

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 51/08

[12] 发明专利说明书

//(A61K103: 10,123: 00)

[21] ZL 专利号 95194356.1

[45]授权公告日 2002年10月30日

[11]授权公告号 CN 1093424C

[22]申请日 1995.6.1 [21]申请号 95194356.1

[30]优先权

[32]1994.6.3 [33]US [31]08/253,973

[86]国际申请 PCT/US95/06914 1995.6.1

[87]国际公布 WO95/33497 英 1995.12.14

[85]进入国家阶段日期 1997.1.27

[73]专利权人 迪亚太德公司

地址 美国新罕布什尔州

[72]发明人 威廉·麦克布莱德 理查德·T·迪安

[56]参考文献

WO93/10747A 1993.6.10 A61K

WO93/10747A 1993.6.10 A61K

WO93/12819A 1993.7.8 A61K49/02

WO93/12819A 1993.7.8 A61K49/02

WO9529708 1995.11.9 A61K51/08

审查员 刘菊芳

[74]专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 黄益芬

权利要求书 10 页 说明书 38 页 附图 0 页

[54]发明名称 含单胺、联氨、硫羟基的金属螯合剂

[57]摘要

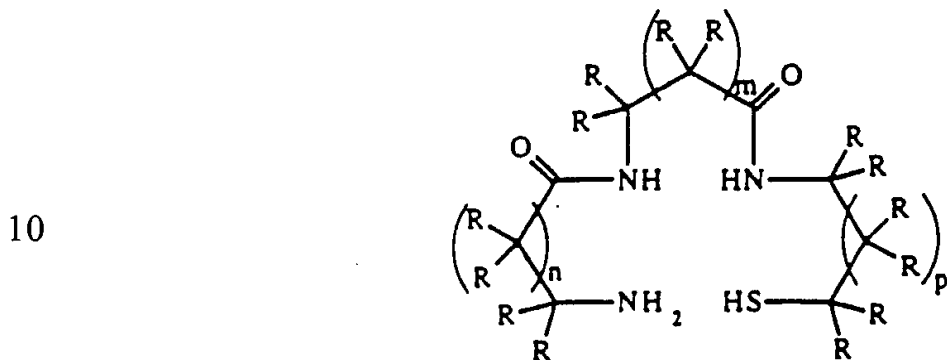
本发明涉及放射性药物以及制备和使用这些放射性药物的方法。本发明尤其涉及分别利用放射性标记的成像剂和放射性治疗剂使哺乳动物体内靶向部位成像和在这些部位发挥治疗作用的试剂和方法。本发明提供制备这些放射性标记的放射性诊断和放射性治疗剂的试剂以及该放射性标记的试剂本身作为放射性药物。本发明尤其提供这样的一些试剂,即它们包含共价连接到含单胺、联胺、硫羟基的金属螯合剂上的靶向分子。也提供制备这些试剂的方法,和使用由此制备的放射性药物的方法。

ISSN 1008-4274

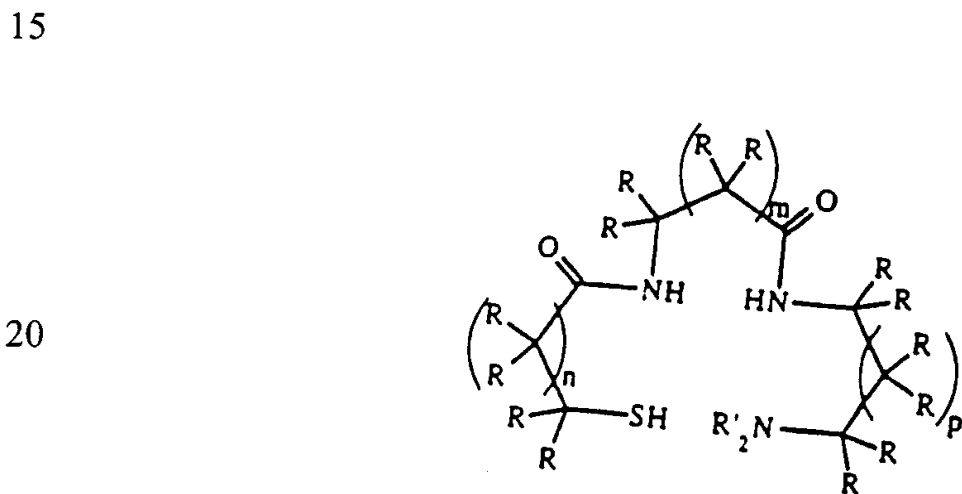
权 利 要 求 书

1、用于制备放射性药物的试剂，该试剂包含通过共价键连接到靶向部分上的含单胺、联氨、硫羟基的金属螯合剂，所述金属螯合剂选自下列基团：

5 (i)具有下式的基团：



和(ii)具有下式的基团：



其中：

25 n, m 和 p 各自为 0 或 1，

每个 R'各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C₂-C₄)、或烷氧基烷基(C₂-C₄)；

每个 R 各自为 H 或 R''，其中 R''是不含硫羟基的、取代或未取代的低级烷基或苯基，或-C(=O)X，其中 X 是 -NH₂、-NR¹R²、或 -NR¹-Y，其中

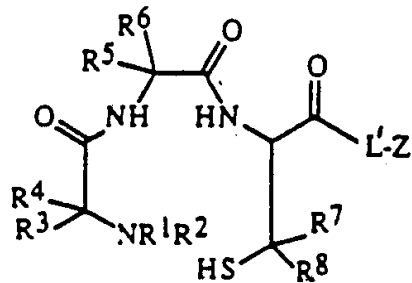
30 R¹和 R²各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C₂-C₄)或烷氧基烷基(C₂-C₄)，Y 为氨基酸、氨基酸酰胺、或 2 至大约 20 个氨基酸的肽；

条件是一个 R 或 R'为 L；以及

L 为将螯合剂连接到靶向部分上的二价连接基。

2、权利要求 1 的试剂，其中该试剂具有下式：

5



10

其中：

R^1 和 R^2 各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C_2-C_4)或烷氧基烷基(C_2-C_4)；
 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代低级烷基或苯基；

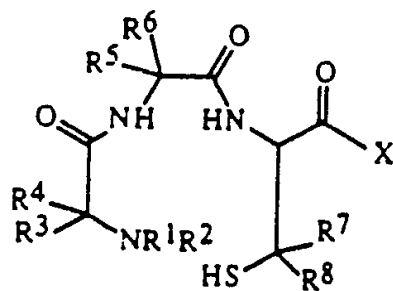
15 R^7 和 R^8 各自为 H、低级烷基、低级羟基烷基或低级烷氧基烷基；

L' 为二价键连接基 L 的其余部分；并且

Z 为靶向部分。

3、权利要求 1 的试剂，其中该试剂具有下式：

20



25

其中：

R^1 和 R^2 各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C_2-C_4)，或烷氧基烷基(C_2-C_4)；

30 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代低级烷基或苯基，并且 R^3 、 R^4 、 R^5 或 R^6 中的一个为 $\text{Z-L}'\text{-HN}(\text{CR}_2)_n\text{-}$ ，其中 n 为 1-6

的整数并且每个 R 各自为 H、低级烷基、或取代的低级烷基；

R^7 和 R^8 各自为 H、低级烷基、低级羟基烷基或低级烷氧基烷基；

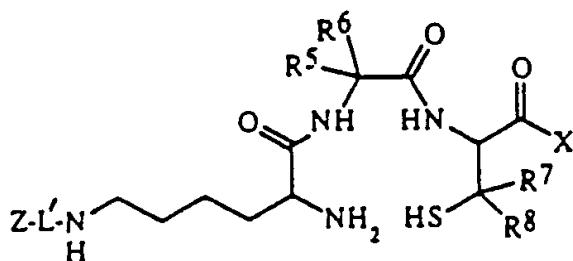
L' 为二价键连接基 L 的其余部分；

Z 为靶向部分；和

5 X 为 $-NH_2$ 、 $-NR^1R^2$ 、或 $-NR^1-Y$ ，其中 Y 为氨基酸、氨基酸酰胺、或 2 至大约 20 个氨基酸的肽。

4、权利要求 3 的试剂，其中该试剂具有下式：

10



15

其中：

R^7 和 R^8 各自为 H、低级烷基、羟基烷基 ($C_2 - C_4$) 或烷氧基烷基 ($C_2 - C_4$)；

R^5 和 R^6 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代的低级烷基或苯基；

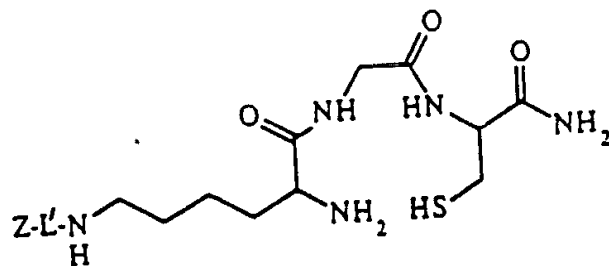
L' 为二价键连接基 L 的其余部分；和

20

Z 为靶向部分。

5、权利要求 4 的试剂，其中该试剂具有下式：

25



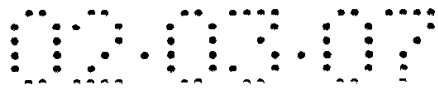
其中：

L' 为二价键连接基 L 的其余部分；和

30

Z 为靶向部分。

6、权利要求 1 的试剂，其中所述金属螯合剂选自下列这组：



- 半胱氨酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 异半胱氨酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 高半胱氨酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 青霉胺-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 5 2-巯基乙酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 2-或3-巯基丙酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);
- 2-巯基-2-甲基丙酸-(氨基酸)-(α , β -或 β , γ -二氨基酸);

其中:

(氨基酸)是不含硫羟基的 α -或 β -氨基酸; 并且

- 10 其中该螯合剂通过共价键用该螯合基的氨基端或含该螯合基的一个氨基酸基的侧链连接到靶向部分。

7、权利要求1的试剂, 其中螯合基团选自下列基团:

Gly - Gly - Cys -

Arg - Gly - Cys -

- 15 - (ϵ -Lys) - Gly - Cys -

- (δ -Orn) - Gly - Cys -

- (γ -Dab) - Gly - Cys - 和

- (β -Dap) - Gly - Cys - 。

- 8、权利要求1的试剂, 其中连接基L包含氨基酸或含2至大约20个氨基酸的肽。
- 20

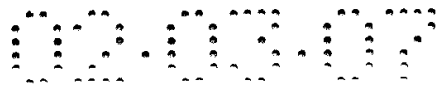
9、权利要求1的试剂, 其中靶向部分是包含大约3-45个氨基酸的特异结合肽。

10、权利要求9的试剂, 其中特异性结合肽结合到生长激素抑制素受体上。

- 25 11、权利要求9的试剂, 其中特异性结合肽结合到 GPIIb/IIIa 受体上。

12、权利要求9的试剂, 在下列这个组中选择:

(DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε-K)GCKK. 酰胺
 F_D.Cpa.YW_DK.Abu.Nal.T(ε-K)GC. 酰胺
 CH₃CO FFW_DKTEFC(ε-K)GC. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(ε-K)GC. 酰胺)
 GGCSIPPEVKFNKPFVYLI. 酰胺
 GGCSIPPEVKFNKPFVYLI
 GGCGLF
 RGCSIPPEVKFNKPFVYLI. 酰胺
 RGCQAPLYKKIHKLLLES
 RGCGRPLDKKREEAPSLRPAPPISGGYR. 酰胺
 GGCRPKPQQFFGLM. 酰胺
 AKCGGGF_DYW_DKTFT. 酰胺
 GGCFVYLI. 酰胺
 乙酰基 F_DFYW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 (DTPA).F_DFYW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 乙酰基.F_DFYW_DKTFTGGG(ε-K)GC. 酰胺
 (DTPA).(ε-K)GCF_DFYW_DKTFT. 酰胺
 乙酰基.F_DFYW_DKTFTGGG(ε-K)KC. 酰胺
 F_D.Cpa.YW_DKTFTGGG(ε-K)GC. 酰胺
 (DTPA).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 (DTPA).Aca.F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO K(ε-K)GC. 酰胺)
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 CH₃CO FFW_DKTECKKKKK(ε-K)GC. 酰胺
 CH₃CO FFW_DKTEFC(ε-K)KKKKKGC. 酰胺
 DDDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKKKK. 酰胺
 Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 (2- 酮古洛糖酰基).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKDKD. 酰胺
 乙酰基.KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 KKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCDDDD. 酰胺
 (2- 酮古洛糖酰基).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 Trc.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 Hca.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 (Trc)₂.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 K_DKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCDD. 酰胺
 K_DDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKDKD. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO KKKKK(ε-K)GC. 酰胺)
 乙酰基.KK(ε-K)GCGCGGPLYKKIHKLLLES
 F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCR. 酰胺
 (Trc-酰基).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCR. 酰胺
 Trc.(Trc-酰基).K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCRR. 酰胺



(Trc-酰基)₂K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCR.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(ε-K)GCK.酰胺)
 (乙酰基JKPRGG)₂K(ε-K)GC.酰胺
 乙酰基.DDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 K_DKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCDDD.酰胺
 D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 乙酰基.D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 K_DKKKF_DK.Cpa.YW_DKTF.Nal.(ε-K)GCDDDD.酰胺
 D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 乙酰基.D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 F_DFYW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDCGGC_{Acem}GC_{Acem}GGC.酰胺)₂(CH₃CO)₂K.(ε-K)GC.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDC)₂K.(ε-K)GCG.酰胺
 K_D.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCD.酰胺
 K_DK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCDD.酰胺
 {(CH₃COY_D.Apc.GDCG)₂KG}₂K.(ε-K)GCG.酰胺
 {(CH₃COY_D.Apc.GDCGGCG.酰胺)(CH₃CO)₂K.(ε-K)GC.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDCCKG)₂K.(ε-K)GC.β-Ala.酰胺
 ((CH₃COY_D.Apc.GDCGGC_{Acem}GC_{Acem}GGC.酰胺)(CH₃CO)₂K)₂K.(ε-K)GCG.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃COK(ε-K)KCK.酰胺)
 环(N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)KCR.酰胺)
 环(N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)KCK.酰胺)
 环(N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(δ-Orn)GCK.酰胺)
 环(N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)GCK.酰胺)
 环(N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(ε-K)GCKK.酰胺)
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO).K(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 AKCGGGF_DYW_DKTFT.酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε-K)GCKK.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO).(ε-K)GC.酰胺
 KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKDKD.酰胺
 (2- 胍基洛糖酰基)F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺
 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 {(CH₃COY_D.Apc.GDCGGC_{Acem}GC_{Acem}GGC.酰胺)₂(CH₃CO)₂K}₂K.(ε-K)GCG.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDCCKGCG.酰胺)₂(CH₃CO)₂K(ε-K)GC.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDCCKGG)₂K(ε-K)GC.β-Ala.酰胺
 {(CH₃COY_D.Apc.GDCG)₂KG}₂K(ε-K)GCG.酰胺
 (CH₃COY_D.Apc.GDCGGC_{Acem}GC_{Acem}GGC.酰胺)₂(CH₃CO)₂K(ε-K)GC.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO).(ε-K)GCK.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO)GC.Dap.Dap.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)KCR.酰胺)
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)KCK.酰胺)
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(γ-Dab)KCR.酰胺)
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(δ-Orn)GCK.酰胺)
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₃CO(β-Dap)GCK.酰胺)

乙酰基-KKKKKK(ϵ -K)GCGGPLYKKIIPKLLLES
(CH₂COY_D.Amp.GDC.KGCG.酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ϵ -K)GC.酰胺

和

(CH₂COY_D.Amp.GDC.GGC_{Acn}GC_{Acn}GGC.酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ϵ -K)GC.酰胺

5 13、权利要求 10 的试剂，在下列这个组中选择：

- (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ϵ -K)GCKK.酰胺
- F_D.Cpa.YW_DK.Abu.Nal.T(ϵ -K)GC.酰胺
- CH₂COFFW_DKTEC(ϵ -K)GC.酰胺：
- 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ϵ -K)GC.酰胺)
- AKCGGGF_DYW_DKTFT.酰胺
- 乙酰基-F_DFYW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- (DTPA).F_DFYW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- 乙酰基-F_DFYW_DKTFTGGG(ϵ -K)GC.酰胺
- (DTPA).(ϵ -K)GCF_DFYW_DKTFT.酰胺
- 乙酰基-F_DFYW_DKTFTGGG(ϵ -K)KC.酰胺
- F_D.Cpa.YW_DKTFTGGG(ϵ -K)GC.酰胺
- (DTPA).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- (DTPA).Aca.F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂COK(ϵ -K)GC.酰胺)
- (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- 乙酰基-KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- CH₂COFFW_DKTECKKKKK(ϵ -K)GC.酰胺
- CH₂COFFW_DKTEC(ϵ -K)KKKKKGC.酰胺
- DDDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKKKK.酰胺
- Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- (2-呋喃糖基).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC.酰胺
- KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKDKD.酰胺
- 乙酰基-KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- KKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDDDD.酰胺
- (2-呋喃糖基).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- Trc.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- Hca.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- (Trc)₂.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- K_DKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDD.酰胺
- K_DDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKDKD.酰胺
- 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂COKKKKK(ϵ -K)GC.酰胺)
- F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR.酰胺
- (Trc-酰基).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR.酰胺
- Trc.(Trc-酰基).K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR.酰胺
- (Trc-酰基)₂K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR.酰胺
- 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ϵ -K)GCK.酰胺)
- 乙酰基-DDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺
- K_DKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDDDD.酰胺
- D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK.酰胺

- 乙酰基-D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 K_DKKKF_D.K.Cpa.YW_DKTF.Nal.(ε-K)GCDDDD.酰胺
 D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 乙酰基-D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 F_DFYW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 5 K_D.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCD.酰胺
 K_DK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCDD.酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO K(ε-K)KCK.酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCR.酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCK.酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(δ-Orn)GCK.酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)GCK.酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ε-K)GCKK.酰胺)
 10 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO).K(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 AKCGGF_DYW_DKTFT.酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε-K)GCKK.酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO).(ε-K)GC.酰胺
 KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKDKD.酰胺
 (2-烟古洛糖酰基)F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺
 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK.酰胺
 15 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO).(ε-K)GCK.酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂COGC.Dap.Dap.酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCR.酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCK.酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(γ-Dab)KCR.酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(δ-Orn)GCK.酰胺)
 和
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)GCK.酰胺)。

14、权利要求 11 的试剂，在下列这个组中选择：

- 20 $\{(CH_2COY_D.Apc.GDCGGC_{Acm}GC_{Acm}GGC.酰胺)_2(CH_2CO)_2K\}_2.K(ε-K)GCG.酰胺$
 $(CH_2COY_D.Apc.GDCCKGGC.酰胺)_2(CH_2CO)_2K(ε-K)GC.酰胺$
 $(CH_2COY_D.Apc.GDCCKGG)_2K(ε-K)GC.β-Ala.酰胺$
 $\{(CH_2COY_D.Apc.GDCG)_2KG\}_2K(ε-K)GCG.酰胺$
 $(CH_2COY_D.Apc.GDCGGC_{Acm}GC_{Acm}GGC.酰胺)_2(CH_2CO)_2K(ε-K)GC.酰胺$
 $(CH_2COY_D.Amp.GDC.KGCG.酰胺)_2(CH_2CO)_2K(ε-K)GC.酰胺$
 和
 $(CH_2COY_D.Amp.GDC.GGC_{Acm}GC_{Acm}GGC.酰胺)_2(CH_2CO)_2K(ε-K)GC.酰胺$

25

15、用于使哺乳动物体内各部位成像的闪烁照相成像剂，它是用一种选自钨-99m和铜-64的放射性同位素放射性标记的权利要求 1、2、3、4、5、6、7、12、13 或 14 中的试剂。

16、制备用于使哺乳动物体内各部位成像的闪烁照相成像剂的方法，它包括在还原剂存在下，将权利要求 1 的试剂与钨-99m反应。

17、权利要求 16 的方法，其中还原剂为亚锡离子。

18、制备用于使哺乳动物体内各部位成像的闪烁照相成像剂的方法，它包括将权利要求 1 中的试剂与 Tc-99m 反应，其中 Tc-99m 为还原状态。

19、制备权利要求 1 的试剂的方法，其中该试剂通过固态肽合成法合成。

20、用于制备放射性药物制剂的试剂盒，所述试剂盒包括密封小瓶，瓶中有预先测量量权利要求 1 的试剂和足够用 Tc-99m 标记所述试剂量的还原剂。

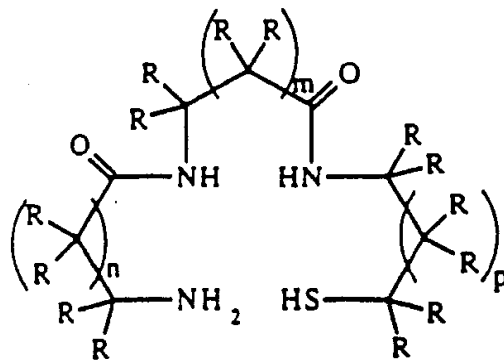
21、权利要求 15 的闪烁照相成像剂在制备用于使哺乳动物体靶向部位成像的药物中的应用。

22、一种放射性治疗剂，它包括用选自 Re-186, Re-188, Sn-117m 和 Cu-67 的一种放射性核素进行放射性标记的权利要求 1、2、3、4、5、6、7、12、13 或 14 的试剂。

23、含单胺、联氨、硫羟基的金属螯合剂的组合物，其中所述金属螯合剂选自：

(i) 具有下式结构的基团：

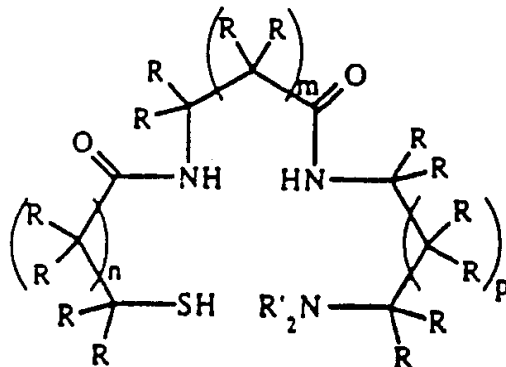
15



20

和 (ii) 具有下式结构的基团：

25



30

其中：

n, m 和 p 各自为 0 或 1,

每个 R'各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C₂-C₄)、或烷氧基烷基(C₂-C₄);

每个 R 各自为 H 或 R", 其中 R"是不含硫羟基的、取代或未取代的低级烷基或苯基, 或-C(=O)X, 其中 X 是 -NH₂、-NR¹R²、或 -NR¹-Y, 其中

5 R¹和 R²各自为 H、低级烷基、羟基烷基(C₂-C₄)或烷氧基烷基(C₂-C₄), Y 为氨基酸、氨基酸酰胺、或 2 至大约 20 个氨基酸的肽;

条件是一个 R 或 R'为 L; 以及

L 为将螯合剂连接到靶向部分上的二价连接基。

10 24、权利要求 23 的组合物, 其中金属螯合剂与选自镱-186、镱-188、铜-67 和锡-117 m 的金属配合。

25、权利要求 23 的组合物, 其中金属螯合剂与选自钐-99 m 和铜-64 的金属配合。

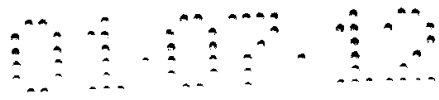
26、一种包含权利要求 24 的组合物的放射性药物。

27、一种包含权利要求 25 的组合物的放射性药物。

15 28、权利要求 22 的治疗剂在制备放射性治疗药物中的应用。

29、权利要求 24 的组合物在制备放射性药物中的应用。

30、权利要求 25 的组合物在制备放射性药物中的应用。



说明书

含单胺、联氨、硫羟基的金属螯合剂

5

发明背景

发明领域

本发明涉及制备放射性药物用试剂的物质组合物；利用所述试剂制备放射性药物的方法；由此制备的放射性药物；和使用该放射性药物的方法。具体地说，本发明涉及的该试剂，它们是含单胺、联氨、硫醇基(MADAT)的金属螯合剂，以及在所述金属螯合基团与各种特异性靶向部分之间形成的共轭物。本发明一方面提供放射性诊断剂，该放射性诊断剂包含与特异性靶向部分共轭的并用发射 γ 射线的放射性同位素放射性标记的金属螯合剂。另一方面也提供放射性治疗剂，该放射性治疗剂包含与特异性靶向部分共轭并用细胞毒性放射性同位素放射性标记的金属螯合剂。本发明提供包含本发明放射性药物和用于制备本发明放射性诊断剂和放射性治疗剂用的佐剂的试剂盒。也提供利用本发明试剂进行放射性诊断和放射性治疗的方法。

现有技术的说明

通常，在临床上如果能够用非侵害性方法来确定病人症状的病理部位，对于医生来说是有利的。该病理症状包括肺、心脏、肝脏、肾脏、骨和脑的疾病，也包括癌症、血栓形成、肺栓塞，感染，炎症和动脉粥样硬化。

在核医学领域中，通过测定少量内服的放射性标记的示踪物(称放射性示踪物或放射性药物)的分布，可从病理学上确定某些疾病的部位，或评定疾病的严重程度。检测这些放射性药物的方法称作成像或放射性成像法，这在现有技术中是已知的。

在放射性成像中，放射性标记物是发射 γ -射线的放射性核素并且通过使用 γ -射线的检测照相机来确定放射示踪物的部位(通常，该方法称作 γ 闪烁照相法)。成像的部位是能够检测的，因为所选择的放射性示踪物是特异性地定位在病理部位，或者不定位在该病理部位。在很多情况下，使用放射性标记的特异性结合化合物作为放射性药物是特别有效的，因为该特异性结合化合物在体内特异性地定位在病理部位。

已知可以使用各种放射性核素来进行放射性成像，它包括 ^{67}Ga 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Tc - 99 m)、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{125}I 和 ^{169}Yb 。然而，要获得最佳人体各部位成像，必须考虑许多因素。为了使检测功效达到最大，优选发射 γ - 射线能量在 100 - 200 KeV 的放射性核素。为了使病人尽可能少吸收射线，放射性核素应当是不发射 α 或 β 粒子射线，并且放射性核素的物理半衰期应尽可能地短，只要满足成像过程的需要即可。为了能在任何一天和该天的任何时间进行测定，最好可以在临床上随时获得放射性核素源。

Tc - 99 m 是闪烁照相法成像中优选的放射性核素，因为它不发射明显的颗粒性射线，而发射大约 140 KeV 的 γ 射线，其物理半衰期为 6 小时，并且通过使用钼 - 99/锝 - 99 m 发生器可随时随地获得。

在先前技术中所使用的其它放射性核素，其优点不如 Tc - 99 m。这可能因为这些放射性核素的物理半衰期较长，使得病人吸收较大量的射线(例如钷 - 111)。或者，因为这些放射性核素的 γ 射线能量明显低于(例如，碘 - 125)或高于(例如碘 - 131)Tc - 99 m 的能量，因此不适于定性闪烁照相成像。最后一个原因是能就地使用发生器，不会产生很多有害的放射性核素。

Tc - 99 m 是一种过渡金属，可以用金属螯合剂或金属螯合部分很好进行螯合。能够与 Tc - 99 m 结合的螯合部分通过共价键连接到各种靶向分子上，由此提供放射性标记这些靶分子的方法。这是因为，通常最容易获得的化学物种 Tc - 99 m，即高锝酸盐(TcO_4^-)，不能足够强地直接结合到大多数靶分子上来用作放射性药物。Tc - 99 m 与这些放射性标记的螯合部分的配合通常需要利用还原剂(如氯化亚锡)将高锝酸盐进行化学还原。

利用螯合剂与 Tc - 99 m 配合在现有技术中是已知的。

Byrne 等在美国专利 4,434,151 中描述了含 NiS_2 ，高半胱氨酸的 Tc - 99 m 螯合剂。

Fritzberg 在美国专利 4,444,690 中描述了一系列以 2,3 - 双(巯基乙酰氨基)丙酸盐为基础的二酰胺基，二硫醇锝螯合剂。

Byrne 等在美国专利 4,571,430 中描述了含 N_2S_2 ，高半胱氨酸的 Tc - 99 m 螯合剂。

Byrne 等在美国专利 4,575,556 中描述了含 N_2S_2 ，高半胱氨酸的 Tc - 99 m 螯合剂。

Nosco 等在美国专利号 4,925,650 中描述了 Tc - 99 m 配合物。

Kondo 等在欧洲专利申请公开号 483704 A1 中公开了制备 Tc - 99 m 与巯基 - Gly - Gly - Gly 部分配合物的方法。

欧洲专利申请号 841098 31.2 中描述了二酰氨基, 二硫醇 Tc - 99 m 配位体及其盐作为肾功能监测剂。

5 Burns 等 1985 年在欧洲专利申请号 85104959.3 中描述了用于制备 Tc - 99 m 标记的脑显影剂的二酰氨基, 二巯基化合物。

欧洲专利申请号 86100360.6 中描述了用于制备 Tc - 99 m 标记的显影剂的二硫醇, 二氨基或二氨基羧酸或胺配合物。

10 Kung 等在 1986 年欧洲专利申请号 86105920.2 中描述了用于制备小的, 中性 Tc - 99 m 脑显影剂的二氨基, 二巯基化合物。

Bergstein 等在 1988 年欧洲专利申请号 88102252.9 中描述了用于制备小的, 中性 Tc - 99 m 显影剂的二氨基, 二巯基化合物。

PCT 国际专利申请公开号 Wo 89/12625 中描述了用作肾功能监测剂的二酰氨基, 二巯基配位体及其盐的双功能配合物。

15 Davison 等在 1981 年 *Inorg. Chem.* 20: 1629 - 1632 中公开了氧钨螯合的复合物。

Fritzberg 等在 1982 *J. Nucl. Med.* 23: 592 - 598 中公开了以 N, N' - 双(巯基乙酰基) - 2, 3 - 二氨基丙酸盐为基础的 Tc - 99 m 螯合剂。

20 Byrne 等在 1983, *J. Nucl. Med.* 24: P126 中公开了含高半胱氨酸的 Tc - 99 m 螯合剂。

Bryson 等在 1988 *Inorg Chem* 27: 2154 - 2161 中描述了钨 - 99 m 中性配合物, 它对过量的配位体是不稳定的。

Misra 等在 1989 *Tet. Lett.* 30: 1885 - 1888 中描述了用于放射性标记的二胺, 二硫醇化合物。

25 Bryson 等在 1990 *Inorg. Chem* 29: 2948 - 2951 中描述了含两个酰胺基, 一个硫醇基和一个取代的吡啶基的螯合剂, 所述螯合剂形成中性 Tc - 99 m 配合物。

Taylor 等在 1990 *J. Nucl. Med.* 31: 885(Abst) 中描述了用于脑成像的 Tc - 99m 配合物。

30 用放射性同位素标记的靶分子现已被用作诊断和治疗目的的放射性药物。目前已开发了很多方法将放射性同位素用来标记靶分子。尤其重要的是

用于闪烁照相成像的该同位素锝和用于治疗目的铼和锡。到目前为止，已开发了很多螯合基来标记靶分子。

Hnatowich 在美国专利 4,668,503 中描述了 Tc - 99 m 蛋白质的放射性标记。

5 Tolman 在美国专利 4,732,684 中描述了靶分子和结合金属的蛋白质片段的共轭物，金属巯基组氨酸三甲盐(metullothionein)。

Ege 等在美国专利 4,832,940 中描述了用于将定位的 T 淋巴细胞进行成像的放射性标记的肽。

10 Nicolotti 等在美国专利 4,861,869 中描述了用于与生物分子(如抗体)形成共轭物的双功能偶联剂。

Fritzberg 等在美国专利 4,965,392 中描述了用于标记蛋白质的各种 S - 保护巯基乙酰基甘氨酸为基础的螯合剂。

Morgan 等在美国专利 4,986,979 中描述了用于成像炎症部位的方法。

15 Fritzberg 等在美国专利 5,091,514 中描述了用于标记蛋白质的各种 S - 保护巯基乙酰基甘氨酸为基础的螯合剂。

Gustavson 等在美国专利 5,112,953 中描述了用于放射性标记蛋白质的 Tc - 99 m 螯合剂。

Kasina 等在美国专利 5,175,257 中描述了靶分子与 Tc - 99 m 螯合基的各种组合。

20 Dean 等在美国专利 5,180,816 中描述了通过双功能螯合剂, 用 Tc - 99 m 放射性标记蛋白质的方法。

Flanagan 等在美国专利 5,248,764 中描述了放射性标记螯合部分与衍生心房钠因子的肽的共轭物。

25 Rono 和 Bottino 在欧洲专利申请 87300426.1 中公开了用 Tc - 99 m 放射性标记的抗体。

Ranby 等在 1988 , 国际专利申请号 PCT/US 88/02276 中公开了检测动物体中纤维蛋白沉积的方法, 它包括将放射性标记的化合物通过共价键结合到纤维蛋白上。

30 Dean 等在国际专利申请公开号 Wo 89/12625 中描述了 Tc - 99 m 标记蛋白质的双功能偶联剂。

Schoemakev 等在国际专利申请公开号 Wo 90/06323 中公开了包含金属

结合区的嵌合蛋白质。

Morgan 等在国际专利申请公开号 Wo 90/10463 中公开了炎症部位成像的方法。

5 Flanagan 等在欧洲专利申请号 90306428.5 中公开了通过一系列有机整合分子用 Tc - 99 m 标记合成的肽片段。

Gustavson 等在国际专利申请公开号 Wo 91/09876 中公开了放射性标记蛋白质的 Tc - 99 m 整合剂。

Rodwell 等在 1991 年国际专利申请号 PCT/US 91/03116 中公开了“分子识别单元”与“效应物域”的轭合物。

10 Cox 在国际专利申请号 PCT/US 92/04559 中公开了含两个半胱氨酸基的放射性标记生长激素抑制素衍生物。

Rhocles 等在国际专利申请公开号 Wo 93/12819 中描述了含有金属离子结合区的肽。

15 Lyle 等在国际专利申请公开号 Wo 93/15770 中公开了 Tc - 99 m 整合剂和用 Tc - 99 m 标记的肽。

Coughlin 等在国际专利申请公开号 Wo 93/21151 中公开了用于放射性标记靶分子的，含硫脲基的双功能整合剂。

Knight 等在 1990 , 37th Annual Meeting of the Socitg of Nuclear Medicine, Abstract #209 中，公开了用 Tc - 99 m 标记的肽进行血栓成像。

20 Babich 等在 1993 , J. Nucl. Med. 34: 1964 - 1974 中公开了含有胍基烟酰胺衍生物的 Tc - 99 m 标记的肽。

用于放射性标记靶分子的并经过深入研究的一些整合基团包括二酰胺二硫醇(diamide dithiel)(DADS), 也称 N_2S_2 整合剂, 和巯基乙酰基三甘氨酸(MAG₃), 也称 N_3S 整合剂。这些类型的整合基团都可以与锝形成稳定的整合剂, 并且该方法已发展为将这些整合剂连接到靶分子上。

25 Byrne 等在美国专利 4,434,151 中描述了 N_2S_2 , 含有 Tc - 99 m 整合剂的高半胱氨酸。

Fritzberg 在美国专利 4,444,690 中描述了以 2,3 - 双(巯基乙酰氨基)丙酸盐为基础的二酰胺, 二硫醇酸盐(bisthiolate)锝 - 整合剂。

30 Byrne 等在美国专利 4,571,430 中描述了 N_2S_2 , 含 Tc - 99 m 整合剂的高半胱氨酸。

Byrne 等在美国专利 4,575,556 中描述了 N_2S_2 ，含 Tc - 99m 螯合剂的高半胱氨酸。

Nosco 等在美国专利 4,925,650 中描述了 Tc - 99 m 螯合的配合物。

5 Kondo 等在欧洲专利申请公开号 483704 A1 中公开了用巯基 - Gly - Gly - Gly 部分制备 Tc - 99 m 配合物的方法。

欧洲专利申请号 84109831.2 中描述了二酰氨基 - 二巯基 Tc - 99 m 配位体及其盐作为肾功能监测剂。

Fritzberg 在欧洲专利申请号 853042255.4 中公开了铊的 N/S 配合物。

Fritzberg 等在欧洲专利申请号 88104755.9 中公开了 N/S 螯合剂。

10 Dauison 等在 1981, Inory, Chem 20: 1629 - 1632 中公开了氧化铊螯合物。

Fritzberg 等在 1982 J. Nucl. Med. 23: 592 - 598 中公开了以 N, N' - 双(巯基乙酰基) - 2, 3 - 二氨基丙酸盐为基础的铊螯合剂。

15 Byrne 等在 1983, J. Nucl. Med. 24: P126 中描述了 N_2S_2 型, 含 Tc - 99 m 螯合剂的高半胱氨酸。

通常, 这些方法要求将螯合物的溶液在 100 °C 下短时间(15 分钟)加热, 以便产生稳定的螯合物(例如见 Fritzberg 等在 1986 欧洲专利申请号 853042255.4)。由于很多靶分子如肽和碳水化合物对热不稳定, 产生降解和不活泼的副产品, 因此标记技术需要在较温和的(例如室温)条件下进行, 这样可避免常规的苛刻标记条件, 并且可在病人服药前, 在医院门诊部迅速完成。在临床上快速标记是尤其重要的, 因为很多病人由于其疾病发病紧急的特点, 要求迅速知道诊断资料。

所开发的另一类标记靶分子的螯合物为二胺二硫醇(称 BATs)。

25 Baidoo 等在美国专利 5,196,515 和 5,095,111 中公开了二胺二硫醇配合物。

Kung 等在欧洲专利申请号 86105920.2 中公开了二胺二硫醇配位体及其铊 - 99 m 配合物。

Misra 等在 1989 Tet. Lett 30: 1885 - 1888 中描述了用于放射性标记目的的二胺二硫醇化合物。

30 Baidoo 等在 1990, Bioconjugate Chem 1: 132 - 137 中描述了用二胺二硫醇标记生物分子的方法。



当与靶分子连接时，这些化合物是有用的，因为它们可以在室温下用得标记。这种温和的标记条件使得在化学上敏感的靶分子所受到的化学应力最小，因此产生较少的降解和更多的化学上的纯放射性标记的靶向化合物。然而，BAT 螯合剂也具有若干缺点。BAT 螯合剂的一个缺点是这些螯合物固有的高度亲脂性。该性质使得这些化合物过量地保留在外周血中，干扰有效地进行闪烁照相，因为在获得有用的诊断图像前必须将显影剂从外周血中清除以便减小背景的放射性。该缺点在测定含 BAT 螯合剂的闪烁照相显影剂是否是商业上适宜的产品方面是非常重要的。

BAT 螯合剂的另一缺点是要在化学上解决将该螯合剂共价结合到靶分子的问题是困难的。尽管已经获得 BAT 螯合剂与靶分子间成功的共价键合，但它通常是在生产昂贵的中间体过程中产生的，并且最终证明这是生产放射性药物中成本高的一种方法。

螯合剂在放射性标记肽中的应用，和用 Tc-99m 标记肽的方法是先前技术中已知的，并且公开于下列未决的美国专利申请中：07/653,012, 07/807,062, 07/871,282, 07/886,752, 07/893,981, 07/955,466, 08/019,864, 08/073,577, 08/210,822, 08/236,402 和 08/241,625。利用放射性标记的肽作为闪烁照相成像剂来使血栓成像是先前技术中已知的并且公开于未决的美国专利申请中：07/886,752, 07/893,981 和 08/044,825；以及国际专利申请中：PCT/US 92/00757, PCT/US 92/10716, PCT/US 93/02320, PCT/US 93/03687, PCT/US 93/04794, PCT/US 93/05372, PCT/US 93/06029, PCT/US 93/09387, PCT/US 94/01894, PCT/US 94/03878 和 PCT/US 94/05895。这些均已引入本发明的参考文献。

能够在温和条件下较容易地进行放射性标记以避免标记的生物靶分子发生化学和物理降解，这是目前诊断和治疗中需用的放射性药物。同时也需要那些容易合成的、中等亲脂性的并且可连接到靶分子上然后在室温下用 Tc-99m 迅速标记的低成本螯合基团。

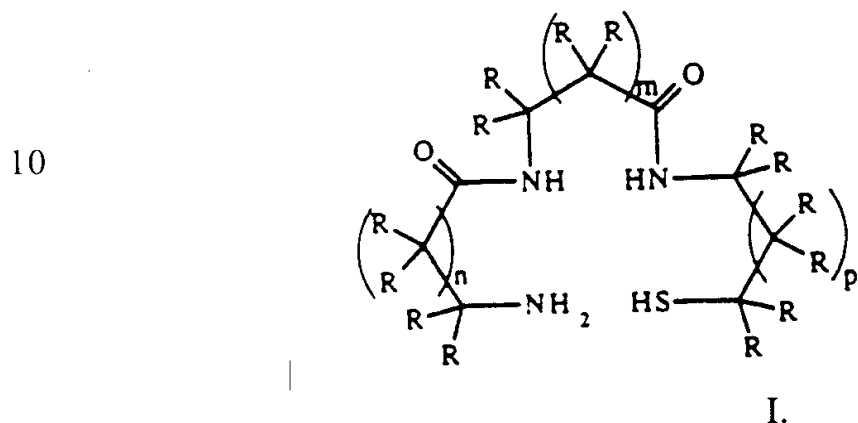
发明概要

本发明提供用于制备诊断和治疗用放射性药物的试剂。尤其是，本发明提供的试剂是含单胺、联氨、硫羟基的(MADAT)金属螯合剂。本发明也提供单酰胺、双酰胺、单硫羟基螯合剂和这些金属螯合剂与同位素钨-99m、铷

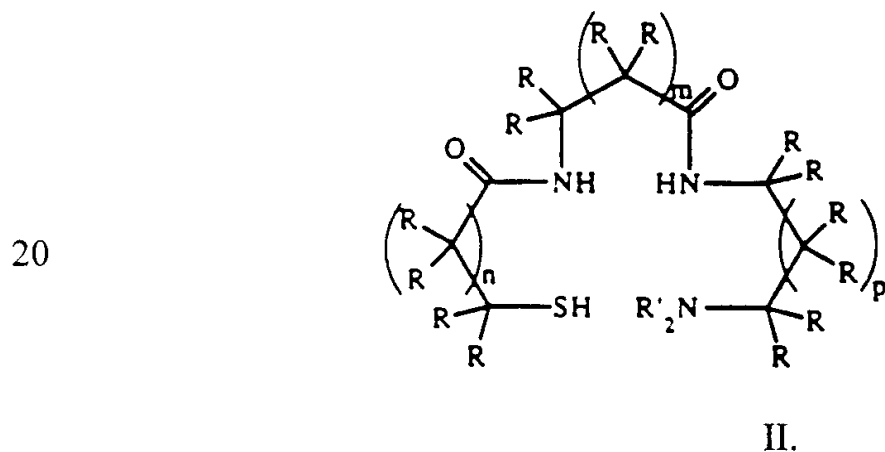
- 186、铷-188、锡-117m、铜-64和铜-67的配合物。也提供所述金属螯合基和各种特异性靶分子之间的共轭物。这些共轭物含有共价连接到特异性靶分子上的一种本发明的金属螯合基。这些放射性标记的共轭物包含本发明的放射性诊断剂和放射性治疗剂。

5 本发明提供放射性药物和制备该放射性药物用的试剂，它包含通过共价键连接到金属螯合剂上的靶向部分，所述金属螯合剂选自下列这组基团：

(i) 具有下式的基团：



15 (ii) 具有下式的基团：



25 其中 n, m 和 p 各自选自 0 或 1 的整数；每个 R' 各自为 H、低级烷基、C₂-C₄ 羟基烷基，或 C₂-C₄ 烷氧基烷基，并且每个 R 各自为 H 或 R''，其中 R'' 为不含硫羟基的取代或未取代低级烷基或苯基或 -C(=O)X，其中 X 是 -NH₂、-NR¹R²、或 -NR¹-Y，其中 R¹ 和 R² 各自为 H、低级烷基、羟基烷基 (C₂-C₄) 或烷氧基烷基 (C₂-C₄)，Y 为氨基酸、氨基酸酰胺、或 2 至大约 20 个氨基酸的肽；条件是一个 R 或 R' 为 L；以及 L 为将螯合剂连接到靶向部分

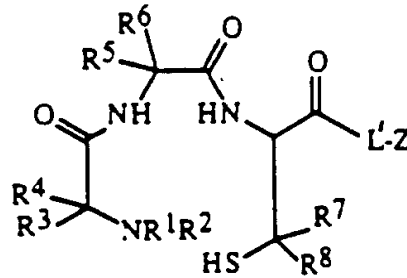
30 上的二价连接基。

在优选实例中，L 为 C₁-C₄ 直链、支链或环状的烷基、羧酸酯、羧酰胺、

磺酰胺、醚、硫醚、胺、链烯烃、链炔烃、1,2-、1,3-、或1,4-连接的取代或未取代的苯环或氨基酸或2至大约10个氨基酸的肽、或它们的组合。

在优选实施例中, R"为 C₁₋₆ 直链、支链或环烷基; -C_qO-C_r-、-C_qNH-C_r- 或 C_qS-C_r- 基、其中 q 和 r 各自为 1-5 的整数, 其中 q+r 总数不大于 6; (C₁-C₆) 烷基-x, 其中 x 为羟基、取代的胺、脒、脞、取代的巯基、或羧酸、酯、磷酸根或硫酸根基; 苯基或用卤、羟基、取代的胺、脒、脞、取代的巯基、醚、磷酸根、或硫酸根基取代的苯基; 吡啶基; 含 1-3 个氮、氧或硫原子的 C₁-C₆ 杂环基, 或它们的组合。

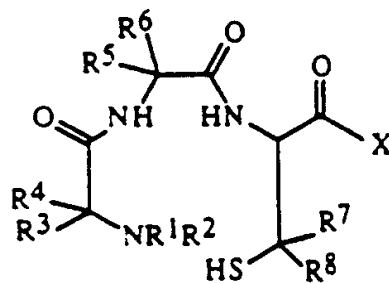
本发明优选的金属螯合剂包括具有下式的这些螯合剂:



III

其中 R¹ 和 R² 各自为 H、低级烷基、C₂-C₄ 羟基烷基、或 C₂-C₄ 烷氧基烷基; R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代的低级烷基或苯基; R⁷ 和 R⁸ 各自为 H、低级烷基、低级羟基烷基或低级烷氧基烷基; L' 为二价连接基 L 的其余部分并且 Z 为靶向部分。

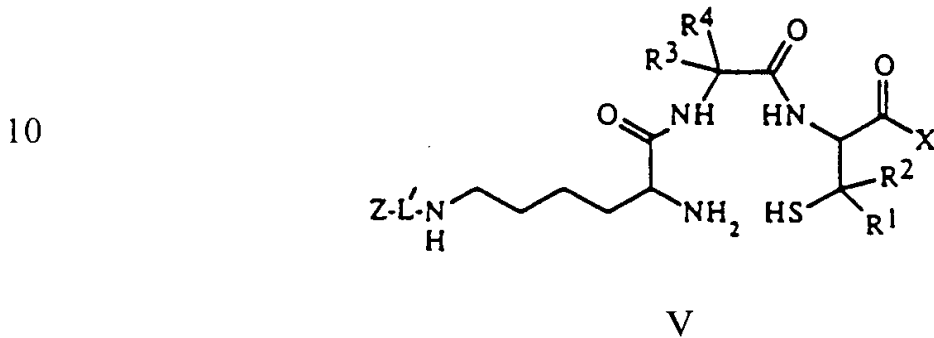
本发明其它优选的金属螯合剂包括下式的螯合剂:



IV

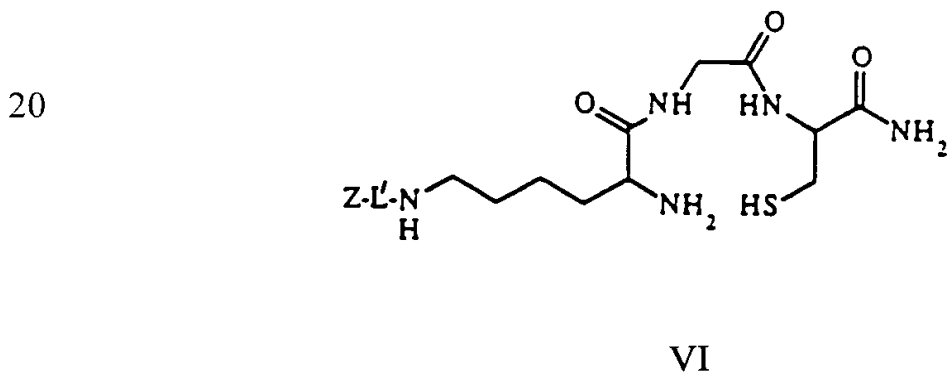
其中 R^1 和 R^2 各自为 H、低级烷基、 C_2-C_4 羟基烷基、或 C_2-C_4 烷氧基烷基；
 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代的低级烷基或苯基；
 并且 R^3 、 R^4 、 R^5 或 R^6 中的一个为 $Z-L'-HN(CH_2)_n-$ ，其中 L' 为二价键连接基 L 的其余部分， Z 为靶向部分，和 n 为 1-6 的整数； R^7 和 R^8 各自为 H、
 5 低级烷基、低级羟基烷基或低级烷氧基烷基；并且 x 为氨基、取代的氨基或 $-NR^1-Y$ ，其中 Y 为氨基酸、氨基酸酰胺、或含 2-10 个氨基酸的肽。

本发明更优选的金属螯合剂包括具有下式的螯合剂：



15 其中 R^1 和 R^2 各自为 H、低级烷基、低级羟基烷基、或低级链烯基烷基； R^3 和 R^4 各自为 H、不含硫羟基的取代或未取代的低级烷基或苯基； n 为 1-6 的整数； L' 为二价键连接基 L 的其余部分；以及 Z 为靶向部分。

其它更优选的金属螯合剂包括下式螯合剂：



25 其中 L' 为二价键连接基 L 的其余部分，以及 Z 为靶向部分。

本发明最优选的金属螯合剂包括具有下列通式的螯合剂：

- 30
- (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 半胱氨酸 - ，
 - (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 异半胱氨酸 - ，
 - (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 高半胱氨酸 - ，
 - (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 青霉胺 - ，

(氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 2 - 巯基乙胺 - ,
 (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 2 - 巯基丙胺 - ,
 (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 2 - 巯基 - 2 - 甲丙胺 - ,
 (氨基酸)¹ - (氨基酸)² - 3 - 巯基丙胺 - ,

5 其中(氨基酸)不含硫羟基的初级 α - 或 β - 氨基酸, 其中该整合剂是通过共价键, 利用整合剂的羧基端或在一个氨基酸基团上的侧链, 将整合剂连接到靶向部分或连接基上。

最优的整合剂也包括上式的整合剂, 其中(氨基酸)¹ 是 α , ω - 或 β , ω - 氨基酸, 其中, α - 或 β - 氨基是游离的胺并且通过 ω 氨基, 将 α , ω - 或 β , ω - 氨基酸共价连接。

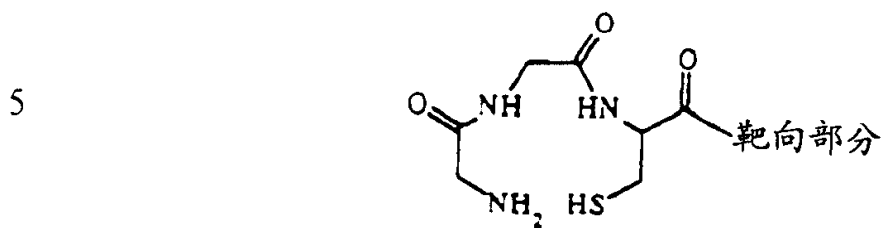
其它最优的金属整合剂包括那些选自下列基团的整合剂:

- 半胱氨酸 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 异半胱氨酸 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 高半胱氨酸 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 15 - 青霉胺 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 2 - 巯基乙酸(氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 2 - 或 3 - 巯基丙酸 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);
- 2 - 巯基 - 2 - 甲基丙酸 - (氨基酸) - (α , β - 或 β , γ - 二氨基酸);

20 其中(氨基酸)为不含硫羟基的初级 α - 或 β - 氨基酸, 并且其中通过共价键, 利用整合剂的氨基端或在一个氨基酸基团上的侧链, 将整合剂连接到靶向部分或连接基上。

特别优选的金属整合剂选自以下这一组: Gly - Gly - Gys -、Arg - Gly - Cys -、(ϵ - Lys) - Gly - Cys -、-(δ - Orn) - Gly - Cys -、-(γ - Dab) - Gly - Cys -、和 -(β - Dap) - Gly - Cys -。(在这些式子中, 应该知道, ϵ - Lys 代表赖氨酸残基, 其中 ϵ - 氨基而不是典型的 α - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键; δ - Orn 代表鸟氨酸残基, 其中 δ - 氨基而不是典型的 α - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键; γ - Dab 代表 2, 4 - 二氨基丁酸残基, 其中 γ - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键; 并且 β - Dap 代表 1, 3 - 二氨基丙酸残基, 其中 β - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键。)

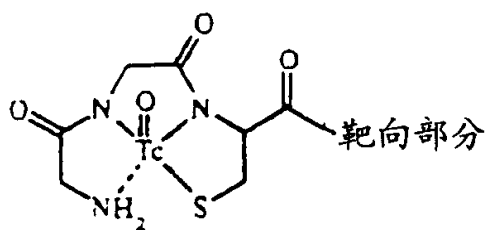
具有上述式 III 结构优选的金属整合剂的实例为整合剂 Gly - Gly - Cys
-，它形成的金属整合部分具有结构：



VII.

10

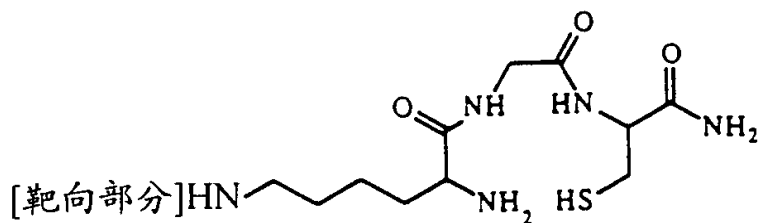
具有式 VII 结构的整合配位体形成的氧钨配合物具有结构：



VIII.

具有上述式 V 结构的更优选金属螯合剂的实例为 Lys - (ω - 肽) - Gly - Cys.酰胺, 它形成金属螯合部分的结构为:

5

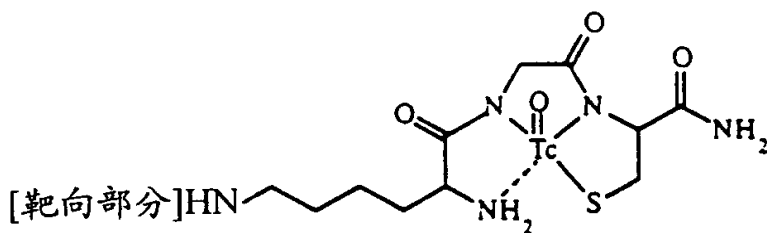


IX.

10

具有式 IX 结构的螯合剂配位体形成具有下列结构的氧锝配合物:

15

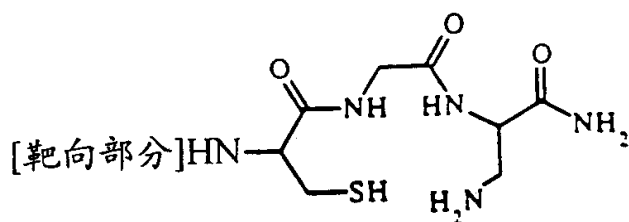


X.

20

制备本发明提供的放射性药物的试剂包含上述式 II 结构的金属螯合基, 其实例为(靶向部分) - Cys - Gly - α , β - 二氨基丙酰胺, 它形成的金属螯合部分的结构为:

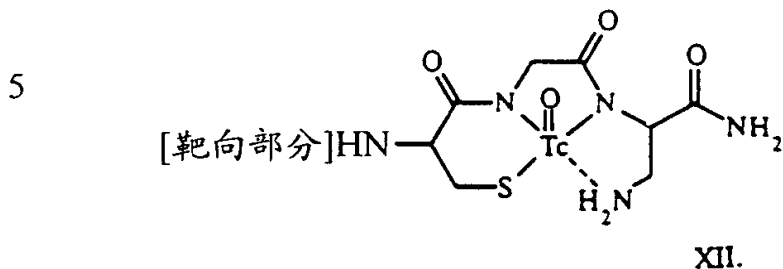
25



XI.

30

具有式 XI 结构的放射性诊断剂形成具有下列结构的氧钽配合物:



10 本发明也提供不是共价连接到靶分子的本发明每种金属整合剂本身作为放射性药物。本发明这些实例用适宜的放射性同位素标记后可用作放射性诊断和放射性治疗剂，并作为放射性药物用于许多放射性诊断和放射性治疗中，例如肾脏，肝脏和脑的成像。

15 本发明提供的放射性药物包含靶向部分，该靶向部分为单克隆抗体、肽、受体结合分子、粘着分子、酶底物、酶抑制剂、碳水化合物、低聚核苷酸、低聚核苷和通常与活生物体的某些组成具有亲和力的任一化学单位。靶向部分的实例包括由鼠、人或嵌合的人-鼠单克隆抗体上获得的免疫球蛋白， $F(ab')_2$ 片段或 Fab 或 Fab' 片段、生长激素抑制素受体结合肽、糖蛋白 IIb/IIIa 结合肽、动脉硬化斑结合肽、血小板因子 4 衍生的肽、受体结合分子、粘着分子、酶底物、酶抑制剂和碳水化合物。

20 本发明放射性药物和制备这些放射性药物的试剂可配制成其中靶向部分或金属整合剂或它们两者都是共价连接到多价连接基部分。本发明多价连接基部分至少含 2 个相同的连接体基团能共价连接到靶向部分或金属整合剂上。多价连接基部分由前体试剂来形成，该试剂中每个连接基部分都包含能够与靶向部分或金属整合剂或它们两者反应的连接体官能团。优选的连接体官能团为伯或仲胺、羟基、羧酸基或硫醇反应基如马来酰亚胺和 2-卤代乙酰基。在优选实例中，多价连接基部分包含双-琥珀酰亚胺基-甲醚
25 (BSME)、4-(2,2-二甲基乙酰基)苯甲酸(DMAB)、三(琥珀酰亚胺基乙基)胺(TSEA)、三(乙酰氨基乙基)胺、双-乙酰氨基甲基醚、双-乙酰氨基乙基醚、 α, ϵ -双-乙酰基赖氨酸、赖氨酸和 1,8-双-乙酰氨基-3,6-二
30 氧杂-辛烷。

本发明提供作为放射性诊断剂的闪烁照相成像剂，它包含本发明金属整



合基/靶向部分螯合物的 Tc-99m 配合物。也提供放射性标记这些化合物的方法。本发明提供的放射性标记配合物是通过在还原剂存在下将本发明螯合物试剂与 Tc-99m 反应来制备的。优选的还原剂包括但不限于连二亚硫酸根离子、亚锡离子和亚铁离子。也可以通过与本发明提供的预先还原的 Tc-99m 配合物进行配位体交换，用 Tc-99m 标记本发明螯合物试剂来制备本发明配合物。

本发明也提供用于制备 Tc-99m 标记的本发明放射性药物的试剂盒。对本发明共轭的试剂进行 Tc-99m 标记的试剂盒包括一个含有预先测定量的本发明共轭试剂和用 Tc-99m 标记试剂时足够量的还原剂的密封容器(例如小瓶或注射器)。

本发明提供的方法是通过体外化学合成来生产本发明金属螯合剂、金属螯合剂/靶向部分共轭试剂和放射性药物的方法。在优选实例中，通过固相肽合成法来合成这些化合物。

本发明也提供使用本发明放射性诊断和放射性治疗剂的方法。在一个实施方案中，提供本发明闪烁照相成像剂，它是 Tc-99m 标记的放射性药物，它通过获得体内 γ 闪烁照相图像来使哺乳动物体内某些部位成像。这些方法包括给予有效诊断剂量的本发明 Tc-99m 放射性标记的放射性诊断用共轭物试剂，并检测由定位在哺乳动物体内某部位的 Tc-99m 所发射的 γ 射线。

在另一方面，本发明提供放射性治疗剂，它们是 Re-186, Re-188, Sn-117m 或 Cu-67 标记的放射性药物，用于将细胞毒性量的这些同位素定位在体内病理部位。这些方法包括给予有效治疗量的本发明放射性标记的放射性治疗用共轭物试剂，并使得所述放射性药物定位在适宜的病理部位，由此通过在那些部位的细胞毒性作用而发挥治疗作用。

通过对下列某些优选实施方案更详细的说明和权利要求，使本发明特别优选的实施方案变得更清楚。

优选实施方案的详细说明

本发明提供含单胺、联氨和硫醇(MADAT)的金属螯合剂和这些螯合剂与放射性同位素，包括锝-99m, 铼-186, 铼-188, 锡-117, 铜-64 和铜-67 配合的实施方案。本发明提供包括放射性诊断剂和放射性治疗剂的放射性药物，它们是与适于诊断和治疗用的放射性同位素配合的本发明金属螯合剂。本发明也提供制备所述金属螯合剂的方法；用放射性同位素配合所述金



属螯合剂的方法；和使用这些金属螯合剂作为放射性药物的方法。

5 本发明也提供共价连接到靶向部分的含单胺、联氨、硫醇的金属螯合剂，用于制备能结合到或在哺乳动物体某些部位蓄积的放射性药物。在本发明该方面的某些实施方案中，该金属螯合剂和靶向部分通过共价键直接进行化学连接。在其它实施方案中，该金属螯合剂和靶向部分是通过连接体连接起来的，在某些实施方案中所述连接体包含氨基酸或肽。本发明也提供金属螯合物/靶向部分与放射同位素的共轭物的配合物，该同位素包括锝-99m，铈-186，铈-188，锡-117m，铜-64和铜-67。本发明提供包括放射性诊断剂和放射性治疗剂的放射性药物，它们是与适于诊断和治疗用的放射性同位素配合的本发明金属螯合剂/靶向部分共轭物。本发明也提供制备所述共轭物的方法，用放射性同位素配合所述共轭物的方法和使用这些共轭物作为放射性药物的方法。

15 因此，本发明提供放射性药物，它包含与放射性同位素配合的本发明金属螯合剂/靶向部分共轭物。一方面，本发明提供放射性诊断剂，它包括用于使哺乳动物体靶向部位成像的闪烁照相成像剂，其中放射性药物包含 Tc-99m 的金属螯合剂。另一方面，本发明提供放射性治疗剂，用于将细胞毒性量的放射性同位素(如 Re-186, Re-188, Sn-117m, Cu-64 和 Cu-67)直接导向哺乳动物体的病理部位。

20 在放射性诊断剂，如本发明提供的闪烁照相成像剂中，用 Tc-99m 标记是有效的，因为该同位素的原子核和放射性使它成为理想的闪烁照相成像剂。该同位素一个光子的能量为 140 KeV，放射性半衰期大约为 6 小时，容易从 $^{99}\text{Mo} - ^{99\text{m}}\text{Tc}$ 发生器中获得。

25 就本发明目的而言，术语“靶向部分”是指结合到哺乳动物体内靶部位或在其中蓄积的任何化合物，即该化合物定位在靶部位到周围组织之间的一个较大范围。这在本发明放射性诊断的实施方案中是有利的，因为给药后，包含靶向部分的闪烁照相成像剂在哺乳动物体内的分布提供了可见的体内靶向部位。这对本发明放射性治疗是有利的，因为由此将放射性细胞毒性试剂定位在病理部位，同时使体内非特异性系统毒性减至最小。

30 本发明提供的包含靶向部分的放射性药物和制备它们的试剂是单克隆抗体、肽、受体结合分子、粘着分子、酶底物、酶抑制剂、碳水化合物、低聚核苷酸、低聚核苷和通常与活生物体的某些组分具有亲和力的任何化学单

位。靶向部分的实例包括由鼠、人或嵌合的人-鼠单克隆抗体上获得的免疫球蛋白、F(ab')₂片段或Fab或Fab'片段；生长激素抑制素受体结合肽如环(N-CH₃)-Phe-Tyr-(D-Trp)-Lys-Val-Hcy-；糖蛋白IIb/IIIa结合肽如CH₂CO.(D-Tyr)-Amp-Gly-Asp-Cys-Lys-Gly-Cys-5-Gly.酰胺；动脉粥样硬化斑结合肽如Arg-Ala-Leu-Val-Asp-Thr-Leu-Lys-Phe-Val-Thr-Gln-Ala-Glu-Gly-Ala-Lys.酰胺；血小板因子4衍生的肽如Pro-Leu-Tyr-Lys-Lys-Ile-Ile-Lys-Lys-Leu-Leu-Glu-Ser；受体结合分子如螺环哌啶酮和氟哌啶醇；粘着分子如asialyl Lewis^x；酶底物如2-硝基咪唑；酶抑制剂如水蛭素和D-Phe-Pro-Arg-氯甲酮；和碳水化合物如β-葡聚糖。

在本发明试剂的某些实施方案中，β-葡聚糖含靶向部分。就本发明目的而言，所谓β-葡聚糖是指包含1,3-和1,6-连接的β-D-葡萄糖残基的低聚糖，其中β-葡聚糖部分的分子量大约为2,000千道尔顿。本发明含β-葡聚糖的优选实例具有下式：

15 β-葡聚糖-(=NHCO.(CH₂)₃CO.)(ε-K)GCY.酰胺

在靶向部分为肽的本发明实例中，本发明的每个肽实例为一个氨基酸序列。本发明所使用的术语氨基酸是指包括全部L-和D-的初级α-或β-氨基酸，它们可以是天然存在的、修饰的、取代的、改变的等等。本发明含靶向部分的肽包括但不限于下列式子的肽：

(DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε-K)GCKK.酰胺
 F_D.Cpa.YW_DK.Abu.Nal.T(ε-K)GC.酰胺
 CH₂CO.FFW_DKTEC(ε-K)GC.酰胺
 环(N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ε-K)GC.酰胺)
 GGCSIPPEVKFNKPFVYLI.酰胺
 GGCSIPPEVKFNKPFVYLI
 GGCGLF
 RGCSIPPEVKFNKPFVYLI.酰胺
 RGCQAPLYKKIHKLLES
 RGCGRPLDKKREEAPSLRPAPPPISSGGYR.酰胺
 GGCRPKPQQFFGLM.酰胺
 AKCGGGF_DYW_DKTFT.酰胺
 GGCFFVYLI.酰胺
 乙酰基.F_DFYW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).F_DFYW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺
 乙酰基.F_DFYW_DKTFTGGG(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).(ε-K)GCF_DFYW_DKTFT.酰胺
 乙酰基.F_DFYW_DKTFTGGG(ε-K)KC.酰胺
 F_D.Cpa.YW_DKTFTGGG(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC.酰胺

(DTPA).Aca.F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO K(ϵ -K)GC. 酰胺)
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC. 酰胺
 CH₂CO.FFW_DKTFCKKKKK(ϵ -K)GC. 酰胺
 CH₂CO.FFW_DKTFCK(ϵ -K)KKKKKGC. 酰胺
 DDDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKKKK. 酰胺
 Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 (2- 呋古洛糖酰基 1).F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GC. 酰胺
 KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKDKD. 酰胺
 乙酰基.KKKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 KKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDDDD. 酰胺
 (2- 呋古洛糖酰基 1).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 Trc.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 Hca.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 (Trc)₂.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 K_DKKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDD. 酰胺
 K_DDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKDKD. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO KKKKK(ϵ -K)GC. 酰胺)
 乙酰基.KK(ϵ -K)GCGCGPLYKKIUKLLES
 F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR. 酰胺
 (Trc-酰亚胺).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR. 酰胺
 Trc.(Trc-酰亚胺).K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR. 酰胺
 (Trc-酰亚胺)₂.K.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCR. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ϵ -K)GCK. 酰胺)
 (乙酰基JKPRGG)₂K(ϵ -K)GC. 酰胺
 乙酰基.DDD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 K_DKK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDDD. 酰胺
 D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.D_DDF_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 K_DKKKF_DK.Cpa.YW_DKTFT.Nal. ϵ -K)GCDDDD. 酰胺
 D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 乙酰基.D_DF_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 F_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 F_DFYW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺
 (CH₂COY_D.Apc.GDCGGC_{Acn}GC_{Acn}GGC. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ϵ -K)GC. 酰胺
 (CH₂COY_D.Apc.GDC)₂K(ϵ -K)GCG. 酰胺
 K_D.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCD. 酰胺
 K_DK.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCDD. 酰胺
 {(CH₂COY_D.Apc.GDCG)₂KG}₂.K(ϵ -K)GCG. 酰胺
 {(CH₂COY_D.Apc.GDCGGC. 酰胺)(CH₂CO)}₂.K(ϵ -K)GC. 酰胺
 (CH₂COY_D.Apc.GDCCKG)₂K(ϵ -K)GC. β -Ala. 酰胺
 ((CH₂COY_D.Apc.GDCGGC_{Acn}GC_{Acn}GGC. 酰胺)(CH₂CO)}₂.K)₂K(ϵ -K)GCG. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂COK(ϵ -K)KCK. 酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β -Dap)KCR. 酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β -Dap)KCK. 酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β -Orn)GCK. 酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β -Dap)GCK. 酰胺)
 环 (N-甲基)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(ϵ -K)GCKK. 酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO).K(ϵ -K)GC. 酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺

AKCGGGF_DYW_DKTFT. 酰胺
 (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε-K)GCKK. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO₂)(ε-K)GC. 酰胺
 KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKDKD. 酰胺
 (2- 萘基羧基)F_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GC. 酰胺
 乙酰基.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε-K)GCKK. 酰胺
 5 { (CH₂CO Y_D.Apc.GDCGGC_{Acm}GC_{Acm}GGC. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ε-K)GCG. 酰胺
 (CH₂CO Y_D.Apc.GDCKGCG. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ε-K)GC. 酰胺
 (CH₂CO Y_D.Apc.GDCKGG)₂K(ε-K)GC.β-Ala. 酰胺
 { (CH₂CO Y_D.Apc.GDCG)₂K(ε-K)GCG. 酰胺
 (CH₂CO Y_D.Apc.GDCGGC_{Acm}GC_{Acm}GGC. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ε-K)GC. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO)(ε-K)GCK. 酰胺
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO GC.Dap.Dap. 酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCR. 酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)KCK. 酰胺)
 10 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(γ-Dab)KCR. 酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(δ-Orn)GCK. 酰胺)
 环 (N-CH₃)FYW_DKV.Hcy.(CH₂CO(β-Dap)GCK. 酰胺)
 乙酰基-KKKKKK(ε-K)GCGPLYKKIKLLLES
 (CH₂CO Y_D.Amp.GDC.KGCG. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ε-K)GC. 酰胺
 和
 (CH₂CO Y_D.Amp.GDC.GGC_{Acm}GC_{Acm}GGC. 酰胺)₂(CH₂CO)₂K(ε-K)GC. 酰胺

15 单字母的氨基酸缩写见 G.zubay, Biochemistry(2d, ed.)1988(Mac Millen Publishing: New York)P.33; 其它缩写如下: Acm 为乙酰氨基甲基; Mob 为 4-甲氧基苄基; Abu 为氨基丁酸; F_D 为 D-苯丙氨酸; W_D 为 D-色氨酸; Y_D 为 D-酪氨酸; Aca 为 6-氨基己酸; Amp 为 4-脒基苯丙氨酸; Apc 为 S-(3-氨基丙基)半胱氨酸; Hcy 为高半胱氨酸; Nal 为 2-萘基丙氨酸; Cpa 为 4-氯苯丙氨酸; KD 和 D-赖氨酸; D_D 为 D-天冬氨酸; Nal_D 为 D-2-萘基丙氨酸; DTPA 为二乙撑三胺戊乙酸; Trc 为丙三羧酸, Trc-酰亚胺为丙三羧酸酰亚胺; Hca 为六羧酸环己烷. (...)₂K 代表连接赖氨酸的两个氨基的共价键. Hcy(...)代表连接高半胱氨酸侧连硫原子的共价键. (N-CH₃)F 代表 N-α-甲基-苯丙氨酸. 基团间划线部分(例如在

20 CH₂COY_DRGDC 中在 CH₂CO 基和半胱氨酸(C)之间划线)代表环硫醚. 氨基酸之间的划线部分(例如在 CNPRGDC 中, 在半胱氨酸(C)之间的划线)代表环二硫键. 在划线序列前的“环”字是指 N-端与 C-端成环的序列. X_D 下角标表明氨基酸是 D 构型; 所有其它下角标是指氨基酸侧链保护基. ε-K 代表赖氨酸残基, 其中 ε-氨基而不是典型的 α-氨基通过共价键连接到相

25 邻氨基酸的羧基上形成肽键. δ-Orn 代表鸟氨酸残基, 其中 δ-氨基而不是典型的 α-氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键. γ-

30

Dab 代表 2, 4 - 二氨基丁酸残基, 其中 γ - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键。 β - Dap 代表 1, 3 - 二氨基丙酸残基, 其中 β - 氨基通过共价键连接到相邻氨基酸的羧基上形成肽键。

5 本发明所提供的用于制备放射性药物的这一列试剂是举例说明性的, 而不是限制性的或排他性的, 并且, 本领域技术人员应该知道, 包含本文所公开的肽或其等同物的试剂可通过共价键连接到本发明任一整合部分并且在本发明范围内, 它包括本文所公开的各种靶向部分和金属螯合剂的组合。

在本发明某些实施方案中, 金属螯合剂和靶向部分通过多价连接部分连接起来。多价连接部分通过共价键连接到本发明靶向部分、金属螯合剂、或它们两者上。本发明提供的多价连接部分至少包含 2 个能通过共价键连接到 10 靶向部分或金属螯合剂上的连接体官能团。该官能团包括但不限于伯和仲胺, 羟基, 羧酸基和硫醇反应基。多价连接部分优选至少包含三个能够通过共价键连接到靶向部分或金属螯合剂上的官能团。优选的多价连接部分包括氨基酸如赖氨酸, 高赖氨酸, 鸟氨酸, 天冬氨酸和谷氨酸; 直链和环胺和多 15 胺; 聚羧酸; 和活化的硫醇类, 如二和三马来酰亚胺。还有优选的实施方案是其中多价连接部分是有许多多价连接部分共价连接形成一种带支链的多价连接部分。特别优选的多价连接部分包括双琥珀酰亚胺基甲基醚, 4 - (2, 2 - 二甲基乙酰)苯甲酸, 三(琥珀酰亚胺基乙基)胺, 4 - (O - CH₂CO - Gly - Gly - Cys.酰胺)苯乙酮, 双 - 琥珀酰亚胺基己烷, 三(乙酰氨基 - 乙基)胺, 20 三(乙酰氨基甲基)醚, 双(乙酰氨基乙基)醚, α , ϵ - 双乙酰基赖氨酸, 和 1, 8 - 双乙酰氨基 - 3, 6 - 二氧杂 - 辛烷。

本发明的肽靶部分可通过化学方法在体外合成。通常, 本发明肽靶部分可有效地在肽合成器上制备。利用本领域技术人员公知的技术, 可合成本发明肽靶向部分, 在体外化学合成过程中, 其中螯合基通过共价键连接到特异性结合的肽上。在合成肽过程中并入螯合基是特别有利的, 因为它提供的试剂在特异性结合肽和配合基团之间共价键的确切位置是已知的并且可将该 25 试剂设计成能避免特异性结合肽的特异性结合的干扰或使这种干扰减到最小。

另外, 金属螯合剂可通过共价键连接到氨基酸侧链基团, 例如赖氨酸的 ϵ - 氨基上, 产生例如 α N(Fmoc)-Lys- ϵ N - (Gly - Gly - Cys -), 它可以结合在肽链的任何位置上。该序列特有的优点是, 它提供了一种比较容易 30

的方式结合到靶向结合肽上。本发明提供了将这些螯合剂实际上可与任何肽靶部分相结合，结果产生共价结合到 Tc - 99 m 配合部分的放射性标记肽。

在与本发明金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物形成放射性钨配合物中，钨配合物，优选 Tc - 99 m 的高钨酸盐在还原剂存在下与螯合剂或共轭物反应；在优选实施方案中，还原剂为亚锡离子的盐，最优选氯化亚锡。本发明的闪烁照相成像剂，即 Tc - 99 m 标记的金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物，由一种试剂盒的方式提供较为方便和有利，该试剂盒装有一个密封小瓶，瓶中包含预先测定量试剂和用 Tc - 99 m 标记该试剂足够量的还原剂。或者，可通过将本发明金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物与预先形成的钨标记配合物和另一种已知的作为转移配位体的化合物反应来制备本发明闪烁照相成像剂。该方法作为配位体交换是已知的并且是本领域技术人员公知的。该标记的配合物可利用这样一些转移配位体如酒石酸盐，枸橼酸盐，葡糖酸盐，葡庚糖酸盐或甘露糖醇来制备。本发明所使用的 Tc - 99 m 高钨酸盐包括碱金属盐如钠盐，或铵盐或低级烷基铵盐。在室温下，在水介质中可进行本发明试剂与 Tc - 99 m 高钨酸盐或预先制成的 Tc - 99 m 标记的配合物进行反应。可在以下实施例 2 所描述的反应条件下制备本发明的钨 - 99 m 标记的闪烁照相成像剂。

本发明提供的放射性标记的金属螯合剂和金属螯合剂/靶向部分共轭物具有用作放射性药物时适当量的放射活性。通常，优选在含放射性浓度大约每毫升 0.01 毫居里(mCi)至 100 mCi 的溶液中制备放射性配合物。

本发明闪烁照相成像剂，即 Tc - 99 m 标记的金属螯合剂和金属螯合剂/靶向部分共轭物可利用来提供诊断用的很多类型疾病的图像，所述疾病如癌症，例如胃肠道肿瘤、骨髓瘤、小细胞肺癌和其它 APUD 瘤、内分泌肿瘤如髓样甲状腺癌和垂体肿瘤；脑肿瘤如脑膜瘤和星形细胞瘤；以及前列腺、乳腺、结肠和卵巢的肿瘤。本发明闪烁照相成像剂也用于对以下病灶部位成像：感染、血栓、肺栓塞、炎症、Alzheimer 病和动脉粥样硬化，也用于肺、心脏、肝脏、肾脏、骨和脑疾病部位的成像。

按照本发明，Tc - 99 m 标记的闪烁照相成像剂以单次单位注射剂量给药。本发明闪烁照相成像剂可通过静脉给药途径，在任何常规静脉注射介质如盐水或在血浆中给药。该介质中也可以包含常规药用辅助物质如调节渗透压的药用盐、缓冲剂、防腐剂等。优选的介质为生理盐水和血浆。通常，给

5 药的单位剂量具有的放射性大约为 0.01 mCi - 100 mCi, 优选 1 mCi - 20 mCi。以单位剂量注射的该溶液体积大约为 0.01 mL - 10 mL。该剂量的有效给药途径是通过静脉注射, 但也可以使用其它途径, 例如通过动脉内给药。给药后, 在几分钟内, 所检查区域可产生图像。然而, 如果需要, 可在药物注射到病人体内后几小时甚至更长的时间后产生图像。在大多数情况下, 足够给药量的成像剂将在允许拍摄闪烁照相图的大约 0.1 小时内蓄积在待成像的区域。按照本发明, 诊断用闪烁照相成像的任何常规方法均可以使用。

10 本发明也提供放射性治疗剂, 它们是 Re - 186, Re - 188 或 Sn - 117m 标记的用于治疗哺乳动物体的病理症状的本发明金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物。锡配合物可简单地通过将本发明金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物与放射性亚锡盐反应来制备。铈配合物用与如上和以下实施例 2 中所描述的镓 - 99 m 配合物基本相同的方法来制备。尤其是通过在螯合剂配位体存在下高铈酸盐的反应或通过预先还原的铈如氧代四溴铈酸盐与本发明金属螯合剂或金属螯合剂/靶向部分共轭物的反应来制备铈配合物。就治疗目的而言, 所提供的铈 - 186、铈 188 或锡 - 117m 配合物的剂量大约为 0.01 - 100 mCi, 优选 1 - 20 mCi。

20 在下列实施例中更详细地说明制备和标记这些配合物的方法。这些实施例说明上述方法的某些方面及其有益效果。这些实施例只是举例说明而不是限制本发明。

实施例 1

固相肽的合成

25 固相肽合成(SPPS)的合成量为 0.25 毫摩尔(mmol), 合成仪为“应用性生物系统模型 431A 肽合成仪”, 用 9 - 芴基甲氧基羰基(Fmoc)进行氨基 - 端保护, 与双环己基碳化二酰亚胺/羟基苯并三唑或 2 - (1H - 苯并三唑 - 1 - 基) - 1, 1, 3, 3 - 四甲基脲六氟磷酸酯/羟基苯并三唑(HBTU/HOBT)进行偶联, 然后加入对 - 羟基甲基苯氧基甲基聚苯乙烯(HMP)树脂与 C - 端羧酸结合, 或用 Rink 酰胺树脂与 C - 端酰胺结合。

30 通过 L - 高半胱氨酸内酯的碱性水解, 或通过使用在液态氨中的金属钠使高胱氨酸还原来制备高半胱氨酸(Hcy)。Fmoc.Hcy(S - 三苯甲基)和 Fmoc.Pen(S - 三苯甲基)是通过用三氟乙酸中的三苯甲醇将适宜的前体氨基酸三苯

甲基化, 然后如 Atherton 等所述(1989, 固相肽的合成, IRL Press:Oxford) 通过 Fmoc 的衍生作用来制备。酪氨酸(Y[(CH₂)₄-哌啶])的 4-哌啶基丁基醚衍生物是通过 SPPS, 由 Fmoc-酪氨酸-(4-Boc-哌啶丁醚)开始来制备。Fmoc-S-(3-Boc-氨基丙基)半胱氨酸是由在甲醇钠中的 L-半胱氨酸和 Boc-氨基丙基溴化物制备, 然后在 pH 10 下, 用 O-9-芴基甲基-O'-N-琥珀酰亚胺基碳酸盐(Fmoc OSu)处理。4-脒基苯基丙氨酸(Amp)的制备方法如在共同所有(Co-owned)和待审(Co-pending)的 PCT 国际专利申请 PCT/US 94/03878 中所描述, 该文献在本申请中引用。

在适当情况下, 2-卤代乙酰基的引入方法是通过用适宜的 2-卤代乙酸作为 SPPS 过程中偶联的最终残基而引入, 或者通过用 NMP 中的 2-卤代乙酸/二异丙基碳化二酰亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺或用 NMP 中的 2-卤代乙酸酐/二异丙基乙胺来处理结合到树脂上的肽的 N 端游离氨基而引入。

在适当情况下, 在含 0.5 - 1.0 mM EDTA 的磷酸盐或碳酸氢盐缓冲剂或稀氢氧化铵(pH 8)中, 将 0.1 - 1.0 mg/ml 的溶液搅拌 4 - 48 小时, 然后用乙酸酸化, 冻干和 HPLC 纯化来将 2-卤代乙酰化的肽环化。

在适当情况下, 在室温, pH 10 下, 将含巯基的肽与含氯乙基、巯基保护的 Tc-99m 配合部分反应 0.5 - 4 小时, 然后通过乙酸酸化并将溶液蒸发, 得到相应的肽-硫加合物。接着按照常规方法进行脱保护和纯化, 得到螯合剂-肽共轭物。

用二氯甲烷中的 1% TFA 溶液将 SasrinTM 树脂结合的肽断裂。得到被保护的肽。如果需要, 通过使用在氨基酸侧链受保护的新生肽中的二苯基磷酰基叠氮化物, 使氨基端游离胺和羧基端游离酸反应, 从而将受保护的肽前体在氨基和羧基端之间环化。

将 HMP 或 Rink 酰胺树脂结合的产物按照常规方法断开并将含被保护侧链的环化肽脱保护, 其方法是用含三氟乙酸(TFA)或 TFA 和二氯甲烷、可含或不含水、苯硫基甲烷、乙二硫醇、和三乙基硅烷或三异丙基硅烷, 其比率为 100:5:5:2.5:2 的溶液, 在室温下处理 0.5 - 3 小时。如果需要, 可将产物在三酚甲醇(triphenolmethanol)/TFA 重新进行 S-三苯甲基化, 并且利用 (Boc)₂O, 将 N-Boc 基再诱导到肽中。

通过制备型高效液相色谱柱(HPLC), 使用 Water Delta - Pak C18 柱和用乙腈改性的 0.1% TFA/水梯度洗脱来纯化粗品肽。柱洗脱后, 将乙腈从洗

脱馏分中蒸发掉，然后将馏分冻干。通过快速原子轰击质谱法(FABMS)或电子喷射质谱法(ESMS)确定如此制备并纯化的每种产物的特性。

实施例 2

用 Tc - 99 m 放射性标记的一般方法

- 5 将 0.1 mg 金属整合剂或金属整合剂/靶向部分共轭物的样品溶解在 0.1 ml 水，或 50:50 的乙醇：水，或磷酸盐缓冲的盐水(PBS)，或 50 mM 磷酸钾缓冲剂(pH 5、6 或 7.4)或 10 % (w/v)羟丙基环糊精(HPCD)/水中。通过用 1.0 ml 含量不超过 200 mCi 的 Tc - 99 m 高锝酸钠重新配制 Glucosan 小瓶(E. I. DuPont de Nemours, Inc., Wilmington, DE)并在室温下放置 15 分钟来制备 Tc - 99 m 葡庚糖酸盐。将 25 μ L 的 Tc - 99 m 葡庚糖酸盐加到金属整合剂或金属整合剂/靶向部分共轭物中并在室温下让反应进行 5 - 30 分钟，然后通过 0.2 μ m 滤器过滤。

- 通过 HPLC，使用下列条件测定放射化学纯的 Tc - 99 m 标记的试剂：
Waters Delta - Pak RP - 18 分析柱，容积为 5 μ m \times 4.6 mm \times 220 mm，
15 装入各种放射性标记的肽，以 1 ml/min 的溶剂流速洗脱。以 100 % 溶剂 A(0.1 % TFA/水)开始和 100 % 溶液 B(0.1 % TFA/90 % 乙腈/水)结束的线性梯度洗脱 10 - 20 分钟。通过连接到积分记录仪上的放射性连机检测器来测定放射性组分。在这些条件下，将 Tc - 99 m 葡庚糖酸盐和 Tc - 99 m 高锝酸钠洗脱 1 - 4 分钟，Tc - 99 m 标记的肽洗脱较长时间。

- 20 制备非放射性铼配合物是通过在二甲基甲酰胺或乙腈/水中，将本发明每一试剂与如 Cotton 等所述制备的(1996, Inorg. Chem. 5: 9 - 16)大约 1 摩尔当量的四丁基铵 - 氧代四溴铼酸盐(+ 5)共溶，并搅拌 0.5 - 5 天。如上关于 Tc - 99 m 标记的肽中所述，通过反相 HPLC 分离铼配合物并通过 FABMS 或 ESMS 确定其特性。

- 25 用 Tc - 99 m 标记相同的方法，或通过向肽和高铼酸盐的溶液中加入还原剂，或使用或不使用配位体转移剂如枸缘酸盐并将反应在室温至 100 $^{\circ}$ C 下保温 5 - 60 分钟，由适宜的高铼酸盐来制备放射性铼，例如 Re - 186 或 Re - 188 配合物。

- 30 下表说明利用本文所描述的方法，成功地进行了对实施例 1 制备的肽的 Tc - 99 m 标记。

表 1

肽	FAB/MS MH ⁺	放射化学产率 (%) ^{**}	HPLC R _f (分钟) ^{***}
GGCSIPPEVKFNKPFVYLI 酰胺	2107	99 ¹	16.5 ¹
GGCSIPPEVKFNKPFVYLI	2108	99 ¹	15.6-16.9 ¹
GGCGLF	553	96 ¹	13.7-17.1 ¹
RGCSIPPEVKFNKPFVYLI. 酰胺	2207	95 ¹	15.2 ¹
RGCQAPLYKKIHKLLLES	2209	96 ¹	15.6 ¹
RCCGHRPLDKKREEAPSLRPAPPISGGYR. 酰胺	3355	97 ¹	12.4 ¹
GGCRPKPQQFFGLM. 酰胺	1565	N.D.	N.D.
GGCFVYLI. 酰胺	870	N.D.	N.D.
AKCGGGF ₀ YW ₀ KTFT. 酰胺	1612	98	15-16 ¹
乙酰基-F ₀ FYW ₀ KTFT(ε-K)GC. 酰胺	1469	96 ¹	12.1, 12.6 ²
(DTPA).F ₀ FYW ₀ KTFT(ε-K)GC. 酰胺	1801	97 ¹	11.3 ²
K ₀ K.Nal ₀ .Cpa.YW ₀ KTFT(ε-K)GCDD. 酰胺	1998	99 ¹	14.9, 15.2 ¹
{(CH ₃ CO)Y ₀ .Apc.GDCGG}K ₀ G. 酰胺	3644 ^F	N.D.	N.D.
{(CH ₃ CO)Y ₀ .Apc.GDCGGCG. 酰胺 }K(ε-K)GC. 酰胺	2373 ^F	N.D.	N.D.
{(CH ₃ CO)Y ₀ .Apc.GDCCKK ₀ G}K(ε-K)GC.β-Ala. 酰胺	2267	N.D.	N.D.
环 (N-CH ₃)JFYW ₀ KV.Hex.(CH ₃ CO)K(ε-K)KCK. 酰胺)	1528	N.D.	N.D.
乙酰基-F ₀ FYW ₀ KTFTGGG(ε-K)GC. 酰胺	1640	98 ¹	11.9, 12.4 ²

表 I(续)

肽	FAB/MS MII'	放射化学产率 (%)**	HPLC R _T (分钟)***
(DTPA).(ϵ -K)GCF ₀ FYW ₀ KTFT. 酰胺	1802	97 ¹	11.5 ²
乙酰基.F ₀ FYW ₀ KTFTGGG(ϵ -K)KC. 酰胺	1710	98 ¹	15.9 ¹
F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFTGGG(ϵ -K)GC. 酰胺	1461	98 ²	15.8 ¹
(DTPA).F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GC. 酰胺	1837	97 ²	15.5 ¹
(DTPA).Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GC. 酰胺	1887	97 ²	16.2 ¹
(DTPA).Aca.F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GC. 酰胺	1950	97 ¹	11.5 ¹
F ₀ .Cpa. YW ₀ K.Abu.Nal.T(ϵ -K)GC. 酰胺	1495	95 ¹	16.5 ¹
GI ₀ CO.FFW ₀ KTEC(ϵ -K)GC. 酰胺	1305	99 ¹	16.5 ¹
环 (N-CH ₃)FYW ₀ KV.Hey.(CH ₃ CO.K(ϵ -K)GC. 酰胺)	1328	97 ¹	14.5 ¹
环 <i>lo</i> (N-CH ₃)FYW ₀ KV.Hey.(CH ₃ CO.(ϵ -K)GC. 酰胺)	1201	99 ²	15.3 ¹
(DTPA).Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺	2143	97 ¹	15.5 ¹
K ₀ KK.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GCDDDD. 酰胺	2241	98 ²	14.9 ¹
D ₀ DF ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺	1948	98 ²	14.9 ¹
乙酰基.D ₀ DF ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺	1990	99 ²	15.2 ¹
K ₀ KKF ₀ K.Cpa. YW ₀ KTFT.Nal.(ϵ -K)GCDDDD. 酰胺	2531	98 ²	15.0 ¹
D ₀ F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GCKK. 酰胺	1832	99 ²	15.0 ¹
乙酰基.KKKKK.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ϵ -K)GC. 酰胺	2192	94 ¹	14.9 ¹

表 I(续)

肽	FADMS M _r ¹	放射化学产率 (%) ²	HPLC R _T (分钟) ³
(DTPA).Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KT.Nal.T(ε-K)GCKK. 酰胺	2192	95 ²	15.8 ¹
<u>GILCO</u> FF ₀ W ₀ KTFC ₀ KKKK(ε-K)GC. 酰胺	1947	99 ¹	15.8 ¹
<u>GILCO</u> FF ₀ W ₀ KTFC(ε-K)KKKKKGC. 酰胺	1947	99 ²	14.9 ¹
DDDD.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKKKK. 酰胺	2484	99 ¹	15.1 ¹
Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1767	98 ¹	15.8 ¹
(2- 酮古洛糖酰基).F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GC. 酰胺	1638	99 ¹	15.8, 16.1 ¹
KDKD.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKDKD. 酰胺	2484	99 ¹	14.8 ¹
乙酰基.KKKKK.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	2450	99 ¹	14.2 ¹
KKKK.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCDDDD. 酰胺	2485	99 ¹	14.6 ¹
(2- 酮古洛糖酰基).Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	N.D.	99 ¹	16.0 ¹
Trc.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1926	99 ¹	16.3 ¹
乙酰基.D ₀ .F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1875	99 ²	15.4 ¹
F ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1717	99 ²	15.0 ¹
Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1768	97 ²	15.8 ¹
F ₀ FYW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	1683	98 ²	14.5 ¹
(<u>GILCO</u> Y ₀ .ADG.GDC) ₂ K.(ε-K)GCG. 酰胺	1768 ^E	96 ¹	12.1 ¹
Hca.Nal ₀ .Cpa. YW ₀ KTFT(ε-K)GCKK. 酰胺	2097	99 ¹	15.8 ¹

表 I(续)

肽	FABMS MH ⁺	放射化学产率 (%)**	HPLC R _f (分钟)***
(Trc) ₂ .Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCKK.酰肽	2212	99 ³	15.6 ¹
K _b KKK.Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCDD.酰肽	2253	98 ³	14.7 ¹
K _b DKD.Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCKDKD.酰肽	2485	99 ³	14.8 ¹
环(N-CH ₂)EYW _b KV.Hcy.(CH ₂ CO).KKKKK(ε-K)GC.酰肽)	1841	98 ²	13.4 ¹
乙酰基.KK(ε-K)GCGCGGPLYKKIIKLLES	2275	98 ^{1*}	15.1 ¹
F _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCR.酰肽	1617	99 ³	15.4 ¹
(Trc-酰肽).Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCR.酰肽	1808	99 ³	15.4 ¹
Trc.(Trc-酰肽).K.Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCRR.酰肽	2250	100 ³	16.7 ¹
(Trc-酰肽) ₂ .K.Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCR.酰肽	2232	99 ³	16.6 ¹
环(N-CH ₂)EYW _b KV.Hcy.(CH ₂ CO)(ε-K)GCK.酰肽)	1329	99 ³	14.7 ¹
(乙酰基JKPRGG) ₂ K(ε-K)GC.酰肽	1710	97 ¹	11.1, 11.4 ¹
((CH ₂ CO) ₂ Y _b APε.GDCGGC _{AcM} .GC _{AcM} .GGC.酰肽) ₂ .K ₂ K(ε-K)GCG.酰肽	6478 ^E	N.D.	N.D.
(CH ₂ CO) ₂ Y _b APε.GDCGGC _{AcM} .GC _{AcM} .GGC.酰肽) ₂ .K(ε-K)GC.酰肽	3298 ^E	N.D.	N.D.
K _b .Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GGCD.酰肽	1755	99 ¹	15.5 ¹
乙酰基-DDD.Nal _b .Cpa.YW _b KTFT(ε-K)GCKK.酰肽	2040	100 ²	16.0

表 I(续)

肽	FAB/MS MII ⁺	放射化学产率 (%) ^{**}	HPLC R _T (分钟) ^{***}
(C11,CO)Y _D -Amp.GDC.GGC _{A,OM} .GC _{A,OM} .GGC. ₂ (C11,CO) ₂ K(E-K)GC.酰胺	3378 ^E	98 ⁴	4.6 ¹
(C11,CO)Y _D -Amp.GDC.KGGC. ₂ (C11,CO) ₂ K(E-K)GC.酰胺	2573 ^E	99 ⁴	4.4 ¹
乙酰基-KKKKKK(E-K)GCGGPLYKKIKKLLLES	2658	98 ⁴	6.1 ¹
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).(β-Dap)GCK.酰胺	1287 ^E	N.D.	N.D.
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).(δ-Orn)GCK.酰胺	1315 ^E	N.D.	N.D.
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).(γ-Dab)KCR.酰胺	1400	N.D.	N.D.
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).(β-Dap)KCK.酰胺	1358	97 ⁴	7.0 ¹
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).(β-Dap)KCR.酰胺	1386	98 ⁴	7.0 ¹
环 (N-C11) ₁ FYW ₆ KV.HCY ₁ (C11,CO).GC.Dap.酰胺	1245	77 ⁴	7.8 ¹

**上角标指下列标记条件:

1 = 在水中

2 = 在 10 % HPCD 中

3 = 在 50/50 乙醇/水中

5 4 = 在 0.9 % NaCl 中

5 = 在由 NaHCO₃ 调至 pH 9 的水中

*** HPLC 方法(在 R_T 后由上角标表示):

溶剂 A = 0.1 % TFA/水

溶剂 B = 0.1 % TFA/CH₃CN/水

10 Waters - 1 柱 = Waters Delta Pak C18, 5 μ m, 39mm × 150 mm

(流速 1.2 ml/min)

Waters - 2 柱 = Waters Nova Pak Radial Compression C18, 4 μ m, 8 mm × 100 mm (流速: 3 ml/min)

Vydac 柱 = Vydac 218 TP 54 RP - 18, 5 μ m, 4.6 mm × 220 mm

15 (流速 = 1 ml/min)

方法 1 = Waters - 1 柱, 在 10 分钟内, 由 100 % 溶液 A → 100 % 溶液 B

方法 2 = Vydac 柱, 在 10 分钟内, 由 100 % 溶液 A → 100 % 溶液 B

方法 3 = Waters - 2 柱, 在 10 分钟内, 由 100 % 溶液 A → 100 % 溶液 B

单字母氨基酸缩写可见于 G.Zubay, Biochemistry (2d, ed), 1988(MacMillen Publishing: New

20 York)P. 33。划线部分表示在所连接的氨基酸或衍生的基团之间形成酰胺或硫醇键。Acm 为乙酰氨基甲基; Orn 为鸟氨酸; F_D 为 D - 苯丙氨酸; Y_D 为 D - 酪氨酸; W_D 为 D - 色氨酸; K_D 为 D - 赖氨酸; D_D 为 D - 天冬氨酸; Amp 为 4 - 脒基苯丙氨酸; APC 为 L - (S - 3 - 氨基丙基)半胱氨酸;

Hcy 为高半胱氨酸; Nal 为 2 - 萘基丙氨酸; Nal_D 为 D - 2 - 萘基丙氨酸; DPTA 为二亚乙基三胺五乙酸; Cpa 为 4 - 氯苯丙氨酸; Aca 为 6 - 氨基己酸; Abu 为氨基异丁酸; Trc 为丙三羧酸; Trc

25 - 酰亚胺为丙三羧酸酰亚胺; 以及 Hca 为六羧基环己烷。(...) ₂K 代表连接赖氨酸两个氨基的共价键。Hcy(...)代表连接高半胱氨酸侧链硫原子的共价键。(N - CH₃)F 代表 N - α - 甲基 - 苯丙氨酸。基团之间的划线部分(例如, 在 CH₂CO.Y_DRGDC 中, 在 CH₂CO 基和半胱氨酸(C)之间划线)代表环状硫化物。氨基酸之间的划线部分(例如在 CNPRGDC 中半胱氨酸(C)之间的划线)代表环状二硫键。在划线

序列前的“环”字指 N 端与 C 端相连的环状序列。X_D 的下角标 D 指氨基酸是 D 构型的; 所有其它

30 下角标指氨基酸侧链保护基。

实施例 3

抑制血小板聚集的测试

基本上按照 Zucker 所描述的方法(1989, Method in Enzymol. 169: 117 - 133)进行血小板聚集研究。简单地说, 利用每毫升含 300,000 血小板的新鲜人血浆, 测定含或不含被认为是抑制血小板聚集的化合物时血小板的聚集作用。通过加入最终浓度为 10 - 15 微摩尔的腺苷二磷酸溶液来诱导血小板聚集, 并利用 Bio/Data 集合度计(Bio/Data Corp., Horsham, PA)来监测血小板聚集程度。所使用的抑制血小板聚集的化合物浓度由 0.1 - 500 μ g/ml 变化。由抑制剂浓度 - 血小板聚集程度图测定血小板聚集程度减小 50 % 时抑制剂的浓度。对于每批作为阳性对照的血小板而言, 都要测定肽 RGDS 的抑制曲线。

用上述测试方法测定了下列肽试剂:



试验结果显示于表 II 中(RGDS 作为阳性对照)

表 II

肽	IC_{50}^*
P688	0.026
P748	0.029
P747	0.052
P687	0.079
P681	0.110
P667	0.110

* = μ M

20

(单字母氨基酸缩写可见于 G. Zubay, Biochemistry(2d, ed), 1988(MacMillen Publishing: New York)P.33, 如表 I 附注中所述。

这些结果表明, 本发明的肽试剂在体外与特异性 GPIIb/IIIa 受体的结合具有高度亲和力。

25

实施例 4

在犬模型中, 利用 Tc - 99 m 标记的血栓靶肽进行深静脉血栓的体内成像

将杂种狗(25 - 35 磅, 禁食过夜)通过肌肉注射氯胺酮和乙酰丙嗪(aceptozamine)镇静, 然后通过静脉注射戊巴比妥钠(Sodium Pentobarbital)麻醉。在每个动物中, 在右股骨静脉的远半端插入 18 号血管插管(angiocath)并将 5 mm 或 8 mm 由 Dacron^R 缠绕的不锈钢栓塞线圈(Cook Co., Bloomington IN)放在接近大腿中部的股静脉中。取出导管, 将伤口缝合并通过 X - 线验证所放入的线圈。然后让动物恢复过夜。

放入线圈 1 天后, 将每个动物重新麻醉, 将静脉盐水输液管放到每个前腿中并插入膀胱导管来收集尿。将动物仰卧在安装有低能量的通用准直仪的 γ 照相机下并使 Tc - 99 m 射线透过最大。将 Tc - 99 m 标记的血栓靶肽[185 - 370 mBq(5 - 10 mCi)Tc - 99 m, 0.2 - 0.4 mg 试剂]从插入点之处注射到一条前腿的静脉管中。保留第二个静脉管用于采血。

在注射的同时开始 γ 照相机成像。在注射后最初 10 分钟获得心脏的前位图像, 用于动力学研究(10 秒钟获得图像), 然后在注射后 1, 2, 3 和 4 小时获得静态图像。在注射后大约 10 - 20 分钟和在注射后大约 1, 2, 3 和 4 小时获得 500,000 次或扫描 20 分钟(选取其中时间短的一个腿部前位成像)。将铝挡板放在膀胱上后拍摄腿的图像。

在拍摄最后一次图像后, 用戊巴比妥将每个动脉深度麻醉。用肝素化的注射器采集两份血样, 然后通过心内注射或药团静脉注射给予致死量的饱和氯化钾溶液。然后, 小心地将含血栓的股静脉、对侧(对照)腿类似的静脉区域、血栓附近的血管区域和大腿肌肉的样品解剖下来。然后将血栓、线圈和线圈的 Dacron 纤维从血管上解下来。分离血栓、盐水洗涤的血管样品、线圈和线圈 Dacron^R 纤维、并将每个样品放在预先称重的试管中。将样品称重并在 Tc - 99m 通道的 γ 孔计数器中, 与已知成分的所注射剂量一起进行计数。

测定新鲜血栓的重量、安乐死之前获得的血栓和血中的百分注射剂量(% ID)/g 以及血栓/血比和血栓/肌肉比。从计算机贮存的图像中, 通过分析在由血栓和相邻肌肉获得的感兴趣区域(ROI)中测定的计数/像素来测定血栓/背景之比。

表 III 显示有代表性的结果。通过与表 II 所显示的化学结构相应的号码来鉴定肽。这些结果表明, 当用 Tc - 99 m 标记、给药和成像时(如本文所述)这些有代表性的肽中的每一个都可用作有效的体内闪烁照相成像剂。

表 III

肽	% ID/g 血栓	血栓/血	血栓/肌肉
P748	0.034	5.8	90
P747	0.043	15	70
P667	0.006	5.9	30

实施例 5

在高胆固醇兔子模型中，利用 Tc - 99 m 标记的闪烁照相成像剂进行动脉粥样硬化斑的定位和体内成像

5 样硬化斑的定位和体内成像

将两种性别并且重 2 - 3 kg 的新西兰白(NZW)兔分成两组。对照组包含 6 只兔子，将它们关在笼子中并喂养商业上销售的兔子食物(Purina)。HC 组喂养标准化的富含胆固醇的饮食(混合至胆固醇浓度 1 % w/w 的兔子食物)，喂养时间为从兔子 7 周龄喂至 28 周龄。所有动物可任意供给水。

10 如上所述制备 Tc - 99 m 标记的动脉粥样硬化斑成像剂。将大约 1000 μ g 的肽用 100 - 200 mCi 的 Tc - 99 m 标记并制备成单位剂量为 0.5 - 2 ml 体积中含 5 - 10 mCi Tc - 99 m(12.5 - 20.0 μ g/兔子; 6.7 μ g/kg)。通过在成年兔的耳缘静脉缓慢输注(大约 0.1 ml/min)每种 Tc - 99 m 标记的成像剂。利用安装有针孔准直仪(5 mm 孔径)和 Tc - 99 m 能量视窗的 γ 照相机获得闪烁照相图并且程序设置为累计计数 500,000 次或扫描一定时间。在成像前，用氯胺酮和甲苯噻嗪的混合物(5:1, 1 ml/kg, 肌肉注射)将动物麻醉。

15 在心脏正上方 40° - 45° 处(在斜前方[LAO]取景区)拍摄 γ 照相机图像来勾画主动脉弓并观察下行主动脉。在注射后 15 分钟和 2 小时获得图像。如果需要在拍摄各图像前，可注射补充量的麻醉剂。

20 在 2.5 小时(2 小时的扫描后)，给动物静脉剂量的戊巴比妥钠，将其处死。当尸检时，取出主动脉并分离出主动脉瓣到腹中部区域的分支血管。利用平行孔准直仪，将主动脉体外成像。作为对照，将主动脉纵向切开关用苏丹 IV 染色。由此将动脉粥样硬化斑染成深红砖色。相反，不含脂类和未受损的主动脉内皮保持其原样，在这些条件下其为光亮的粉白色外观。因此，该实验
25 可用于清楚地证实由本发明闪烁照相成像剂测得的动脉粥样硬化斑的存在。

实施例 6

在感染的动脉模型中，Tc - 99 m 感染靶向试剂的闪烁照相成像和生物分布

新西兰白(NZW)兔，两种性别，重 2 - 3 kg，通过左小腿肌肉注射，接种有效的大肠杆菌菌株。24 小时后，通过肌肉注射氯胺酮和甲苯噻嗪使动物镇静，然后注射 Tc - 99 m 标记的感染靶向试剂(2 - 10 mCi, $\leq 150 \mu\text{g}$)。将动物仰卧放在 γ 照相机(LEAP 准直仪/Tc - 99 m 光透过最大)的视野内成像，将动物在注射后的第 1 小时成像，然后在接着的 3 小时内，以大约 1 小时的间隔成像一次。在获得图像的间期，让动物进行苏醒并且如果需要再进行麻醉。

10 当完成最后的成像后，通过静脉注射过量的戊巴比妥钠将动物处死，然后进行解剖，得到血样和感染和对照组织的样品。将组织样品称重并用 γ 射线计数器计数；用与每个作为对照的样品相同的方法，计数标准量的注射剂量。从这些数据中，测定在每个组织样品中所保留的每克组织中，其注射剂量的百分数。然后计算对于每种肽来说，每克感染组织与每克未感染肌肉组织中，所注射剂量百分比和感染的肌肉组织与血的百分比，以此证明本发明放射性标记的闪烁照相成像剂的特异性定位。

15 这些试验的结果显示于表 IV。这些结果表明，这些有代表性的试剂作为测定哺乳动物体炎症部位的闪烁照相显影剂是有用的。

表 IV

肽	感染的肌肉		对照的肌肉		感染/对照比		感染/血液比	
	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)	(%ID/g)
GGCSIPPEVKFNKPFVYLI. 酰胺 (P472)	0.0079	0.0009	0.0009	0.0009	8.8	0.0076	1.0	—
GGCGLF (P477)	0.0100	0.0012	0.0012	0.0012	8.4	0.0140	0.72	—

(% ID/g) = 每克组织的百分注射剂量; 其它缩写见前面的表。

实施例 7

[¹²⁵I - Tyr¹¹]生长激素抑制素 - 14 与 AR42J 大鼠胰肿瘤细胞膜结合的抑制作用

在肽试剂介导的抑制放射性标记的生长激素类似物与含生长激素受体的细胞膜结合的测定中证明了本发明各种生长激素类似物与生长激素受体体外结合的能力。

在 37 °C 下, 在湿润的 5 % CO₂ 环境中, 将表达生长激素抑制素受体的大鼠胰腺瘤细胞系 AR42J 在含有 10 % 胎牛血清(FCS)和 8 mM 谷氨酸的杜皮克氏改良的基本培养基(DMEM)中培养。在冷的缓冲剂(150 mM Tris - HCl, pH 7.4)中, 将得到的细胞搅匀, 然后在 4 °C 下, 将匀浆以 39,000 g 的转速离心 10 分钟。将离心沉积物用缓冲剂洗涤一次, 然后重新悬浮在冰冷却的 10 mM Tris - HCl 缓冲剂(pH 7.4)中。将等份试样的该细胞膜制剂与 [¹²⁵I - Tyr¹¹] 生长激素抑制素 - 14(Amersham, Arlington Height, IL)(最终浓度为 0.5 nM, 同位素脉冲为 750,000 cpm/ml, 特异活性为 2000 Ci/mmol)和本发明肽或肽 - 铈配合物(最终浓度为 10⁻¹¹ - 10⁻⁶ M, 在 50 mM HEPES 缓冲剂中, pH 7.4, 含 10 % 牛血清白蛋白, 5 mM MgCl₂, 0.02 mg/ml 杆菌肽, 0.02 mg/ml 苯甲基磺酰氟和 200,000 IU 抑肽酶)一起在 30 °C 下温育 25 分钟。

温育后, 利用多层过滤, 通过由聚乙烯亚胺洗涤的 CG/F 滤器(Whatman Ltd., Maidstone, England)将该膜混合物过滤, 并用 5 ml 冷的 HEPES 缓冲剂, 将保留在滤器上的残渣洗涤三次。将滤器和滤器洗涤液样品在 γ 计数器上计数。为了评估非特异性结合, 基本上如上所述, 在 200 mg 未标记生长激素抑制素 - 14 存在下进行测定。数据分析包括数据的 Hill 图, 由此得到抑制常数, 如 Bylund 和 Yamamura 所述(1990, Methods in Neurotransmitter Receptor Analysis, Yamamura et al., eds., Raven Press: N. Y.)。

下列肽被测定:

P487 = 环(N - CH₂)FYW_DKV.H_{CV}.(CH₂CO).K(ε - K)GC._{酰胺}

P498 = (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε - K)GCKK._{酰胺}

P398 = AKCGGGF_DYW_DKTFT._{酰胺}

P524 = (DTPA).Nal_D.Cpa.YW_DKT.Nal.T(ε - K)GCKK._{酰胺}

P468 = 环(N - CH₂)FYW_DKV.H_{CV}.(CH₂CO).(ε - K)GC._{酰胺}

P545 = KDKD.Nal_D.Cpa.YW_DKTFT(ε - K)GCKDKD._{酰胺}

P544 = (2 - 酮古洛糖酰基) F_D .Cpa.YW $_D$ KTFT(ϵ - K)GC.肽

P548 = 乙酰基.Nal $_D$.Cpa.YW $_D$ KTFT(ϵ - K)GCKK.肽

P591 = 环(N - CH $_2$)FYW $_D$ KV $_I$ H $_C$ V.(CH $_2$ CO).(ϵ - K)GCK.肽

利用本发明试剂进行该分析所得的结果如下:

5

表 V

肽	K_I (nM)
P487	0.65
P498	1.3
P398	1.4
P524	2.0
P468	2.0
P545	2.6
P544	2.7
P548	3.6
P591	4.2

这些结果表明本发明肽试剂与生长激素抑制素受体的体外结合具有高度亲合性。

实施例 8

生长激素抑制素受体(SSTR)表达型大鼠肿瘤的定位和体内成像

10 基本上如 Bakker 等所述的方法(1991, Life Science 49: 1593 - 1601)进行由在大鼠肿瘤细胞表达的生长素抑制素受体的体内成像。

15 将冷冻的肿瘤浆解冻得到的 CA 20948 鼠胰腺瘤细胞, 以每只动物 0.05 - 0.1 ml 悬浮液的剂量通过肌肉注射植入 6 周龄大 Lewis 鼠的右侧后大腿中。让肿瘤生长至大约 0.5 - 2 g, 取出, 并将肿瘤浆用于植入第二只, 首次用来作试验的 Lewis 鼠中。以这种方式重复该过程, 直到产生成功的携带肿瘤的动物代。通常, 用于体内研究的肿瘤携带动物产生于第三 - 第五代并且携带 0.2 - 2 g 的肿瘤。

为了研究肿瘤中放射性示踪物定位的特异性, 在注射放射性示踪物前 30

分钟，给所选择动物皮下注射 SSTR 阻断剂量(4 mg/kg)的奥曲肽。(Bakker 等已指出该方法导致 $^{111}\text{In} - [\text{DTPA}]$ 奥曲肽的肿瘤摄入减少 40 %)。

5 将第三 - 第五代 CA20948 肿瘤携带的 Lewis 鼠监禁起来并通过背部尾静脉静注 0.15 - 0.20 mCi 剂量的本发明 $^{99\text{m}}\text{Tc} -$ 标记的 SSTR 靶向成像剂(相当于在 0.2 - 0.4 ml 中的 3 - 8 μg 肽)。

在所选定的时间，通过颈部脱位将动物处死并进行选择性尸检。将获得的组织样品称重并与等分试样的注射剂量一起，在 γ 孔计数器中计数。

10 表 VI 显示所选择的放射性标记肽经过 90 分钟生物分布后的结果。显然， $^{99\text{m}}\text{Tc} - \text{P832}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc} - \text{P829}$ 和 $^{99\text{m}}\text{Tc} - \text{P773}$ 显示出较高的肿瘤摄入和肿瘤/血比，这证明了它们在靶(肿瘤)组织的高度特异性摄入。这些结果证明，本发明有代表性的闪烁照相成像剂可用于确定体内生长激素抑制素表达型肿瘤细胞的部位，并因此可有效地作为癌症的放射性诊断剂和放射性治疗剂。

15 应该理解，上述公开的内容强调的是本发明的某些特定实施方案并且所有相当的修饰或改变都如权利要求中所述包括在本发明构思和范围内。

表 VI

No.	肽	%ID/g		
		肿瘤	血	肿瘤/血
P832	环(<i>N</i> -methyl)FYW ₆ KV.Hcy.(CH ₂ CO. β -Dap)KCR.酰胺)	2.7	0.20	13
P829	环(<i>N</i> -methyl)FYW ₆ KV.Hcy.(CH ₂ CO. β -Dap)KCK.酰胺)	2.7	0.20	13
P773	环(<i>N</i> -methyl)FYW ₆ KV.Hcy.(CH ₂ CO. δ -Orn)GCK.酰胺)	1.9	0.13	15
P772	环(<i>N</i> -methyl)FYW ₆ KV.Hcy.(CH ₂ CO. β -Dap)GCK.酰胺)	1.5	0.24	7.2
P723	环(<i>N</i> -methyl)FYW ₆ KV.Hcy.(CH ₂ CO. ϵ -K)GCKK.酰胺)	1.4	0.26	5.4