



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115260160 B

(45) 授权公告日 2023. 06. 20

(21) 申请号 202211006861.1

C07B 59/00 (2006.01)

(22) 申请日 2022.08.22

A61K 31/4709 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 31/655 (2006.01)

申请公布号 CN 115260160 A

A61P 35/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2022.11.01

审查员 卢梦霞

(73) 专利权人 烟台蓝纳成生物技术有限公司

地址 264199 山东省烟台市牟平区滨海东路500号52号楼101号

(72) 发明人 徐鹏飞 陈小元 吴晓明 杨清宝 何田 张静静

(74) 专利代理机构 北京兆君联合知识产权代理事务所(普通合伙) 11333 专利代理师 刘俊玲

(51) Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

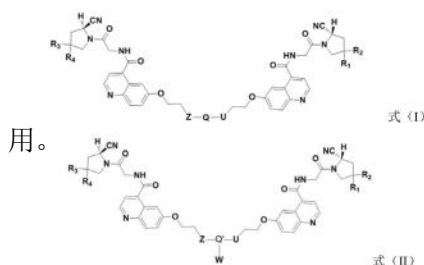
权利要求书4页 说明书17页 附图6页

(54) 发明名称

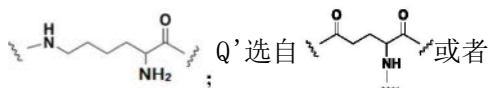
一种靶向成纤维细胞活化蛋白FAP的化合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种靶向FAP蛋白的二聚体的化合物,结构如下式(I)、(II)所示,其中R₁、R₂、R₃和R₄相同或不同,均独立的选自H或F;Z和U为相同或不同的连接结构,分别独立地选自-NH-或基于



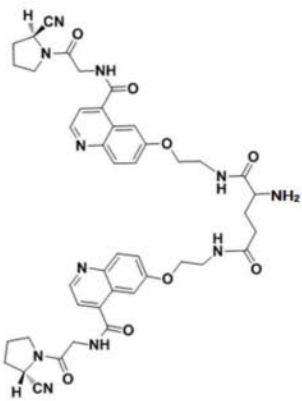
于-(CH₂)_n-的替换结构;Q选自



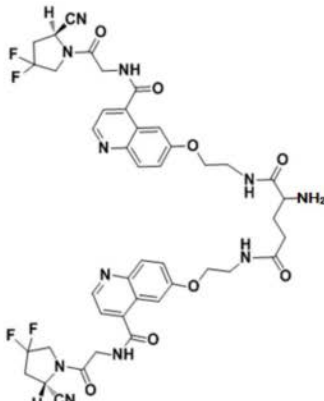
W为可螯合核素的结构。本发明

还提供基于所述靶向化合物的放射性核素标记化合物,及其制备方法和诊断或治疗以成纤维细胞活化蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病中的应

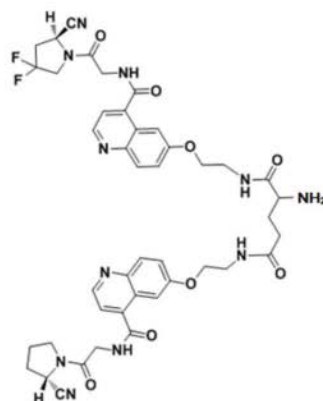
1. 以下任意一种结构的靶向FAP蛋白的二聚体化合物或其药学上可用的盐：



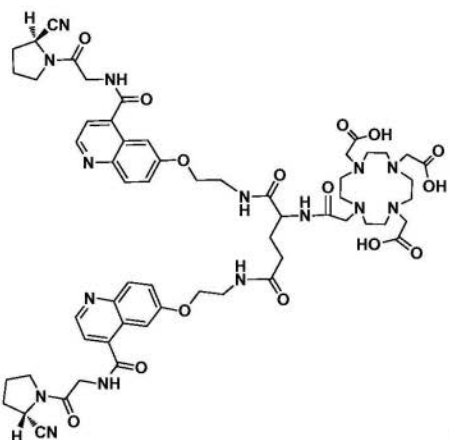
(I-1)



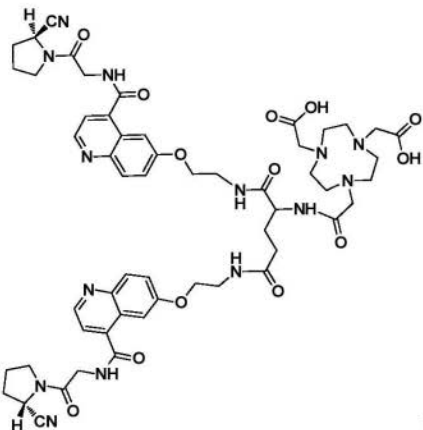
(I-2)



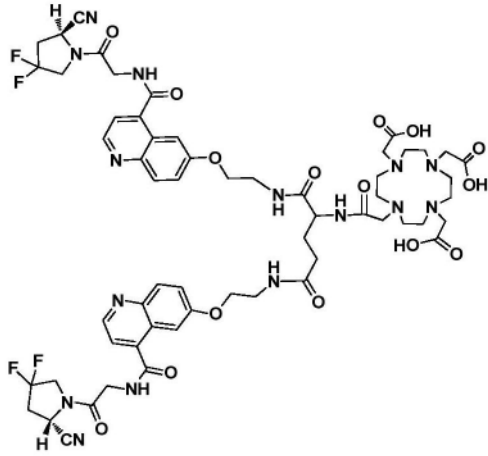
(I-3)



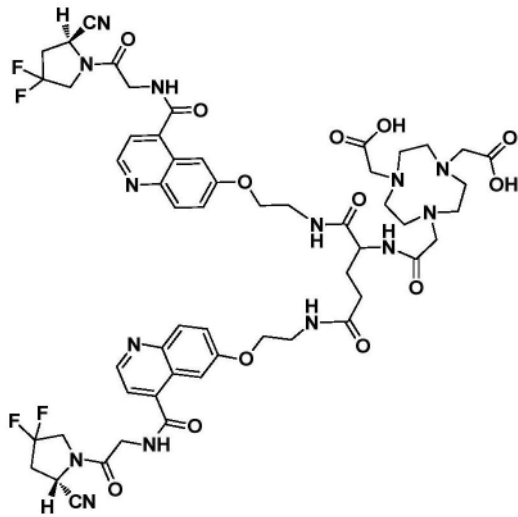
式 (II-1)



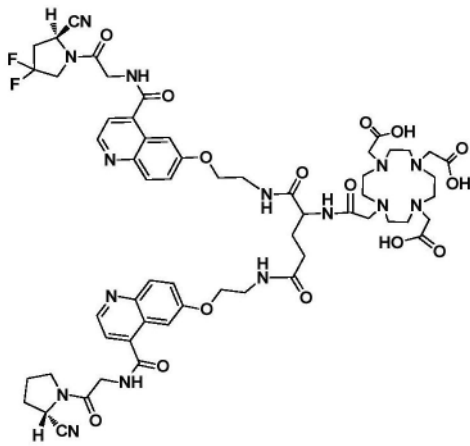
式 (II-2)



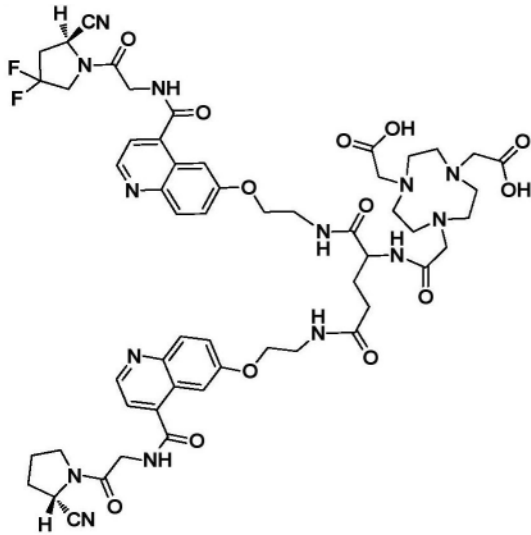
式 (II-3)



式 (II-4)



式 (II-5)



式 (II-6)。

2. 一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物,它是权利要求1所述的式(II-1)~式(II-6)所示的化合物标记了放射性核素得到的;所述的放射性核素选自 ^{18}F 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{188}Re 或 ^{225}Ac 。

3. 制备权利要求1所述的式(I-1)~(I-3)所示化合物的方法,包括:

①制备单体

将6-羟基喹啉-4-羧酸的羧羟基与甘氨酸叔丁酯的氨基发生酰胺缩合反应得到中间体I;

然后再使中间体I的羟基与N-Boc-溴乙胺发生缩合反应得到含有保护的氨基和保护的羧基的中间体II;

中间体II中的羧基脱保护后与(S)-吡咯烷-2-甲脒盐酸盐或(S)-4,4-二氟吡咯烷-2-甲脒盐酸盐发生酰胺缩合反应,得到含有保护的氨基的中间体III;

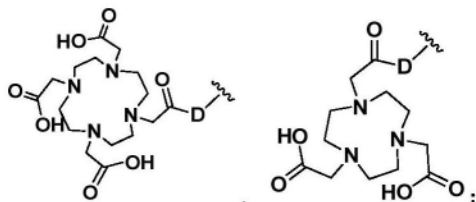
中间体III中氨基脱保护后得到中间体IV,中间体IV的氨基与叔丁氧羰基-L-谷氨酸-5-叔丁酯的羧羟基发生缩合反应,得到一类含有保护的氨基和保护的羧基的中间体V;

②合成二聚体

先将中间体V的羧基脱保护,并与①所得的任意一种中间体IV的氨基发生缩合反应,得到中间体VI;中间体VI脱保护后即式(I-1)~(I-3)所示的靶向FAP蛋白的二聚体化合物。

4. 制备权利要求1所述的式(II-1)~(II-6)所示化合物的方法,包括:

脱除权利要求3所得的中间体VI的Boc保护基;引入螯合基团部分W,W是以下结构中的任意一种:



其中D是-NH-;

得到一种可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物,即式(II-1)~(II-6)所示的化合物。

5. 制备权利要求2所述放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物的方法,包括:

将权利要求4所述的式(II-1)~(II-6)所示的化合物与含放射性核素的化合物按照现有的湿法标记方法或冻干法标记法反应,即可制备得到所述的放射性核素标记的靶向化合物。

6.一种药物组合物,其特征在于:包含权利要求1所述的任意一种靶向FAP蛋白的二聚体化合物、权利要求2所述的任意一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或它们在药学上可接受的盐。

7.权利要求1所述的式(II-1)~(II-6)所示的任意一种靶向FAP蛋白的二聚体化合物、权利要求2所述的任意一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或它们在药学上可接受的盐、或权利要求6所述的药物组合物在制备用于诊断或治疗动物或人类个体的以成纤维细胞激活蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病的药物中的应用。

8.权利要求7所述的应用,其特征在于:所述的以成纤维细胞激活蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病包括:癌症、慢性炎症、动脉粥样硬化、纤维化、组织重塑和瘢痕病。

9.权利要求8所述的应用,其特征在于,所述的癌症选自乳腺癌、胰腺癌、小肠癌、结肠癌、直肠癌、肺癌、头颈癌、卵巢癌、肝细胞癌、食道癌、下咽癌、鼻咽癌、喉癌、骨髓瘤细胞、膀胱癌、胆管细胞癌、透明细胞肾癌、神经内分泌肿瘤、致癌性骨软化症、肉瘤、CUP(原发性未知癌)、胸腺癌、胶质瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、子宫颈癌或前列腺癌。

10.一种试剂盒,其包含或组成为:①权利要求1所述的式(II-1)~(II-6)所示的任意一种靶向FAP蛋白的二聚体化合物、权利要求2所述的任意一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或它们在药学上可接受的盐、或权利要求6所述的药物组合物;②用于诊断疾病的说明书。

一种靶向成纤维细胞活化蛋白FAP的化合物及其制备方法和应用

技术领域

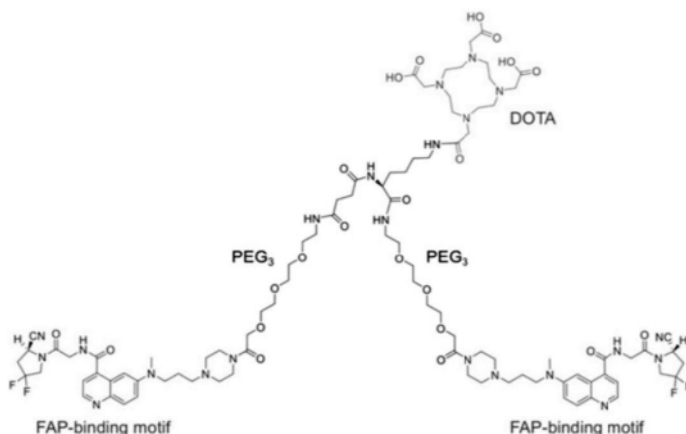
[0001] 本发明涉及核医学与分子影像学领域,具体地涉及一种化合物、包含或组成为所述化合物的药物组合物、包含或组成为所述化合物或药物组合物的试剂盒,以及所述化合物或药物组合物在诊断或治疗以成纤维细胞活化蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病中的用途。

背景技术

[0002] 成纤维细胞活化蛋白(Fibroblast activation protein,FAP)是一种膜丝氨酸蛋白酶,表达于肿瘤间质活化的成纤维细胞表面,在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用。既往研究表明,FAP在正常人组织中一般无表达,但是选择性地高表达于90%以上的上皮恶性肿瘤的基质成纤维细胞表面,包括乳腺癌、食管癌、甲状腺癌、卵巢癌、肺癌、结直肠癌、胃癌和胰腺癌等。鉴于其在肿瘤中的广泛表达及重要作用,FAP已成为肿瘤显像和治疗的重要靶点。

[0003] 放射性核素标记的以喹啉酸衍生物为代表的成纤维细胞活化蛋白抑制剂(FAPI)已在肿瘤精准成像领域取得了重要进展。例如,FAPI-02和FAPI-04等PET/CT显像剂已实现30余种不同类型的肿瘤特异性显像。目前报道的FAPI在血液循环中被快速清除,同时在肿瘤部位被快速洗脱。这种代谢特性对于治疗而言十分不利,因为快速代谢和洗脱导致肿瘤部位有效剂量较低、保留时间过短,需要使用高剂量或更频繁的给药方式以满足治疗需求,增加了不良反应的可能性。基于多价效应,陈皓鋆等人(J Nucl Med.2022Jun;63(6):862-868)开发了一个基于FAPI46结构的二聚体,该二聚体的结构如下:

[0004]



[0005] 这类二聚体FAPI虽然能够提高肿瘤的摄取和滞留时间,但在肾脏、血池、肝脏、甲状腺和胰腺中观察到较高的生理摄取。本领域公知的是,正常器官中的高背景摄取导致相对较低的肿瘤与背景比值,会影响病变部位的检出效率,增加治疗应用时的潜在风险。因此有必要对二聚体FAPI的结构进行优化,使其具有适宜的代谢动力学、较高的肿瘤摄取剂量和较长的肿瘤保留时间,满足核素治疗和显像需求。

发明内容

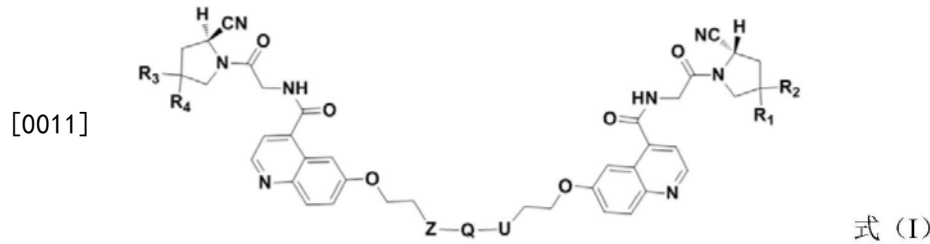
[0006] 鉴于上述背景,本发明的首要目的在于:开发一种靶向成纤维细胞活化蛋白(FAP)新的化合物结构。

[0007] 本发明的另一个目的在于:提供制备所述的新化合物的方法。

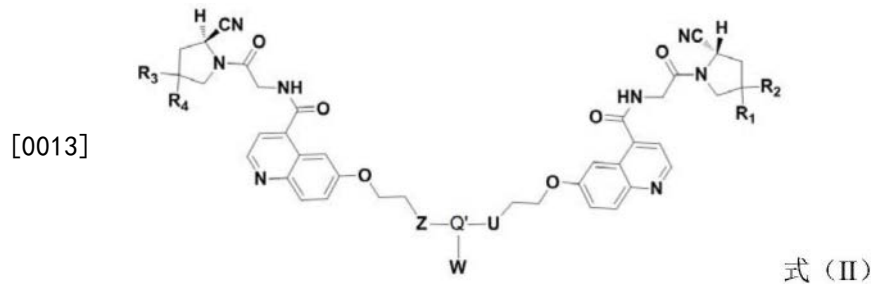
[0008] 本发明的再一个目的在于:提供所述化合物在诊断或治疗以成纤维细胞活化蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病中的应用。

[0009] 本发明的上述目的通过以下技术方案实现:

[0010] 第一方面,本发明提供一种靶向FAP蛋白的二聚体化合物或其药学上可用的盐,所述的化合物结构如下式(I)所示:



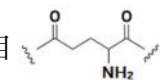
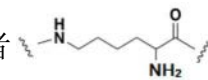
[0012] 在此基础上,本发明还提供一种可被放射性标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物或其药学上可用的盐,所述的化合物结构如下式(II)所示,

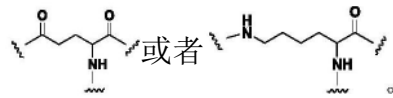


[0014] 上述式(I)和式(II)中:

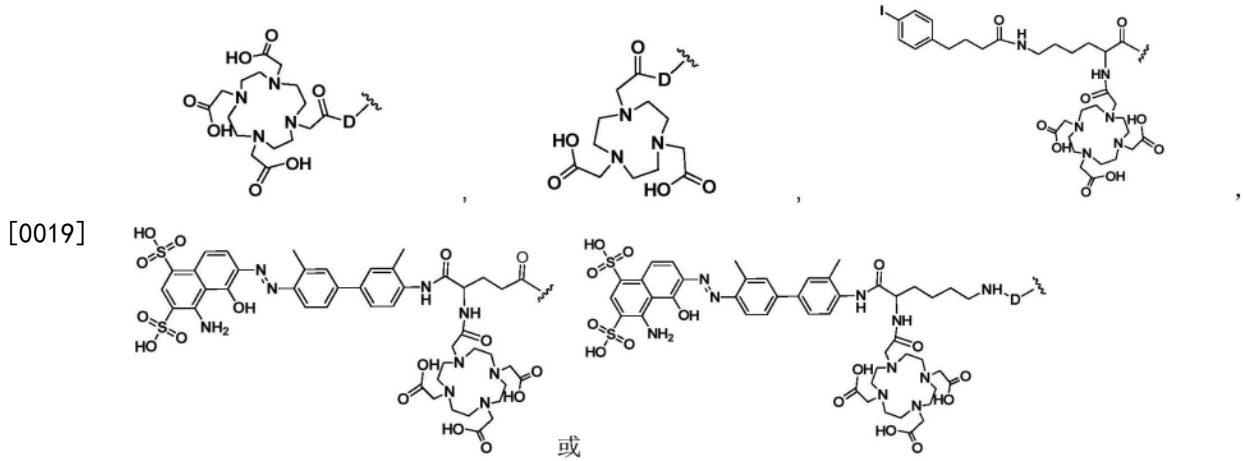
[0015] R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 相同或不同,均独立的选自H或F;

[0016] Z和U为相同或不同,独立地选自-NH-或基于-(CH_2) $_n$ -的替换结构,其中的n是1至16的整数,其中每个- CH_2 -单独地用或不用-O-、-NH-、-(CO)-、-NH-(CO)-、-CH(NH $_2$)-或-(CO)-NH-替换,替换的条件是没有两个相邻的- CH_2 -基团被替换;

[0017] 上述式(I)中,Q选自  或者  ; 上述式(II)中,Q'选自

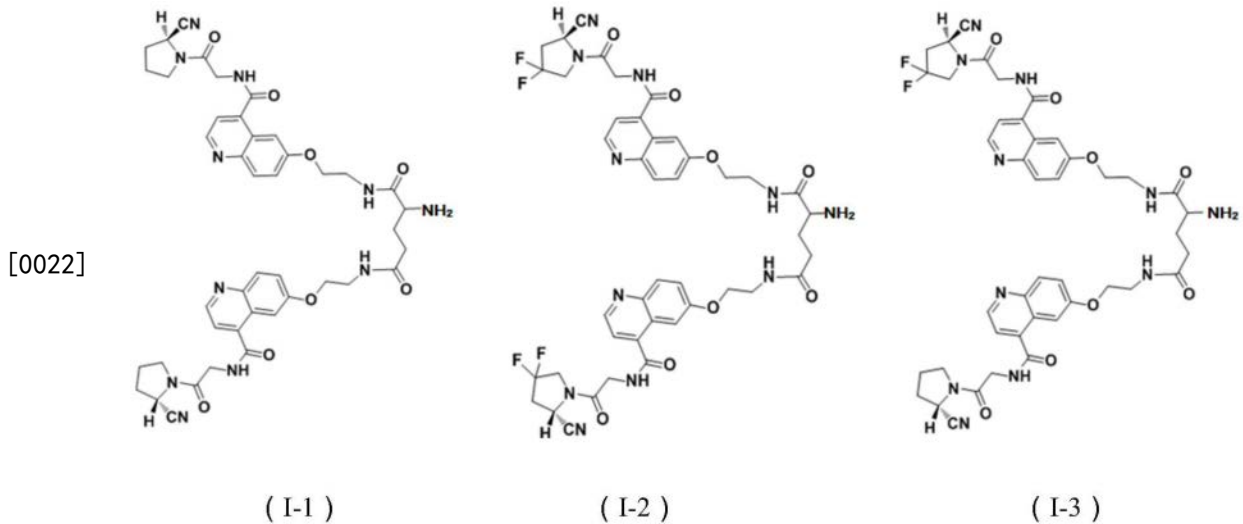


[0018] 上述式(II)中,W是核素螯合基团部分,是来自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N,N'-四乙酸(DOTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、三亚乙基四胺(TETA)、亚氨基二乙酸、二亚乙基三胺-N,N,N',N',N''-五乙酸(DTPA)、双-(羧甲基咪唑)甘氨酸或6-胍基吡啶-3-羧酸(HYNIC)中的任意一种的可螯合放射性核素的基团,或者是以下结构中的任意一种:

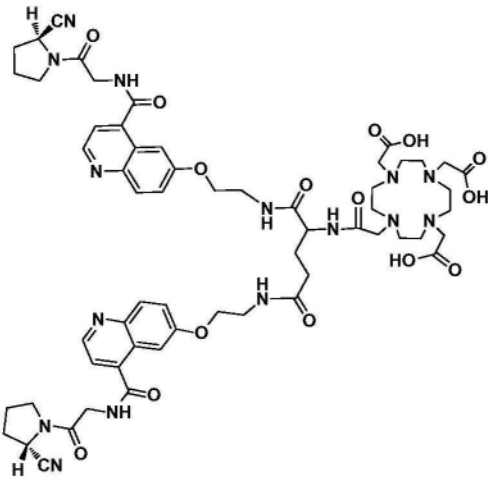


[0020] 其中D是基于 $-(CH_2)_p-$ 的替换结构, 其中的p是0至16的整数, 其中每个 $-CH_2-$ 单独地用或不用 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH-(CO)-$ 、 $-CH(NH_2)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换, 替换的条件是没有两个相邻的 $-CH_2-$ 基团被替换。

[0021] 本发明优选的方案中, 所述的式 (I) 化合物结构是下式 (I-1) 至式 (I-3) 所示的任意一种:

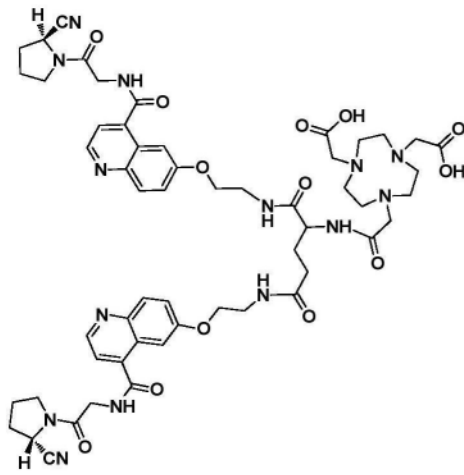


[0023] 本发明优选的方案中, 所述的式 (II) 化合物结构是下式 (II-1) 至式 (II-11) 所示的任意一种:

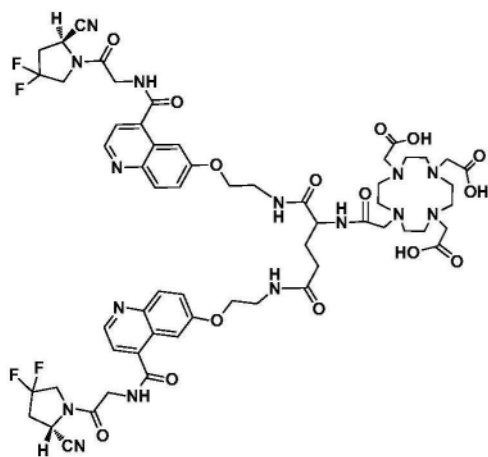


式 (II-1)

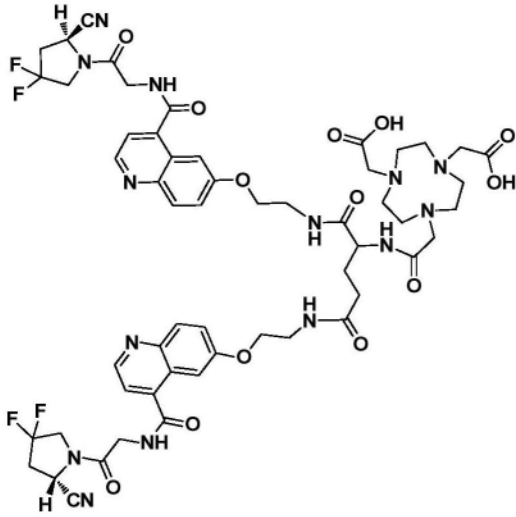
[0024]



式 (II-2)

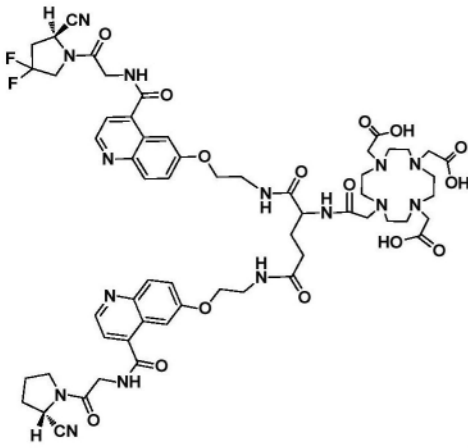


式 (II-3)

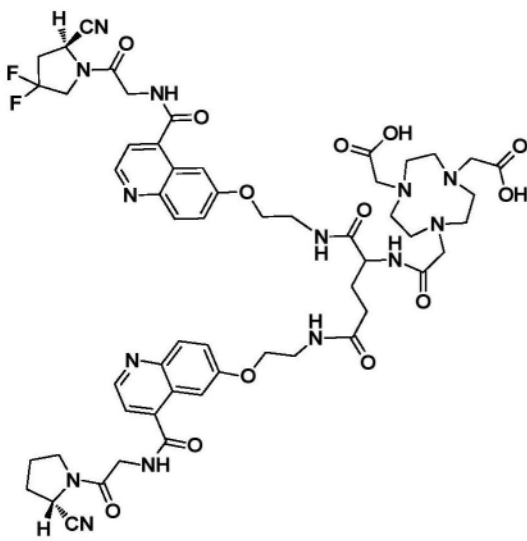


式 (II-4)

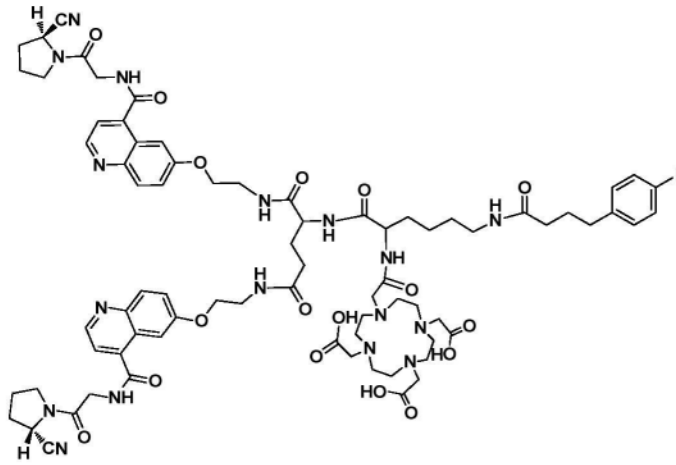
[0025]



式 (II-5)

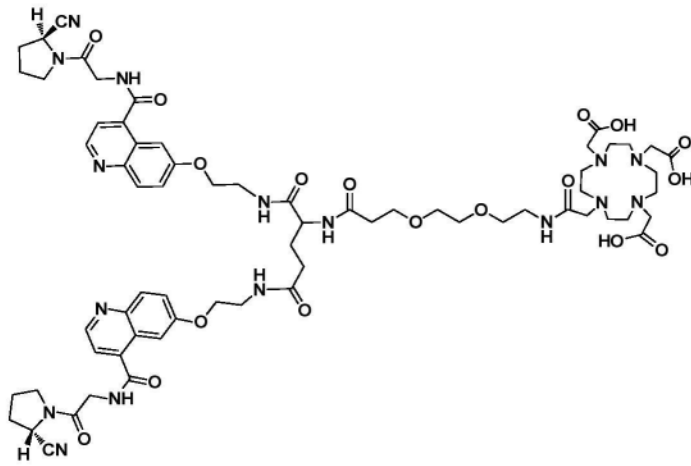


式 (II-6)

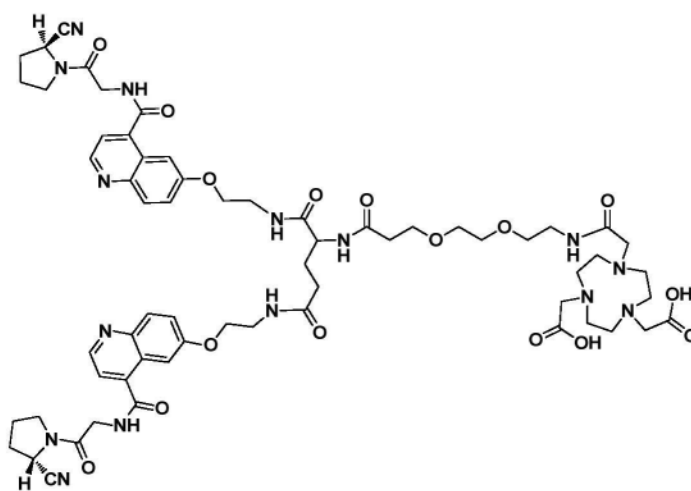


式 (II-7)

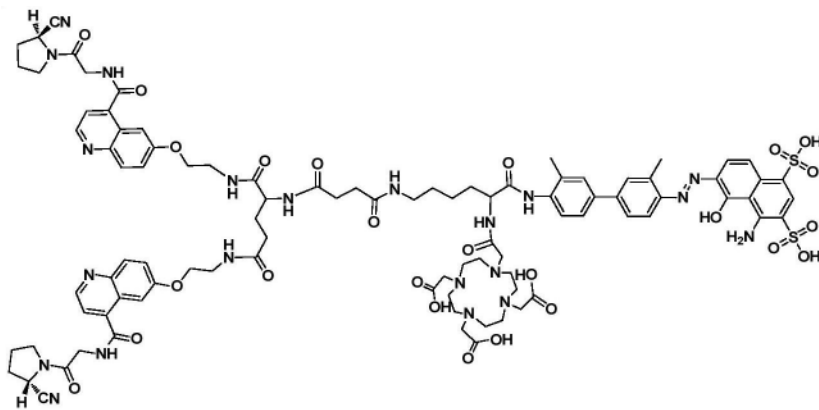
[0026]



式 (II-8)

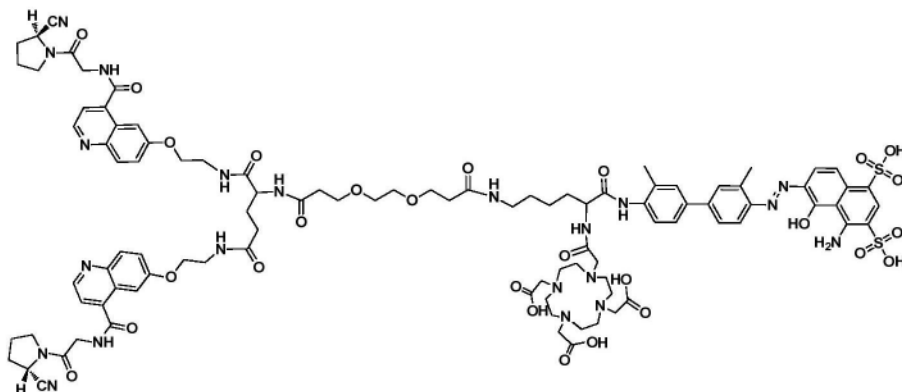


式 (II-9)



式 (II-10)

[0027] 或者



式 (II-11)。

[0028] 进一步,本发明还提供一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物,它是由放射性核素标记的本发明式(II)所示的化合物;所述的放射性核素可以选自发射 α 射线的同位素、发射 β 射线的同位素、发射 γ 射线的同位素、发射俄歇电子的同位素或发射X射线的同位素等,例如 ^{18}F 、 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{139}La 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{149}Pm 、 ^{165}Dy 、 ^{169}Er 、 ^{177}Lu 、 ^{47}Sc 、 ^{142}Pr 、 ^{159}Gd 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{72}As 、 ^{72}Se 、 ^{97}Ru 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 $^{101\text{m}}\text{Rh}$ 、 ^{119}Sb 、 ^{128}Ba 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{131}I 、 ^{197}Hg 、 ^{211}At 、 ^{151}Eu 、 ^{153}Eu 、 ^{169}Eu 、 ^{201}Tl 、 ^{203}Pb 、 ^{212}Pb 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{198}Au 、 ^{225}Ac 、 ^{227}Th 或 ^{199}Ag 中的任意一种;更优选的放射性核为 ^{18}F 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{188}Re 或 ^{225}Ac 。

[0029] 本发明还提供所述靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物或所述放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物在药学上可接受的互变异构体、外消旋体、水合物、溶剂化物或盐。

[0030] 第二方面,本发明提供制备式(I)所示的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、式(II)所示的化合物及其放射性核素标记物的方法,包括:

[0031] ①制备单体

[0032] 将6-羟基喹啉-4-羧酸的羧羟基与甘氨酸叔丁酯的氨基发生酰胺缩合反应得到中间体I;

[0033] 然后再使中间体I的羟基与N-Boc-溴乙胺发生缩合反应得到含有保护的氨基和保护羧基的中间体II;

[0034] 中间体II中的羧基脱保护后与(S)-吡咯烷-2-甲脒盐酸盐或(S)-4,4-二氟吡咯

烷-2-甲脒盐酸盐发生酰胺缩合反应,得到含有保护的氨基的中间体III;

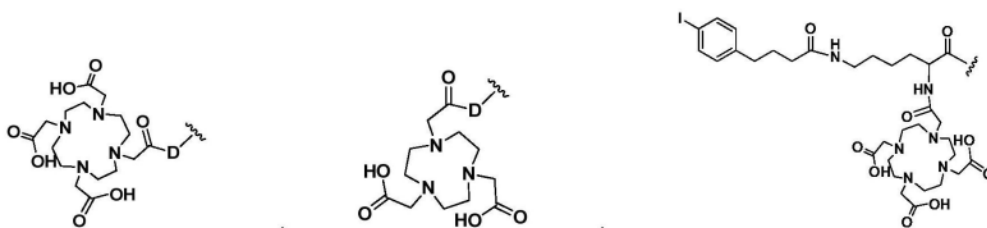
[0035] 中间体III中氨基脱保护后得到中间体IV,中间体IV的氨基与叔丁氧羰基-L-谷氨酸-5-叔丁酯的羧羟基发生缩合反应,得到一类含有保护的氨基和保护的羧基的中间体V;

[0036] ②合成二聚体

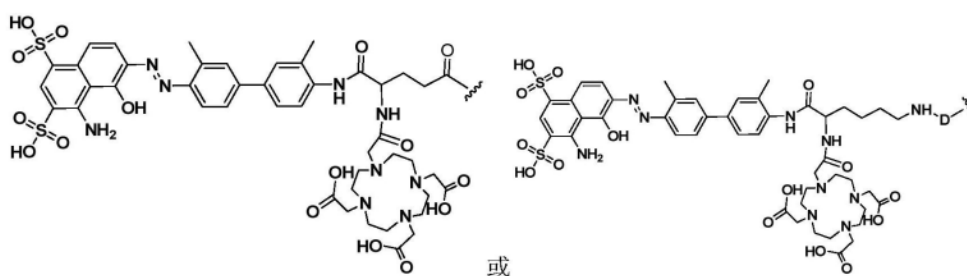
[0037] 先将中间体V的羧基脱保护,并与①所得的任意一种中间体IV的氨基发生缩合反应,得到中间体VI;中间体VI脱保护后即为本发明所述的靶向FAP蛋白的二聚体化合物;

[0038] ③合成可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物

[0039] 脱除中间体VI的Boc保护基;引入螯合基团部分W,W是来自1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N,N'-四乙酸(DOTA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)、三亚乙基四胺(TETA)、亚氨基二乙酸、二亚乙基三胺-N,N,N',N',N''-五乙酸(DTPA)、双-(羧甲基咪唑)甘氨酸或6-胍基吡啶-3-羧酸(HYNIC)中的任意一种可螯合放射性核素的基团,或者是以下结构中的任意一种:



[0040]



[0041] 其中D是基于 $-(CH_2)_p-$ 的替换结构,其中的p是0至16的整数,其中每个 $-CH_2-$ 单独地用或不用 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH-(CO)-$ 、 $-CH(NH_2)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换,替换的条件是没有两个相邻的 $-CH_2-$ 基团被替换;得到一种可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物,该化合物即式(II)所示的化合物;

[0042] ④将③所得可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物与含放射性核素的化合物按照现有的湿法标记方法或冻干法标记法反应,即可制备得到本发明所述的一种放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物。

[0043] 第三方面,本发明提供一种药物组合物,所述的药物组合物包含本发明第一方面所述的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或它们在药学上可接受的任意互变异构体、外消旋体、水合物、溶剂化物或盐;或者是由本发明第一方面所述的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或它们在药学上可接受的任意互变异构体、外消旋体、水合物、溶剂化物或盐与药学上可接受的任意载体和/或赋形剂组成。

[0044] 第四方面,本发明提供第一方面所述的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的可被放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、所述的放射性核素标记的靶向FAP蛋白的

二聚体化合物、或第三方面所述的药物组合物在制备用于诊断或治疗动物或人类个体的以成纤维细胞激活蛋白 (FAP) 过度表达为特征的疾病的药物中的应用。

[0045] 本发明所述的应用中,所述的以成纤维细胞激活蛋白 (FAP) 过度表达为特征的疾病包括但不限于:癌症、慢性炎症、动脉粥样硬化、纤维化、组织重塑和瘢痕病;优选地,所述的癌症进一步选自乳腺癌、胰腺癌、小肠癌、结肠癌、直肠癌、肺癌、头颈癌、卵巢癌、肝细胞癌、食道癌、下咽癌、鼻咽癌、喉癌、骨髓瘤细胞、膀胱癌、胆管细胞癌、透明细胞肾癌、神经内分泌肿瘤、致癌性骨软化症、肉瘤、CUP(原发性未知癌)、胸腺癌、胶质瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、子宫颈癌或前列腺癌。

[0046] 第五方面,本发明还提供一种试剂盒,其包含或组成本发明式 (I) 所示的化合物、本发明式 (II) 所示的化合物、本发明所述的放射性核素标记的靶向FAP蛋白的二聚体化合物、或本发明所述的药物组合物,以及用于诊断疾病的说明书。

[0047] 以往在FAPI单体的开发中,研究人员发现FAPI结构中的哌嗪环对于维持肿瘤摄取起到重要作用,因此在结构中加入哌嗪环成为了本领域设计FAPI探针的一种常规选择或惯用手段。从陈皓璿等人的报道(J Nucl Med. 2022 Jun; 63 (6) :862-868)中也可以看出,这种设计在二聚体FAPI的开发中也得到了保留。但本发明人在研发实验中发现,基于现有的FAPI单体进行简单的二聚化修饰并不能获得高性能FAPI探针,反而使其出现较高的背景摄取,导致药物在器官摄取方面肿瘤与背景比值较低,性能变劣。发明人经过大量实验观察,认为哌嗪环结构的存在可能会对二聚体FAPI的药代动力学性质带来不利的影 响。因此,本发明在二聚体FAPI的合成中没有引入哌嗪环结构,并通过实验验证了,制备得到的所述靶向FAP蛋白的化合物结构及其放射性标记的化合物比现有的二聚体FAPI具有明显改善的肿瘤摄取效果,有望应用于诊断或治疗以成纤维细胞激活蛋白 (FAP) 过度表达为特征的疾病。

附图说明

[0048] 图1为本发明实施例1中的化合物2的质谱图。

[0049] 图2为本发明实施例1中的化合物6的质谱图。

[0050] 图3为本发明实施例1中的化合物8的质谱图。

[0051] 图4为本发明实施例1中的化合物10的质谱图。

[0052] 图5为本发明实施例1中的化合物11即式 (I-1) 的质谱图。

[0053] 图6为本发明实施例1中的化合物12的质谱图。

[0054] 图7为本发明实施例2中的化合物14的质谱图。

[0055] 图8为本发明实施例2中的化合物16的质谱图。

[0056] 图9为本发明实施例3中式 (II-2) 的质谱图。

[0057] 图10为本发明实施例4中式 (II-3) 中间体的质谱图。

[0058] 图11为本发明实施例4中式 (II-3) 中间体的质谱图。

[0059] 图12为本发明实施例4中式 (II-3) 的质谱图。

[0060] 图13为本发明实施例4中式 (II-3) 的质谱图。

[0061] 图14为本发明实施例5中式 (II-4) 的质谱图。

[0062] 图15为本发明实施例6中式 (II-10) 的质谱图。

[0063] 图16为本发明中⁶⁸Ga标记的式 (I-1) 配合物在HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内的

MicroPET显像结果图。

[0064] 图17为本发明中⁶⁸Ga标记的FAPI46配合物在HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内的MicroPET显像结果图。

[0065] 图18为本发明中⁶⁸Ga标记的式(I-1)配合物与FAPI-04共注射1小时后在HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内的MicroPET显像结果图。

[0066] 图19为本发明中⁶⁸Ga标记的式(I-1)配合物在HT1080-hFAP荷瘤小鼠注射1小时、2小时及4小时后肿瘤及重要器官的摄取结果统计图(图中横坐标为不同器官,每个器官中从左到右的柱状图形分别对应⁶⁸Ga标记的式(I-1)配合物的摄取值)。

[0067] 图20为本发明中⁶⁸Ga标记的F2配合物在HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内的MicroPET显像结果图。

[0068] 图21为本发明中⁶⁸Ga标记的F3配合物在HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内的MicroPET显像结果图。

具体实施方式

[0069] 以下通过具体实施方式结合附图对本发明的技术方案进行进一步的说明和描述。

[0070] 实施例1:式II-1化合物的制备

[0071] 化合物2的合成:

[0072] 在100mL烧瓶中分别投入化合物1(6-羟基喹啉-4-羧酸,1.89g,10.0mmol)、甘氨酸叔丁酯(1.89g,10.0mmol),HATU(3.8g,10.0mmol)和N,N'-二异丙基乙胺(2.6g,20.0mmol)依次投入至30mL N,N'-二甲基甲酰胺。反应混合物搅拌过夜,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=30:1)纯化得白色固体化合物2,产率87%。图1为化合物2的质谱图。

[0073] 化合物3的合成:

[0074] 在100mL烧瓶中分别将化合物2(1.51g,5.0mmol)、N-Boc-溴乙胺(2.25g,10.0mmol),碳酸钾(1.38g,10.0mmol)依次投入至50mL N,N'-二甲基甲酰胺中。将体系升温到60度,保持体系60度搅拌过夜,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=30:1)纯化得白色固体化合物3,产率51%。

[0075] 化合物5的合成:

[0076] 在冰浴条件下,将化合物4(0.44g,1.0mmol)溶解在10mL二氯甲烷和三氟乙酸(体积比9:1)混合溶液中,将体系升温到室温反应2h,反应结束后减压蒸馏除去溶剂,用10mL N,N'-二甲基甲酰胺溶解,分别加入二碳酸二叔丁酯(0.22g,1.0mmol)和N,N'-二异丙基乙胺(0.39g,3.0mmol),室温搅拌过夜,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=10:1)纯化得白色固体化合物5,产率77%。

[0077] 化合物6的合成:

[0078] 在100mL烧瓶中分别投入化合物5(0.39g,1.0mmol)、(S)-吡咯烷-2-甲脒盐酸盐(0.13g,10.0mmol)、HATU(0.38g,1.0mmol)和N,N'-二异丙基乙胺(0.26g,2.0mmol)依次投入至10mL N,N'-二甲基甲酰胺。反应混合物室温搅拌至反应结束,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=30:1)纯化得白色固体化合物6,产率82%。图2为化合物6的质谱图。

[0079] 化合物8的合成:

[0080] 在100mL烧瓶中分别投入化合物7 (0.55g, 1.0mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.27g, 1.5mmol) 依次投入至10mL乙腈中。反应体系升温至60摄氏度搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 10mL N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 分别投入叔丁氧羰基-L-谷氨酸-5-叔丁酯 (0.3g, 1.0mmol), HATU (0.38g, 1.0mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol)。反应混合物搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=20:1)纯化得白色固体化合物8, 产率75%。图3为化合物8的质谱图。

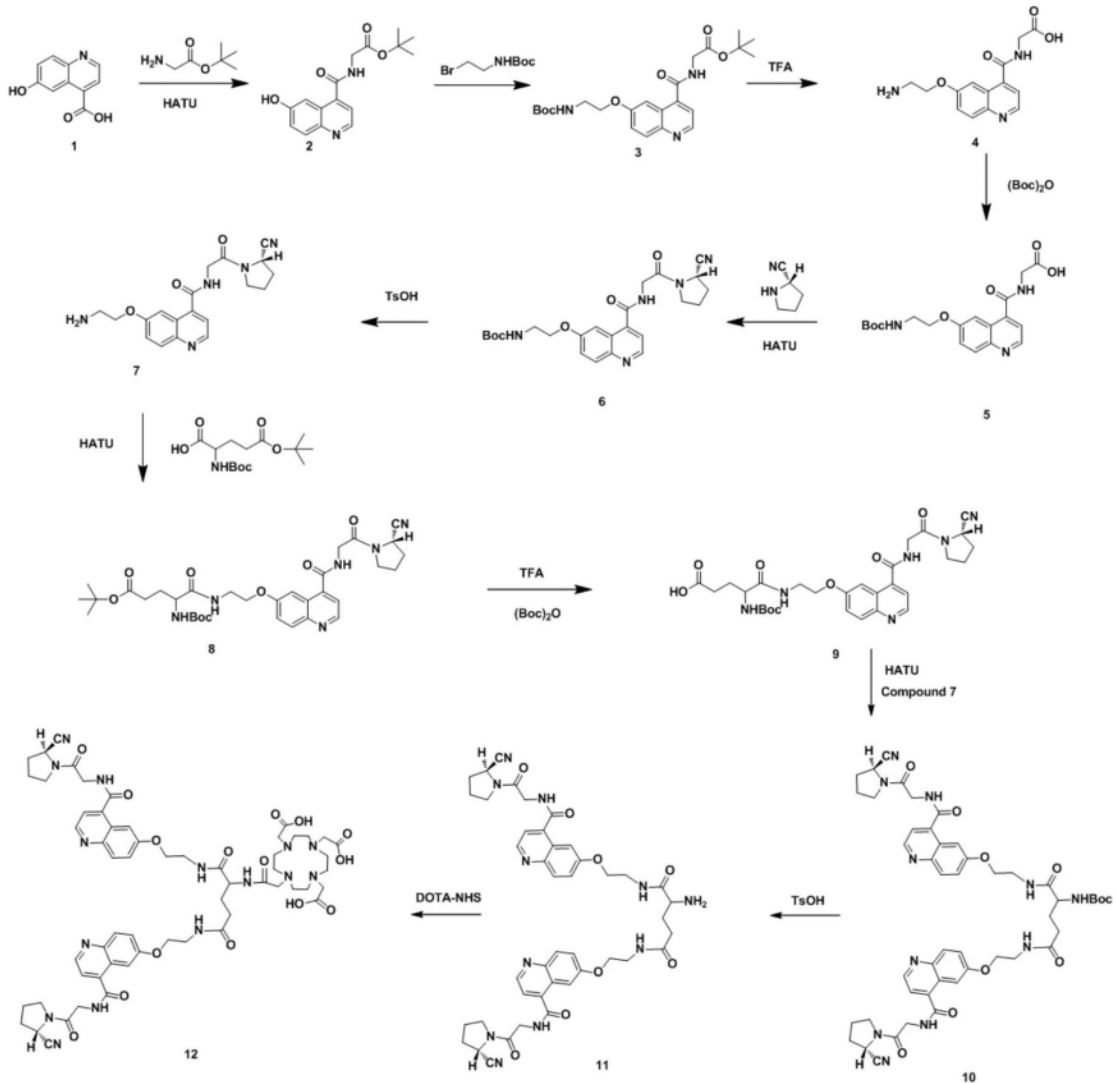
[0081] 化合物10的合成:

[0082] 在冰浴条件下, 将化合物8 (0.65g, 1.0mmol) 溶解在10mL二氯甲烷和三氟乙酸(体积比9:1)混合溶液中, 将体系升温到室温反应2h, 反应结束后减压蒸馏除去溶剂, 10mL N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 分别加入二碳酸二叔丁酯 (0.22g, 1.0mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.39g, 3.0mmol), 室温搅拌过夜, 反应结束后, 向体系依次投入化合物7 (0.37g, 1.0mmol)、HATU (0.38g, 1.0mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol)。反应结束后, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=10:1)纯化得白色固体化合物10, 产率43%。图4为化合物10的质谱图。

[0083] 化合物12的合成:

[0084] 在50mL烧瓶中分别投入化合物7 (95mg, 0.1mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.09g, 0.5mmol) 依次投入至5mL乙腈中。反应体系升温至60摄氏度搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 5mL N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 依次加入DOTA-NHS (0.05g, 0.1mmol) 以及N,N-二异丙基乙胺 (0.04g, 0.3mmol)。反应体系室温搅拌反应, 通过HPLC监测脱至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物12, 产率37%。图5为化合物11的质谱图, 图6为化合物12的质谱图。

[0085] 上述步骤合成路线如下:



[0086]

[0087] 实施例2:式II-7化合物的制备

[0088] 化合物14的合成:

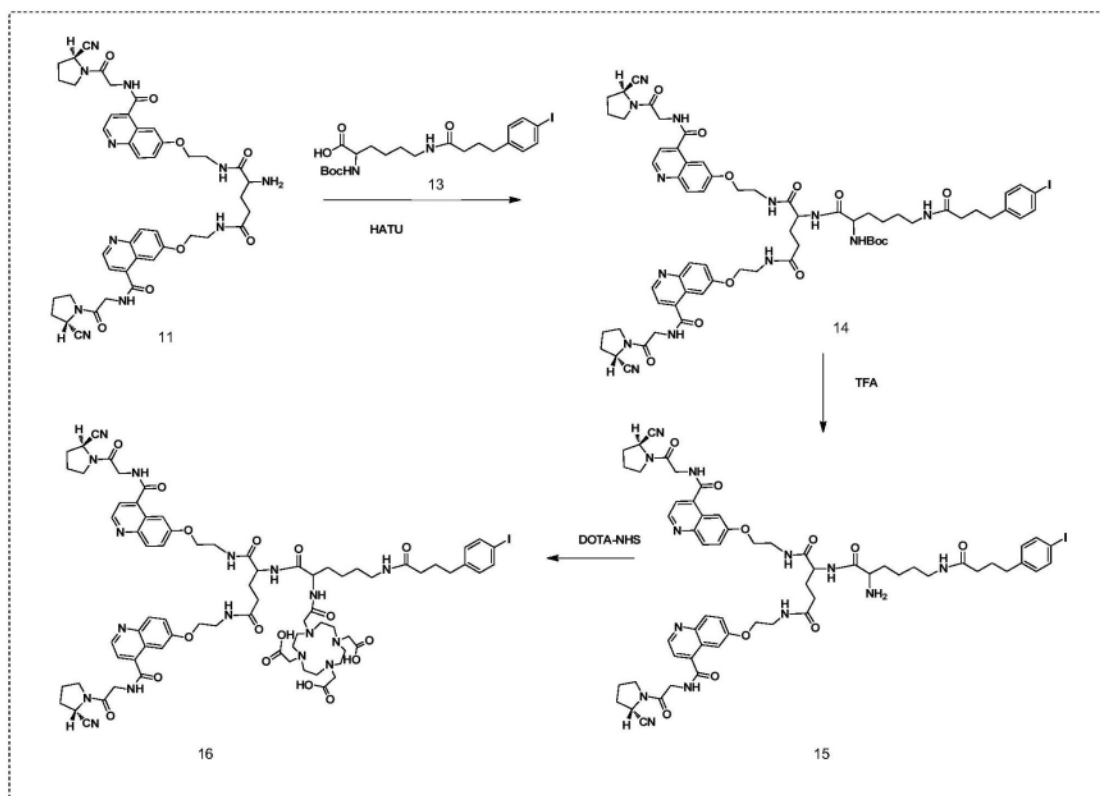
[0089] 在50mL烧瓶中分别投入实施例1制备的化合物11 (85mg, 0.1mmol)、化合物13 (请提供化学命名52mg, 0.1mmol), HATU (38mg, 0.1mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (39mg, 0.30mmol)。反应混合物搅拌过夜。反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。经硅胶柱(二氯甲烷/甲醇=10:1)纯化得白色固体化合物14,产率54%。图7为化合物14的质谱图。

[0090] 化合物16的合成:

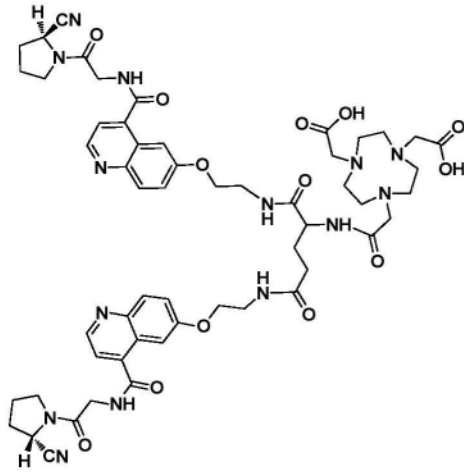
[0091] 在冰浴条件下,将化合物14 (67mg, 0.1mmol)溶解在10mL二氯甲烷和三氟乙酸(体积比9:1)混合溶液中,将体系升温到室温反应2h,反应结束后减压蒸馏除去溶剂,得到化合物15,将化合物15用5mL N,N-二甲基甲酰胺溶解后,依次加入DOTA-NHS (0.05g, 0.1mmol)以及N,N-二异丙基乙胺 (0.04g, 0.3mmol)。反应体系室温搅拌反应,通过HPLC监测脱至反应结束,减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。将粗产物经反相柱化,冷冻干燥得到纯的化合物16,产率39%。图8为化合物16的质谱图。

[0092] 上述步骤合成路线如下:

[0093]

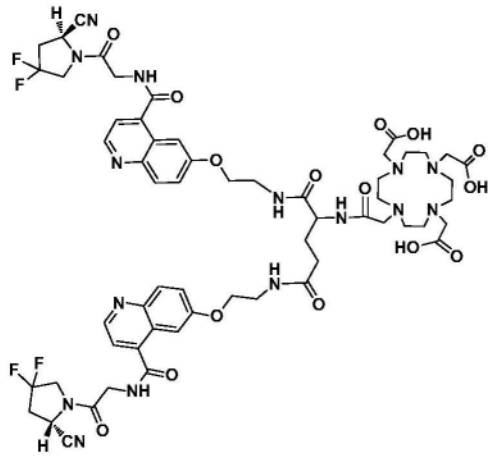


[0094] 实施例3-11的化合物结构分别如式(II-2)至式(II-6)以及式(II-8)至式(II-11)所示,它们的制备方法均可参考实施例1和实施例2,得到如下相应的结构:

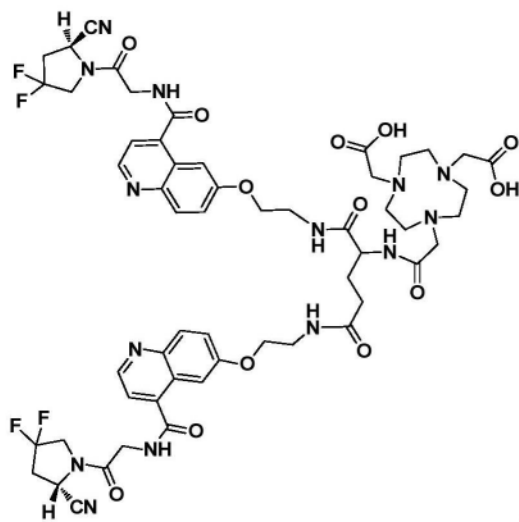


式 (II-2)

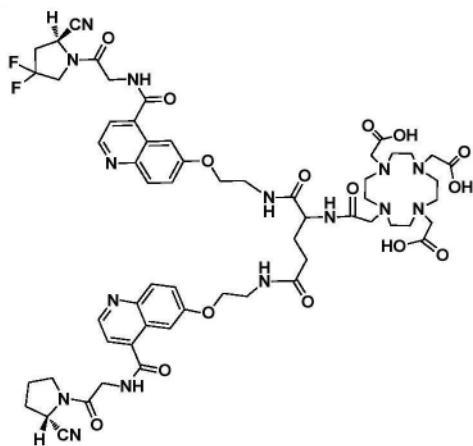
[0095]



式 (II-3)

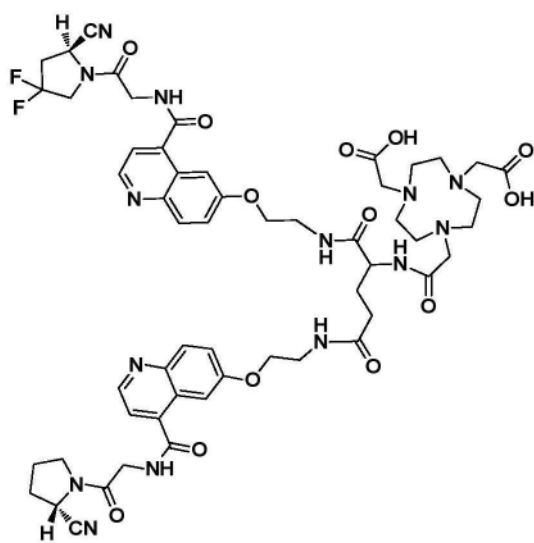


式 (II-4)

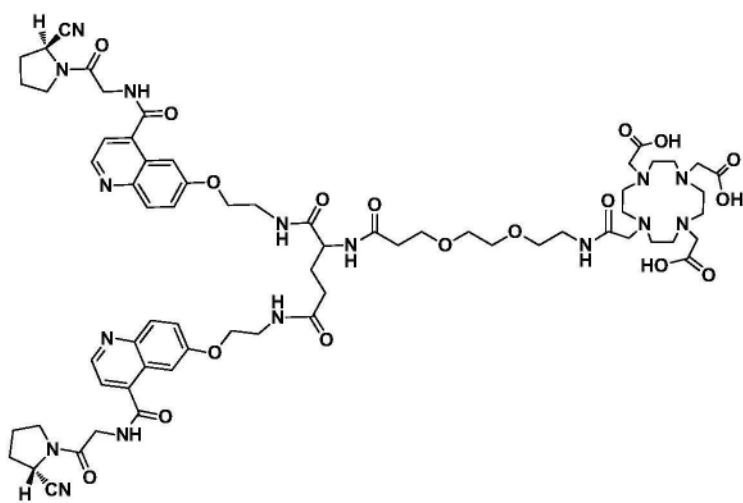


式 (II-5)

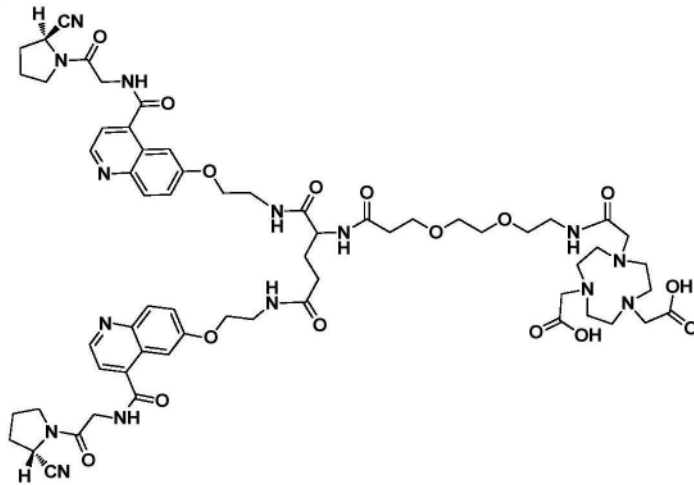
[0096]



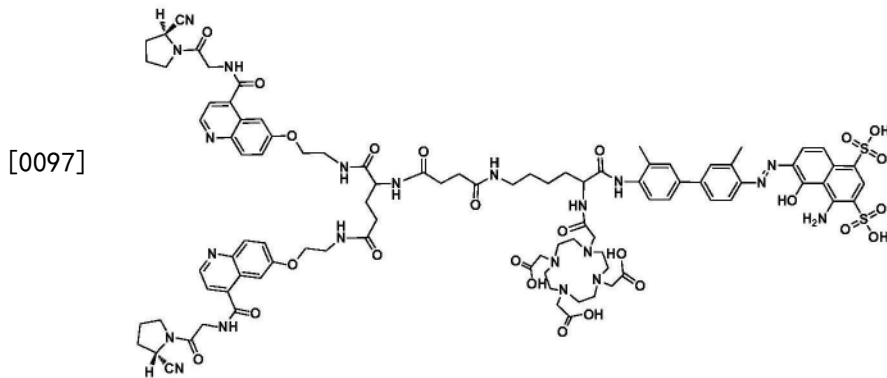
式 (II-6)



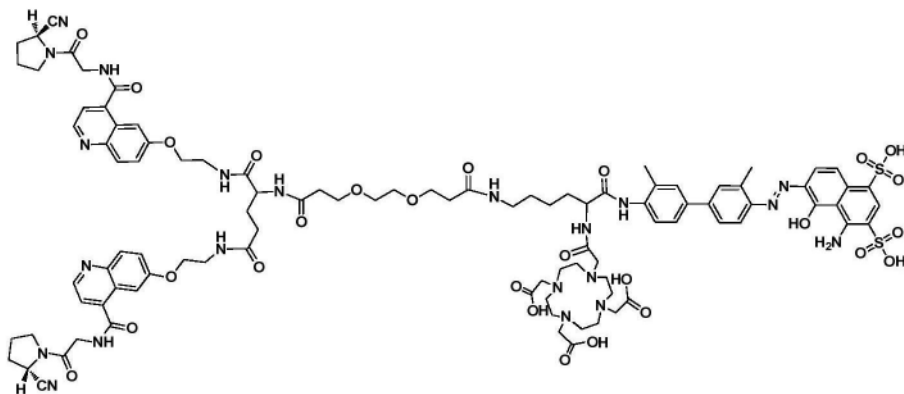
式 (II-8)



式 (II-9)



式 (II-10)



式 (II-11)。

[0098] 实施例12.放射性Ga-68标记配合物的制备:

[0099] 湿法:将约18.5~1850兆贝可(MBq) $^{68}\text{GaCl}_3$ 盐酸溶液(淋洗自锗镓发生器)加入到含0.5mL实施例1制备的化合物12的醋酸-醋酸盐溶液(1.0g/L)的离心管中,置于37℃下反应20min。取一C18分离小柱,先用10mL无水乙醇缓慢淋洗,再用10mL水淋洗。用10mL水将标记液稀释后,上样到分离柱上,先用10mL水除去未标记的 ^{68}Ga 离子,再用0.3mL 10mM的HCl的乙醇溶液淋洗得到 ^{68}Ga 标记的配合物。该淋洗液经生理盐水稀释,并经无菌过滤后即得 ^{68}Ga 标记的式(II-1)配合物的注射液。

[0100] 冻干法:将约18.5~1850兆贝可(MBq) $^{68}\text{GaCl}_3$ 盐酸溶液(淋洗自镓发生器)加入到含有标记前体的冻干药盒中,混匀后37°C下反应20min。取一C18分离小柱,先用10mL无水乙醇缓慢淋洗,再用10mL水淋洗。用10mL水将标记液稀释后,上样到分离柱上,先用10mL水除去未标记的 ^{68}Ga 离子,再用0.3mL10mM的HCl的乙醇溶液淋洗得到配合物淋洗液。该淋洗液经生理盐水稀释,并经无菌过滤后即得 ^{68}Ga 标记的(II-1)配合物的注射液。

[0101] 实验例.应用效果分析

[0102] 按实施例12的方法制备好的式(II-1)配合物,经尾静脉注射到HT1080-hFAP荷瘤小鼠中(7.4MBq),然后在异氟烷麻醉下,分别于给药后0~60min进行MicroPET显像。图16显示了静脉注射 ^{68}Ga -式(II-1)配合物后不同时间的HT1080-hFAP荷瘤小鼠的MicroPET图像,图17显示了静脉注射 ^{68}Ga -FAPI-46配合物1小时后HT1080-hFAP荷瘤小鼠的MicroPET图像。从图16中可以看出, ^{68}Ga -式(II-1)配合物在肿瘤部位快速高效摄取,在大多数正常器官中摄取极低,主要通过肾脏快速清除。与目前已广泛应用单体 ^{68}Ga -FAPI46相比,二聚体形式的 ^{68}Ga -式(II-1)配合物在肿瘤中的摄取显著提高。另外,将上述 ^{68}Ga -式(II-1)配合物与FAPI-04共注射到HT1080-hFAP荷瘤小鼠体内,其MicroPET显像结果图如图18所示,共注射导致肿瘤摄取急剧下降,阻断实验证实 ^{68}Ga -式(II-1)配合物在体内能够通过FAP蛋白实现肿瘤特异性靶向。在生物分布研究中,HT1080-hFAP小鼠注射1.48MBq的 ^{68}Ga -式(II-1)配合物,分别在注射后1h、2h和4h(每个时间点平行实验3次)后分离、称重,用 γ 计数器测定分析主要器官和肿瘤放射性(每min计数,cpm),测试结果如图19所示,与PET显像结果一致, ^{68}Ga -式(II-1)配合物在肿瘤中呈现高摄取和高滞留时间,同时正常器官摄取极低。

[0103] 在FAPI单体的开发中,既往研究表明FAPI结构中的哌嗪环对于维持肿瘤摄取起到重要作用。但本发明人经实验发现,哌嗪环结构的存在可能会对二聚体FAPI的药代动力学性质带来不利的影响,使其出现较高的背景摄取,导致药物在器官摄取方面肿瘤与背景比值较低。该实验中,作为对照,研究人员将带有两个哌嗪环结构的 ^{68}Ga -F2(其标记前体结构见图20)和带有一个哌嗪环的 ^{68}Ga -F3(其标记前体结构见图21)经尾静脉注射到HT1080-hFAP荷瘤小鼠中(7.4MBq)并进行MicroPET显像。从图20和图21中可以看出,带有两个哌嗪环结构的 ^{68}Ga -F2在肿瘤中有较高的摄取,但是肾脏中的摄取也较高;同时,带有一个哌嗪环的 ^{68}Ga -F3虽然肾脏摄取比 ^{68}Ga -F2有所下降,但是在关节处观察到较高的摄取。而与 ^{68}Ga -F2和 ^{68}Ga -F3相比,本发明所述的二聚体探针结构中不含有哌嗪环,如图16、图19所示,该二聚体FAPI同时兼具优异的代谢动力学性质、高肿瘤摄取和滞留时间,具有应用潜力。

[0104] 综上所述,本发明开发了一种新的成纤维细胞活化蛋白FAP靶向化合物,有望应用于诊断或治疗以成纤维细胞活化蛋白(FAP)过度表达为特征的疾病。

[0105] 虽然,上文中已经用一般性说明、具体实施方式及试验,对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的

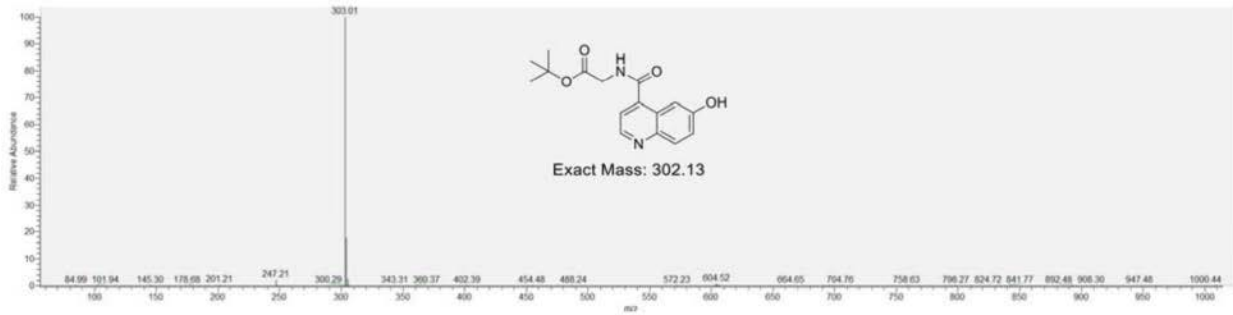


图1

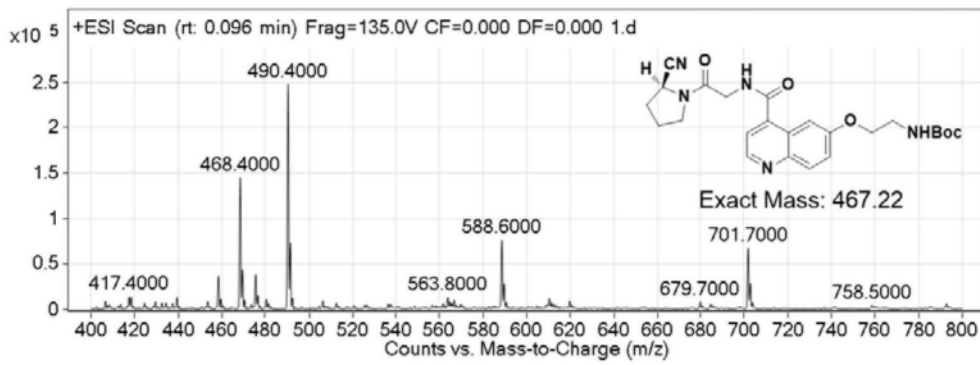


图2

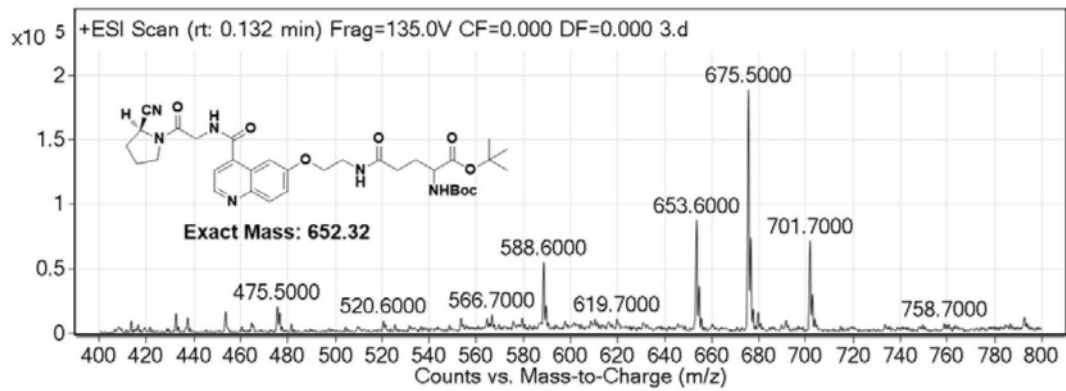


图3

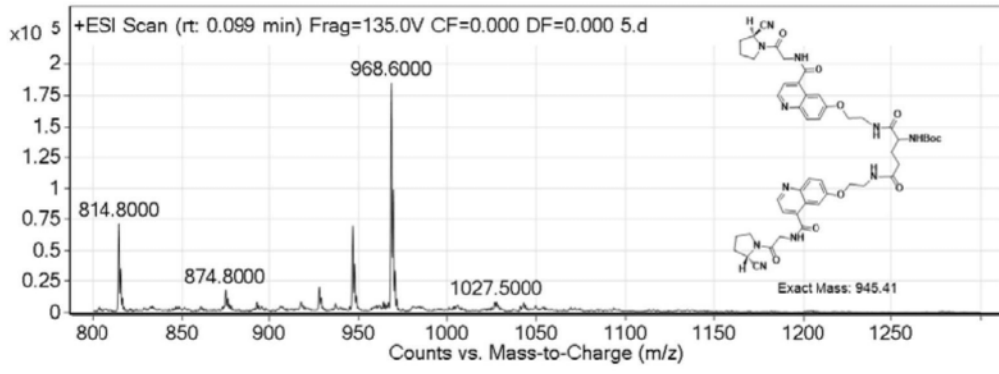


图4

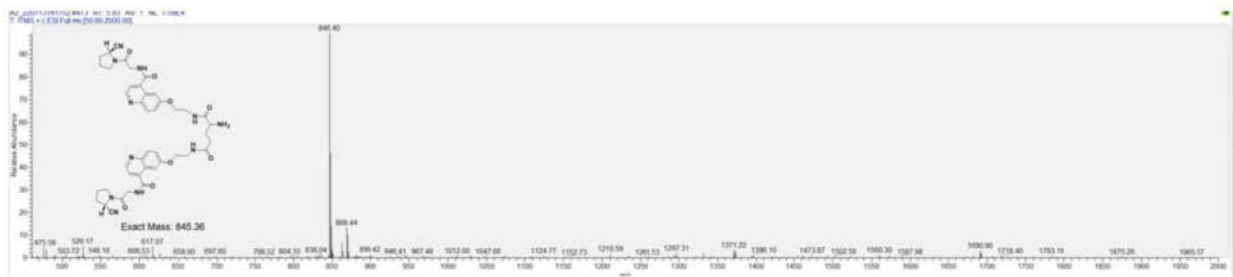


图5

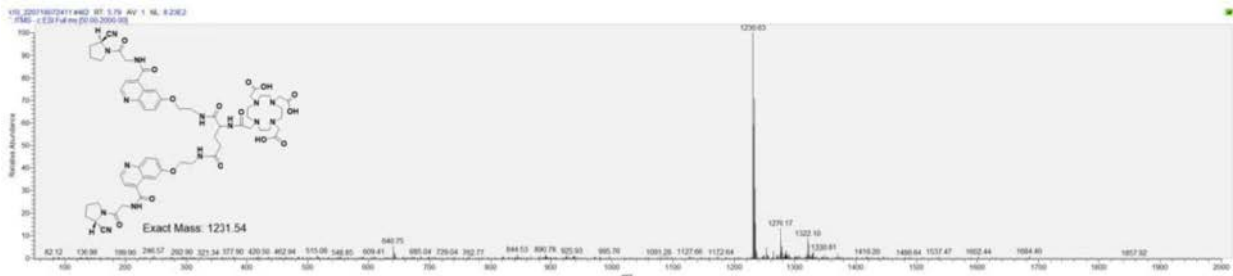


图6

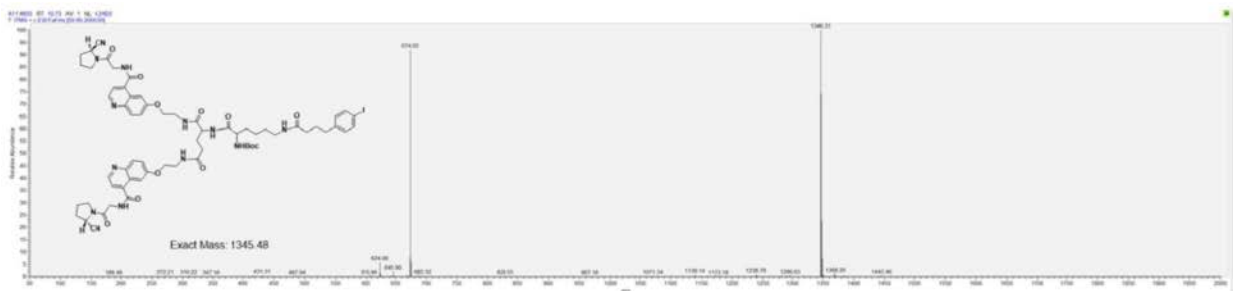


图7

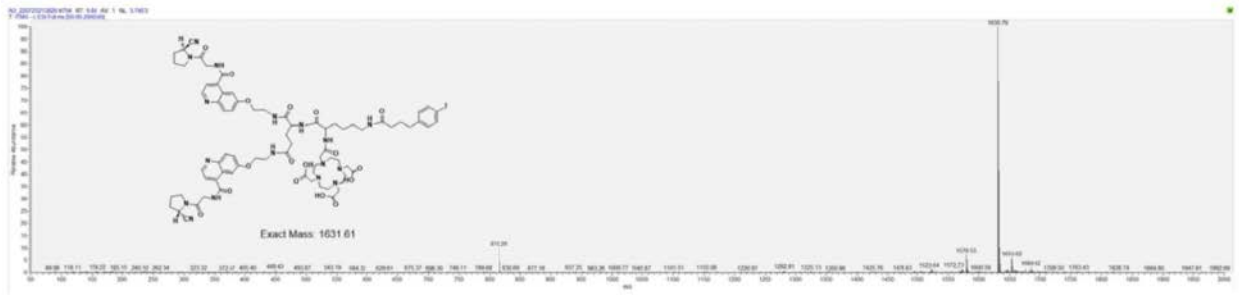


图8

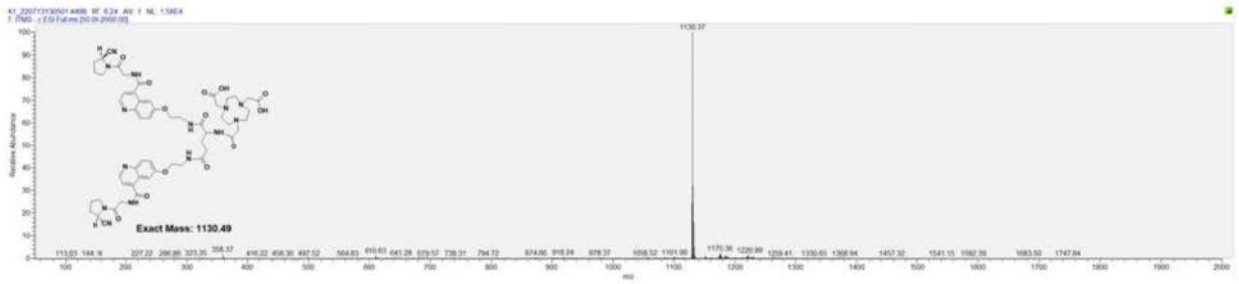


图9

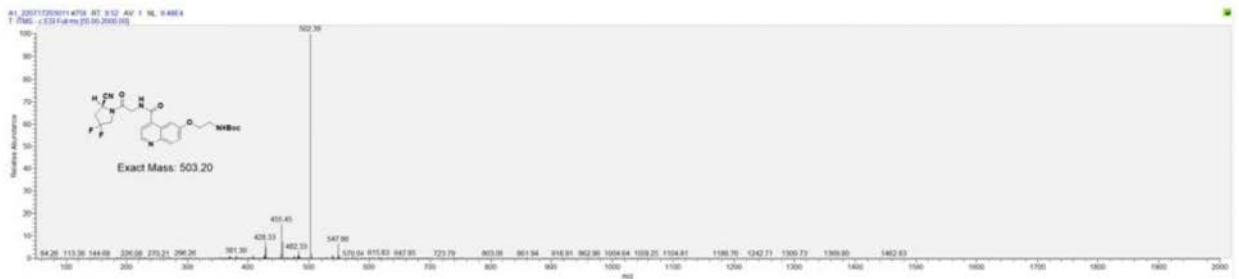


图10

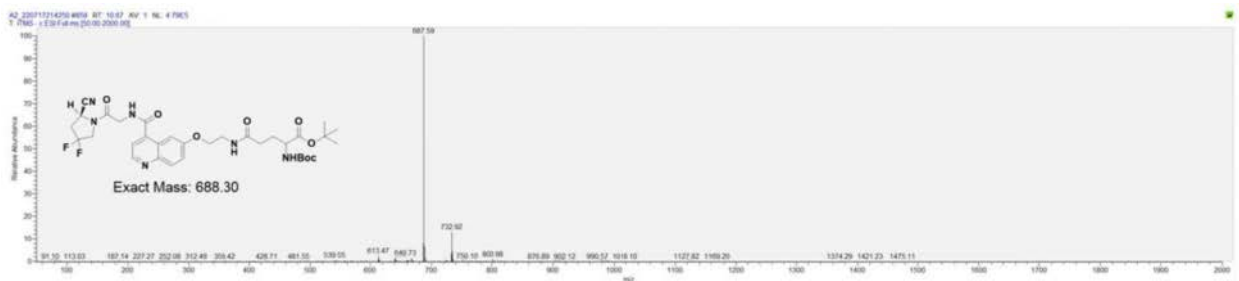


图11

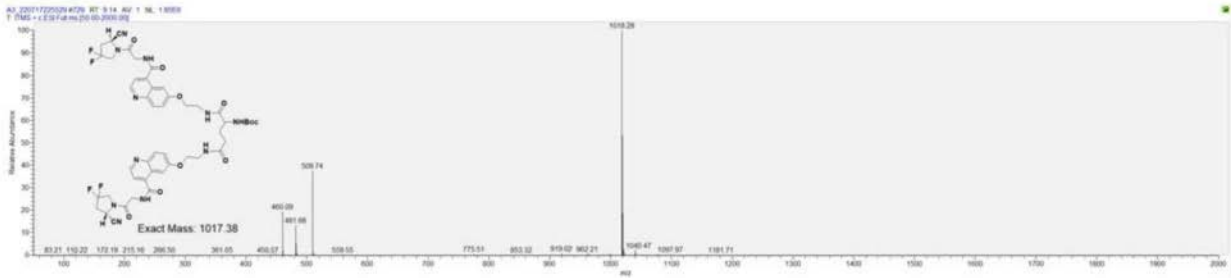


图12

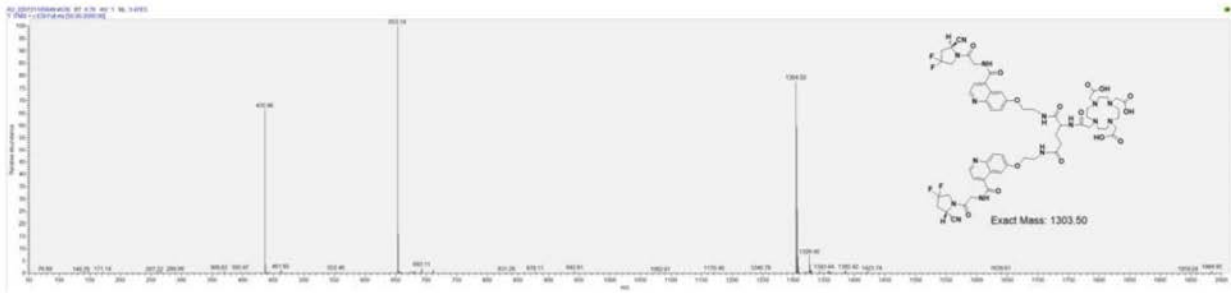


图13

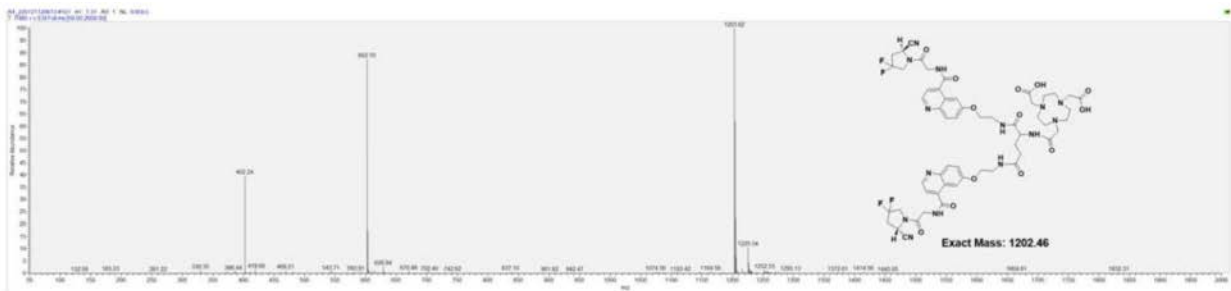


图14

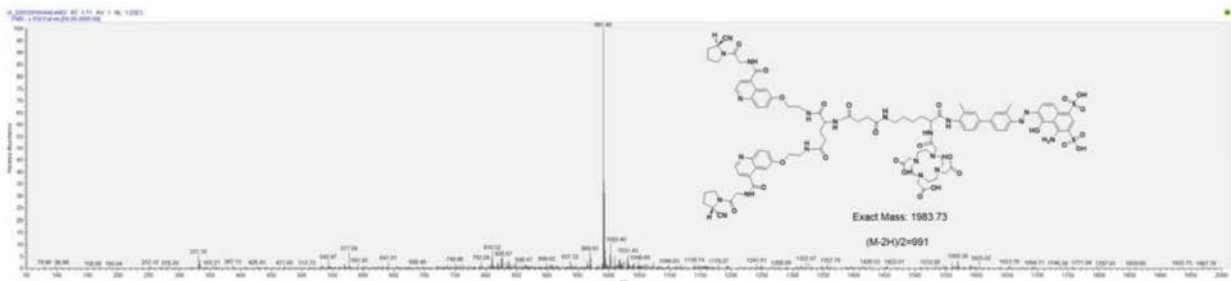


图15

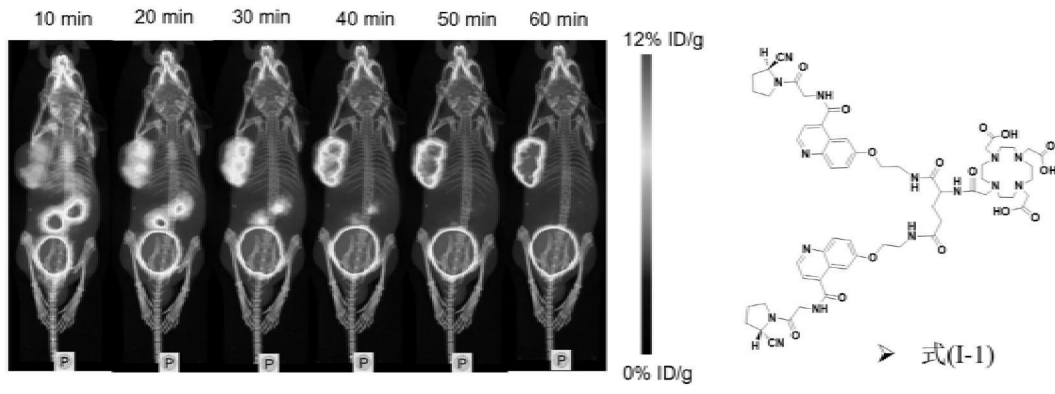


图16



图17



图18

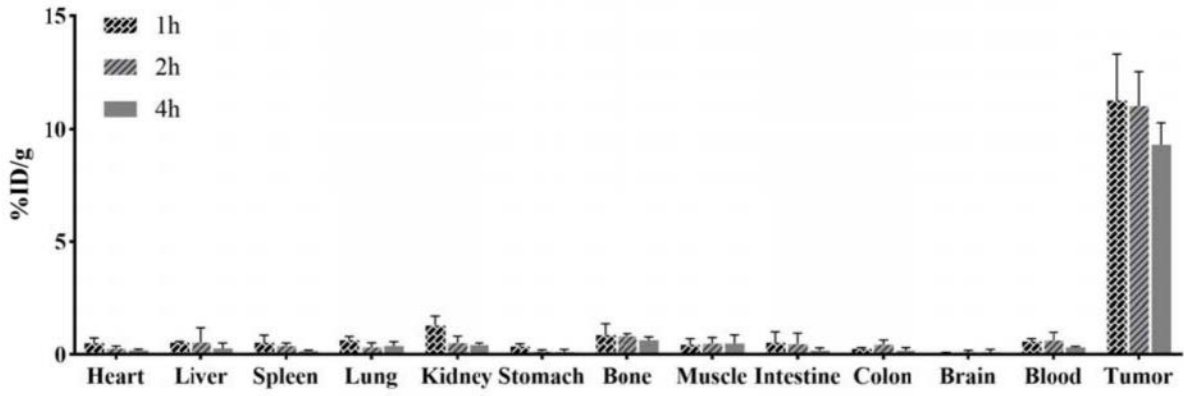


图19

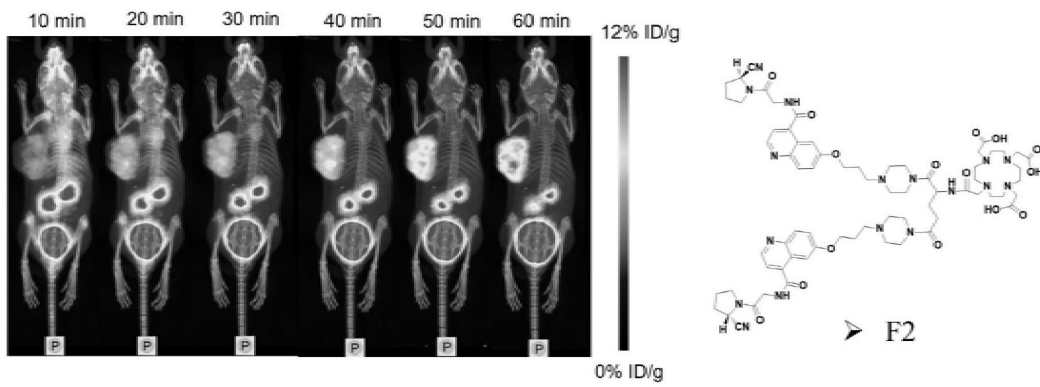


图20

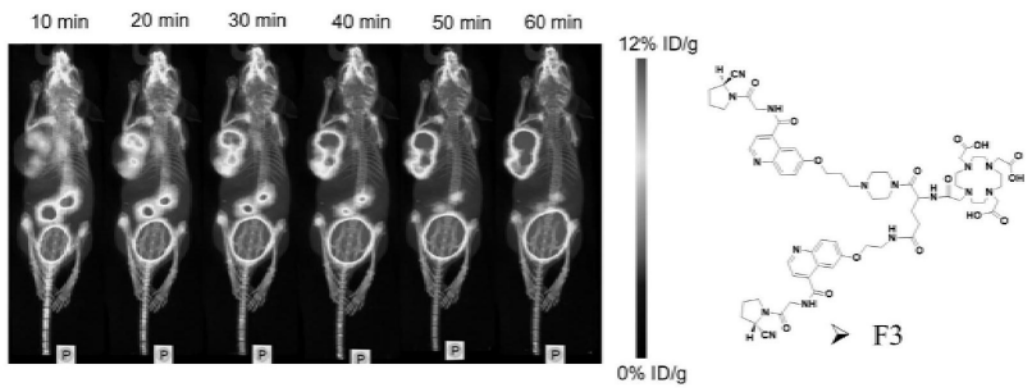


图21