述方法包括步骤：向可注射介质加入包含权利要求 51 的化合物的物质。

71. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)的方法，其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1，所述方法包括步骤：

(a) 在固相肽合成容器中振荡溶液，该溶液包含树脂和至少一种肽构建成分，

(b) 冲洗该溶液，和

(c) 用 DMA 洗涤该树脂，

其中所述至少一种肽构建成分包括 DMA、吗啉、(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸、HOBT、DIC、HATU 或其混合物，而且

其中重复各步骤 (a)、(b) 和 (c) 直至得到化合物 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)，其中 BBN(7-14) 序列为 SEQ. ID NO: 1。

72. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法包括步骤:

(a) 在固相肽合成容器或反应区振荡溶液, 该溶液包含树脂和至少一种肽构建成分,

(b) 冲洗该溶液, 和

(c) 用 DMA 洗涤该树脂,

其中所述至少一种肽构建成分包括 DMA、吗啉、Fmoc-4-氨基苯甲酸、HOBT、DIC、HBTU、HATU 或其混合物, 且

其中重复各个步骤(a)、(b)和(c)直至得到化合物 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1.

73. 一种用于标记 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法包括步骤:

温育第一溶液, 其包含

D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14), 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1,

乙酸铵,

选自 $^{177}\text{LuCl}_3$ 或 $^{111}\text{InCl}_3$ 的放射性金属前体,

HCl;

并往该第一溶液加入包含 $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和水的第二溶液以得到大于 95%的放射化学纯度。

74. 一种用于标记 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法包括步骤:

温育第一溶液, 其包含

其中的 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1 的 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)、乙酸铵、选自 $^{177}\text{LuCl}_3$ 或 $^{111}\text{InCl}_3$ 的放射性金

属前体、HCl,

并往该第一溶液加入包含 $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和水的第二溶液以得到大于 95%的放射化学纯度。

75. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法是通过在溶液中, 偶联各个氨基酸、受保护的氨基酸或修饰的氨基酸, 并在偶联步骤之前或之后用试剂或加工步骤进行任何需要的附加处理。

76. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法是通过在溶液或固相上, 或者通过组合的溶液和固相合成步骤和方法, 分段偶联修饰的、受保护的、未受保护的或以其它方式可变的肽片段, 并在偶联步骤之前或之后用试剂或加工步骤进行任何需要的附加处理。

77. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法是通过在溶液中, 偶联各个氨基酸、受保护的氨基酸或修饰的氨基酸, 并在偶联步骤之前或之后用试剂或加工步骤进行任何需要的附加处理。

78. 一种合成 D03A-一酰胺-Gly-4-氨基苯甲酸-BBN(7-14)的方法, 其中 BBN(7-14)序列为 SEQ. ID NO: 1, 所述方法是通过在溶液或固相上, 或者通过组合的溶液和固相合成步骤和方法, 分段偶联修饰的、受保护的、未受保护的或以其它方式可变的肽片段, 并在偶联步骤之前或之后用试剂或加工步骤进行任何需要的附加处理。

79. 以下通式的化合物:

M-N-O-P-G

其中

M 为 D03A, 任选与放射性核素络合;

N 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基;

O 为 α 或非 α -氨基酸; 和

P 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基; 和

G 为 GRP 受体靶向肽,

其中 N、O 或 P 中至少一个为 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸。

80. 权利要求 79 的化合物, 其中 GRP 受体靶向肽选自:

QWAVGHLM-OH、QRLGNQWAVGHLM-NH₂、QRYGNQWAVGHLM-NH₂、
QKYGNQWAVGHLM-NH₂、QWAVGHL-NH-戊基、QWSVaHLM-NH₂、QWAVGHLL-NH₂、
QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAGHFL-NH₂、
LWAVGSFM-NH₂、HWAVGHLM-NH₂、LWAVGSFM-NH₂和 QWAVGHFM-NH₂。

81. 以下通式的化合物:

M-N-O-P-G

其中

M 为 D03A, 任选与放射性核素络合;

N 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基;

O 为 α 或非 α -氨基酸; 和

P 为 O、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基; 和

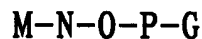
G 为 GRP 受体靶向肽,

其中 N、O 或 P 中至少一个为 (3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷

-24-酸。

82. 权利要求 81 的化合物，其中 GRP 受体靶向肽选自 QWAVGHLM-OH、QRLGNQWAVGHLM-NH₂、QRYGNQWAVGHLM-NH₂、QKYGNQWAVGHLM-NH₂、QWAVGHL-NH-戊基、QWSVaHLM-NH₂、QWAVGHLL-NH₂、QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAGHFL-NH₂、LWAVGSFM-NH₂、HWAUGHLM-NH₂、LWAVGSFM-NH₂ 和 QWAVGHFM-NH₂。

83. 以下通式的化合物：



其中

M 为 D03A，任选与放射性核素络合；

N 为 0、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基；

O 为 α 或非 α -氨基酸；和

P 为 0、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基；和

G 为 GRP 受体靶向肽，

其中 N、O 或 P 中至少一个为 4-氨基苯甲酸。

84. 权利要求 83 的化合物，其中 GRP 受体靶向肽选自 QWAVGHLM-OH、QRLGNQWAVGHLM-NH₂、QRYGNQWAVGHLM-NH₂、QKYGNQWAVGHLM-NH₂、QWAVGHL-NH-戊基、QWSVaHLM-NH₂、QWAVGHLL-NH₂、QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAV-Ba1a-HF-N1e-NH₂、QWAGHFL-NH₂、LWAVGSFM-NH₂、HWAUGHLM-NH₂、LWAVGSFM-NH₂ 和 QWAVGHFM-NH₂。

85. 一种光治疗方法，所述方法包括给患者施用权利要求 1、20

或 51 之任一项目的化合物，其中 M 为用于光治疗的光标记。

86. 权利要求 51 的化合物，选自：

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-W-A-V-a-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-L-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-NH-戊基

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-y-Q-W-A-V-Bala-H-F-Nle-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-f-Q-W-A-V-Bala-H-F-Nle-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-W-A-V-Gly-H-F-L-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-W-A-V-Gly-NMeHis-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-L-W-A-V-Gly-S-F-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-H-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-L-W-A-T-Gly-H-F-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-W-A-V-Gly-H-F-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-R-L-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-R-Y-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸-Q-K-Y-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

Pglu-Q-Lys (DOTA-Gly-4-氨基苯甲酸)-L-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-W-A-V-a-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-L-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-f-Q-W-A-V-Gly-H-L-NH-戊基

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-y-Q-W-A-V-Bala-H-F-Nle-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-f-Q-W-A-V-Bala-H-F-Nle-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-W-A-V-Gly-H-F-L-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-W-A-V-Gly-NMeHis-L-M-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-L-W-A-V-Gly-S-F-M-NH₂

DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-H-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂
DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-L-W-A-T-Gly-H-F-M-NH₂
DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-W-A-V-Gly-H-F-M-NH₂
DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-R-L-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂
DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-R-Y-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂
DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸-Q-K-Y-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂
Pglu-Q-Lys (DOTA-Gly-3-氨基-3-脱氧胆酸)-L-Gly-N-Q-W-A-V-Gly-H-L-M-NH₂。

87. 权利要求 16、17、39、44、49 或 69 之任一项的方法，所述方法还包括施用化学治疗剂或其它治疗剂。

改进的胃泌素释放肽化合物

相关申请的交叉参考

本申请要求 2003 年 1 月 13 日提交的美国临时申请 10/341,577 的申请日的优先权。

发明领域

本发明涉及用作诊断显像剂或放射治疗剂的新胃泌素释放肽 (GRP) 化合物。这些 GRP 化合物用放射性核素或可通过体内光成像来检测的标记物进行标记，并包括使用在标记和靶向肽之间的新连接基提供改进的药代动力学。

发明背景

已知放射性药物 (例如诊断显像剂、放射治疗剂) 用于检测和治疗癌症的应用。近年来，已发现许多用于癌症检测和/或治疗的部位定向放射性药物，并这些发现随着药学专业更好地评价这些化合物的特异性、效力和效用而继续增加。

这些较新的放射性药剂通常由与金属螯合剂连接的靶向剂组成，它们可以与诊断性金属放射性核素如镓或铟，或者治疗性金属放射性核素如镭、钷或铈螯合 (例如络合)。金属螯合剂的作用是在放射性药剂递送至目标部位时保留 (即螯合) 金属放射性核素。不与金属放射性核素强结合的金属螯合剂将使放射性药剂对其目标应用无效，因为金属放射性核素因此而不能到达它的目标部位。因此，进一步的研发导致发现金属螯合剂，例如 Pollak 等人的美国专利 5,662,885 报道 (该文献被引用作为参考)，所述螯合剂表现出对金属放射性核素的强结

合亲和力和与靶向剂缀合的能力。因此，使用“间隔基”以在金属螯合剂和靶向剂之间建立物理分隔的概念被进一步引入，例如在 Pollak 等人的美国专利 5,976,495 中，所述文献在此被引入作为参考。

靶向剂由于其对某些结合部位的亲和力而起到的作用在于将诊断剂，例如包含金属放射性核素的放射性药剂导向至检测或治疗的目标部位。典型地，靶向剂可以包括表现出对给定受体具有特异性亲和力的蛋白、肽或其它大分子。其它已知的靶向剂包括单克隆抗体 (MAbs)、抗体片段 (Fab' s 和 (Fab)₂' s) 和受体-亲和肽。Donald J. Buchsbaum, "Cancer Therapy with Radiolabeled Antibodies; Pharmacokinetics of Antibodies and Their Radiolabels; Experimental Radioimmunotherapy and Methods to Increase Therapeutic Efficacy," CRC Press, Boca Raton, Chapter 10, pp. 115-140, (1995); Fischman 等人, "A Ticket to Ride: Peptide Radiopharmaceuticals," *The Journal of Nuclear Medicine*, vol. 34, No. 12, (Dec. 1993)。

近几年来，已认识到某些癌细胞包含胃泌素释放肽 (GRP) 受体 (GRP-R)，其具有多种亚型。具体而言，已表明某些类型的癌细胞具有超表达或独特表达的 GRP 受体。由于这个原因，已完成许多有关与 GRP 受体家族结合的 GRP 和 GRP 类似物的调查和研究。一种这样的类似物是蛙皮素 (BBN)，一种从蛙皮肤分离的 14 个氨基酸的肽 (即十四肽)，它类似于人 GRP，并以高度特异性与 GRP 受体结合，并具有类似于 GRP 的亲和力。

蛙皮素和 GRP 类似物可以是激动剂或拮抗剂的形式。GRP 或 BBN 激动剂与 GRP 受体的结合增加这些癌细胞的细胞分裂速率，且这些激动剂被细胞内化，而 GRP 或 BBN 拮抗剂的结合通常不导致细胞内化或增加细胞分裂速率。这些拮抗剂被设计用于竞争性抑制与 GRP 受体的内源性 GRP 结合，并减小癌细胞增殖的速率。例如参见 Hoffken, K.; *Peptides in Oncology II, Somatostatin Analogues and Bombesin Antagonists* (1993), pp. 87-112。为此原因，大量工作已经并正在

进行，意在研发作为拮抗剂的 BBN 或 GRP 类似物。例如 Davis 等人，*Metabolic Stability and Tumor Inhibition of Bombesin/GRP Receptor Antagonists, Peptides*, vol. 13, pp. 401-407, 1992。

在设计用作癌症的诊断或治疗剂的有效化合物中，药物具有合适的体内靶向和药代动力学性能是重要的。例如，优选放射性药物、放射性标记肽被癌细胞高度特异性地摄取(例如通过 GRP 受体)。此外，还优选一旦放射性核素定位在癌部位，则其在那儿保留需要量的时间以将高度局部化的放射剂量递送至该部位。

而且，研发从正常组织有效清除的放射性标记肽对于放射性药剂来说也是一个重要的因素。如果给动物例如人施用用金属放射性核素标记(通过螯合物缀合)的生物分子(例如 MAb、F_{ab} 或肽)，则大量的金属放射性核素(某些化学形式)可能“截留”在肾或肝实质中(即没有排泄进入尿或胆汁)。Duncan 等人，*Indium-111-Diethylenetriaminepentaacetic Acid-Octreotide Is Delivered in Vivo to Pancreatic, Tumor Cell, Renal and Hepatocyte Lysosomes*, *Cancer Research* 57, pp. 659-671, (Feb. 15, 1997)。对于较小的放射性标记的生物分子(即肽或 F_{ab})，主要的活性清除途径是通过肾，而肾也可能保留高水平的放射性金属(即通常>10-15%的注射剂量)。在肾或肝中保留金属放射性核素显然是不期望的。相反，如果需要较长的诊断成像或放射治疗高肿瘤摄入，则通过肾过快地从血流中清除放射性药物也是不期望的。

随后的工作，例如 Hoffinan 等人的美国专利 6,200,546 和 US 2002/0054855 的工作(所述文献在此被引用作为参考)已尝试通过形成具有通式 X-Y-B 的化合物来克服这个问题，其中 X 为能够络合金属的基团，Y 为间隔基上的共价键，而 B 为蛙皮素激动剂结合部分。据报道这些化合物对 GRP 受体具有高结合亲和力，且其放射性在细胞内长时间地保持。此外，正常小鼠的体内研究已表明肾中保留的放射性金属低于本领域现有技术中已知的水平，大部分的放射性排泄进入尿。

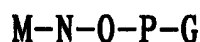
现已发现，具有改进的药代动力学和改进的肾排泄(即放射性金属

在肾中较少保留)的新的和改进的放射性药物和其它诊断化合物用于诊断成像和治疗应用。为进行诊断成像,快速肾排泄和低放射性保留水平对于改进成像是关键。为进行放射治疗应用,减缓血液清除率以允许较高的肿瘤摄入和较好的肿瘤靶向以及低肾保留是关键。

发明概述

在本发明的一个实施方案中,提供用于诊断成像或放射治疗的新的和改进的化合物。所述化合物包括通过连接基或间隔基与 GRP 受体靶向肽连接的能够络合药用金属离子或放射性核素的化学部分(金属螯合剂)。在另一个实施方案中,这些化合物包括通过连接基或间隔基连接到 GRP 受体靶向肽上的光标记(optical label)(例如光标记(photolabel)或可通过光成像、光声成像或光致发光检测的其它标记)。

总体而言,本发明的化合物可以具有下式:



其中 M 为金属螯合剂(与金属放射性核素络合或不络合的形式)或光标记, N-O-P 为连接基,而 G 为 GRP 受体靶向肽。

金属螯合剂 M 可以是本领域中已知用于与药用金属离子或放射性核素络合的任何金属螯合剂。优选的螯合剂包括 DTPA、DOTA、DO3A、HP-DO3A、EDTA、TETA、EHPG、HBED、NOTA、DOTMA、TETMA、PDTA、TTHA、LICAM、MECAM 或肽螯合剂,例如本文讨论的螯合剂。所述金属螯合剂可以与金属放射性核素络合或不络合,并可以包括任选存在的间隔基如单一氨基酸。用于闪烁扫描术或放射治疗的优选的金属放射性核素包括 ^{99m}Tc 、 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{47}Sc 、 ^{51}Cr 、 ^{167}Tm 、 ^{141}Ce 、 ^{111}In 、 ^{168}Yb 、

¹⁷⁵Yb、¹⁴⁰La、⁹⁰Y、⁸⁸Y、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Dy、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁹⁷Ru、¹⁰³Ru、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²⁰³Pb、²¹¹Bi、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹⁴Bi、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁶¹Tb、¹⁷⁷Lu、¹⁹⁸Au 和 ¹⁹⁹Au。金属的选择根据目标治疗或诊断应用来确定。例如，为诊断目的，优选的放射性核素包括 ⁶⁴Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、^{99m}Tc 和 ¹¹¹In，特别优选 ^{99m}Tc 和 ¹¹¹In。为治疗目的，优选的放射性核素包括 ⁶⁴Cu、⁹⁰Y、¹⁰⁵Rh、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁵³Sm、¹⁶¹Tb、¹⁶⁶Dy、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁵Yb、¹⁷⁷Lu、^{186/188}Re 和 ¹⁹⁹Au，特别优选 ¹⁷⁷Lu 和 ⁹⁰Y。用于本发明化合物的最优选的螯合剂为 1-取代的 4,7,10-三羧甲基 1,4,7,10-四氮杂环十二烷三乙酸(D03A)。

光标记 M 可以是本领域中已知的多种不同光标记中的任何一种。优选的标记包括但不限于光学染料，包括有机发色团或荧光团，例如花青染料，光吸收化合物、光反射和散射化合物以及生物发光分子。

在一个实施方案中，连接基 N-O-P 包含至少一个非 α -氨基酸。

在另一个实施方案中，连接基 N-O-P 包含至少一个取代的胆汁酸。

在另一种实施方案中，连接基 N-O-P 包含至少一个具有环状基团的非 α -氨基酸

所述 GRP 受体靶向肽可以是 GRP、蛙皮素或其任何衍生物或类似物。在一个优选的实施方案中，GRP 受体靶向肽为用作激动剂的 GRP 或蛙皮素类似物。在一个特别优选的实施方案中，GRP 受体靶向肽为在美国专利 6,200,546 和 US 2002/0054855 中公开的蛙皮素激动剂结合部分，所述文献在此被引入作为参考。

还提供一种使用本发明的化合物的新成像方法。

在本发明的一个例示性实施方案中，提供一种包含制备本发明的诊断或治疗剂所需的所有组分的单瓶或多瓶试剂盒。

还提供一种用于制备诊断显像剂的新方法，所述方法包括步骤：往可注射成像介质加入包含本发明化合物的物质。

还提供一种使用本发明的化合物进行放射治疗的新方法，以及一种用于制备放射治疗剂的新方法，所述方法包括步骤：往可注射治疗介质加入包含本发明化合物的物质。

附图的简要说明

图 1A 是实施例 I 所述的由 A(甲基-(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸酯)和 B((3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸)合成中间产物 C((3 β , 5 β)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基胆烷-24-酸)的一系列化学反应的图示。

图 1B 是实施例 I 所述的合成 N-[(3 β , 5 β)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L62)的连续反应的图示。

图 2A 是实施例 II 所述的合成 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L70)的连续反应的图示。

图 2B 是实施例 II 所述的合成 N-[4-[2-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙氧基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L73)、N-[3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L115)和 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯基乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L116)的连续反应的总图示。

图 2C 是在实施例 II 所述的合成 N-[4-[2-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙氧基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L73)的图 2B 的合成反应中

所用的连接基的化学结构。

图 2D 是在实施例 II 所述的合成 N-[3-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L115) 的图 2B 的合成反应中所用的连接基的化学结构。

图 2E 是在实施例 II 所述的合成 N-[4-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯基乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L116) 的图 2B 的合成反应中所用的连接基的化学结构。

图 2F 是实施例 II 所述的合成 N-[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酰基-4-哌啶羰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L74) 的连续反应的图示。

图 3A 是实施例 III 所述的合成中间产物 (3 β , 5 β)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-氧代胆烷-24-酸 (C) 的一系列化学反应的图示。

图 3B 是实施例 III 所述的合成 N-[(3 β , 5 β)-3-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-12, 24-二氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L67) 的连续反应的图示。

图 3C 是实施例 III 所述的 (3 β , 5 β)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸 (B) 的化学结构。

图 3D 是实施例 III 所述的 (3 β , 5 β)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-氧代胆烷-24-酸 (C) 的化学结构。

图 3E 是实施例 III 所述的 N-[(3 β , 5 β)-3-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基

基]-12, 24-二氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L67)的化学结构。

图 4A 是实施例 IV 所述的获得中间产物 (3 β , 5 β , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-羟基胆烷-24-酸 (3a) 和 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 (3b) 的反应流程的图示。

图 4B 是实施例 IV 所述的合成 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基] 乙酰基] 氨基] 乙酰基] 氨基]-12-羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L63)的连续反应的图示。

图 4C 是实施例 IV 所述的合成 N-[(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基] 乙酰基] 氨基] 乙酰基] 氨基]-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L64)的连续反应的图示。

图 4D 是实施例 IV 所述的 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 (2b) 的化学结构。

图 4E 是实施例 IV 所述的 (3 β , 5 β , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-羟基胆烷-24-酸 (3a) 的化学结构;

图 4F 是实施例 IV 所述的 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 (3b) 的化学结构。

图 4G 是实施例 IV 所述的 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基] 乙酰基] 氨基] 乙酰基] 氨基]-12-羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L63)的化学结构。

图 4H 是实施例 IV 所述的 N-[(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-

三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-7,12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L64)的化学结构。

图 5A 是实施例 V 所述的合成 4-[[[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L71)和反式-4-[[[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]环己基羰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L72)的连续反应的一般图示,其中连接基分别来自图 5B 和 5C。

图 5B 是用于图 5A 所示和实施例 V 所述的化合物 L71 的连接基的化学结构。

图 5C 是用于如图 5A 所示和实施例 V 所述的化合物 L72 的连接基的化学结构。

图 5D 是实施例 V 所述的用蛙皮素 [7-14] (B) 官能化的 Rink 酰胺树脂的化学结构。

图 5E 是实施例 V 所述的反式-4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]环己烷甲酸(D)的化学结构。

图 6A 是实施例 VI 所述的合成中间产物连接基 2-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]苯甲酸(E)的反应流程的图示。

图 6B 是如实施例 VI 所述的合成中间产物连接基 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酸(H)的反应流程的图示。

图 6C 是实施例 VI 所述的合成 N-[2-[[[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L75)的图示。

图 6D 是实施例 VI 所述的合成 N-[4-[[[[[4,7,10-三(羧甲基)

-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L76) 的图示。

图 7A 是实施例 VII 所述的合成中间产物连接基 N-[4-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酸 (E) 的反应流程的图示。

图 7B 是实施例 VII 所述的合成 N-[[4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L124) 的图示。

图 7C 是实施例 VII 所述的 N-[[4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L124) 的化学结构。

图 8A 是实施例 VIII 所述的合成中间产物 4-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酸 (E) 的反应流程的图示。

图 8B 是实施例 VIII 所述的合成 N-[4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L125) 的图示。

图 8C 是实施例 VIII 所述的 [4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L125) 的化学结构。

图 9A 是实施例 IX 所述的合成 3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基苯甲酸 (B) 的反应的图示。

图 9B 是实施例 IX 所述的合成 6-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基苯甲酸 (C) 的反应的图示。

图 9C 是实施例 IX 所述的合成 4-[[[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]甲基氨基]苯甲酸 (D) 的反应的图示。

图 9D 是实施例 IX 所述的合成 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L146)、N-[3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L233)、N-[6-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L234) 和 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]甲基氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L235) 的反应的图示。

图 10A 是实施例 X 所述的合成 7-[[双(1, 1-二甲基乙氧基)氧磷基]甲基]-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 10-三乙酸 4, 10-双(1, 1-二甲基乙基)酯 H 的反应的图示。

图 10B 是实施例 X 所述的合成 N-[4-[[[[[4, 10-双(羧甲基)-7-(二羟基氧磷基)甲基]-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L237) 的反应的图示。

图 11A 是实施例 XI 所述的合成 N, N-二甲基甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-[S-[(乙酰基氨基)甲基]]-L-半胱氨酸酰基-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L238) 的反应的图示。

图 11B 是实施例 XI 所述的合成 N, N-二甲基甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-[S-[(乙酰基氨基)甲基]]-L-半胱氨酸酰基-甘氨酸酰基-(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基-L-谷氨

酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L239) 的反应的图示。

图 12A 是实施例 XII 所述的合成 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-甲氧基苯甲酸 (A) 的反应的图示。

图 12B 是实施例 XII 所述的合成 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-氯苯甲酸 (D) 的反应的图示。

图 12C 是实施例 XII 所述的合成 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-甲基苯甲酸 (E) 的反应的图示。

图 12D 是实施例 XII 所述的 N-[4-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸酰基]氨基]-3-甲氧基苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L240) 的化学结构。

图 12E 是实施例 XII 所述的化合物 N-[4-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸酰基]氨基]3-氯苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L241) 的化学结构。

图 12F 是实施例 XII 所述的 N-[4-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸酰基]氨基]3-甲基苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L242) 的化学结构。

图 13A 是实施例 XIII 所述的合成 4-[N,N'-双[2-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基乙基]氨基]-4-氧代丁酸 (D) 的反应的图示。

图 13B 是实施例 XIII 所述的合成 N-[4-[4-[双[2-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙基]氨基-1,4-二氧代丁基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, (L244) 的反应的图示。

图 13C 是实施例 XIII 所述的化合物 L244 的化学结构。

图 14A 和图 14B 是实施例 XLIII 所述的结合和竞争曲线的图示。

图 15A 是实施例 LV 所述的放射治疗实验结果的图示。

图 15B 是实施例 LV 所述的其它放射治疗实验结果的图示。

图 16 是 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10 四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸酰基]氨基]-L-赖氨酸酰基-(3, 6, 9)-三氧杂十一烷-1, 11-二甲酸-3, 7-二脱氧-3-氨基胆酸]-L-精氨酸酰基-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L65)的化学结构。

图 17 是 N-[2-S-[[[[[12 α -羟基-17 α -(1-甲基-3-羧基丙基)本胆烷-3 β -氨基甲酰基甲氧基乙氧基乙氧基乙酰基]-氨基-6-[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酰基-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L66)的化学结构。

图 18A 是 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L70)的化学结构。

图 18B 是 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]-3-羧基丙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L114)的化学结构。

图 18C 是 N-[4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]-2-羟基-3-丙氧基]苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L144)的化学结构。

图 18D 是 N-[(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙氧基乙氧基]乙酰基]氨基]-7, 12-二羟基胆烷-24-基]-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺(L69)的化学结构。

图 18E 是 N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L146) 的化学结构。

图 19 公开可以用于制备如实施例 LVI 所述的化合物 L64 和 L70 的中间产物的化学结构。

图 20 是实施例 LVI 所述的利用分段偶联制备 L64 的图示。

图 21 是制备 (1R(双{2-[双(羧甲基)氨基]乙基}氨基)丙烷-3-甲酸-1-羧基-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L201) 的图示。

图 22A 是用于制备 L202 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 22B 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-4-胍基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L202) 的图示。

图 23A 是用于制备 L203 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 23B 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L203) 的图示。

图 24 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-甘氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L204) 的图示。

图 25 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-甘氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L205) 的图示。

图 26A 是用于制备 L206 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 26B 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[4'-氨基-2'-甲基联苯-4-羧基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L206)的图示。

图 27A 是用于制备 L207 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 27B 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[3'-氨基-联苯-3-羧基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L207)的图示。

图 28 是制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[1, 2-二氨基乙基-对苯二酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺(L208)的图示。

图 29A 是用于制备 L209 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 29B 是制备 L209 的图示。

图 30A 是用于制备 L210 的化学中间产物的化学结构的图示。

图 30B 是 L210 的化学结构。

图 31 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酰基-甘氨酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 L211 的化学结构。

图 32 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 L212 的化学结构。

图 33 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-1-甲硫氨酸羧酸酯 L213 的化学结构。

图 34 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L214 的化学结构。

图 35 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-精氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-天冬酰胺酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L215 的化学结构。

图 36 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-精氨酸酰基-L-酪氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-天冬酰胺酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L216 的化学结构。

图 37 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-赖氨酸酰基-L-酪氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L217 的化学结构。

图 38 是 L218 的化学结构。

图 39 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-氨基戊基 L219 的化学结构。

图 40 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-

四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-D-丙氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L220 的化学结构。

图 41 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-亮氨酸酰胺 L221 的化学结构。

图 42 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-D-酪氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基- β 丙氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-正亮氨酸酰胺 L222 的化学结构。

图 43 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基- β 丙氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-正亮氨酸酰胺 L223 的化学结构。

图 44 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-亮氨酸酰胺 L224 的化学结构。

图 45 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-亮氨酸酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L225 的化学结构。

图 46 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-组氨酸酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L226 的化学结构。

图 47 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-亮氨酸酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L227 的化学结构。

图 48 是 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L228 的化学结构。

图 49 是实施例 LVII 所述合成 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 (B) 的反应的图示。

图 50 是如实施例 LVII 所述合成 N-[3 β , 5 β , 7 α , 12 α]-3-[[[2-[2-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L69) 的反应的图示。

图 51 是如实施例 LVIII 所述合成 N-[4-[2-羟基-3-[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]丙氧基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L144) 的反应的图示。

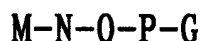
发明详述

在以下说明书中，将进一步详细描述本发明的各方面。为了进行解释，给出了特定的结构构型和细节以使本发明被全面理解。但是，本领域技术人员还可以明显看出可以在不采用特定细节的情况下实施本发明。而且，可以省略或简化已知的特征，其目的在于不使本发明模糊。

在本发明的一个实施方案中，提供用于诊断成像或放射治疗的新的和改进的化合物。所述化合物包括通过连接基或间隔基连接到 GRP 受体靶向肽上的光标记或能够络合药用金属离子或放射性核素的化学

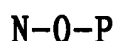
部分(金属螯合剂)。

一般地,本发明的化合物可具有下式:



其中 M 为金属螯合剂(与金属放射性核素络合或不络合的形式)或光标记, N-O-P 为连接基, 而 G 为 GRP 受体靶向肽。在以下讨论中描述各金属螯合剂、光标记、连接基和 GRP 受体靶向肽。

在本发明的另一实施方案中, 提供一种能够将光标记或金属螯合剂连接到 GRP 受体靶向肽上的新的和改进的连接基或间隔基。一般地, 本发明的连接基可以具有以下式:



其中 N、O 和 P 中的每一个在整个说明书中定义。

发现符合这里定义的标准化合物与本领域中已知的其它 GRP 受体靶向肽缀合物相比具有改进的药代动力学性能。例如, 包含本发明的连接基的化合物在血流中保留更长时间, 并因此具有比先前已知的化合物更长的半衰期。较长的半衰期在药学上是有益的, 因为它允许更好的肿瘤靶向, 从而用于诊断成像, 特别是用于治疗应用, 其中癌细胞和肿瘤接收大量的放射性标记的肽。

1A. 金属螯合剂

术语“金属螯合剂”指与金属原子形成络合物的分子, 其中该络合物在生理条件下是稳定的。也就是说, 该金属将在体内与螯合剂骨架保持络合。更具体地, 金属螯合剂是与放射性核素金属络合形成在生理条件下稳定的金属络合物的分子, 并且其还具有至少一个用于与连接基 N-O-P 缀合的反应官能团。该金属螯合剂 M 可以是本领域中已

知用于络合药用金属离子或放射性核素的任何金属螯合剂。该金属螯合剂可以与金属放射性核素络合或不络合。而且，该金属螯合剂可以包括任选的间隔基，例如单一的氨基酸(例如 Gly)，其不与金属络合，但在金属螯合剂和连接基之间制造物理分隔。

本发明的金属螯合剂可以包括，例如，线性、大环三联吡啶和 N_3S 、 N_2S_2 或 N_4 螯合剂(还参见 U. S. 5,367,080、U. S. 5,364,613、U. S. 5,021,556、U. S. 5,075,099、U. S. 5,886,142，所述文献的内容在此被全文引入作为参考)和本领域中已知的其它螯合剂，包括但不限于 HYNIC、DTPA、EDTA、DOTA、TETA 和双氨基双硫醇(BAT)螯合剂(还参见 U. S. 5,720,934)。例如在美国专利 6,143,274、6,093,382、5,608,110、5,665,329、5,656,254 和 5,688,487 中描述了 N_4 螯合剂，所述文献的内容在此被全文引入作为参考。在 PCT/CA94/00395，PCT/CA94/00479、PCT/CA95/00249 和美国专利 5,662,885、5,976,495 和 5,780,006 中描述了某些 N_3S 螯合剂，所述文献的内容在此被全文引入作为参考。该螯合剂还可以包括螯合配体巯基-乙酰基-甘氨酸基-甘氨酸基-甘氨酸(MAG3)的衍生物，它包含 N_3S ，以及 N_2S_2 系统，例如 MAMA(一酰胺单胺二硫醇)、DADS(N_2S 二胺二硫醇)、CODADS 等。这些配体系统和多种其它配体在 Liu 和 Edwards, Chem Rev. 1999, 99, 2235-2268 及其参考资料中作了描述，所述文献的内容在此被全文引入作为参考。

该金属螯合剂还可以包括含有不以四配位基排列供给金属的配体原子的络合物。这些金属螯合剂包括镓和铟二胍的硼酸加合物，例如在美国专利 5,183,653、5,387,409 和 5,118,797 中所述的那些，所述文献的内容在此被全文引入作为参考。

优选的螯合剂的实例包括但不限于二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十四烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、1-取代的 1,4,7-三羧甲基 1,4,7,10-四氮杂环十二烷三乙酸(DO3A)、乙二胺四乙酸(EDTA)、4-羧基甲基-10-膦酰基甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸(Cm4pm10d2a); 和 1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-

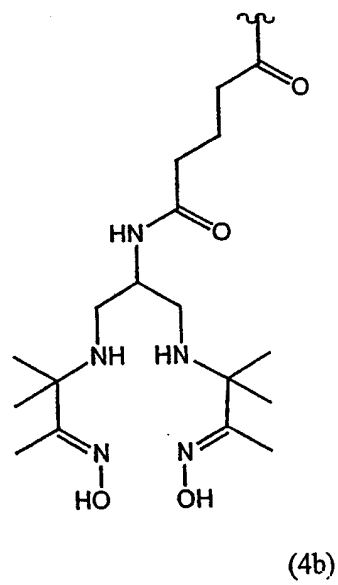
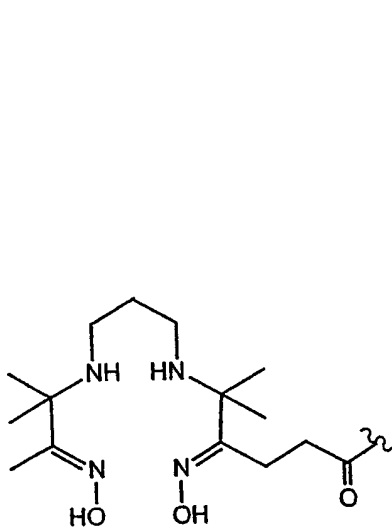
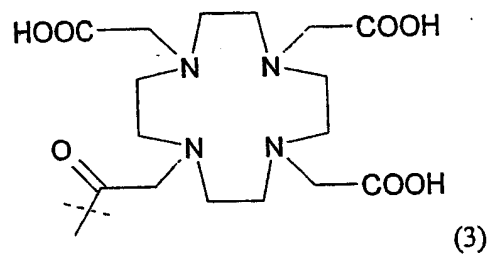
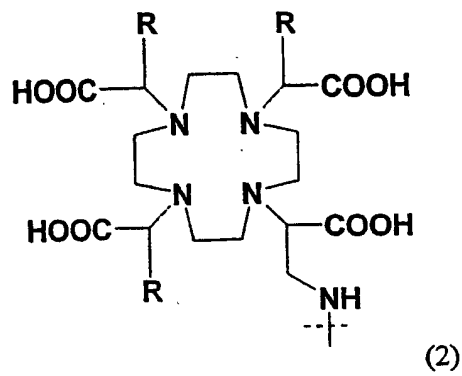
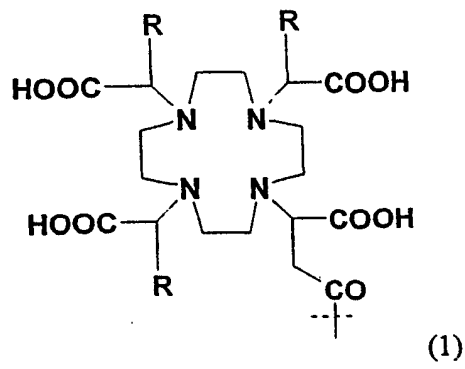
四乙酸 (TETA)。其它螯合配体为亚乙基双-(2-羟基-苯基甘氨酸) (EHPG) 及其衍生物, 包括 5-Cl-EHPG、5-Br-EHPG、5-Me-EHPG、5-t-Bu-EHPG 和 5-sec-Bu-EHPG; 苯并二亚乙基三胺五乙酸 (苯并-DTPA) 及其衍生物, 包括二苯并-DTPA、苯基-DTPA、二苯基-DTPA、苄基-DTPA 和二苄基-DTPA; 双-2(羟基苄基)-亚乙基-二胺二乙酸 (HBED) 及其衍生物; 包含至少 3 个碳原子, 更优选至少 6 个碳原子和至少 2 个杂原子 (O 和/或 N) 的大环化合物类, 所述大环化合物可以由 1 个环, 或者在杂环元素处结合在一起的 2 或 3 个环组成, 例如苯并-DOTA、二苯并-DOTA 和苯并-NOTA, 其中 NOTA 为 1, 4, 7-三氮杂环壬烷 N, N', N''-三乙酸, 苯并-TETA、苯并-DOTMA, 其中 DOTMA 为 1, 4, 7, 10-四氮杂环十四烷-1, 4, 7, 10-四(甲基四乙酸), 和苯并-TETMA, 其中 TETMA 为 1, 4, 8, 11-四氮杂环十四烷-1, 4, 8, 11-(甲基四乙酸); 1, 3-丙二胺四乙酸 (PDTA) 和三亚乙基四胺六乙酸 (TTHA) 的衍生物; 1, 5, 10-N, N', N''-三(2, 3-二羟基苯甲酰基)-三儿茶酸酯 (catecholate) (LICAM) 和 1, 3, 5-N, N', N''-三(2, 3-二羟基苯甲酰基)氨基甲基苯 (MECAM) 的衍生物。本发明考虑的代表性螯合剂和螯合基的实例公开在以下文献中: WO 98/18496、WO 86/06605、WO 91/03200、WO 95/28179、WO 96/23526、WO 97/36619、PCT/US98/01473、PCT/US98/20182 和 U. S. 4, 899, 755、U. S. 5, 474, 756、U. S. 5, 846, 519 和 U. S. 6, 143, 274, 所述各文献在此被全文引入作为参考。

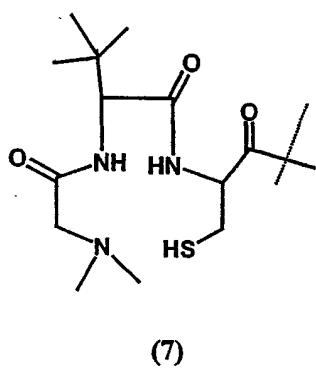
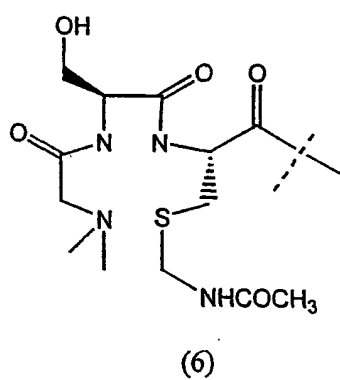
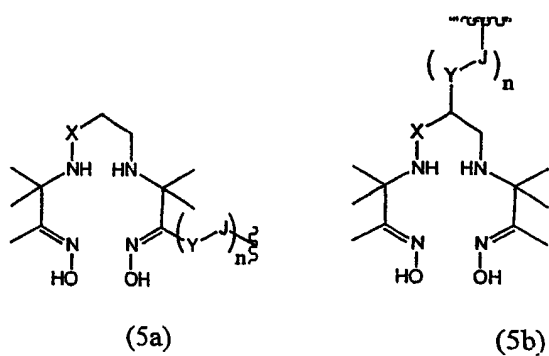
特别优选的金属螯合剂包括以下所述的式 1、2 和 3 的金属螯合剂 (用于 ^{111}In 和放射性镧系, 例如 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{153}Sm 和 ^{166}Ho) 和式 4、5 和 6 的金属螯合剂 (用于放射性 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{186}Re 和 ^{188}Re)。这些和其它金属螯合基在美国专利 6, 093, 382 和 5, 608, 110 中作了描述, 所述文献在此被全文引入作为参考。此外, 式 3 的螯合基例如在美国专利 6, 143, 274 中作了描述; 式 5 的螯合基例如在美国专利 5, 627, 286 和 6, 093, 382 中作了描述, 而式 6 的螯合基例如在美国专利 5, 662, 885、5, 780, 006 和 5, 976, 495 中作了描述, 所有这些文献被引入作为参考。特定的式 6 的金属螯合剂包括 N, N-二甲基 Gly-Ser-Cys、N, N-二甲基

Gly-Thr-Cys、N,N-二乙基 Gly-Ser-Cys、N,N-二苄基 Gly-Ser-Cys; 及其其它变体。例如, 实际上不与金属放射性核素络合的间隔基, 例如额外的单一氨基酸 Gly, 可以连接到这些金属螯合剂(例如 N,N-二甲基 Gly-Ser-Cys-Gly、N,N-二甲基 Gly-Thr-Cys-Gly、N,N-二乙基 Gly-Ser-Cys-Gly、N,N-二苄基 Gly-Ser-Cys-Gly)。其它有用的金属螯合剂, 例如所有在美国专利 6,334,996 中公开的金属螯合剂(也在此被引入作为参考)(例如二甲基 gly-L-叔丁基 gly-L-Cys-Gly、二甲基 gly-D-叔丁基 gly-L-Cys-Gly、二甲基 gly-L-叔丁基 gly-L-Cys 等)。

而且, 硫保护基如 AcM(乙酰氨基甲基)、三苯甲基或其它已知的烷基、芳基、酰基、烷酰基、芳酰基、巯基酰基和有机硫醇基可以连接到这些金属螯合剂的半胱氨酸氨基酸上。

此外, 其它有用的金属螯合剂包括:





在以上式 1 和 2 中, R 为烷基, 优选甲基。在以上式 5a 和 5b 中, X 为 CH₂ 或 O; Y 为 C₁-C₁₀ 支链或非支链烷基、芳基、芳氧基、芳基氨基、芳基氨基酰基、芳基烷基-其中连接到芳基上的烷基为 C₁-C₁₀ 支链或非支链烷基、C₁-C₁₀ 支链或非支链羟基或多羟基烷基或多烷氧基烷基或多羟基多烷氧基烷基; J 是任选的, 但如果存在的话是 C(=O)-、OC(=O)-、SO₂-、NC(=O)-、NC(=S)-、N(Y)、NC(=NCH₃)-、NC(=NH)-、N=N-、高聚酰胺或杂聚胺, 源自合成或天然存在的氨基酸; 所有情况下其中 n 为 1-100。这些结构的其它变体例如在美国专利 6,093,382 中作了描述。在式 6 中, 基团 S-NHCOCH₃ 可以被 SH 或 S-Z 替换, 其中 Z 为任何已知的硫保护基, 如上述的硫保护基。式 7 例示了用作金属螯合剂的叔丁基化合物的一个实施方案。各前述专利、申请和参考资料的内容在此被全文引入作为参考。

在一个优选的实施方案中, 金属螯合剂包括环状或非环状多氨基羧酸, 例如 DOTA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸), DTPA(二亚乙基三胺五乙酸), DTPA-双甲基酰胺, DTPA-双吗啉酰胺, Cm4pm10d2a(4-羧基甲基-10-膦酰基甲基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸), D03A N-[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基、HP-D03A、D03A-一酰胺及其衍生物。

用于闪烁扫描术或放射治疗优选的金属放射性核素包括 ^{99m}Tc、⁵¹Cr、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁴⁷Sc、⁵¹Cr、¹⁶⁷Tm、¹⁴¹Ce、¹¹¹In、¹⁶⁸Yb、¹⁷⁵Yb、¹⁴⁰La、⁹⁰Y、⁸⁸Y、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、¹⁶⁵Dy、¹⁶⁶Dy、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁹⁷Ru、¹⁰³Ru、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²⁰³Pb、²¹¹Bi、²¹²Bi、²¹³Bi、²¹⁴Bi、¹⁰⁵Rh、¹⁰⁹Pd、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁶¹Tb、¹⁷⁷Lu、¹⁹⁸Au 和 ¹⁹⁹Au 和它们的氧化物或氮化物。金属的选择将基于所需的治疗或诊断应用而确定。例如, 为诊断目的(例如为了诊断和监测原发性肿瘤和转移瘤的治疗进展), 优选的放射性核素包括 ⁶⁴Cu、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、^{99m}Tc 和 ¹¹¹In, 特别优选 ^{99m}Tc 和 ¹¹¹In。为治疗目的(例如为了提供对与前列腺、乳腺、肺等的癌症有关的原发性肿瘤和转移瘤的放射治疗), 优选的放射性核素包括 ⁶⁴Cu、⁹⁰Y、¹⁰⁵Rh、¹¹¹In、^{117m}Sn、¹⁴⁹Pm、¹⁵³Sm、¹⁶¹Tb、¹⁶⁶Dy、¹⁶⁶Ho、¹⁷⁵Yb、¹⁷⁷Lu、^{186/188}Re 和 ¹⁹⁹Au, 特别优选 ¹⁷⁷Lu 和 ⁹⁰Y。^{99m}Tc 是特别

有用的，并因为它的低成本、可获得性、成像性能和高特异性活性而优选用于诊断性放射性核素。 ^{99m}Tc 的核和放射性性能使这种同位素成为理想的闪烁扫描显像剂。这种同位素的单光子能量为 140 keV，而放射性半衰期为大约 6 小时，并容易从 ^{99}Mo - ^{99m}Tc 发生器获得。例如， ^{99m}Tc 标记的肽可以用于诊断和监测原发性肿瘤和转移瘤的治疗进展。用 ^{117}Lu 、 ^{90}Y 或其它治疗性放射性核素标记的肽可以用于提供对与前列腺、乳腺、肺等的癌症有关的原发性肿瘤和转移瘤的放射治疗。

1B. 光标记

在一个例举性实施方案中，本发明的化合物可以与光标记物缀合，例如光染料，包括有机发色团或荧光团，其具有广泛的离域环系统并且在 400-1500 nm 的范围内具有最大吸收和发射。本发明的化合物可以选择性地用生物发光分子衍生。光标记物的最大吸收的优选范围为 600-1000 nm 以使对来自血红蛋白的信号干扰最小化。优选光吸收标记具有大摩尔吸光系数，例如 $>10^5\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ，而荧光光染料具有高量子产额。光染料的实例包括但不限于在 WO 98/18497、WO 98/18496、WO98/18495、WO98/18498、WO98/53857、WO96/17628、WO97/18841、WO 96/23524、WO 98/47538 及其中引述的参考资料中描述的那些。例如，光标记物可以直接共价连接到本发明的化合物，例如包含本发明的 GRP 受体靶向肽和连接基的化合物。几种吸收并发射光在电磁光谱的可见和近红外区的染料由于它们的生物相容性、高摩尔吸光系数和/或高荧光量子产额而目前被用于许多生物医学应用。与作为对比剂的染料结合的光形态的高度敏感性与核医学的相似，并允许在没有不期望的电离辐射作用的情况下使器官和组织显像。在近红外 (NIR) 区具有强烈吸收和发射的花青染料是特别有用的，因为在此区域生物组织是光学透明的。例如，在 NIR 区吸收和发射的吲哚花青绿已用于监测心输出量、肝功能和肝血流，且它的官能化衍生物已用于缀合生物分子以用于诊断目的 (R. B. Mujumdar, L. A. Ernst, S. R. Mujumdar 等人, Cyanine dye labeling reagents: Sulfoindocyanine

Succinimidyl esters. Bioconjugate Chemistry, 1993, 4(2), 105-111; Linda G. Lee 和 Sam L. Woo. "N-Heteroaromatic ion and iminium ion substituted cyanine dyes for use as fluorescent labels", U. S. Pat. No. 5,453, 505; Eric Hohenschuh 等人 "Light imaging contrast agents", W098/48846; Jonathan Turner 等人 "Optical diagnostic agents for the diagnosis of neurodegenerative diseases by means of near infra-red radiation", W098/22146; Kai Licha 等人 "In-vivo diagnostic process by near infrared radiation", W096/17628; Robert A. Snow 等人, 化合物, W098/48838。在以下文献中描述了多种成像技术和试剂: 美国专利 6,663,847、6,656,451、6,641,798、6,485,704、6,423,547、6,395,257、6,280,703、6,277,841、6,264,920、6,264,919、6,228,344、6,217,848、6,190,641、6,183,726、6,180,087、6,180,086、6,180,085、6,013,243 和公开的美国专利申请 2003185756、20031656432、2003158127、2003152577、2003143159、2003105300、2003105299、2003072763、2003036538、2003031627、2003017164、2002169107、2002164287 和 2002156117。

2A. 包含至少一个非 α -氨基酸的连接基

在本发明的一个实施方案中, 连接基 N-O-P 包含至少一个非 α -氨基酸。因此, 在连接基 N-O-P 的这个实施方案中,

N 为 0 (其中 0 意指它不存在)、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基;

O 为 α 或非 α -氨基酸; 和

P 为 0、 α 或非 α -氨基酸或其它连接基,

其中 N、O 或 P 中至少一个为非 α -氨基酸。

因此, 在一个实例中, N = Gly, O = 非 α -氨基酸, 而 P = 0。

α -氨基酸在本领域中是已知的, 并包括天然存在和合成的氨基酸。

非 α -氨基酸在本领域中也是已知的, 并包括天然存在或合成的氨基酸。优选的非 α -氨基酸包括:

8-氨基-3,6-二氧杂辛酸;

N-4-氨基乙基-N-1-乙酸; 和

具有式 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 或 $\text{NH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 的聚乙二醇衍生物, 其中 $n=2-100$ 。

包含具有至少一个非 α -氨基酸的连接基的具有式 M-N-O-P-G 的化合物的实例列于表 1。这些化合物可以用本文, 特别是实施例中公开的方法, 以及本领域技术人员已知的类似方法制备。

表 1

包含具有至少一个非 α -氨基酸的连接基的化合物

化合物	HPLC方法 ¹	HPLC RT ²	MS ³	IC50 ⁵	M	N	O	P	G*
L1	10-40%B	5.43	1616.6	5	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Lys	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L2	10-40%B	5.47	1644.7	3	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Arg	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L3	10-40%B	5.97	1604.6	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Asp	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L4	10-40%B	5.92	1575.5	4	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Ser	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L5	10-40%B	5.94	1545.5	9	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L6	10-30%B	7.82	1639 (M+Na)	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Glu	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L7	10-30%B	8.47	1581 (M+Na)	7	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Dala	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L8	10-30%B	6.72	1639 (M+Na)	4	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Lys	无	BBN(7- 14)
L9	10-30%B	7.28	823.3 (M+2/2)	6	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Arg	无	BBN(7- 14)
L10	10-30%B	7.94	1625.6 (M+Na)	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛	Asp	无	BBN(7- 14)

L11	10-30%B	7.59	1575.6	36	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Ser	无	BBN(7- 14)
L12	10-30%B	7.65	1567.5 (M+Na)	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	无	BBN(7- 14)
L13	10-30%B	7.86	1617.7	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Glu	无	BBN(7- 14)
L14	10-30%B	7.9	1581.7 (M+Na)	11	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Dala	无	BBN(7- 14)
L15	10-30%B	7.84	1656.8 (M+Na)	11.5	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L16	10-30%B	6.65	1597.4 (M+Na)	17	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	2,3-二 氨基丙 酸	无	BBN(7- 14)
L17	10-30%B	7.6	1488.6	8	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	无	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L18	10-30%B	7.03	1574.6	7.8	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	2,3-二 氨基丙 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)
L19	10-35%B	5.13	1603.6	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Asp	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN(7- 14)
L20	10-35%B	5.19	1603.6	37	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Asp	Gly	BBN(7- 14)
L21	10-35%B	5.04	1575.7	46	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Ser	Gly	BBN(7- 14)

L22	10-35%B	4.37	1644.7	36	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Arg	Gly	BBN (7- 14)
L23	10-35%B	5.32	1633.7	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L24	10-35%B	4.18	1574.6	38	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	2,3-二 氨基丙 酸	Gly	BBN (7- 14)
L25	10-35%B	4.24	1616.6	26	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Lys	Gly	BBN (7- 14)
L26	10-35%B	4.45	1574.6	30	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	2,3-二 氨基丙 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L27	10-35%B	4.38	1627.3	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	Asp	无	BBN (7- 14)
L28	10-35%B	4.1	1600.3	25	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	Ser	无	BBN (7- 14)
L29	10-35%B	3.71	1669.4	36	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	Arg	无	BBN (7- 14)
L30	10-35%B	4.57	1657.2	36	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN (7- 14)
L31	10-35%B	3.69	1598.3	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	2,3-二 氨基丙 酸	无	BBN (7- 14)
L32	10-35%B	3.51	1640.3	34	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-4-氨 基乙基 -N-1-哌 嗪乙酸	Lys	无	BBN (7- 14)
L33	10-35%B	4.29	1584.5	>50	N,N-二甲基甘氨酸	N-1-哌	Asp	无	BBN (7-

					-Ser-Cys (Acm)-Gly	噻乙酸			14)
L34	10-35%B	4.07	1578.7 (M+Na)	38	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-1-哌 噻乙酸	Ser	无	BBN (7- 14)
L35	10-35%B	3.65	1625.6	26	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-1-哌 噻乙酸	Arg	无	BBN (7- 14)
L36	10-35%B	4.43	1636.6	7	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-1-哌 噻乙酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN (7- 14)
L37	10-35%B	3.66	1555.7	23	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-1-哌 噻乙酸	2,3-二 氨基丙 酸	无	BBN (7- 14)
L38	10-35%B	3.44	1619.6	7	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	N-1-哌 噻乙酸	Lys	无	BBN (7- 14)
L42	30-50%B	5.65	1601.6	25	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	4-羟基 脯氨酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN (7- 14)
L48	30-50%B	4.47	1600.5	40	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	4-氨基 脯氨酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN (7- 14)
L51	15-35%B	5.14	1673.7	49	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Lys	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L52	15-35%B	6.08	1701.6	14	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Arg	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L53	15-35%B	4.16	1632.6	10	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Ser	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L54	15-35%B	4.88	1661.6	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	Asp	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN (7- 14)
L55	15-35%B	4.83	1683.4 (M+Na)	43	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛	Asp	Gly	BBN (7- 14)

L56	15-35%B	4.65	1655.7 (M+Na)	4	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Ser	Gly	BBN(7- 14)
L57	15-35%B	4.9	1701.8	50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Arg	Gly	BBN(7- 14)
L58	15-35%B	4.22	846.4 (M+H/2)	>50	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN(7- 14)
L59	15-35%B	4.03	1635.5	42	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	2,3-二 氨基丙 酸	Gly	BBN(7- 14)
L60	15-35%B	4.11	1696.6 (M+Na)	20	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Lys	Gly	BBN(7- 14)
L61	15-35%B	4.32	1631.4	43	N,N-二甲基甘氨酸 -Ser-Cys(Acm)-Gly	2,3-二 氨基丙 酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	Gly	BBN(7- 14)
L78	20-40%B	6.13	1691.4 (M+Na)	35	D03A--酰胺	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	二氨基 丙酸	无	BBN(7- 14)
L79	20-40%B	7.72	1716.8 (M+Na)	42	D03A--酰胺	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	联苯丙 氨酸	无	BBN(7- 14)
L80	20-40%B	7.78	1695.9	>50	D03A--酰胺	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	二苯丙 氨酸	无	BBN(7- 14)
L81	20-40%B	7.57	1513.6	37.5	D03A--酰胺	8-氨基 3,6-二 氧杂辛 酸	4-苯甲 酰基苯 丙氨酸	无	BBN(7- 14)
L92	15-30%B	5.63	1571.6	5	D03A--酰胺	5-氨基 戊酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛 酸	无	BBN(7- 14)

L94	20-36%B	4.19	1640.8 (M+Na)	6.2	D03A--酰胺	8-氨基-3,6-二氧杂辛酸	D-苯丙氨酸	无	BBN(7-14)
L110	15-45%B	5.06	1612.7	36	D03A--酰胺	8-氨基辛酸	8-氨基-3,6-二氧杂辛酸	无	BBN(7-14)
L209	20-40%B, 经过6分钟	4.62	3072.54	37	D03A--酰胺	E(G8-氨基-3,6-二氧杂辛酸-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸 QWAVGHL M-NH ₂)	8-氨基辛酸	8-氨基辛酸	BBN(7-14)
L210	20-50%B, 经过10分钟	6.18	3056.76	11	D03A--酰胺	E(G-Aoa-Aoa QWAVGHL M-NH ₂)	8-氨基辛酸	8-氨基辛酸	BBN(7-14)

*BBN(7-14)为[SEQ ID NO :1]

¹HPLC方法指HPLC梯度的10分钟时间。

²HPLC RT指HPLC中化合物的保留时间。

³MS指质谱,其中分子量由质量/单位电荷(m/e)计算。

⁴IC₅₀指抑制碘化蛙皮素与细胞上的GRP受体结合50%的化合物浓度。

2B. 包含至少一个取代的胆汁酸的连接基

在本发明的另一实施方案中,连接基N-O-P包含至少一个取代的胆汁酸。因此,在连接基N-O-P的这个实施方案中,

N为O(其中O意指它不存在)、 α -氨基酸、取代的胆汁酸或其它连接基;

O为 α -氨基酸或取代的胆汁酸;和

P为O、 α -氨基酸,取代的胆汁酸或其它连接基,

其中 N、O 或 P 中至少一个为取代的酸。

胆汁酸见于胆汁(肝的分泌物),它是具有羟基和终止于羧基的 5 个碳原子侧链的甾类化合物。在取代的胆汁酸中,胆汁酸的至少一个原子如氢原子被另一原子、分子或化学基团取代。例如,取代的胆汁酸包括具有 3-氨基、24-羧基官能团、任选在 7 和 12 位被氢、羟基或酮官能团取代的那些。

本发明中其它有用的取代的胆汁酸包括取代的胆酸及其衍生物。特定的取代的胆酸衍生物包括:

(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸;

(3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷-24-酸;

(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸;

Lys-(3, 6, 9)-三氧杂十一烷-1, 11-二羧基-3, 7-二脱氧-3-氨基胆酸);

(3 β , 5 β , 7 α)-3-氨基-7-羟基-12-氧代胆烷-24-酸; 和

(3 β , 5 β , 7 α)-3-氨基-7-羟基胆烷-24-酸。

包含具有至少一个取代的胆汁酸的连接基的具有式 M-N-O-P-G 的化合物的实例列于表 2。这些化合物可以使用本文公开的方法,特别是实施例公开的方法,以及本领域技术人员已知的类似方法来制备。

表 2

包含具有至少一个取代的胆汁酸的连接基的化合物									
化合物	HPLC 方法 ¹	HPLC RT ²	MS ³	IC50 ⁵	M	N	O	P	G*
L62	20-80%B	3.79	1741.2	>50	D03A-一酰胺	Gly	(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸	无	BBN (7-14)
L63	20-80%B	3.47	1757.0	23	D03A-一酰胺	Gly	(3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷-24-酸	无	BBN (7-14)
L64	20-50%B	5.31	1773.7	8.5	D03A-一酰胺	Gly	(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸	无	BBN (7-14)
L65	20-80%B	3.57	2246.2	>50	D03A-一酰胺	Gly	Lys-(3, 6, 9-三氧杂十一烷-1, 11-二羰基-3, 7-二脱氧-3-氨基胆酸)	Arg	BBN (7-14)
L66	20-80%	3.79	2245.8	>50	(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸-3, 6, 9-三氧杂十一烷-1, 11-二羰基	Lys (D03A-一酰胺-Gly)		Arg	BBN (7-14)
L67	20-80%	3.25	1756.9	4.5	D03A-一酰胺	Gly	(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-12-氧杂胆烷-24-酸	无	BBN (7-14)
L69	20-80%	3.25	1861.27	8	D03A-一酰胺	1-氨基-3, 6-二氧杂辛酸	(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸	无	BBN (7-14)

*BBN(7-14)为[SEQ ID NO :1]

¹HPLC 方法指 HPLC 梯度的 10 分钟时间。

² HPLC RT 指 HPLC 中化合物的保留时间。

³ MS 指质谱，其中分子量由质量/单位电荷(m/e)计算。

⁴ IC₅₀ 指抑制碘化蛙皮素与细胞上的 GRP 受体结合 50%的化合物浓度。

2C. 包含至少一个具有环状基团的非α-氨基酸的连接基

在本发明的又一实施方案中，连接基 N-O-P 包含至少一个具有环状基团的非α-氨基酸。因此，在连接基 N-O-P 的这个实施方案中，

N 为 0(其中 0 意指它不存在)、α-氨基酸、具有环状基团的非α-氨基酸或其它连接基；

O 为α-氨基酸或具有环状基团的非α-氨基酸；和

P 为 0、α-氨基酸、具有环状基团的非α-氨基酸或其它连接基，其中 N、O 或 P 中至少一个为具有环状基团的非α-氨基酸。

具有环状基团的非α-氨基酸包括取代的苯基、联苯、环己基或其它含胺和羧基的环状脂族或杂环部分。这些实例包括：

4-氨基苯甲酸

3-氨基苯甲酸

4-氨基甲基苯甲酸

8-氨基辛酸

反式-4-氨基甲基环己烷甲酸

4-(2-氨基乙氧基)苯甲酸

六氢异烟酸

2-氨基甲基苯甲酸

4-氨基-3-硝基苯甲酸

4-(3-羧甲基-2-酮-1-苯并咪唑基)-哌啶

6-(哌嗪-1-基)-4-(3H)-喹唑啉酮-3-乙酸

(2S, 5S)-5-氨基-1, 2, 4, 5, 6, 7-六氢-吡庚因并[3, 21-hi]吲哚-4-

酮-2-甲酸

(4S, 7R)-4-氨基-6-氮杂-5-氧代-9-硫杂二环[4.3.0]壬烷-7-甲酸

3-羧甲基-1-苯基-1,3,8-三氮杂螺[4.5]癸烷-4-酮

N1-哌嗪乙酸

N-4-氨基乙基-N-1-哌嗪乙酸

(3S)-3-氨基-1-羧甲基己内酰胺

(2S, 6S, 9)-6-氨基-2-羧甲基-3,8-二氮杂二环-[4,3,0]-壬烷-1,4-二酮

3-氨基-3-脱氧胆酸

4-羟基苯甲酸

4-氨基苯基乙酸

3-羟基-4-氨基苯甲酸

3-甲基-4-氨基苯甲酸

3-氯-4-氨基苯甲酸

3-甲氧基-4-氨基苯甲酸

6-氨基萘甲酸

N, N'-双(2-氨基乙基)-琥珀酰胺酸

包含具有至少一个含环状基团的非 α -氨基酸的连接基的具有式M-N-O-P-G的化合物的实例列于表3。这些化合物可以用本文公开的方法，特别是实施例公开的方法，以及本领域技术人员已知的类似方法制备。

表 3

包含与氨基-(苯基、联苯、环烷基或杂环)羧酸有关的连接基的化合物									
化合物	HPLC 方法 ¹	HPLC RT ²	MS ³	IC50 ⁵	M	N	O	P	G*
L70	10-40%B	6.15	1502.6	5	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯甲酸	无	BBN (7-14)
L71			1482.2 (M+Na)	7	D03A--酰胺	无	4-氨基甲基苯甲酸	无	BBN (7-14)
L72			1504.0 (M+K)	8	D03A--酰胺	无	反式-4-氨基甲基环己基甲酸	无	BBN (7-14)
L73	5-35%	7.01	1489.8	5	D03A--酰胺	无	4-(2-氨基乙氧基)苯甲酸	无	BBN (7-14)
L74	5-35%	6.49	1494.8	7	D03A--酰胺	Gly	六氢异烟酸	无	BBN (7-14)
L75	5-35%	6.96	1458.0	23	D03A--酰胺	无	2-氨基甲基苯甲酸	无	BBN (7-14)
L76	5-35%	7.20]	1502.7	4	D03A--酰胺	无	4-氨基甲基-3-硝基苯甲酸	无	BBN (7-14)
L77	20-40%B	6.17	1691.8 (M+Na)	17.5	D03A--酰胺	8-氨基-3,6-二氧杂辛酸	1-萘基丙氨酸	无	BBN (7-14)
L82	20-40%B	6.18	1584.6	8	D03A--酰胺	无	4-(3-羧甲基-2-酮-1-苯并咪唑基-哌啶	无	BBN (7-14)
L83	20-40%B	5.66	1597.5	>50	D03A--酰胺	无	6-(哌嗪-1-基)-4-(3H)-喹唑啉酮-3-乙酸	无	BBN (7-14)
L84	20-40%B	6.31	1555.5	>50	D03A--酰胺	无	(2S, 5S)-5-氨基-1,2,4,5,6,7-六氢-吡庚因并 [3,21-hi	无	BBN (7-14)

]咪唑-4- 酮-2-甲 酸		
L85	20-40%B	5.92	1525.5	>50	D03A-一酰胺	无	(4S, 7R)- 4-氨基 -6-氮杂 -5-氧代 -9-硫杂 二环 [4.3.0] 壬烷-7- 甲酸	无	BBN(7- 14)
L86	20-40%B	6.46	1598.6	>50	D03A-一酰胺	无	N, N-二甲 基甘氨酸	无	BBN(7- 14)
L87	20-40%B	5.47	1593.8 (M+Na)	>50	D03A-一酰胺	无	3-羧甲基 -1-苯基 -1, 3, 8- 三氮杂螺 [4.5]癸 烷-4-酮	无	BBN(7- 14)
L88	20-40%B	3.84	1452.7	>50	D03A-一酰胺	无	N1-哌嗪 乙酸	无	BBN(7- 14)
L89	20-40%B	5.68	1518.5 (M+Na)	23	D03A-一酰胺	无	N-4-氨基 乙基 -N-1-哌 嗪-乙酸	无	BBN(7- 14)
L90	20-40%B	7.95	1495.4	50	D03A-一酰胺	无	(3S)-3- 氨基-1- 羧甲基己 内酰胺	无	BBN(7- 14)
L91	20-40%B	3.97	1535.7	>50	D03A-一酰胺	无	(2S, 6S, 9)-6-氨基 -2-羧甲 基-3, 8- 二氮杂二 环 -[4, 3, 0] -壬烷 -1, 4-二 酮	无	BBN(7- 14)
L93	15-30%B	7.57	1564.7	5.8	D03A-一酰胺	5-氨基戊 酸	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	无	BBN(7- 14)
L95	15-35%B	5.41	1604.6	14	D03A-一酰胺	反式-4-	D-苯丙氨	无	BBN(7-

						氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	酸		14)
L96	20-36%B	4.75	1612.7	35	D03A--酰胺	4-氨基甲 基苯甲酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛酸	无	BBN(7- 14)
L97	15-35%B	5.86	1598.8	4.5	D03A--酰胺	4-苯甲酰 基-(L)- 苯丙氨酸	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	无	BBN(7- 14)
L98	15-35%B	4.26	1622.7	16	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	Arg	无	BBN(7- 14)
L99	15-35%B	4.1	1594.7	22	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	Lys	无	BBN(7- 14)
L100	15-35%B	4.18	1613.6	10	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	二苯丙氨 酸	无	BBN(7- 14)
L101	15-35%B	5.25	1536.7	25	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	1-萘基丙 氨酸	无	BBN(7- 14)
L102	15-35%B	5.28	1610.8	9.5	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛酸	无	BBN(7- 14)
L103	15-35%B	4.75	1552.7	24	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	Ser	无	BBN(7- 14)
L104	15-35%B	3.91	1551.7	32	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	2,3-二氨 基丙酸	无	BBN(7- 14)
L105	20-45%B	7.68	1689.7	3.5	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	联苯丙氨 酸	无	BBN(7- 14)
L106	20-45%B	6.97	1662.7	3.8	D03A--酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷	(2S,5S)- 5-氨基 -1,2,4,5	无	BBN(7- 14)

						-1-甲酸	,6,7-六 氢-吡庚 因并 [3,21-hi]咪唑-4- 酮-2-甲 酸		
L107	15-35%B	5.79	1604.7	5	D03A-一酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	无	BBN(7- 14)
L108	15-45%B	6.38	1618.7	10	D03A-一酰胺	8-氨基 -3,6-二 氧杂辛酸	苯丙氨酸	无	BBN(7- 14)
L109	15-45%B	6.85	1612.7	6	D03A-一酰胺	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	苯丙氨酸	无	BBN(7- 14)
L111	20-45%B	3.75	1628.6	8	D03A-一酰胺	8-氨基辛 酸	反式-4- 氨基甲基 环己烷 -1-甲酸	无	BBN(7- 14)
L112	20-47%B , 9分钟 内	3.6	1536.5	4.5	D03A-一酰胺	无	4'-氨基 甲基-联 苯-1-甲 酸	无	BBN(7- 14)
L113	20-47%B , 9分钟 内	3.88	1558.6 (M+Na)	5	D03A-一酰胺	无	3'-氨基 甲基-联 苯-3-甲 酸	无	BBN(7- 14)
L114	10-40%B	5.47	1582.8	4.5	CMDOTA	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	BBN(7- 14)
L124	5-35%B	7.04	1489.9	8.0	D03A-一酰胺	无	4-氨基甲 基苯氧基 乙酸	无	BBN(7- 14)
L143	5-35%B	6.85	1516.8	11	D03A-一酰胺	Gly	4-氨基苯 基乙酸	无	BBN(7- 14)
L144	5-35%B	6.85	1462.7	9	HPD03A	无	4-苯氧基	无	BBN(7- 14)
L145	20-80%B	1.58	1459.8	5	D03A-一酰胺	无	3-氨基甲 基苯甲酸	无	BBN(7- 14)
L146	20-80%B	1.53	1473.7	9	D03A-一酰胺	无	4-氨基甲 基苯基乙 酸	无	BBN(7- 14)
L147	20-80%B	1.68	1489.7	3.5	D03A-一酰胺	无	4-氨基甲	无	BBN(7-

							基-3-甲 氧基苯甲 酸		14)
L201	10-46%B , 经过 12 分钟	5.77	1563.7	36	Boa***	无	Gly	4-氨基苯 甲酸	BBN(7- 14)
L202	10-46%B , 经过 12 分钟	5.68	1517.74	13	D03A--酰胺	无	Gly	4-胍基苯 甲酰基	BBN(7- 14)
L203	10-46%B , 经过 12 分钟	5.98	1444.69	9	D03A--酰胺	无	无	4-氨基苯 甲酸	BBN(7- 14)
L204	10-46%B , 经过 12 分钟	5.82	1502.73	50	D03A--酰胺	无	4-氨基苯 甲酸	Gly	BBN(7- 14)
L205	10-46%B , 经过 12 分钟	5.36	1503.72	45	D03A--酰胺	Gly	6-氨基烟 酸	无	BBN(7- 14)
L206	10-46%B , 经过 12 分钟	7.08	1592.85	4.5	D03A--酰胺	Gly	4'-氨基 -2'-甲基 联苯-4- 甲酸	无	BBN(7- 14)
L207	10-46%B , 经过 12 分钟	7.59	1578.83	2.5	D03A--酰胺	Gly	3'-氨基 联苯-3- 甲酸	无	BBN(7- 14)
L208	10-46%B , 经过 12 分钟	5.9	1516.75	7.5	D03A--酰胺	Gly	1,2-二氨 基乙基	对苯二 酸	BBN(7- 14)
L211	10-46%B , 经过 12 分钟	5.76	1560.77	4	D03A--酰胺	Gly	Gly	4-氨基苯 甲酸	BBN(7- 14)
L212	10-46%B , 经过 12 分钟	6.05	1503.71	NT**	D03A--酰胺	无	Gly	4-氨基苯 甲酸	EWAVGH LM-OH
L213	10-46%B , 经过 12 分钟	5.93	1503.71	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QWAVGH LM-OH
L214	10-46%B , 经过 12 分钟	7.36	1649.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	(D)- Phe	BBN(7- 14)
L215	10-46%B , 经过 12 分钟	5.08	2071.37	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QRLGNQ WAVGHL M-NH ₂
L216	10-46%B	4.94	2121.38	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯	无	QRYGNQ

	, 经过 12 分钟						甲酸		WAVGHL M-NH ₂
L217	10-46%B , 经过 12 分钟	4.38	2093.37	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QKYGNQ WAVGHL M-NH ₂
L218	10-46%B , 经过 12 分钟	6.13	2154.45	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	结构见 图表
L219	10-46%B , 经过 12 分钟	8.61	1588.84	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	(D)- Phe	QWAVGH L-NH- 戊基
L220	10-46%B , 经过 12 分钟	5.96	1516.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QWSVaH LM-NH ₂
L221	10-46%B , 经过 12 分钟	7.96	1631.87	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	(D)- Phe	QWAVGH LL-NH ₂
L222	10-46%B , 经过 12 分钟	6.61	1695.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	(D)- Tyr	QWAV- Bala- HF-Nle -NH ₂
L223	10-46%B , 经过 12 分钟	7.48	1679.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	Phe	QWAV- Bala- HF-Nle -NH ₂
L224	10-46%B , 经过 12 分钟	5.40	1419.57	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QWAGHF L-NH ₂
L225	10-46%B , 经过 12 分钟	8.27	1471.71	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	LWAVGS FM-NH ₂
L226	10-46%B , 经过 12 分钟	5.12	1523.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	HWAVGH LM-NH ₂
L227	10-46%B , 经过 12 分钟	6.61	1523.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	LWAVGS FM-NH ₂
L228	10-46%B , 经过 12 分钟	5.77	1511	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	QWAVGH FM-NH ₂
L233	5-35%B, 经过 10 分钟	7.04	1502.71	4.8	D03A--酰胺	Gly	3-氨基苯 甲酸	无	BBN(7- 14)
L234	20-80%, 经过 10	1.95	1552.76	3	D03A--酰胺	Gly	6-氨基苯 甲酸	无	BBN(7- 14)

L235	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.95	1515.72	7	D03A--酰胺	Gly	4-甲基氨 基苯甲酸	无	BBN(7- 14)
L237	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.52	1538.68	5	Cm4pm10d2a	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	BBN(7- 14)
L238	分钟 5-35%B, 经过 10 分钟	7.17	1462.70	1.5	N, N- 二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)- Gly	Gly	4-氨基苯 甲酸	无	BBN(7- 14)
L239	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	3.36	1733.16	4.5	N, N- 二甲基甘氨酸 -Ser-Cys (Acm)- Gly	Gly	3-氨基 -3-脱氧 胆酸	无	BBN(7- 14)
L240	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.55	1532.73	4	D03A--酰胺	Gly	3-甲氧基 -4-氨基 苯甲酸	无	BBN(7- 14)
L241	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.63	1535.68	4	D03A--酰胺	Gly	3-氯-4- 氨基苯甲 酸	无	BBN(7- 14)
L242	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.55	1516.75	5	D03A--酰胺	Gly	3-甲基 -4-氨基 苯甲酸	无	BBN(7- 14)
L243	分钟 20-80%, 经过 10 分钟	1.57	1518.70	14	D03A--酰胺	Gly	3-羟基 -4-氨基 苯甲酸	无	BBN(7- 14)
L244	分钟 5-50%, 经过 10 分钟	4.61	1898.16	>50	(D03A--酰胺) ₂	N, N'-双 (2-氨基 乙基)-琥 珀酰胺酸	无	无	BBN(7- 14)
L280					D03A--酰胺	Gly	Adca3		Q-W-A- V-a-H- L-M-NH ₂
L281					D03A--酰胺	Gly	Adca3	f	Q-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂
L282					D03A--酰胺	Gly	Adca3	f	Q-W-A- V-G-H- L-L-NH ₂
L283					D03A--酰胺	Gly	Adca3	f	Q-W-A- V-G-H- L-NH- 戊基
L284					D03A--酰胺	Gly	Adca3	y	Q-W-A-

									V-Bala -H-F-N le-NH ₂
L285					D03A--酰胺	Gly	Adca3	f	Q-W-A- V-Bala -H-F-N le-NH ₂
L286					D03A--酰胺	Gly	Adca3		Q-W-A- V-G-H- F-L-NH ₂
L287					D03A--酰胺	Gly	Adca3		Q-W-A- V-G-NM eHis-L -M-NH ₂
L288					D03A--酰胺	Gly	Adca3		L-W-A- V-G-S- F-M-NH ₂
L289					D03A--酰胺	Gly	Adca3		H-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂
L290					D03A--酰胺	Gly	Adca3		L-W-A- T-G-H- F-M-NH ₂
L291					D03A--酰胺	Gly	Adca3		Q-W-A- V-G-H- F-M-NH ₂
L292					D03A--酰胺	Gly	Adca3	Q-R- L-G- N	Q-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂
L293					D03A--酰胺	Gly	Adca3	Q-R- Y-G- N	Q-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂
L294					D03A--酰胺	Gly	Adca3	Q-K- Y-G- N	Q-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂
L295					Pglu-Q-Lys (D03 A--酰胺)	Gly	Adca3	L-G- N	Q-W-A- V-G-H- L-M-NH ₂

*BBN(7-14)为[SEQ ID NO :1]

**NT 定义为“未测试”

***BOA 定义为(1R)-1-(双{2-[双(羧甲基)氨基]乙基}氨基)丙

烷-1,3-二甲酸。

¹HPLC 方法指 HPLC 梯度的 10 分钟时间。

²HPLC RT 指 HPLC 中化合物的保留时间。

³MS 指质谱，其中分子量由质量/单位电荷 (m/e) 计算。

⁴IC₅₀ 指抑制碘化蛙皮素与细胞上的 GRP 受体结合 50% 的化合物浓度。

一小组含有与氨基-(苯基、联苯、环烷基或杂环)羧酸有关的优选连接基和多种 GRP 受体靶向肽的化合物如表 4 所述。这些化合物可以用本文公开的方法，特别是实施例公开的方法，以及本领域技术人员已知的类似方法制备。

表 4

含有与氨基-(苯基、联苯、环烷基或杂环)羧酸有关的连接基的化合物									
化合物	HPLC 方法 ¹	HPLC RT ²	MS ³	IC ₅₀ ⁵	M	N	O	P	G*
L214	10-46%B ， 经过 12 分钟	7.36	1649.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	(D)- Phe	BBN (7- 14)
L215	10-46%B ， 经过 12 分钟	5.08	2071.37	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QRLGNQ WAVGHL M-NH ₂
L216	10-46%B ， 经过 12 分钟	4.94	2121.38	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QRYGNQ WAVGHL M-NH ₂
L217	10-46%B ， 经过 12 分钟	4.38	2093.37	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QKYGNQ WAVGHL M-NH ₂
L218	10-46%B	6.13	2154.45	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基	无	参见图

	, 经过 12 分钟						苯甲酸		38
L219	10-46%B , 经过 12 分钟	8.61	1588.84	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	(D)- Phe	QWAVGH L-NH- 戊基
L220	10-46%B , 经过 12 分钟	5.96	1516.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QWAVaH LM-NH ₂
L221	10-46%B , 经过 12 分钟	7.96	1631.87	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	(D)- Phe	QWAVGH LL-NH ₂
L222	10-46%B , 经过 12 分钟	6.61	1695.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	(D)- Tyr	QWAV- Bala- HF-N1e -NH ₂
L223	10-46%B , 经过 12 分钟	7.48	1679.91	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	Phe	QWAV- Bala- HF-N1e -NH ₂
L224	10-46%B , 经过 12 分钟	5.40	1419.57	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QWAGHF L-NH ₂
L225	10-46%B , 经过 12 分钟	8.27	1471.71	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	LWAVGS FM-NH ₂
L226	10-46%B , 经过 12 分钟	5.12	1523.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	HWAVGH LM-NH ₂
L227	10-46%B	6.61	1523.75	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基	无	LWATGH

	, 经过 12 分钟						苯甲酸		FM-NH ₂
L228	10-46%B , 经过 12 分钟	5.77	1511	NT**	D03A--酰胺	Gly	4-氨基 苯甲酸	无	QWAVGH FM-NH ₂

2D. 其它连接基

可以在连接基 N-O-P 内使用的其它连接基包括用于将 GRP 受体靶向肽偶联至金属螯合剂或光标记上同时不会不利地影响 GRP 受体靶向肽的靶向功能或金属螯合剂的金屬络合功能或光标记的检测能力的化学基团。适宜的其它连接基包括单独的肽(即连接在一起的氨基酸)、非肽基团(例如烃链)或氨基酸序列和非肽间隔基的组合。

在一个实施方案中, 在连接基 N-O-P 内使用的其它连接基包括 L-谷氨酰胺和烃链或它们的组合。

在另一个实施方案中, 在连接基 N-O-P 内使用的其它连接基包括由一系列氨基酸(例如二甘氨酸、三甘氨酸、gly-gly-glu、gly-ser-gly 等)组成的纯肽连接基团, 其中聚合链中 GRP 受体靶向肽的 N-末端残基与金属螯合剂或光标记之间的原子总数为 ≤ 12 个原子。

在另一个实施方案中, 在连接基 N-O-P 内使用的其它连接基还可以包括烃链[即 $R_1-(CH_2)_n-R_2$], 其中 n 为 0-10, 优选 $n=3-9$, R_1 为可以用作共价连接配体骨架或预先形成的金属螯合剂或金属络合骨架或光标记的位点的基团(例如 H_2N- 、 $HS-$ 、 $-COOH$); 而 R_2 为用于共价偶联至 GRP 受体靶向肽的 N-末端 NH_2 -基团的基团(例如 R_2 为活化的 $COOH$ 基团)。多种用于将配体(即螯合剂)或优选的金属螯合物偶联至生物分子上的化学方法已在文献中作了描述[Wilbur, 1992; Parker, 1990; Hermanson, 1996; Frizberg 等人, 1995]。一种或多种这些方法可以用于将未络合的配体(螯合剂)或放射金属螯合物或光标记连接到连接基或者将连接基连接到 GRP 受体靶向肽上。这些方法包括形成酸酐、

醛、芳基异硫氰酸酯、活化的酯或 N-羟基琥珀酰亚胺 [Wilbur, 1992; Parker, 1990; Hermanson, 1996; Frizberg 等人, 1995]。

在一个优选的实施方案中, 在连接基 N-O-P 内使用的其它连接基可以由下述的具有亲电体或亲核体的连接基前体形成:

LP 1: 在连接基至少 2 个位置上具有相同的亲电体 E1 或相同的亲核体 Nu1 的连接基前体;

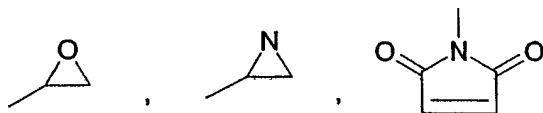
LP2: 具有亲电体 E1 和在连接基的另一位置的不同亲电体 E2 的连接基前体;

LP3: 具有亲核体 Nu1 和在连接基的另一位置的不同亲核体 Nu2 的连接基前体; 或者

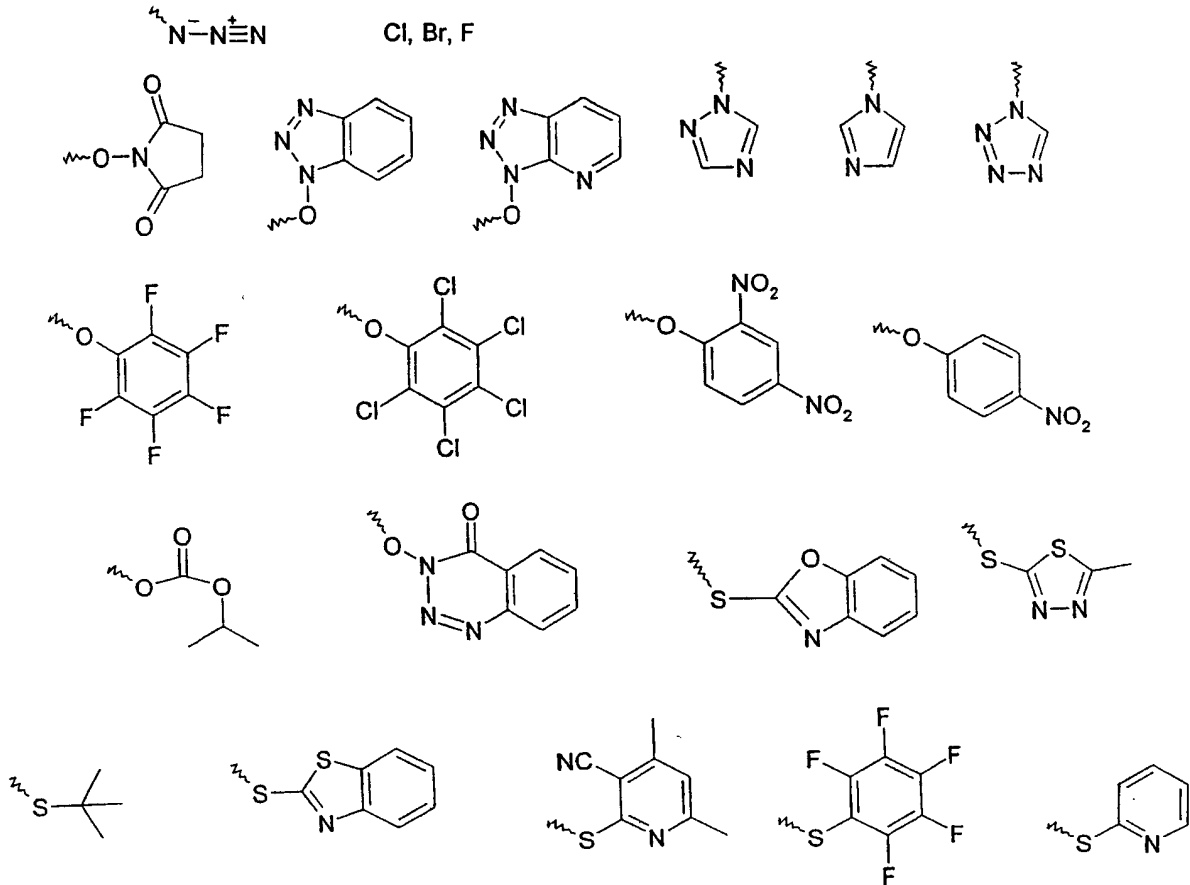
LP4: 一个末端以亲电体 E1 官能化和另一末端以亲核体 Nu1 官能化的连接基前体。

优选的亲核体 Nu1/Nu2 包括 -OH、-NH、-NR、-SH、-HN-NH₂、-RN-NH₂ 和 -RN-NHR', 其中 R' 和 R 独立地选自上述关于 R 的定义, 除了 R' 不为 H。

优选的亲电体 E1/E2 包括 -COOH、-CH=O (醛)、-CR=OR' (酮)、-RN-C=S、-RN-C=O、-S-S-2-吡啶基、-SO₂-Y、-CH₂C(=O)Y 和



其中 Y 可以选自以下基团:



3. GRP 受体靶向肽

GRP 受体靶向肽(即式 M-N-O-P-G 中的 G)为任何肽、其等同物、衍生物或类似物,它对 GRP 受体家族具有结合亲和力。

GRP 受体靶向肽可以是激动剂或拮抗剂的形式。已知 GRP 受体靶向肽激动剂在以高度亲和力结合之后“激活”细胞,并可以被细胞内化。相反,已知 GRP 受体靶向肽拮抗剂仅与细胞上的 GRP 受体结合而不被细胞内化,且不“激活”细胞。在一个优选的实施方案中,GRP 受体靶向肽为激动剂。

在本发明的一个更优选的实施方案中,GRP 激动剂为蛙皮素(BBN)类似物和/或其衍生物。BBN 衍生物或其类似物优选包含 BBN 结合区的相同一级结构(即 BBN(7-14) [SEQ ID NO :1])或类似的一级结构,具有以比单独的 BBN 更好或类似的结合亲和力与 GRP 受体发生特异性结合的特定氨基酸置换(即 $K_d < 25\text{nM}$)。适宜的化合物包括肽、肽模拟物

及其类似物和衍生物。BBN-14 位 L-蛋氨酸 (Met) 的存在一般将赋予激动剂特性，而 BBN-14 位该残基的缺乏一般将赋予拮抗剂特性 [Hoffken, 1994]。某些有用的蛙皮素类似物公开在美国专利公开 2003/0224998 中，所述文献在此被全文引用。

现有技术已记载在 BBN(8-14) 结合区存在一些和选择数目的特异性氨基酸置换 (例如 D-Ala¹¹ 置换 L-Gly¹¹ 或 D-Trp⁸ 置换 L-Trp⁸)，所述置换可以在不减小结合亲和力的情况下完成 [Leban 等人, 1994; Qin 等人, 1994; Jensen 等人, 1993]。此外，某些氨基酸链或其它基团与 BBN-8 位 (即 Trp⁸ 残基) 的 N-末端胺基的连接可以大幅减小 BBN 类似物与 GRP 受体的结合亲和力 [Davis 等人, 1992; Hoffken, 1994; Moody 等人, 1996; Coy 等人, 1988; Cai 等人, 1994]。在少数情况下，可以附加额外的氨基酸或化学部分而不减小结合亲和力。

BBN 受体靶向肽的类似物包括以比 BBN 更大或相同的亲和力靶向 GRP 受体的分子以及 GRP 或 BBN 的突变蛋白质、逆肽 (retro-peptide) 和逆-反向-肽 (retro-inverso-peptide)。本领域技术人员将认识到这些类似物还可以包含修饰，所述修饰包括置换和/或缺失和/或添加一个或多个氨基酸，条件是这些修修饰没有不利地改变本文所述的肽的生物活性。这些置换可以通过用它们的同义氨基酸置换一个或多个氨基酸来完成。一组内的同义氨基酸定义为具有充足的物理化学性能以允许组内成员之间进行置换而保持分子的生物功能的氨基酸。

氨基酸的缺失或插入也可以引入所定义的序列，条件是它们不改变该序列的生物功能。优选这些插入或缺失应该限于 1、2、3、4 或 5 个氨基酸，且不应除去或者物理破坏或替换对功能构象来说重要的氨基酸。本文所述的 GRP 受体靶向肽的突变蛋白质具有与本发明说明书公开的序列同源的序列，其中在一个或多个氨基酸位置存在氨基酸置换、缺失或插入。突变蛋白质的生物活性至少为本文所述肽的 40%，优选至少 50%，更优选 60-70%，最优选 80-90%。但是，它们还可以具有大于特别例举的肽的生物活性，并因此不必一定要与所例举的肽的生物功能完全相同。GRP 受体靶向肽的类似物还包括将改变引入肽骨

架的酰胺键，包括硫代酰胺、亚甲基胺和 E-烯烃的肽模拟物或假肽。而且基于 GRP、BBN 的结构肽或氨基酸被 N-取代的胍基化合物替换的其肽类似物(还已知为氮杂氨基酸)也包括在这里所用的术语类似物中。

取决于所选择的螯合剂，所述 GRP 受体靶向肽可以通过多种不同方法来制备。通常所述肽可以最方便地通过肽合成技术中已建立和已知的技术来制备，所述技术例如固相肽合成(SPPS)方法。固相肽合成(SPPS)包括往与不溶性载体或基质如聚苯乙烯连接的生长的肽链上分步加入氨基酸残基。肽的 C 末端残基首先固定于可商购得到的载体上，其氨基用 N-保护试剂如叔丁氧羰基(Boc)或芴基甲氧基羰基(Fmoc)保护。用适宜的脱保护剂除去氨基保护基，例如对于 Boc 用 TFA，对于 Fmoc 用吡啶，加入下一个氨基酸残基(N-保护形式)和偶联剂如 N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)或 N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)或 2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓六氟磷酸盐(HBTU)。在肽键形成后，从载体上洗去试剂。在加入最后的残基之后，用适宜的试剂如三氟乙酸(TFA)或氟化氢(HF)从载体上裂解肽。

然后通过使 GRP 受体靶向肽的 Trp⁸ 残基的游离氨基与适宜的连接基官能团反应而偶联连接基以形成缀合物。以上讨论的螯合剂、连接基和靶向部分的完整构建体还可以在树脂上装配，然后通过适宜的试剂如三氟乙酸或 HF 裂解。

4. 标记和施用放射性药物化合物

可以通过配位化学技术中公知的多种方法在放射性药物缀合物中引入金属。如果金属为 ^{99m}Tc-一种优选的用于诊断成像的放射性核素，则可以使用以下一般方法形成铟络合物。通过以下方法形成肽-螯合剂缀合物溶液：首先将缀合物溶于水、稀酸或醇如乙醇的水溶液。然后任选将溶液脱气以除去溶解的氧。如果在肽中存在-SH 基团，则可以选择使用巯基保护基如 AcM(乙酰氨基甲基)、三苯甲基或其它巯基保护基保护巯基免于氧化。用适宜的试剂例如氢氧化钠除去巯基保护基，

然后用有机酸如乙酸(pH 6.0-6.5)中和。作为可替代的选择,可以在铈整合期间原位除去巯基保护基。在标记步骤中,将得自钼发生器的高铈酸钠与足量还原剂如氯化亚锡加到缀合物的溶液以还原铈,并使其在室温下静置或加热。可以例如用 C-18 Sep Pak 柱 [Millipore Corporation, Waters Chromatography Division, 34 Maple Street, Milford, Massachusetts 01757] 进行色谱处理或使用本领域技术人员已知的方法进行 HPLC 而将标记的缀合物与污染物 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 和胶体 $^{99m}\text{TcO}_2$ 分离。

在一个可替代选择的方法中,可以通过转整合(transchelation)反应来完成标记。在此方法中,铈源是铈溶液,它在与所选择的整合剂反应之前被还原或与不稳定的配体络合,从而有利于与所选择的整合剂进行配体交换。用于转整合的适宜配体的实例包括酒石酸盐、柠檬酸盐、葡萄糖酸盐和庚葡萄糖酸盐。可以认识到所述的缀合物可以用上述的技术标记,或者作为可替代的选择,整合剂本身可以标记,然后与肽偶联形成缀合物:一种称为“预标记整合物”方法的工艺。Re 和 Tc 均在元素周期表的 VIIB 行,且它们是化学同族元素。因此在极大程度上,这两种金属与在体外和体内表现高稳定性的配体骨架的络合化学是相同的 [Eckelman, 1995], 且可以将类似的整合剂和方法用于进行 Re 标记。许多用于与肽和蛋白形成稳定的放射金属络合物的 ^{99m}Tc 或 $^{186/188}\text{Re}$ 络合物整合+5 氧化态的这些金属 [Lister-James 等人, 1997]。这种氧化态可以将 ^{99m}Tc -或 $^{186/188}\text{Re}$ 选择地置于已与生物分子缀合的配体骨架中,这种骨架是由多种不同的 ^{99m}Tc (V) 和/或 $^{186/188}\text{Re}$ (V) 弱整合物构建的(例如 ^{99m}Tc -葡庚糖酸盐、柠檬酸盐、葡萄糖酸盐等) [Eckelman, 1995; Lister-James 等人, 1997; Pollak 等人, 1996]。

5. 诊断和治疗应用

如果用诊断和/或治疗上有用的金属或光标记进行标记,则本发明

的化合物可以用于通过放射诊断、放射治疗和光成像技术中已建立的方法治疗和/或检测任何涉及 GRP 受体(或 NMB 受体)超表达的病理。[例如参见 Bu shbaum, 1995; Fischman 等人, 1993; Schubiger 等人, 1996; Lowbertz 等人, 1994; Krenning 等人, 1994; 光染料的实例包括但不限于以下文献公开的光染料: WO 98/18497、WO 98/18496、WO 98/18495、WO 98/18498、WO 98/53857、WO 96/17628、WO 97/18841、WO 96/23524、WO 98/47538 及其引述的参考资料。]

GRP-R 表达在许多人肿瘤中高度上调。例如参见 W099/62563。因此, 本发明的化合物可以广泛地用于治疗 and 诊断癌症, 包括前列腺癌(原发性和转移性)、乳腺癌(原发性和转移性)、结肠癌、胃癌、胰腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、胃泌素瘤、黑素瘤、恶性胶质瘤、成神经细胞瘤、子宫平滑肌肉瘤、前列腺上皮内瘤 [PIN] 和卵巢癌。此外, 本发明的化合物可以用于区分其中 GRP 受体上调和没有上调的病症(例如分别为慢性胰腺炎和胰腺导管癌)。

在实施例中更为详细说明的本发明的化合物在体内比不具有本文公开的新连接基的化合物表现出更高的肿瘤摄取, 对表达 GRP 受体的肿瘤表现出改进的靶向能力, 并因此用于对这些组织成像或递送放射治疗。实际上, 如实施例所示, 使用本发明的化合物进行的放射治疗更为有效(且存活时间增加)。

这些化合物的诊断应用可以是作为利用闪烁、光学、声致发光或光声成像进行的肿瘤细胞存在的首选诊断筛选, 或者作为在放射免疫指导的外科手术(RIGS)领域利用手持放射检测仪器靶向肿瘤组织的活性剂, 作为一种在施用配对的放射治疗化合物之前获得放射量测定数据的手段, 以及作为评价 GRP 受体群体作为治疗对时间的函数的方法。

这些化合物的治疗应用可以定义为一种用作癌症治疗中的首选治疗的药剂, 作为可以将这些药剂与辅助化学治疗联合使用的联合治疗, 和/或作为配对的治疗剂。配对的概念指可以根据已选择用于与适宜的螯合物结合的放射金属而定既可充当诊断剂又可充当治疗剂的单一的未金属化合物。如果该螯合剂不能适应需要的金属, 则可以进行适

宜的取代以适应不同的金属，同时保持药理学，使得诊断化合物的体内表现可以用于预测放射治疗化合物的表现。如果与辅助化学治疗联合使用，则可以使用任何适宜的化学治疗剂，例如包括抗肿瘤药如铂化合物(例如螺铂、顺铂和卡波铂)、氮甲蝶呤、阿霉素、丝裂霉素、柄型菌素、博来霉素、胞嘧啶、阿糖胞苷、阿糖腺苷、巯基聚赖氨酸、长春新碱、白消安、苯丁酸氮芥、美法仑(例如 PAM、a、L-PAM 或苯丙氨酸氮芥)、巯基嘌呤、米托坦、盐酸丙卡巴肼、放线菌素(放线菌素 D)、盐酸柔红霉素、盐酸阿霉素、紫杉酚、丝裂霉素、普卡霉素(光辉霉素)、氨基格鲁米特、雌莫司汀磷酸钠、氟他米特、乙酸亮丙瑞林、乙酸甲地孕酮、柠檬酸它莫西芬、睾内酯、曲洛司坦、安吡啶(m-AMSA)、天冬酰胺酶(L-天冬酰胺酶)、Erwina 天冬酰胺酶、依托泊苷(VP-16)、干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、替尼泊苷(VM-26)、硫酸长春碱(VLB)和阿拉伯糖基。在某些实施方案中，治疗剂可以是单克隆抗体，例如能够与黑素瘤抗原结合的单克隆抗体。

可以通过在可药用的载体和/或溶液，例如盐溶液如等渗盐水中进行静脉内、皮下或腹膜内注射而将用放射性核素金属，例如 ^{99m}Tc 标记的缀合物施用于哺乳动物，包括人患者或受试者。本发明提供的放射性标记的闪烁显像剂具有适宜的放射性量。在形成 ^{99m}Tc 放射性络合物过程中，一般优选形成包含放射性浓度为大约 0.01 毫居里(mCi)-100 mCi/mL 的放射性络合物溶液。一般地，待施用的单位剂量的放射性为大约 0.01 mCi 至大约 100 mCi，优选 1 mCi 至 30 mCi。以单位剂量待注射的溶液为大约 0.01 mL 到大约 10 mL。适于施用的标记的缀合物的数量取决于选择的缀合物的分布曲线，其含义是快速清除的缀合物可能需要以比清除较慢的缀合物更高的剂量施用。可以通过标准闪烁技术在施用后的适宜时间追踪体内分布和定位；所述时间取决于在靶部位的蓄积速率相对于在非靶组织的清除率，一般为 30 分钟至 180 分钟。例如，在给患者注射诊断性放射性核素标记的本发明的化合物之后，可以将针对在显像剂中引入的核素的 γ -射线能量进行校准的 γ -照相机用于对药剂摄入区域进行成像，并对该部位存在的放射性量进

行定量。体内部位成像可以在数分钟内发生。但是，如果需要的话，成像可以在放射性标记的肽注入患者之后数小时或甚至更长时间发生。在大部分的情况下，足量的施用剂量将在大约 0.1 小时内待成像的区域蓄积以允许拍摄闪烁照相图。

可以将本发明的化合物单独或作为包含其它组分如赋形剂、稀释剂、自由基清除剂、稳定剂和载体的组合物的一部分施用于患者，所有上述的组分在本领域中是已知的。可以将该化合物经静脉内或腹膜内施用于患者。

本发明具有许多优点。根据本发明制备的化合物形成稳定、清楚限定的 ^{99m}Tc 或 $^{186/188}\text{Re}$ 标记的化合物。类似的本发明的化合物也可以通过使用对各种放射性金属的适宜整合剂骨架来制备，以形成稳定、清楚限定的 ^{153}Sm 、 ^{90}Y 、 ^{166}Ho 、 ^{105}Rh 、 ^{199}Au 、 ^{149}Pm 、 ^{177}Lu 、 ^{111}In 或其它放射性金属标记的产物。放射性标记的 GRP 受体靶向肽与表达 GRP 受体的肿瘤细胞选择性结合，并且如果使用激动剂的话，被内化并在肿瘤细胞内长期保留。未到达（即不结合）癌细胞的放射性物质优选有效地排泄进入尿液，放射金属在肾脏中保留极少。

6. 光成像、声致发光、光声成像和光治疗

根据本发明，可以将许多光学参数用于在给患者注射光标记的本发明化合物之后用体内光成像来确定靶体的位置。在图像制备中待检测的光参数可以包括传送的辐射、吸收、荧光或磷光发射、光反射、吸收幅度或最大值的改变和弹性散射辐射。例如，生物组织对波长范围为 650-1000nm 的近红外 (NIR) 光相对透光。NIR 照射可以穿透组织达数厘米，允许使用本发明化合物对含靶体的组织进行体内成像。可见和近红外 (NIR) 光在临床实践中的使用迅速增长。在电磁波谱的可见、NIR 或长波长 (UV-A, >350 nm) 区吸收或发射的化合物可能用于光学断层照相成像、内窥镜可视化和光治疗。

生物医学光学的一个主要优点是它的治疗潜能。已证明光治疗是一种用于治疗多种表面损伤（外伤和内伤）的安全和有效的方法。染

料对于增强信号检测和/或使组织在光成像和光治疗中具有感光性是重要的。先前的研究已表明,某些染料可以定位在肿瘤,并用作检测和治疗小癌的强有力探针(D. A. Bellnier 等人, Murine pharmacokinetics and antitumor efficacy of the photodynamic sensitizer 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a, J. Photochem. Photobiol., 1993, 20, pp. 55-61; G. A. Wagnieres 等人, In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications, Photochem. Photobiol., 1998, 68, pp. 603-632; J. S. Reynolds 等人, Imaging of spontaneous canine mammary tumors using fluorescent contrast agents, Photochem. Photobiol., 1999, 70, pp. 87-94)。但是,这些染料不优先定位在恶性组织中。

在一个例举性实施方案中,本发明的化合物可以与光标记物缀合,所述光标记物例如光染料,包括有机发色团或荧光团,具有广泛的离域环系统且吸收或发射最大值范围为 400-1500 nm。本发明的化合物可选择性地用生物发光分子衍生。对光标记物的优选的最大吸收范围为 600-1000 nm 以使对来自血红蛋白的信号干扰最小。优选光吸收标记具有大摩尔吸光系数,例如 $>10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, 而荧光性光染料具有高量子产额。光染料的实例包括但不限于在 WO 98/18497、WO 98/18496、WO 98/18495、WO 98/18498、WO 98/53857、WO 96/17628、WO 97/18841、WO 96/23524、WO 98/47538 及其引述的参考资料所述的光染料。例如,光标记物可以直接共价连接到本发明的化合物,例如包含 GRP 受体靶向肽和本发明的连接基的化合物。许多在电磁光谱的可见和近红外区吸收和发射光的染料由于它们的生物相容性、高摩尔吸光系数和/或高荧光量子产额目前正被用于多种生物医学应用。与作为对比剂的染料结合的光形态的高度敏感性与核医学的类似,并允许在无不期望的电离辐射作用的情况下使器官和组织可见。在近红外(NIR)区具有强烈吸收和发射的花青染料是特别有用的,因为生物组织在该区透光(B. C. Wilson, Optical properties of tissues. Encyclopedia of Human

Biology, 1991, 5, 587-597)。例如, 在 NIR 区吸收和发射的吲哚花青绿已用于监测心输出量、肝功能和肝血流(Y-L. He, H. Tanigami, H. Ueyama, T. Mashimo, and I. Yoshiya, Measurement of blood volume using indocyanine green measured with pulse-spectrometry : Its reproducibility and reliability. Critical Care Medicine, 1998, 26(8), 1446-1451; J. Caesar, S. Shaldon, L. Chiandussi, et al., The use of Indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. Clin. Sci. 1961, 21, 43-57), 且它的官能化衍生物已用于缀合生物分子以用于诊断目的(R. B. Mujumdar, L. A. Ernst, S. R. Mujumdar 等人, Cyanine dye labeling reagents: Sulfoindocyanine Succinimidyl esters. Bioconjugate Chemistry, 1993, 4(2), 105-111; Linda G. Lee and Sam L. Woo. "N-Heteroaromatic ion and iminium ion substituted cyanine dyes for use as fluorescent labels", U. S. Pat. No. 5,453, 505; Eric Hohenschuh 等人 "Light imaging contrast agents", W098/48846; Jonathan Turner 等人 "Optical diagnostic agents for the diagnosis of neurodegenerative diseases by means of near infra-red radiation", W098/22146; Kai Licha 等人 "In-vivo diagnostic process by near infrared radiation", W096/17628; Robert A. Snow 等人, Compounds, W0 98/48838。

在注射光标记化合物之后, 用适于在药剂中所用的光标记的波长范围的一个或多个光源(例如激光)扫描患者。所用的光可以是单色或多色的和连续或脉冲的。通过调至一个或多个波长的光检测器检测透射、散射或反射的光以确定患者的含靶体组织(例如含 GRP 的组织)的位置。可以随时间监测光参数的改变以检测靶部位(例如肿瘤或其它具有 GRP 受体的部位)光标记的试剂的蓄积。可以将标准图像加工和检测设备与本发明的光成像试剂结合使用。

上述的光成像试剂还可以用于采用光标记的显像剂进行的声-光

或声致发光成像(参见 U. S. 5, 171, 298、WO 98/57666 及其参考资料)。在声-光成像中, 将超声照射应用于受试者, 并影响透射、发射或反射光的光参数。在声致发光成像中, 所用的超声实际上产生被检测的光。使用这些技术的适宜的成像方法在 WO 98/57666 中作了描述。

在以下文献中描述了各种成像技术和试剂: 美国专利 6, 663, 847、6, 656, 451、6, 641, 798、6, 485, 704、6, 423, 547、6, 395, 257、6, 280, 703、6, 277, 841、6, 264, 920、6, 264, 919、6, 228, 344、6, 217, 848、6, 190, 641、6, 183, 726、6, 180, 087、6, 180, 086、6, 180, 085、6, 013, 243 和公开的美国专利申请 2003185756、20031656432、2003158127、2003152577、2003143159、2003105300、2003105299、2003072763、2003036538、2003031627、2003017164、2002169107、2002164287 和 2002156117。

7. 放射治疗

放射性同位素治疗包括施用足量的放射性标记的化合物以损伤或破坏靶向的组织。在施用化合物(例如通过静脉内、皮下或腹膜内注射)之后, 放射性标记的药物优先定位在病患部位(在此情况下为表达 GRP 受体的肿瘤组织或其它组织)。一旦定位, 该放射性标记的化合物就以在所施用的同位素的放射性衰减期间释放的能量损坏或破坏病患组织。如本文讨论, 本发明还包括联合使用放射治疗和辅助化学治疗(或者与任何其它适宜的治疗剂联用)。

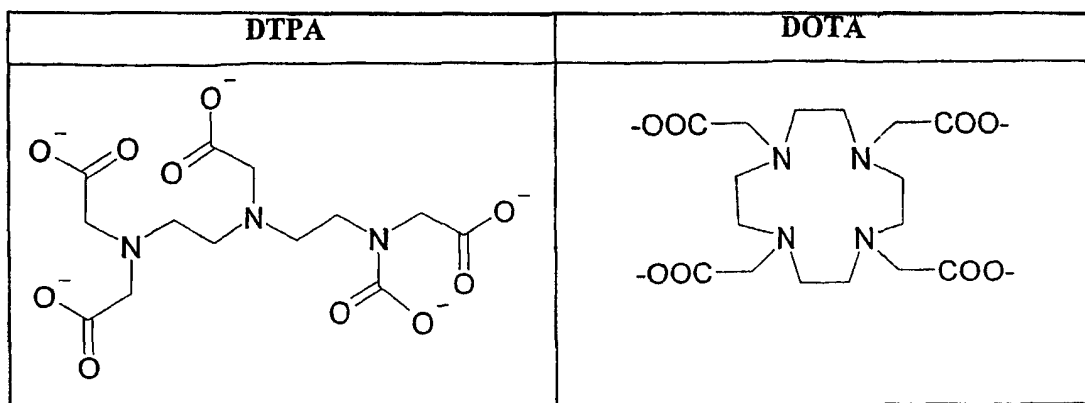
成功的放射治疗的设计涉及若干关键因素:

1. 选择适宜的靶向基因以递送放射性至病患部位;
2. 选择释放足够能量以破坏病患部位的适宜的放射性核素, 并基本上不破坏相邻的正常组织; 和
3. 选择适宜的靶向基因与放射性核素的组合, 不会不利地影响这种缀合物在病患部位定位的能力。对于放射性金属而言, 这通常涉及这样的螯合基因: 这种基因与放射性核素紧密地配位, 结合将该螯合物偶联至靶向基因的连接基, 且这种基因影响化合物的总生物分布以

使靶组织的摄入最大化，并使正常、非靶器官的摄入最小化。

本发明通过适宜地选择靶向基团、放射性核素、金属螯合物和连接基而提供满足以上全部三个标准的放射治疗剂。

放射治疗剂可以包含来自已知为镧系元素类(原子序数 57-71 的元素)的螯合的 3+金属离子和它们的类似物(即 M^{3+} 金属如钇和铈)。在此种类中典型的放射性金属包括同位素 90-钇、111-铟、149-钷、153-钐、166-镱、166-铥、175-镱和 177-镱。所有这些金属(和镧系中的其它金属)具有非常类似的化学，它们保持+3 氧化态，并优选与含有硬(氧/氮)供体原子的配体螯合，典型的为已知螯合物 DTPA(二亚乙基三胺五乙酸)的衍生物和多氮杂-多羧酸大环如 DOTA(1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-N, N', N'', N'''-四乙酸及其相近的类似物。这些完全去质子化形式的螯合配体的结构如以下所示。



这些螯合配体通过多个氮和氧原子与放射金属结合而将其包封，从而防止游离(未结合)的放射金属释放进入体内。这是重要的，因为 3^+ 放射金属由其螯合物的体内解离可以导致在肝、骨和脾中放射金属的摄取 [Brechtel MW, Gansow OA, "Backbone-substituted DTPA ligands for ^{90}Y radioimmunotherapy", *Bioconj. Chem.* 1991; 2: 187-194; Li, WP, Ma DS, Higginbotham C, Hoffman T, Ketring AR, Cutler CS, Jurisson, SS, "Development of an in vitro model for assessing the in vivo stability of lanthanide chelates." *Nucl. Med. Biol.* 2001; 28(2): 145-154; Kasokat T, Urich K,

Arzneim.-Forsch, "Quantification of dechelation of gadopentetate dimeglumine in rats", 1992; 42(6): 869-76]。除非配体特异性地靶向于这些器官,这些非特异性摄取是非常不期望的,因为它导致非靶组织的非特异性照射,从而可能导致诸如由于骨髓照射造成的造血抑制的问题。

关于放射治疗应用,可以使用本文公开的任何治疗性放射性核素的螯合剂。但是,DOTA螯合物形式[Tweedle MF, Gaughan GT, Hagan JT, "1-Substituted-1,4,7-triscarboxymethyl-1,4,7,10-terazacyclodecane and analogs." 美国专利 4,885,363, Dec. 5, 1989]是特别优选的,因为DOTA螯合物预期在体内比DTPA或其它线性螯合物较少去螯合。

通过连接基将DOTA型大环偶联至靶向基团的方法(例如通过活化DOTA的羧酸之一以形成活性酯,然后使其与连接基上的氨基反应以形成稳定的酰胺键)对本领域技术人员来说是已知的(例如参见Tweedle等人,美国专利4,885,363)。还可以对在多氮杂环骨架上修饰的DOTA型大环进行偶联。

用于特定的放射治疗应用的适当核素的选择取决于多种因素,包括

a. 物理半衰期-它应该足够长以允许从放射金属和缀合物合成并纯化放射治疗构建体,并将该构建体递送至注射部位,并在注射前无明显的放射性衰减。优选放射性核素应该具有大约0.5-8天的物理半衰期。

b. 放射性核素发射的能量-作为粒子发射体(例如 α -发射体、 β -发射体和Auger电子发射体)的放射性核素是特别有用的,因为它们发射在短距离内蓄积其能量从而产生高度局部化的破坏的高能粒子。 β -发射放射性核素是特别优选的,因为来自这些同位素的 β -粒子发射的能量在5至大约150个细胞直径内蓄积。由这些核素制备的放射治疗剂能够杀死与它们的定位部位相对接近的病患细胞,但不能长距离行进以破坏相邻正常组织如骨髓。

c. 比活性(即放射性/放射性核素质量)-具有高比活性的放射性核素(例如发生器产生的 $^{90}\text{-Y}$ 、 $^{111}\text{-In}$ 、 $^{177}\text{-Lu}$)是特别优选的。放射性核素的比活性由它的生产方法、用于生产它的特定靶体和所讨论的同位素的特性来决定。

许多镧系元素包括具有使它们适于用作放射治疗剂的核特性的放射性同位素,因为它们发射 β -粒子。这些当中的一些列于下表。

同位素	半衰期 (天)	最大 β -能量 (MeV)	γ 能量 (keV)	β -粒子的大致范围 (细胞直径)
$^{149}\text{-Pm}$	2.21	1.1	286	60
$^{153}\text{-Sm}$	1.93	0.69	103	30
$^{166}\text{-Dy}$	3.40	0.40	82.5	15
$^{166}\text{-Ho}$	1.12	1.8	80.6	117
$^{175}\text{-Yb}$	4.19	0.47	396	17
$^{177}\text{-Lu}$	6.71	0.50	208	20
$^{90}\text{-Y}$	2.67	2.28	-	150
$^{111}\text{-In}$	2.810	Auger 电子发射体	173, 247	<5 μm

Pm: 钷, Sm: 钐, Dy: 镝, Ho: 钬, Yb: 镱, Lu: 镥, Y: 钇, In: 铟

放射金属如 β -发射镧系放射性同位素的制备方法在本领域中是已知的,并已在其它地方公开[例如 Cutler C S, Smith CJ, Ehrhardt GJ.; Tyler TT, Jurisson SS, Deutsch E. "Current and potential therapeutic uses of lanthanide radioisotopes." *Cancer Biother. Radiopharm.* 2000; 15(6): 531-545]。许多这些同位素可以高产率和较低成本地产生,且许多(例如 $^{90}\text{-Y}$ 、 $^{149}\text{-Pm}$ 、 $^{177}\text{-Lu}$)可以以接近无载体的比活性产生(即大部分的原子是放射性的)。由于非放射性原子可以与它们的放射性类似物竞争与靶组织上的受体结合,因此使用具有高比活性的放射性同位素是重要的,以允许递送尽可能高剂量的放射性至靶组织。

含有 β -发射同位素铼($^{186}\text{-Re}$ 和 $^{188}\text{-Re}$)的本发明的放射治疗衍生物

也是特别优选的。

8. 剂量和添加剂

本发明化合物的适宜剂量方案对于本领域技术人员来说是已知的。该化合物可以用许多方法施用，所述方法包括但不限于单一或多次 IV 或 IP 注射。对于放射性药物，施用的放射性的量足以允许成像或在放射治疗的情况下导致破坏或除去含靶向的 GRP-R 的组织，但不至于造成非靶体(正常部位)发生实质性损伤。闪烁成像所需的量和剂量在上文作了讨论。放射治疗所需的量和剂量对于不同的构建体也是不同的，它取决于所用的同位素的能量和半衰期、体内试剂的摄取和清除程度以及肿瘤的质量。一般地，剂量范围可以从大约 30-50 mCi 的单一剂量至高达大约 3 居里的累积剂量。

[插入关于光学化合物的剂量信息]

本发明的组合物可以包括生理学上可接受的缓冲剂，并可能需要照射稳定剂以防止在注射前化合物发生辐射分解破坏。放射稳定剂对本领域技术人员来说是已知的，并可以包括例如对氨基苯甲酸、抗坏血酸、龙胆酸等。

包含制备本发明的诊断或治疗剂所需的所有组分的单瓶或多瓶试剂盒是本发明的一个组成部分。在放射性药物的情况下，这些试剂盒通常包括除了放射性核素之外的所有必需的成分。

例如，用于制备本发明的放射性药物的单瓶试剂盒优选包含式 M-N-O-P-G 的螯合剂/连接基/靶向肽缀合物，一种亚锡盐来源(如果需要还原，例如在使用镓的时候)或其它可药用的还原剂，并用可药用的酸或碱适宜地缓冲以调节 pH 至大约 3 至大约 9 的值。所用的还原剂的数量和类型将高度取决于待形成的交换络合物的性质。适宜的条件对本领域技术人员来说是已知的。优选试剂盒内容物为冻干形式。这种单瓶试剂盒可以任选包含不稳定或交换配体，例如葡糖庚酸盐、葡萄

糖酸盐、甘露醇、苹果酸盐、柠檬酸或酒石酸，并还可以包含反应修饰剂如二亚乙基三胺-五乙酸(DPTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)，或者 α 、 β 或 γ -环糊精，用于改善最终产物的放射化学纯度和稳定性。该试剂盒还可以包含稳定剂、膨胀剂如甘露醇，它们设计用于辅助冻干工艺，和本领域技术人员已知的其它添加剂。

多瓶试剂盒优选包含相同的常规组分，但使用多于一个小瓶以重组放射性药物。例如，一个小瓶可以包含所有在加入高锝酸盐时形成不稳定的 Tc(V)络合物所需的成分(例如亚锡源或其它还原剂)。将高锝酸盐加到此小瓶，并在等待适宜的时间之后将此小瓶的内容物加到包含螯合剂和靶向肽以及适于将 pH 调节至其最佳值的缓冲剂的第二小瓶。在大约 5 至 60 分钟的反应时间之后，形成本发明的络合物。有利的是此多瓶试剂盒的两个小瓶的内容物均被冻干。如上所述，反应修饰剂、交换配体、稳定剂、膨胀剂等可以存在于任一个或两个小瓶中。

化合物的一般制备

取决于所选择的螯合剂，本发明的化合物可以通过多种方法制备。化合物的肽部分可以最为便利地由肽合成技术中已建立和已知的技术，例如固相肽合成(SPPS)方法来制备。因为要进行固相合成，因此使用交替 Fmoc 保护和脱保护是优选的制备短肽的方法。重组 DNA 技术优选用于生产蛋白和它的长片段。

固相肽合成(SPPS)包括往与不溶性载体或基质如聚苯乙烯连接的生长的肽链上分步加入氨基酸残基。所述肽的 C 末端残基首先固定于可商购得到的载体上，其氨基用 N-保护剂如叔丁氧羰基(Boc)或芴基甲氧基羰基(Fmoc)保护。用适宜的脱保护剂除去氨基保护基，对于 Boc 为 TFA，或对于 Fmoc 为哌啶，并加入下一个氨基酸残基(N-保护形式)和偶联剂如二异丙基碳二亚胺(DIC)。在肽键形成后，从载体上洗去试剂。在加入最后的残基之后，用适宜的试剂如三氟乙酸(TFA)或氟化氢(HF)从载体上裂解肽。

通过分段偶联可替代选择地制备化合物

本发明的化合物还可以通过本领域中称为分段偶联 (segment coupling) 或片段缩合的方法来制备 (Barlos, K. 和 Gatos, D.; 2002 "Convergent Peptide Synthesis" in Fmoc Solid Phase Synthesis-A Practical Approach; Eds. Chan, W. C. 和 White, P. D.; Oxford University Press, New York; Chap. 9, pp 215-228)。在此方法中, 通过液相合成或固相合成或这两种方法的组合分别制备通常为侧链保护形式的肽的片段。片段的选择是关键, 且用可以提供易处理数目的片段的分割策略来进行选择, 所述片段的 C-末端残基和 N-末端残基设计用于提供肽合成中最干净利落的偶联。最好片段的 C-末端残基缺少手性 α 碳 (甘氨酸或其它部分, 在偶联步骤中在待活化的羧基的碳 α 处为非手性), 或者包含在活化和偶联期间的外消旋化倾向是可能选择中最低的氨基酸。各片段的 N-末端氨基酸的选择基于将活化的酰基中间产物偶联至氨基的容易程度。一旦选择分割策略, 则根据所需的中间产物的合成可达性和所得产物的处理和纯化 (如果需要的话) 的相对容易性来选择各片段的偶联方法。然后将片段偶联在一起, 所述片段都在溶液中, 或者一个在固体相而另一个在溶液中, 从而制备完全或部分保护形式的最终结构。

然后除去受保护的化合物的保护基, 纯化, 并分离得到最终期望的产物。分段偶联方法的优点是各个片段可以分别纯化, 允许除去副产物, 如由不完全偶联得到的删除序列, 或者衍生自反应如偶联步骤中侧链酰胺脱水, 或在 Fmoc 基团脱保护期间将侧链 (如 Gln 的侧链) 内环化至 α -氨基。这些副产物都会存在于常规的基于树脂的“直通”肽链装配的最终产物中, 如果需要的话可以在分段偶联策略的许多阶段除去这些物质。分段偶联策略的另一个重要的优点是可以应用不同的溶剂、试剂和条件以将各片段的合成最优化至高纯度和产率, 导致最终产物的纯度和产率得到提高。其它意识到的优点是试剂消耗减少和成本降低。

实施例

提供以下实施例作为可以用于制备本发明多种化合物的不同方法的实例。在各个实施例中，存在用单一黑体大写字母(例如 A、B、C)标识的化合物，其与在图中相同标记的对应化合物相关。

一般实验

A. 所用的缩写的定义

在整个说明书中使用以下常用缩写：

1, 1-二甲基乙氧基羰基 (Boc 或 Boc)；

9-芴基甲氧基羰基 (Fmoc)；

1-羟基苯并三唑 (HOBT)；

N, N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC)；

N-甲基吡咯烷酮 (NMP)；

乙酸酐 (Ac₂O)；

(4, 4-二甲基-2, 6-二氧代亚环己-1-基)-3-甲基丁基 (iv-Dde)；

三氟乙酸 (TFA)；

试剂 B (TFA: H₂O: 苯酚: 三异丙基硅烷, 88: 5: 5: 2)；

二异丙基乙胺 (DIEA)；

0-(1H-苯并三唑-1-基)-N, N, N', N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐 (HBTU)；

0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1, 1, 3, 3-四甲基脲鎓六氟磷酸盐 (HATU)；

N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS)；

固相肽合成 (SPPS)；

二甲亚砜 (DMSO)；

二氯甲烷 (DCM)；

二甲基甲酰胺 (DMF)；

二甲基乙酰胺 (DMA)；

1, 4, 7, 10-四氮杂环十四烷-1, 4, 7, 10-四乙酸 (DOTA);
三异丙基硅烷 (TIPS);
1, 4, 7, 10-四氮杂环十四烷-1, 4, 7, 10-四乙酸 (DOTA)
(1R)-1-[1, 4, 7, 10-四氮杂-4, 7, 10-三(羧甲基)环十二烷基]乙
烷-1, 2-二甲酸 (CMDOTA);
胎牛血清 (FBS);
人血清白蛋白 (HSA);
人前列腺癌细胞系 (PC3);
氯甲酸异丁酯 (IBCF);
三丁基胺 (TBA);
放射化学纯度 (RCP); 和
高效液相色谱 (HPLC)。

B. 材料

所用的 Fmoc-保护的氨基酸购自 Nova-Biochem (San Diego, CA, USA), Advanced Chem Tech (Louisville, KY., USA)、Chem-Impex International (Wood Dale Ill., USA) 和 Multiple Peptide Systems (San Diego, CA., USA)。合成中所需的其它化学物质、试剂和吸附剂购自 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, USA) 和 VWR Scientific Products (Bridgeport, NJ., USA)。用于肽合成的溶剂购自 Pharmco Co. (Brookfield CT., USA)。用于 HPLC 分析和纯化的柱购自 Waters Co. (Milford, MA., USA)。以下给出非商购的物质的实验细节。

C. 肽合成的仪器

使用 Advanced ChemTech 496 Ω MOS 合成仪, Advanced ChemTech 357 FBS 合成仪和/或通过人工肽合成来制备肽。但是, 所用的反复脱保护和链延伸的方案对于所有方法来说是相同的。

D. 采用 Symphony 仪器 (Rainin 制造) 的自动合成

用 Protein Technologies Inc. 提供的 Symphony Version 3 进行合成。使用置换率为 0.25mmol/g 的 Novagel TGR 树脂, 各孔包含 0.2g 树脂 (50 μ mol)。将氨基酸溶于 NMP, 其浓度为 0.25M。制备 0.25M 在 DMF 中的 HBTU 和 N-甲基吗啉的溶液, 并将其用于偶联。所有的偶联进行 2.0 小时。裂解在机器外通过将树脂转移至另一反应容器并使用如在人工合成中使用的试剂 B 完成。

E. 用于分析和纯化的仪器

使用 Shimadzu-LC-10A 双泵梯度分析 LC 系统, 采用用于系统控制、数据获取和运行后处理的 Shimadzu-ClassVP 软件 4.1 版完成分析 HPLC。在 Hewlett-Packard Series 1100 MSD 质谱仪上获得质谱, 其接口为 Hewlett-Packard Series 1100 双泵梯度 HPLC 系统, 配备 Agilent Technologies 1100 series 自动取样器, 适于直接流式注射或注射至 Waters Associates XTerra MS C18 柱 (4.6 mm x 50 mm, 5 μ 颗粒, 120Å 孔) 上。此仪器通过 HP Kayak 工作站, 使用用于样品提交的 'MSD Anyone' 软件和用于仪器控制和数据获取的 HP Chemstation 软件来驱动。在大部分的情况下, 通过使用注射 5 μ L 浓度为 1 mg/mL 的样品溶液进行直接注射来引入样品, 并使用阳离子电喷雾进行分析以得到用于确证结构的 m/e 和 m/z (带多个电荷) 离子。在 Varian Innova 光谱计上于 500 MHz 获得 ^1H -NMR 光谱。在相同的仪器上, 于 125.73 MHz 获得 ^{13}C -NMR 光谱。通常将残余的 ^1H 吸收, 或者在 ^{13}C -NMR 的情况下所用溶剂的 ^{13}C 吸收用作内标; 在其它情况下将四甲基硅烷 ($\mu=0.00$ ppm) 用作内标。以 μ 为单位给出共振值。从 Quantitative Technologies Inc. Whitehouse NJ 获得微分析数据。用 Shimadzu-LC-8A 双泵梯度制备 HPLC 系统, 使用用于系统控制、数据获取、级分收集和运行后处理的 Shimadzu-ClassVP 软件 4.3 版完成制备 HPLC。

F. 用于肽合成的一般方法

将 Rink 酰胺-Novagel HL 树脂 (0.6 mmol/g) 用作固体载体。

G. 偶联操作

在典型实验中，将第一氨基酸装载至 0.1 g 树脂 (0.06 mmol)。将在 NMP 中的适宜的 Fmoc-氨基酸 (0.25M 溶液; 0.960 mL) 加到树脂，然后加入 N-羟基苯并三唑 (0.5M, 在 NMP 中; 0.48 mL)，并将反应区 (block) (在自动肽合成的情况下) 或各反应容器 (在人工肽合成的情况下) 振荡大约 2 分钟。往以上混合物加入二异丙基碳二亚胺 (0.5M, 在 NMP 中; 0.48 mL)，并将反应混合物在室温下振荡 4 小时。然后通过应用干氮气正压力来清洗反应区或单独的反应容器内的反应物。

H. 清洗操作

给反应区的每孔装填 1.2 mL NMP，并将该区振荡 5 分钟。在氮正压下排出溶液。重复此操作三次。在使用单独的容器进行人工合成的情况下使用相同的方法和适宜体积的 NMP。

I. 除去 Fmoc 基团

用 1.5 mL 在 DMF 中的 20% 哌啶 (v/v) 处理包含 Fmoc-保护的氨基酸的树脂，并将该反应区或单独的人工合成容器振荡 15 分钟。从树脂中排出溶液。重复此过程一次，并用上述的清洗方法洗树脂。

J. 配体 (DOTA 和 CMDOTA) 的最终偶联

将树脂结合的肽连接基构建体的 N-末端氨基去封闭，并洗涤树脂。制备 0.25M 在 NMP 中的目标配体和 HBTU 的溶液，并用两倍当量的 DIEA 进行处理。将所得的激活配体的溶液加到树脂 (1.972 mL; 0.48 mmol)，并将反应混合物在室温下振荡 24-30 小时。排出溶液并洗涤树脂。用 1.5 mL 二氯甲烷 (3X) 完成树脂的最终洗涤。

K. 最终肽的脱保护和纯化

将试剂 B 的溶液 (2 mL; 88: 5: 5: 2-TFA: 苯酚: 水: TIPS) 加到树脂, 并将反应区或单独的容器于室温下振荡 4.5 小时。将所得的包含脱保护肽的溶液排出至小瓶中。使用 1mL 试剂 B 再重复此过程 2 次。用 Genevac HT-12 series II 离心浓缩器减压浓缩合并的滤液。然后将各小瓶中残余物与 2 mL Et₂O 一起研磨, 并弃去上清液。重复此方法两次以得到肽, 为无色固体。将该粗肽溶于水/乙腈, 并用 Waters XTerra MS C18 制备 HPLC 柱 (50 mm x 19 mm, 5 微米粒径, 120Å 孔径) 或 Waters-YMC C18 ODS 柱 (250 mm x 30 mm i. d., 10 微米粒径, 120Å 孔径) 纯化。收集含产物的级分, 并用 HPLC 分析。收集 >95% 纯度的级分, 并通过冻干分离肽。

制备 HPLC 的条件 (Waters XTerra 柱):

洗脱速率: 50 mL/分

检测: UV, $\lambda=220$ nm

洗脱剂 A: 0.1 % TFA 水溶液; 溶剂 B: 乙腈 (0.1%TFA)。

HPLC 分析的条件:

柱: Waters XTerra (Waters Co.; 4.6 x 50 mm; MS C18; 5 微米粒子, 120Å 孔)。

洗脱速率: 3 mL/分; 检测: UV, $\lambda=220$ nm。

洗脱剂 A: 0.1%TFA 水溶液; 溶剂 B: 乙腈 (0.1%TFA)。

实施例 I-图 1A-B

合成 L62

概述: 如图 1A-B 所示, 用以下步骤制备 L62 :

用 NaOH 水解 (3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸甲酯 A 得到对应的酸 B, 然后与 Fmoc-C1 反应得到中间产物 C。使用八肽

Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN[7-14] [SEQ ID NO :1]) 官能化的 Rink 酰胺树脂依次与 C、Fmoc-甘氨酸和 DOTA 三叔丁酯反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，用制备 HPLC 纯化粗品得到 L62。总产率：2.5%。以下提供更多的细节：

A. 用蛙皮素[7-14]，(A)官能化的 Rink 酰胺树脂

在固相肽合成容器(见附件 No.1)中，将 Fmoc-氨基酸(24 mmol)、N-羟基苯并三唑(HOBt)(3.67 g; 24 mmol)和 N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIC)(3.75mL; 24 mmol)依次加到在 DMF(45 mL)中的 Rink 酰胺 NovaGel™ 树脂(10 g; 6.0 mmol)A 的悬浮液。将混合物于室温下使用台式振荡器振荡 3 小时，然后排空溶液，并用 DMF(5 x 45 mL)洗涤树脂。将树脂与在 DMF(45 mL)中的 25%哌啶一起振荡 4 分钟，倒空溶液，并加入新鲜的在 DMF(45 mL)中的 25%哌啶。将该悬浮液振荡 10 分钟，然后倒空溶液，并用 DMF(5 x 45 mL)洗涤树脂。

将此方法依次用于以下氨基酸：

N- α -Fmoc-L-蛋氨酸、N- α -Fmoc-L-亮氨酸、N- α -Fmoc-N-im-三苯甲基-L-组氨酸、N- α -Fmoc-甘氨酸、N- α -Fmoc-L-缬氨酸、N- α -Fmoc-L-丙氨酸、N- α -Fmoc-N-in-Boc-L-色氨酸。

在最后的偶联反应中，将 N- α -Fmoc-N- γ -三苯甲基-L-谷氨酰胺(14.6 g; 24 mmol)、HOBt(3.67 g; 24 mmol)和 DIC(3.75 mL; 24 mmol)加到在 DMF(45 mL)中的树脂。将该混合物于室温下振荡 3 小时，倒空溶液，并用 DMF(5 x 45 mL)、CH₂Cl₂(5 x 45 mL)洗涤树脂，并进行真空干燥。

B. 制备中间产物 B 和 C(图 1A)：

1. 合成(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸(B)

45°C 下将 1M NaOH 溶液(16.6 mL; 16.6 mmol)滴加到在 MeOH(65 mL)中的(3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸甲酯(5.0g; 12.8 mmol)的溶液。45°C 下搅拌 3 小时后，将混合物浓缩至 25 mL，并加入 H₂O(40 mL)和 1 M

HCl (22 mL)。将沉淀的固体过滤，用 H₂O (2 x 50 mL) 洗涤并真空干燥得到 B，为一种白色固体 (5.0 g; 13.3 mmol)。产率 80%。

2. 合成 (3 β , 5 β)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基胆烷-24-酸 (C)

将在 1,4-二噁烷 (9 mL) 中的 9-芴基甲氧基羧基氯 (0.76g; 2.93 mmol) 的溶液滴加到在 0°C 下搅拌的在 10%Na₂CO₃ 水溶液 (16 mL) 和 1,4-二噁烷 (9 mL) 中的 (3 β , 5 β)-3-氨基胆烷-24-酸 B (1.0 g; 2.66 mmol) 的悬浮液。室温下搅拌 6 小时后，加入 H₂O (90 mL)，用 Et₂O (2 x 90 mL) 洗涤水相，然后加入 2 M HCl (15 mL) (最终 pH: 1.5)。用 EtOAc (2 x 100 mL) 萃取水相，用 Na₂SO₄ 干燥有机相并蒸发。用快速色谱法纯化粗品得到 C，为一种白色固体 (1.2 g; 2.0 mmol)。产率 69%。

C. 合成 L62 (N-[(3 β , 5 β)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 1B):

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将该悬浮液振荡 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基胆烷-24-酸 C (0.72 g; 1.2 mmol)、N-羟基苯并三唑 (HOBT) (0.18 g; 1.2 mmol)、N,N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC) (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 24 小时，倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-甘氨酸 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 3 小时，倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的

50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂，然后将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时，倒空溶液，用 DMA (5 x 7 mL) 和 CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂，并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，将其与 Et₂O (20 mL) 一起研磨得到一种沉淀。离心收集沉淀，并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤，然后用 HPLC 分析，并用制备 HPLC 纯化。将含产物的级分冻干得到 L62 (6.6mg; 3.8 x 10⁻³ mmol)，为一种白色固体。产率 4.5%。

实施例 II-图 2A-F

合成 L70、L73、L74、L115 和 L116

概述：通过以下方法获得产物：将担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN [7-14] [SEQ ID NO : 1]) (具有适宜的侧链保护) 与不同的连接基偶联，然后用 DOTA 三叔丁酯官能化。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，通过制备 HPLC 纯化最终产物。总产率 3-9%。

A. 合成 L70 (图 2A):

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-4-氨基苯甲酸 (0.43 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物在室温下振荡 3 小时，倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。

然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-甘氨酸 (0.36 g; 1.2 mmol)、HATU (0.46 g; 1.2 mmol) 和 DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 在 DMA (7 mL) 中搅拌 15 分钟, 然后将溶液加到树脂, 将混合物于室温下振荡 2 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 24 小时。倒空溶液, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发滤液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O (5 mL) 一起研磨。离心收集沉淀。并用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤, 然后用 HPLC 分析并用制备 HPLC 纯化。将包含产物的级分冻干得到 L70, 为一种白色绒毛状固体 (6.8 mg; 0.005 mmol)。产率 3%。

B. 合成 L73、L115 和 L116 (图 2B-2E):

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-连接基-OH (1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 3 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷

-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物(0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT(0.18 g; 1.2 mmol)、DIC(0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA(0.40 mL; 2.4 mmol)和 DMA(7 mL)加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液并用 DMA(5 x 7 mL)、CH₂Cl₂(5 x 7 mL)洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B(25mL)一起振荡 4 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O(5 mL)一起研磨。离心收集沉淀, 并用 Et₂O(5 x 5 mL)洗涤, 然后用 HPLC 分析并用制备 HPLC 纯化。将包含产物的级分冻干。

C. 合成 L74(图 2F):

将树脂 A(0.5 g; 0.3 mmol)在固相肽合成容器中与在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。将 Fmoc-六氢异烟酸(0.42 g; 1.2 mmol)、HOBT(0.18 g; 1.2 mmol)、DIC(0.19 mL; 1.2 mmol)和 DMA(7 mL)加到树脂, 将混合物于室温下振荡 3 小时, 倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。将树脂与在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。将 Fmoc-甘氨酸(0.36 g; 1.2 mmol)、HOBT(0.18 g; 1.2 mmol)、DIC(0.19 mL; 1.2 mmol)和 DMA(7 mL)加到树脂, 将混合物于室温下振荡 3 小时, 倒空溶液并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物(0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT(0.18 g; 1.2 mmol)、DIC(0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA(0.40 mL; 2.4 mmol)和 DMA(7 mL)加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 用 DMA(5 x 7 mL)、CH₂Cl₂(5 x 7 mL)洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B(25mL)一起振荡

4 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，将其与 Et₂O (5 mL) 一起研磨。离心收集沉淀并用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤，然后用 HPLC 分析，并用 HPPLC 纯化。将包含产物的级分冻干得到 L74，为一种白色绒毛状固体 (18.0 mg; 0.012 mmol)。产率 8%。

实施例 III-图 3A-E

合成 L67

概述：用 NaOH 水解 (3 β , 5 β)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸甲酯 A 得到对应的酸 B，然后使其与 Fmoc-甘氨酸反应得到中间产物 C。使用八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN [7-14] [SEQ ID NO : 1]) 官能化的 Rink 酰胺树脂依次与 C 和 DOTA 三叔丁酯反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，用制备 HPLC 纯化粗品，得到 L67。总产率：5.2%。

A. 合成 (3 β , 5 β)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸, (B) (图 3A)

在 45°C 下将 1 M NaOH 溶液 (6.6 mL; 6.6 mmol) 滴加到在 MeOH (15 mL) 中的 (3 β , 5 β)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸甲酯 A (2.1 g; 5.1 mmol) 的溶液。45°C 下搅拌 3 小时后，将混合物浓缩至 25 mL，然后加入 H₂O (25 mL) 和 1 M HCl (8 mL)。将沉淀的固体过滤，用 H₂O (2 x 30 mL) 洗涤，并真空干燥得到 B，为一种白色固体 (1.7 g; 4.4 mmol)。产率 88%。

B. 合成 (3 β , 5 β)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-氧代胆烷-24-酸 (C) (图 3A)

将三丁基胺 (0.7 mL; 3.1 mmol) 滴加到在 0°C 下搅拌的在 THF (25 mL) 中的 N- α -Fmoc-甘氨酸 (0.9 g; 3.1 mmol) 的溶液。随后加入氯甲酸异丁酯 (0.4 mL; 3.1 mmol)，并在 10 分钟后于 1 小时内将在 DMF (30 mL) 中的三丁基胺 (0.6 mL; 2.6 mmol) 和 (3 β , 5 β)-3-氨基-12-氧代胆烷-24-酸 B (1.0 g; 2.6 mmol) 的悬浮液滴加到冷却的溶液。使混合物升温，并在 6 小时后将溶液浓缩至 40 mL，然后加入 H₂O (50 mL) 和

1N HCl (10 mL) (最终 pH: 1.5)。将沉淀的固体过滤, 用 H₂O (2 x 50 mL) 洗涤, 真空干燥, 并用快速色谱法纯化得到 C, 为一种白色固体 (1.1 g; 1.7 mmol)。产率 66%。

C. 合成 L67 (N-[(3 β , 5 β)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-12, 24-二氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 3B 和 3E)。

将树脂 D (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β)-3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)氨基]乙酰基]氨基]-12-氧代胆烷-24-酸 C (0.80 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O (20 mL) 一起研磨。

实施例 IV-图 4A-H

合成 L63 和 L64

概述：用 NaOH 水解 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸甲酯 1b 得到中间产物 2b, 然后使其与 Fmoc-甘氨酸反应得到 3b. 使用八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN [7-14] [SEQ ID NO: 1]) 官能化的 Rink 酰胺树脂与 3b 反应, 然后与 DOTA 三叔丁酯反应. 在用试剂 B 裂解和脱保护之后, 用制备 HPLC 纯化粗品得到 L64. 从已经获得的中间产物 2a 开始重复相同的过程得到 L63. 总产率分别为 9 和 4%.

A. 合成 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸, (2b) (图 4A)

将 1M NaOH 溶液 (130 mL; 0.13 mol) 滴加到在 45°C 下加热的在 MeOH (300 mL) 中的 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸甲酯 1b (42.1 g; 0.10 mol) 的溶液. 45°C 下搅拌 3 小时后, 将混合物浓缩至 150 mL, 并加入 H₂O (350 mL). 在用 CH₂Cl₂ (2 x 100 mL) 萃取之后, 将水溶液浓缩到 200 mL 并加入 1 M HCl (150 mL). 将沉淀的固体过滤, 用 H₂O (2 x 100 mL) 洗涤, 并真空干燥得到 2b, 为一种白色固体 (34.8 g; 0.08 mol). 产率 80%.

B. 合成 (3 β , 5 β , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-12-羟基胆烷-24-酸, (3a) (图 4A)

将三丁基胺 (4.8 mL; 20.2 mmol) 滴加到在 0°C 下搅拌的在 THF (120 mL) 中的 N- α -Fmoc-甘氨酸 (6.0 g; 20.2 mmol) 的溶液. 随后加入氯甲酸异丁酯 (2.6 mL; 20.2 mmol), 并在 10 分钟后于 1 小时内将在 DMF (120 mL) 中的三丁基胺 (3.9 mL; 16.8 mmol) 和 (3 β , 5 β , 12 α)-3-氨基-12-羟基胆烷-24-酸 2a (6.6 g; 16.8 mmol) 的悬浮液滴加到冷却的溶液. 使混合物升温, 并在 6 小时后将溶液浓缩至 150 mL, 然后加入 H₂O (250 mL) 和 1N HCl (40 mL) (最终 pH: 1.5). 将沉淀的固体过滤, 用 H₂O (2 x 100 mL) 洗涤, 真空干燥, 并用快速色谱法纯化得到 3a, 为一种白色固体

(3.5 g; 5.2 mmol)。产率 31%。

C. 合成 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸, (3b) (图 4A)

将三丁基胺 (3.2 mL; 13.5 mmol) 滴加到在 0℃ 下搅拌的在 THF (80 mL) 中的 N- α -Fmoc-甘氨酸 (4.0 g; 13.5 mmol) 的溶液。然后加入氯甲酸异丁酯 (1.7 mL; 13.5 mmol), 并在 10 分钟后于 1 小时内将在 DMF (80 mL) 中的三丁基胺 (2.6 mL; 11.2 mmol) 和 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 3a (4.5 g; 11.2 mmol) 的悬浮液滴加到冷却的溶液。使混合物升温, 并在 6 小时后将溶液浓缩至 120 mL, 然后加入 H₂O (180 mL) 和 1N HCl (30 mL) (最终 pH: 1.5)。将沉淀的固体过滤, 用 H₂O (2 x 100 mL) 洗涤, 真空干燥, 并用快速色谱法纯化得到 3a, 为一种白色固体 (1.9 g; 2.8 mmol)。产率 25%。

在一个可替代选择的方法中, (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸, (3b) 可以如下制备:

将 N-羟基琥珀酰亚胺 (1.70g, 14.77 mmol) 和 DIC (1.87g, 14.77 mmol) 依次加到在二氯甲烷 (15 mL) 中的 Fmoc-Gly-OH (4.0g, 13.45 mmol) 的搅拌溶液; 将所得的混合物于室温下搅拌 4 小时。通过过滤除去形成的 N, N'-二异丙基脲, 并用乙醚 (20 mL) 洗涤固体。除去挥发物, 并用乙醚 (3 x 20 mL) 洗涤形成的固体 Fmoc-Gly-琥珀酰亚胺酯。然后将 Fmoc-Gly-琥珀酰亚胺酯再溶于无水 DMF (15 mL), 并将 3-氨基脱氧胆酸 (5.21 g, 12.78 mmol) 加到该澄清的溶液。将反应混合物于室温下搅拌 4 小时, 加入水 (200 mL) 并将沉淀的固体过滤, 用水洗涤, 干燥并用硅胶色谱法 (TLC (二氧化硅): (R_f: 0.50, 硅胶, CH₂Cl₂/CH₃OH, 9: 1) (洗脱剂: CH₂Cl₂/CH₃OH (9: 1)) 纯化得到 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸, 为一种无色固体。产率: 7.46 g (85 %)。

D. 合成 L63 (N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-12-羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 4B)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)氨基]乙酰基]氨基]-12-羟基胆烷-24-酸 3a (0.82 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 用 Et₂O (5 mL) 处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀并用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤, 然后用 HPLC 分析和纯化。将包含产物的级分冻干得到 L63, 为一种白色绒毛状固体 (12.8 mg; 0.0073 mmol)。产率 9%。

E. 合成 L64 (N-[(3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰基)

胺) (图 4C)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 3b (0.81g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三 (1, 1-二甲基乙基) 酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL: 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O (5 mL) 一起研磨。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤。然后将其溶于 H₂O (20 mL), 并加入 Na₂CO₃ (0.10 g; 0.70 mmol); 将所得的混合物在室温下搅拌 4 小时。用 HPLC 纯化此溶液, 将包含产物的级分冻干得到 L64, 为一种白色绒毛状固体 (3.6 mg; 0.0021 mmol)。产率 4%。

实施例 V-图 5A-E

合成 L71 和 L72

概述: 分两步得到产物。第一步是在上文讨论的 Rink 酰胺树脂上固相合成八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN [7-14] [SEQ ID NO: 1]) (具有适宜的侧链保护基)。第二步是与不同的连接基偶联, 然后用 DOTA 三叔丁酯官能化。在用试剂 B 裂解和脱保护之后, 通过制备 HPLC 纯化最终产物。总产率 3-9%。

A. 蛙皮素 [7-14] 官能化和裂解方法 (图 5A 和 5D)

将树脂 B (0.5g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-连接基-OH (1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 3 小时, 倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 C (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 24 小时。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发滤液得到一种油状粗品, 将其与乙醚 (5 mL) 一起研磨。离心收集沉淀, 并用乙醚 (5 x 5 mL) 洗涤, 然后用分析 HPLC 分析, 并用制备 HPLC 纯化。将包含产物的级分冻干。

B. 产物

1. L71 (4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺)

得到产物, 为一种白色绒毛状固体 (7.3 mg; 0.005 mmol)。产率 7.5%。

2. L72 (反式-4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十

二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]环己基羰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺)

得到产物，为一种白色绒毛状固体 (7.0 mg; 0.005 mmol)。产率 4.8%。

C. 反式-4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]环己烷甲酸,
(D) (图 5E)

将在 1,4-二噁烷 (40 mL) 中的 N-(9-芴基甲氧基羰基氧)琥珀酰亚胺 (4.4 g; 14.0 mmol) 的溶液滴加到冷却至 0℃ 的在 10%Na₂CO₃ (30 mL) 中的反式-4-(氨基甲基)环己烷甲酸 (2.0 g; 12.7 mmol) 的溶液。然后使混合物温至室温，并在室温下搅拌 1 小时后用 1N HCl (32 mL) 处理直至最终 pH 为 2。用 n-BuOH (100 mL) 萃取所得的溶液；除去挥发物，并用快速色谱法纯化粗残余物，得到 D，为一种白色固体 (1.6 g; 4.2 mmol)。产率 33%。

实施例 VI-图 6A-F

合成 L75 和 L76

概述：通过以下方法得到两种产物：将担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN [7-14] [SEQ ID NO:1]) (A) 与两种连接基 E 和 H 偶联，然后用 DOTA 三叔丁酯官能化。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，通过制备 HPLC 纯化最终产物。总产率：8.5% (L75) 和 5.6% (L76)。

A. 2-[(1,3-二氢-1,3-二氧代-2H-异吡啶-2-基)甲基]苯甲酸,
(C) (图 6A)

根据文献报道的方法 (Bornstein, J; Drummon, P. E.; Bedell, S. F. Org Synth. Coll. Vol. IV 1963, 810-812) 合成产物。

B. 2-(氨基甲基)苯甲酸, (D) (图 6A)

将 40% 甲基胺溶液 (6.14 mL; 7.1 mmol) 加到 2-[(1,3-二氢-1,3-二氧代-2H-异吲哚-2-基)甲基]苯甲酸 C (2 g; 7.1 mmol), 然后加入 EtOH (30 mL)。室温下搅拌 5 分钟后在 50℃ 下加热反应混合物。2.5 小时后, 将混合物冷却, 并在减压下蒸发溶剂。将粗产物悬浮在 50 mL 无水乙醇中, 并在室温下将悬浮液搅拌 1 小时。将固体过滤, 并用 EtOH 洗涤得到 2-(氨基甲基)苯甲酸 D (0.87 g; 5.8 mmol)。产率 81%。

C. 2-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]苯甲酸, (E) (图 6A)

根据文献报道的方法 (Sun, J-H.; Deneker, W. F. Synth. Commun. 1998, 28, 4525-4530) 合成产物。

D. 4-(氨基甲基)-3-硝基苯甲酸, (G) (图 6B)

将 4-(溴甲基)-3-硝基苯甲酸 (3.2 g; 12.3 mmol) 溶于在 EtOH (300 mL) 中的 8% NH₃, 并将所得的溶液于室温下搅拌。22 小时后蒸发溶液, 并将残余物悬浮在 H₂O (70 mL) 中。将悬浮液搅拌 15 分钟并过滤。将收集的固体悬浮在 H₂O (40 mL) 中, 并通过加入数滴 25% NH₄OH 水溶液 (pH 12) 来溶解, 然后通过加入 6 N HCl 调节溶液的 pH 至 6。将沉淀的固体过滤, 依次用 MeOH (3 x 5 mL) 和 Et₂O (10 mL) 洗涤, 并真空干燥 (1.3 kPa; P₂O₅) 得到 4-(氨基甲基)-3-硝基苯甲酸, 为一种灰褐色固体 (1.65 g; 8.4 mmol)。产率 68%。

E. 4-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酸, (H) (图 6B)

将 4-(氨基甲基)-3-硝基苯甲酸 G (0.8 g; 4 mmol) 溶于 10% Na₂CO₃ 水溶液 (25 mL) 和 1,4-二噁烷 (10 mL), 并将溶液冷却至 0℃。滴加在 1,4-二噁烷 (10 mL) 中的 9-芴基甲基氯甲酸酯 (Fmoc-Cl) (1.06 g; 4 mmol) 的溶液 20 分钟。在 0-5℃ 下 2 小时和 10℃ 下 1 小时后, 将反应

混合物过滤，并通过加入 1 N HCl 将溶液酸化至 pH 5。将沉淀过滤，用 H₂O (2 x 2 mL) 洗涤，真空干燥 (1.3 kPa; P₂O₅) 得到 4-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酸，为一种白色固体 (1.6 g; 3.7 mmol)。产率 92%。

F. L75 (N-[2-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 6C)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉，将悬浮液搅拌 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 2-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]甲基]苯甲酰基 E (0.45 g; 1.2 mmol)、N-羟基苯并三唑 (HOBT) (0.18 g; 1.2 mmol)、N,N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC) (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 24 小时，倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉，并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (DOTA 三叔丁酯) (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时，倒空溶液，用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发滤液得到一种油状粗品，在用 Et₂O (20 mL) 处理后得到一种沉淀。通过离心收集所得的沉淀，并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到 L75 (190 mg; 0.13 mmol)，为一种白色固体。产率 44%。

G. L76 (N-[4-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-1-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 6D)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-硝基苯甲酸 H (0.50 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 DOTA 三叔丁酯 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O (20 mL) 一起研磨。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (141 mg), 用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化 37 mg 部分粗品。将包含产物的级分冻干得到 L76 (10.8 mg; 7.2 x 10⁻³ mmol), 为一种白色固体。产率 9%。

实施例 VII-图 7A-C

合成 L124

概述: 使 4-氟基苯酚 A 与溴乙酸乙酯和 K₂CO₃ 在丙酮中反应得到中间产物 B, 用 NaOH 水解得到对应的酸 C。用 H₂ 和 PtO₂, 在 355 kPa 下, 在 EtOH/CHCl₃ 中对 C 进行连续氢化得到对应的氨基酸 D, 直接用

FmocOSu 保护得到 E。使用八肽 Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ (BBN[7-14] [SEQ ID NO : 1]) 官能化的 Rink 酰胺树脂与 E 反应, 然后与 DOTA 三叔丁酯反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后, 通过制备 HPLC 纯化粗品得到 L124。总产率: 1.3%

A. 合成(4-氰基苯氧基)乙酸乙酯, (B) (图 7A)

根据文献报道的方法 (Archimbault, P.; LeClerc, G.; Strosberg, A. D.; Pietri-Rouxel, F. PCT Int. Appl. WO 980005, 1998) 合成产物。

B. 合成(4-氰基苯氧基)乙酸 (C) (图 7A)

将 1 N NaOH 溶液 (7.6 mL; 7.6 mmol) 滴加到在 MeOH (15 mL) 中的 (4-氰基苯氧基) 乙酸乙酯 B (1.55 g; 7.6 mmol) 的溶液。1 小时后用 1 N HCl (7.6 mL; 7.6 mmol) 酸化溶液并蒸发。将残余物吸收于水 (20 mL), 并用 CHCl₃ (2 x 30 mL) 萃取。蒸发有机相, 并用快速色谱法纯化粗品得到 (4-氰基苯氧基) 乙酸 C (0.97 g; 5.5 mmol), 为一种白色固体。产率 72%。

C. 合成[4-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酸, (E) (图 7A)

将 PtO₂ (150 mg) 加到在 EtOH (147 mL) 和 CHCl₃ (3 mL) 中的 (4-氰基苯氧基) 乙酸 C (1.05 g; 5.9 mmol) 的溶液。将悬浮液在氢气氛 (355 kPa; 20 °C) 下搅拌 30 小时。用 C 盐[®]衬垫过滤混合物, 并将溶液真空蒸发。用快速色谱法纯化残余物得到酸 D (0.7 g), 0 °C 下将其溶于 H₂O (10 mL)、MeCN (2 mL) 和 Et₃N (0.6 mL), 然后滴加在 MeCN (22 mL) 中的 N-(9-芴基甲氧基羰基氧) 琥珀酰亚胺 (1.3 g; 3.9 mmol) 的溶液。室温下搅拌 16 小时后, 将反应混合物过滤, 并在真空下除去挥发物。用 1 N HCl (10 mL) 处理残余物, 将沉淀的固体过滤, 并用快速色谱法纯化得到 [4-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酸 E (0.56 g;

1.4 mmol), 为一种白色固体. 总产率 24%.

D. 合成 L124 (N-[[4-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]苯氧基]乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺) (图 7B)

将树脂 A (480 mg; 0.29 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉. 将悬浮液搅拌 20 分钟, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂. 将 [4-[[[9H-芴-9-基甲氧基]羧基]氨基]甲基]苯氧基]乙酸 E (480 mg; 1.19 mmol)、N-羟基苯并三唑 (HOBT) (182 mg; 1.19 mmol)、N, N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC) (185 μ L; 1.19 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂. 然后将树脂与在 DMA (6 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (6 mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物振荡 20 分钟. 倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂. 将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (750 mg; 1.19 mmol)、HOBT (182 mg; 1.19 mmol)、DIEA (404 μ L; 2.36 mmol)、DIC (185 μ L; 1.19 mmol) 和 DMA (6 mL) 加到树脂. 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 用 DMA (2 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥. 将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时. 将树脂过滤, 并在减压下蒸发滤液得到一种油状粗品, 将其与 Et₂O (5 mL) 一起研磨. 离心收集沉淀, 并用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤得到一种固体 (148 mg), 用 HPLC 分析. 用制备 HPLC 纯化 65 mg 部分粗品. 将包含产物的级分冻干得到 L124 (图 7C), 为一种白色固体 (15 mg; 0.01 mmol). 产率 7.9%.

实施例 VIII-图 8A-C

合成 L125

概述：使 4-(溴甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 A 与在 DMF 中的 NaN_3 反应得到中间产物叠氮化物 B，然后用 Ph_3P 和 H_2O 还原成胺 C。用 NaOH 水解 C 得到酸 D，直接用 FmocOSu 保护得到 E。使用八肽 $\text{Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH}_2$ (BBN[7-14] [SEQ ID NO : 1]) (A) 官能化的 Rink 酰胺树脂与 E 反应，然后与 DOTA 三叔丁酯反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，通过制备 HPLC 纯化粗品得到 L125。总产率：0.2%。

A. 合成 4-(叠氮基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯, (B) (图 8A)

将在 DMF (90 mL) 中的 4-(溴甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 (8 g; 31 mmol) 和 NaN_3 (2 g; 31 mmol) 的溶液于室温下搅拌过夜。在真空下除去挥发物，并将粗产物溶于 EtOAc (50 mL)。用水 (2 x 50 mL) 洗涤溶液并干燥。将挥发物蒸发得到 4-(叠氮基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 (6.68 g; 30 mmol)。产率 97%。

B. 4-(氨基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯, (C) (图 8A)

将三苯膦 (6.06 g; 23 mmol) 加到在 THF (50 mL) 中的 (4-叠氮基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 B (5 g; 22 mmol) 的溶液：观察到产生氢和形成白色固体。将混合物在氮气氛围和室温下搅拌。24 小时后再加入三苯膦 (0.6 g; 2.3 mmol)。24 小时后叠氮化物被消耗，并加入 H_2O (10 mL)。4 小时后白色固体消失。将混合物于 45°C 下加热 3 小时，并在室温下搅拌过夜。将溶液蒸发至干，并用快速色谱法纯化粗品得到 4-(氨基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 C (1.2 g; 6.1 mmol)。产率 28%。

C. 4-[[[9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酸, (E) (图 8A)

将 1 N NaOH 溶液 (6.15 mL; 6.14 mmol) 滴加到在 40°C 下加热的在 MeOH (25 mL) 中的 4-(氨基甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 C (1.2 g;

6.14 mmol) 的溶液。45℃下搅拌 8 小时后, 将溶液于室温下搅拌过夜。加入 1 N NaOH 溶液(0.6 mL; 0.6 mmol), 并将混合物在 40℃下加热 4 小时。浓缩溶液, 用 1 N HCl(8 mL; 8 mmol) 酸化, 用 EtOAc(2 x 10 mL) 萃取, 然后将水层浓缩至 15mL。将此溶液(pH 4.5)于 0℃下冷却, 并加入 Et₃N(936 μL; 6.75 mmol)(pH 11)。滴加在 MeCN(30 mL) 中的 N-(9-苄基甲氧基羰基氧)琥珀酰亚胺(3.04 g; 9 mmol) 的溶液(最终 pH 9), 沉淀出白色固体。室温下搅拌 1 小时后将固体过滤, 悬浮在 1N HCl(15 mL) 中, 并将悬浮液搅拌 30 分钟。将固体过滤得到 4-[[[9H-苄-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酸 E, 为一种白色固体(275 mg; 0.7 mmol)。将滤液真空蒸发, 并将所得的白色残余物悬浮在 1N HCl(20 mL) 中, 并搅拌 30 分钟。将固体过滤, 并用快速色谱法纯化得到更多的酸 E(198 mg; 0.5 mmol)。总产率 20%。

D. L125(N-[4-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺)(图 8B)

将树脂 A(410 mg; 0.24 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA(7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA(7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[9H-苄-9-基甲氧基)羰基]氨基]甲基]-3-甲氧基苯甲酸 E(398 mg; 0.98 mmol)、HOBT(151 mg; 0.98 mmol)、DIC(154 μL; 0.98 mmol) 和 DMA(6 mL) 加到树脂; 将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA(6 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA(6 mL) 中的 50%吗啉, 将混合物振荡 20 分钟。倒空溶液, 并用 DMA(5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物(618 mg; 0.98 mmol)、HOBT(151 mg; 0.98 mmol)、DIC(154 μL; 0.98 mmol)、DIEA(333 μL; 1.96 mmol)

和 DMA (6 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时，倒空溶液，用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，将其与 Et₂O (5 mL) 一起研磨。用 Et₂O (5 x 5 mL) 洗涤通过离心收集所得的沉淀，用 HPLC 分析，并用制备 HPLC 纯化。将包含产物的级分冻干得到 L125 (图 8C)，为一种白色固体 (15.8 mg; 0.011 mmol)。产率 4.4%。

实施例 IX-图 9A-9D

合成 L146、L233、L234 和 L235

概述：分几步从担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeuMetNH₂ (BBN[7-14]) (A) 开始获得产物。在最后用试剂 B 裂解和脱保护之后，用制备 HPLC 纯化粗品得到 L146、L233、L234 和 L235。总产率：分别为 10%、11%、4.5%、5.7%。

A. 3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基苯甲酸， B (图 9A)

将在 THF (20 mL) 中的 3-氨基苯甲酸 (0.5 g; 3.8 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (DIEA) (0.64 mL; 3.8 mmol) 的溶液滴加到在 THF (10 mL) 和 CH₂Cl₂ (10 mL) 中的 Fmoc-甘氨酸氯化物 (1.2 g; 4.0 mmol) (3) 的溶液。室温下搅拌 24 小时后，加入 1 M HCl (50 mL) (最终 pH: 1.5)。将沉淀过滤，用 H₂O (2 x 100 mL) 洗涤，真空干燥并用 CHCl₃/CH₃OH (1:1) 结晶得到 B，为一种白色固体 (0.7 g; 1.6 mmol)。产率 43%。

B. N-[3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺，L233 (图 9D)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 3-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基苯甲酸 B (0.50 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 6 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 DOTA 三叔丁酯与 NaCl^2 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol) (5)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空, 用 DMA (5 x 7 mL)、 CH_2Cl_2 (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将该树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 用 Et_2O (20 mL) 进行处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀, 并用 Et_2O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (152 mg), 用 HPLC 分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (50 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L233 (17.0 mg; 11.3×10^{-3} mmol), 为一种白色固体。产率 11%。

C. N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基乙酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺, L146 (图 9D)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 冲出溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将该悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后冲出溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-4-氨基苯基乙酸 (0.45 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加

到树脂，将混合物在室温下振荡 6 小时，冲出并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，将溶液冲出，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。冲出溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-甘氨酸 (0.36 g; 1.2 mmol)、HATU (0.46 g; 1.2 mmol) 和 DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 在 DMA (7 mL) 中搅拌 15 分钟，然后将溶液加到树脂，将混合物于室温下振荡 2 小时，冲出并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，将溶液冲出，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。冲出溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 DOTA 三叔丁酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)、DIEA (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 24 小时，冲出，并用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，用 Et₂O (20 mL) 处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀，并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (203 mg)，对其用 HPLC 分析。通过制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (50 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L146 (11.2 mg; 7.4×10^{-3} mmol)，为一种白色固体。产率 10%。

D. 6-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基萘甲酸，
C (图 9B)

将在 THF (20 mL) 中的 6-氨基萘甲酸 (500 mg; 2.41 mmol) 和 DIEA (410 μ L 2.41 mmol) 的溶液滴加到在 CH₂Cl₂/THF 1: 1 (10 mL) 中的 Fmoc-甘氨酸氯化物 (760 mg; 2.41 mmol) 的溶液，并在室温下搅拌。24 小时后，将溶剂真空蒸发。用 0.5 N HCl (50 mL) 吸收残余物，并搅拌 1 小时。将沉淀的白色固体过滤并干燥。将白色固体悬浮在甲醇 (30 mL)，并煮沸 5 分钟，然后过滤得到产物 C (690 mg; 1.48 mmol)。产率 62%。

E. N-[6-[[[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]萘甲酸]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L234

将树脂 A (500 mg; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 6-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基萘甲酸 C (560 mg; 1.2 mmol)、HOBT (184 mg; 1.2 mmol)、DIC (187 μ L; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 6 小时, 倒空并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (6 L) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 DOTA 三叔丁酯与 NaCl 的加合物 (757 mg; 1.2 mmol)、HOBT (184 mg; 1.2 mmol)、DIC (187 μ L; 1.2 mmol) 和 DIEA (537 μ L; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在烧瓶中振荡, 倒空, 用 DMA (2 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油粗品, 将其用 Et₂O (20 mL) 处理之后得到一种沉淀。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (144 mg), 对其用 HPLC 进行分析。通过制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (54 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L234 (8 mg; 5.1×10^{-3} mmol), 为一种白色固体。产率 4.5%。

F. 4-[[[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]甲基氨基]苯甲酸, D (图 9C)

将在 THF (20 mL) 中的 4-N-甲基氨基萘甲酸 (500 mg; 3.3 mmol) 和 DIEA (562 μ L 3.3 mmol) 的溶液加到在 CH₂Cl₂/THF 1 : 1 (10 mL) 中的

Fmoc-甘氨酸氯化物 (1.04 g; 3.3 mmol) 的溶液, 并在室温下搅拌。24 小时后, 在真空下蒸发溶剂。用 0.5 N HCl (30 mL) 吸收残余物, 并在 0°C 下搅拌 3 小时。将沉淀的白色固体过滤并干燥。用快速色谱法纯化粗品得到化合物 D (350 mg; 0.81 mmol)。产率 25%。

G. N-[4-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]甲基氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L235 (图 9D)

将树脂 A (500 mg; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[[9H-芴-9-基甲氧基]羰基]氨基]乙酰基]-N-甲基]氨基-苯甲酸 D (510 mg; 1.2 mmol)、HOBT (184 mg; 1.2 mmol)、DIC (187 μ L; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 6 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 DOTA 三叔丁酯与 NaCl 的加合物 (757 mg; 1.2 mmol)、HOBT (184 mg; 1.2 mmol)、DIC (187 μ L; 1.2 mmol) 和 DIEA (537 μ L, 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在烧瓶中振荡, 倒空, 用 DMA (2 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油粗品, 对其用 Et₂O (20 mL) 处理后得到一种沉淀。通过离心收集沉淀, 并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (126 mg), 用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (53 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L235 (11 mg; 7.2 x 10⁻³ mmol), 为一种白色固体。产率 5.7%。

实施例 X-图 10A-B

合成 L237

概述: 在 pH 3 下用氯甲酸苄酯选择性保护 1-甲酰基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷(A)以得到 B, 用溴乙酸叔丁酯将其烷基化, 并用羟胺盐酸盐将其去甲酰基化得到 D。与 $P(OtBu)_3$ 和低聚甲醛反应得到 E, 通过氢化去保护和用溴乙酸苄酯进行烷基化以得到 G, 最终将其氢化成 H。使用八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeuMetNH₂ (BBN[7-14]) (A) 官能化的 Rink 酰胺树脂依次与 Fmoc-4-氨基苯甲酸、Fmoc-甘氨酸和 H 反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后, 用制备 HPLC 纯化粗品得到 L237。总产率 0.21%。

A. 7-甲酰基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-甲酸苯基甲酯二盐酸盐, B(图 10A)

将 1-甲酰基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷 A (14 g; 69.9 mmol) 溶于 H₂O (100 mL), 并加入 12 N HCl (11 mL) 直至 pH 3, 然后加入 1,4-二噁烷 (220 mL)。在 3.5 小时内缓慢滴加在 1,4-二噁烷 (15 mL) 中的氯甲酸苄酯 (13.8 g; 77 mmol) 的溶液, 通过用 pH 恒稳仪器连续加入 2 N NaOH (68.4 mL) 来恒定保持反应混合物于 pH 3。在加入结束时, 将反应物搅拌 1 小时, 然后用正己烷 (4 x 100 mL) 和 iPr_2O (4 x 100 mL) 洗涤。通过加入 10 N NaOH (6.1 mL) 使水相为 pH 13, 并用 $CHCl_3$ (4 x 100 mL) 萃取。用盐水 (100 mL) 洗涤有机相, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发。将油状残余物溶于丙酮 (200 mL), 并加入 6 N HCl (26 mL)。将沉淀的固体过滤, 用丙酮 (2 x 50 mL) 洗涤, 并真空干燥得到化合物 B (23.6 g; 58 mmol), 为一种白色结晶固体。产率 83%。

B. 4-(苯基甲氧基)羧基-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸双(1,1-二甲基乙基)酯 D(图 10A)

将在 H₂O (450 mL) 和 1 N NaOH (74 mL; 74 mmol) 中的 B (14.4 g; 35.3 mmol) 的溶液搅拌 20 分钟, 然后用 $CHCl_3$ (4 x 200 mL) 萃取。蒸发有

机层得到一种油状残余物 (12.3 g), 将其溶于 CH_3CN (180 mL) 和 N-乙基二异丙基胺 (DIEA) (15 mL; 88.25 mmol)。在 2.5 小时内将在 CH_3CN (15 mL) 中的溴乙酸叔丁酯 (16.8 g; 86.1 mmol) 的溶液滴加到前面的溶液。室温下 20 小时后, 蒸发溶剂, 将油状残余物溶于 CHCl_3 (150 mL), 并用 H_2O (5 x 100 mL) 洗涤。将有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发至干得到 C, 为一种黄色油。将粗品 C (22 g) 溶于 EtOH (250 mL), 加入 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (2.93 g; 42.2 mmol), 并将溶液加热回流。48 小时后蒸发溶液, 并将残余物溶于 CH_2Cl_2 (250 mL), 用 H_2O (3 x 250 mL) 洗涤, 然后用盐水 (3 x 250 mL) 洗涤。将有机层干燥 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发。用快速色谱法纯化油状残余物 (18.85 g)。收集含产物的级分, 并蒸发得到一种玻璃状白色固体 (17.62 g), 将其溶于 H_2O (600 mL) 和 1N NaOH (90 mL; 90 mmol), 并用 CHCl_3 (3 x 250 mL) 萃取。将有机层干燥 (Na_2SO_4), 并蒸发至干得到 D (16.6 g; 31 mmol), 为一种油。产率 88%。

C. 4-(苯基甲氧基)羰基-10-[[双(1,1-二甲基乙氧基)氧磷基]甲基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸双(1,1-二甲基乙基)酯, E (图 10A)

将化合物 D (13.87 g; 26 mmol)、 $\text{P}(\text{OtBu})_3$ (7.6 g; 28.6 mmol) (10) 和低聚甲醛 (0.9 g; 30 mmol) 的混合物在 60°C 下加热。16 小时后, 再加入 $\text{P}(\text{OtBu})_3$ (1 g; 3.76 mmol) 和低聚甲醛 (0.1 g; 3.33 mmol)。将反应物于 60°C 下再加热 20 小时, 然后在 80°C 和真空下加热 8 小时以除去挥发性杂质。用快速色谱法纯化粗品得到 E (9.33 g; 8 mmol), 为一种油。产率 31%。

D. 7-[[双(1,1-二甲基乙氧基)氧磷基]甲基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,10-三乙酸 1-苯基甲基 4,10-双(1,1-二甲基乙基)酯, G (图 10A)

往在 CH_3OH (160 mL) 中的 E (6.5 g; 5.53 mmol) 的溶液加入 5%Pd/C (1

g; 0.52 mmol), 并将该混合物在氢气氛和室温下搅拌。4 小时后(消耗 H_2 165 mL; 6.7 mmol)用 Millipore® 滤器 (FT 0.45 μ m) 过滤混合物, 并减压蒸发溶液。用快速色谱法纯化粗品 (5.9 g) 得到 F (4.2 g), 为一种油。在 1 小时内将溶于 CH_3CN (8 mL) 的溴乙酸苄酯 (1.9 g; 8.3 mmol) 滴加到在 CH_3CN (40 mL) 和 DIEA (1.5 mL; 8.72 mmol) 中的 F (4.2 g) 的溶液。室温下 36 小时后, 蒸发溶剂, 并将残余物 (5.76g) 溶于 $CHCl_3$ (100 mL), 用 H_2O (2 x 100 mL) 洗涤, 然后用盐水 (2 x 70 mL) 洗涤。干燥有机层 (Na_2SO_4), 过滤并蒸发。用快速色谱法纯化粗品 (5.5 g) 两次, 收集级分并蒸发至干得到 G (1.12 g; 1.48 mmol), 为一种油。产率 27%。

E. 7-[[[双(1,1-二甲基乙氧基)氧磷基]甲基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,10-三乙酸 4,10-双(1,1-二甲基乙基)酯, H(图 10A)

将 5%Pd/C (0.2 g; 0.087 mmol) 加到在 CH_3OH (27 mL) 中的 G (1.12 g; 1.48 mmol) 的溶液, 并将混合物于氢气氛和室温下搅拌。2 小时后(消耗 H_2 35 mL; 1.43 mmol), 用 Millipore® 滤器 (FT 0.45 μ m) 过滤混合物, 并将溶液蒸发至干, 得到 H (0.94 g; 1.41 mmol), 为一种灰黄色油。产率 97%。

F. N-[4-[[[[[4,10-双(羧甲基)-7-(二羟基氧磷基)甲基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L237(图 10B)

将树脂 A (330 mg; 0.20 mmol) (17) 在固相肽合成容器中与在 DMA (5 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 并加入新鲜的在 DMA (5 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5x5 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-4-氨基苯甲酸 (290 mg, 0.80 mmol)、HOBT (120 mg; 0.80 mmol)、DIC (130 μ L; 0.80 mmol) 和 DMA (5 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 3 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 5 mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA (5 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒

空溶液，加入新鲜的在 DMA (5 mL) 中的 50% 吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5 x 5 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-甘氨酸 (240 mg; 0.8 mmol)、HATU (310 mg; 0.8 mmol) 和 DIEA (260 μ L; 1.6 mmol) 在 DMA (5 mL) 中搅拌 15 分钟，然后将溶液加到树脂，将混合物于室温下振荡 2 小时，倒空，并用 DMA (5 x 5 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (5 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (5 mL) 中的 50% 吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5 x 5 mL) 洗涤树脂。将 H (532 mg; 0.80 mmol)、HOBT (120 mg; 0.80 mmol)、DIC (130 μ L; 0.80 mmol) 和 DIEA (260 μ L; 1.6 mmol) 和 DMA (5 mL) 加到树脂。将混合物在烧瓶中于室温下振荡 40 小时，倒空，用 DMA (5 x 5 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 5 mL) 洗涤树脂，并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，用 Et₂O (20 mL) 对其处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀，并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (90 mg)，用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (50 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L237 (6 mg; 3.9 x 10⁻³ mmol)，为一种白色固体。产率 3.5%。

实施例 XI-图 11A-B

合成 L238 和 L239

概述：从担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeu MetNH₂ (BBN [7-14]) (A) 开始分几步获得产物。在用试剂 B 裂解和脱保护之后，用制备 HPLC 纯化粗品得到 L238 和 L239。总产率：分别为 14 和 9%。

A. N,N-二甲基甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-[S-[(乙酰基氨基)甲基]]-L-半胱氨酸酰基-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸

基-L-蛋氨酸酰胺, L238 (图 11A)

将树脂 A (0.5g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-4-氨基苯甲酸 (0.43 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18g; 1.2 mmol)、DIC (0.19mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 3 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-甘氨酸 (0.36 g; 1.2 mmol)、HATU (0.46 g; 1.2 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4 mmol) 在 DMA (7 mL) 中搅拌 15 分钟, 然后将溶液加到树脂, 将混合物于室温下振荡 2 小时, 然后将溶液加到树脂, 将混合物于室温下振荡 2 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-S-乙酰氨基甲基-L-半胱氨酸 (0.50 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物在室温下振荡 3 小时, 倒空并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-丝氨酸 (0.46 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 3 小时, 倒空和用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉, 并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N,N-二甲基甘氨酸 (0.12 g; 1.2 mmol)、HATU (0.46 g; 1.2 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4

mmol) 在 DMA (7mL) 中搅拌 15 分钟, 然后将溶液加到树脂。将混合物于室温下振荡 2 小时, 倒空, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 用 Et₂O (20 mL) 处理之后得到一种沉淀。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (169 mg), 用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (60 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L238 (22.0 mg; 0.015 mmol), 为一种白色固体。产率 14%。

B. N,N-二甲基甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-[S-[(乙酰基氨基)甲基]]-L-半胱氨酸酰基-甘氨酸酰基-(3β, 5β, 7α, 12α)-3-氨基-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L239 (图 11B)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3β, 5β, 7α, 12α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 B (0.82 g; 1.2 mmol) (7)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 24 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N-α-Fmoc-S-乙酰氨基甲基-L-半胱氨酸 (0.50 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 3 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉, 并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶

液，并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-丝氨酸 (0.46g; 1.2mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 3 小时，倒空并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。将树脂与在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。将 N,N-二甲基甘氨酸 (0.12g; 1.2mmol)、HATU (0.46g; 1.2mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (0.40mL; 2.4mmol) 在 DMA (7mL) 中搅拌 15 分钟，然后将溶液加到树脂。

将树脂 A (0.5g; 0.3mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，并加入新鲜的在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[(9H-芴-9-基甲氧基) 氨基] 乙酰基] 氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 B (0.82 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 24 小时，倒空，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液，并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-S-乙酰氨基甲基-L-半胱氨酸 (0.50g; 1.2mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 3 小时，倒空并用 DMA (5×7mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉和将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N- α -Fmoc-O-叔丁基-L-丝氨酸 (0.46 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 3 小时，倒空并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉和将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶

液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 N,N-二甲基甘氨酸 (0.12 g; 1.2 mmol)、HATU (0.46 g; 1.2 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4 mmol) 在 DMA (7mL) 中搅拌 15 分钟, 然后将溶液加到树脂。

实施例 XII-图 12A-F

合成 L240、L241、L242

概述: 从担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeuMetNH₂ (BBN [7-14]) (A) 开始分几步获得产物。在用试剂 B 裂解并脱保护之后, 用制备 HPLC 纯化粗品得到 L240、L241 和 L242。总产率: 分别为 7.4、3.2、1.3%。

A. 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-甲氧基苯甲酸 A (图 12A)

将在 THF (20 mL) 中的 4-氨基-3-甲氧基苯甲酸 (1.0 g; 5.9 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (1.02 mL 5.9 mmol) 的溶液滴加到在 CH₂Cl₂ / THF 1: 1 (20 mL) 中的 Fmoc-甘氨酸酐 (1.88 g; 5.9 mmol) 的溶液, 并在室温和 N₂ 下搅拌。3 小时后, 真空蒸发溶剂。用 0.5 N HCl (50 mL) 吸收残余物, 在 0°C 下搅拌 1 小时, 然后过滤并干燥。将白色固体悬浮在 MeOH (30 mL) 中, 并搅拌 1 小时, 然后过滤, 并悬浮在 CHCl₃ / 己烷 1: 4 (75 mL) 的溶液中。将悬浮液过滤得到化合物 A, 为一种白色固体 (1.02 g; 2.28 mmol)。产率 39%。

B. N-[4-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸基]氨基]-3-甲氧基苯甲酰基]-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L240

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL)

中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-甲氧基苯甲酸 A (0.50 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂，将混合物于室温下振荡 5 小时，倒空，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol)，N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时，倒空，用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂，并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到油残余物，用 Et₂O (20 mL) 对其进行处理之后得到一种沉淀。离心收集沉淀，并用 Et₂O (5 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (152 mg)，用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (52 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L240 (12.0 mg; 7.8×10^{-3} mmol)，为一种白色固体。产率 7.4%。

C. 4-氨基-3-氯苯甲酸 C (图 12B)

45℃下将 1N NaOH (11 mL; 11 mmol) 加到在 MeOH (20 mL) 中的 4-氨基-3-氯苯甲酸甲酯 (2 g; 10.8 mmol) 的溶液。将反应混合物于 45℃下搅拌 5 小时，并在室温下搅拌过夜。再次加入 1N NaOH (5 mL; 5 mmol)，并将反应物于 45℃下搅拌 2 小时。浓缩溶剂后加入 1N HCl (10 mL)。过滤固体沉淀，并干燥得到 4-氨基-3-氯苯甲酸，C，为一种白色固体 (1.75 g; 10.2 mmol)。产率 94.6%。

D. 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-氯苯甲酸，D (图 12B)

将在 THF (50 mL) 中的 4-氨基-3-氯苯甲酸 (1.5 g; 8.75 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (1.46 mL 8.75 mmol) 的溶液滴加到在 CH₂Cl₂ / THF 1:1 (30 mL) 中的 Fmoc-甘氨酸 (2.76 g; 8.75 mmol) 的溶液, 并在室温和 N₂ 气氛下搅拌。3 小时后, 真空蒸发溶剂。用 0.5N HCl (50 mL) 吸收残余物, 过滤并干燥。将白色固体悬浮在 MeOH (30 mL) 中, 并搅拌 1 小时, 然后过滤, 并干燥得到 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-氯苯甲酸 (2.95 g; 6.5 mmol)。产率 75%。

E. N-[4-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸基]氨基]3-氯苯甲酰基]L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L241 (图 12E)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-氯苯甲酸, D (0.54 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 5 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL. 1.2 mmol), N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 40 小时, 倒空, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25mL) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油粗品, 在用 Et₂O (20 mL) 处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (5 x 20 mL) 洗涤得到

一种固体 (151 mg), 用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (56 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L241 (5.6 mg; 3.6×10^{-3} mmol), 为一种白色固体。产率 3.2%。

F. 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基]乙酰基]氨基-3-甲基苯甲酸, E (图 12C)

将在 THF (30 mL) 中的 4-氨基-3-甲基苯甲酸 (0.81 g; 5.35 mmol) 和 N-乙基二异丙基胺 (0.9 mL 5.35 mmol) 的溶液滴加到在 CH_2Cl_2 /THF 1: 1 (20 mL) 中的 Fmoc-甘氨酸 (1.69 g; 5.35 mmol) 的溶液, 并在室温和 N_2 气氛下搅拌。3 小时后在真空下蒸发溶剂。用 HCl 0.5 N (50 mL) 吸收残余物, 并在 0°C 下搅拌 3 小时。然后过滤并干燥。将白色固体悬浮在 MeOH (50 mL) 中, 并搅拌 1 小时, 然后过滤并干燥得到化合物 E (1.69 g; 3.9 mmol)。产率 73%。

G. N-[4-[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]甘氨酸]氨基]3-甲基苯甲酰基]L-谷氨酸酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L242 (图 12F)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后倒空溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[[[(9H-芴-9-基甲氧基)氨基]乙酰基]氨基-3-甲基苯甲酸 E (0.52 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 5 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 倒空溶液, 加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.76 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2

mmol)、DIC(0.19 mL; 1.2 mmol)、N-乙基二异丙基胺(0.40 mL; 2.4 mmol)和DMA(7 mL)加到树脂。

将混合物于室温下振荡40小时,倒空,用DMA(5 x 7 mL)、CH₂Cl₂(5 x 7 mL)洗涤树脂,并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂B(25mL)一起振荡4.5小时。将树脂过滤,并在减压下蒸发溶液得到一种油粗品,用Et₂O(20 mL)对其进行处理之后得到一种沉淀。离心收集沉淀,并用Et₂O(5 x 20mL)洗涤得到一种固体(134 mg),用HPLC对其进行分析。用制备HPLC纯化一定量的粗品(103 mg)。将包含产物的级分冻干得到L242(4.5 mg; 2.9 x 10⁻³ mmol),为一种白色固体。产率1.3%。

实施例 XIII-图 13A-C

合成 L244

概述:从担载在 Rink 酰胺树脂上的八肽 GlnTrpAlaValGlyHis LeuMetNH₂(BBN[7-14]) (A)开始分几步得到产物。在对连接基-蛙皮素[7-14]用试剂B裂解和脱保护之后在液相完成与DOTA三叔丁酯的最后偶联步骤。用制备HPLC纯化粗品得到L244。总产率:0.4%。

A. N, N'-(亚氨基二-2, 1-乙烷二基)双[2, 2, 2-三氟乙酰胺], A(图13A)

0℃下在1小时内将三氟乙酸乙基酯(50 g; 0.35 mol)滴入在THF(180 mL)中的二亚乙基三胺(18 g; 0.175 mol)的溶液。室温下20小时后,将混合物蒸发至一种油状残余物(54 g)。用Et₂O(50 mL)结晶该油,过滤,用冷Et₂O(2 x 30 mL)洗涤,并干燥得到A,为一种白色固体(46g; 0.156mol)。产率:89%。

B. 4-[N, N'-双[2-(三氟乙酰基)氨基乙基]氨基]-4-氧代丁酸, B(图13A)

室温下将琥珀酸酐(0.34 g; 3.4 mmol)加入在THF(5 mL)中的A(1 g; 3.4 mmol)的溶液。28小时后将粗品浓缩得到残余物(1.59 g),用EtOAc(2 x 10 mL)和1N HCl(2 x 15 mL)洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层,

过滤并蒸发得到一种油状残余物(1.3 g)，用快速色谱法(5)将其纯化得到 B，为一种油(0.85 g; 2.15 mmol)。产率 63%。

C. 4-[N,N'-双[2-[(9-H-苄-9-基甲氧基)羰基]氨基乙基]氨基]-4-氧代丁酸, D(图 13A)

室温下将琥珀酸酐(2 g; 20 mmol)加入在 THF(25 mL)中的 A(5 g; 16.94 mmol)的溶液。28 小时后将粗品浓缩至残余物(7 g)，在乙酸乙酯(100 mL)和 1N HCl(2 x 50 mL)中洗涤。用 Na₂SO₄干燥有机层，过滤并蒸发得到粗品 B，为一种油状残余物(6.53 g)。将 2 N NaOH(25 mL)加到在 EtOH(35 mL)中的粗品 B(5 g)的悬浮液，并在室温下 1 小时后得到一种完全溶液。20 小时后将溶剂蒸发得到 C，为一种油(8.48 g)。0℃下 1 小时内将在 1,4-二噁烷(30 mL)中的 9-苄基甲基氯甲酸酯(6.54 g, 25.3 mmol)的溶液滴入在 10%Na₂CO₃水溶液(30 mL)中的 C 的溶液。室温下 20 小时后得到一种胶状悬浮液，过滤得到一种白色固体(3.5 g)和一种黄色溶液。蒸发溶液，用 H₂O(150 mL)稀释剩余的水溶液，并用 EtOAc(70 mL)萃取。将新鲜的 EtOAc(200 mL)加到水相，得到一种悬浮液，将其冷却至 0℃，并用浓 HCl 酸化至 pH 2。用 H₂O(5 x 200 mL)洗涤有机层至中性 pH，然后干燥得到一种玻璃状固体(6.16 g)。将该化合物悬浮在煮沸的正己烷(60 mL)中持续 1 小时，过滤得到 D，为一种白色固体(5.53 g, 8.54 mmol)。总产率 50%。

D. N-[4-[[4-[双[2-[[[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙基]氨基]-1,4-二氧代丁基]氨基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L244(图 13B)

将树脂 A(0.5 g; 0.3 mmol)在固相肽合成容器中与在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液并加入新鲜的在 DMA(7 mL)中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟，然后倒空溶液，并用 DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。将 4-[N,N'-双[2-[(9-H-苄-9-基甲氧基)羰基]氨基

乙基]氨基]-4-氧代丁酸(777.3 mg; 1.2 mmol)、HOBT(184 mg; 1.2 mmol)、DIC(187 μ L; 1.2 mmol)和DMA(7 mL)加到树脂,将混合物于室温下振荡40小时,倒空和用DMA(5 x 7 mL)洗涤树脂。然后将树脂与在DMA(7 mL)中的50%吗啉一起振荡10分钟,倒空溶液,加入新鲜的在DMA(7 mL)中的50%吗啉,并将混合物振荡20分钟。倒空溶液,用DMA(2 x 7 mL)洗涤树脂,并用CH₂Cl₂(5 x 7 mL)洗涤树脂,然后将其在烧瓶中与试剂B(25 mL)一起振荡4.5小时。将树脂过滤,并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品,用Et₂O(20 mL)对其进行处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀,并用Et₂O(5 x 20 mL)洗涤,得到F,为一种白色固体(140 mg)。将DOTA三叔丁酯(112 mg; 0.178 mmol)、HATU(70 mg; 0.178 mmol)和DIEA(60 μ L; 0.356 mmol)加到在DMA(3 mL)和CH₂Cl₂(2 mL)中的F(50 mg; 0.0445 mmol)的溶液,并在室温下搅拌24小时。将粗品蒸发至减小的体积(1 mL),并与试剂B(25 mL)一起振荡4.5小时。蒸发溶剂后,用Et₂O(20 mL)处理残余物得到一种沉淀。离心收集沉淀,并用Et₂O(5 x 20 mL)洗涤得到一种淡棕色固体(132 mg),用HPLC对其进行分析。用制备HPLC纯化一定量的粗品(100 mg)。将包含产物的级分冻干得到L244(图13C)(3.5 mg; 1.84 x 10⁻³ mmol),为一种白色固体。产率0.8%。

实施例 XIV-实施例 XLII 的总体实验

L201-L228

人工偶联

用各6.0当量的HOBT和DIC处理6.0当量的适宜保护的氨基酸,并在反应容器之外活化。然后将在NMP中的活化的羧酸转移至含胺的树脂,使反应进行4-6小时,然后排干树脂并洗涤。

Fmoc-Gly-OH与4-氨基苯甲酸和氨基联苯羧酸酰胺的特定偶联:

用在NMP(10 mL NMP用于1克氨基酸,按重量计)中的HATU(10.0当量)和DIEA(20.0当量)处理Fmoc-Gly-OH(10.0当量),并将溶液于

RT 下搅拌 10-15 分钟，然后转移至含有载胺树脂的容器。使对于每克树脂的溶液体积为 15.0 ml。在 RT 下继续偶联 20 小时，并从树脂上排出所有的反应物。再重复此过程一次，然后用 NMP 洗涤，随后继续下一步骤。

制备 DO3A 一酰胺：将 8.0 当量 DOTA 一酸溶于 NMP，并用 8.0 当量的 HBTU 和 16.0 当量的 DIEA 处理。将此溶液于 RT 下搅拌 15 分钟，然后转至担载在树脂上的胺，并在 RT 下继续偶联 24 小时。然后排干树脂，洗涤，随后将肽裂解并纯化。

从树脂上裂解粗肽并纯化：将树脂悬浮在试剂 B (15.0 ml/g) 中并在 RT 下振荡 4 小时。然后排干树脂，再次用 2 x 5 mL 试剂 B 洗涤，并与前面的滤液合并。然后在 RT 下将滤液减压浓缩成糊/液体，并与 25.0 mL 无水乙醚一起研磨（对于每克所用的树脂）。然后将悬浮液离心，并倾析醚层。再重复此过程两次，用制备 HPLC 纯化乙醚洗涤后的无色沉淀。

实施例 XIV-图 21

合成 L201

使用 0.5g Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-M-树脂 (0.4 mmol/g, 0.5g, 0.2 mmol) (树脂 A)。如在一般方法所述加入其余的氨基酸单元以制备 (1R)-1-(双{2-[双(羧甲基)氨基]乙基}氨基)丙烷-3-甲酸-1-羧基-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 (L201)，产率：17.0 mg (5.4%)。

实施例 XV-图 22A 和 22B

合成 L202

4-Fmoc-胍基苯甲酸 (图 22A)：用碳酸铯 (21.5 g, 66.0 mmol) 处理在水 (100 ml) 中的 4-胍基苯甲酸 (5.0 g, 32.9 mmol) 的悬浮液。在 1 小时内将在 THF (25 mL) 中的 Fmoc-C1 (9.1 g, 35.0 mmol) 滴加到以上

溶液，同时搅拌。加入后将溶液再搅拌 4 小时，将反应混合物浓缩至大约 75 mL，并用乙醚 (2 x 100 mL) 萃取。弃去醚层，并用 2N HCl 酸化水层。将分离的固体过滤，用水 (5 x 100 mL) 洗涤，然后用乙腈重结晶得到产物 (化合物 B)，为一种无色固体。产率：11.0 g (89%)。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 4.5 (m, 1H, Ar-CH₂-CH), 4.45 (m, 2H, Ar-CH₂) 6.6 (bs, 1H, Ar-H), 7.4-7.9 (m, 9, Ar-H 和 Ar-CH₂), 8.3 (s, 2H, Ar-H), 9.6 (s, 2H, Ar-H). M. S. -m/z 373.2 [M-H]

使用 0.5g Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-M-树脂 (0.4 mmol/g, 0.5g, 0.2 mmol) (树脂 A)。如一般方法所述加入氨基酸单元，包括化合物 B，以制备 N-[(3β, 5β, 12α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-4-胍基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-L-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L202) (图 22B)，产率：25.0 mg (8.3%)

实施例 XVI-图 23A 和图 23B

合成 L203

制备 4-Boc-氨基苄基苯甲酸酯化合物 B 图 23A:

用粉末碳酸铯 (1.3 g, 4.0 mmol) 处理在无水乙腈 (10.0 mL) 中的 4-boc-氨基苯甲酸 (0.95 g, 4.0 mmol) 的悬浮液，并在氮气氛下剧烈搅拌。加入苄基溴 (0.75 g, 4.4 mmol)，并在氮气氛下将反应混合物回流 20 小时。然后将反应混合物倾入冰冷的水 (200 mL)，过滤分离的固体，并用水 (5 x 50 mL) 洗涤。然后用甲醇水溶液重结晶粗物质以得到产物，为一种无色固体 (化合物 B)。产率：0.8g (61%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 1.5 (s, 9H, 叔甲基), 5.4 (s, 2H, Ar-CH₂), 7.4 (m, 7H, Ar-H) 和 8.0 (m, 2H, Ar-H). M. S. -m/z 326.1 [M+H]。

4-氨基苄基苯甲酸酯化合物 C 图 23A:

将 4-Boc-氨基苄基苯甲酸酯 (0.8 g, 2.5 mmol) 溶于含 TFA (25% 体积) 的 DCM (20 mL)，并在 RT 搅拌 2 小时。将反应混合物倾入 100.0 g

碎冰，并用饱和碳酸氢钠溶液中和，直至 pH 到达大约 8.5。分离有机层，用 DCM (3 x 20 mL) 萃取水层，并合并所有的有机层。然后用 1 x 50 mL 饱和碳酸氢钠、水 (2 x 50 mL) 洗涤 DCM 层，并干燥 (硫酸钠)。除去溶剂得到一种无色固体 (化合物 C)，将此固体用于下一步而不进行进一步纯化。产率：0.51g (91%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 5.3 (s, 2H, Ar-CH₂), 6.6 (d, 2H, Ar-H, j=1.0 Hz), 7.4 (m, 5H, Ar-H, J=1.0 Hz) 和 7.9 (d, 2H, Ar-H, J= 1.0 Hz)。

4-(2-氯乙酰基)氨基苄基苯甲酸酯化合物 D 图 23A:

将胺 (0.51 g, 2.2 mmol) 溶于无水二甲基乙酰胺 (5.0 mL)，并在冰上冷却。通过注射器滴加氯乙酰氯 (0.28 g, 2.5 mmol)，使溶液变为 RT，并搅拌 2 小时。再加入 2.5 mmol 氯乙酰氯，并再继续搅拌 2 小时。然后将反应混合物倾入冰冷的水 (100 mL)。将沉淀的固体过滤，用水洗涤，然后用己烷/乙醚重结晶得到一种无色固体 (化合物 D)。产率：0.38g (56%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 4.25 (s, 2H, CH₂-C1), 5.4 (s, 2H, Ar-H), 7.4 (m, 5H, Ar-H), 7.6 (d, 2H, Ar-H), 8.2 (d, 2H, Ar-H) 和 8.4 (s, 1H, -CONH)。

2-{1,4,7,10-四氮杂-7,10-双{[(叔丁基)氧基羰基]甲基}-4-[(N-{4-[苄氧基羰基]苯基}氨基甲酰基)环十二基]乙酸叔丁酯，化合物 E 图 23A:

将 DO3A-三叔丁酯·HCl (5.24 g, 9.5 mmol) 悬浮在 30.0 mL 无水乙腈，加入无水碳酸钾 (2.76 g, 20 mmol)，并搅拌 30 分钟。然后在无水乙腈 (20.0 mL) 中的氯乙酰胺 D (2.8 g, 9.2 mmol) 滴加到以上混合物 10 分钟。然后将反应混合物搅拌过夜。将溶液过滤，然后减压浓缩至糊。将该糊溶于大约 200.0 mL 水，并用 5 x 50 mL 乙酸乙酯萃取。用水 (2 x 100 mL) 洗涤合并的有机层，并干燥 (硫酸钠)。

将溶液过滤并减压蒸发至糊，并用快速硅胶 (600.0 g) 对糊进行色谱处理。用在 DCM 中的 5% 甲醇洗脱产物。收集在 TLC 上均一的所有级分，并蒸发得到一种无色胶。用异丙醚和 DCM 重结晶该胶以制备化合

物 E。产率：4.1 g (55%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 1.5 (s, 27H, 甲基), 2.0-3.75 (m, 24H, NCH₂s), 5.25 (d, 2H, Ar-CH₂), 7.3 (m, 5H, Ar-H), 7.8 (d, 2H, Ar-H) 和 7.95 (d, 2H, Ar-H)。M. S. -m/z 804.3 [M+H]。

还原以上的酸 E 以制备化合物 F, 图 23A: 将以上的苄基酯 E (1.0 g, 1.24 mmol) 溶于甲醇-水混合物 (10.0 mL, 95: 5), 并加入担载在碳上的钨 (10%, 0.2 g)。然后用 Parr 仪器在 50.0 psi 下将溶液氢化 8 小时。从溶液中滤出催化剂, 然后减压浓缩得到一种无色绒毛状固体 F。未对它进行进一步纯化, 而将其立即置于下一步骤。MS: m/z 714.3 [M+Na]。

制备 L203 图 23B

使用上述的标准偶联方法使以上的酸 F 偶联至树脂 [H-Q (Trt)-W (Boc)-A-V-G-H (Trt)-L-M-树脂] 上的胺, 树脂 A 和来自以上的 F。0.5g (0.2 mmol) 树脂产生 31.5mg 最终纯化的肽 (10.9%) N-[(3β, 5β, 12α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L203) (图 23B)。

实施例 XVII-图 24

合成 L204

使用 Fmoc-Q (Trt)-W (Boc)-A-V-G-H (Trt)-L-M-树脂 (0.5 g, 0.2 mmol) (树脂 A)。使用标准偶联条件, 首先装载 Fmoc-Gly-OH, 然后装载来自以上方法 (图 23A) 的 F。产率: 24.5 mg (8.16%) 的 N-[(3β, 5β, 12α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-甘氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L204) (图 24)。

实施例 XVIII-图 25

合成 L205

如文献所述制备 Fmoc-6-氨基烟酸¹ ("Synthesis of diacylhydrazine compounds for therapeutic use". Hoelzemann, G.; Goodman, S. (Merck Patent G. m. b. H., Germany). Ger. Offen. 2000, 16 pp. CODEN: GWXXBX DE 19831710 A1 20000120), 并与预装载的 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.5 g, 0.2 mmol) 树脂 A 偶联, 然后与如上述的其它氨基偶联以制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-4-氨基苯甲酰基-甘氨酸基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 (L205) 产率: 1.28mg (0.4%)。

实施例 XIX-图 26A 和 26B

合成 L206

4'-Fmoc-氨基-3'-甲基联苯-4-甲酸 B:

将氨基酸 (0.41 g, 1.8 mmol) 溶于在 10.0 mL 水中的碳酸铯 (0.98 g, 3.0 mmol) 的溶液。参见 "Rational Design of Diflunisal Analogues with Reduced Affinity for Human Serum Albumin" Mao, H. 等人, J. Am. Chem. Soc., 2001, 123(43), 10429-10435。将此溶液在冰浴中冷却, 滴加在 THF (10.0 mL) 中的 Fmoc-C1 (0.52 g, 2.0 mmol) 的溶液, 并剧烈搅拌。加入后, 将反应混合物于 RT 下搅拌 20 小时。然后用 2N HCl 酸化溶液。将沉淀的固体过滤, 用水 (3 x 20 mL) 洗涤并风干。然后用乙腈重结晶粗固体以得到一种无色绒毛状固体 B 图 26A。产率: 0.66 g (75%)。 ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 2.2 (s, Ar-Me), 4.25 (t, 1H, Ar-CH₂, j = 5Hz), 4.5 (d, 2H, O-CH₂, j = 5.0 Hz), 7.1 (bs, 1H, CONH), 7.4-8.0 (m, 8H, Ar-H) 和 9.75 (bs, 1H, -COOH)。 M. S.: m/z 472.0 [M-H]。

使用标准偶联条件将以上的酸 B 与 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2g, 0.08 mmol) 树脂 A 偶联。如上述加入附加的基团以制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[4'-氨基-2'-甲基联苯-4-羧基]-L-谷氨酰胺基-L-色氨酰胺基-L-丙氨酰胺基-L-缬氨酰胺基-L-甘氨酰胺基-L-组氨酰胺基-L-亮氨酰胺基-L-蛋氨酸酰胺 (L206)。产生 30.5 mg (24%)

实施例 XX-图 27A-B

合成 L207

使用上述的方法由对应的胺制备 3'-Fmoc-氨基-联苯-3-甲酸。参见 "Synthesis of 3'-methyl-4'-nitrobiphenylcarboxylic acids by the reaction of 3-methyl-4-nitrobenzenediazonium acetate with methyl benzoate", Boyland, E. 和 Gorrod, J., J. Chem. Soc., Abstracts (1962), 2209-11. 0.7G 胺产生 0.81g Fmoc-衍生物 (58%) (化合物 B, 图 27A)。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 4.3 (t, 1H, Ar-CH), 4.5 (d, 2H, O-CH₂), 7.25-8.25 (m, 16H, Ar-H) 和 9.9 (s, 1H, -COOH)。M. S. -m/z 434 [M-H]

将 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2g, 0.08 mmol) 树脂 A 与以上的酸 B 和上述其它基团偶联 (图 27B)。制备 29.0 mg N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[3'-氨基-联苯-3-羧基]-L-谷氨酰胺基-L-色氨酰胺基-L-丙氨酰胺基-L-缬氨酰胺基-L-甘氨酰胺基-L-组氨酰胺基-L-亮氨酰胺基-L-蛋氨酸酰胺 (L207) (23%)。

实施例 XXI-图 28

合成 L208

将 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2g, 0.08

mmol) A 解封, 并使用 HATU 作为偶联剂与对苯二酸偶联。用 DIC 和 NHS 活化所得的担载在树脂上的酸, 然后与乙二胺偶联。最后将 DOTA-一酸与担载在树脂上的胺偶联。制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]-[1, 2-二氨基乙基-对苯二酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺 (L208), 产率为 17.5 mg (14%)

实施例 XXII-图 29A-B

合成 L209

Boc-Glu(G-OBn)-G-OBn:

将 Boc-谷氨酸 (5.0 g, 20.2 mmol) 溶于 THF (50.0 mL), 并在冰浴中冷却至 0°C。加入 HATU (15.61 g, 41.0 mmol), 然后加入 DIEA (6.5 g, 50.0 mmol)。将反应混合物于 0°C 下搅拌 30 分钟。加入在 THF (25.0 mL) 中的甘氨酸的苄基酯 [8.45g, 50 mmol, 通过用碳酸钠中和苄基甘氨酸盐酸盐, 用 DCM 萃取并除去溶剂来产生]。将反应混合物变至 RT, 并在 RT 下搅拌 20 小时。在减压下除去所有的挥发物。用饱和碳酸钠溶液 (100 mL) 处理残余物, 并用乙酸乙酯 (3 x 100 mL) 萃取。合并有机层, 用 1N HCl (2x 100mL) 和水 (2 x 100 mL) 洗涤, 并干燥 (硫酸钠)。将溶液过滤, 并在减压下除去溶剂以得到一种糊, 用快速硅胶 (500.0 g) 对该糊进行色谱处理。用在 DCM 中的 2% 甲醇洗脱得到产物, 为一种无色的糊 (化合物 B, 图 29A)。产率: 8.5g (74.5%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 1.4 (s, 9H, -CH₃s), 2.0-2.5 (m, 4H, -CH-CH₂ 和 CO-CH), 4.2 (m, 5H, N-CH₂-CO), 5.15 (s, 4H, Ar-CH₂), 5.45 (bs, 1H, Boc-NH), 7.3 (m, 10H, Ar-H) 和 7.6 (2bs, 2H, CONH)。M. S. -m/z 564.1 [M+H]。分析 HPLC 保留时间-8.29 分 (>97% 纯, 20-65%B, 经过 15 分钟)。

H-Glu(G-OBn)-G-OBn :

将以上的完全受保护的谷氨酸衍生物 (1.7 g, 3.2 mmol) B 溶于

DCM/TFA (4: 1, 20 mL), 并搅拌直至在 TLC 上原料消失 (2 小时)。将反应混合物倾入冰冷的饱和碳酸氢钠溶液 (200 mL), 分离有机层, 用 2 x 50 mL DCM 萃取水层, 并与有机层合并。用饱和碳酸氢钠 (2 x 100 mL)、水 (2 x 100 mL) 洗涤 DCM 层, 并干燥 (硫酸钠)。将溶液过滤, 减压蒸发, 并在真空下干燥残余物以得到一种玻璃 (化合物 C, 图 29A), 将其带入下一步骤而不进行进一步的纯化。产率: 0.72 g (95%)。M. S. -m/z 442.2 [M+H]。

(DOTA-三叔丁基)-Glu-(G-OBn)-G-OBn:

将在无水 DCM (10.0 mL) 中的以上的胺 C (1.33 g, 3 mmol) 加到活化的 DOTA-三叔丁酯的溶液 [2.27g, 3.6 mmol, 用 HBTU 1.36 g, 3.6 mmol 和 DIEA 1.04 g, 8 mmol 处理, 并在 RT 下在 25 mL 无水 DCM 中搅拌 30 分钟] 并在 RT 下搅拌 20 小时。用 200 mL DCM 稀释反应混合物, 用饱和碳酸钠 (2 x 150 mL) 洗涤, 并干燥 (硫酸钠)。将溶液过滤, 并在减压下除去溶剂以得到一种褐色糊。用快速硅胶 (500.0 g) 对粗产物作色谱处理。用在 DCM 中的 2% 甲醇洗脱得到产物, 为一种无色胶 (化合物 D, 图 29A)。产率: 1.7 g (56.8%)。¹H NMR (CDCl₃): δ 1.3 和 1.4 (2s, 9H, 三个甲基, 各自来自游离碱和 DOTA 的钠加合物), 2.0-3.5 (m, 20H, N-CH₂s 和 -CH-CH₂ 和 CO-CH₂), 3.75-4.5 (m, 13H, N-CH₂-CO), 5.2 (m, 4H, Ar-CH₂) 和 7.25 (m, 10H, Ar-H)。M. S. m/z-1018.3 [M+Na] 和 996.5 [M+H] 和 546.3 [M+Na+H]/2。HPLC-保留时间: 11.24 分 (>90%, 20-80%B, 经过 30 分钟)。

(DOTA-三叔丁基)-Glu-(G-OH)-G-OH :

将以上的双苄基酯 (0.2 g, 0.2 mmol) D 溶于甲醇-水 (20 mL, 9: 1), 并在 50psi 下在 10%Pd/C 催化剂 (0.4 g, 50%wt. 水) 存在下氢化。在 HPLC 和 TLC 上原料消失后 (4 小时), 滤出溶液中的催化剂, 在减压下除去溶剂, 并在高度真空下干燥残余物大约 20 小时 (< 0.1 mm) 以得到产物, 为一种无色泡沫 (化合物 E, 图 29A)。产率: 0.12g (73.5%)。¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1.3 和 1.4 (2s, 9H, 对应于游离碱和 DOTA 的钠加合

物的甲基), 1.8-4.7 (m, 33H, NCH_2s , COCH_2 和 CH-CH_2 和 NH-CH-CO), 8.1, 8.2 和 8.4 (3bs, NHC O). M. S.: m/z-816.3 [M+H] 和 838.3 [M+Na]. HPLC 保留时间: 3.52 分 (20-80%B, 经过 30 分, >95%纯)。

H-8-氨基-3,6-二氧杂辛酰基-8-氨基-3,6-二氧杂辛酰基-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂:

将 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.5 g, 0.2 mmol) A 解封, 并依次与 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸偶联两次以在制备 HPLC 纯化之后得到以上脱保护的肽 (化合物 F, 图 29B)。产率: 91.0 mg (37%)。

HPLC 保留时间: 8.98 分 (>95%纯度, 10-40%B, 经过 10 分钟)。M. S.: m/z-1230.6 [M+H], 615.9 [M+2H]/2。

液相偶联以上的双酸 E 和胺 F (图 29B)

将双酸 (13.5 mg, 0.0166 mmol) E 溶于 100 μ L 无水乙腈, 用 NHS (4.0 mg, 0.035 mmol) 和 DIC (5.05 mg, 0.04 mmol) 处理, 并在 RT 下搅拌 24 小时。往以上活化的酸加入游离胺 F (51.0 mg, 0.41 mmol) [通过以下方法产生: 用饱和碳酸氢钠处理 TFA 盐并冻干溶液得到绒毛状固体的胺], 然后加入 100 μ L NMP, 并在 RT 下继续搅拌 40 小时。用无水乙醚 (10 mL) 稀释溶液, 离心收集沉淀, 并再次用 2 x 10 mL 无水乙醚洗涤。然后用制备 HPLC 纯化粗固体以得到产物, 为一种无色绒毛状固体 L209, 如在图 29B 所示, 产量为 7.5 mg (14.7%)。

实施例 XXIII-图 30A-B

合成 L210

H-8-氨基辛酰基-8-氨基辛酰基-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂ :

此化合物也完全以与化合物 F 图 29B 的情况下相同的方式制备, 但使用 1-氨基辛酸, 并用制备 HPLC 纯化胺 (化合物 B, 图 30A)。产率: 95.0 mg (38.9%)。HPLC 保留时间: 7.49 分 (>95%纯度; 10-40%B, 经

过 10.0 分钟)。M. S.: m/z -1222.7 [M+H], 611.8 [M+2H]/2。

如在 L209 的情况下那样在 100 μ L 乙腈中将 (DOTA-三叔丁基)-Glu-(G-OH)-G-OH (0.0163 g, 0.02 mmol) 转化成它的双 NHS 酯, 用游离碱-在 100 μ L NMP 中的化合物 B (60.0 mg, 0.05 mmol) 处理, 并继续反应 40 小时, 然后进行处理, 并如上述纯化以制备 L210 图 30B, 产率为 11.0 mg (18%)。

实施例 XXIV-图 31

合成 L211

使用标准方案由 0.2g Fmoc-Q (Trt)-W (Boc)-A-V-G-H (Trt)-L-M-树脂 (0.08 mmol) 制备。制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L211, 产量为 4.7 mg (3.7%) (图 31)。

实施例 XXV-图 32

合成 L212

使用标准方案由 Rink 酰胺 Novagel 树脂 (0.47 mmol/g, 0.2 g, 0.094 mmol) 通过在树脂上构建序列来制备。制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L212, 产量为 25.0 mg (17.7%) (图 32)。

实施例 XXVI-图 33

合成 L213

由 Fmoc-Met-2-氯三苯甲基氯化物树脂 (NovaBioChem, 0.78 mmol/g, 0.26 g, 0.2 mmol) 制备, 而序列的其余部分使用标准方法构

建。制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-甲硫氨酸 L213, 产量为 49.05 mg (16.4%) (图 33)。

实施例 XXVII-图 34

合成 L214

使用标准条件用 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2 g, 0.08 mmol) A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L214。得到 8.5 mg 产物 (6.4%) (图 34)。

实施例 XXVIII-图 35

合成 L215

用 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2g, 0.08 mmol) A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺基-L-精氨酸基-L-亮氨酸基-甘氨酸基-L-天冬氨酸酰胺基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺 L215。得到 9.2 mg (5.5%) (图 35)。

实施例 XXIX-图 36

合成 L216

用 Fmoc-Q(Trt)-W(Boc)-A-V-G-H(Trt)-L-M-树脂 (0.2g, 0.08 mmol) A 制备 N[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-

四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-精氨酸酰基-L-酪氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-天冬酰胺酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L216。得到 25.0 mg (14.7%) (图 36)。

实施例 XXX-图 37

合成 L217

用 Fmoc-Q (Trt)-W (Boc)-A-V-G-H (Trt)-L-M-树脂 A (0.2g, 0.08 mmol) 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-赖氨酸酰基-L-酪氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L217。得到 58.0 mg (34.7%) (图 37)。

实施例 XXXI-图 38

合成 L218

使用 Fmoc-Q (Trt)-W (Boc)-A-V-G-H (Trt)-L-M-树脂 A (0.2g, 0.08 mmol)。将 Fmoc-Lys (ivDde) 用于引入赖氨酸。在完成线性序列之后，用在 DMF 中的 10% 胍除去赖氨酸的保护基 (2 x 10 mL; 每次 10 分钟，然后洗涤)。然后用“总述”部分所述的方法引入其余的氨基酸以完成所需的肽序列。图 38 中的 L218 获得的产率为 40.0 mg (23.2%)。

实施例 XXXII-图 39

合成 L219

使用 4-氯磺酰丁酰基 AM Novagel 树脂 (1.1 mmol/g; 0.5 g; 0.55 mmol)。-20℃ 下将第一氨基酸装载到此树脂上 20 小时。用普通偶联方

法完成其余的序列。洗涤后,用 20.0 当量的碘乙腈和 10.0 当量的 DIEA 将树脂烷基化 20 小时。然后排干树脂的液体,洗涤,随后用 2.0 当量的在 5.0 mL THF 中的戊胺裂解 20 小时。随后用 2 x 5.0 mL 的 THF 洗涤树脂,并合并所有的滤液。然后在减压下蒸发 THF,用 10.0 mL 的试剂 B 将残余物解封,并如前述纯化肽 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-氨基戊基, L219。得到 28.0 mg (2.8%) (图 39)

实施例 XXXIII-图 40

合成 L220

用 NovaSyn TGR (0.25mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-D-丙氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-蛋氨酸酰胺, L220。得到 31.5 mg (41.4%) (图 40)。

实施例 XXXIV-图 41

合成 L221

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-D-苯丙氨酸基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-亮氨酸基-L-亮氨酸酰胺, L221。得到 28.0 mg (34.3%) (图 41)。

实施例 XXXV-图 42

合成 L222

用 NovaSyn TGR (0.25mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-D-酪氨酸基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基- β -丙氨酸基-L-组氨酸基-L-苯丙氨酸基-L-正亮氨酸酰胺, L222。得到 34.0 mg (40.0%) (图 42)。

实施例 XXXVI-图 43

合成 L223

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-苯丙氨酸基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-L-缬氨酸基- β -丙氨酸基-L-组氨酸基-L-苯丙氨酸基-L-正亮氨酸酰胺, L223。得到 31.2 mg (37.1%) (图 43)。

实施例 XXXVII-图 44

合成 L224

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酸酰胺基-L-色氨酸基-L-丙氨酸基-甘氨酸基-L-组氨酸基-L-苯丙氨酸基-L-亮氨酸酰胺, L224。得到 30.0 mg (42.2%) (图 44)。

实施例 XXXVIII-图 45

合成 L225

用 NovaSyn TGR (0.25mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸基-4-氨基苯甲酰基-L-亮氨酸基-L-

色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-丝氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L225。得到 15.0 mg (20.4%) (图 45)。

实施例 XXXIX-图 46

合成 L226

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-组氨酸酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L226。得到 40.0 mg (52.9%) (图 46)。

实施例 XL-图 47

合成 L227

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-亮氨酸酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-苏氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺 L227。得到 28.0 mg (36.7%) (图 47)。

实施例 XLI-图 48

合成 L228

用 NovaSyn TGR (0.25 mmol/g; 0.15 g, 0.05 mmol) 树脂 A 制备 N-[(3 β , 5 β , 12 α)-3-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]-甘氨酸酰基-4-氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-苯基丙氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L228。得到 26.0 mg (33.8%) (图 48)。

实施例 XLII-合成其它 GRP 化合物

A. 用于制备 4, 4'-氨基甲基联苯羧酸 (B2) 和 3, 3'-氨基甲基联苯

羧酸(B3)的一般方法:

1. 甲基-羟基甲基联苯羧酸酯:

将商购得到的(Aldrich Chemical Co.)4-羟基甲基苯基硼酸或3-羟基甲基苯基硼酸(1.0 g, 6.58 mmol)和异丙醇(10 mL)及2M碳酸钠(16 mL)一起搅拌直至溶液变均一。通过使氮通过溶液而使溶液脱气,然后用固体甲基-3-溴苯甲酸酯或甲基-4-溴苯甲酸酯(1.35 g, 6.3 mmol)处理,随后用Pd(0)催化剂{[(C₆H₅)₃P]₄Pd; 0.023g, 0.003 mmol}处理。将反应混合物在氮气氛下保持回流,直至通过TLC分析确定原料溴苯甲酸酯用完(2-3小时)。然后用250 mL水稀释反应混合物,并用乙酸乙酯(3 x 50 mL)萃取。合并有机层,用饱和碳酸氢钠溶液(2 x 50 mL)洗涤,并干燥(Na₂SO₄)。在减压下除去溶剂,并用快速硅胶(100 g)色谱处理残余物。用在己烷中的40%乙酸乙酯洗脱得到产物,为一种固体或油。

产量:

B2-0.45g (31%); m. p. -170-171°C。

B3-0.69g (62%); 油。

¹H NMR (CDCl₃) δ B2-3.94 (s, 3H, -COOCH₃), 4.73 (s, 2H, -CH₂-Ph), 7.475 (d, 2H, J = 5Hz), 7.6 (d, 2H, J = 10 Hz), 7.65 (d, 2H, J = 5Hz) 和 8.09 (d, 2H, J = 10 Hz)。

M. S. -m/e-243.0 [M+H]

B3-3.94 (s, 3H, -COOCH₃), 4.76 (s, 2H, -CH₂-Ph), 7.50 (m, 4H), 7.62 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 8.00 (s, 1H) 和 8.27 (s, 1H)。

M. S. -m/e-243.2 [M+H]

2. 叠氮基甲基联苯羧酸酯:

在冰中冷却在无水二氯甲烷(10 mL)中的以上联苯醇(2.0 mmol),用二苯基磷酰基叠氮化物(2.2 mol)和DBU(2.0 mmol)处理,并在氮气氛下搅拌24小时。用水稀释反应混合物,并用乙酸乙酯(2 x 25 mL)萃取。合并有机层,相继用0.5 M柠檬酸溶液(2 x 25 mL)、水(2 x 25

mL) 洗涤, 并干燥 (Na_2SO_4)。将溶液过滤, 并在减压下蒸发得到粗产物。用己烷/乙醚结晶 4, 4'-异构体, 并将 3, 3'-异构体与异丙醚一起研磨以除去所有的杂质; 进行 TLC 分析确定产物是均一的, 不需要作进一步纯化。

产量:

甲基-4-叠氮基甲基-4-联苯羧酸酯-0.245g (46%); m. p. -106-108 °C。

甲基-4-叠氮基甲基-4-联苯羧酸酯-0.36g (59%, 油)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ -4, 4'-异构体-3.95 (s, 3H, $-\text{COOCH}_3$), 4.41 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{N}_3$), 7.42 (d, 2H, $J = 5$ Hz), 7.66 (m, 4H) 和 8.11 (d, 2H, $J = 5$ Hz)

3, 3'-异构体-3.94 (s, 3H, $-\text{COOCH}_3$), 4.41 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{N}_3$), 7.26-7.6 (m, 5H), 7.76 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 8.02 (d, 1H, $J = 5$ Hz) 和 8.27 (s, 1H)。

3. 水解联苯羧酸的甲酯:

用 20 mL 2M 氢氧化锂溶液处理大约 4 mmol 甲酯, 并搅拌至溶液均一 (20-24 小时)。用 2 x 50 mL 乙醚萃取水层, 并弃去有机层。然后用 0.5 M 柠檬酸酸化水层, 将沉淀的固体过滤并干燥。不需要进行其它纯化, 并将酸带至下一步骤。

产量:

4, 4'-异构体-0.87 甲酯产生 0.754 g 酸 (86.6%); m. p. -205-210 °C

3, 3'-异构体-0.48g 甲酯提供 0.34g 酸 (63.6%); m. p. -102-105 °C。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 4, 4'-异构体-4.52 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{N}_3$), 7.50 (d, 2H, $J = 5$ Hz), 7.9 (m, 4H) 和 8.03 (d, 2H, $J = 10$ Hz)

3, 3'-异构体-4.54 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{N}_3$), 7.4 (d, 1H, $J=10$ Hz), 7.5-7.7 (m, 4H), 7.92 (ABq, 2H) 和 8.19 (s, 1H)。

4. 将叠氮化物还原成胺:

此还原在固相完成, 并且不分离胺。用标准肽偶联方案将叠氮基羧酸装载在树脂上。洗涤后, 将含叠氮化物的树脂与 20 当量的三苯膦在 THF/水 (95: 5) 中一起振荡 24 小时。在氮正压下排干溶液, 然后用标准洗涤方法洗涤。将所得的胺用于下一步偶联。

5. (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[(9H-芴-9-基甲氧基)氨基]乙酰基氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸:

将三丁基胺 (3.2 mL; 13.5 mmol) 滴加到在 0 °C 下搅拌的在 THF (80mL) 中的 Fmoc-甘氨酸 (4.0 g, 13.5 mmol) 的溶液。然后加入氯甲酸异丁酯 (1.7 mL; 13.5 mmol), 并在 10 分钟后在 1 小时内将在 DMF (80 mL) 中的三丁基胺 (2.6 mL; 11.2 mmol) 和 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 (4.5 g; 11.2 mmol) 的悬浮液滴加到冷却的溶液。使混合物升温至室温, 并在 6 小时后将溶液浓缩至 120mL, 然后加入水 (180 mL) 和 1N HCl (30 mL) (最终 pH 1.5)。将沉淀的固体过滤, 用水 (2 x 100 mL) 洗涤, 真空干燥, 并用快速色谱法纯化。用氯仿/甲醇 (8: 2) 洗脱得到产物, 为一种无色固体。

产量: 1.9 g (25%)。TLC: R_f 0.30 (CHCl₃/MeOH/NH₄OH-6: 3: 1)。

化合物的体外和体内测试

实施例 XLIII : 在 PC3 细胞系中对 GRP 受体的体外结合试验

图 14 A-B

为鉴定潜在的先导化合物, 使用一种鉴定对 GRP-R 具有高亲和力的化合物的体外试验。由于已知来自人前列腺癌的 PC3 细胞系表现出在细胞表面高表达 GRP-R, 因此开发出 96 孔平板格式的放射配体结合试验, 并使其有效用于测定 ¹²⁵I-BBN 与 GRP-R 阳性 PC3 细胞的结合和本发明化合物抑制这种结合的能力。用此试验测定 RP527 配体、L134 配体 (对照) 和抑制 ¹²⁵I-BBN 与 GRP-R 结合的本发明化合物的 IC₅₀。(RP527=N, N-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(Acm)-Gly-5-氨基戊酸

-BBN (7-14) [SEQ. ID. NO: 1], 它具有 $MS=1442.6$ 和 $IC_{50}=0.84$ 。Van de Wiele C, Dumont F 等人, Technetium-99m RP527, a GRP analogue for visualization of GRP receptor-expressing malignancies: a feasibility study. Eur. J. Nucl. Med., (2000) 27; 1694-1699; L134=D03A-一酰胺-8-氨基-辛酸-BBN (7-14) [SEQ. ID. NO: 1], 它具有 $MS=1467.0$ 。L134 为 D03A 一酰胺-氨基辛基-BBN [7-14]。

使放射配体结合平板试验有效用于 BBN 和 BBN 类似物 (包括可商购得到的 BBN 和 L1), 且还使用 ^{99m}Tc RP527 作为放射配体。

A. 材料和方法:

1. 细胞培养:

从美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection) 获得 PC3 (人前列腺癌细胞系), 并在组织培养瓶 (Corning) 中在 RPMI 1640 内培养。此生长培养基补充有 10% 热灭活 FBS (Hyclone, SH30070.03)、10mM HEPES (GibcoBRL, 15630-080) 和抗生素/抗真菌剂 (GibcoBRL, 15240-062) 得到最终浓度的青霉素-链霉素 (100 单位/mL) 和两性霉素 B (0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。将所有的培养物保持在含 5% CO_2 /95% 空气的增湿气氛和 37 $^{\circ}\text{C}$ 下, 按指示用 0.05% 胰蛋白酶/EDTA (GibcoBRL 25300-054) 进行常规传代。在 96 孔白色/透明底微滴平板 (Falcon Optilux-1) 或 96 孔黑色/透明胶原 I cellware 平板 (Beckton Dickinson Biocoat) 中以 2.0×10^4 /孔的浓度接种培养用于实验的细胞。在接种后第 1 或 2 天将平板用于结合研究。

2. 结合缓冲液:

补充 20mM HEPES、0.1% BSA (w/v)、0.5 mM PMSF (AEBSF)、杆菌肽 (50 mg/500 ml), pH 7.4 的 RPMI 1640。

从 Perkin-Elmer 获得 ^{125}I -BBN (不带载体, 2200Ci/mmole)。

B. 与 ^{125}I -BBN 对 PC3 细胞中的 GRP-R 的竞争试验:

用 96 孔平板试验测定本发明各种化合物抑制 ^{125}I -BBN 与人 GRP-R 结合的 IC_{50} 。采用以下的一般方法：

将所有受试化合物溶于结合缓冲液，并在结合缓冲液中完成适宜的稀释。在 96-孔白色/透明底微滴平板 (Falcon Optilux-I) 或 96 孔黑色/透明胶原 I cellware 平板 (Beckton Dickinson Biocoat) 中以 2.0×10^4 /孔的浓度接种用于试验的 PC3 细胞 (人前列腺癌细胞系)。在接种后第 1 或 2 天将平板用于结合研究。在试验前检查平板的汇合 (>90% 汇合)。对于此试验，将浓度范围为 $1.25 \times 10^{-9}\text{M}$ – $5 \times 10^{-9}\text{M}$ 的 RP527 或 L134 配体 (对照) 或本发明化合物与 ^{125}I -BBN (25,000 cpm/well) 一起培养。以 $75 \mu\text{L}$ /孔的体积进行这些研究。将一式三份的孔用于各数据点。在加入适宜的溶液之后，将平板在 4°C 下培养 1 小时以防止配体-受体复合物内化。通过加入 $200 \mu\text{L}$ 冰冷的培养缓冲液来终止培养。将平板洗涤 5 次，并吸干。用 LKB CompuGamma 计数器或微板闪烁计数检测放射性。

RP527 (对照) 和 L70-本发明化合物的竞争结合曲线可以见于图 14A-B。这些数据表明 RP527 对照的 IC_{50} 为 2.5nM，而 L70-本发明的化合物的 IC_{50} 为 5nM。L134 对照的 IC_{50} 为 5nM。受试的本发明化合物的 IC_{50} 值可以见于以上表 1-3，表明它们与对照的值相当，从而可以预期其对受体具有充足的亲和力，以允许在体内被带受体的细胞摄取。

C. 内化&流出试验:

在 96 孔平板上进行这些试验。在洗涤除去血清蛋白之后，将 PC3 细胞与 ^{125}I -BBN、 ^{177}Lu -L134 或放射性标记的本发明的化合物一起在 37°C 下培养 40 分钟。通过加入 $200 \mu\text{L}$ 冰冷的结合缓冲液来终止培养。用结合缓冲液将平板洗涤两次。为除去表面结合的放射配体，将细胞与 0.2M 乙酸 (在盐水中)，pH 2.8 一起培养 2 分钟。将平板离心，并收集酸洗涤培养基以测定未被内化的放射性的量。收集细胞以测定内化的 ^{125}I -BBN 的数量，并在 γ -计数器中分析所有的样品。通过将不同时间点获得的计数与在最后时间点 (T40 分钟) 获得的计数进行比较而

将内化试验数据标准化。

对于流出研究，在 37℃ 下对 PC3 细胞负载 ^{125}I -BBN 或放射性标记的本发明化合物 40 分钟后，洗去未结合的物质，并如上述测定内化%。然后在 37℃ 下将细胞重悬在结合缓冲液中达 3 小时。在 0.5、1、2 或 3 小时，如上所述测定相对于最初负荷水平保持内化的量，并将其用于计算流出百分比，记录于表 5。

表 5

I-BBN 和 L134(对照)的 Lu-177 络合物和本发明化合物的内化和流出

	I-BBN	L134	L63	L64	L70
内化(40 分钟)	59	89	64	69	70
流出(2 小时)	35	28	0	20	12

这些数据表明，本发明的化合物被 PC3 细胞内化和保留的程度与对照物类似。

实施例 XLIV-制备 Tc-标记的 GRP 化合物

制备在 0.1% TFA 水溶液中浓度为 1mg/mL 的表 6 鉴定的本发明化合物的肽溶液。通过将 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (20 mg/mL) 溶于 1N HCl 而制备氯化亚锡溶液。通过将等分试样的 SnCl_2 溶液 (10 μL) 加到葡萄糖酸钠溶液来制备包含 20 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /100 μL 的葡萄糖酸亚锡溶液，所述葡萄糖酸钠溶液通过将 13mg 的葡萄糖酸钠溶于水来制备。通过将 50 mg HP- γ -CD 溶于 1mL 水来制备羟丙基 γ -环糊精 [HP- γ -CD] 溶液。

通过混合 20 μL 未标记化合物 (20 μg) 的溶液，50 μL HP- γ -CD 溶液，100 μL Sn-葡萄糖酸盐溶液和 20-50 μL $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 高锝酸盐 (5-8 mCi, Syncor) 来制备以下鉴定的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记的化合物。最终的体积大约为 200 μL ，而最终 pH 为 4.5-5。将反应混合物在 100℃ 下加热 15-20 分钟，然后通过反相 HPLC 分析以测定放射化学纯度 (RCP)。通过 HPLC

分离目标产物峰，收集至含有 5 mg/mL 抗坏血酸、16 mg/mL HP- γ -CD 和 50 mM 磷酸盐缓冲液，pH 4.5 的稳定缓冲液中，并用加速真空浓缩以除去乙腈。用于分析和纯化的 HPLC 系统如下：C18 Vydac 柱，4.6 x 250 mm，水相：在水中的 0.1 %TFA，有机相：在乙腈中的 0.085%TFA。流速：1 mL/分。取决于各肽的性质，使用 20%-25%乙腈/0.085%TFA 的恒溶剂洗脱。

标记结果总结在表 6 中。

表 6

化合物 ¹	序列 ²	HPLC 保留时间 (分)	最初 RCP ³ (%)	RCP ⁴ (%) 纯化后即刻
L2	-RJQWAVGHLM	5.47	89.9	95.6
L4	-SJQWAVGHLM	5.92	65	97
L8	-JKQWAVGHLM	6.72	86	94
L1	-KJQWAVGHLM	5.43	88.2	92.6
L9	-JRQWAVGHLM	7.28	91.7	96.2
L7	-aJQWAVGHLM	8.47	88.6	95.9

n. d. = 未检测

1: 所有化合物与 N,N'-二甲基甘氨酸-Ser-Cys-Gly 金属螯合剂络合。使用 AcM 保护形式的配体。因此，用于制备 L2 的 ^{99m}Tc 络合物的配体为 N,N'-二甲基甘氨酸-Ser-Cys(AcM)-Gly-RJQWAVGHLM。在与 Tc 螯合期间除去 AcM 基团。

2: 在序列中，"J"指 8-氨基-3,6-二氧杂辛酸，而"a"指 D-丙氨酸。

3: 加热后和 HPLC 纯化前即刻进行最初 RCP 测定。

4: 在 HPLC 分离和通过加速真空除去乙腈之后测定 RCP。

实施例 XLV-制备用于细胞结合和生物分布研究的 ¹⁷⁷Lu-L64:

通过在 90°C 下将 10 μ g L64 配体 (10 μ L 1mg/mL 水溶液)、100 μ L 乙

酸铵缓冲液(0.2M, pH 5.2)和~1-2mCi 在 0.05N HCl 中的 $^{177}\text{LuCl}_3$ (MURR) 温育 15 分钟来合成此化合物。通过加入 20 μL 1% $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich) 水溶液来清除游离 ^{177}Lu 。所得的放射化学纯度(RCP)为~95%。通过 HPLC, 使用 YMC Basic C8 柱[4.6 x 150 mm], 30 $^\circ\text{C}$ 的柱温和 1 mL/分的流速, 以及 30 分钟内 68%A/32%B-66%A/34%B 的梯度, 将放射性标记的产物与未标记的配体和其它杂质分离, 其中 A 为柠檬酸盐缓冲液(0.02M, pH 3.0), 而 B 为 80% $\text{CH}_3\text{CN}/20\%\text{CH}_3\text{OH}$ 。分离的化合物的 RCP 为~100%, 而 HPLC 保留时间为 23.4 分钟。

通过将目标 HPLC 峰收集至 1000 μL 柠檬酸盐缓冲液(0.05 M, pH 5.3, 含 1% 抗坏血酸和 0.1 %HSA)来制备用于生物分布和细胞结合研究的样品。通过离心浓缩 30 分钟来除去收集的洗脱物中的有机洗脱剂。对于细胞结合研究, 在体外研究 30 分钟内用细胞结合培养基稀释纯化的样品至浓度为 1.5 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ 。关于生物分布研究, 在体内研究 30 分钟内将样品用柠檬酸盐缓冲液(0.05 M, pH5.3, 含 1%抗坏血酸钠和 0.1%HSA)稀释至最终浓度为 50 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ 。

实施例 XLVI-制备用于放射治疗研究的 ^{177}Lu -L64

通过于 85 $^\circ\text{C}$ 下将 70 μg L64 配体(70 μL 1mg/mL 水溶液)、200 μL 乙酸铵缓冲液(0.2M, pH 5.2)和~30-40 mCi 在 0.05N HCl 中的 $^{177}\text{LuCl}_3$ (MURR) 温育 10 分钟来合成此化合物。在冷却至室温后, 通过加入 20 μL 2% $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich) 水溶液清除游离 ^{177}Lu 。所得的放射化学纯度(RCP)为~95%。通过 HPLC, 用 300VHP 阴离子交换柱(7.5 x 50 mm) (Vydac)从未标记的配体和其它杂质中分离放射性标记的产物, 所述的柱用水、50%乙腈/水, 然后用 1 g/L 乙酸铵水溶液以 1 mL/分的流速依次洗脱。用 50% CH_3CN 从柱中洗脱目标化合物, 并将其与~1 mL 含 5%抗坏血酸、0.2%HSA 和 0.9% (v: v) 苜醇的柠檬酸盐缓冲液(0.05 M, pH 5.3)混合。通过旋转真空 40 分钟除去分离级分中的有机部分, 并在体内研究 30 分钟内用含 5%抗坏血酸、0.2%HSA 和 0.9% (v: v) 苜基

醇的柠檬酸盐缓冲液(0.05 M, pH 5.3)将该浓缩的溶液(~20-25 mCi)调节至浓度为 7.5 mCi/mL。所得的化合物的 RCP>95%。

实施例 XLVII-制备 ^{111}In -L64:

通过在 85°C 下在 0.05N HCl (80 μL) 和 155 μL 乙酸钠缓冲液(0.5M, pH 4.5) 中将 10 μg L64 配体(5 μL 在 0.01N HCl 中的 2 mg/mL 溶液)、60 μL 乙醇、1.12 mCi $^{111}\text{InCl}_3$ 温育 30 分钟来合成此化合物。通过加入 20 μL 1%Na₂EDTA·2H₂O(Aldrich) 水溶液来清除游离 ^{111}In 。所得的放射化学纯度(RCP)为 87%。通过 HPLC, 使用 Vydac C18 柱[4.6x250 mm], 50 °C 的柱温和 1.5 mL/分的流速, 以及 20 分钟内 75%A/25%B-65%A/35%B 的梯度, 从未标记的配体和其它杂质中分离放射性标记的产物, 其中 A 为 0.1%TFA 水溶液, 而 B 为在乙腈中的 0.085%TFA。以此系统, ^{111}In -L64 的保留时间为 15.7 分钟。分离的化合物 RCP 为 96.7%。

实施例 XLVIII-制备 ^{177}Lu -L134(对照)

通过将 L134 配体(如美国专利申请公开 2002/0054855 和 WO 02/87637 所述制备, 二者被引用作为参考)溶于 0.01 N HCl 至浓度为 1 mg/mL 来制备肽的储备液。以所示的顺序混合以下试剂来制备 ^{177}Lu -L134:

0.2 M NH ₄ OAc, pH 6.8	100 μl
肽储备液, 1mg/mL, 在 0.01N HCl 中	5 μL
$^{177}\text{LuCl}_3$ (MURR), 在 0.05M HCl 中	1.2 μl (1.4 mCi)

将反应混合物在 85°C 下保温 10 分钟。在水浴中冷却至室温后, 加入 20 μL 1%EDTA 溶液和 20 μL EtOH。通过 HPLC, 使用 C18 柱(VYDAC Cat #; 218TP54)分析化合物, 用 20 分钟内 21-25%B 的梯度以 1 mL/min 的流速洗脱, 其中 A 为 0.1%TFA/H₂O, 而 B 为 0.1%TFA/CH₃CN)。形成 97.1%产率(RCP)的 ^{177}Lu -L134, 其在此系统中的保留时间为 ~16.1 分钟。

实施例 XLIX-制备 ^{177}Lu -L63

如关于 ^{177}Lu -L134 所述制备此化合物。通过 HPLC, 使用 C18 柱 (VYDAC Cat#, 218TP54) 分析化合物, 以 1 mL/分的流速和 20 分钟内 30-34%B 的梯度洗脱 (其中溶剂为 A. 0.1%TFA/ H_2O , 而 B 为 0.1%TFA/ CH_3CN)。形成的 ^{177}Lu -L63 的 RCP 为 97.8%, 在此系统中的保留时间为 ~14.2 分钟。

实施例 L-制备用于细胞结合和生物分布研究的 ^{177}Lu -L70:

根据上述的方法制备此化合物, 但换成 L70 (实施例 II 配体)。用 YMC Basic C8 柱 (4.6 x 150 mm) 进行纯化, 柱温为 30°C, 流速为 1 mL/分, 而梯度为 40 分钟内 80%A/20%B 至 75%A/25%B, 其中 A 为柠檬酸盐缓冲液 (0.02M, pH 4.5), 而 B 为 80% CH_3CN /20% CH_3OH 。分离的化合物的 RCP 为 ~100%, 而 HPLC 保留时间为 25.4 min。

实施例 LI-制备用于放射治疗研究的 ^{177}Lu -L70:

如以上关于 L64 所述制备此化合物。

实施例 LII-制备用于细胞结合和生物分布研究的 ^{111}In -L70:

通过在 85°C 下将 10 μg L70 配体 (10 μL 在 0.01 N HCl 中的 1 mg/mL 溶液)、180 μL 乙酸铵缓冲液 (0.2M, pH 5.3)、在 0.05N HCl 中的 1.1mCi $^{111}\text{InCl}_3$ (61 μL , Mallinckrodt) 和 50 μL 盐水保温 30 分钟来合成此化合物。通过加入 20 μL 1% $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich) 水溶液来清除游离的 ^{111}In 。所得的放射化学纯度 (RCP) 为 86%。通过 HPLC, 使用与 Vydac 强阴离子交换柱 [7.5 x 50 mm] 相连的 Waters XTerra C18 柱, 从未标记的配体和其它杂质中分离放射性标记的产物, 柱温为 30°C, 流速为 1 mL/分, 且梯度如下表列出, 其中 A 为 0.1 mM NaOH 水溶液, pH 10.0, B 为 1 g/L 乙酸铵水溶液, pH 6.7, 而 C 为乙腈。利用此系统, ^{111}In -L70 的保留时间为 15 分钟, 而 L70 配体的保留时间为 27-28 分钟。分离的化合物的 RCP 为 96%。

通过收集目标 HPLC 峰至 500 μL 柠檬酸盐缓冲液 (0.05 M, pH 5.3, 含有 5% 抗坏血酸、1 mg/mL L-蛋氨酸和 0.2% HSA) 来制备用于生物分布和细胞结合研究的样品。通过旋转真空 30 分钟来除去收集物中的有机部分。关于细胞结合研究, 在体外研究 30 分钟内使用纯化、浓缩的样品。关于生物分布研究, 在体内研究 30 分钟内用柠檬酸盐缓冲液 (0.05 M, pH 5.3, 包含 5% 抗坏血酸钠和 0.2% HSA) 将样品稀释至终浓度为 10 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ 。

时间, 分钟	A	B	C
0-10	100%		
10-11	100-50%		0-50%
11-21	50%		50%
21-22	50-0%	0-50%	50%
22-32		50%	50%

实施例 LIII-体内药代动力学研究

A. 示踪剂量生物分布:

用以下鉴定的本发明化合物在负荷异种移植的 PC3 肿瘤的裸鼠 ([Ncr]-Foxn1^{nu}) 中进行低剂量药代动力学研究 (例如生物分布研究)。在所有的研究中, 以 200 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ 给小鼠静脉内施用 100 μL ^{177}Lu -标记的受试化合物, 且每组 (n=3-4) 的停留时间为 1 和 24 小时。在 LKB 1282 CompuGamma 计数器中以适宜的标准分析组织。

表 7

在 1 和 24 小时在负荷 PC3 肿瘤的裸鼠中进行药代动力学比较 (200 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$; 值为 %ID/g) ^{177}Lu -标记的本发明化合物与对照比较

组织	L134 对照		L63		L64		L70	
	1 小时	24 小时	1 小时	24 小时	1 小时	24 小时	1 小时	24 小时
血液	0.44	0.03	7.54	0.05	1.87	0.02	0.33	0.03
肝	0.38	0.04	12.15	0.20	2.89	0.21	0.77	0.10
肾	7.65	1.03	7.22	0.84	10.95	1.45	6.01	2.31
肿瘤	3.66	1.52	9.49	2.27	9.83	3.60	6.42	3.50
胰腺	28.60	1.01	54.04	1.62	77.78	6.56	42.34	40.24

L64 和 L70 在注射之后血液、肝脏和肾中的放射性的分布与对照化合物 L134 的类似，而 L64 和 L70 在肿瘤中的摄取在 1 和 24 小时则高得多。L63 也表现高肿瘤摄取，虽然早期血液和肝脏值有所增加。小鼠胰腺-已知具有 GRP 受体的正常器官对 L64、L70 和 L63 的摄取大大高于 L134。

实施例 LIV-受体亚型特异性

目前，已知 GRP 受体家族的四种哺乳动物成员：GRP-偏好受体 (GRP-R)、神经调节肽-B 偏好受体 (NMB-R)、蛙皮素受体亚型 3 (BB3-R) 和 BB4 受体亚型。研究 ^{177}Lu -L245 的受体亚型特异性。结果表明， ^{177}Lu -L245 与 GRP-R 和 NMB-R 特异性结合，并且对 BB3-R 的亲合力小。

通过体外受体放射自显影术，使用 Reubi 等人，"Bombesin Receptor Subtypes in Human Cancers Detection with the Universal Radioligand (125) I-[D-TYR (6), beta-ALA, PHE (13), NLE (14)] Bombesin (6-14)", Clin. Cancer Res. 8: 1139-1146 (2002) 所述的方法和先前发现仅表达一种 GRP 受体亚型的组织样品确定 L245 的络合物 [^{177}Lu -L245] (如上述制备) 的亚型特异性。将人回肠类癌组织用作 NMB-R 的来源，将人前列腺癌用作 GRP-R 的来源，而将人支气管类癌用作 BB3-R 亚型受体的来源。已知为通用配体的化合物， ^{125}I -[DTyr⁶, β Ala¹¹, Phe¹³, Nle¹⁴]-BBN (6-14)，与 GRP-R 的所有三个亚型结合，用作阳性对照。看出以下结果。

表 8

通过与通用配体在人组织样品上进行的竞争试验测定的¹⁷⁷Lu-L245 的受体亚型特异性

化合物	IC ₅₀ (nM)		
	NMB-R	GRP-R	BB3-R
L245-19	0.9±0.1 (4)	0.8±0.1 (4)	>1,000 (3)
通用配体	0.8±0.1 (3)	0.7±0.1 (3)	1.1±0.1 (3)

这些结果表明 L245 衍生物预期与主要表达 GRP-R 的人前列腺癌良好地结合。它们还表明 L245 衍生物预期不与正常人胰腺(它主要表达 BB3-R 受体)或者主要表达 BB3-R 受体亚型的癌良好结合。

实施例 LV-放射治疗研究

A. 短期效力研究

使用负荷 PC3 肿瘤的裸鼠模型进行放射治疗研究。将本发明的 Lu-177 标记的化合物 L64、L70、L63 和治疗对照化合物 L134 与未治疗的对照组作比较。(每个治疗组的 n=12, 而未治疗的对照组的 n=36)。关于第一次研究, 在无菌条件下给小鼠静脉内或皮下施用 100μL 30mCi/kg 本发明的 ¹⁷⁷Lu-标记的化合物。在栅栏环境中将受试者笼养长达 30 天。在整个研究期间每周对每只受试者进行 3 次体重和肿瘤大小(用卡尺测量)收集。提前结束的标准包括: 死亡; 总体重(TBW)减小等于或大于 20%; 肿瘤大小等于或大于 2cm³。结果在图 15A 中显示。这些结果表明用 L70、L64 或 L63 治疗的动物与不给予治疗的动物和给予相同剂量 L134 的动物相比存活提高。用 L64 和 L70, 使用与前述相同的剂量, 但每种化合物使用更多动物(n=46)并追踪更长时间, 来进行重复研究。重复研究的结果表示在图 15B 中。相对于与前面相同的对照(n=36), L64 和 L70 治疗均明显增加存活(p<0.0001), 且 L70 好于 L64(p0.079)。

实施例 LVI

使用分段偶联对 L64 和 L70 的可替代选择的制备

可以使用由 A-D(图 19)概括表示的中间产物的集合体来制备化合物 L64 和 L70, 所述中间产物本身可以由固相和液相肽合成领域中已知的标准方法制备 (Synthetic Peptides—A User's Guide 1992, Grant, G., Ed. WH. Freeman Co., NY, Chap 3 和 Chap 4 pp 77-258; Chan, W. C. 和 White, P. D. Basic Procedures in Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis—A Practical Approach 2002, Chan, W. C. 和 White, P. D. Eds Oxford University Press, New York, Chap. 3 pp 41-76; Barlos, K 和 Gatos, G. Convergent Peptide Synthesis in Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis—A Practical Approach 2002, Chan, W. C. 和 White, P. D. Eds Oxford University Press, New York, Chap. 9 pp 216-228.), 所述文献在此被引用以供参考。

这些方法包括基于 Alloc、Boc、Fmoc 或苄氧基羰基的肽合成策略, 或者审慎选择的那些固相或溶液方法的组合。用于特定步骤的中间体根据分子中每个位置的适宜保护基的选择来选择, 所述保护基可以选自图 1 所示的基团清单。本领域技术人员还理解, 还可以使用可与肽合成方法相容、包含可替代选择的保护基的中间体, 而以上所示的保护基的罗列选项用作例示而不是包括性的, 且这些可替代的选择在本领域中是已知的。

这在概述这种方法的图 20 中作了详细例示。当应用相同的合成策略时, 用中间产物 C2 替换在合成 L64 中所示的 C1 而得到 L70。

实施例 LVII-图 49 和 50

合成 L69

概述: $(3\beta, 5\beta, 7\alpha, 12\alpha)$ -3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 A 与

Fmoc-C1 反应得到中间产物 B。使用八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeuMet-NH₂ (BBN[7-14]) 官能化的 Rink 酰胺树脂 (A) 依次与 B、Fmoc-8-氨基-3,6-二氧杂辛酸和 DOTA 三叔丁酯反应。在用试剂 B 裂解和脱保护之后, 用制备 HPLC 纯化粗品, 得到 L230 B 24280。总产率: 4.2%。

A. (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸, B(图 49)

将在 1,4-二噁烷 (18 mL) 中的 9-芴基甲氧基羰基氯 (1.4 g; 5.4 mmol) 的溶液滴加到在 0℃ 下搅拌的在 10%Na₂CO₃ 水溶液 (30 mL) 和 1,4-二噁烷 (18 mL) 中的 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 A (2.0 g; 4.9 mmol) (3) 的悬浮液。室温下搅拌 6 小时后加入 H₂O (100 mL), 用 Et₂O (2 x 90 mL) 洗涤水相, 然后加入 2 M HCl (15 mL) (最终 pH: 1.5)。将沉淀的固体过滤, 用 H₂O (3 x 100 mL) 洗涤, 真空干燥, 然后用快速色谱法纯化得到 B, 为一种白色固体 (2.2 g; 3.5 mmol)。产率 71%。

B. N-[3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-[[[2-[2-[[[4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]氨基]-7, 12-二羟基-24-氧代胆烷-24-基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酸酰基-L-丙氨酸酰基-L-缬氨酸酰基-甘氨酸酰基-L-组氨酸酰基-L-亮氨酸酰基-L-蛋氨酸酰胺, L69(图 50)

将树脂 A (0.5 g; 0.3 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟。冲出溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后冲出溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 (3 β , 5 β , 7 α , 12 α)-3-(9H-芴-9-基甲氧基)氨基-7, 12-二羟基胆烷-24-酸 B (0.75 g; 1.2 mmol)、N-羟基苯并三唑 (HOBt) (0.18 g; 1.2 mmol)、N, N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC) (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂, 将混合物于室温下振荡 24 小时, 倒空, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的

50%吗啉一起振荡 10 分钟，倒空溶液加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。倒空溶液并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 Fmoc-8-氨基-3, 6-二氧杂辛酸 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2 mmol) 和 DMA (7mL) 加到树脂。将混合物于室温下振荡 3 小时，倒空并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。然后将树脂与在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉一起振荡 10 分钟，冲出溶液，加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50%吗啉，并将混合物再振荡 20 分钟。冲出溶液，并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸三(1, 1-二甲基乙基)酯与 NaCl 的加合物 (0.79 g; 1.2 mmol)、HOBT (0.18 g; 1.2 mmol)、DIC (0.19 mL; 1.2mmol)、N-乙基二异丙基胺 (0.40 mL; 2.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时，冲出并用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂，并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) (2) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤，并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品，用 Et₂O (20 mL) 对其进行处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀，并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (248 mg)，对其用 HPLC 分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (50 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L69 (6.5 mg; 3.5x10⁻³mmol) (图 50)，为一种白色固体。产率 5.8%。

实施例 LVIII-图 51

合成 L144

概述：使用八肽 GlnTrpAlaValGlyHisLeuMetNH₂ (BBN [7-14]) (A) 官能化的 Rink 酰胺树脂与 4-[2-羟基-3-[4, 7, 10-三[2-(1, 1-二甲基乙氧基)-2-氧代乙基]-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基]丙氧基]苯甲酸反应。在用试剂 B (2) 裂解并脱保护之后，用制备 HPLC 纯化粗品得到 L144。总产率：12%。

A. N-[4-[2-羟基-3-[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丙氧基]苯甲酰基]-L-谷氨酰胺酰基-L-色氨酰基-L-丙氨酰基-L-缬氨酰基-甘氨酰基-L-组氨酰基-L-亮氨酰基-L-蛋氨酸酰胺, L144(图 51)

将树脂 A (0.4 g; 0.24 mmol) 在固相肽合成容器中与在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉一起振荡 10 分钟, 冲出溶液, 并加入新鲜的在 DMA (7 mL) 中的 50% 吗啉。将悬浮液再搅拌 20 分钟, 然后冲出溶液, 并用 DMA (5 x 7 mL) 洗涤树脂。将 4-[2-羟基-3-[4,7,10-三[2-(1,1-二甲氧乙氧基)-2-氧代乙基]-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基]丙氧基]苯甲酸 B (0.5 g; 0.7 mmol)、HOBT (0.11 g; 0.7 mmol)、DIC (0.11 mL; 0.7 mmol)、N-乙基二异丙基胺 (0.24 mL; 1.4 mmol) 和 DMA (7 mL) 加到树脂。将混合物在室温下振荡 24 小时, 倒空, 用 DMA (5 x 7 mL)、CH₂Cl₂ (5 x 7 mL) 洗涤树脂, 并真空干燥。将树脂在烧瓶中与试剂 B (25 mL) (2) 一起振荡 4.5 小时。将树脂过滤, 并在减压下蒸发溶液得到一种油状粗品, 用 Et₂O (20 mL) 对其处理后得到一种沉淀。离心收集沉淀, 并用 Et₂O (3 x 20 mL) 洗涤得到一种固体 (240 mg), 用 HPLC 对其进行分析。用制备 HPLC 纯化一定量的粗品 (60 mg)。将包含产物的级分冻干得到 L144 (10.5 mg; 7.2×10^{-3} mmol), 为一种白色固体。产率 12%。

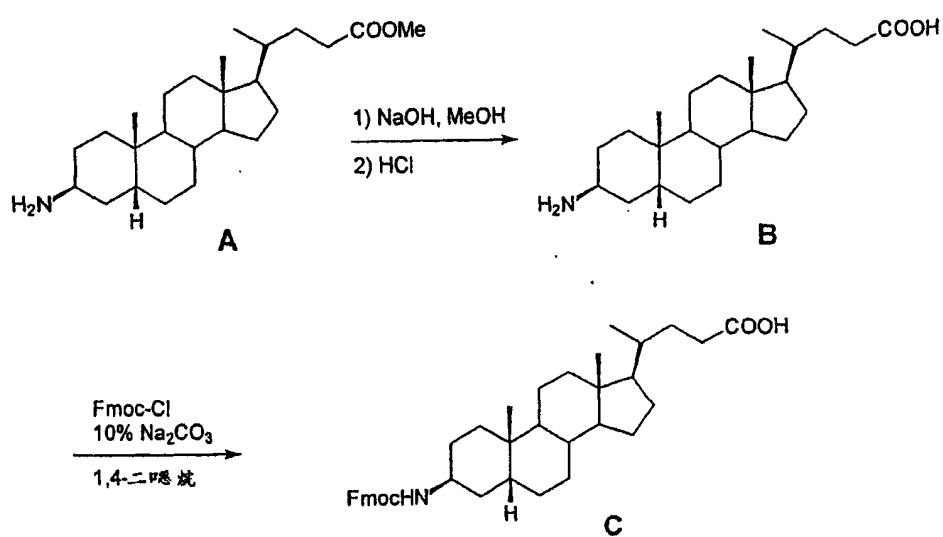
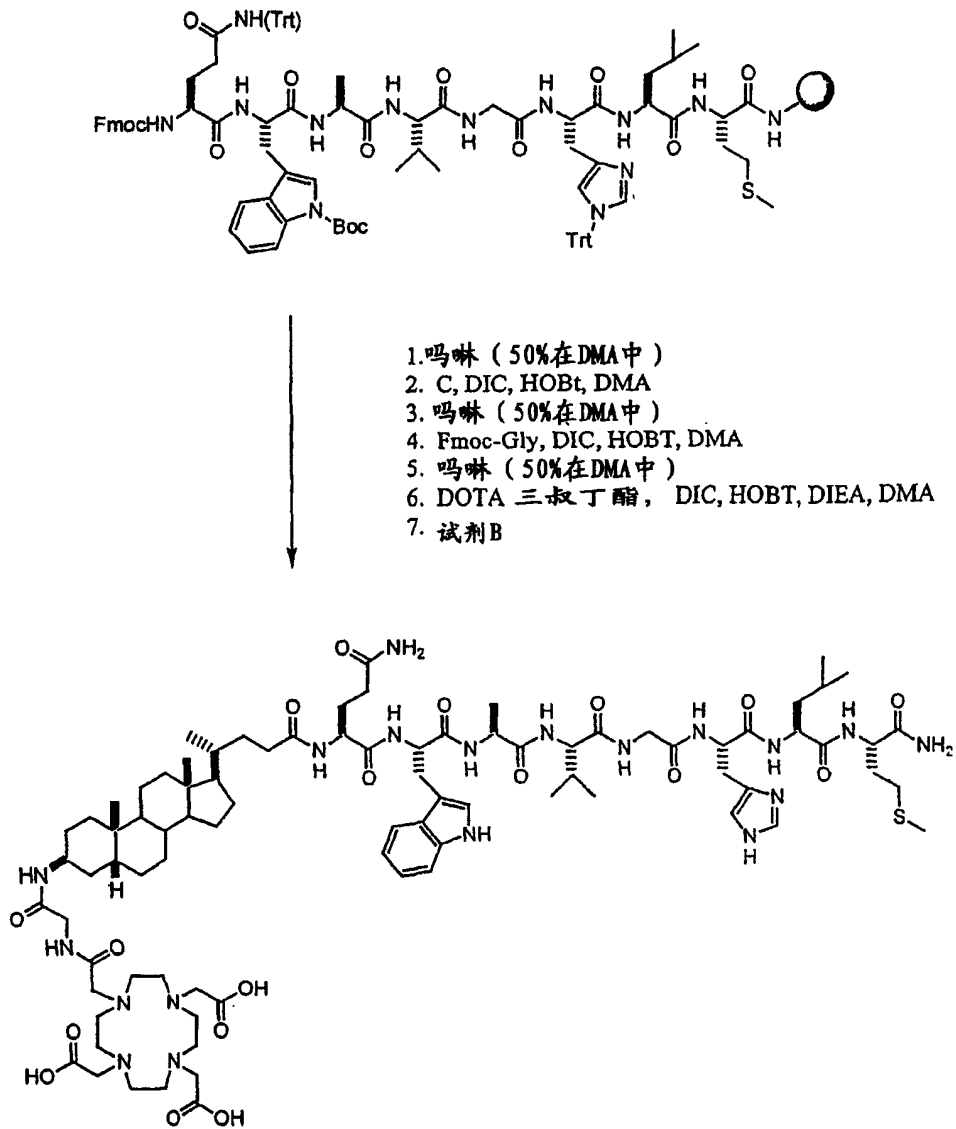
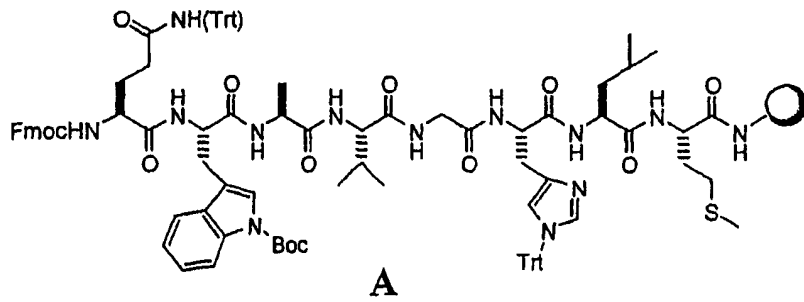


图 1A



L62

图1B



1. 吗啉 (50%在DMA中)
2. Fmoc-4-氨基苯甲酸, HATU, DMA
3. 吗啉 (50%在DMA中)
4. Fmoc-Gly-OH, DIC, HOBT, DMA
5. 吗啉 (50%在DMA中)
6. DOTA 三叔丁酯, DIC, HOBT, DIEA, DMA
7. 试剂B

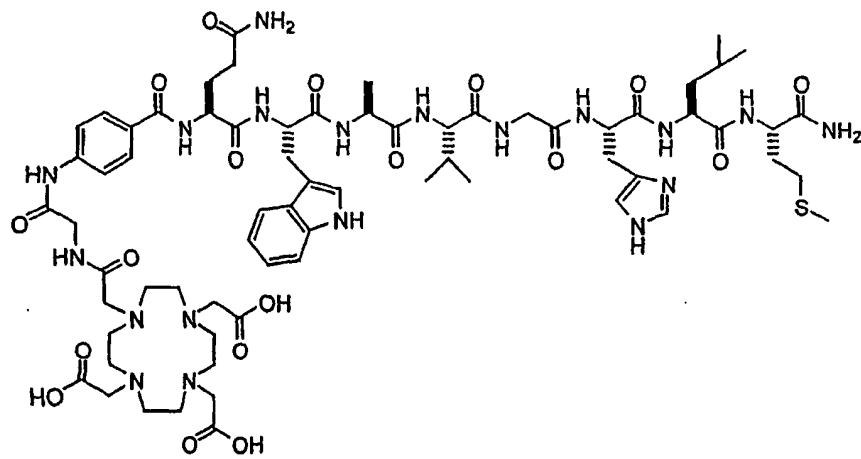


图 2A

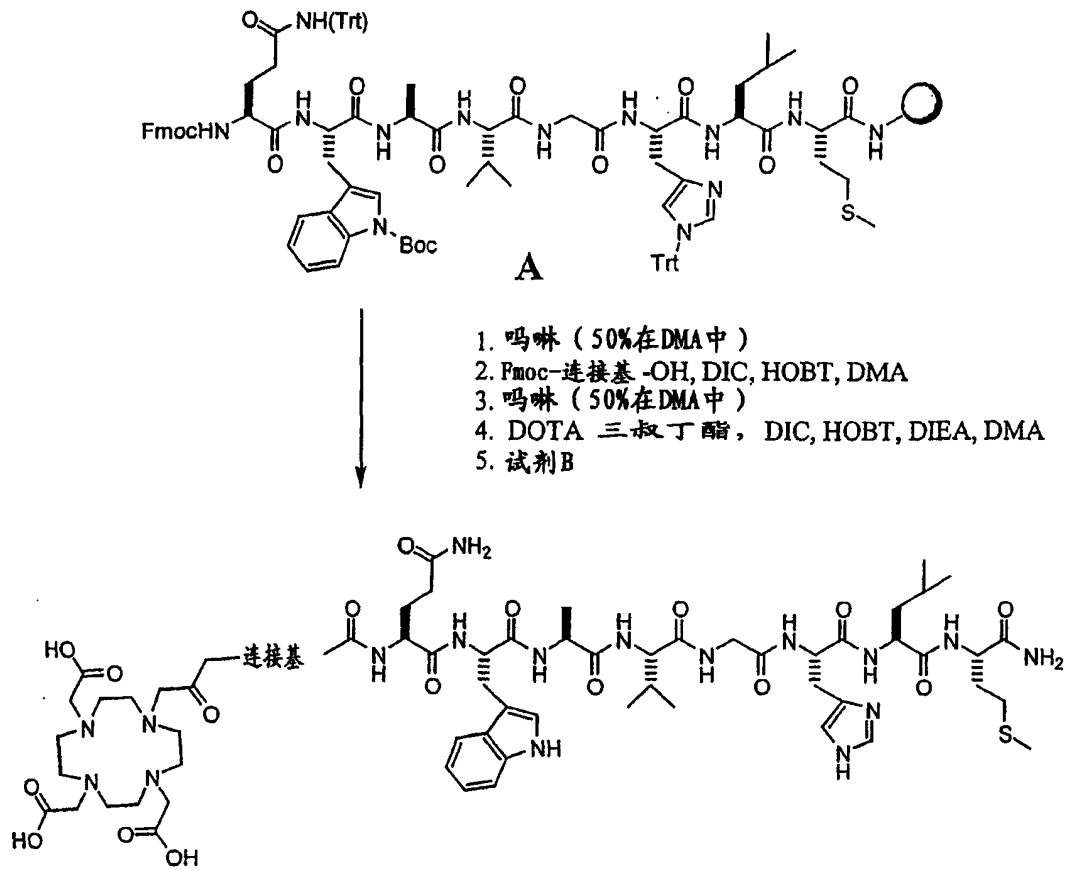
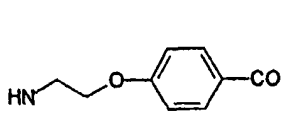


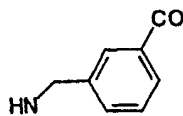
图 2B

连接基:



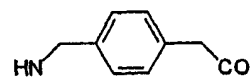
L73

图 2C



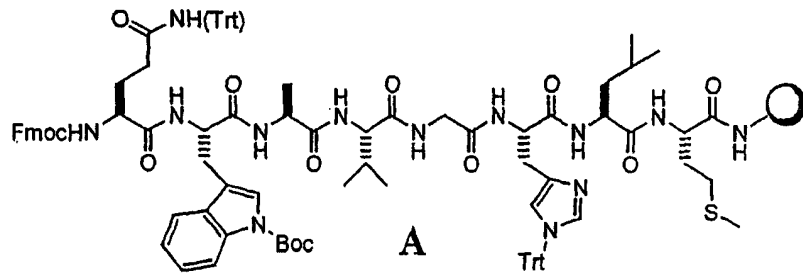
L115

图 2D



L116

图 2E



1. 吗啉 (50%在DMA中)
2. Fmoc-六氢异烟酸, DIC, HOBT, DMA
3. 吗啉 (50%在DMA中)
4. Fmoc-Gly-OH, DIC, HOBT, DMA
5. 吗啉 (50%在DMA中)
6. DOTA三叔丁酯, DIC, HOBT, DIEA, DMA
7. 试剂B

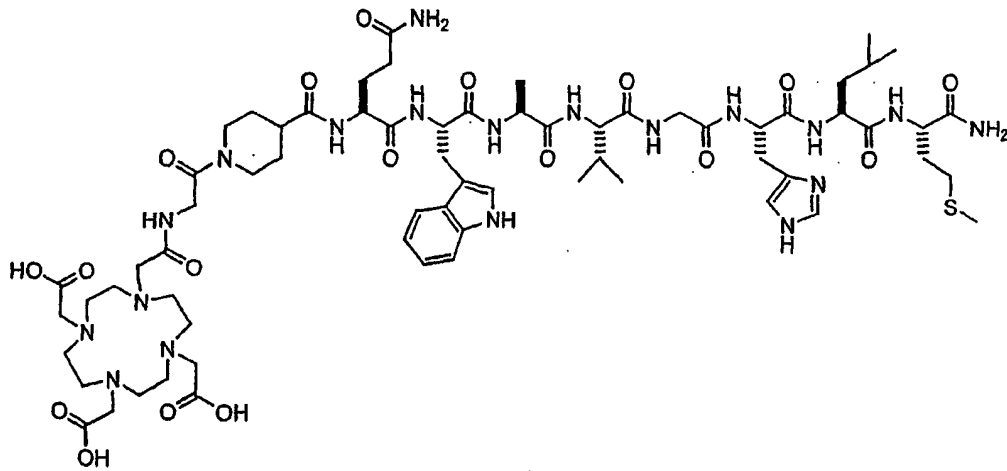


图 2F

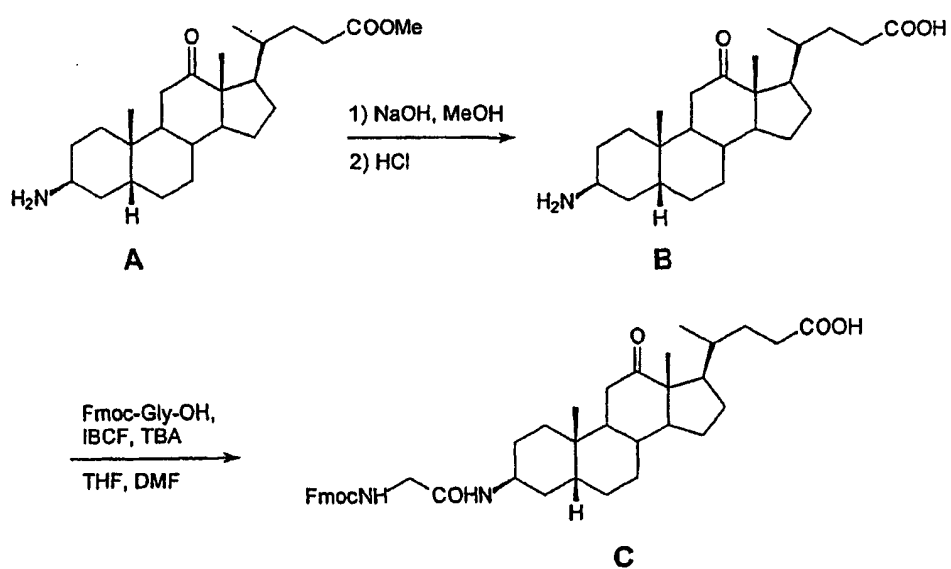


图 3A

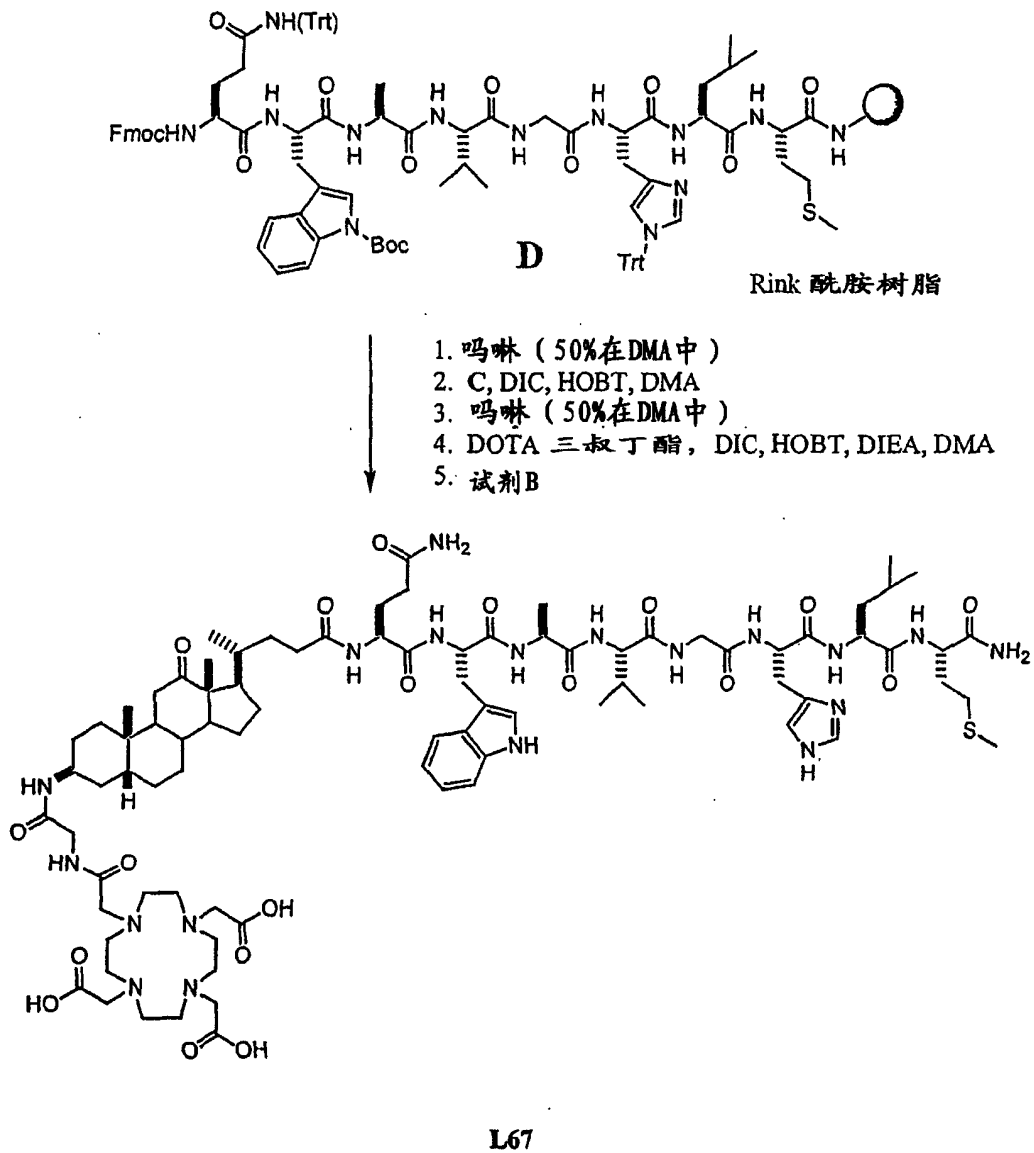


图 3B

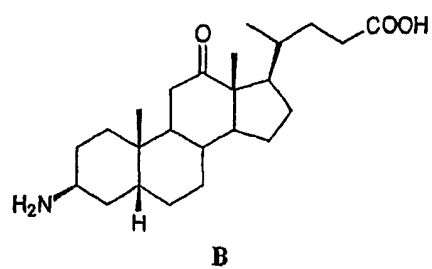


图 3C

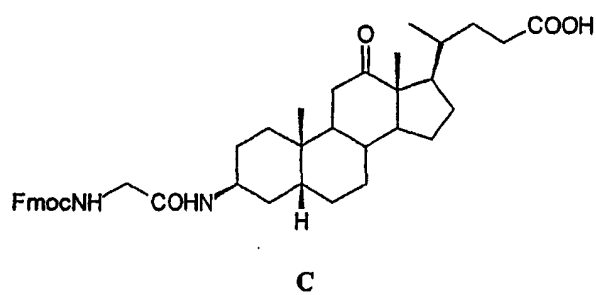


图 3D

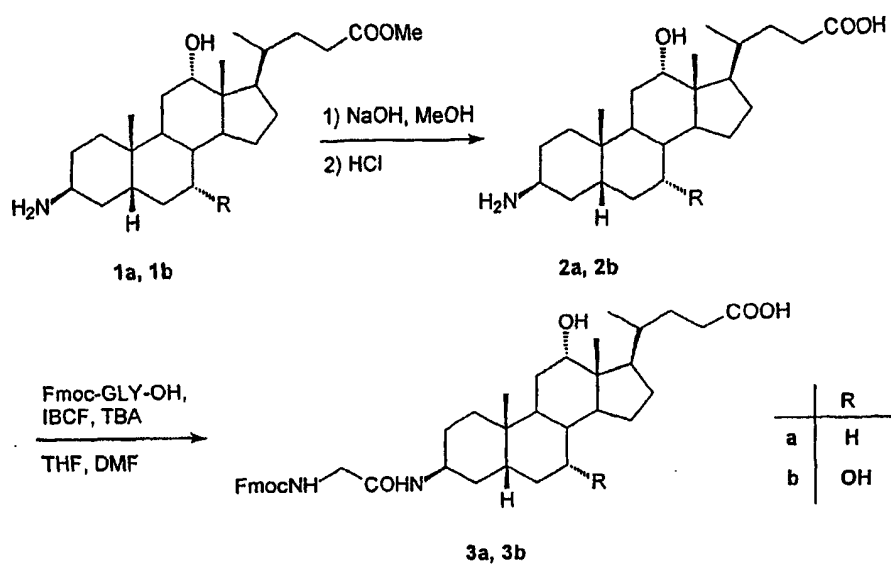


图 4A

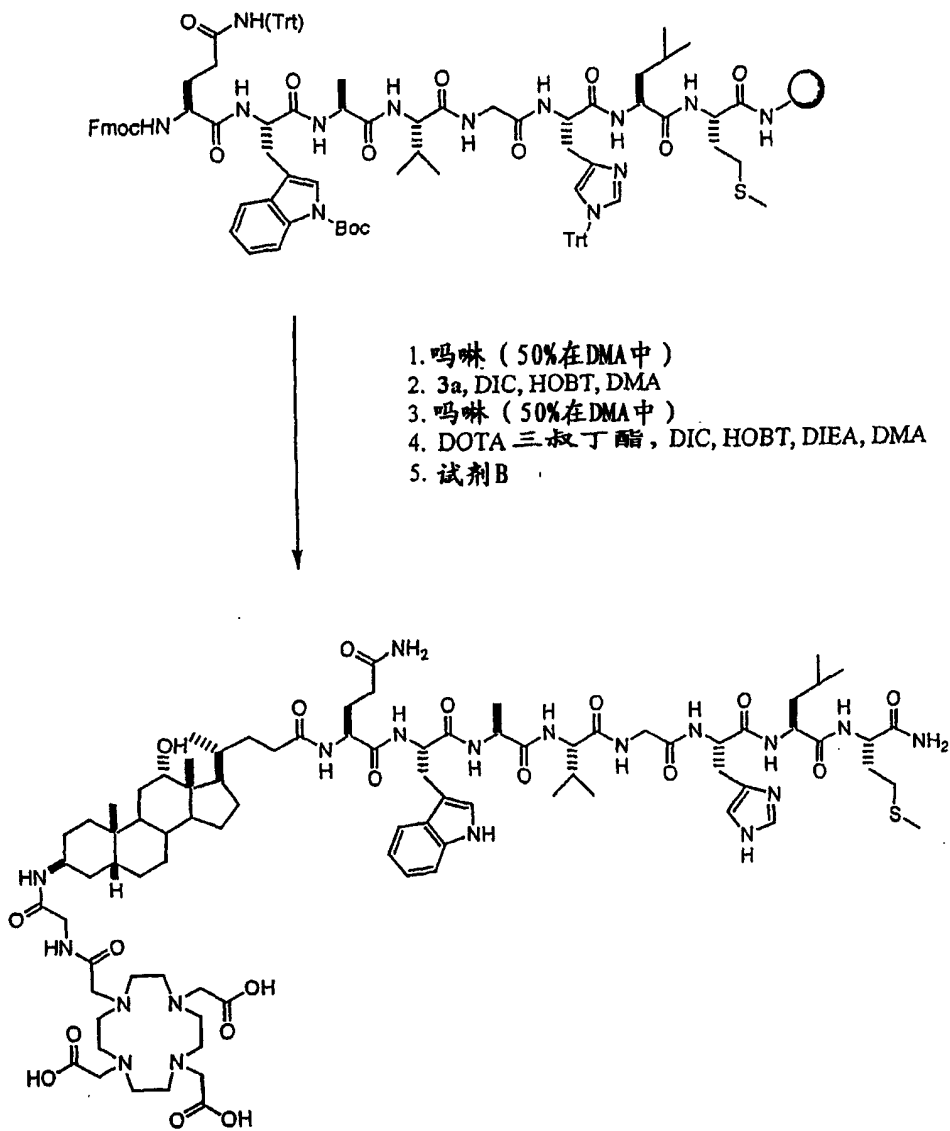
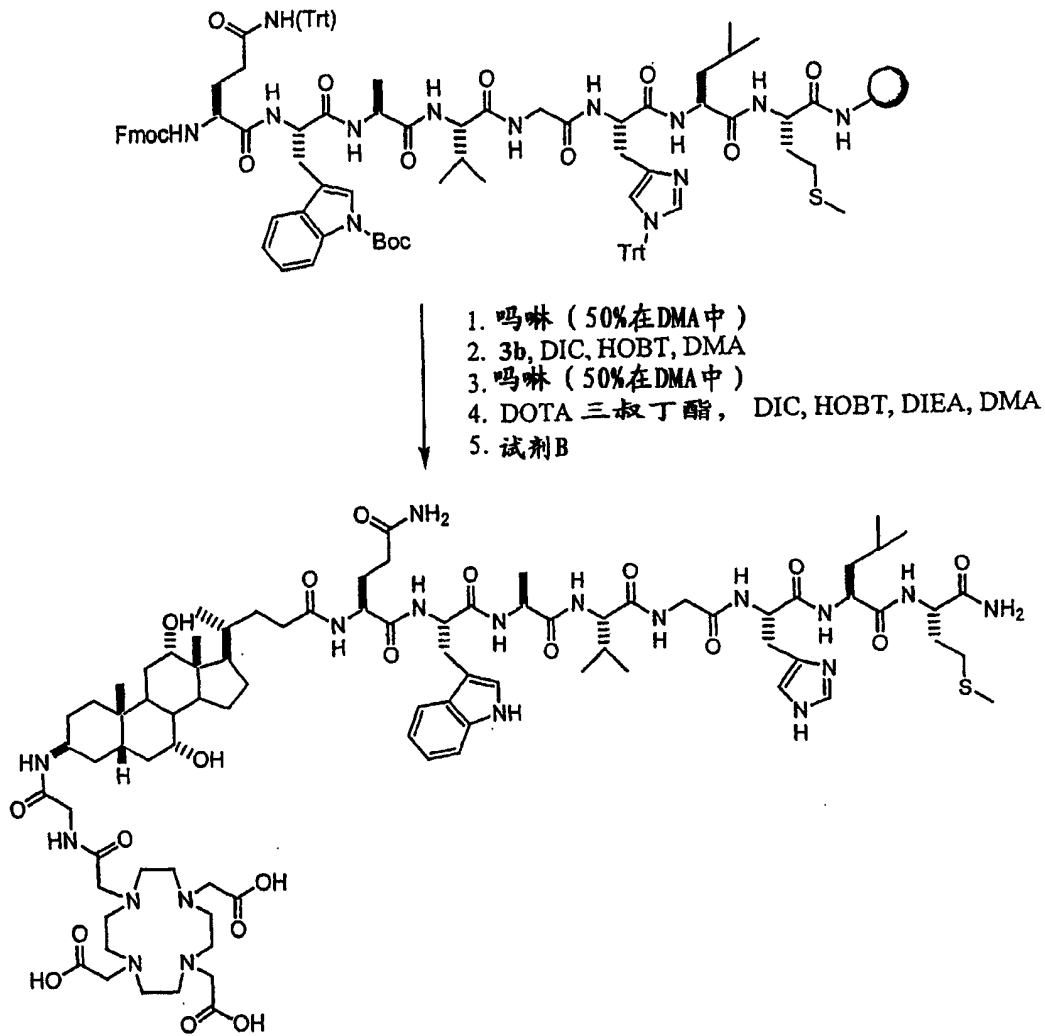
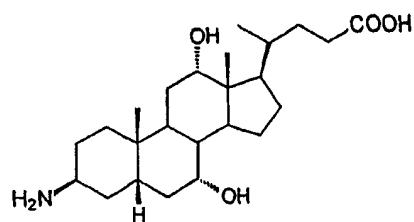


图4B



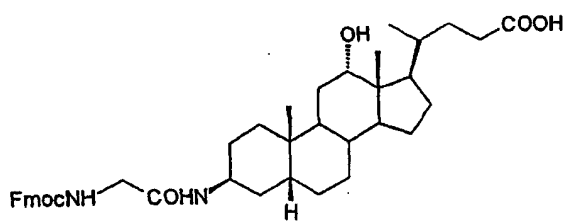
L64

图 4C



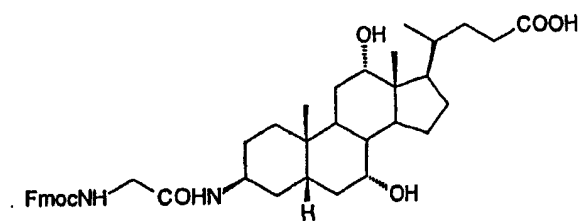
2b

图 4D



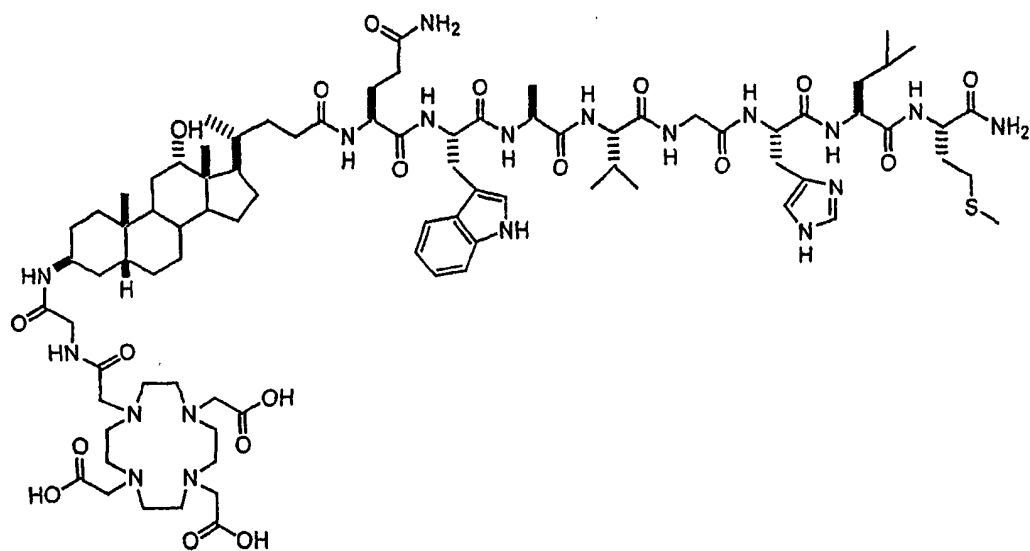
3a

图 4E



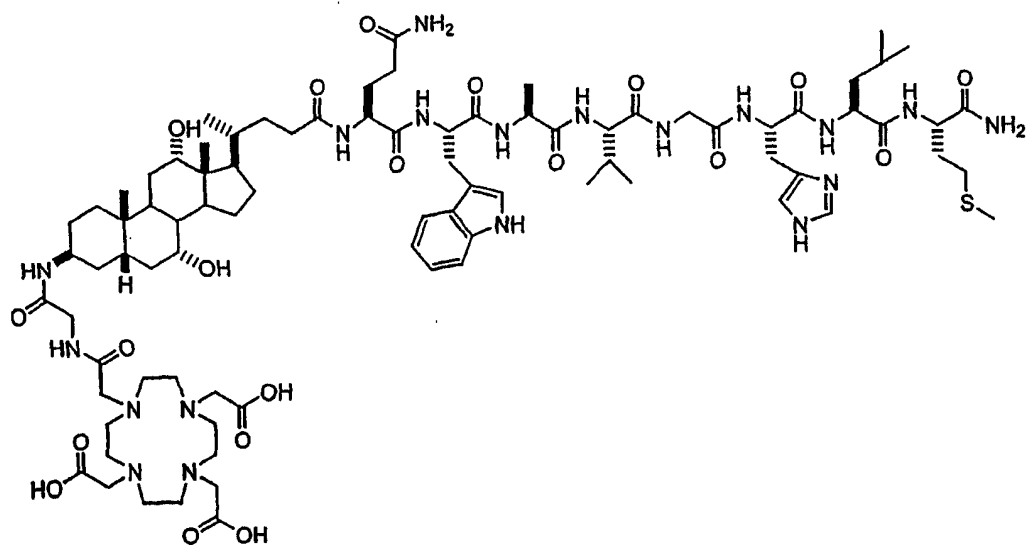
3b

图 4F



L63

图 4G



L64

图 4H

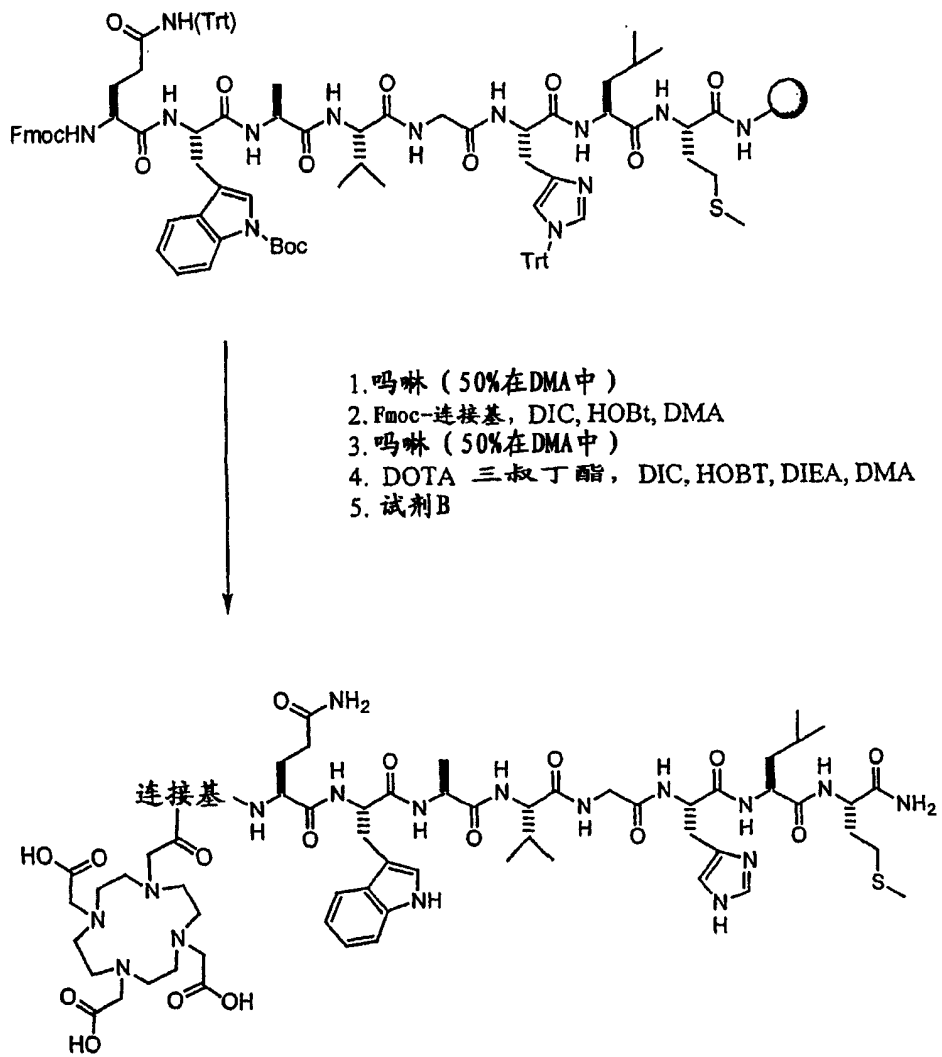


图 5A

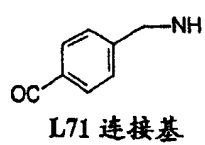


图 5B

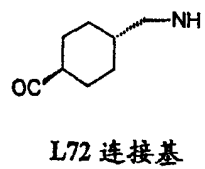


图 5C

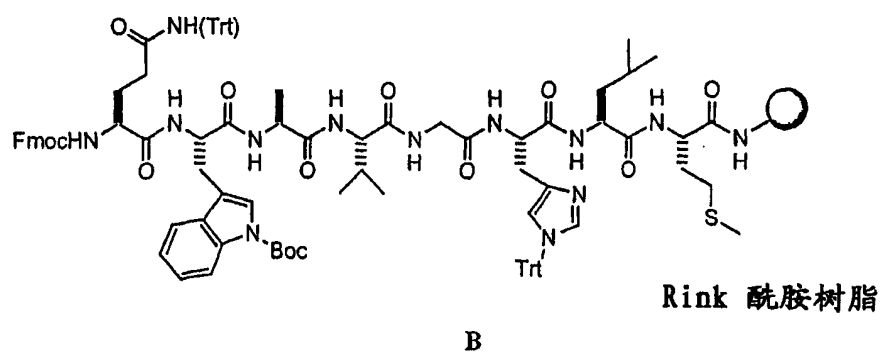
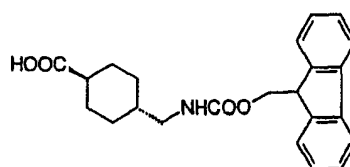


图 5D



D

图 5E

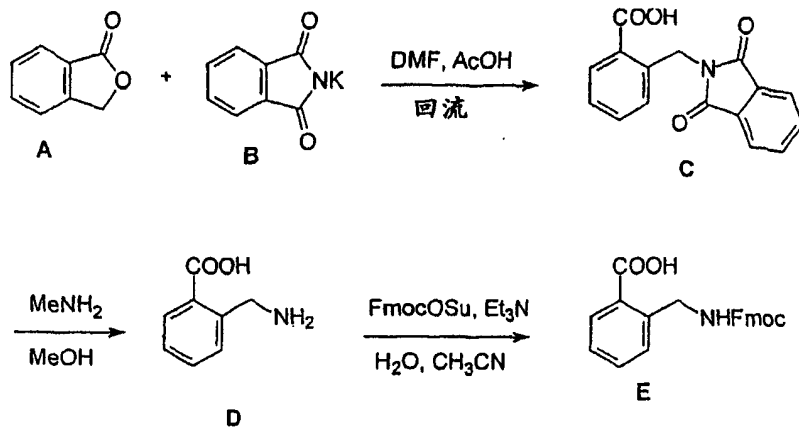


图 6A

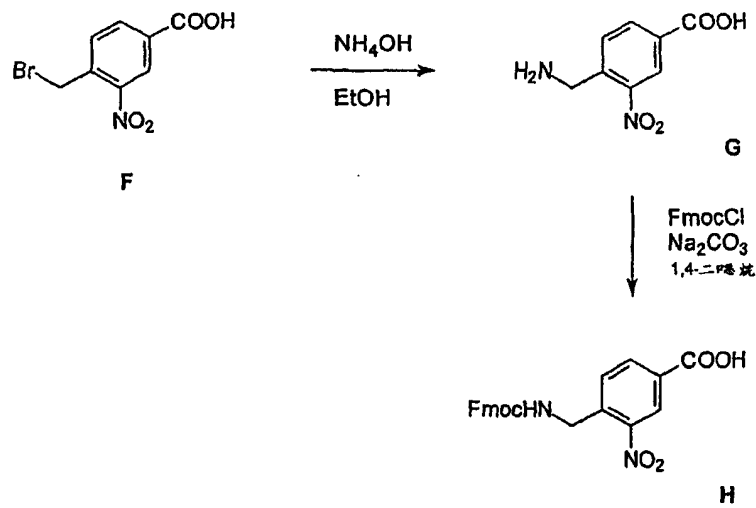


图 6B

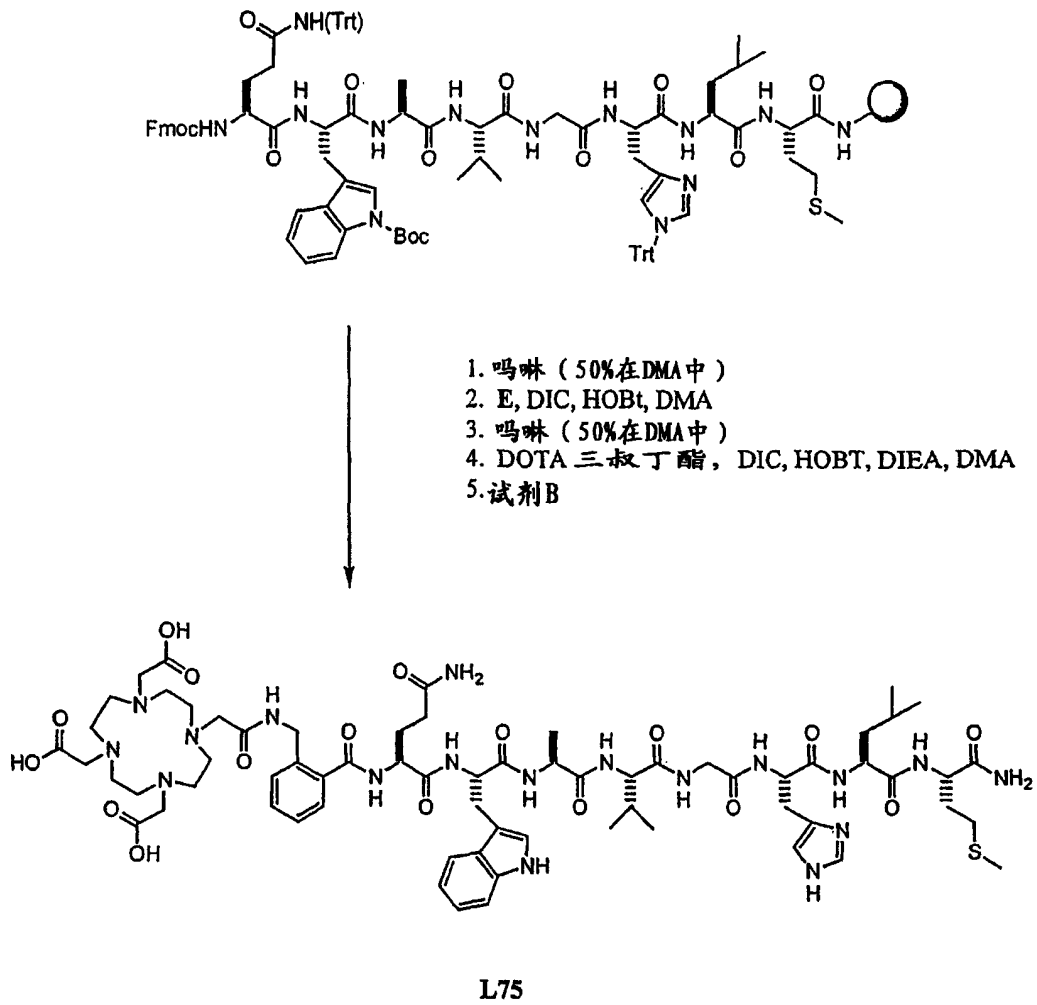


图 6C

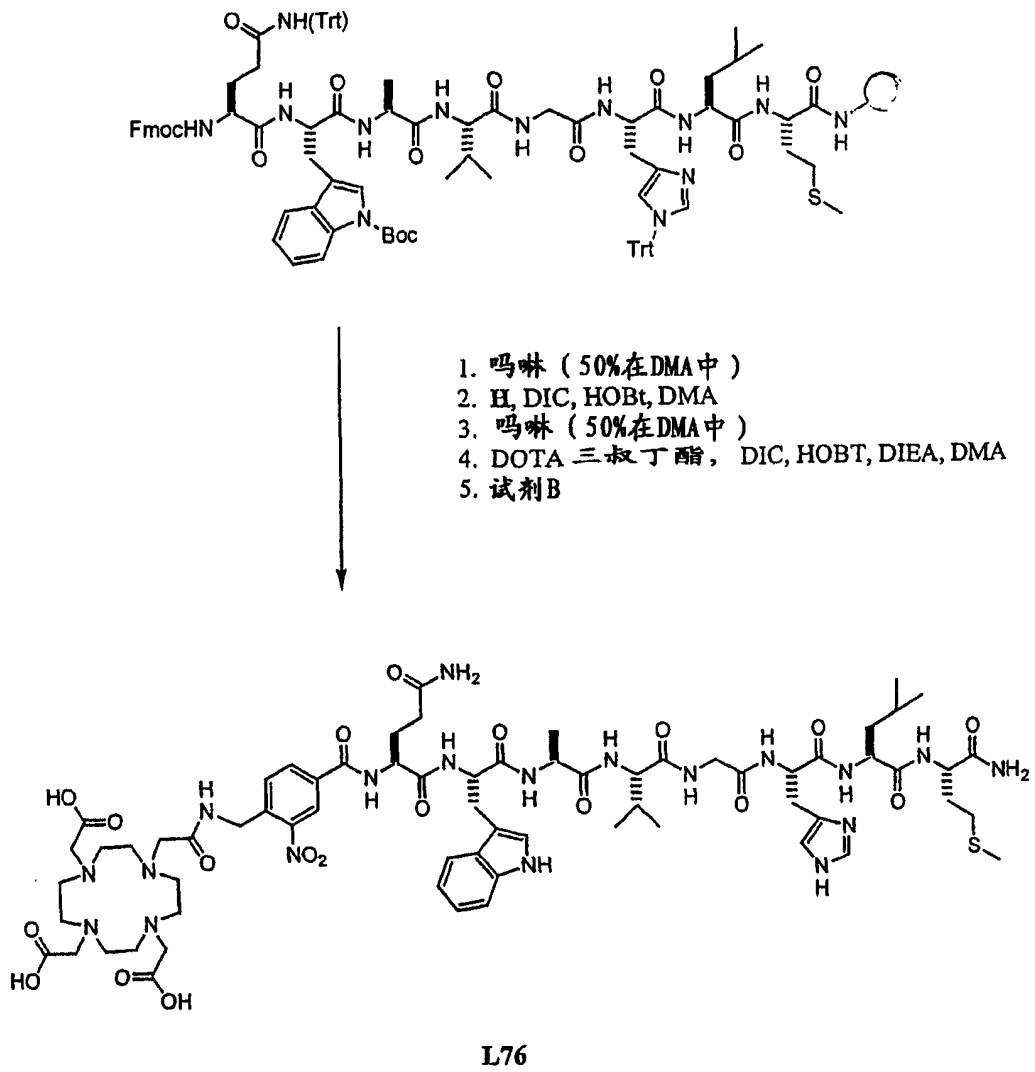
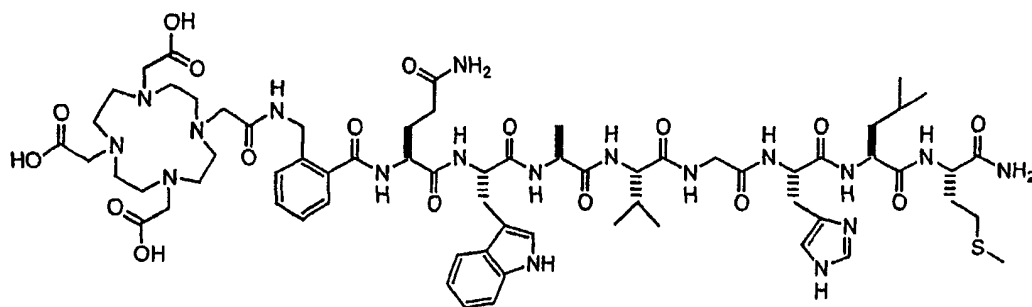
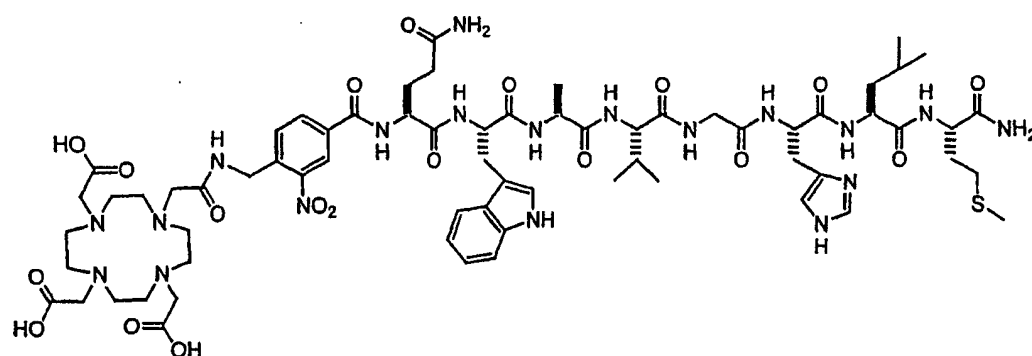


图 6D



L75

图 6E



L76

图 6F

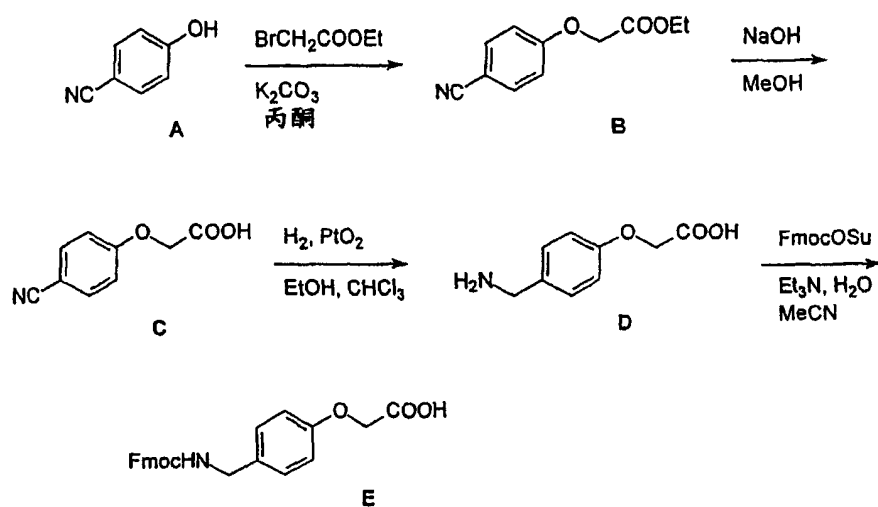


图7A

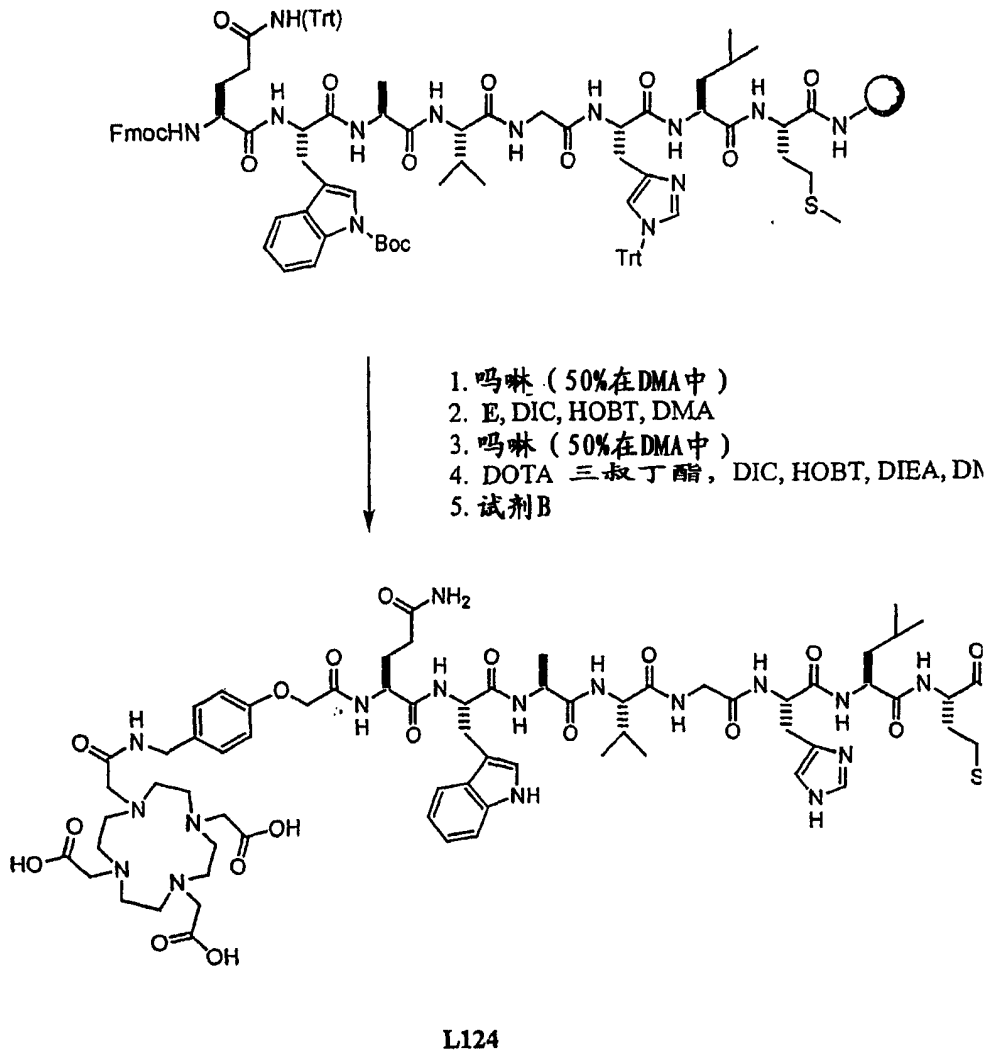
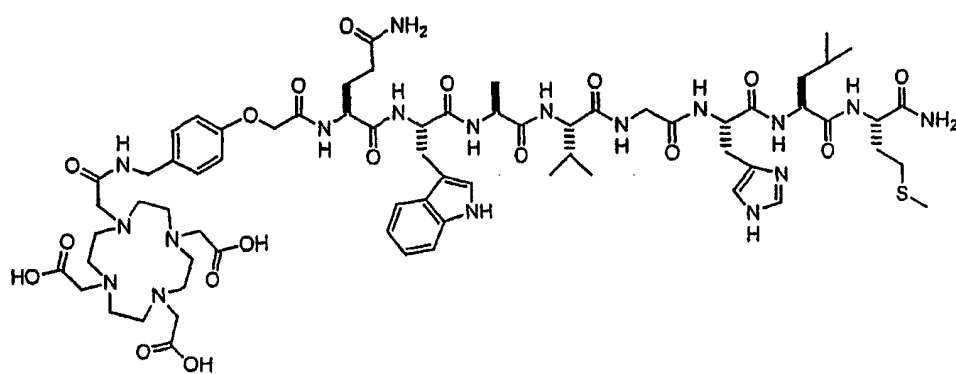


图 7B



L124

图7C

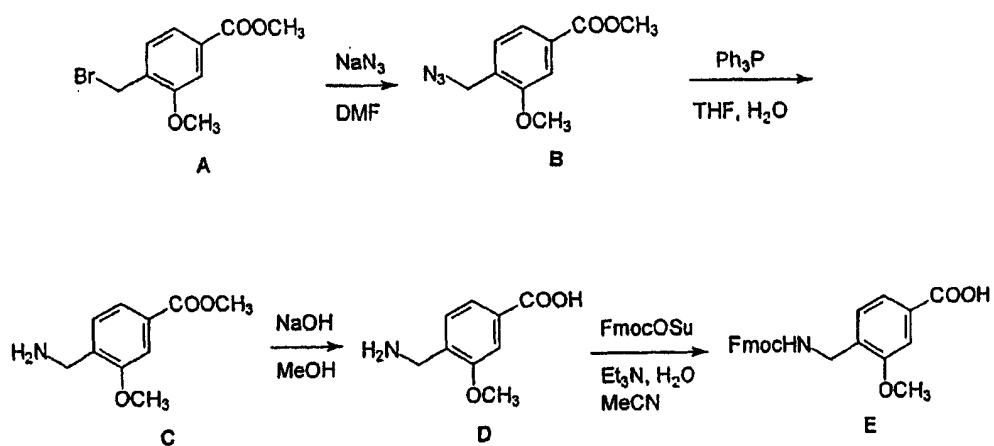


图 8A

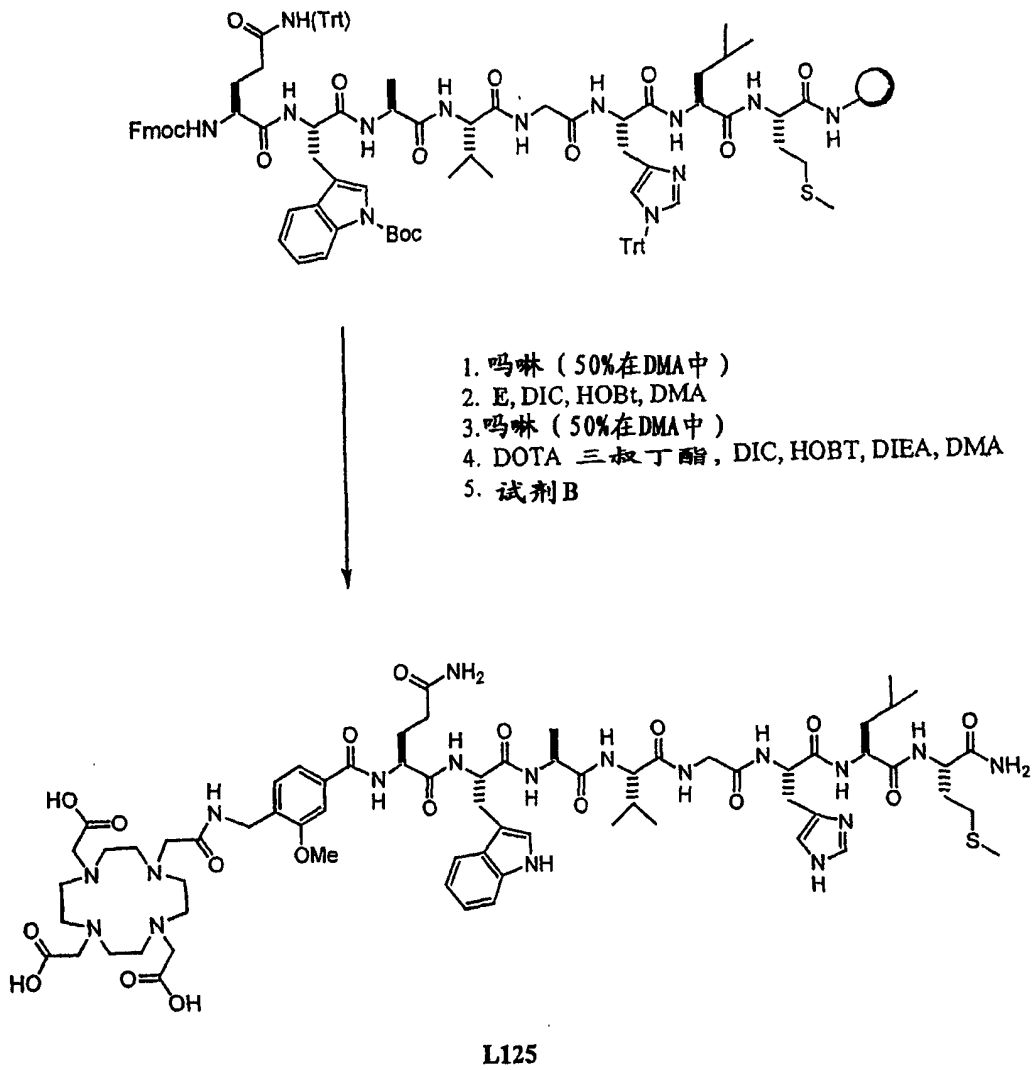


图 8B

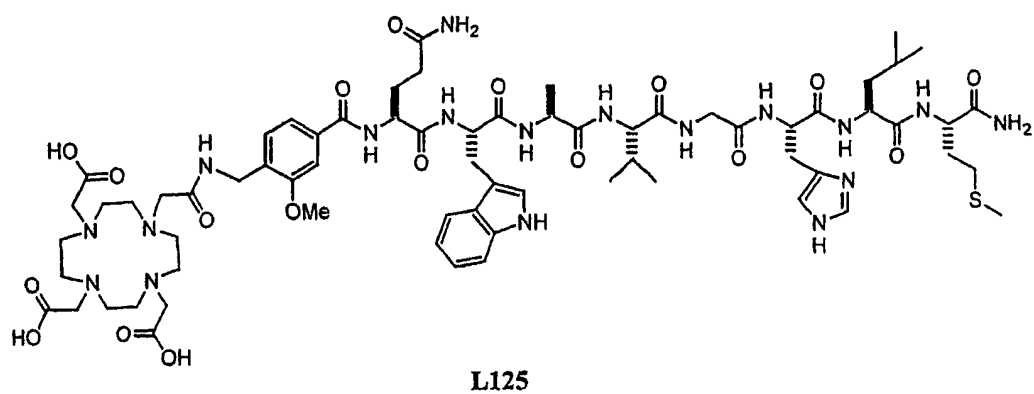


图8C

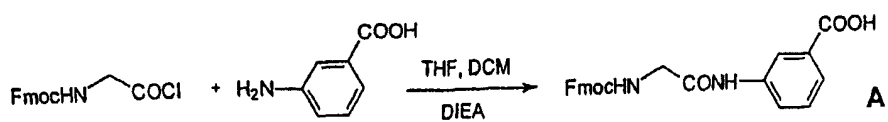


图 9A

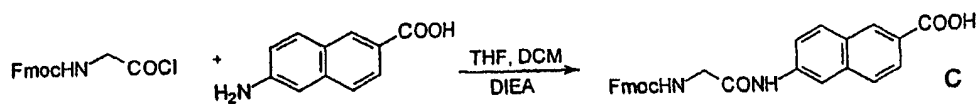


图 9B

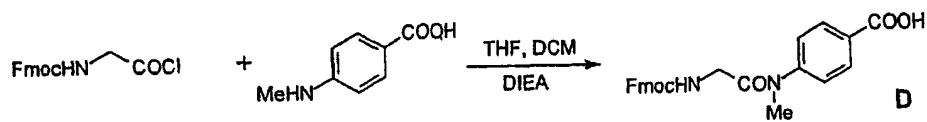
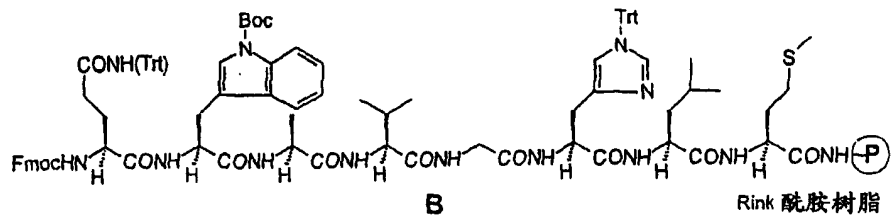
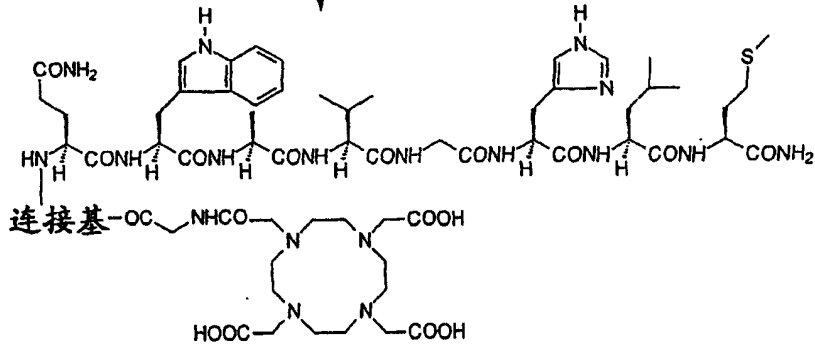


图 9C



- 1) 吗啉 (50%在DMA中)
- 2) Fmoc 连接基, DIC, HOBT, DMAC
- 3) 吗啉 (50%在DMA中)
- 4) DOTA 三叔丁酯, DIC, HOBT, DIEA, DMAC
- 5) 试剂B



连接基	产物
	L233
	L234
	L235

图9D

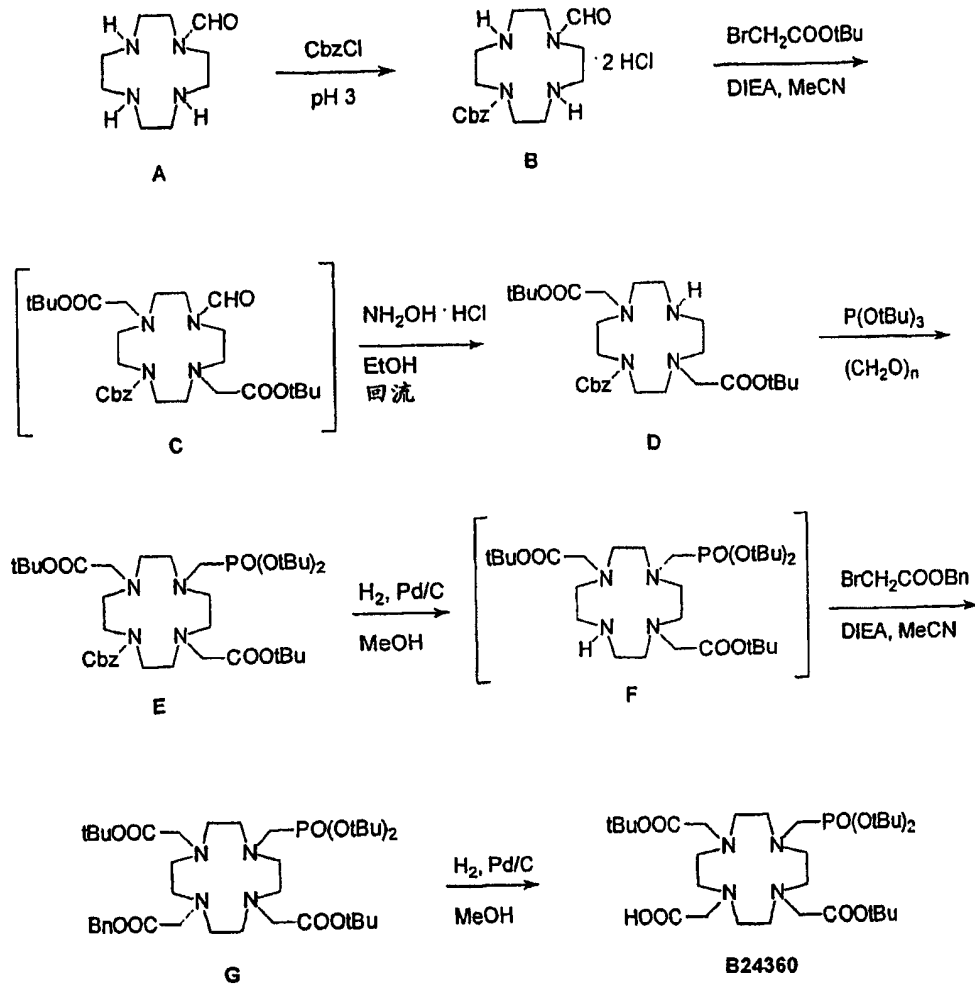


图 10A

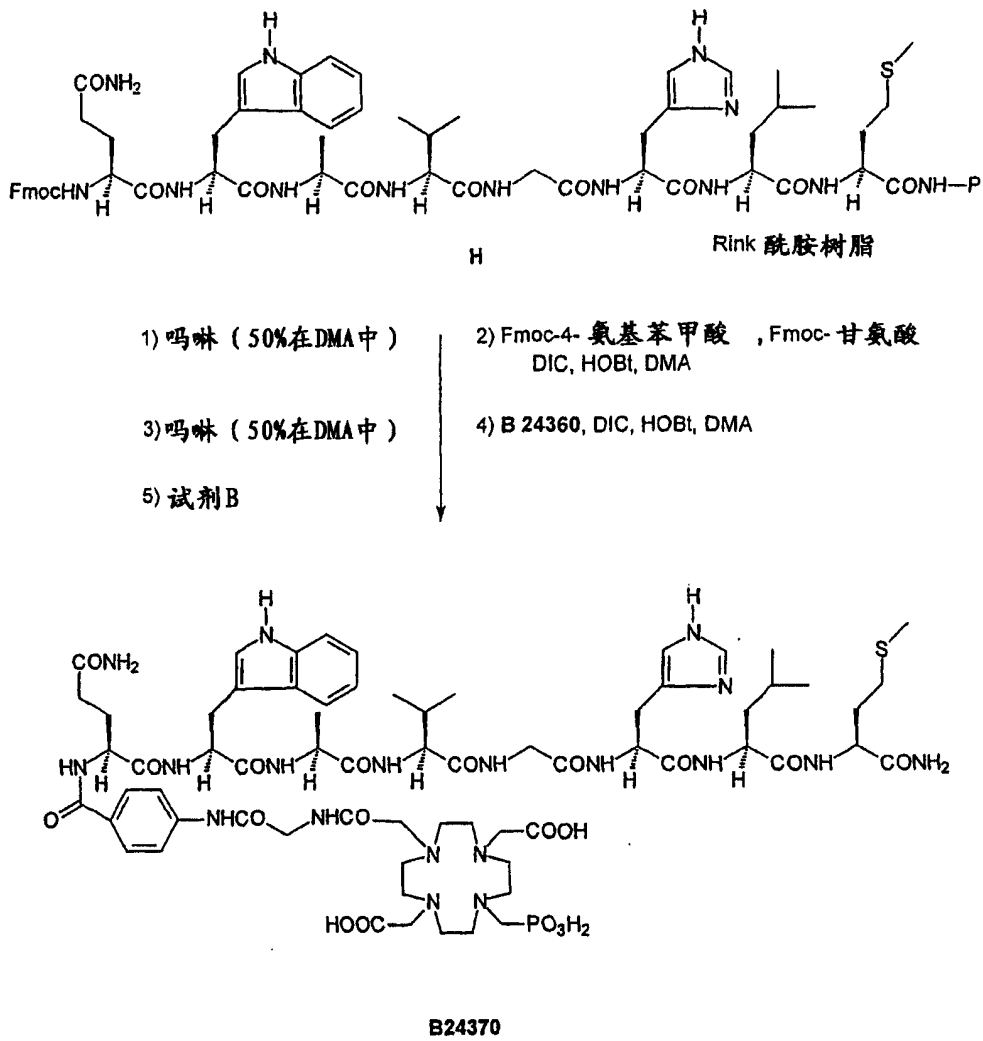
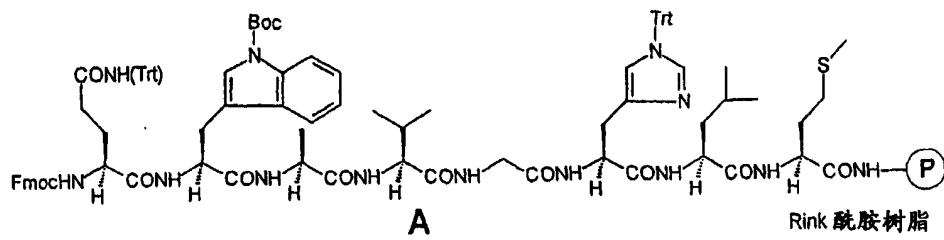
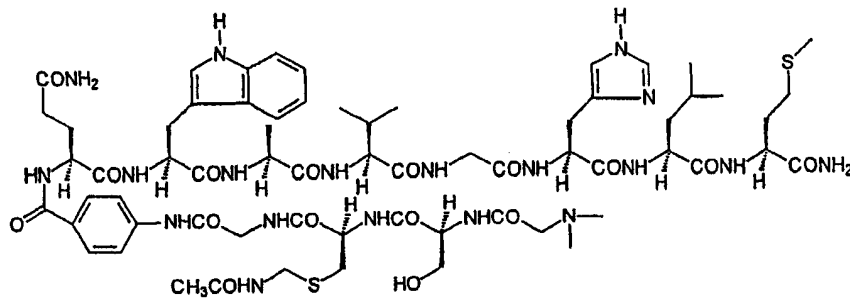


图10B

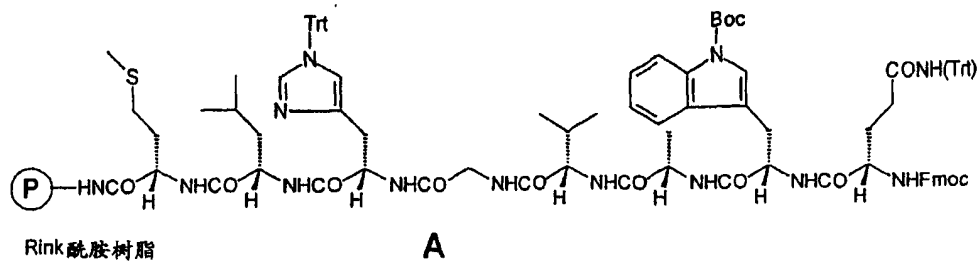


- 1) a
- 2) Fmoc-4-氨基苯甲酸, b 然后 a
- 3) Fmoc-Gly-OH, c 然后 a
- 4) Fmoc-Cys(Acm)-OH, b 然后 a
- 5) Fmoc-Ser(tBu)-OH, b 然后 a
- 6) N,N-Me₂Gly-OH, c 然后 d

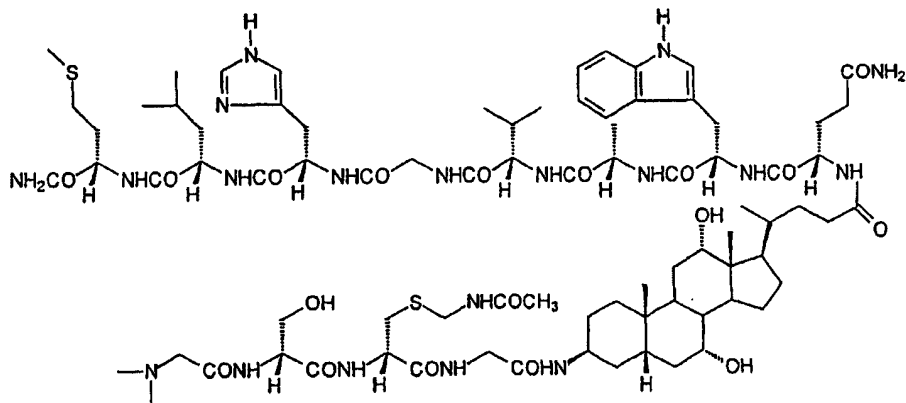


条件: a = 50% 吗啉在 DMAC 中, b = DIC, HOBT, DMAC; c = HATU, DIEA, DMAC;
d = 试剂 B

图 11A



- 1) a
 3) B, b 然后 a
 4) Fmoc-Cys(Acm)-OH, b 然后 a
 5) Fmoc-Ser(tBu)-OH, b 然后 a
 6) N,N-Me₂Gly-OH, c 然后 d



条件: a = 50% 吗啉在 DMAC 中; b = DIC, HOBT, DMAC; c = HATU, DIEA, DMAC;
 d = 试剂 B

图 11B

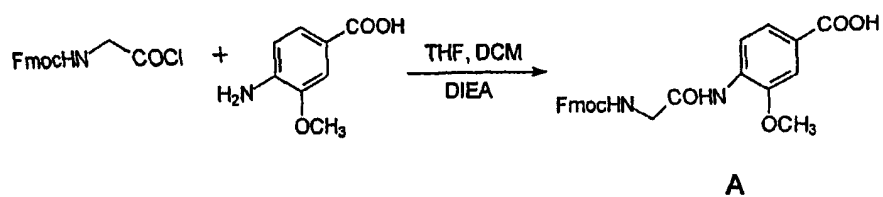


图 12A

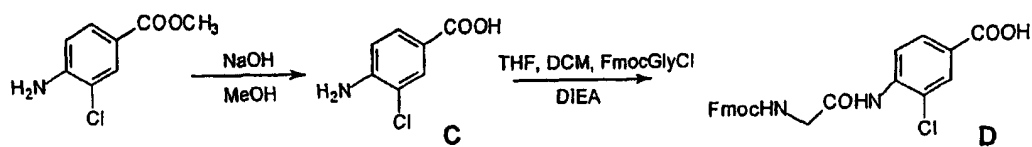


图 12B

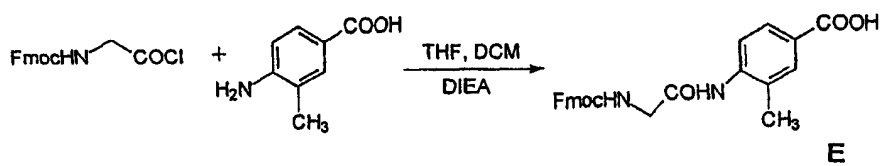


图 12C

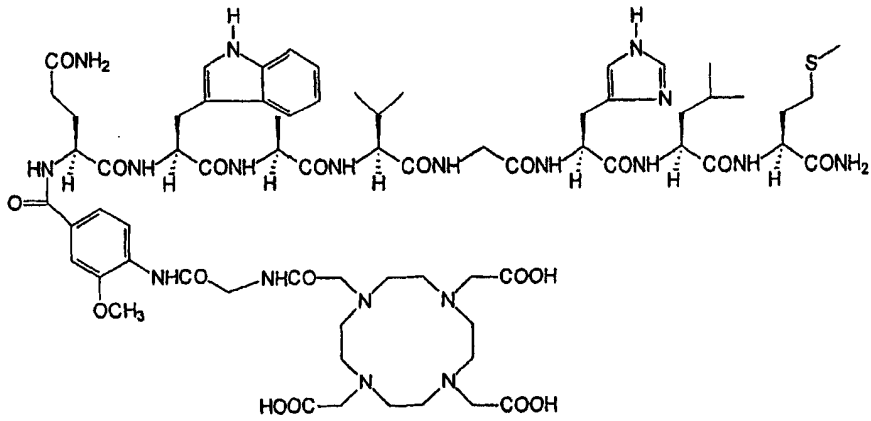


图 12D

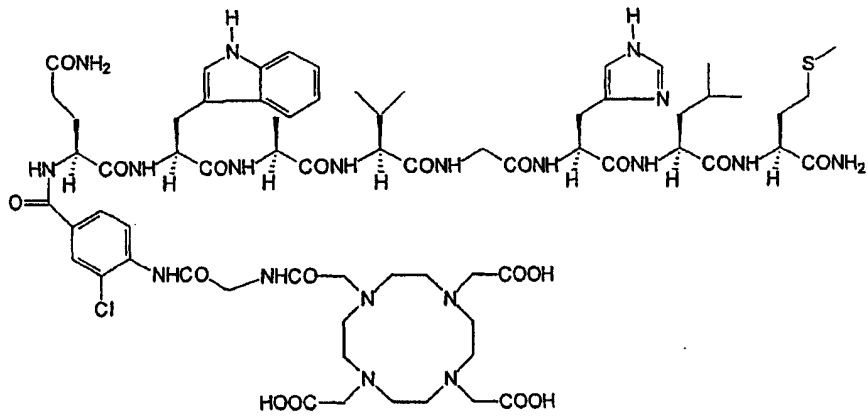


图 12E

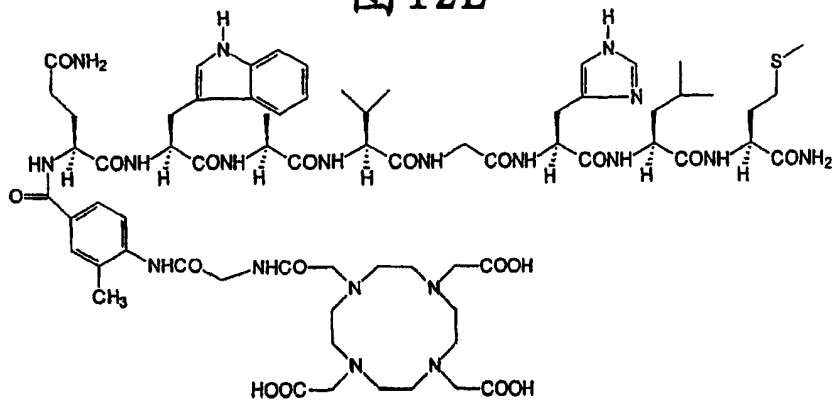


图 12F

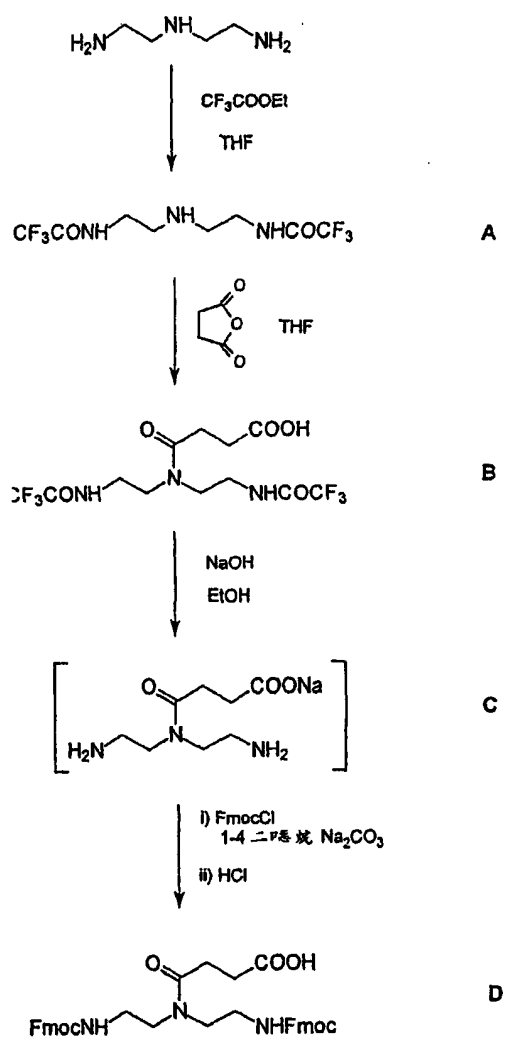


图 13A

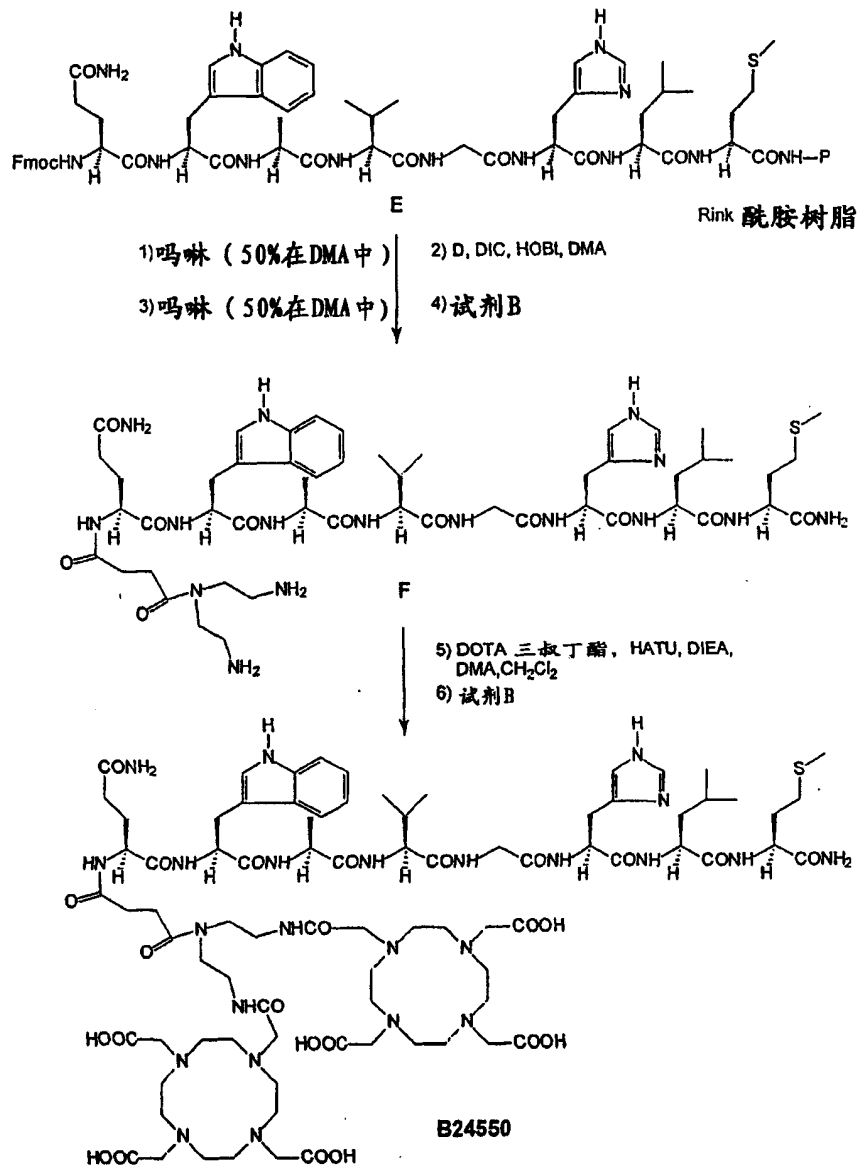


图13B

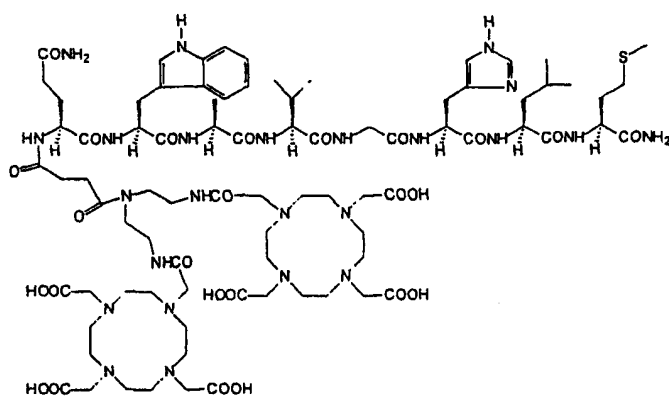


图 13C

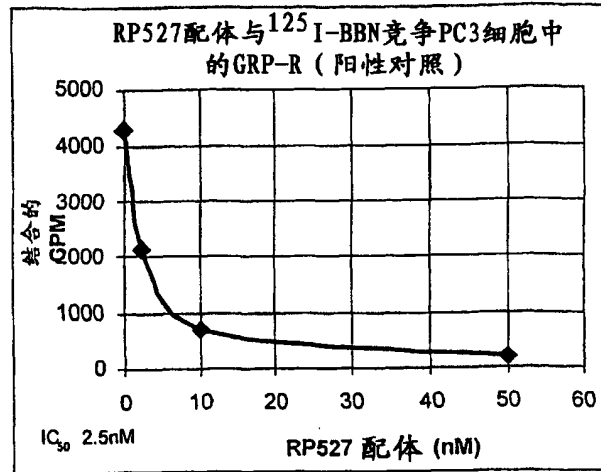


图 14A

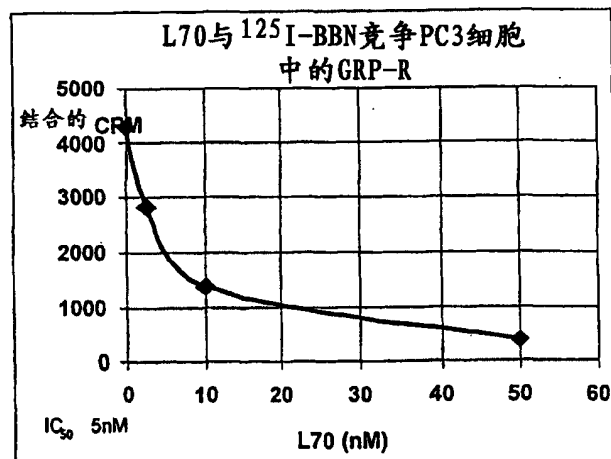


图 14B

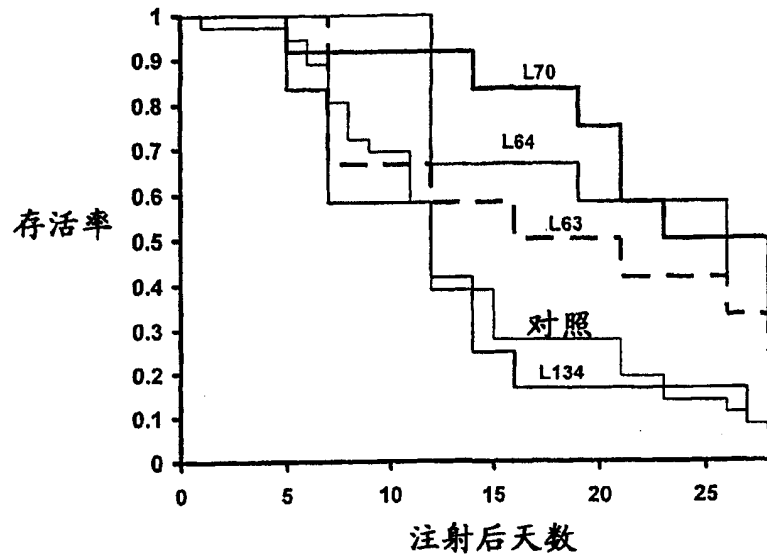


图15A

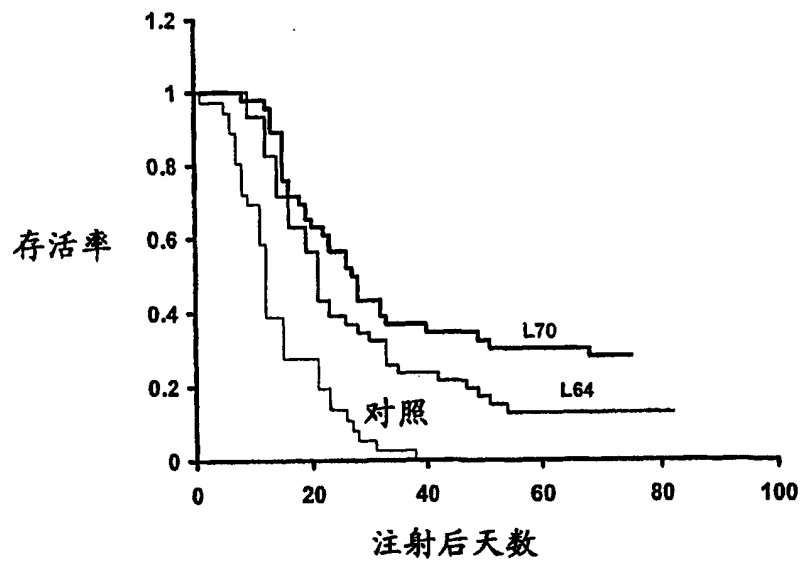
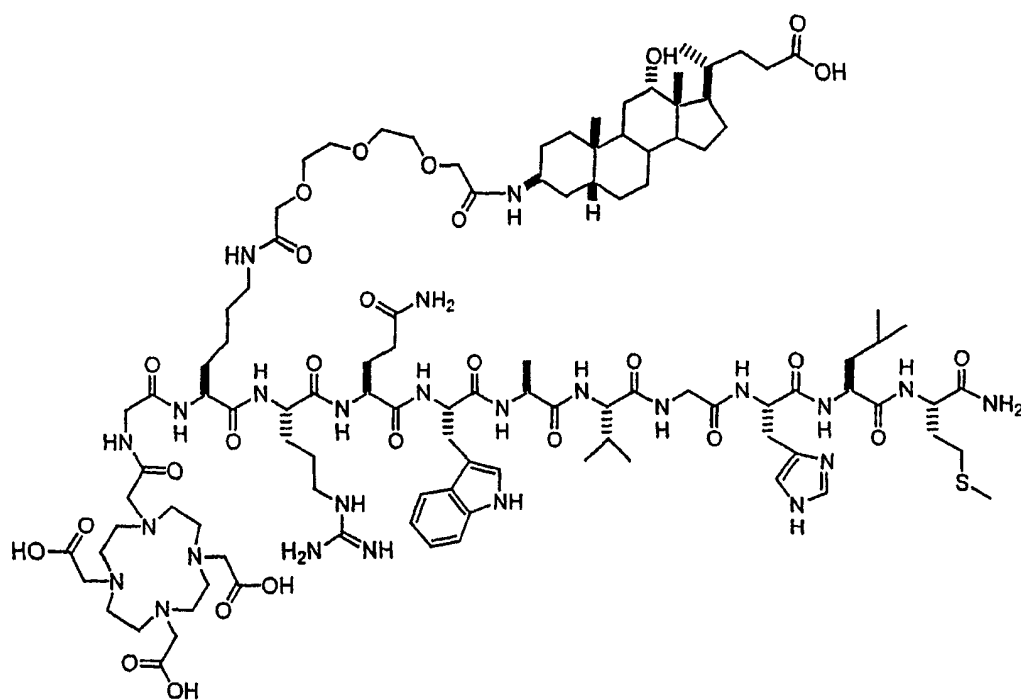
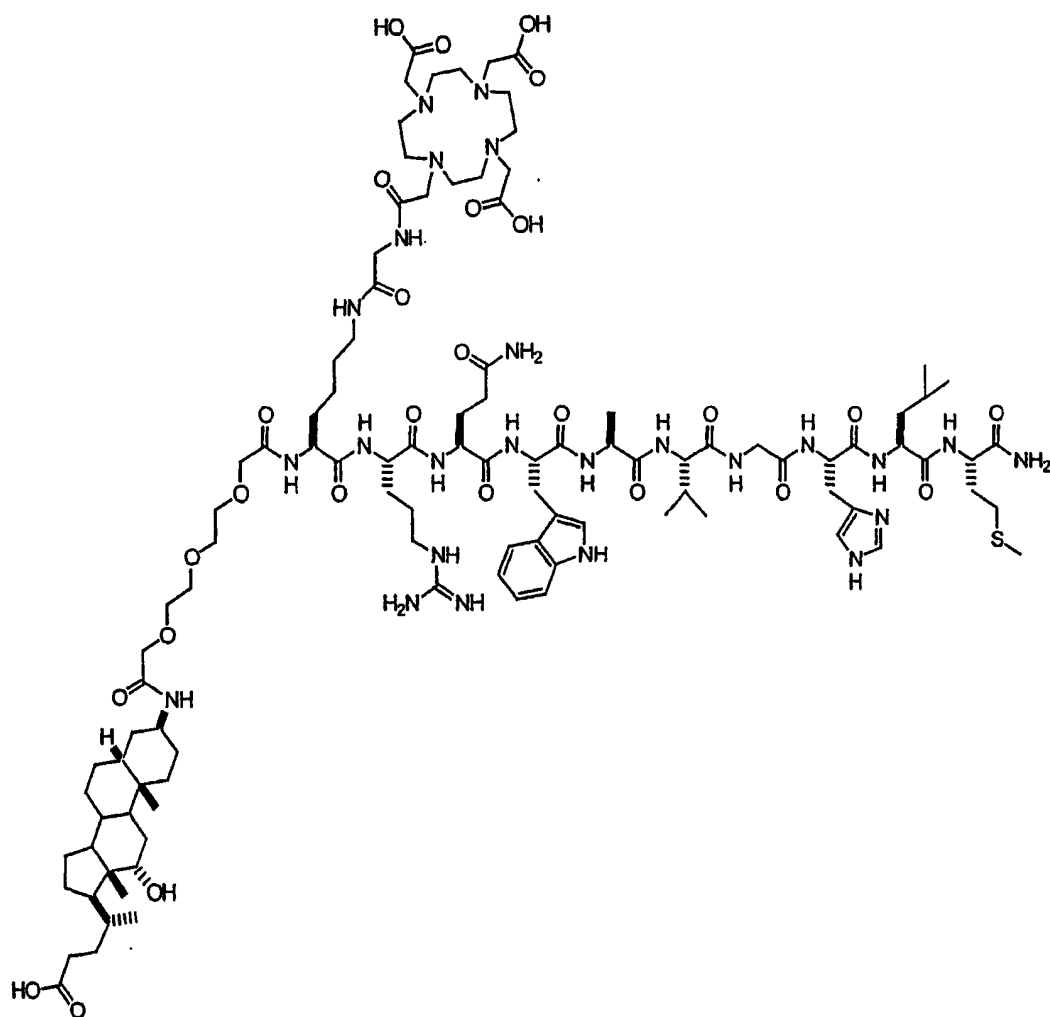


图15B



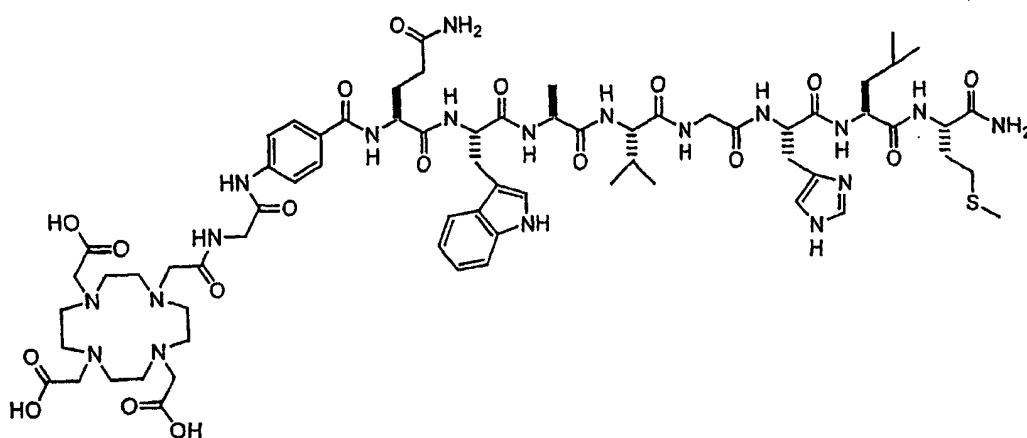
L65

图16



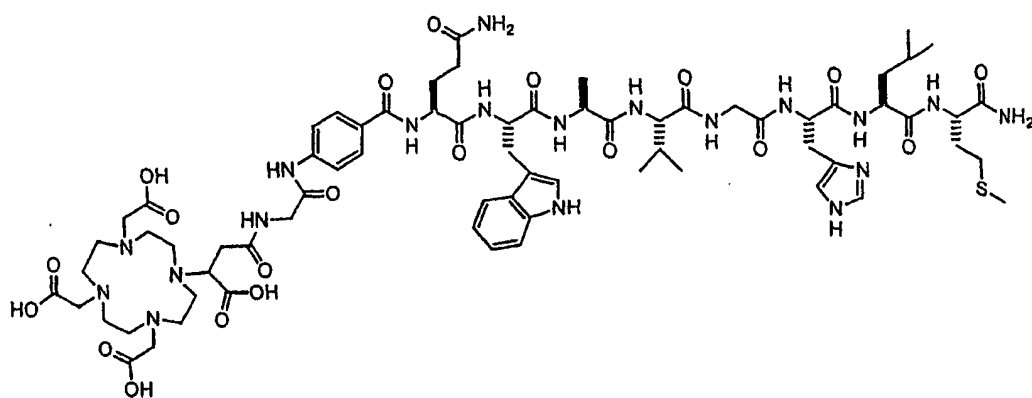
L66

图 17



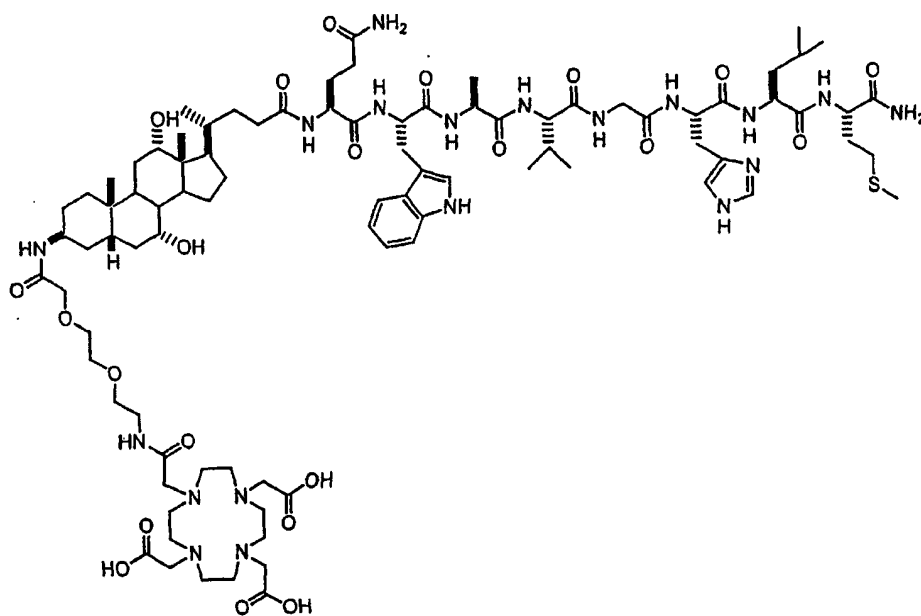
L70

图18A



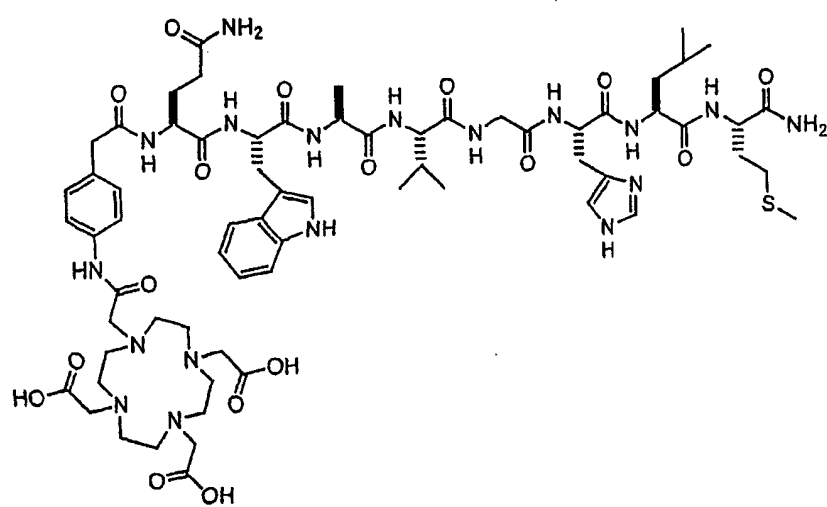
L114

图 18B



L69

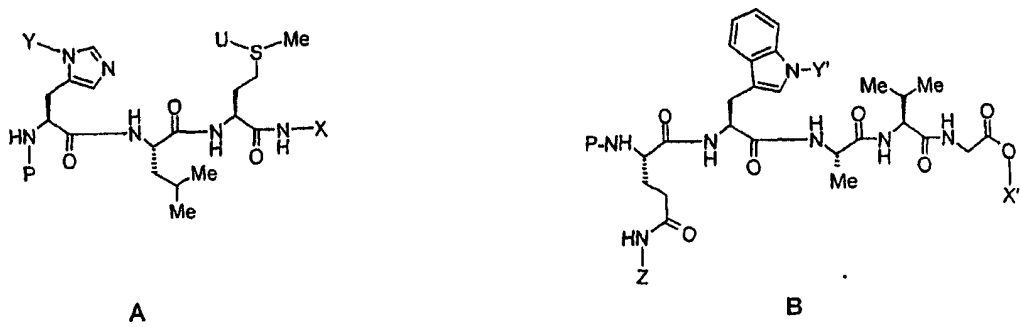
图 18D



L146

图 18E

图表1



X = H, Tmob, Xan, Trt
 U = →O或不存在
 Y = Trt, Bum, Boc, Cbz
 P = Fmoc, Boc, Alloc, H, Cbz

X' = H, t-Bu, Bz, 2-Cl-Trt, Me, Et
 Y' = CHO, Boc, H, 9-PhF, CBz
 Z = H, Xan, Tmob, Trt
 P' = Fmoc, Boc, Alloc, H, Cbz

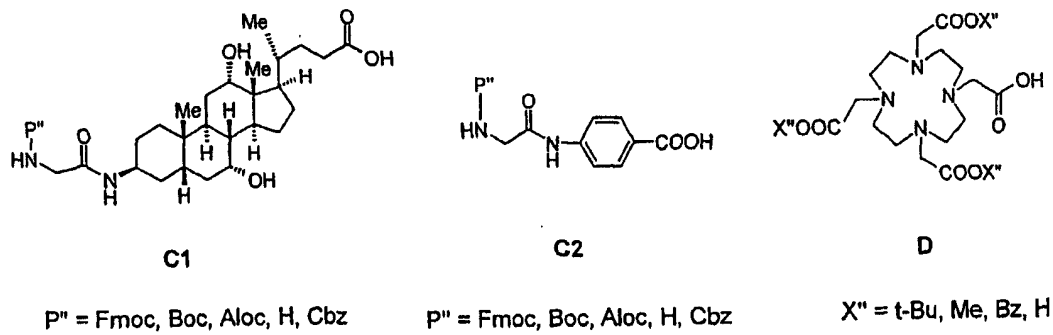


图19

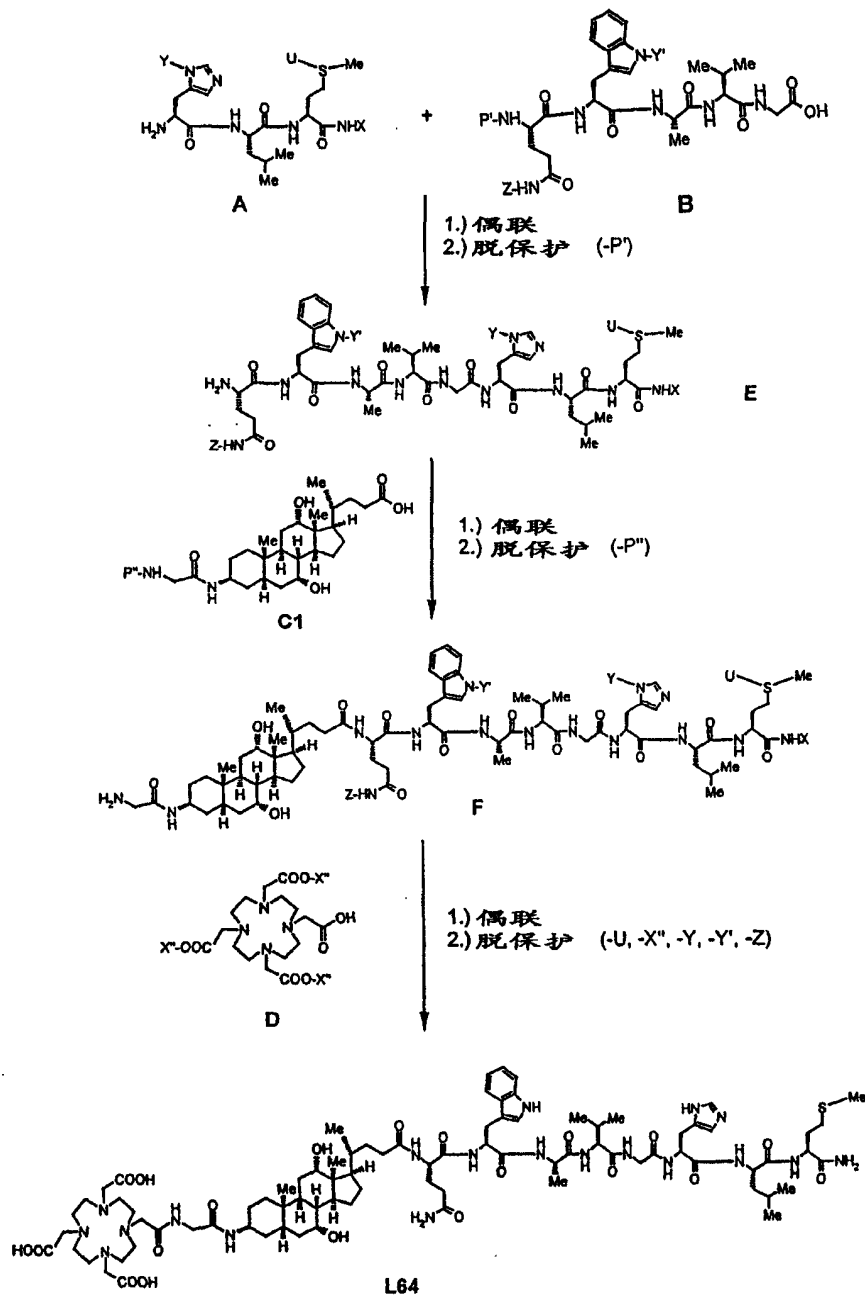


图 20