



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114989166 A

(43) 申请公布日 2022.09.02

(21) 申请号 202210619796.3

(22) 申请日 2022.06.02

(71) 申请人 中国人民解放军空军军医大学  
地址 710032 陕西省西安市新城区长乐西路169号

(72) 发明人 汪静 叶佳俊 康飞 杨卫东  
张明如 黎翔 马温惠 王婧伊

(74) 专利代理机构 西安唐知知识产权代理事务所(普通合伙) 61284  
专利代理师 奇敏 马睿

(51) Int. Cl.  
C07D 471/04 (2006.01)  
C07B 59/00 (2006.01)  
A61K 51/04 (2006.01)  
A61K 101/02 (2006.01)

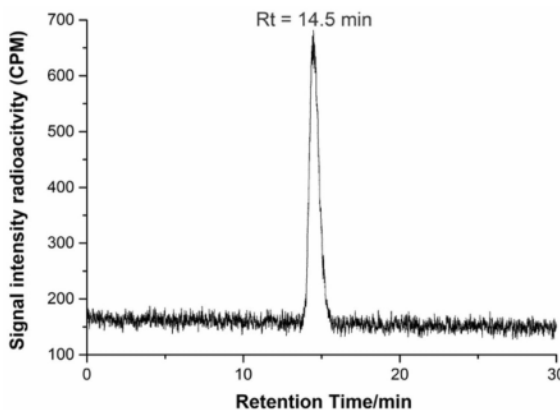
权利要求书2页 说明书10页 附图4页

(54) 发明名称

肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂、制备方法及应用

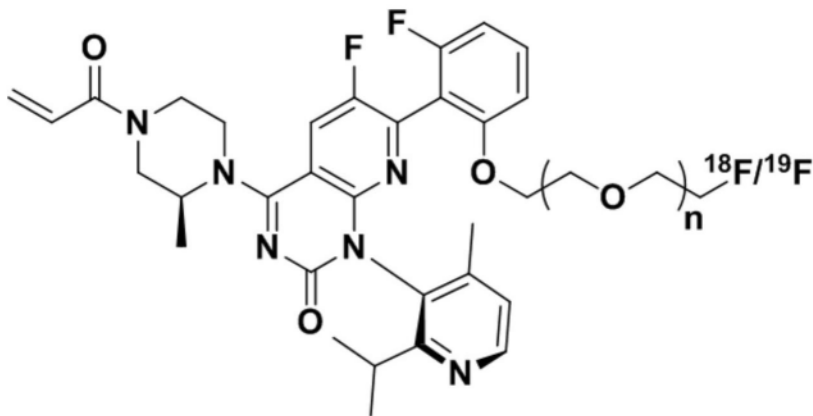
(57) 摘要

本发明涉及一种肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂、制备方法及应用。现有KRAS突变检测手段无法完全满足精准诊疗的目标要求。本发明提供了肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物<sup>18</sup>F/<sup>19</sup>F-QZLO, 含有<sup>18</sup>F-QZLO的正电子示踪剂用于KRAS G12C突变阳性肿瘤的核素诊断,<sup>19</sup>F-QZLO用作稳定标准品。本发明通过乙二醇或聚乙二醇链对AMG510标记了放射性核素<sup>18</sup>F, 构建PET分子影像探针, 用作肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂, 并提供了稳定标准品<sup>19</sup>F-QZLO, 具有合适的理化与放射学性质, 较为理想的生物学特性, 可用于KRAS G12C突变肿瘤的PET成像, 有助于此类肿瘤的特异性诊断、靶向治疗药物的选择与疗效评价。



1. 肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物,其特征在于:

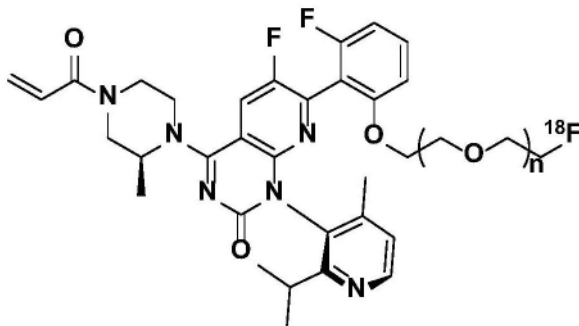
所述化合物为 $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ -QZLO,其化学结构为:



其中, $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ 。

2. 含有如权利要求1所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的正电子示踪剂,其特征在于:

所述正电子示踪剂含有的所述化合物为 $^{18}\text{F}$ -QZLO,其化学结构为:



其中, $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ 。

3. 根据权利要求2所述的正电子示踪剂,其特征在于:

所述正电子示踪剂还包括溶剂。

4. 根据权利要求3所述的正电子示踪剂,其特征在于:

所述溶剂为含有乙醇的PBS或注射水或生理盐水溶液。

5. 如权利要求4所述的正电子示踪剂的应用,其特征在于:

所述正电子示踪剂用于KRAS G12C突变阳性肿瘤的核素诊断。

6. 如权利要求4所述的正电子示踪剂的制备方法,其特征在于:

所述制备方法包括:

将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中,加入化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯的乙腈溶液,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到标记前体化合物5,即QZLO-OTs;

通过自动化合成模块制备含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂。

7. 根据权利要求6所述的正电子示踪剂的制备方法,其特征在于:

通过自动化合成模块制备含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂具体包括以下步骤:

将无水碳酸钾溶于水得溶液A,将氨基聚醚溶于乙腈中得溶液B,将溶液A与溶液B混

合得1号试剂;将化合物5即QZLO-OTs溶解于无水乙腈中得2号试剂;

将回旋加速器制备的 $[^{18}\text{F}]$ 氟离子通入并吸附在QMA阴离子交换柱上,然后将吸附在QMA阴离子交换柱上的 $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ 用1号试剂洗脱至合成模块的反应瓶中,然后在高纯氮气或氦气保护下升温并保持以除去水分,最后降温;

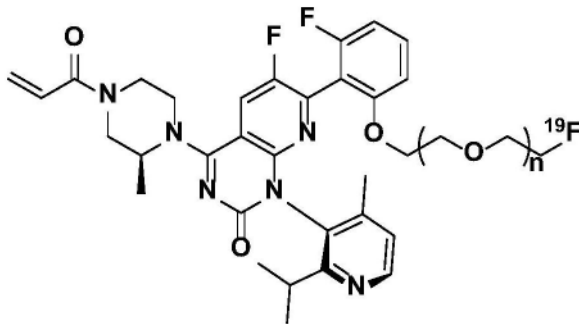
将2号试剂加入所述反应瓶中后升温并保持得混合物C,待混合物C降至室温后向使用注射水稀释得混合物D,将混合物D通过C18反相固相萃取柱,然后用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱至注射器中,得混合液E;

以乙腈为流动相,将混合液E经合成器的制备液相色谱进行分离;

将分离产物通过C18反相固相萃取柱,然后用注射水冲洗,再用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱后经除菌滤器过滤得到含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂。

8.如权利要求1所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的应用,其特征在于:

所述化合物为 $^{19}\text{F}$ -QZLO,其化学结构为:



其中, $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ ;

所述 $^{19}\text{F}$ -QZLO用作稳定标准品。

9.如权利要求1所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的制备方法,其特征在于:

所述化合物为 $^{19}\text{F}$ -QZLO,所述 $^{19}\text{F}$ -QZLO的制备方法包括:

将化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯与四丁基氟化铵加入乙腈中,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到化合物2;

将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中,加入化合物2的乙腈溶液,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到稳定标准品化合物4,即 $^{19}\text{F}$ -QZLO。

## 肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂、制备方法及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种正电子发射型计算机断层显像 (Positron Emission Computed Tomography, PET) 的正电子示踪剂, 具体涉及一种肿瘤鼠类肉瘤病毒癌基因 (kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS) G12C突变靶向正电子示踪剂、制备方法及应用。

### 背景技术

[0002] 肺癌是严重威胁人类健康的重大疾病, 其发病率及致死率居所有肿瘤之首。近年来, 以表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂 (Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI) 为代表的分子靶向药物使EGFR突变型肺癌的疗效得到了革命性的改善, 无进展生存期 (Progression-free survival, PFS) 由传统化疗的4.6-6.7个月大幅提升至8.4-13.1个月。然而, 临床研究也表明29%-63%的EGFR突变患者对EGFR-TKI治疗没有响应。因而, 单纯依靠 EGFR突变的筛选, 难以准确评价和预测肺癌EGFR-TKI的治疗效果, 亟待建立 EGFR-TKI疗效预测的新策略。

[0003] KRAS突变是肺癌中最常见的基因突变之一, KRAS突变会显著降低甚至完全消除肺癌患者对EGFR-TKI的治疗响应, 是重要的疗效预测标志物。基于 KRAS突变对肺癌分子靶向治疗决策和预后的重要作用, 美国临床肿瘤协会 (American Society of Clinical Oncology, ASCO) 等多个国际组织均推荐将KRAS 突变筛查列为肺癌患者常规接受的临床分子检查; 美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 指南指出“KRAS突变与否决定了患者是否还有必要检测其他分子治疗靶点”。因此, 对KRAS突变进行准确检测是肺癌精准诊疗的重大临床需求。然而, 临床现有的KRAS突变检测手段中, 有创的穿刺活检受限于穿刺部位的局限而无法准确反映KRAS的异质性, 循环肿瘤DNA检测存在灵敏度过低的突出问题, 二者均无法完全满足精准诊疗的目标。分子影像可对活体生物分子进行实时、定量、可视化的显像。

[0004] 近年来, KRAS突变靶向分子AMG510和ARS1620等先后问世, 前者已获 FDA批准上市, 其能够通过和KRAS G12C蛋白不可逆结合而抑制其活性, 为 KRAS突变的分子影像提供了崭新的发展机遇。每日口服一次960mg AMG510 治疗的客观缓解率 (Objective Response Rate, ORR, 肿瘤体积缩小 $\geq 30\%$ 的患者比例) 为36% (95%CI: 28-45)、81% (95%CI: 73-87) 的患者实现疾病控制 (达到完全缓解、部分缓解和病情稳定超过3个月的患者比例)。中位缓解持续时间 (Duration of response, DoR) 为10个月。

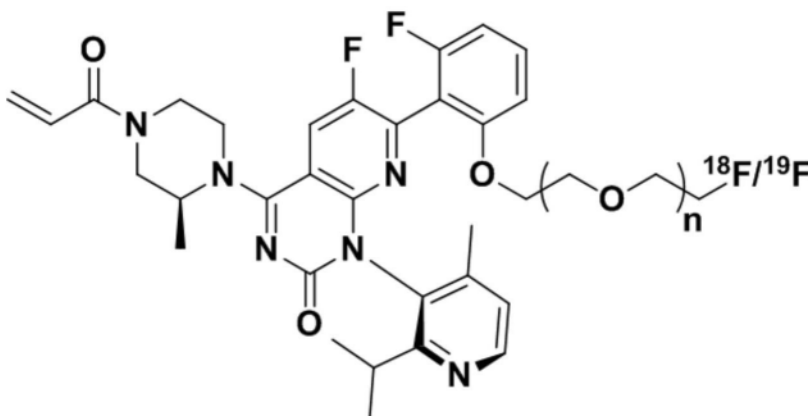
### 发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂、制备方法及应用, 以AMG510为基础对其进行放射性核素 $^{18}\text{F}$ 标记, 构建靶向肿瘤KRAS G12C的正电子示踪剂, 以解决现有KRAS突变检测手段无法完全满足精准诊疗目标的问题。

[0006] 为了达到上述目的, 本发明所采用的技术方案为:

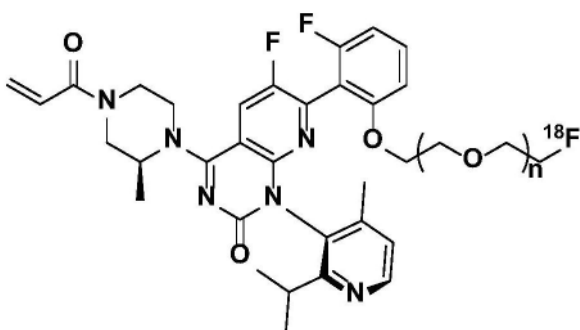
[0007] 提供肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物, 所述化合物为 $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ -QZLO, 其化学结构为:

[0008]

[0009] 其中,  $n=0, 1, 2, 3, 4, 5$  或  $6$ 。

[0010] 另一方面, 提供含有如所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的正电子示踪剂, 所述正电子示踪剂含有的所述化合物为 $^{18}\text{F}$ -QZLO, 其化学结构为:

[0011]

[0012] 其中,  $n=0, 1, 2, 3, 4, 5$  或  $6$ 。

[0013] 进一步地, 所述正电子示踪剂还包括溶剂。

[0014] 进一步地, 所述溶剂为含有乙醇的PBS或注射水或生理盐水溶液。

[0015] 另一方面, 提供如所述的正电子示踪剂的应用, 所述正电子示踪剂用于 KRAS G12C突变阳性肿瘤的核素诊断。

[0016] 另一方面, 提供如所述的正电子示踪剂的制备方法, 所述方法包括:

[0017] 将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中, 加入化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯的乙腈溶液, 并加入无水碳酸钾和碘化钾反应, 经高效液相色谱法分离产品, 冷冻干燥过夜, 得到标记前体化合物5, 即QZLO-OTs;

[0018] 通过自动化合成模块制备含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂。

[0019] 进一步地, 通过自动化合成模块制备含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂具体包括以下步骤:

[0020] 将无水碳酸钾溶于水得溶液A, 将氨基聚醚溶于乙腈中得溶液B, 将溶液A与溶液B混合得1号试剂; 将化合物5即QZLO-OTs溶解于无水乙腈中得2号试剂;

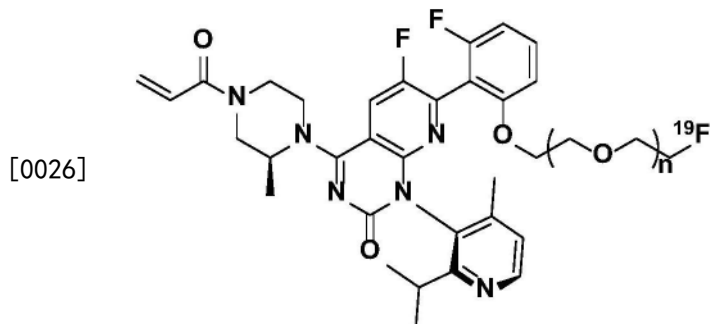
[0021] 将回旋加速器制备的 $^{18}\text{F}$ 氟离子通入并吸附在QMA阴离子交换柱上, 然后将吸附在QMA阴离子交换柱上的 $^{18}\text{F}$ 用1号试剂洗脱至合成模块的反应瓶中, 然后在高纯氮气或氦气保护下升温并保持以除去水分, 最后降温;

[0022] 将2号试剂加入所述反应瓶中后升温并保持得混合物C, 待混合物C降至室温后向使用注射水稀释得混合物D, 将混合物D通过C18反相固相萃取柱, 然后用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱至注射器中, 得混合液E;

[0023] 以乙腈为流动相,将混合液E经合成器的制备液相色谱进行分离;

[0024] 将分离产物通过C18反相固相萃取柱,然后用注射水冲洗,再用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱后经除菌滤器过滤得到含有所述<sup>18</sup>F-QZLO的正电子示踪剂。

[0025] 另一方面,提供如所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的应用,所述化合物为<sup>19</sup>F-QZLO,其化学结构为:



[0027] 其中,n=0,1,2,3,4,5或6;

[0028] 所述<sup>19</sup>F-QZLO用作稳定标准品。

[0029] 另一方面,提供如所述的肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的制备方法,所述化合物为<sup>19</sup>F-QZLO,所述<sup>19</sup>F-QZLO的制备方法包括:

[0030] 将化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯与四丁基氟化铵加入乙腈中,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到化合物2;

[0031] 将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中,加入化合物2的乙腈溶液,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到稳定标准品化合物4,即<sup>19</sup>F-QZLO。

[0032] 与现有技术相比,本发明的有益效果如下:

[0033] 本发明对AMG510标记了放射性核素<sup>18</sup>F,构建PET分子影像探针,用作肿瘤KRAS G12C突变靶向正电子示踪剂,实验表明,具有合适的理化与放射学性质,较为理想的生物学特性,可用于KRAS G12C突变肿瘤的PET成像,有助于此类肿瘤的特异性诊断、靶向治疗药物的选择与疗效评价。

[0034] 本发明选择放射性核素<sup>18</sup>F对AMG510进行标记。因分子骨架中具有碳元素,通常使用放射性核素<sup>11</sup>C进行标记可最小程度的改变分子结构以保证其对受体的亲和性和选择性,但<sup>11</sup>C半衰期较短( $T_{1/2}=20.3\text{min}$ ),需要在线加速器,不利于临床推广;而<sup>68</sup>Ga等金属核素标记需要修饰DOTA等螯合基团,对分子结构改变较大,影响其对受体的亲和性和选择性;因此,相较于这些核素,<sup>18</sup>F 具有适合的半衰期( $T_{1/2}=109.8\text{min}$ ),使得示踪剂在标记制备及临床使用过程中均有较为充分的时间,且在AMG510羟基端上连接乙二醇或聚乙二醇链后,在其末端标记放射性核素<sup>18</sup>F对分子结构影响较小,可保证其对受体的亲和性和选择性,同时聚乙二醇链能够降低化合物脂溶性,利于临床应用。

## 附图说明

[0035] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本

发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他实施例的附图。

[0036] 图1为本发明实施例1制备的化合物2的HRMS图。

[0037] 图2为本发明实施例1制备的化合物4的HRMS图。

[0038] 图3为本发明实施例1制备的化合物5的HRMS图。

[0039] 图4为本发明实施例1制备的 $^{18}\text{F}$ -QZLO Allinone模块标记示意图。

[0040] 图5为本发明实施例1制备的 $^{18}\text{F}$ -QZLO放射性高效液相色谱 (Radio-HPLC) 图。

[0041] 图6为本发明实施例1制备的 $^{18}\text{F}$ -QZLO体外稳定性结果图。

[0042] 图7为本发明实施例1制备的 $^{18}\text{F}$ -QZLO在正常小鼠体内分布结果图。

[0043] 图8为本发明实施例1制备的 $^{18}\text{F}$ -QZLO在KRAS G12C突变荷瘤小鼠PET 成像结果图。

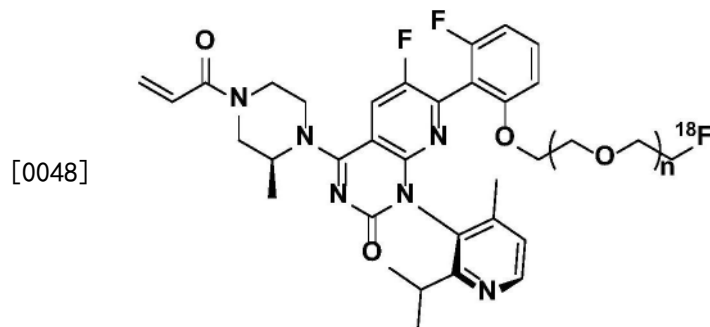
### 具体实施方式

[0044] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的较佳实施方式。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施方式。相反地,提供这些实施方式的目的是使对本发明的公开内容理解的更加透彻全面。

[0045] 应注意到,相似的标号和字母表示类似项,因此,一旦某一项在一个实施例中被定义,则在随后的实施例中不需要对其进行进一步定义和解释。在某些实施例中以步骤的方式描述了具体实施过程,仅是为了清晰、准确的表达,不应被理解为是对顺序的局限。另外,实施例描述过程里,步骤中所使用的化学物质均为现有物质或市售商品。

[0046] AMG510 (Sotorasib) 是一种小分子、特异性、不可逆KRAS G12C抑制剂,可特异性地与KRAS G12C蛋白不可逆结合而抑制其活性,干扰KRAS G12C蛋白上GDP的解离,通过将KRAS G12C蛋白锁定在失活的GDP-bound状态,抑制KRAS介导的信号传导。正电子发射型计算机断层显像 (Positron Emission Computed Tomography, PET) 是核医学领域的临床检查影像技术,在检查过程中涉及标记物,注入人体后,通过对该物质在代谢中的聚集,来反映生命代谢活动的情况,从而达到诊断的目的。目前尚未见对AMG510进行放射性核素标记的报道,也未见将其用作PET成像的正电子示踪剂进行KRAS G12C突变阳性肿瘤的放射性诊断。

[0047] 本发明在AMG510羟基端上连接乙二醇或聚乙二醇链,并标记放射性核素 $^{18}\text{F}$ ,获得肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物,构建PET分子影像探针,制备靶向肿瘤KRAS G12C的PET成像正电子示踪剂,使得基于AMG510制备示踪剂进行PET检查具有了可行性,命名为 $^{18}\text{F}$ -Quinazolineone (喹唑啉酮, quinazolineone),即 $^{18}\text{F}$ -QZLO,其化学结构为:



[0049] 含有 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂中还包括溶剂,溶剂可采用含有乙醇的PBS 或注射

水或生理盐水溶液,在制备过程中的相应步骤中添加。该正电子示踪剂结构中含有靶向KRAS G12C突变蛋白的配体AMG510和用于放射性核素标记的PEG链,因此可用于KRAS G12C突变阳性肿瘤的核素诊断。

[0050] 含有 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂的制备方法为:

[0051] 将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中,加入化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯的乙腈溶液,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到标记前体化合物5,即QZLO-OTs;

[0052] 通过自动化合成模块制备含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂,包括:

[0053] 将无水碳酸钾溶于水中得溶液A,将氨基聚醚溶于乙腈中得溶液B,将溶液A与溶液B混合得1号试剂;将化合物5即QZLO-OTs溶解于无水乙腈中得2号试剂;

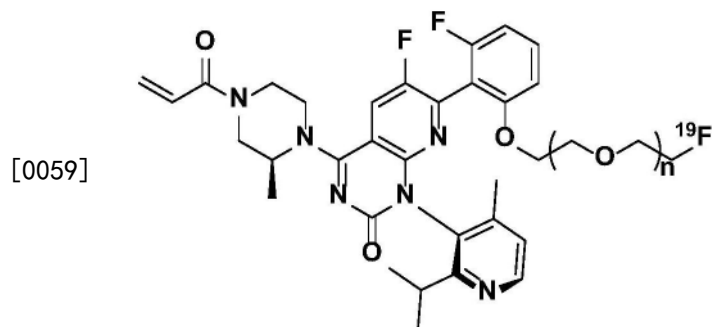
[0054] 将回旋加速器制备的 $^{18}\text{F}$ 氟离子通入并吸附在QMA阴离子交换柱上,然后将吸附在QMA阴离子交换柱上的 $^{18}\text{F}$ F用1号试剂洗脱至合成模块的反应瓶中,然后在高纯氮气或氩气保护下升温并保持以除去水分,最后降温;

[0055] 将2号试剂加入所述反应瓶中后升温并保持得混合物C,待混合物C降至室温后向使用注射水稀释得混合物D,将混合物D通过C18反相固相萃取柱,然后用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱至注射器中,得混合液E;

[0056] 以乙腈为流动相,将混合液E经合成器的制备液相色谱进行分离;

[0057] 将分离产物通过C18反相固相萃取柱,然后用注射水冲洗,再用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱后经除菌过滤器过滤得到含有所述 $^{18}\text{F}$ -QZLO的正电子示踪剂。

[0058] 本发明还提供了另一肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物 $^{19}\text{F}$ -Quinazolineone ( $^{19}\text{F}$ -QZLO),通过 $^{18}\text{F}$ 标记,可作为稳定标准品,化学结构为:



[0060]  $^{19}\text{F}$ -QZLO的制备方法为:

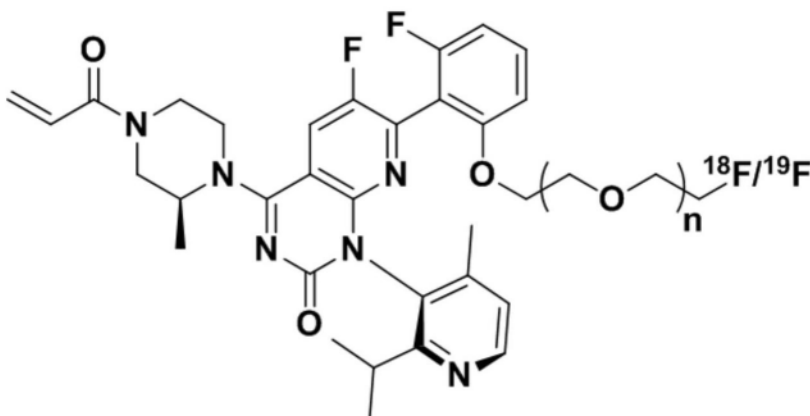
[0061] 将化合物1即乙二醇双对甲苯磺酸酯与四丁基氟化铵加入乙腈中,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到化合物2;

[0062] 将化合物3即AMG510溶于二甲基亚砜中,加入化合物2的乙腈溶液,并加入无水碳酸钾和碘化钾反应,经高效液相色谱法分离产品,冷冻干燥过夜,得到稳定标准品化合物4,即 $^{19}\text{F}$ -QZLO。

[0063] 上述两个肿瘤KRAS G12C突变靶向化合物的通式为:



[0064]



[0065] 结构包括KRAS G12C靶向配体AMG510、乙二醇或聚乙二醇 (PEG) 链,以及标记核素 $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ 。其中, $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ 。

[0066] 两个化合物可以通过同一合成路线制备, $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$ -QZLO的合成路线具体为:

[0067] 步骤1:化合物1为乙二醇双对甲苯磺酸酯,化合物1经反应条件“a”得到化合物2,反应条件“a”为:TBAF, $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,ACN,KI, $90^\circ\text{C}$ 。

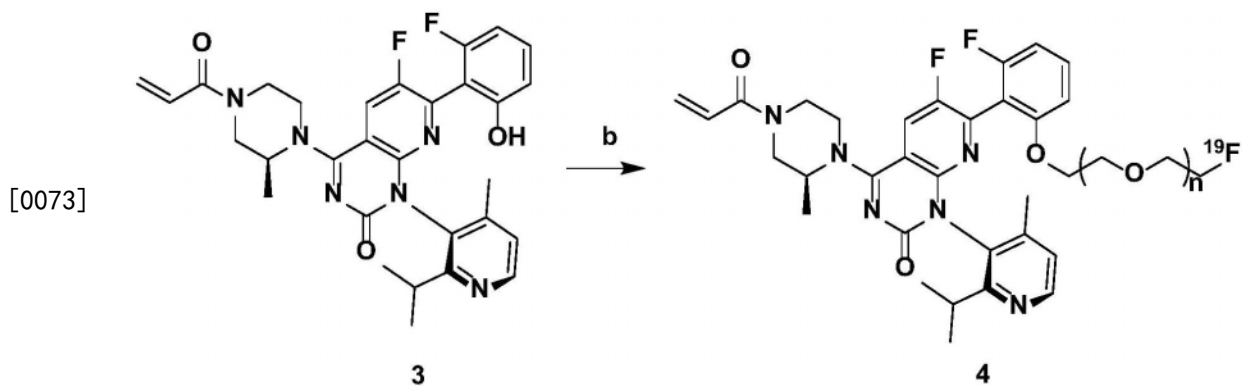


[0069]  $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ 。

[0070] 步骤1具体为:

[0071] 将化合物1与四丁基氟化铵 (TBAF) 1:1加入乙腈 (ACN) 中,并加入3 倍当量无水碳酸钾 ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) 和微量KI,在 $90^\circ\text{C}$ 下搅拌12小时。经高效液相色谱法 (HPLC) 分离产品,冷冻干燥过夜,得到化合物2。

[0072] 步骤2:化合物3为AMG510,化合物3经反应条件“b”得到化合物4,反应条件“b”为:化合物2, $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,KI,DMSO,ACN, $90^\circ\text{C}$ 。

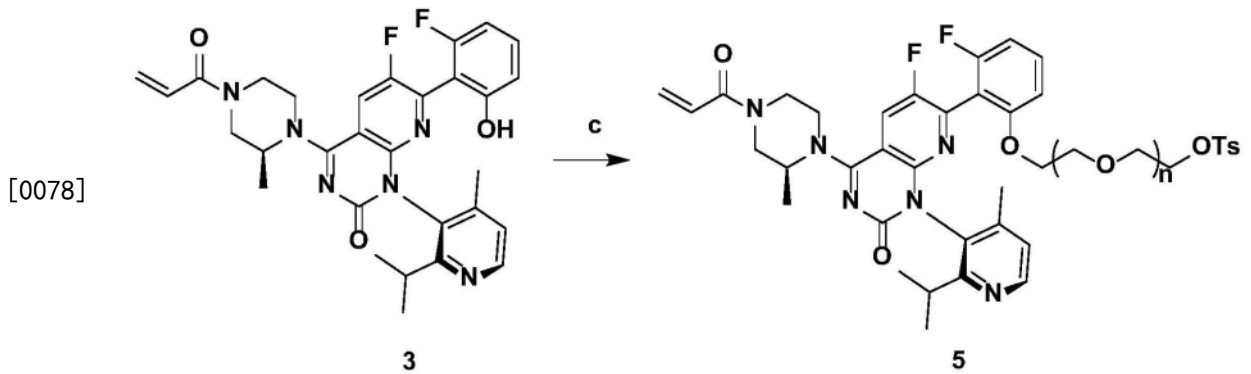


[0074]  $n=0,1,2,3,4,5$ 或 $6$ 。

[0075] 步骤2具体为:

[0076] 将化合物3溶于二甲基亚砷 (DMSO) 中,加入2倍当量化合物2的乙腈溶液,并加入3倍当量无水碳酸钾和微量KI,在 $90^\circ\text{C}$ 下搅拌12小时。经HPLC 分离产品,冷冻干燥过夜,得到稳定标准品化合物4,命名为 $^{19}\text{F}$ -QZLO。

[0077] 步骤3:化合物3AMG510,化合物3经反应条件“c”得到化合物5,反应条件“c”为:化合物1, $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,KI,ACN,DMSO, $90^\circ\text{C}$ 。

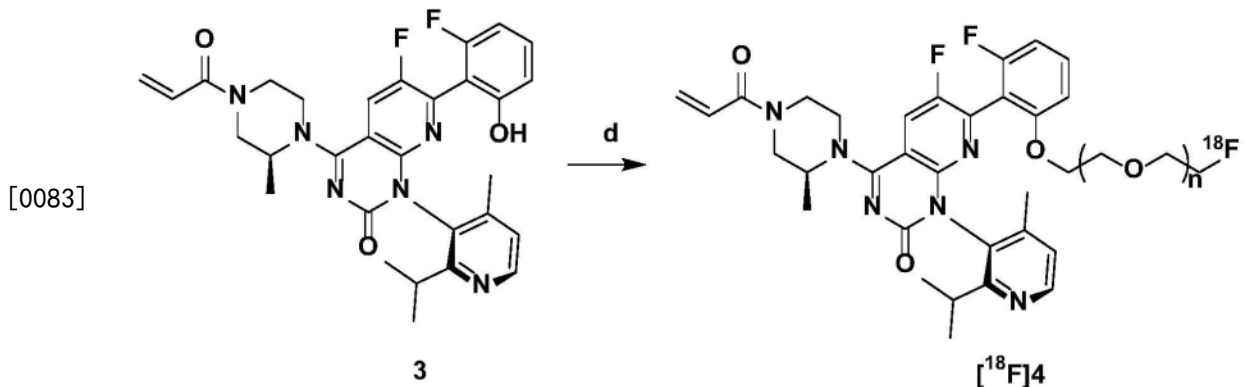


[0079]  $n=0,1,2,3,4,5$ 或6。

[0080] 步骤3具体为:

[0081] 将化合物3溶于二甲基亚砜中,加入2倍当量化合物1的乙腈溶液,并加入3倍当量无水碳酸钾和微量KI,在90℃下搅拌12小时。经HPLC分离产品,冷冻干燥过夜,得到标记前体化合物5,命名为QZLO-OTs。

[0082] 步骤4:化合物5经反应条件“d”得到 $^{18}\text{F}$ -QZLO,反应条件“d”为: $^{18}\text{F}^-$ , Kryptofix 2.2.2, $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,ACN,10min,100℃。



[0084]  $n=0,1,2,3,4,5$ 或6。

[0085] 步骤4具体为:

[0086] 步骤4.1:将无水碳酸钾溶于水得溶液A,将氨基聚醚(Kryptofix 2.2.2)溶于乙腈中得溶液B,将溶液A与溶液B混合得1号试剂;将化合物5溶解于无水乙腈中得2号试剂;

[0087] 步骤4.2:将回旋加速器制备的 $^{18}\text{F}$ 氟离子通入并吸附在QMA阴离子交换柱上,然后将吸附在QMA阴离子交换柱上的 $^{18}\text{F}^-$ 用1号试剂洗脱至合成器的反应瓶中,然后在高纯氮气或氩气保护下升温至60℃并保持1.0min,升温至85℃并保持2.0min,然后再升温至120℃并保持2.0min,最后降至60℃;

[0088] 步骤4.3:将2号试剂加入所述反应瓶中后升温至100℃并保持10.0min得混合物C,待混合物C降至室温后向使用注射水稀释得混合物D,将混合物D通过C18反相固相萃取柱,然后用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱至注射器中,得混合液E;

[0089] 步骤4.4:以45%乙腈为流动相,将混合液E经合成器的制备液相色谱进行分离;

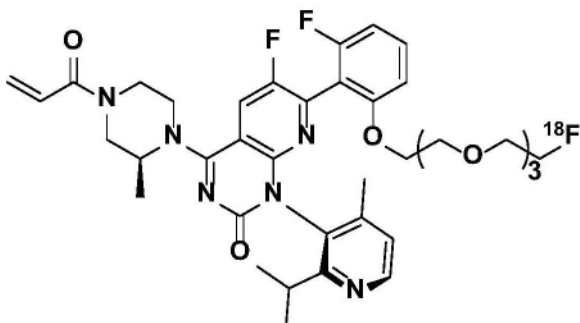
[0090] 步骤4.5:将分离产物用注射水稀释后通过C18反相固相萃取柱,然后用注射水冲洗,再用无水乙醇和注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱后经除菌过滤器过滤

得到含有<sup>18</sup>F-QZLO的正电子示踪剂。

[0091] 实施例1:

[0092] 制备含有

[0093]



[0094] 即具有四聚乙二醇链的<sup>18</sup>F-QZLO的正电子示踪剂:

[0095] 步骤1:化合物1,即四乙二醇双对甲苯磺酸酯(1.05g,2.09mmol)、四丁基氟化铵(TBAF,0.55g,2.10mmol)、无水碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>,0.89g,6.44mmol)和微量KI加入2mL乙腈中,在90℃下回流搅拌12小时。经HPLC分离产品,冷冻干燥过夜,得到黄色油状物化合物2(0.51mg,69.6%)。HRMS(ESI-Tof),[M+H]<sup>+</sup>:m/z calculated for C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>F<sub>0</sub>S<sup>+</sup>351.1272,found 351.0597。

[0096] 步骤2:将化合物3即AMG510(3,26.2mg,0.047mmol)溶于0.2mL无水DMSO中,加入0.8mL化合物2(27.6mg,0.079mmol)的乙腈溶液,形成淡黄色透明溶液。加入无水碳酸钾(25.9mg,0.19mmol)后,溶液呈黄色加深,加热回流反应12小时。通过HPLC纯化获得产品,冷冻干燥过夜,得到白色粉末化合物4,即稳定标准品(<sup>19</sup>F-QZLO,13.8mg,39.8%)。HRMS(ESI-Tof),[M+H]<sup>+</sup>:m/z calculated for C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>739.3425,found 739.1376。

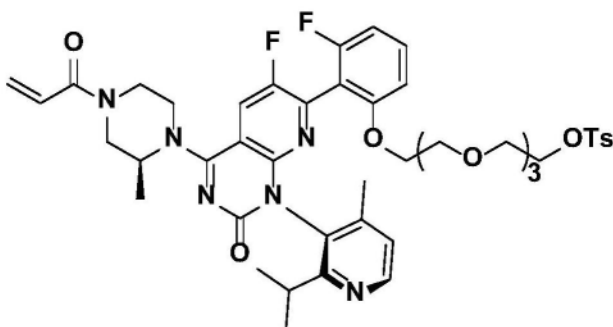
[0097] 步骤3:化合物1(136.0mg,0.28mmol)和化合物3(81.2mg,0.14mmol)采用与化合物4相同的合成方法,得到标记前体化合物5为白色固体,即标记前体(QZLO-OTs,43.0mg,15.5%)。HRMS(ESI-Tof),[M+H]<sup>+</sup>:m/z calculated for C<sub>45</sub>H<sub>52</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>S<sup>+</sup>890.3485,found 891.1248。

[0098] 步骤4:<sup>18</sup>F-QZLO通过Trasis Allinone自动化合成模块制备。

[0099] 步骤4.1:将3.0mg碳酸钾(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)溶于0.2mL水中得溶液A,将13.0mg氨基聚醚(Kryptofix 2.2.2,K<sub>2.2.2</sub>)溶于0.8mL乙腈(Acetonitrile,ACN)中得溶液B,将溶液A与溶液B混合得1号试剂;

[0100] 将2.0mg QZLO-OTs溶解于1.0mL无水乙腈中得2号试剂。所述QZLO-OTs为具有下所示结构的化合物:

[0101]



[0102] 步骤4.2:将回旋加速器制备的 $^{18}\text{F}$ 氟离子( $^{18}\text{F}^-$ , 300mCi, 2.5mL)通入并吸附在QMA阴离子交换柱上,然后将吸附在QMA阴离子交换柱上的 $^{18}\text{F}^-$ 用1号试剂洗脱至合成器的反应瓶中,然后在高纯氮气( $\text{N}_2$ )保护下升温至60℃并保持1.0min,升温至85℃并保持2.0min,然后再升温至120℃并保持2.0 min,最后降至60℃;

[0103] 步骤4.3:将2号试剂加入所述反应瓶中后升温至100℃并保持10.0min得混合物C,待混合物C降至室温后向使用注射水(water for injection)稀释至15 mL得混合物D,将混合物D通过C18反相固相萃取柱,然后用2.0mL无水乙醇(anhydrous ethanol)和2.0mL注射水依次将C18反相固相萃取柱上的吸附物洗脱至注射器中,得混合液E;

[0104] 步骤4.4:以45%乙腈为流动相,流速4mL/min,将混合液E经合成器的制备液相色谱进行分离,收集 $\gamma$ 色谱图上保留时间为21~23min的分离产物于50 mL中转瓶中(含25mL注射水);

[0105] 步骤4.5:将分离产物通过C18反相固相萃取柱,然后用10mL注射水冲洗,再用1.5mL无水乙醇(anhydrous ethanol)和13.5mL注射水依次将反相固相萃取柱上的吸附物洗脱后经除菌滤器(Merck Millipore MILLEX-GV 0.22 $\mu\text{m}$  SLGVR33RB)过滤得到可供注射的 $^{18}\text{F}$ -QZLO溶液(含10%乙醇)。

[0106] 本实施例制备时间约为90分钟,总的放射化学产率为 $21.53 \pm 1.46\%$  ( $n=3$ ,经衰变校正),放射化学纯度大于99%。

[0107] 本实施例制备的正电子示踪剂,其性能测定描述如下:

[0108] (1)放射性高效液相色谱(Radio-HPLC)鉴定:

[0109] HPLC条件:色谱柱为十八烷基键合硅胶反相色谱柱(Inertsil ODS-SP, 4.6 mm $\times$  250mm, 5 $\mu\text{m}$ , Shimadzu公司),流动相为乙腈和水( $v:v=50:50$ ),等度洗脱,流速1mL/min。 $^{18}\text{F}$ -QZLO保留时间为14.5min,放射化学纯度大于99%,高于药典中对 $^{18}\text{F}$ -脱氧葡萄糖放射化学纯度大于90%的规定标准(中国药典2020年版,二部)。Radio-HPLC结果见图5。

[0110] (2)检查:

[0111] pH值为5.0~8.0(中国药典2020年版,二部,附录VI H)。细菌内毒素检测:取适量本品(即经除菌滤器过滤后得到可供注射的 $^{18}\text{F}$ -QZLO溶液),以细菌内毒素检查用水稀释60倍后,依照标准方法进行检测(中国药典2020年版,二部,附录XI E),本品每1mL的内毒素含量小于15EU。无菌检查:取适量本品,依照标准方法进行检测(中国药典2020年版,二部,附录XI H),本品符合要求。

[0112] (3)放射性浓度:精确量取一定体积的本品,置于活度计中测量活度,根据样品体积及其活度计算放射性浓度。本品放射性浓度大于110MBq/mL。

[0113] (4)有效期:从标定时刻开始计算6h。

[0114] (5)脂溶性:经摇瓶法测得 $^{18}\text{F}$ -QZLO脂溶性为 $\log D=2.17 \pm 0.08$ 。

[0115] (6)正常小鼠体内分布:图7为 $^{18}\text{F}$ -QZLO在正常小鼠体内分布结果图。结果显示, $^{18}\text{F}$ -QZLO在各脏器摄取值相近,主要通过肠道代谢排出体外。且可以看到 $^{18}\text{F}$ -QZLO在体内脱氟现象不明显,注射2小时后骨摄取约4% ID/g。

[0116] (7)KRAS G12C突变荷瘤小鼠PET成像:在H358异种移植的小鼠中,进行了1小时的动态PET/CT成像。如图7所示,给药后立即能够观察到肿瘤,其摄取量为3.98% ID/g,并随时间推移略有增加。这表明 $^{18}\text{F}$ -QZLO在尾静脉注射后立即随血液到达肿瘤部位,并通过与

Cys12不可逆的结合而摄取。同时,肌肉的摄取也随着时间的推移而增加,肿瘤与肌肉(T/M)的比例在5分钟时达到最大值( $T/M=2.27$ ),30分钟后肿瘤与肌肉(T/M)的比例基本保持在1.7左右,说明 $^{18}\text{F}$ -QZLO的分布在静脉注射30分钟后达到平衡。我们还可以从成像结果中看到, $^{18}\text{F}$ -QZLO在肝脏中有较高的初始摄取量,并通过胆汁和肠道迅速代谢和排泄,与正常小鼠体内分布结果相吻合。

[0117] 图6为 $^{18}\text{F}$ -QZLO的体外稳定性结果图,室温孵育2h后 $^{18}\text{F}$ -QZLO在生理盐水中放射化学纯度仍大于99%,表明 $^{18}\text{F}$ -QZLO具有高的生理盐水稳定性,有利临床使用。

[0118] 以上应用了具体个例对本发明进行阐述,只是用于帮助理解本发明,并不用以限制本发明。对于本发明所属技术领域的技术人员,依据本发明的思想,还可以做出若干简单推演、变形或替换。

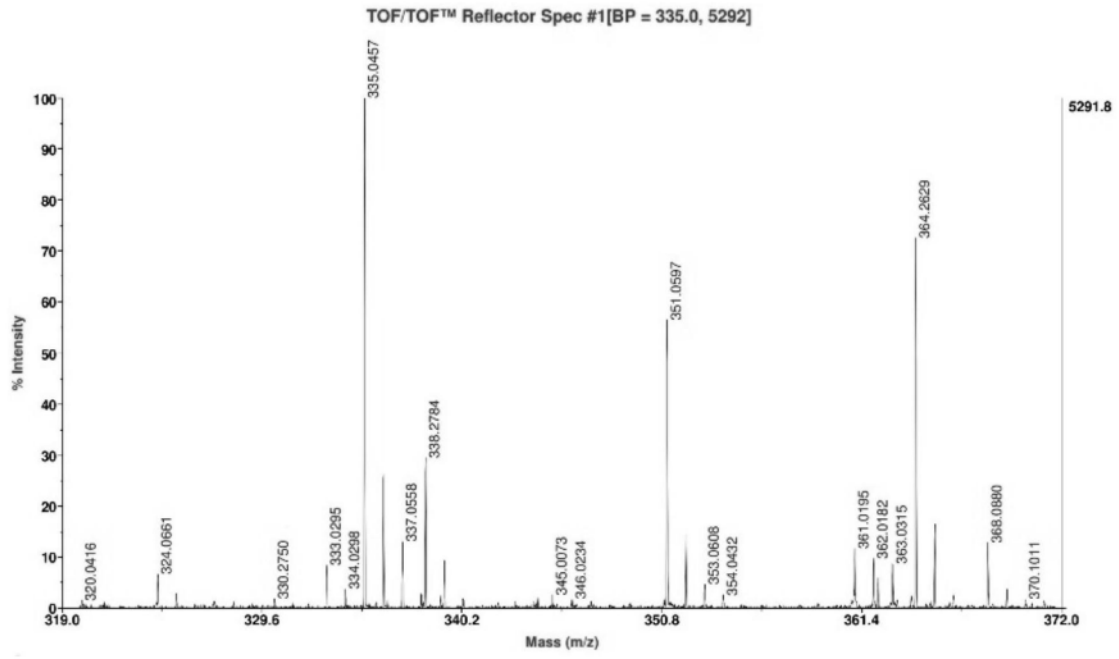


图1

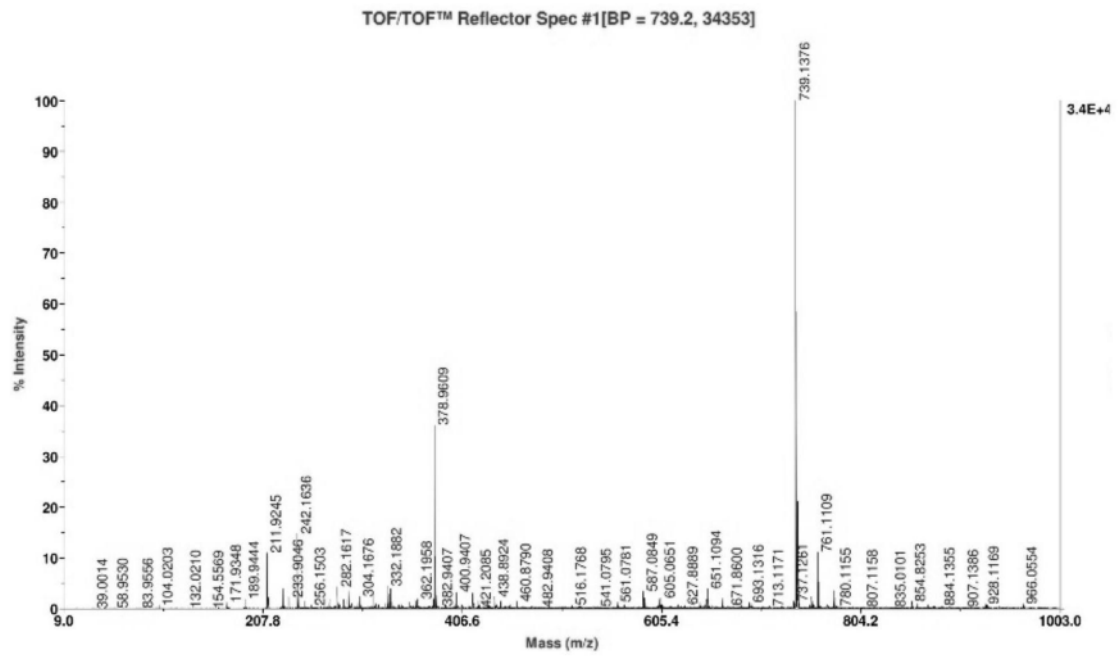


图2



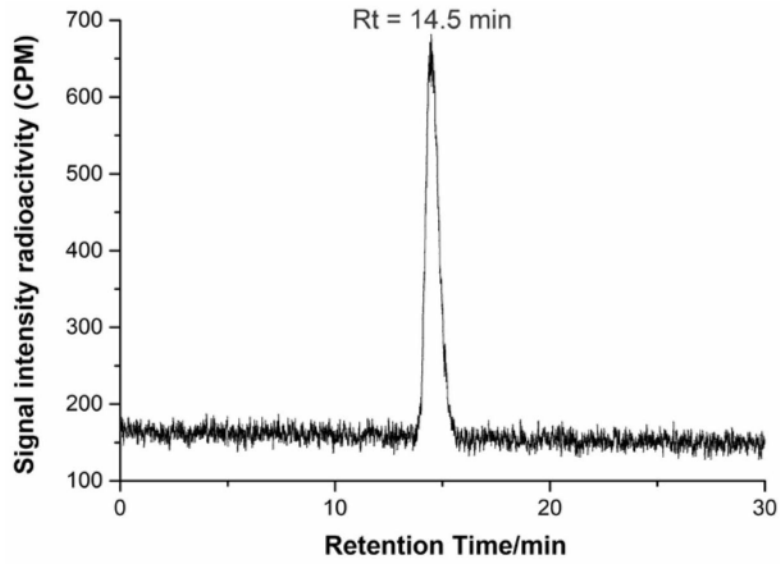


图5

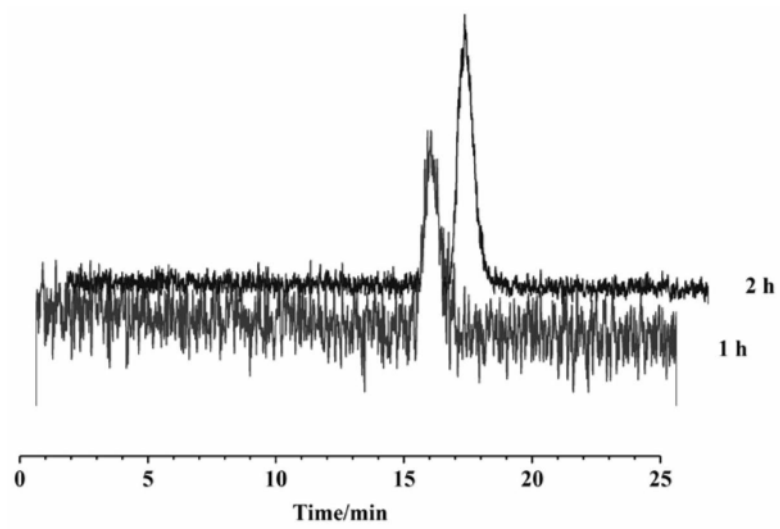


图6



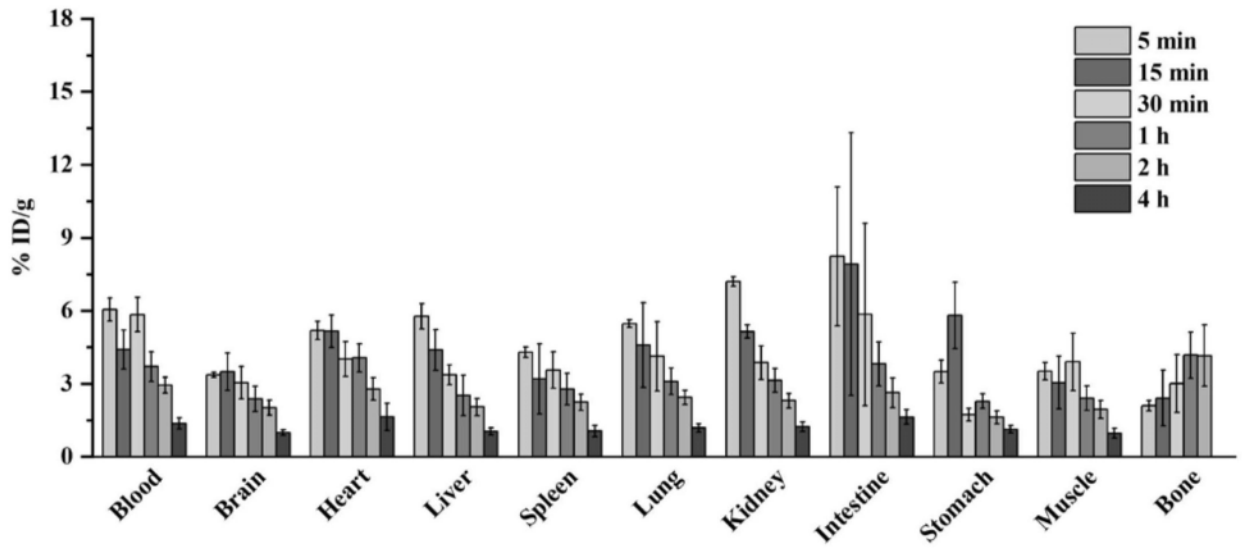


图7

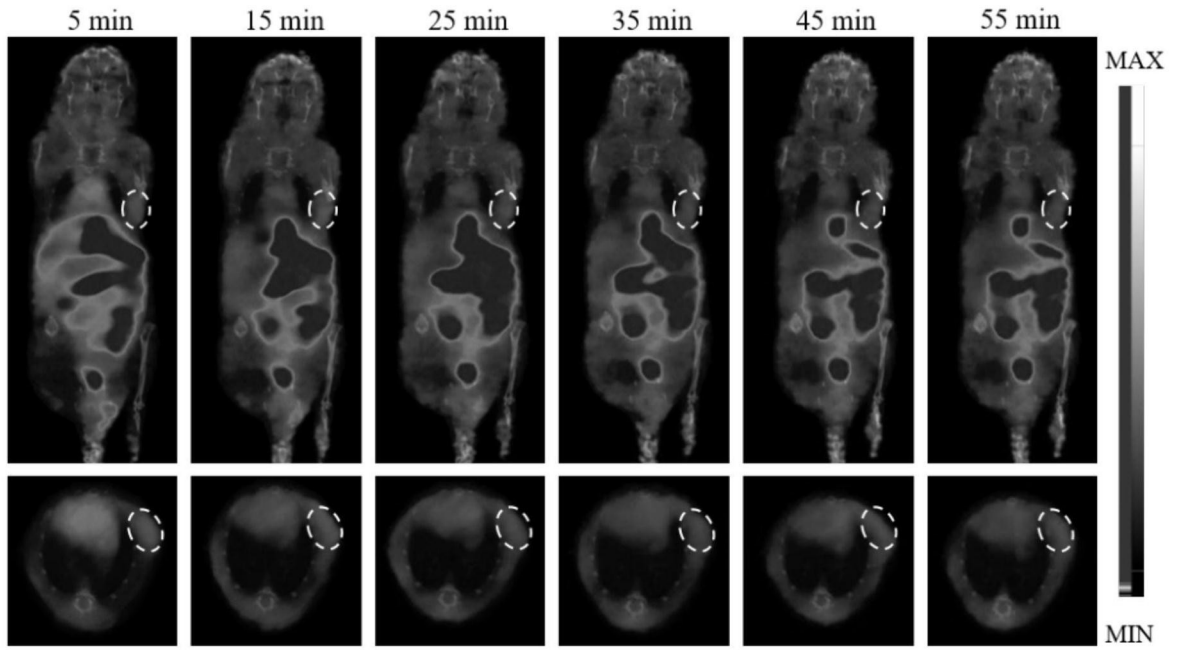


图8