



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106660943 B

(45)授权公告日 2020.03.17

(21)申请号 201580036857.1

(22)申请日 2015.05.06

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106660943 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(30)优先权数据  
61/989,428 2014.05.06 US  
62/117,603 2015.02.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.01.05

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2015/029504 2015.05.06

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02015/171792 EN 2015.11.12

(73)专利权人 约翰霍普金斯大学  
地址 美国马里兰州  
专利权人 西北大学

(72)发明人 S·雷 M·G·庞珀  
托马斯·J·米德 罗尼·C·米斯  
陈颖 杨星 马修·罗茨

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 高瑜 郑霞

(51)Int.Cl.  
C07C 233/36(2006.01)  
C07C 233/05(2006.01)  
A61K 49/06(2006.01)  
A61K 49/10(2006.01)

(56)对比文件  
CN 101784192 A,2010.07.21,权利要求55-57,说明书摘要,第0160-0175,0231,0264,0353段.

WO 2010108125 A2,2010.09.23,说明书第0009-0016,0089-0090段.

Sangeeta R. Banerjee, et al.. "0-065 Preclinical evaluation of 86Y-Labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen".《J Label Compd Radiopharm》.2011,第54卷(第S1期),S65.

审查员 李伟

权利要求书8页 说明书60页 附图32页

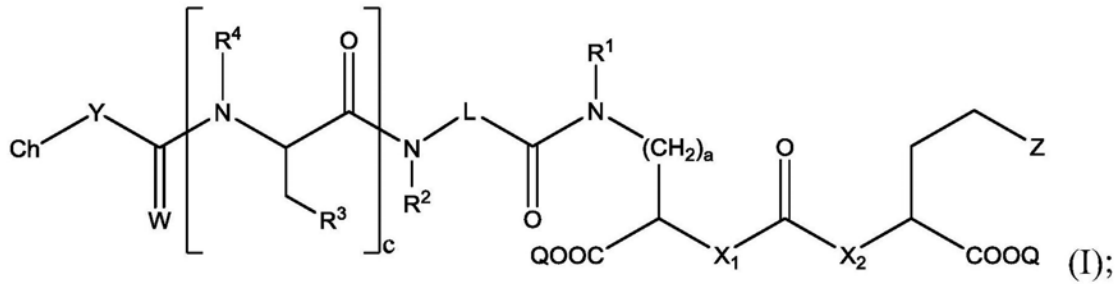
(54)发明名称

用于PSMA靶向的成像和放射疗法的金属/放射性金属标记的PSMA抑制物

(57)摘要

公开了用于PSMA特异性T<sub>1</sub>-加权MR成像的低分子量基于钆(Gd)的MR造影剂。基于(Gd)-的MR造影剂显示出对PSMA的高结合亲和力,并且在PSMA+细胞上表现出特异性T<sub>1</sub>对比增强。PSMA靶向的基于Gd的MR造影剂可用于体内PSMA靶向成像。还提供了<sup>86</sup>Y-标记的PSMA结合肽,其中PSMA结合肽也适合与其它放射疗法一起使用。

1. 一种式 (I) 的化合物:



Z为四唑或CO<sub>2</sub>Q;

Q为H;

X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地为NH或O;

a为选自由1、2、3和4组成的组的整数;

c为选自由0、1、2、3和4组成的组的整数;

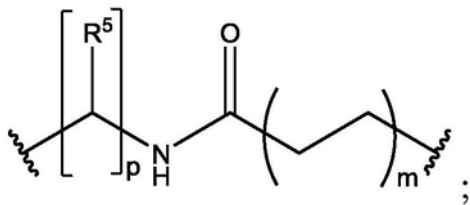
每个R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>4</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基;

每个R<sup>3</sup>独立地为H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>芳基;

W独立地为O或S;

Y为-NH-并且可以存在或不存在;

L为:



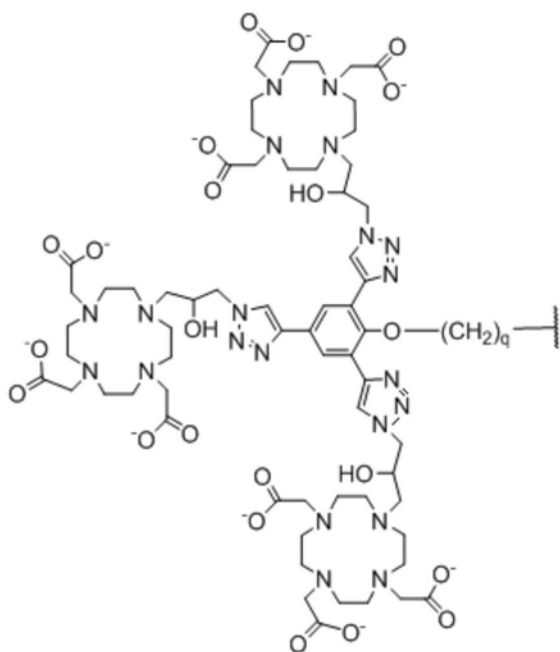
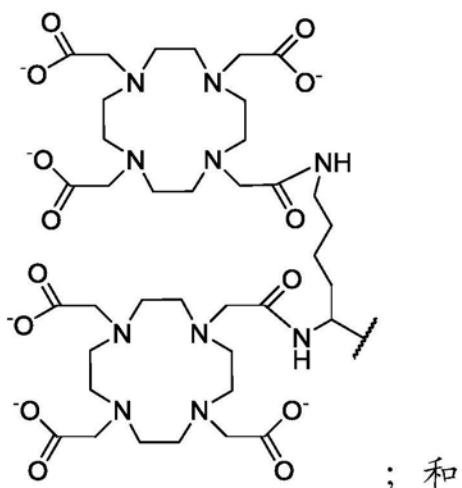
其中:

m为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;

每个R<sup>5</sup>独立地为H或-COOR<sup>6</sup>,其中每个R<sup>6</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

p为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;

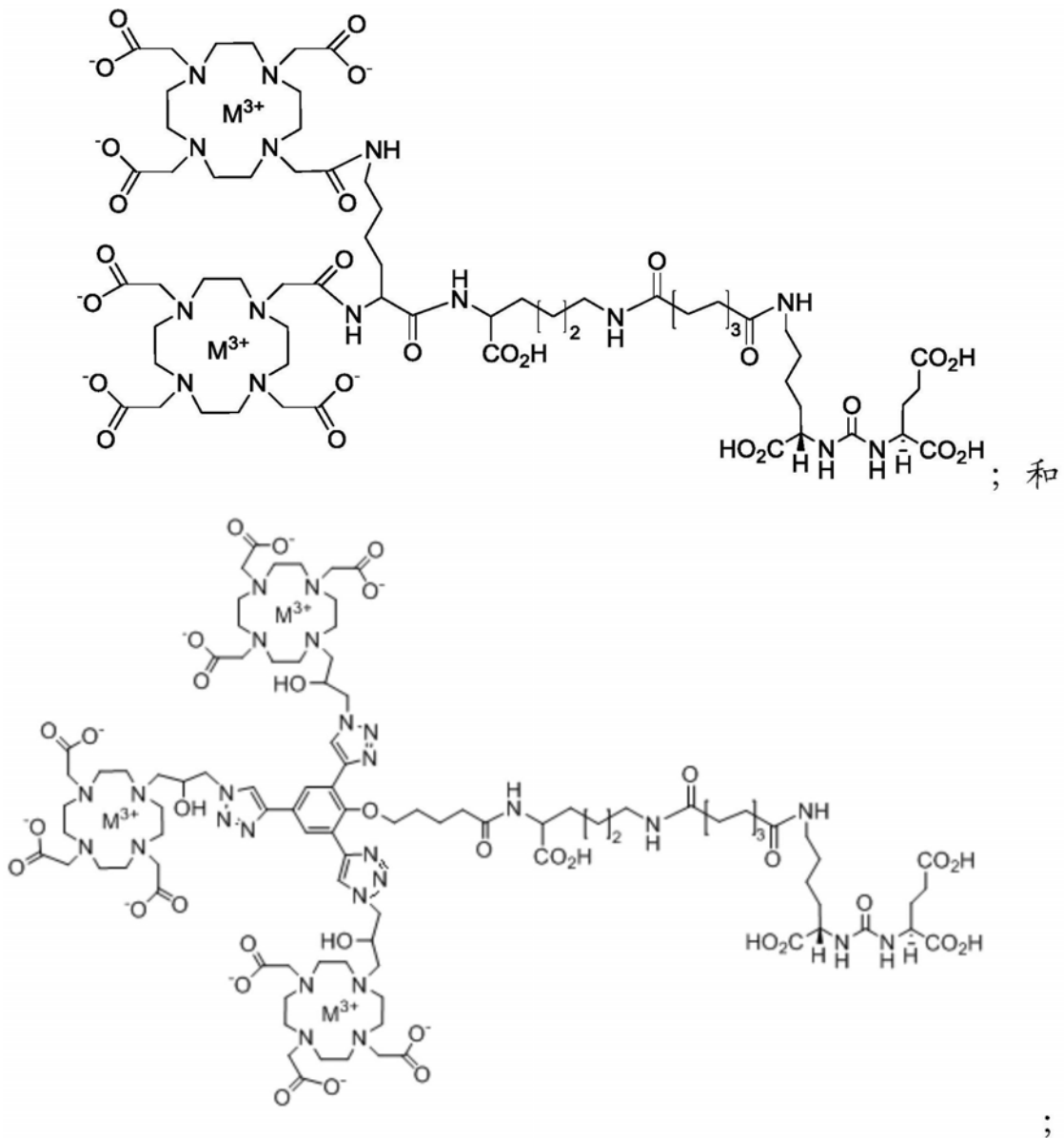
Ch为螯合部分,包含Gd并且选自由以下组成的组:



；

其中 $q$ 为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数；或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物，其中所述化合物选自由以下组成的组：



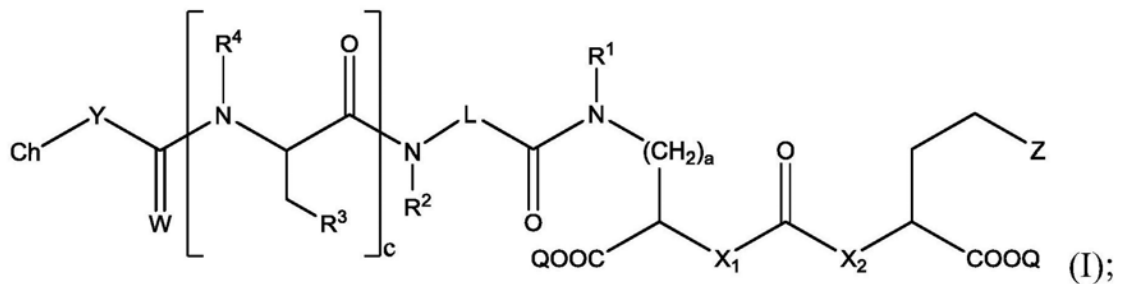
其中：

M为Gd；或

其药学上可接受的盐。

3. 如权利要求1所述的化合物，其中Gd为稳定同位素Gd-157。

4. 式(I)的化合物在制备用于成像或治疗一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞的剂中的用途，其中当使用所述剂时，所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触并制作图像，所述式(I)的化合物包括：





Z为四唑或CO<sub>2</sub>Q;

Q为H;

X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地为NH或O;

a为选自由1、2、3和4组成的组的整数;

c为选自由0、1、2、3和4组成的组的整数;

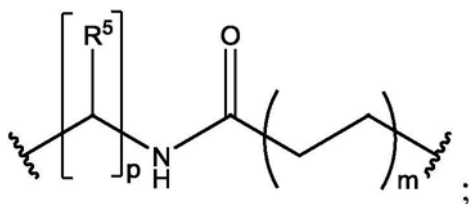
每个R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>4</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基;

每个R<sup>3</sup>独立地为H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>芳基;

W独立地为O或S;

Y为-NH-并且可存在或不存在;

L为:



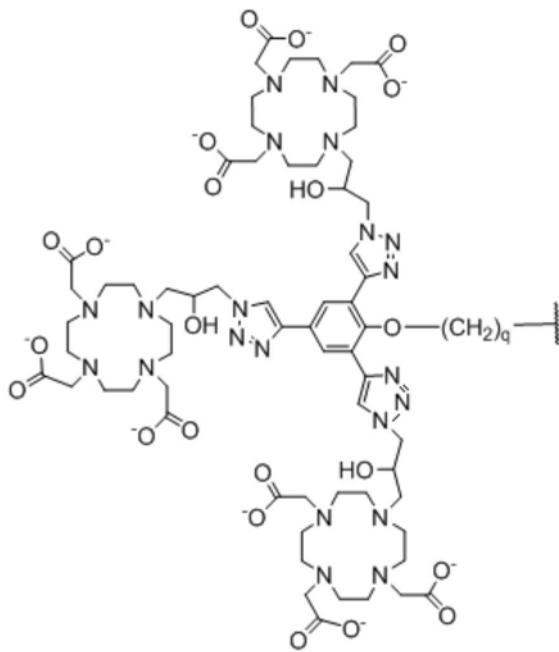
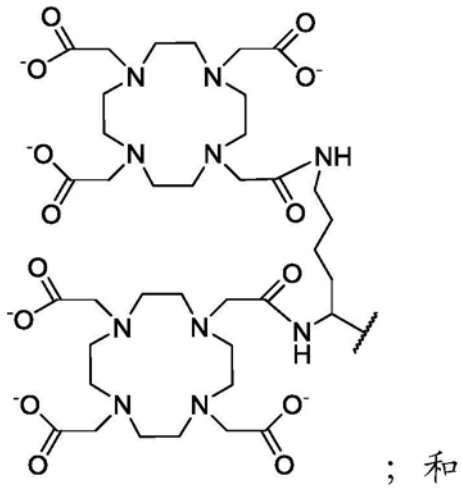
其中:

m为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;

每个R<sup>5</sup>独立地为H或-COOR<sup>6</sup>,其中每个R<sup>6</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

p为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;

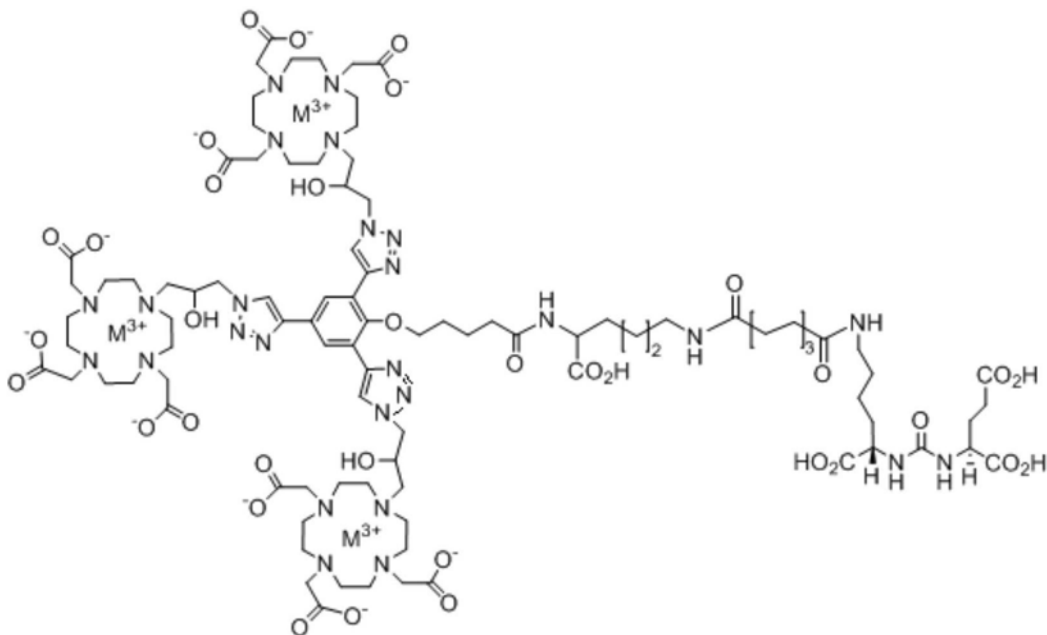
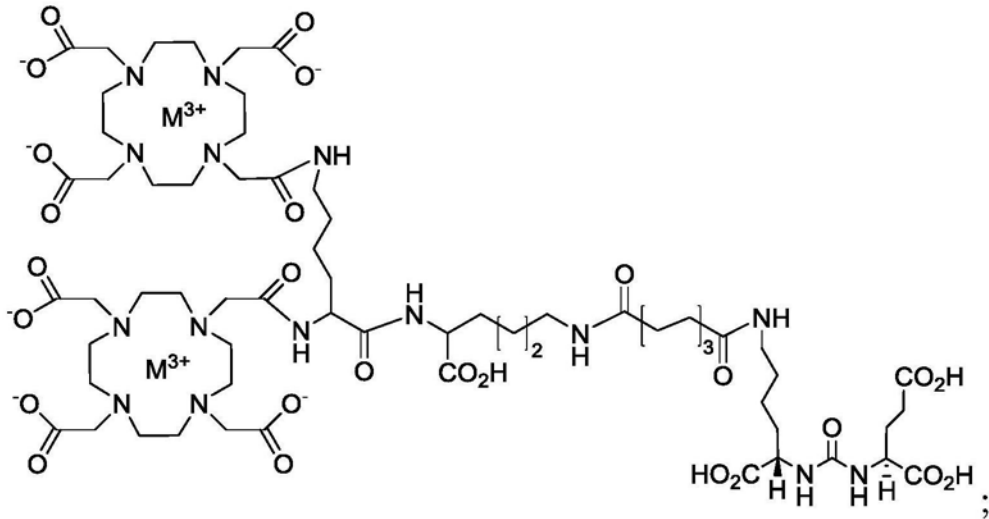
Ch为螯合部分,包含Gd并且选自由以下组成的组:



；

其中 $q$ 为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数；或其药学上可接受的盐。

5. 如权利要求4所述的用途，其中所述化合物选自由以下组成的组：



其中：

M为Gd；或

其药学上可接受的盐。

6. 如权利要求4所述的用途，其中成像包括磁共振成像 (MRI)，且Gd为稳定同位素Gd-157。

7. 如权利要求4所述的用途，其中当使用所述剂时，治疗一种或更多种前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 肿瘤或细胞。

8. 如权利要求4所述的用途，其中所述成像包括正电子发射断层摄影术 (PET) 成像。

9. 如权利要求4所述的用途，其中所述成像包括单光子发射计算机断层摄影术 (SPECT) 成像。

10. 如权利要求4所述的用途，其中所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原肿瘤或细胞选自由以下组成的组：前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、成胶质细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、黑素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜

铬细胞瘤、食管肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞、及其组合。

11. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原肿瘤或细胞选自由以下组成的组:转移的前列腺肿瘤或细胞和肉瘤。

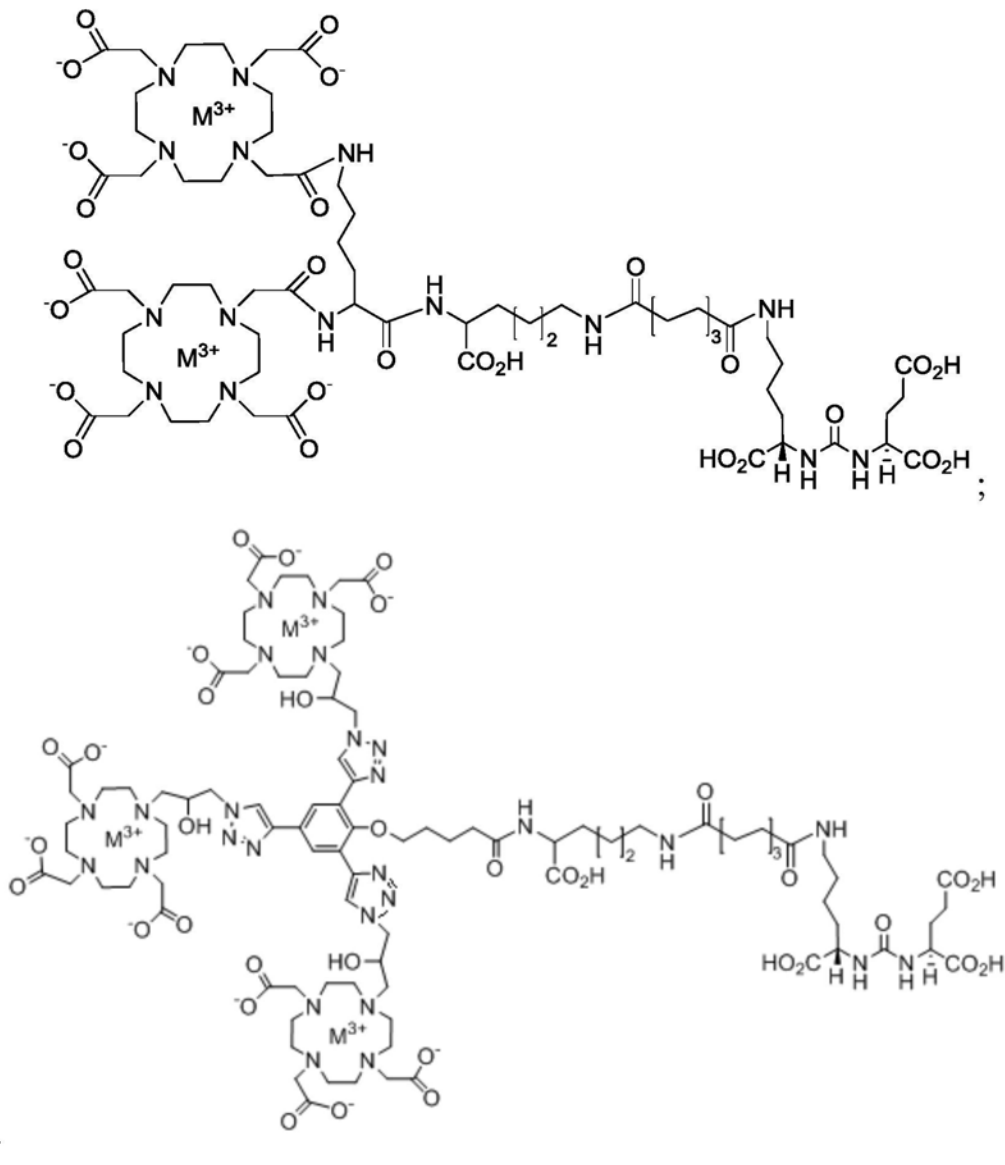
12. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原肿瘤或细胞为前列腺肿瘤或细胞。

13. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原肿瘤或细胞是体外或体内的。

14. 如权利要求4所述的用途,其中所述一种或更多种前列腺特异性膜抗原肿瘤或细胞存在于受试者中。

15. 如权利要求14所述的用途,其中包含所述剂的所述化合物被从受试者的所述肿瘤或细胞中清除。

16. 如权利要求14所述的用途,其中包含所述剂的所述化合物选自由以下组成的组:



和

;

其中M为Gd;或

其药学上可接受的盐;

并且所述化合物从受试者的肾比从受试者的肿瘤更快速地清除。

## 用于PSMA靶向的成像和放射疗法的金属/放射性金属标记的 PSMA抑制物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年5月6日提交的美国临时申请第61/989,428号和2015年2月18日提交的美国临时申请第62/117,603号的权益,这些申请的每一个通过引用以其整体并入本文。

[0003] 联邦政府资助的研究或开发

[0004] 本发明根据由美国国立卫生研究院(National Institute of Health)(NIH)授予的K25CA148901-01A1和U54CA1346751在政府支持下进行。政府在本发明中具有一定权利。

### 技术领域

[0005] 本申请涉及但不限于用于PSMA靶向的成像和放射疗法的金属/放射性金属标记的PSMA抑制物。

### 背景技术

[0006] 前列腺特异性膜抗原(PSMA)日益地被认识到是用于前列腺和癌症的其他形式的成像和疗法的可行的靶(Ghosh和Heston,2004;Milowsky等,2007;Olson等,2007)。PSMA在PCa和转移灶,特别是对于激素难治性形式中显著过表达(Ghosh和Heston,2004;Milowsky等,2007)。还已知PSMA由大部分实体瘤和肿瘤新血管系统表达(Haffner等,2012;Haffner等,2009)。成像PSMA可提供对雄激素信号传导(Evans等,2011)和对紫杉烷类疗法的响应(Hillier等,2011)的深刻理解。先前的研究已显示了使用官能化的半胱氨酸-谷氨酸或赖氨酸-谷氨酸胺在前列腺癌的实验模型中(Schulke等,2003;Mease等,2013;Banerjee等,2010)和在临床上(Cho等,2012;Kulkarni等,2014;Zechmann等,2014)的PSMA靶向的放射性核素成像。对于大分子片段诸如放射性金属( $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{203}\text{Pb}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ )复合物(Banerjee、Pullambhatla、Shallal,等,2011;Banerjee、Pullambhatla、Byun,等,2011;Banerjee等,2008)和纳米粒子(Chandran等,2008;Kam等,2012)的附着,将长的接头放置在大分子和靶向肽之间以保持PSMA-靶向的结合。不希望受任何一种特定的理论所束缚,由于配体结合位点的细胞外定位和估计的每细胞高受体浓度( $\sim 3.2\mu\text{M}$ /细胞体积),认为PSMA将是MR分子成像的适合的生物标志物。

[0007] MR成像为用于提供高分辨率解剖和功能成像的临床相关的、非侵入性诊断工具。分子MR成像使得生物标志物能够在体内可视化(Artemov、Mori、Okollie等,2003;Artemov、Mori、Ravi、Bhujwalla,等,2003;Konda等,2001;Lanza等,2004;Huang,等,2013)。由于它们易于施用并提供 $T_1$ -加权的、正的对比,基于Gd(III)的造影剂被临床医师广泛接受。尽管在具有高弛豫度的造影剂的设计中已取得了进展,但灵敏度仍然是分子MR成像的限制因素。对于在分子成像应用(特别地,用于成像受体或蛋白表达)中使用,基于Gd(III)-的造影剂很少超过检测的限值(Artemov、Mori、Okollie等,2003;Artemov、Mori、Ravi、Bhujwalla,等,2003;Konda等,2001;Lanza等,2004;Huang,等,2013)。用信号放大策略,MR可能为与基

于放射性核素的技术互补的分子成像提供灵敏模式 (Aime等,2004;Major等,2009;Song等,2008;Artemov,2003)。尽管扩增策略可改进靶向的试剂的灵敏度,但从简单的、低分子量化合物转移至更大的、多重实体可显著改变试剂的药代动力学谱 (Artemov、Mori、Okollie等,2003;Artemov、Mori、Ravi、Bhujwalla,等,2003;Konda等,2001;Lanza等,2004;Huang,等,2013)。Sherry等通过产生具有非常高的结合亲和力( $K_d$ )的造影剂解决了灵敏度的问题,使得通过MR检测所需的试剂的量可最小化 (Hanaoka等,2008;De Leon-Rodriguez等,2010)。将受体特异性高亲和力配体与用于检测的多聚体Gd(III)试剂组合已经被设计为用于能够基于MR的受体成像的一种解决方案(Wu等2012)。

[0008] 该方法的一个实例包括通过制备具有高纵向弛豫度( $r_1$ )值的多聚体Gd-树状体的VEGFR2的分子成像(De Leon-Rodriguez等,2010)。已报道了在更高场强下具有改进的 $r_1$ 值的其他多聚体试剂,由于MR成像(实验和临床两者)转向更高的场(Mastarone 2011)。在高场下优化弛豫度提供了较大的信噪比和对比噪声比(SNR/CNR)的优点以及伴随的较高空间分辨率和降低获取时间的优点(Rooney 2007)。这些概念的组合,即高亲和力靶向部分与灵敏多聚体造影剂的使用提供了研究表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞和组织的靶向的MR成像的基本原理。

[0009] 此外,已推断,基于脲的试剂也可用于含PSMA的病变的使用放射性核素的放射疗法。事实上,使用该方法与 $[^{131}\text{I}]$ MIP1095((S)-2-(3-((S)-1-羧基-5-(3-(4- $[^{131}\text{I}]$ 碘苯基)脲基)戊基)脲基)戊二酸)(Zechmann等,2014)和 $^{177}\text{Lu}$ -标记的PSMA-靶向的试剂(Kulkarni等2014)的临床研究正在进行去势抵抗性前列腺癌(castrate-resistant prostate cancer)的治疗。这将类似于放射免疫疗法(RIT),放射免疫疗法(RIT)已证明在用常规地整合到临床实践中的两种商业产品对淋巴瘤的治疗中是非常成功的。然而,由于使用放射性标记的抗体用于成像,RIT充满困难,包括延长的循环时间、不可预测的生物效应以及偶尔需要预靶向策略。此外,比起可在药理学上操作的低分子量试剂,抗体可更少接近肿瘤。因此,对用于肿瘤的成像和放射疗法的对PSMA具有高结合亲和力的低分子量化合物仍存在需求。

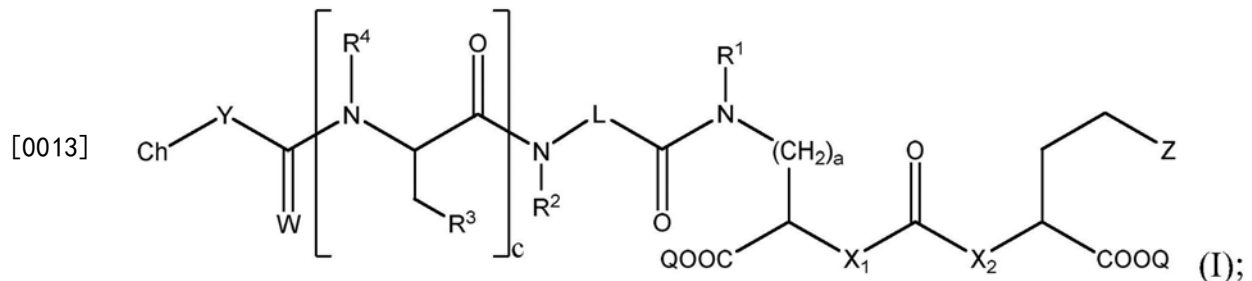
[0010] 发射正电子的放射性核素 $^{86}\text{Y}$ (半衰期 $[t_{1/2}] = 14.74\text{h}$ , $\beta^+ = 33\%$ , $E_{\beta^+} = 664\text{keV}$ )是用于分子成像的有吸引力的同位素(Nayak和Brechtel,2011)。钇-86可容易地采用 $^{86}\text{Sr}(p,n)^{86}\text{Y}$ 核反应在小型生物医学回旋加速器上制备(Yoo等,2005)。高能量 $\beta^-$ -发射体 $^{90}\text{Y}$ ( $t_{1/2} = 64.06\text{h}$ , $\beta^- = 72\%$ , $E_{\beta^-} = 2.288\text{MeV}$ )用于腔内放射疗法的广泛使用(Witzig等,2003;Bodei等,2004)使 $^{86}\text{Y}$ 对于 $^{90}\text{Y}$ -标记的放射疗法的放射量测定法估计是理想的(Helisch等,2004)。用 $^{86}\text{Y}$ 放射性标记的抗体和肽具有与用 $^{90}\text{Y}$ 标记的那些相同的特性,使得对于用于放射疗法的 $^{90}\text{Y}$ 的精确吸收剂量估计成为可能(Nayak和Brechtel,2011;Palm等,2003)。由于 $^{177}\text{Lu}$ 和 $^{90}\text{Y}$ 具有相似的螯合化学反应,尽管 $^{177}\text{Lu}$ 具有比 $^{90}\text{Y}$ 短的 $\beta$ 粒子范围( $t_{1/2} = 6.7$ 天, $E_{\beta^-} = 0.5\text{MeV}$ ),提出 $^{86}\text{Y}$ 作为适合的成像替代物以研究潜在的基于 $^{177}\text{Lu}$ 的放射疗法以及用 $^{90}\text{Y}$ 放射性标记的那些。相似的基本原理已应用于神经内分泌靶向的肽受体放射性核素疗法的试剂(Chen等,2012)。使用相似的方法,适合于SPECT成像的潜在的配对成像放射性同位素 $^{203}\text{Pb}$ (半衰期,51.9h, $E_{\beta^-} = 279\text{-keV}$   $\gamma$   $\gamma$ -射线,81%)可用于 $\alpha$ -粒子疗法的治疗放射性核素 $^{212}\text{Pb}$ (Chappell,等2000;Yong,等2011;Yong,等2012;Yong,等2013)。 $^{212}\text{Pb}$ 的衰变纲图包括 $^{212}\text{Bi}$ , $^{212}\text{Bi}$ 在衰变后产生一个 $\alpha$ -粒子、两个 $\beta\beta^-$ 粒子及数个 $\gamma$   $\gamma$ -发射。由于诸如局部致密离子化

的高线性能量转移特性(其导致独立于组织氧含量或剂量率的不可恢复的DNA双链断裂和细胞毒性), $\alpha$ -粒子发射体对于靶向的放射疗法特别有吸引力(McDevitt,等,1998)。 $^{212}\text{Pb}$ 和 $^{212}\text{Bi}$ 都是有希望的 $\alpha$ -粒子发射源,其具有充分描述的用于抗体连接的放射化学反应并由 $^{224}\text{Ra}$ 发生器容易地获得。

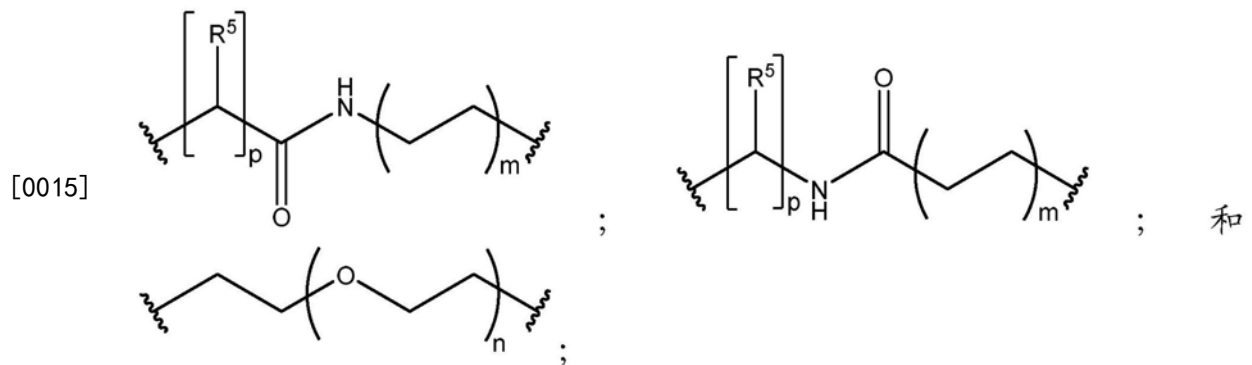
[0011] 也已开发了在体外也显示对PSMA的高结合亲和力的基于放射性卤化氨基甲酸酯的PSMA抑制物,并且当用正电子发射体F-18进行放射性标记时,显示在PSMA阳性小鼠肿瘤异种移植物中高摄取和从正常组织的快速清除。由于这类化合物的有利的药代动力学谱,即,低非特异性结合、体内代谢不足和合理的肿瘤停留时间,成像研究已经扩展至分子放射疗法。此外,基于氨基甲酸酯的抑制物可与金属螯合剂采用与基于脲的金属/基于放射性金属的试剂相似的连接基官能性偶联,以保持对PSMA的高结合亲和力。因此,金属或放射性金属缀合的氨基甲酸酯支架也可用于表达PSMA的细胞和组织的成像和疗法。

## 发明内容

[0012] 在一些方面,本公开的主题提供了式(I)的化合物:



[0014] 其中:Z为四唑或 $\text{CO}_2\text{Q}$ ;Q为H或保护基团; $X_1$ 和 $X_2$ 各自独立地为NH或O;a为选自自由1、2、3和4组成的组的整数;c为选自自由0、1、2、3和4组成的组的整数;每个 $R^1$ 、 $R^2$ 和 $R^4$ 独立地为H或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ 烷基;每个 $R^3$ 独立地为H、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基或 $\text{C}_2$ - $\text{C}_{12}$ 芳基;W独立地为O或S;Y为-NH-,并且可以存在或不存在;L为连接基,其中所述连接基选自由以下组成的组:



[0016] 其中:m为选自自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;每个 $R^5$ 独立地为H或 $-\text{COOR}^6$ ,其中每个 $R^6$ 独立地为H或 $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ 烷基;n为选自自由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11和12组成的组的整数;p为选自自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;Ch为可包含一种或更多种金属或放射性金属的螯合部分;或其药学上可接受的盐。

[0017] 在其他方面,本公开的主题提供了一种用于成像或治疗一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使一种或更多种肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触并制作图像。



[0018] 上文已列举了本公开的主题的某些方面,其全部或部分由本公开的主题所呈送,当结合下文作为最佳描述的所附实施例和附图考虑时,其他方面随着描述进行将变得明显。

### 附图说明

[0019] 如此以一般术语描述了本公开的主题,现将参考附图,其不必然按比例绘制,且其中:

[0020] 图1A和1B为:(A) Gd1、Gd2和Gd3的结构,和(B) IC<sub>50</sub>曲线;

[0021] 图2示出了PC3PSMA-flu(蓝色)和PC3PSMA+PIP(红色)细胞沉淀中的Gd1-Gd3的浓度;数据从ICP-MS分析获得;

[0022] 图3示出了对于Gd1和Gd2,内化的和细胞表面结合的孵育剂量的百分比(%ID);数据从ICP-MS分析获得;

[0023] 图4A至图4C示出了在同基因人类PC3前列腺癌细胞对,PSMA+PIP和PSMA-flu细胞中由Gd3产生的T<sub>1</sub>对比增强;(A) PIP和flu细胞的颜色编码的T<sub>1</sub>图。弛豫速率在9.4T在25°C下确定;(B) 在用Gd3处理后,PIP和flu细胞中T<sub>1</sub>变化( $\Delta T_1$ )的定量(n=4,P<0.05);(C) PIP和flu细胞中的Gd3的细胞摄取。与PIP细胞沉淀缔合的Gd(III)的量显著高于对于flu细胞沉淀的量。通过与ZJ43预孵育,PIP细胞中Gd3的累积被阻断(n=4,P<0.05);

[0024] 图5A至图5D示出了(A)通过荧光成像的Gd1-Rh的细胞摄取和内化;PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu细胞与Gd1-Rh的系列稀释溶液(4 $\mu$ M-4nM)在37°C下孵育30min,随后用冷PBS去除过量的造影剂;在4nM浓度的造影剂下的PC3PIP(B)和PC3flu(C)的放大图;罗丹明荧光以红色示出,且用DAPI染色的核计数器以蓝色显示;(D) Gd1-Rh的结构;

[0025] 图6A和图6B示出了在1h、4h和24h时的Gd3细胞表面结合(A)和内化(B)的%ID;

[0026] 图7示出了与Gd1、Gd2、Gd3和Prohance孵育的PSMA-PC3flu细胞的存活力;造影剂与在多种Gd浓度下的细胞在37°C下孵育24小时,并且存活力使用MTS测定来测量;将存活力测量值对在任何造影剂不存在下生长的细胞归一化;

[0027] 图8示出了与Gd1、Gd2、Gd3和Prohance(Gd-DOTA)孵育的PSMA+PC3PIP细胞的存活力;造影剂与在多种Gd浓度下的细胞在37°C下孵育24小时,并且存活力使用MTS测定来测量;将存活力测量值对在任何造影剂不存在下生长的细胞归一化;

[0028] 图9A和图9B示出了雄性NOD/SCID小鼠中的人类PC3前列腺癌PSMA+PIP和PSMA-flu肿瘤异种移植物的Gd3MR成像。(A)在将Gd3单次快速推注式注射(single bolus injection)到尾静脉之后在40min、80min、120min和160min时在T<sub>2</sub>-加权成像后叠加PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu肿瘤中的增强( $\Delta R_1\%$ )图;(B)在将Gd3单次快速推注式注射到尾静脉之后在40min、80min、120min和160min时无PSMA靶向部分的三聚体Gd造影剂的PSMA+肿瘤和PSMA-肿瘤中的 $\Delta R_1\%$ 图;

[0029] 图10A和图10B示出了(A)在注射后1-1600min期间,对于每个肿瘤的整体积计算的T<sub>1</sub>时间过程;和(B)在0-200min时的时间过程的放大区域;注意到在PSMA+PC3PIP肿瘤中的高特异性和持久性增强;

[0030] 图11示出了在以0.05mmol/Kg剂量(n=3)注射Gd3之后对于小鼠的弛豫度的变化百分比(% $\Delta R_1$ )。(p<0.03,PIP:flu);

[0031] 图12示出了在注射1X PBS (磷酸盐缓冲盐水) 之前和之后肿瘤 (n=1) 的 $T_1$ 值的体内时间依赖性变化;

[0032] 图13A和图13B示出了 (A) 图11中示出的选择的MR图像; 和 (B) Gd3的结构;

[0033] 图14示出了 $^{86}\text{Y}$ -标记的PSMA抑制物的结构;

[0034] 图15A和图15B示出了 $^{86}\text{Y}$ 4的制备型HPLC色谱图; (A) 放射性-HPLC峰; 和 (B) 在18.6min时的UV峰为在 $\lambda=254\text{nm}$ 处的未整合的4的;

[0035] 图16A和图16B示出了 $^{86}\text{Y}$ 5的制备型HPLC色谱图; (A) 放射性-HPLC峰, 且 (B) 在34min时的UV峰为在 $\lambda=254\text{nm}$ 处的未整合的5的;

[0036] 图17A至17C示出了 $^{86}\text{Y}$ 6的制备型HPLC色谱图; (A) 放射性-HPLC峰; (B) 在15.8min时的UV峰为在 $\lambda=220\text{nm}$ 处的未整合的6的; 和 (C) 纯的 $^{86}\text{Y}$ 6的HPLC色谱图;

[0037] 图18A至18C示出了在注射后2h时携带PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu肿瘤的小鼠中的 (A)  $^{86}\text{Y}$ -4、(B)  $^{86}\text{Y}$ -5和 (C)  $^{86}\text{Y}$ -6的全身PET-CT成像。小鼠用 $\sim 3.3\text{mBq}$  (90 $\mu\text{Ci}$ ) 的放射性示踪物静脉内 (IV) 注射。PSMA+PC3PIP (实箭头); PSMA-PC3flu (空箭头); K=肾; GB=胆囊; GI=胃肠道; L=左侧; R=右侧。图像被衰减校正和缩放至相同的最大值;

[0038] 图19A和19B示出了携带PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu肿瘤的小鼠中的 $^{86}\text{Y}$ -4的PET-CT成像。(A) 没有和 (B) 使用有效的选择性PSMA抑制物ZJ43作为阻断剂 (50mg/kg) 阻断PSMA获得图像。在用ZJ43共处理后, 肿瘤和肾 (另一PSMA+位点) 两者中放射性示踪物摄取的降低提供了对PSMA特异性结合的进一步检查。小鼠用 $\sim 6.2\text{MBq}$  (168 $\mu\text{Ci}$ ) 的放射性示踪物IV注射。PSMA+PC3PIP (实箭头); PSMA-PC3flu (空箭头); K=肾; B=膀胱; L=左侧; R=右侧。图像被衰减校正和缩放至相同的最大值; 图19C示出了有效的选择性PSMA抑制物ZJ43的结构;

[0039] 图20A至图20C示出了在 (A) 注射后0.5h、(B) 注射后2h和 (C) 注射后12h时携带PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu肿瘤的小鼠中的 $^{86}\text{Y}$ -6的PET-CT成像。小鼠用 $\sim 6.2\text{MBq}$  (160 $\mu\text{Ci}$ ) 的放射性示踪物IV注射。PSMA+PC3PIP (实箭头); PSMA-PC3flu (空箭头); K=肾; L=左侧; R=右侧。图像被衰减校正和缩放至相同的最大值;

[0040] 图21A和图21B示出了在 (A) 注射后1-2h和 (B) 注射后2-3.5h时狒狒中的 $^{86}\text{Y}$ -6PET的3D时间过程MIP (最大强度再投影) 展示。为了增强可视化, 膀胱放射性使用阈值方法半自动地分割并随后被去除。采用MIP 3D渲染来提供全身放射性示踪物分布的概述。在除了膀胱 (未示出) 和肾 (K) 以外的大部分正常组织中观察到很少的放射性示踪物。将动物插入导管用于该研究。注意到泪腺、腮腺和唾液腺中的轻度摄取 (分别为短、长和空的箭头);

[0041] 图22示出了 $^{177}\text{Lu}$ -SRV171和进一步改进体内药代动力学的相关的提议的试剂的结构;

[0042] 图23示出了在37 $^{\circ}\text{C}$ 下2h之后 $^{177}\text{Lu}$ -SRV171 (0.01-10 $\mu\text{Ci}$ /百万个PSMA+PIP和PSMA-flu细胞) 的孵育剂量 (ID) 的百分比。摄取特异性通过10 $\mu\text{M}$  ZJ43的共孵育进一步检查;

[0043] 图24示出了多达24h的 $^{177}\text{Lu}$ -SRV171 (1 $\mu\text{Ci}$ ) 的内化研究;

[0044] 图25A至图25C示出了在 (A) 注射后2h、(B) 注射后24h和 (C) 注射后96h时, 使用 $^{177}\text{Lu}$ -SRV171 (500 $\mu\text{Ci}$ ) 的携带PIP和flu肿瘤的雄性小鼠的SPECT图像。在肾 (K)、膀胱 (B) 和flu肿瘤中发现低摄取。

[0045] 图26示出了在注射后3h、24h、48h、72h和96h时的不同器官中的 $^{177}\text{Lu}$ -SRV171的组织生物分布;

[0046] 图27示出了<sup>203</sup>Pb-SR-IX-11和<sup>203</sup>Pb-SRV171的结构;

[0047] 图28A至图28C示出了在(A)注射后60min、(B)注射后120min和(C)注射后240min时,使用<sup>203</sup>Pb-SRV171(左侧)和<sup>203</sup>Pb-SR-IX-11(右侧)的携带PIP和flu肿瘤的雄性小鼠的SPECT-CT图像;

[0048] 图29示出了用于设计本公开的主题的化合物的两种赖氨酸-氨基甲酸酯支架:对应于氨基甲酸酯支架的氧戊二酸(oxypentanedioic acid)(OPA)和对应于“反”氨基甲酸酯支架的氨基戊二酸(NPA);

[0049] 图30示出了ZCP-01的HPLC色谱图;

[0050] 图31示出了冷的[In]ZPC-01的电喷雾电离质谱(ESI-MS);

[0051] 图32示出了冷的[In]ZPC-01的HPLC色谱图;

[0052] 图33A和图33B示出了[In]ZCP-01的制备型HPLC色谱图;(A)放射性-HPLC峰;且(B)在32min时的UV峰为在 $\lambda=200\text{nm}$ 处的未螯合的ZCP-01的;以及

[0053] 图34A至34C示出了在注射之后(A)2h、(B)4h和(C)24h,携带PSMA+PC3Pip和PSMA-PC flu肿瘤异种移植物的鼠中的 [<sup>111</sup>In]ZCP-01的摄取。

## 具体实施方式

[0054] 本公开的主题现将参考所附实施例和附图在下文更充分地被描述,其中本公开的主题的一些而非所有实施方案被示出。本公开的主题可以以许多不同的形式来体现并且不应该被解释为限于本文列出的实施方案;相反,提供这些实施方案使得本公开内容将满足适用的法律要求。事实上,本文阐述的本公开的主题的许多修改形式和其他实施方案将为公开的主题所属技术领域的技术人员想到具有上述说明和相关实施例和附图中呈现的教导的益处。因此,应该理解,本公开的主题不限于公开的具体实施方案并且修改形式和其他实施方案预期被包括在所附权利要求书的范围内。

[0055] I. 用于PSMA靶向的成像和放射疗法的金属/放射性金属标记的PSMA抑制物

[0056] 磁共振(MR)成像由于可同时提供解剖、功能和分子信息是有利的。MR分子成像可将这种已确立的临床模式及其高空间分辨率的普遍存在与体内分子谱系分析相结合。然而,由于MR的固有的低灵敏度,需要高的局部浓度的生物靶以产生可辨别的MR对比。

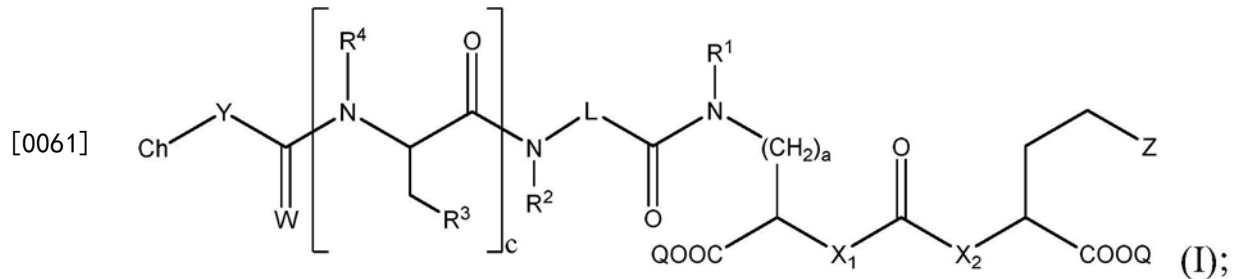
[0057] 不希望受任何一种特定理论所束缚,认为,由于每细胞的高靶浓度(约 $3\mu\text{M}$ /细胞体积)以及配体结合位点的细胞外定位,PSMA将是用于MR分子显像剂的良好靶。本公开的方法针对改进造影剂对特定分子或细胞靶的结合亲和力(最低 $K_d$ ),使得MR检测所需的试剂的量将少得多。因此,本公开的方法将高结合亲和力受体特异性配体与多聚体Gd(III)试剂组合作为用于基于MR的分子成像的一种可能的解决方案。

[0058] 先前,在鼠中使用放射性标记的、基于脲的PSMA抑制物显示成功的基于放射性金属的PET(<sup>64</sup>Cu)和SPECT(<sup>111</sup>In和<sup>99m</sup>Tc)成像。开发了包含以下的三重策略:(i)PSMA靶向部分,(ii)用于药代动力学调节的连接基,及(iii)使得能够附连放射性核素的螯合剂。该策略包括用于PET成像的<sup>86</sup>Y标记的DOTA缀合的试剂,并且为了用作放射疗法的模型,带有对应的<sup>90</sup>Y标记的试剂。由于DOTA为用于许多金属的强螯合剂,相同的DOTA缀合物可与其他放射治疗放射性核素一起使用,其他放射治疗放射性核素诸如Lu-177、Ac-225、Bi-213、Bi-212、Pb-212、Cu-67和Sc-47。在本公开的主题中,使用相同的脲-连接基构建体,并且增加Gd-螯

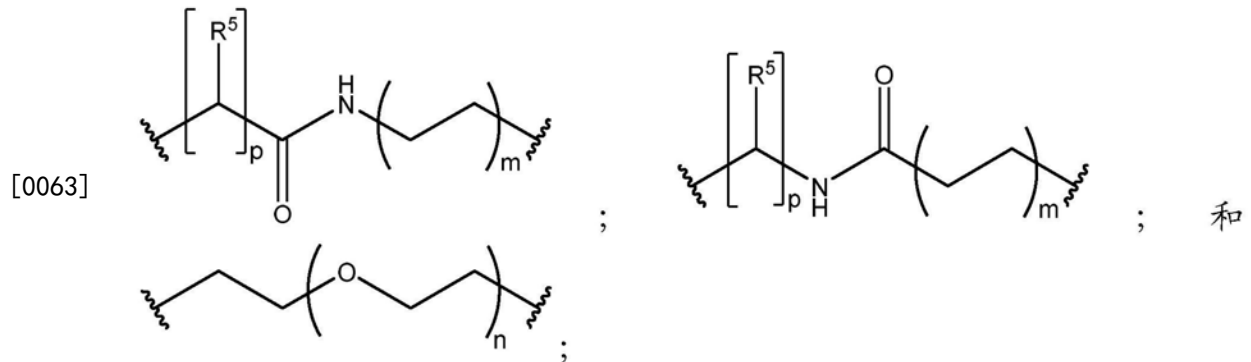
合物(单体-Gd、二聚体-Gd和三聚体Gd)的数目以优化如高场造影剂的弛豫行为或MR灵敏度以及它们的结合亲和力,以系统地研究PCa的基于PSMA的MR成像的可能性。

[0059] A. 式(I)的化合物

[0060] 因此,在一些实施方案中,本公开的主题提供了式(I)的化合物:

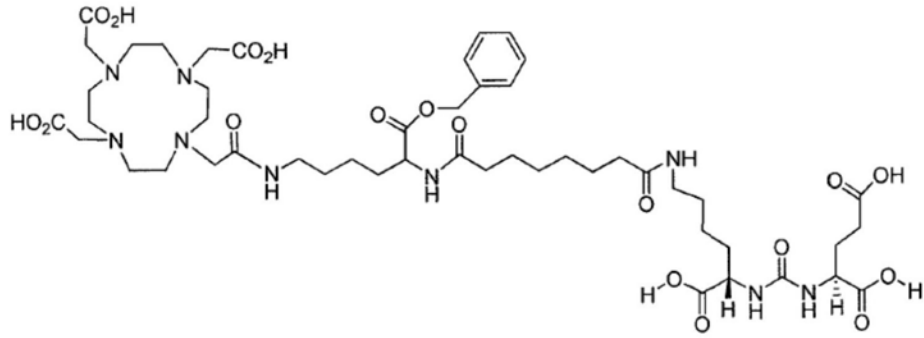


[0062] 其中:Z为四唑或CO<sub>2</sub>Q;Q为H或保护基团;X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地为NH或O;a为选自由1、2、3和4组成的组的整数;c为选自由0、1、2、3和4组成的组的整数;每个R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>和R<sup>4</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基;每个R<sup>3</sup>独立地为H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>芳基;W独立地为O或S;Y为-NH-,并且可以存在或不存在;L为连接基,选自由以下组成的组:



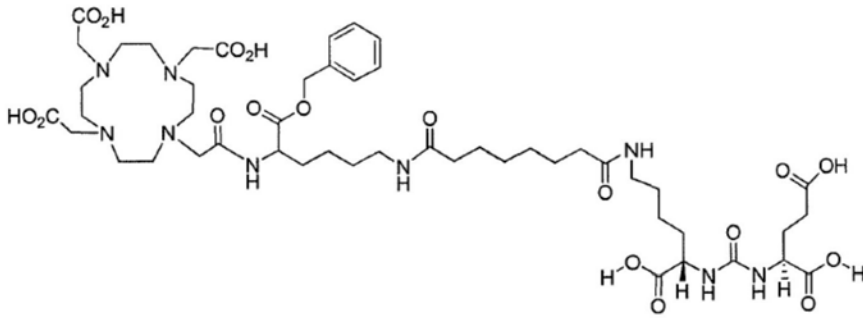
[0064] 其中:m为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;每个R<sup>5</sup>独立地为H或-COOR<sup>6</sup>,其中每个R<sup>6</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;n为选自由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11和12组成的组的整数;p为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;Ch为可包含一种或更多种金属或放射性金属的螯合部分;或其药学上可接受的盐。

[0065] 式(I)不包括在WO 2009/002529、WO 2010/108125和WO 2013/082338中公开的化合物,特别地,以下化合物明确地从本申请的产品权利要求(matter claims)的组合中排除:

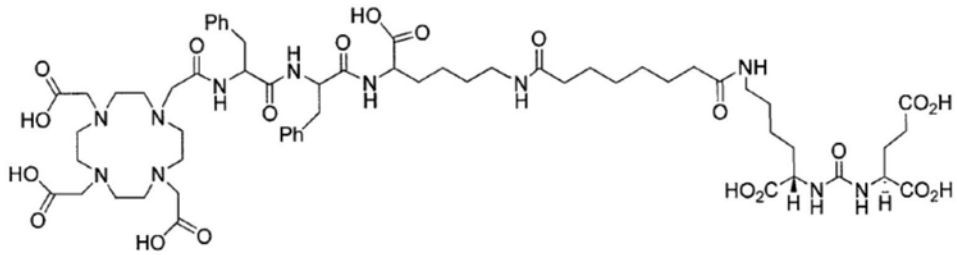


;

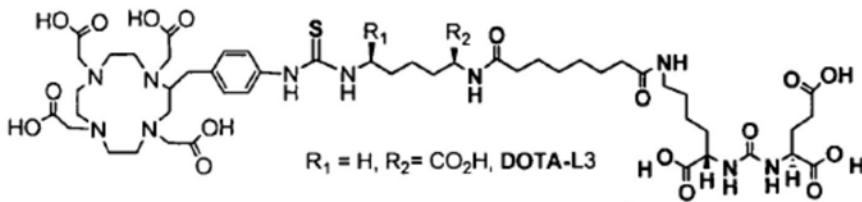
[0066]



;

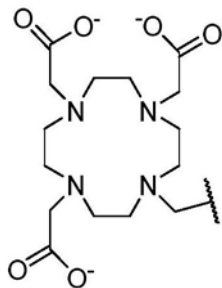


; 和

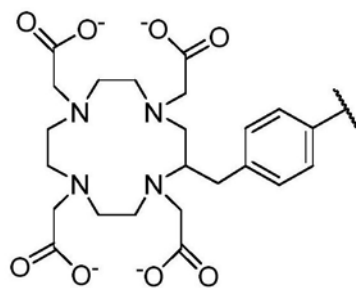


[0067] 在更特定的实施方案中,整合部分选自由以下组成的组:

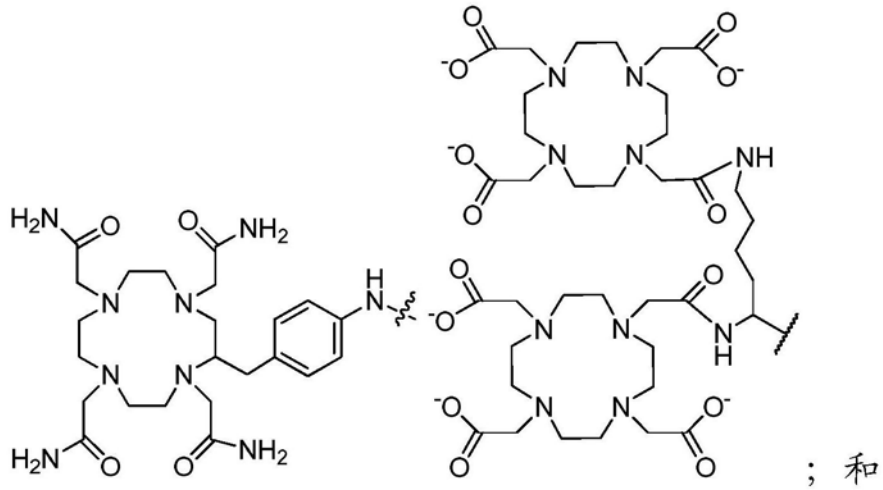
[0068]



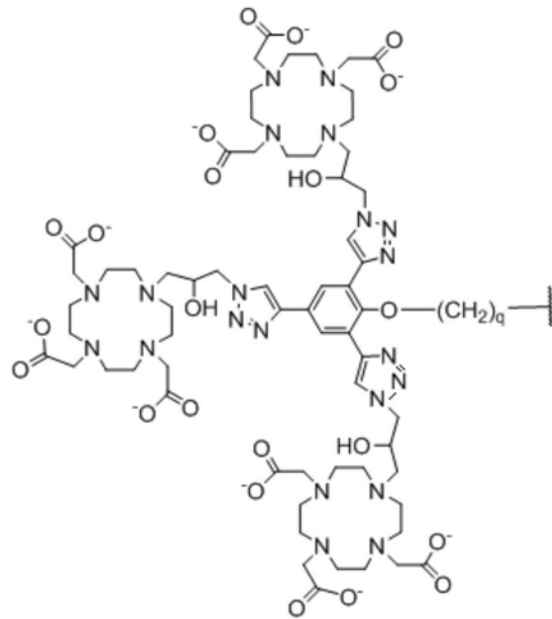
;



;

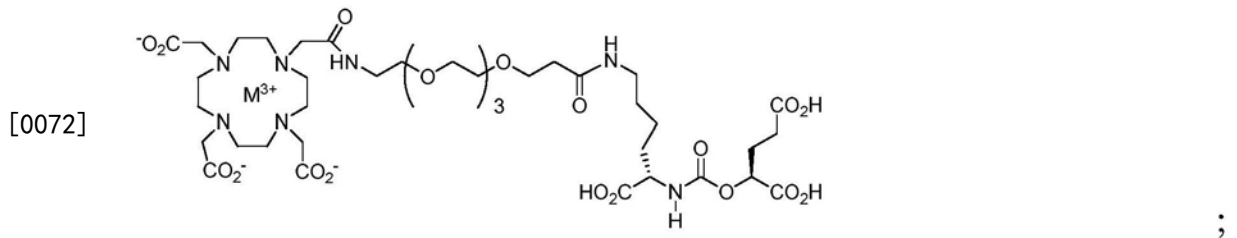


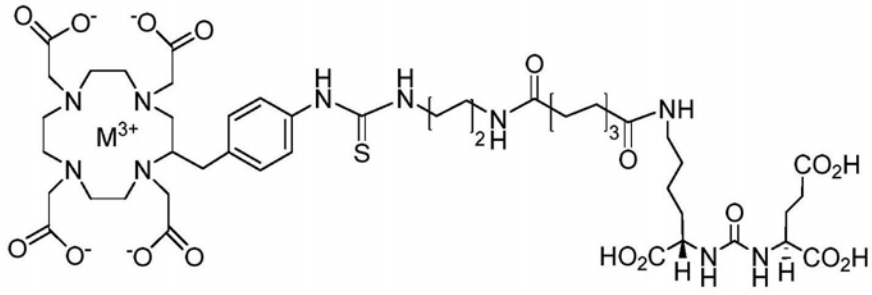
[0069]



[0070] 其中q为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数。

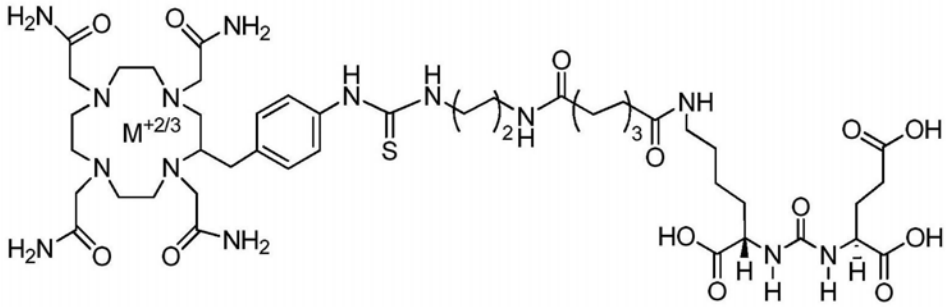
[0071] 在又更特定的实施方案中,式(I)的化合物选自由以下组成的组:



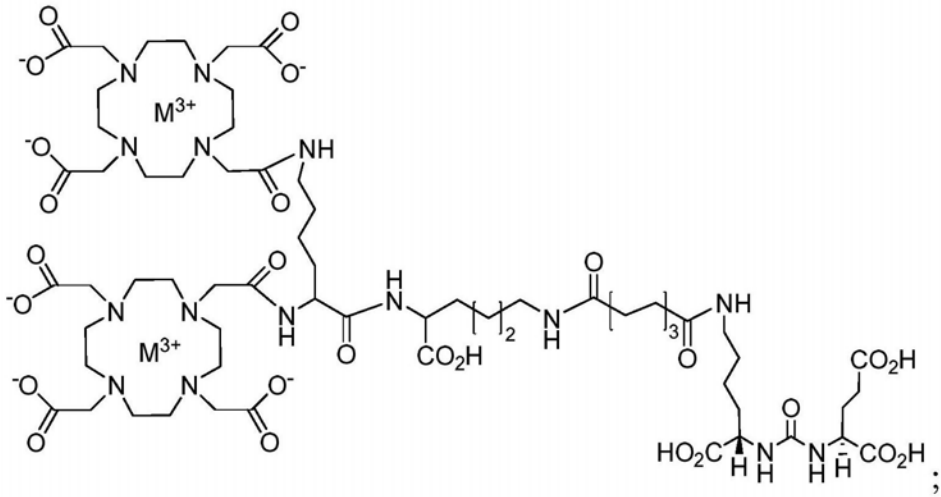


;

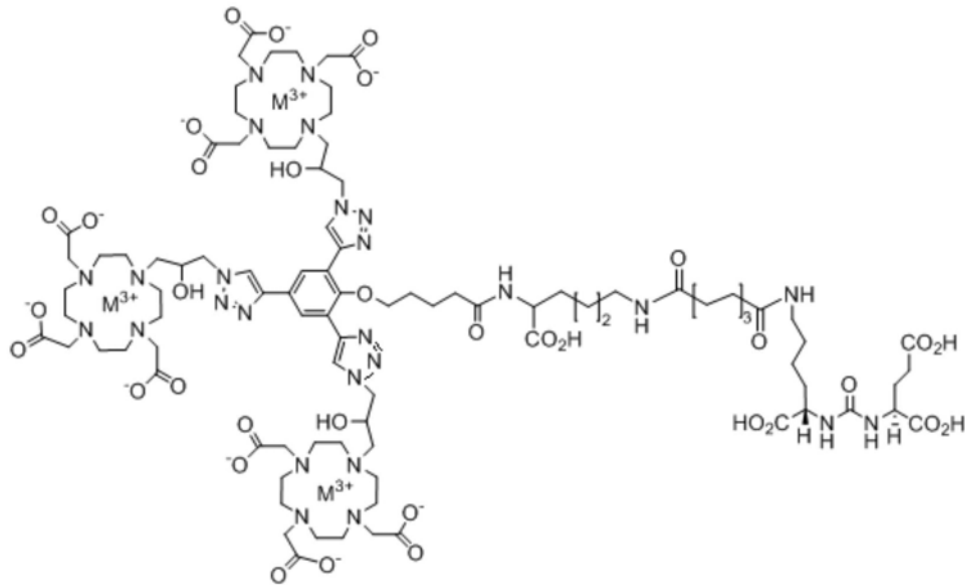
[0073]



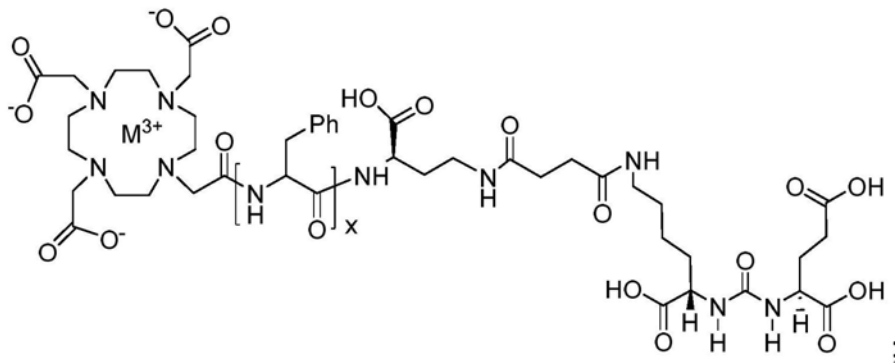
;



;



; 和



;

[0075] 其中:

[0076] x选自由2和3组成的组:

[0077] M为金属或放射性金属;或

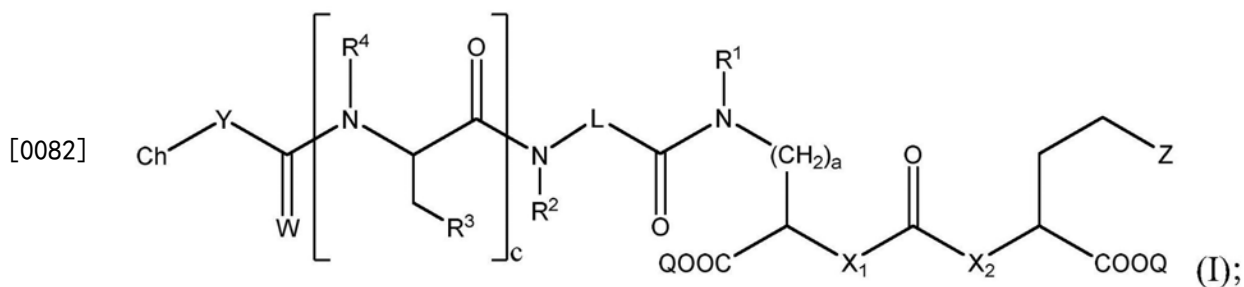
[0078] 其药学上可接受的盐。

[0079] 在一些实施方案中,金属选自由以下组成的组:Gd、Lu、Ac、Bi、Pb、Cu、In、Sc和Y。在特定的实施方案中,金属或放射性金属选自由以下组成的组:Gd-157、Lu-177、Ac-225、Bi-212、Bi-213、Pb-203/Pb-212、Cu-67、In-111、Sc-44/Sc-47和Y-90。在又更特定的实施方案中,对于MRI应用,非放射性金属为Gd-157(稳定同位素);对于放射疗法应用,放射性金属选自由Lu-177、Ac-225、Bi-203、Pb-210、Cu-67、In-111、Sc-47和Y-90组成的组;对于PET成像,放射性金属选自由Y-86和Sc-44组成的组;且对于SPECT应用,放射性金属选自由Lu-177和In-111组成的组。

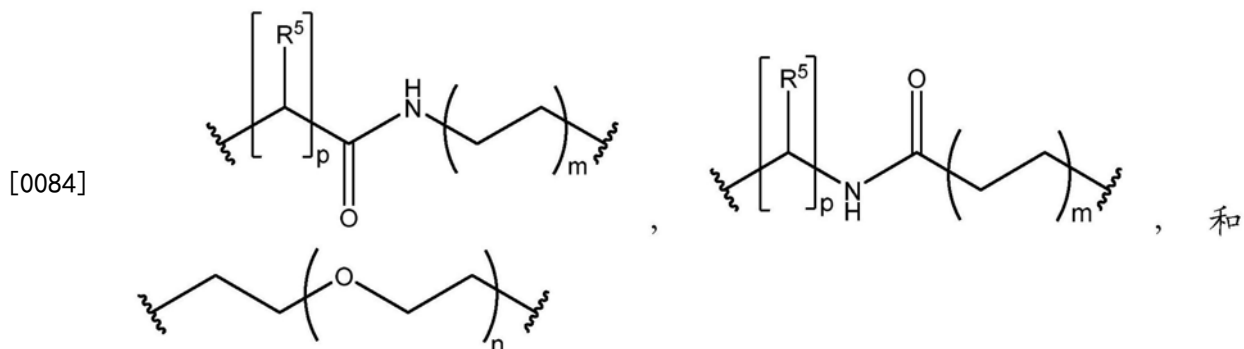
[0080] B. 使用式(I)的化合物用于MR成像和/或治疗表达PSMA的肿瘤或细胞的方法

[0081] 在一些实施方案中,本公开的主题提供了一种用于成像或治疗一种或更多种前列腺特异性膜抗原(PSMA)肿瘤或细胞的方法,所述方法包括使一种或更多种肿瘤或细胞与有效量的式(I)的化合物接触并制作图像,所述式(I)的化合物包括:





[0083] 其中:Z为四唑或CO<sub>2</sub>Q;Q为H或保护基团;X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>各自独立地为NH或O;a为选自由1、2、3和4组成的组的整数;c为选自由0、1、2、3和4组成的组的整数;每个R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基;W独立地为O或S;Y为-NH-,并且可以存在或不存在;L为连接基,选自由以下组成的组:



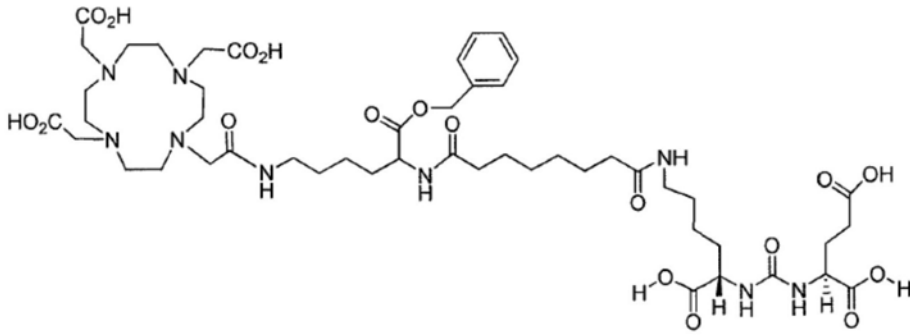
[0085] 其中:m为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;每个R<sup>5</sup>独立地为H或-COOR<sup>6</sup>,其中每个R<sup>6</sup>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;n为选自由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11和12组成的组的整数;p为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数;Ch为螯合部分,可包含一种或更多种金属或放射性金属;或其药学上可接受的盐。

[0086] “接触”意指导致本公开的主题的包含显像剂的至少一种化合物物理接触至少一种表达PSMA的肿瘤或细胞的任何行动。接触可包括使一种或更多种细胞或一种或更多种肿瘤暴露于足以导致至少一种化合物与至少一种细胞或肿瘤接触的量的化合物。该方法可通过如下体外或离体被实践:通过在受控环境诸如培养皿或管中引入,且优选地混合化合物和一种或更多种细胞或一种或更多种肿瘤。该方法可在体内实践,在该情况下接触意味着使受试者中的至少一种细胞或肿瘤暴露于本公开的主题的至少一种化合物,诸如经由任何适合的途径将化合物施用至受试者。根据本公开的主题,接触可包括在远离待接触的细胞的位点使化合物引入、暴露等,并允许受试者的身体机能,或天然(例如,扩散)或人为引入(例如,旋转)的流体运动,导致化合物和一种或更多种细胞或一种或更多种肿瘤接触。在一些实施方案中,肿瘤或细胞见于体外、体内或离体。

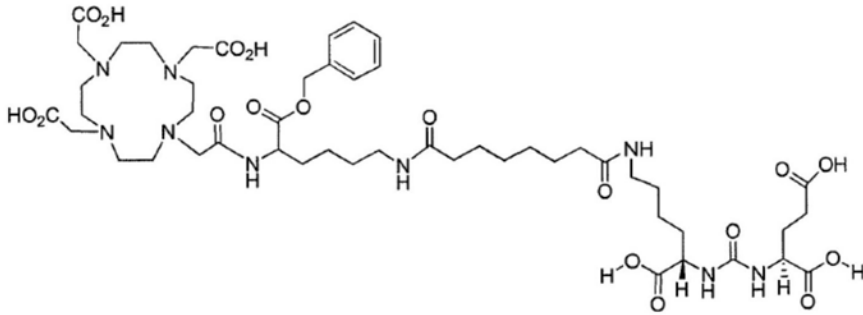
[0087] “制作图像”意指使用基于磁共振(MR)(极化和激发组织中的水分子中的氢核以产生可检测的信号磁体),以形成细胞、组织、肿瘤、身体的部分等的图像。

[0088] 式(I)不包括在WO 2009/002529、WO 2010/108125和WO 2013/082338中公开的化合物,特别地,以下化合物明确地从本申请的成像权利要求中排除:

[0089]

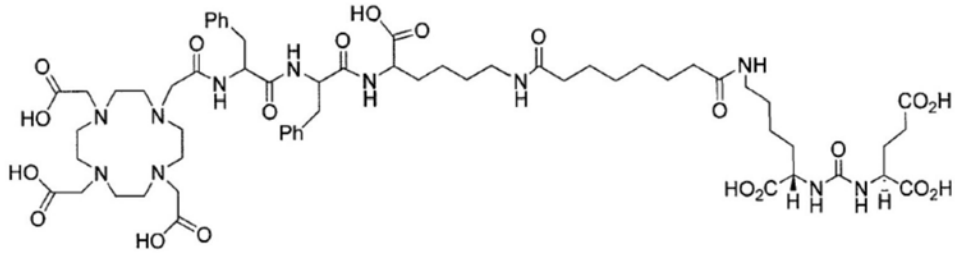


;

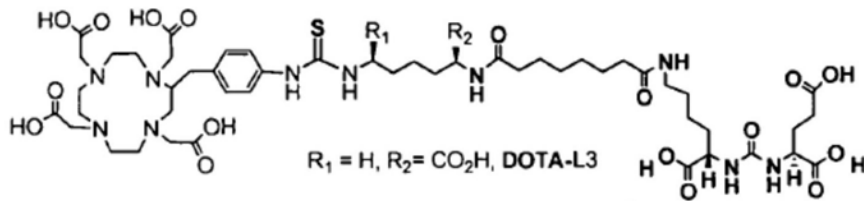


;

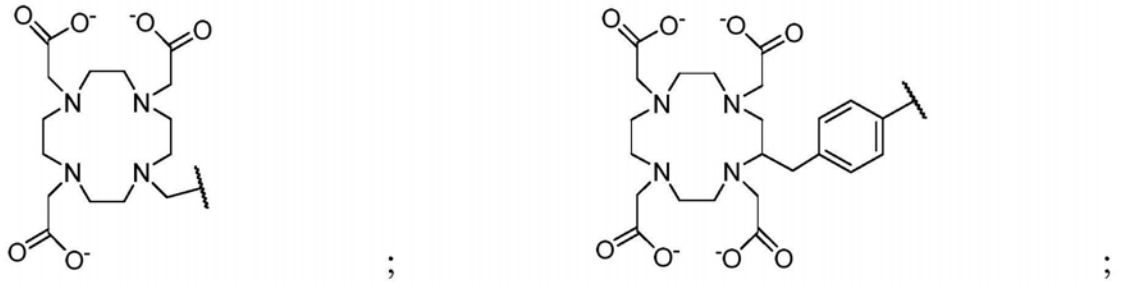
[0090]



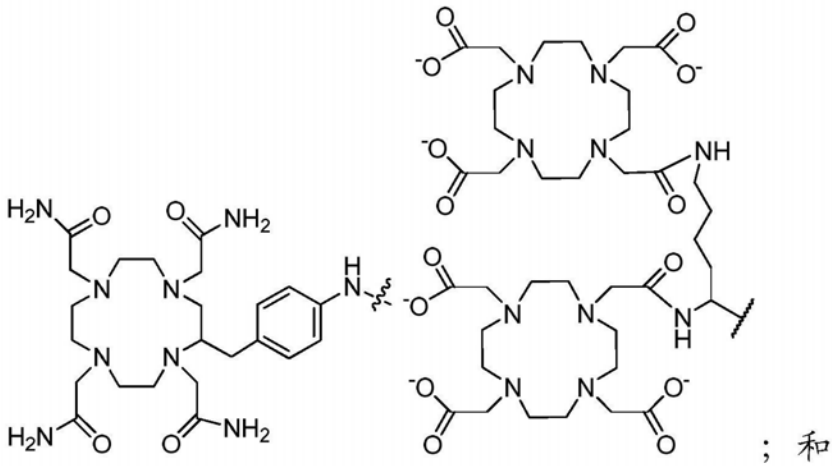
和



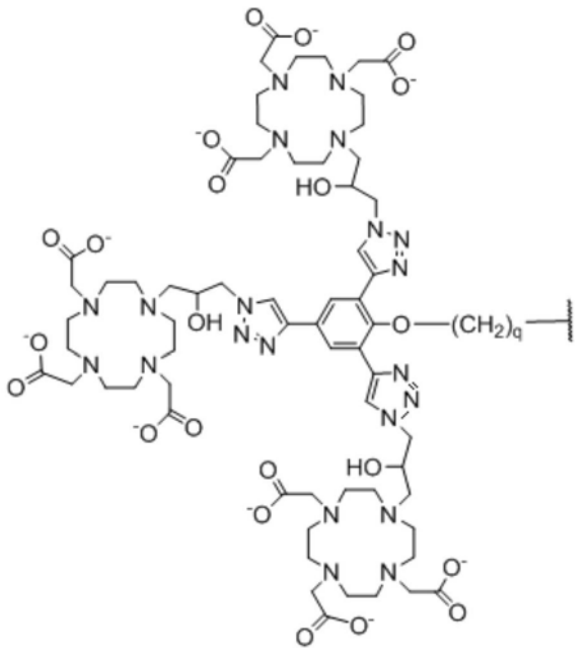
[0091] 在更特定的实施方案中,整合部分选自由以下组成的组:



[0092]

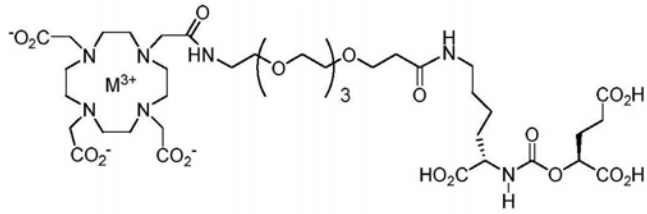


[0093]



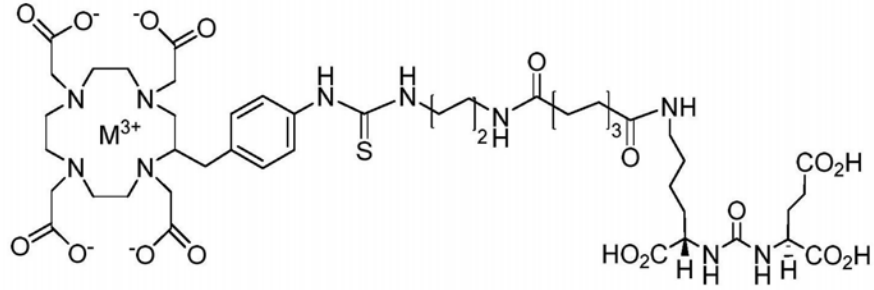
[0094] 其中q为选自由1、2、3、4、5、6、7和8组成的组的整数。

[0095] 在又更特定的实施方案中,化合物选自由以下组成的组:

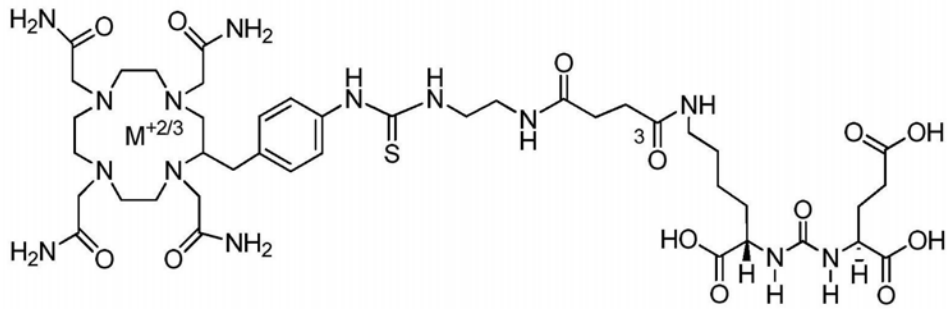


;

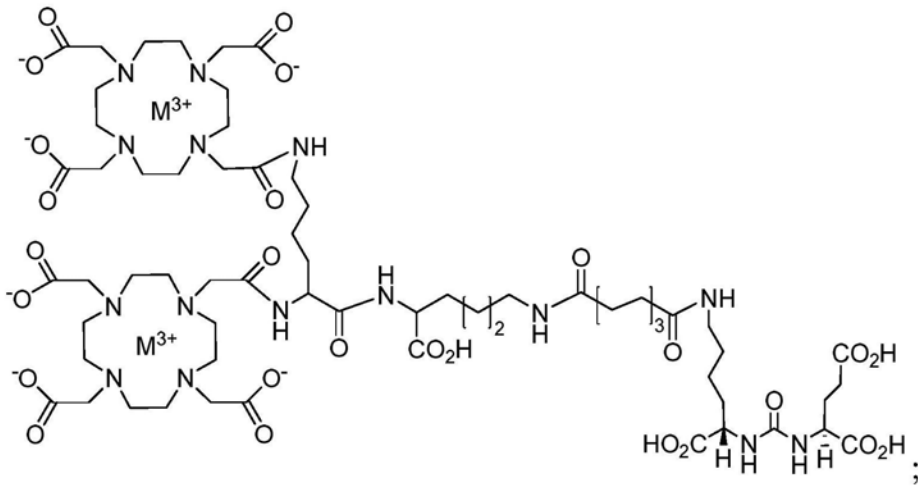
[0096]



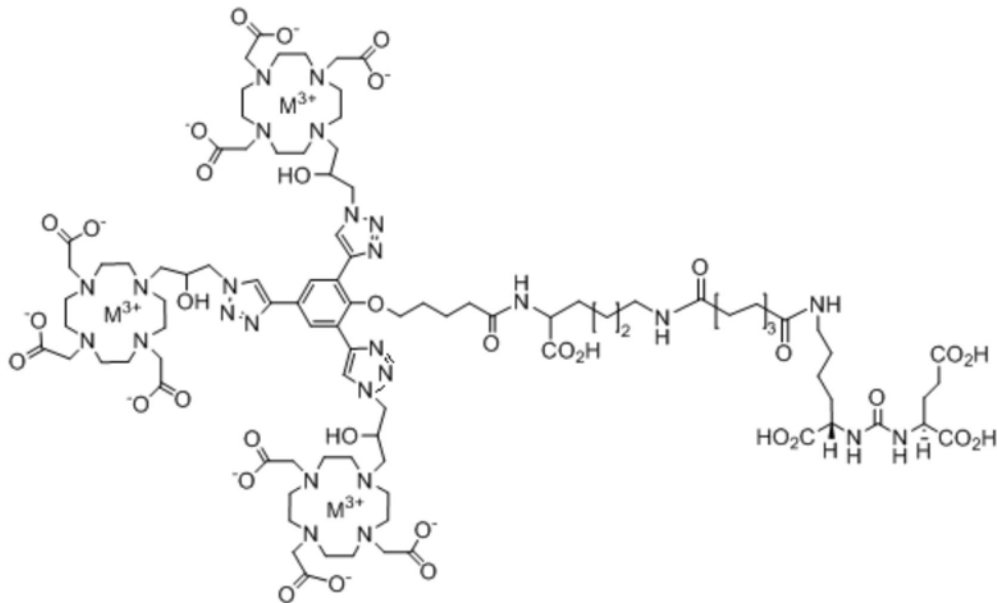
;



;

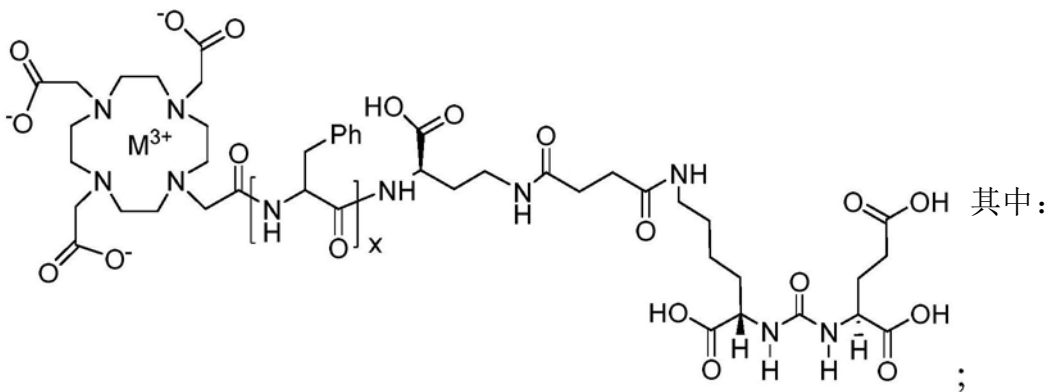


[0097]



; 和

[0098]



[0099] x选自由2和3组成的组:

[0100] M为金属或放射性金属;或

[0101] 其药学上可接受的盐。

[0102] 在一些实施方案中,金属选自由以下组成的组:Gd、Lu、Ac、Bi、Pb、Cu、In、Sc和Y。在特定的实施方案中,金属或放射性金属选自由以下组成的组:Gd-157、Lu-177、Ac-225、Bi-203、Pb-210、Cu-67、In-111、44Sc-/47Sc和Y-90。在又更特定的实施方案中,对于MRI应用,

非放射性金属为Gd-157 (稳定同位素);对于放射疗法应用,放射性金属选自由Lu-177、Ac-225、Bi-203、Pb-210、Cu-67、In-111、Sc-47和Y-90组成的组;对于PET成像,放射性金属选自由Y-86和Sc-44组成的组;且对于SPECT应用,放射性金属选自由Lu-177和In-111组成的组。

[0103] 在某些实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞选自由以下组成的组:前列腺肿瘤或细胞、转移的前列腺肿瘤或细胞、肺肿瘤或细胞、肾肿瘤或细胞、成胶质细胞瘤、胰腺肿瘤或细胞、膀胱肿瘤或细胞、肉瘤、黑素瘤、乳腺肿瘤或细胞、结肠肿瘤或细胞、生殖细胞、嗜铬细胞瘤、食管肿瘤或细胞、胃肿瘤或细胞、及其组合。在又更多的某些实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞为前列腺肿瘤或细胞。

[0104] 在一些实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞是体外、体内或离体的。在特定的实施方案中,一种或更多种表达PSMA的肿瘤或细胞存在于受试者中。

[0105] 在一些实施方案中,肿瘤或细胞见于受试者中。通过本公开的方法在其许多实施方案中治疗的受试者期望地为人受试者,尽管应该理解,本文描述的方法关于所有脊椎动物物种是有效的,所述所有脊椎动物物种旨在被包括在术语“受试者”中。因此,“受试者”可包括用于医学目的,诸如用于现存状况或疾病的治疗或用于防止状况或疾病的发作的预防性治疗的人类受试者,或用于医学目的、兽医目的或发育目的的动物(非人类)受试者。适合的动物受试者包括哺乳动物,哺乳动物包括但不限于,灵长类动物(primates),例如,人、猴、猿等;牛科动物(bovine),例如,家牛(cattle)、公牛(oxen)等;绵羊类(ovine),例如,绵羊(sheep)等;山羊类(caprine),例如,山羊(goat)等;猪类(porcines),例如,猪、肉猪(hogs)等;马科动物(equines),例如,马、驴、斑马等;猫科动物(feline),包括野生猫和家养猫;犬类(canine),包括狗;兔类动物(lagomorph),包括家兔、野兔等;和啮齿类动物(rodent),包括小鼠、大鼠等。动物可以为转基因动物。在一些实施方案中,受试者为人类,包括但不限于,胎儿、新生儿、婴儿、青少年和成年受试者。此外,“受试者”可包括患有或怀疑患有状况或疾病的患者。因此,术语“受试者”和“患者”在本文可互换地使用。在一些实施方案中,受试者为人类。在其他实施方案中,受试者为非人类的。

[0106] 在一些实施方案中,将可检测有效量的本公开的方法的显像剂施用至受试者。根据本公开的主题,显像剂的“可检测有效量”被定义为使用可用于临床使用的设备足以产生可接受的图像的量。可检测有效量的显像剂可以多于一次注射施用。显像剂的可检测有效量可根据以下因素而变化:诸如个体的易感性程度,个体的年龄、性别和体重,个体的特异性响应,剂量学,以及仪器和胶片相关因素。此类因素的优化完全在本领域的技术水平内。

[0107] 优选的是,本公开的主题的化合物从身体的组织快速排泄。通常,本公开的主题的化合物在小于约24小时内从身体排出。更优选地,本公开的主题的化合物在小于约16小时、12小时、8小时、6小时、4小时、2小时、90分钟或60分钟内从身体排出。

[0108] 在一些实施方案中,本公开的方法包括从受试者的肿瘤或细胞清除包含显像剂的化合物。本公开的方法的至少一个优点是,在一些实施方案中,包含显像剂的化合物从受试者的肾比从肿瘤更快速清除。

[0109] 在一些实施方案中,本公开的方法使用在体内稳定的化合物,使得基本上所有,例如,多于约50%、60%、70%、80%或更优选地90%的注射的化合物在排泄之前不被身体代谢。在其他实施方案中,包含显像剂的化合物在体内是稳定的。

[0110] C. 定义

[0111] i. 化学定义

[0112] 尽管关于式(I)的化合物的以下术语被认为是本领域普通技术人员充分理解的, 阐述以下定义以便于解释本公开的主题。这些定义旨在补充和说明而非排除对于本领域普通技术人员在阅读本公开内容之后将明显的定义。

[0113] 如本文使用的, 无论是否前面加上术语“任选地”, 术语被取代的(substituted)和取代基(substituent)指如该领域技术人员所理解的, 将一个官能基团改变为另一官能基团的能力, 条件是保持所有原子的化合价。当任何给定结构中的多于一个位置可被选自指定组的多于一个取代基取代时, 取代基在每个位置处可相同或不同。取代基还可被进一步取代(例如, 芳基基团取代基可被另一个取代基, 诸如另一个芳基基团取代, 该另一个芳基基团在一个或更多个位置处被, 例如, 氟进一步取代)。

[0114] 当取代基基团或连接基团由其从左至右书写的常规化学式指定时, 它们同样包括由从右至左书写结构而产生的化学上相同的取代基, 例如,  $-\text{CH}_2\text{O}-$ 等同于 $-\text{OCH}_2-$ ;  $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 等同于 $-\text{OC}(=\text{O})-$ ;  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 等同于 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ , 等。

[0115] 如本文使用的, 当内部取代基侧翼为键(例如,  $-\text{NRC}(\text{O})-$ )时, 原子的顺序是固定的, 基团的定向可不翻转, 且以呈现的定向插入到结构中。换言之,  $-\text{NRC}(\text{O})-$ 与 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$ 是不同的。如本文使用的术语 $\text{C}(\text{O})$ (例如 $-\text{NRC}(\text{O})-$ )用于指示羰基( $\text{C}=\text{O}$ )基团, 其中氧通过双键与碳键合。

[0116] 当使用术语“独立地选择的”时, 被提及的取代基(例如, R基团, 诸如基团 $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ 等, 或变量, 诸如“m”和“n”)可相同或不同。例如,  $\text{R}_1$ 和 $\text{R}_2$ 两者可以是取代的烷基, 或者 $\text{R}_1$ 可以是氢, 且 $\text{R}_2$ 可以是取代的烷基, 等。

[0117] 当提及本文中的取代基的组使用时, 术语“一(a)”、“一(an)”或“一(一)(a(n))”是指至少一个。例如, 当化合物被“一个”烷基或芳基取代时, 该化合物任选地被至少一个烷基和/或至少一个芳基取代。此外, 当部分被R取代基取代时, 该基团可被称为“R-取代的”。当部分为R-取代的时, 该部分被至少一个R取代基取代, 且每个R取代基任选地不同。

[0118] 命名的“R”或基团将通常具有在本领域中公认为对应于具有该名称的基团的结构, 除非本文另有规定。出于说明的目的, 下文定义如以上列出的某些代表性的“R”基团。

[0119] 本公开内容的化合物的描述受本领域技术人员已知的化学键合原理的限制。因此, 当基团可被许多取代基中的一个或更多个取代时, 选择此类取代以符合化学键合的原理, 并得到并非固有不稳定的和/或对于本领域普通技术人员将已知在环境条件, 诸如水性、中性和几种已知的生理条件下可能不稳定的化合物。例如, 遵照本领域技术人员已知的化学键合原理, 杂环烷基或杂芳基经由环杂原子附连至分子的剩余部分, 从而避免固有不稳定的化合物。

[0120] 如本文使用的术语烃指包含氢和碳的任何化学基团。烃可以是取代的或未被取代的。如本领域技术人员将已知的, 在进行任何取代时必须满足所有化合价。烃可以是不饱和的、饱和的、支链的、无支链的、环状的、多环的或杂环的。说明性烃在本文下文进一步定义并且包括, 例如, 甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、烯丙基、乙炔基、正丁基、叔丁基、乙炔基、环己基、甲氧基、二乙基氨基等。

[0121] 除非另有说明, 术语“烷基”本身或作为另一取代基的一部分意指直链(即, 无支链)或支链、无环或环状烃基团或其组合, 其可以是完全饱和的、单不饱和的或多不饱和的,

并且可包括具有指定碳原子数目(即, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>意指1个至10个碳)的二价基团和多价基团。在特定的实施方案中,术语“烷基”指包含C<sub>1-20</sub>的线性(linear)(即,“直链(straight-chain)”)、支链或环状的、饱和或至少部分不饱和的且在一些情况下完全不饱和的(即,烯基和炔基)烃基,其通过去除单个氢原子来源于包含介于1个和20个之间碳原子的烃部分。

[0122] 代表性的饱和烃基团包括,但不限于,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、新戊基、正己基、仲己基、正庚基、正辛基、正癸基、正十一烷基、十二烷基、环己基、(环己基)甲基、环丙基甲基及其同系物和异构体。

[0123] “支链的”指其中低级烷基基团,诸如甲基、乙基或丙基被附连至线性烷基链上的烷基基团。“低级烷基”指具有1个至约8个碳原子(即, C<sub>1-8</sub>烷基),例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个碳原子的烷基。“高级烷基”指具有约10个至约20个碳原子,例如,10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个碳原子的烷基。在某些实施方案中,“烷基”特别指C<sub>1-8</sub>直链烷基。在其他实施方案中,“烷基”特别指C<sub>1-8</sub>支链烷基。

[0124] 在某些实施方案中,烷基基团为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基基团或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基基团。如本文使用的术语“C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基”意指完全饱和的直链、支链或环状C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烃及其杂化物,诸如(环烷基)烷基。C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基取代基的实例包括甲基(Me)、乙基(Et)、丙基(包括正丙基(n-Pr, <sup>n</sup>Pr)、异丙基(i-Pr, <sup>i</sup>Pr)、和环丙基(c-Pr, <sup>o</sup>Pr))、丁基(包括正丁基(n-Bu, <sup>n</sup>Bu)、异丁基(i-Bu, <sup>i</sup>Bu)、仲丁基(s-Bu, <sup>s</sup>Bu)、叔丁基(t-Bu, <sup>t</sup>Bu)、或环丁基(c-Bu, <sup>o</sup>Bu)),等等。

[0125] 烷基基团可任选地被一个或多个烷基基团取代基取代(“取代的烷基”),所述取代基可相同或不同。术语“烷基基团取代基”包括但不限于烷基、被取代的烷基、卤代、芳基氨基、酰基、羟基、芳氧基、烷氧基、烷基硫代、芳基硫代、芳基烷基氧基、芳基烷基硫代、羧基、烷氧基羰基、氧代和环烷基。可沿着烷基链任选地插入一个或多个氧、硫、或被取代或未被取代的氮原子,其中氮取代基为氢、低级烷基(本文中也称为“烷基氨基烷基”)、或芳基。

[0126] 因此,如本文使用的,术语“被取代的烷基”包括如本文定义的烷基基团,其中烷基基团的一个或多个原子或官能基团被另一个原子或官能基团代替,所述另一个原子或官能基团包括例如,烷基、被取代的烷基、卤代、芳基、被取代的芳基、烷氧基、羟基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、硫酸酯基(sulfate)和巯基。

[0127] 除非另有说明,术语“杂烷基”本身或与另一术语组合意指由至少一个碳原子和选自O、N、P、Si及S组成的组的至少一个杂原子组成的稳定的直链或支链或环状烃基团或其组合,并且其中氮、磷和硫原子可任选地被氧化,且氮杂原子可以任选地被季铵化。一个或多个杂原子O、N、P以及S和Si可位于杂烷基基团的任何内部位置处或在烷基基团被附连至分子的剩余部分的位置处。实例包括,但不限于,-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、-CH=CH-O-CH<sub>3</sub>、-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH=N-OCH<sub>3</sub>、-CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>、O-CH<sub>3</sub>、-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、及-CN。多达两个或三个杂原子可以是连续的,诸如,例如,-CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub>和-CH<sub>2</sub>-O-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>。

[0128] 如以上描述的,如本文使用的杂烷基基团包括通过杂原子附连至分子剩余部分的那些基团,诸如-C(O)R'、-C(O)NR'、-NR'R'、-OR'、-SR、和/或-SO<sub>2</sub>R'。当叙述“杂烷基”,随后叙述具体的杂烷基基团(诸如-NR'R'等)时,应当理解,术语杂烷基和-NR'R'不是冗余的或相互排斥的。而是,叙述具体的杂烷基基团以增加清楚性。因此,术语“杂烷基”在本文中不应



该被解释为排除具体的杂烷基基团,诸如-NR'R"等。

[0129] 在术语“(环烷基)烷基”中,环烷基和烷基如以上定义的,且附连点在烷基基团上。该术语包括,但不限于,环丙基甲基、环戊基甲基和环己基甲基。烷基可以是取代的或未被取代的。

[0130] “环状的”和“环烷基”指约3个至约10个碳原子,例如,3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、或10个碳原子的非芳族单环或多环系统。环烷基基团可任选地是部分不饱和的。环烷基基团还可任选地被如本文定义的烷基基团、氧代和/或亚烷基取代。可沿着环状烷基链任选地插入一个或更多个氧、硫、或被取代或未被取代的氮原子,其中氮取代基为氢、烷基、被取代的烷基、芳基或被取代芳基,由此提供杂环基团。代表性的单环状环烷基环包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

[0131] 多环状环烷基环包括金刚烷基、八氢萘基(octahydronaphthyl)、十氢萘(decalin)、樟脑(camphor)、茨烷(camphane)和正金刚烷基(noradamantyl)、以及稠环体系,诸如二氢萘和四氢萘(tetrahydronaphthalene)等。

[0132] 术语“环杂烷基”或“杂环烷基”指包括一个或更多个杂原子的非芳族环系统、饱和或部分不饱和的环系统,诸如3元至10元被取代或未被取代的环烷基环系统,并且任选地可包括一个或更多个双键,所述杂原子可相同或不同,且选自氮(N)、氧(O)、硫(S)、磷(P)和硅(Si)组成的组。

[0133] 环杂烷基环可任选地被稠合至或以其他方式附连至其他环杂烷基环和/或非芳族烃环。杂环状环包括具有1个至3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的那些环,其中氮和硫杂原子可任选地被氧化,并且氮杂原子可任选地被季铵化。在某些实施方案中,术语杂环指非芳族5-元、6-元或7-元环或多环状基团,其中至少一个环原子为选自O、S和N的杂原子(其中氮和硫杂原子可任选地被氧化),包括,但不限于,双环状或三环状基团,包括具有介于一个和三个之间独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合六元环,其中(i)每个5-元环具有0至2个双键,每个6-元环具有0至2个双键,且每个7-元环具有0至3个双键,(ii)氮和硫杂原子可任选地被氧化,(iii)氮杂原子可任选地被季铵化,以及(iv)任何以上杂环状环可与芳基或杂芳基环稠合。代表性的环杂烷基环系统包括,但不限于吡咯烷基、吡咯啉基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡唑烷基、吡唑啉基、哌啶基、哌嗪基、二氢吲哚基、奎宁环基、吗啉基、硫代吗啉基(thiomorpholinyl)、噻二嗪基(thiadiazinanyl)、四氢呋喃基(tetrahydrofuranyl)等。

[0134] 除非另有说明,术语“环烷基”和“杂环烷基”本身或与其他术语组合分别表示“烷基”和“杂烷基”的环状形式。另外,对于杂环烷基,杂原子可占据杂环被附连至分子的剩余部分处的位置。环烷基的实例包括,但不限于,环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环烷基的实例包括,但不限于,1-(1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基等。术语“亚环烷基”和“杂亚环烷基”分别指环烷基和杂环烷基的二价衍生物。

[0135] 如本文使用的术语“环烷基烷基”指如以上定义的环境烷基基团,其通过也如以上定义的烷基基团附连至母体分子部分。环烷基烷基的实例包括环丙基甲基和环戊基乙基。

[0136] 不饱和烷基基团为具有一个或更多个双键或三键的烷基基团。不饱和烷基基团的实例包括,但不限于,乙烯基、2-丙烯基、丁烯基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯

基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-丙炔基和3-丙炔基、3-丁炔基(3-butynyl)、以及更高级的同系物和异构体。限于烃基团的烷基基团被称为“同烷基(homoalkyl)”。

[0137] 更具体地,如本文使用的术语“烯基”指通过去除单个氢原子具有至少一个碳-碳双键的来源于包含C<sub>1-20</sub>的直链或支链烃部分的单价基团。烯基基团包括,例如,乙烯基(ethenyl)(即,乙烯基(vinyl))、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、戊烯基、己烯基、辛烯基和丁二烯基。

[0138] 如本文使用的术语“环烯基”指包含至少一个碳-碳双键的环状烃。环烯基基团的实例包括环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环戊二烯、环己烯基、1,3-环己二烯、环庚烯基、环庚三烯基和环辛烯基。

[0139] 如本文使用的术语“炔基”指包含至少一个碳-碳三键的指定碳原子数目的来源于直链或支链C<sub>1-20</sub>烃的一价基团。“炔基”的实例包括乙炔基、2-丙炔基(2-propynyl)(炔丙基(propargyl))、1-丙炔基、戊炔基(pentynyl)、己炔基(hexynyl)、庚炔基(heptynyl)和丙二烯基基团(allenyl group)等。

[0140] 术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的部分指来源于具有从1个至约20个碳原子的烷基基团的直链或支链二价脂族烃基团,从1个至约20个碳原子例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19或20个碳原子。亚烷基基团可以是直链、支链或环状的。亚烷基基团还可任选地是不饱和的和/或被一个或多个“烷基基团取代基”取代。可沿着亚烷基基团任选地插入一个或多个氧、硫或被取代或未被取代的氮原子(本文中也称为“烷基氨基烷基”),其中氮取代基为如先前描述的烷基。示例性亚烷基基团包括亚甲基(-CH<sub>2</sub>-);乙烯(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-);丙烯(-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-);环亚己基(-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-);-CH=CH-CH=CH-;-CH=CH-CH<sub>2</sub>-;-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>CsCCH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-,-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-N(R)-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-,其中q和r的每个独立地为从0至约20的整数,例如,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20,且R为氢或低级烷基;亚甲基二氧基(methylenedioxy)(-O-CH<sub>2</sub>-O-);和亚乙基二氧基(ethylenedioxy)(-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-)。亚烷基可具有约2个至约3个碳原子且还可具有6-20个碳。通常,烷基(或亚烷基)基团将具有从1个至24个碳原子,其中具有10个或更少碳原子的那些基团是本公开内的一些实施方案。“低级烷基”或“低级亚烷基”为较短链的烷基或亚烷基基团,通常具有8个或更少的碳原子。

[0141] 术语“杂亚烷基”本身或作为另一取代基的一部分意指来源于杂烷基的二价基团,作为例示,但不限于,-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-和-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-。对于杂亚烷基,杂原子也可占据链末端的任一个或两个(例如,亚烷基氧代、亚烷基二氧代、亚烷基氨基、亚烷基二氨基等)。更进一步,对于亚烷基和杂亚烷基连接基团,连接基团的定向不暗示在其连接基团的式被书写的方向。例如,式-C(O)OR'-表示-C(O)OR'-和-R'OC(O)-两者。

[0142] 除非另有说明,术语“芳基”意指芳族烃取代基,其可以是单环或稠合在一起或共价连接的多环(诸如从1个至3个环)。

[0143] 术语“杂芳基”指包含从1个至4个选自N、O和S的杂原子(在多个环的情况下在每个单独的环中)的芳基基团(或环),其中氮和硫原子任选地被氧化,并且一个或多个氮原子任选地被季铵化。杂芳基基团可通过碳或杂原子附连至分子的剩余部分。芳基和杂芳基的非限制性实例包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡唑

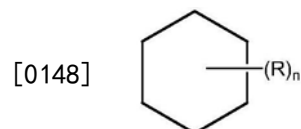
基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯基-4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吡咯基、吡唑基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和6-喹啉基。用于以上提到的芳基和杂芳基环系的每一种的取代基选自下文描述的可接受的取代基的组。术语“亚芳基”和“杂亚芳基”分别指芳基和杂芳基的二价形式。

[0144] 为简洁起见,当与其他术语组合使用时(例如,芳基氧代、芳基硫代、芳基烷基),术语“芳基”包括如以上定义的芳基和杂芳基环二者。因此,术语“芳基烷基”和“杂芳基烷基”意指包括其中芳基或杂芳基被附连至烷基基团的那些基团(例如,苄基、苯乙基、吡啶基甲基、呋喃基甲基等),包括其中碳原子(例如,亚甲基)已被,例如,氧原子(例如,苯氧基甲基、2-吡啶基氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基等)代替的那些烷基。然而,如本文使用的术语“卤代芳基”意指仅包括被一个或更多个卤素取代的芳基。

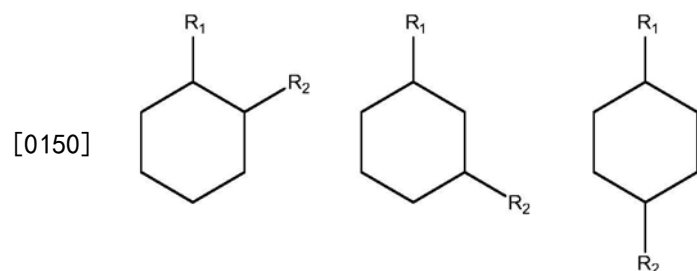
[0145] 当杂烷基、杂环烷基或杂芳基包括指定数目的成员(例如“3元至7元”)时,术语“成员”指碳或杂原子。

[0146] 如本文使用的,术语“烷基芳基”包括被如以上定义的芳基基团取代的如以上定义的烷基。芳基基团可在烷基基团上的任何点处连接。术语 $C_4-C_{16}$ 烷基芳基包括具有总计4个至16个碳原子的烷基芳基基团,将烷基基团和芳基基团上的碳原子统计在一起。烷基芳基基团的实例包括但不限于苄基(苯基甲基)、苯基乙基和萘基甲基。烷基芳基基团可以是被取代的或未被取代的。只要一个或更多个取代基中的总原子不大于烷基芳基基团,取代基不被计入烷基芳基基团中的原子总数。

[0147] 此外,如本文使用的通常由下式表示的结构:



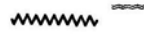
[0149] 指环结构,例如,但不限于3-碳、4-碳、5-碳、6-碳、7-碳等,脂族和/或芳族环状化合物,包括饱和环结构、部分饱和环结构和不饱和环结构,包含取代基R基团,其中R基团可以存在或不存在,并且当存在时,一个或更多个R基团可各自在环结构的一个或更多个可用的碳原子上被取代。R基团的存在或不存在和R基团的数目由变量“n”的值确定,变量“n”为通常具有范围从0至环上可用于取代的碳原子数目的值的整数。如果R基团多于一个,每个R基团,在环结构的可用碳上而不是在另一个R基团上被取代。例如,其中n为0至2的以上结构将包括化合物基团,其包括但不限于:

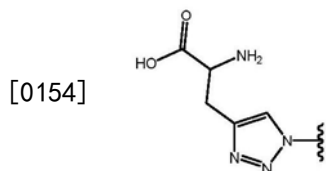


[0151] 等。

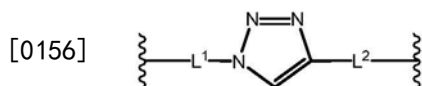
[0152] 代表环状环结构中的键的虚线指示,该键可以存在或不存在于环中。即,代表环状

环结构中的键的虚线指示,该环结构选自由以下组成的组:饱和环结构、部分饱和环结构和不饱和环结构。

[0153] 带有断裂键的取代基(诸如下文示出的实例),意指,该取代基与分子在所示位置处直接键合。不暗示另外的亚甲基(CH<sub>2</sub>)基团。符号()指示部分与分子的剩余部分的附连点。



[0155] 带有两个断裂键的取代基(诸如下文示出的实例)意指,原子的定向是如所示的,由左至右,并且应该以所示的定向插入到分子中。除非具体说明,不暗示另外的亚甲基(CH<sub>2</sub>)基团。



[0157] 当芳族环或杂环芳族环的命名原子被定义为“不存在”时,命名原子被直接键代替。

[0158] 以上术语(例如,“烷基”、“杂烷基”、“环烷基”和“杂环烷基”、“芳基”、“杂芳基”、“膦酸酯基(phosphonate)”和“磺酸酯基(sulfonate)”及其二价衍生物)的每个意指包括指示基团的被取代和未被取代的两种形式。下文提供了每种类型的基团的任选的取代基。

[0159] 用于烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基单价和二价衍生基团(包括通常称为亚烷基、烯基、杂亚烷基、杂烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、环烯基和杂环烯基的那些基团)的取代基可以是以数目范围为从零至(2m' + 1)的选自、但不限于以下的多种基团的一种或更多种: -OR'、=O、=NR'、=N-OR'、-NR'R''、-SR'、-卤素、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO<sub>2</sub>R'、-C(O)NR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR''-C(O)NR'R''、-NR''C(O)OR'、-NR-C(NR'R'')=NR''、-S(O)R'、-S(O)<sub>2</sub>R'、-S(O)<sub>2</sub>NR'R''、-NRSO<sub>2</sub>R'、-CN和-NO<sub>2</sub>,其中m'为此类基团中的碳原子总数。R'、R''、R'''和R''''各自可独立地指氢、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基(例如,被1-3个卤素取代的芳基)、被取代的或未被取代的烷基、烷氧基或硫代烷氧基基团或芳基烷基基团。如本文使用的“烷氧基”基团为通过二价氧与分子的剩余部分附连的烷基。当本公开内容的化合物包括多于一个R基团时,例如,当存在多于一个这些基团时,每个R基团独立地选自R'、R''、R'''和R''''基团。当R'和R''被附连到同一氮原子时,它们可与氮原子组合形成4-元、5-元、6-元或7-元环。例如,-NR'R''意指包括,但不限于,1-吡咯烷基和4-吗啉基。从取代基的以上讨论中,本领域技术人员将理解,术语“烷基”意指包括包含与除了氢基团以外的基团键合的碳原子的基团,诸如卤代烷基(例如,-CF<sub>3</sub>和-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)和酰基(例如,-C(O)CH<sub>3</sub>、-C(O)CF<sub>3</sub>、-C(O)CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>等)。

[0160] 类似于对于以上烷基基团描述的取代基,用于芳基和杂芳基基团(以及它们的二价衍生物)的示例性取代基是变化的,并且以数目范围为从零至芳族环系统上开放化合价的总数目选自,例如:卤素、-OR'、-NR'R''、-SR'、-卤素、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-

$\text{CO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{NR}'-\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'$ 、 $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}'')=\text{NR}''$ 、 $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}'')=\text{NR}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{R}'$ 、 $-\text{CN}$ 和 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{R}'$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}(\text{Ph})_2$ 、氟代( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ )烷氧代及氟代( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ )烷基;并且其中 $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ 、 $\text{R}'''$ 和 $\text{R}''''$ 可独立地选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基和被取代的或未被取代的杂芳基。当本公开内容的化合物包括多于一个R基团时,例如,当存在多于一个这些基团时,每个R基团对每个 $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ 、 $\text{R}'''$ 和 $\text{R}''''$ 基团独立地选择。

[0161] 芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可任选地形成式 $-\text{T}-\text{C}(\text{O})-(\text{CRR}')_q-\text{U}-$ 的环,其中T和U独立地为 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CRR}'-$ 或单键,且q为从0至3的整数。可选地,芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可任选地被式 $-\text{A}-(\text{CH}_2)_r-\text{B}-$ 的取代基代替,其中A和B独立地为 $-\text{CRR}'-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$ 或单键,且r为从1至4的整数。

[0162] 如此形成的新环的单键之一可任选地被双键代替。可选地,芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被式 $--(\text{CRR}')_s--\text{X}'--(\text{C}''\text{R}'')_d--$ 的取代基代替,其中s和d独立地为从0至3的整数,且 $\text{X}'$ 为 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}'-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 或 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$ 。取代基 $\text{R}$ 、 $\text{R}'$ 、 $\text{R}''$ 和 $\text{R}'''$ 可独立地选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基和被取代的或未被取代的杂芳基。

[0163] 如本文使用的术语“酰基”指有机酸基团,其中羧基基团的 $-\text{OH}$ 已经被另一取代基代替并且具有通式 $\text{RC}(=\text{O})--$ ,其中R为如以上定义的烷基、烯基、炔基、芳基、碳环、杂环或芳族杂环基团。因此,术语“酰基”特别地包括芳基酰基,诸如乙酰基呋喃和苯甲酰甲基基团。酰基基团的特定实例包括乙酰基和苯甲酰基。

[0164] 术语“烷氧基(alkoxy1)”或“烷氧基(alkoxy)”在本文中可互换使用,并且指通过氧原子被附连至母体分子部分的饱和(即,烷基- $\text{O}-$ )或不饱和(即,烯基- $\text{O}-$ 和炔基- $\text{O}-$ )的基团,其中术语“烷基”、“烯基”和“炔基”如先前描述的,并且可包括包含 $\text{C}_{1-20}$ 的线性、支链或环状的、饱和或不饱和的氧代烃链,包括例如,甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基和正戊氧基、新戊氧基、正己氧基等。

[0165] 如本文使用的术语“烷氧基烷基”指烷基- $\text{O}-$ 烷基醚,例如,甲氧基乙基或乙氧基甲基基团。

[0166] “芳氧基”指芳烷基- $\text{O}-$ 基团,其中芳基基团如先前描述的,包括被取代的芳基。如本文所用的术语“芳氧基”可指苯基氧基或己基氧基及烷基、被取代的烷基、卤代或烷氧基取代的苯基氧基或己基氧基。

[0167] “芳烷基”指芳基-烷基-基团,其中芳基和烷基如先前描述的,并且包括被取代的芳基和取代的烷基。示例性的芳烷基包括苄基、苯基乙基和萘基甲基。

[0168] “芳烷基氧基”指芳烷基- $\text{O}-$ 基团,其中芳烷基如先前描述的。示例性芳烷基氧基基团是苄氧基。

[0169] “烷氧基羰基”指烷基- $\text{O}-\text{CO}-$ 基团。示例性的烷氧基羰基基团包括甲氧基羰基、乙氧基羰基、丁氧基羰基和叔丁氧基羰基。

[0170] “芳氧基羰基”指芳基- $\text{O}-\text{CO}-$ 基团。示例性的芳氧基羰基基团包括苯氧基-羰基和萘氧基-羰基。

- [0171] “芳烷氧基羰基”指芳烷基-O-CO-基团。示例性芳烷氧基羰基是苄氧基羰基。
- [0172] “氨基甲酰基”指式-CONH<sub>2</sub>的酰胺基团。“烷基氨基甲酰基”指R' RN-CO-基团,其中R和R'的一个为氢,且R和R'的另一个为如先前描述的烷基和/或被取代的烷基。“二烷基氨基甲酰基”指R' RN-CO-基团,其中R和R'的每个独立地为如先前描述的烷基和/或被取代的烷基。
- [0173] 如本文使用的术语羰基二氧基指式-O—CO—OR的碳酸酯基团。
- [0174] “酰基氧基”指酰基-O-基团,其中酰基如先前描述的。
- [0175] 术语“氨基”指-NH<sub>2</sub>基团,并且还指通过用有机基代替一个或多个氢基的来源于氮的如本领域已知的含氮基团。例如,术语“酰基氨基”和“烷基氨基”分别指具有酰基和烷基取代基基团的特定的N-取代的有机基。
- [0176] 如本文使用的“氨基烷基”指与亚烷基连接基共价键合的氨基。更具体地,如本文使用的术语烷基氨基、二烷基氨基和三烷基氨基分别指通过氮原子附连至母体分子部分的一个、两个或三个如先前定义的烷基基团。术语烷基氨基指具有结构-NHR'的基团,其中R'为如先前定义的烷基;而术语二烷基氨基指具有结构-NR'R”的基团,其中R'和R”各自独立地选自自由烷基基团组成的组。术语三烷基氨基指具有结构-NR'R”R””的基团,其中R'、R”和R””各自独立地选自自由烷基基团组成的组。另外,R'、R”和/或R””一起可任选地为-(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>-,其中k为从2至6的整数。实例包括,但不限于,甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、二乙基氨基羰基、甲基乙基氨基、异丙基氨基、哌啶子基(piperidino)、三甲基氨基和丙基氨基。
- [0177] 氨基基团为-NR'R”,其中R'和R”通常选自氢、被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的杂烷基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的杂环烷基、被取代的或未被取代的芳基或者被取代的或未被取代的杂芳基。
- [0178] 术语烷基硫醚和硫代烷氧基指通过硫原子附连至母体分子部分的饱和(即,烷基-S-)或不饱和(即,烯基-S-和炔基-S-)基团。硫代烷氧基部分的实例包括,但不限于,甲基硫代、乙基硫代、丙基硫代、异丙基硫代、正丁基硫代等。
- [0179] “酰基氨基”指酰基-NH-基团,其中酰基如先前描述的。“芳酰基氨基”指芳酰基-NH-基团,其中芳酰基如先前描述的。
- [0180] 术语“羰基”指-(C=O)-基团。
- [0181] 术语“羧基”指-COOH基团。此类基团在本文还被称为“羧酸”部分。
- [0182] 如本文使用的术语“卤代”、“卤化物”或“卤素”指氟代、氯代、溴代和碘代基团。另外,术语诸如“卤代烷基”意指包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语“卤代(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基”意指包括,但不限于,三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。
- [0183] 术语“羟基”指-OH基团。
- [0184] 术语“羟基烷基”指被-OH基团取代的烷基基团。
- [0185] 术语“巯基”指-SH基团。
- [0186] 如本文使用的术语“氧代”意指与碳原子或另一种元素双键键合的氧原子。
- [0187] 术语“硝基”指-NO<sub>2</sub>基团。
- [0188] 术语“硫代”指本文先前描述的化合物,其中碳或氧原子被硫原子代替。
- [0189] 术语“硫酸酯基”指-SO<sub>4</sub>基团。

[0190] 如本文使用的术语硫代羟基或硫醇指式-SH的基团。

[0191] 术语脲基指式-NH-CO-NH<sub>2</sub>的脲基团。

[0192] 除非另有明确定义,如本文使用的“取代基基团”包括选自本文定义的以下部分的一个或更多的官能基团:

[0193] (A) -OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、氧代、卤素、未被取代的烷基、未被取代的杂烷基、未被取代的环烷基、未被取代的杂环烷基、未被取代的芳基、未被取代的杂芳基,以及

[0194] (B) 被选自以下的至少一个取代基取代的烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基:

[0195] (i) 氧代、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、卤素、未被取代的烷基、未被取代的杂烷基、未被取代的环烷基、未被取代的杂环烷基、未被取代的芳基、未被取代的杂芳基,以及

[0196] (ii) 被选自以下的至少一个取代基取代的烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基:

[0197] (a) 氧代、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、卤素、未被取代的烷基、未被取代的杂烷基、未被取代的环烷基、未被取代的杂环烷基、未被取代的芳基、未被取代的杂芳基,以及

[0198] (b) 被选自以下的至少一个取代基取代的烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基:氧代、-OH、-NH<sub>2</sub>、-SH、-CN、-CF<sub>3</sub>、-NO<sub>2</sub>、卤素、未被取代的烷基、未被取代的杂烷基、未被取代的环烷基、未被取代的杂环烷基、未被取代的芳基、及未被取代的杂芳基。

[0199] 如本文使用的“低级取代基”或“低级取代基基团”意指选自上文对于“取代基基团”描述的所有取代基的基团,其中每个被取代或未被取代的烷基为被取代或未被取代的C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基,每个被取代或未被取代的杂烷基为被取代或未被取代的2元至8元杂烷基,每个被取代或未被取代的环烷基为被取代或未被取代的C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>环烷基,且每个被取代或未被取代的杂环烷基为被取代或未被取代的5元至7元杂环烷基。

[0200] 如本文使用的“尺寸受限的取代基”或“尺寸受限的取代基基团”意指选自以上对于“取代基基团”描述的所有取代基的基团,其中每个被取代或未被取代的烷基为被取代或未被取代的C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>烷基,每个被取代或未被取代的杂烷基为被取代或未被取代的2元至20元杂烷基,每个被取代或未被取代的环烷基为被取代或未被取代的C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>环烷基,且每个被取代或未被取代的杂环烷基为被取代或未被取代的4元至8元杂环烷基。

[0201] 在整个说明书和权利要求书中,给定的化学式或名称应包括所有互变异构体、同类物(congener)、光学异构体和立体异构体、以及其中此类异构体和混合物存在的外消旋混合物。

[0202] 对本领域技术人员将明显的是,本公开内容的某些化合物可以以互变异构形式存在,所述化合物的所有此类互变异构形式都在本公开内容的范围内。如本文使用的术语“互变异构体”指两种或更多种结构异构体之一,其以平衡状态存在并且容易从一种异构体形式转化为另一种异构体形式。

[0203] 除非另有说明,本文描述的结构也意指包括该结构的所有立体化学形式;即,对于每个不对称中心的R和S构型。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体和非对映异构体混合物在本公开内容的范围内。

[0204] 本公开内容的某些化合物拥有不对称碳原子(光学或手性中心)或双键;可在绝对立体化学方面定义的对映异构体、外消旋体、非对映异构体、互变异构体、几何异构体、立体

异构体形式,如(R)-异构体或(S)-异构体,如对于氨基酸的(D)-异构体或(L)-异构体,以及单独的异构体被包括在本公开内容的范围内。本公开内容的化合物不包括本领域已知的太不稳定以至不能合成和/或分离的那些化合物。本公开内容意指包括呈外消旋形式和光学纯形式的化合物。光学活性(R)-异构体和(S)-异构体或者(D)-异构体和(L)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备,或者使用常规技术拆分。当本文描述的化合物包含烯键或其他几何不对称中心时,且除非另外指明,意图是化合物包括E和Z几何异构体两者。

[0205] 如何制备旋光性形式是本领域熟知的,诸如通过拆分外消旋形式(外消旋体),通过不对称合成或通过由旋光性原材料合成。外消旋体的拆分可,例如,通过常规方法完成,常规方法诸如在拆分剂的存在下结晶,或使用,例如手性HPLC柱的层析。烯烃,C=N双键等的许多几何异构体也可存在于本文描述的化合物中,并且所有此类稳定的异构体都被包括在本公开的主题中。描述了本公开的主题的化合物的顺式和反式几何异构体,并且可作为异构体的混合物或作为分离的异构体形式分离。除非明确地指示特定的立体化学或异构体形式,意指结构的所有手性(对映异构体和非对映异构体)和外消旋形式,以及所有几何异构形式。

[0206] 本文描述的化合物可具有一个或更多个带电原子。例如,化合物可以是两性离子的,但可以是总体中性的。取决于pH和其他因素,其他实施方案可具有一个或更多个带电基团。在这些实施方案中,化合物可与适合的反荷离子缔合。如何制备盐或交换反荷离子是本领域熟知的。通常,此类盐可通过以下制备:使这些化合物的游离酸形式与化学计量的量的适当的碱(诸如Na、Ca、Mg或K的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应,或通过使这些化合物的游离碱形式与化学计量的量的适当的酸反应。此类反应通常在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中进行。可,例如,通过离子交换技术诸如离子交换层析来改变反荷离子。除非明确指示反荷离子或盐,意指所有两性离子、盐和反荷离子。在某些实施方案中,盐或反荷离子可以是用于施用至受试者的、药学上可接受的。药学上可接受的盐稍后讨论。

[0207] 如本文使用的,“保护基团”为可通过容易可得的试剂选择性去除的化学取代基,所述容易可得的试剂不攻击分子中的再生的官能基团或其他官能基团。适合的保护基团是本领域已知的并且继续在开发。适合的保护基团可见于,例如,Wutz等(“Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis,第四版,”Wiley-Interscience,2007)中。如由Wutz等(533-643页)描述的用于保护羧基基团的保护基团,在某些实施方案中被使用。在一些实施方案中,保护基团可通过用酸处理去除。保护基团的特定实例包括但不限于,苄基、对甲氧基苄基(PMB)、叔丁基(<sup>t</sup>Bu)、甲氧基甲基(MOM)、甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲基硫代甲基(MTM)、四氢吡喃基(THP)、四氢呋喃基(THF)、苄氧基甲基(BOM)、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TEOS)、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)和三苯基甲基(三苯甲基,Tr)。本领域技术人员将认识到其中需要保护基团的适当的情况并将能够选择用于在特定环境中使用的适当的保护基团。

[0208] 除非另有说明,本文描述的结构也意指包括仅在一个或更多个同位素富集原子的存在方面不同的化合物。例如,除了用氘或氚代替氢,或用<sup>13</sup>C-或<sup>14</sup>C-富集的碳代替碳以外,具有本发明结构的化合物在本公开内容的范围内。

[0209] 本公开内容的化合物还可在构成此类化合物的一个或更多个原子处包含非天然比例的原子同位素。例如,化合物可用放射性同位素放射性标记,放射性同位素诸如例如氘



(<sup>3</sup>H)、碘-125 (<sup>125</sup>I) 或碳-14 (<sup>14</sup>C)。本公开内容的化合物的所有同位素变体,无论是否是放射性的,都被包括在本公开内容的范围内。

[0210] ii. 药学上的盐

[0211] 本公开内容的化合物可作为药学上可接受的盐存在。取决于本文描述的化合物上发现的特定取代基部分,术语“药学上可接受的盐”意指包括用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐。药学上可接受的盐通常是本领域普通技术人员熟知的,并且可包括,例如,但不限于,乙酸盐、苯磺酸盐 (benzenesulfonate)、苯磺酸盐 (besylate)、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、依地酸钙、carnsylate、碳酸盐、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酰基胺基苯吡酸盐、己基间苯二酚盐、海巴明、氢溴酸盐、盐酸盐、羟基萘甲酸盐、碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、扑酸盐 (双羟萘酸盐)、泛酸盐、磷酸盐/二磷酸盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、鞣酸盐、酒石酸盐 (例如 (+)-酒石酸盐、(-)-酒石酸盐或其混合物,包括外消旋混合物) 或茶氯酸盐。这些盐可通过本领域技术人员已知的方法制备。其他药学上可接受的盐可见于,例如,Remington: The Science and Practice of Pharmacy (第20版) Lippincott, Williams & Wilkins (2000) 中。

[0212] 还包括碱加成盐,诸如钠、钾、钙、铵、有机氨基或镁盐,或类似的盐。当本公开内容的化合物包含相对碱性的官能团时,酸加成盐可通过使此类化合物的中性形式与足量的所期望的酸 (纯的或在适合的惰性溶剂中) 接触来获得。可接受的酸加成盐的实例包括来源于如下无机酸的那些: 如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸 (monohydrogencarbonic)、磷酸、一氢磷酸 (monohydrogenphosphoric)、二氢磷酸 (dihydrogenphosphoric)、硫酸、一氢硫酸 (monohydrogensulfuric)、氢碘酸或亚磷酸等,以及来源于如下有机酸的盐: 如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸 (p-tolylylsulfonic)、柠檬酸、酒石酸、甲基磺酸等。

[0213] 还包括了氨基酸诸如精氨酸等的盐,以及有机酸如葡糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐,参见,例如, Berge 等, “Pharmaceutical Salts”, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19)。本公开内容的某些特定的化合物包含碱性官能团和酸性官能团两者,其允许化合物被转化为碱加成盐或酸加成盐。化合物的中性形式可通过使盐与碱或酸接触并以常规方式分离母体化合物来再生。化合物的母体形式在某些物理性质 (诸如在极性溶剂中的溶解度) 方面不同于多种盐形式。

[0214] 本公开内容的某些化合物可以以非溶剂化形式以及溶剂化形式 (包括水合形式) 存在。通常,溶剂化形式等价于非溶剂化形式,并且被包括在本公开内容的范围内。本公开内容的某些化合物可以以多种结晶形式或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于本公开内容所包括的用途是等同的,并且旨在在本公开内容的范围内。

[0215] iii. 一般定义

[0216] 尽管本文中采用了特定术语,但它们仅用于一般的和描述性的意义,而非用于限制的目的。为了清楚起见,本文提供了具体定义。除非另有定义,本文使用的所有技术术语和科学术语具有与由本发明描述的主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0217] 在动物中的“癌症”指拥有致癌细胞的典型特征的细胞的存在,致癌细胞的典型特

征例如,不受控制的增殖、专门化功能的损失、永生、显著转移潜能、抗凋亡活性的显著增加、快速生长和增殖速率以及某些特征形态和细胞标志物。在一些情况下,癌细胞将呈肿瘤的形式;此类细胞可局部存在于动物内,或在血流中循环作为独立的细胞。

[0218] “对照”意指标准或参考条件。

[0219] “疾病”意指损害或干扰细胞、组织、器官、生物体或受试者的正常机能的任何状况或紊乱。

[0220] 试剂的“有效量”指当与对照相比时足以引起期望生物响应或可测量的差异的试剂的量。如本领域普通技术人员将理解的,有效治疗疾病、紊乱、状况或损伤的特定试剂的绝对量可根据以下此类因素而变化:如待递送的试剂,施用的方式,受试者的年龄、体重和一般健康状况,期望的生物学终点,期望的治疗效应等。最终,主治临床医师将决定适当的量和剂量方案。例如,试剂的“有效量”可以是当化合物用于成像时足以产生可测量的图像的量,或当化合物用于疗法时足以改善疾病的症状的量。本领域普通技术人员将进一步理解,试剂的有效量可以以单剂量施用,或者可以通过施用多剂量实现。

[0221] 如本文使用的术语“施用”指使受试者与本公开的试剂接触。

[0222] 根据长期以来的专利法惯例,在该申请包括权利要求书中当使用术语“一(a)”“一(an)”和“该(the)”时,指“一个或更多个”。因此,例如,提及“受试者(a subject)”包括多个受试者,除非上下文清楚地是意思相反的(例如,多个受试者)等等。

[0223] 贯穿该说明书和权利要求书,术语“包含(comprise)”、“包含(comprises)”和“包含(comprising)”被用于在非排他性含义,除非当上下文另有要求时。同样地,术语“包括(include)”和其语法变体旨在非限制,使得列表中项目的列举不排除可被取代或添加至所列项目的其他类似的项目。

[0224] 为了该说明书以及所附的权利要求书的目的,除非另有说明,在所有的实例中,在说明书和权利要求书中使用的所有表示量、尺寸、维度、比例、形状、制剂、参数、百分比、参数、数量、特征、及其他数值的数字要理解为由术语“约”修饰,即使术语“约”可能未明确地与该值、量或范围一起出现。因此,除非相反地指示,在以下说明书和所附的权利要求书中列出的数值参数不是精确的且不需要是精确的,但是如所期望的可以是接近的和/或更大或更小,反映了公差、转换因子、四舍五入、测量误差等,以及本领域技术人员已知的其他因素,取决于旨在通过本公开的主题获得的期望特性。例如,当术语“约”指值时能够用意在于包括与特定的量在一些实施方案中 $\pm 100\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 50\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 20\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 10\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 5\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 1\%$ 、在一些实施方案中 $\pm 0.5\%$ 、以及在一些实施方案中 $\pm 0.1\%$ 的差异,因为此类差异对于进行所公开的方法或采用所公开的组合物是适当的。

[0225] 此外,当与一个或更多个数值或数值范围关联使用时,术语“约”应理解为指所有此类数值,包括范围内的所有数值以及通过将边界延伸至高于和低于所列出的数值修改该范围。通过端点引述的数值范围包括归入该范围内的所有数值例如全部的整数,包括其分数(例如,1至5的引述包括1、2、3、4和5,以及其分数,例如1.5、2.25、3.75、4.1等)以及在该范围内的任何范围。

[0226] 实施例

[0227] 以下实施例已被包括以提供本领域普通技术人员用于实践本发明公开的主题的

代表性实施方案的指导。根据本公开内容和本领域技术人员的一般水平,本领域技术人员可以理解,以下实施例预期仅是示例性的,且可采用许多变化、修改和改变而不偏离本公开的主题的范围。以下合成的描述和具体实施例仅预期用于说明的目的,并且不被解释为以任何方式限制通过其他方法制备本公开内容的化合物。

#### [0228] 实施例1

#### [0229] 合成和评价基于钆(Gd)的造影剂

#### [0230] 概述

[0231] 磁共振(MR)成像由于可同时提供解剖、功能和分子信息是有利的。MR分子成像可将这种已确立的临床模式及其高空间分辨率的普遍存在与体内分子谱系分析相结合。然而,由于MR的固有的低灵敏度,需要高的局部浓度的生物靶以产生可辨别的MR对比。由于前列腺特异性膜抗原(PSMA)在靶细胞内的高浓度、在非靶组织中的有限表达和细胞表面上的可接近性,我们假设前列腺特异性膜抗原(PSMA),用于前列腺癌的成像和疗法的有吸引力的靶,可作为基于MR的分子成像的适合的生物标志物。出于该目的,已合成了分别用每分子一个至三个Gd-螯合物分级的三种高亲和力、低分子量的基于钆(Gd)(III)-的PSMA靶向造影剂Gd1、Gd2和Gd3(图1A)。本研究的目的是评价合成试剂的PSMA结合亲和力和纵向弛豫度( $r_1$ )。使用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)评价表达PSMA的同基因细胞、不表达的对照细胞中的试剂的细胞摄取。最后,通过MR成像在体外和体内评价试剂区分表达PSMA的细胞与对照细胞的能力。

#### [0232] 材料和方法

[0233] (21S,25S)-8,15,23-三氧代-1-((4-((1,4,7,10-四(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-2-基)甲基)苯基)氨基)-1-硫氧代-2,7,16,22,24-五氮杂二十七烷-21,25,27-三羧酸,Gd1。遵循最近的报道制备化合物Gd1。化合物1如下文描述以三个步骤进行制备。将商购可得的N-Boc-1,4-二氨基丁烷(在0.5mL DMSO中的68mg,0.36mmol)与1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸、2-[(4-异硫氰酸苯基)甲基](p-SCN-Bn-DOTA)(在2.5mL DMSO中的192mg,0.28mmol)和DIEA(132 $\mu$ l,0.75mmol)混合并在40 $^{\circ}$ C搅拌4h。将溶剂蒸发,并将固体剩余物使用水和乙腈(在各自中的0.1%TFA)通过反相C<sub>18</sub>快速层析(5.5g,Agilent SF10)纯化,以在冻干之后获得Boc-保护的7。产率:146mg,~55%。ESI-MS 740[M+H]<sup>+</sup>。然后将由该步骤得到的化合物用冰冷的TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(1/1)溶液处理,并在环境温度下放置搅拌2小时。将溶剂蒸发,并将剩余物在真空下干燥并通过反相快速层析(5.5g,Agilent SF10)纯化,以中等产率产生7。将溶剂蒸发,将剩余物在真空下干燥并通过反相快速层析(5.5g,Agilent SF10)纯化,以产生7。产率~104mg,40%。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ :8.80-8.64(m,1H)、8.12-7.90(m,2H)、7.75-7.10(bm,4H)、4.65-4.63(m,1H)、4.17-2.59(m,27H)、2.40-1.11(m,6H)。ESI-MS:640[M+1]<sup>+</sup>。将7(在3mL蒸馏水中的110mg,0.17mmol)的溶液添加至溶液Gd<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>(85mg,0.17mmol)并在60 $^{\circ}$ C下放置搅拌14h。ESI-MS:对于C<sub>48</sub>H<sub>77</sub>N<sub>10</sub>O<sub>17</sub>S,797.5183[M+H]<sup>+</sup>的计算值得出为:797.5212。化合物然后通过HPLC纯化。方法1:溶剂A(在水中的0.1%TFA)和溶剂B(在乙腈溶液的0.1%TFA),流速为8mL/min。洗脱梯度为100%A和0%B持续5min,且100%A至80%A和0%B至20%B历时5-25min,且80%A至20%A和20%B至80%B从25-30min。

[0234] (30S,34S)-2,9,17,24,32-五氧代-1-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)-8-(2-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)乙酰氨基)-

3,10,16,25,31,33-六氮杂三十六烷-11,30,34,36-四羧酸,二钆(III)盐.Gd<sub>2</sub>。化合物遵循方案2制备。向N-Bis-Boc-L-赖氨酸NHS(3gm,在10mL DMF中的6.7mmol)的溶液添加Fmoc-Lys(Boc)-OH(2.49g,6.7mmol),并将溶液在rt超声1小时直至获得澄清溶液。将溶液在rt搅拌4h,并在真空下去除溶剂,以几乎定量的产率获得4。将化合物4使用3/97MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>作为洗脱液通过硅胶柱进一步纯化。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:8.01(d,2H)、7.89(m,2H)、7.78-7.44(m,4H)、6.82(m,1H)、6.15(m,1H)、5.58(m,1H)、5.01-4.03(m,5H)、3.75-3.32(m,6H)、2.22-1.31(m,30H)。ESMS m/Z:696[M+H]<sup>+</sup>。将化合物4(2g,2.9mmol)溶解于10mL 1/1TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液中,并在rt放置搅拌2h。在溶剂蒸发之后,将固体剩余物用3×3mL乙醚洗涤,并在真空下干燥,以产生5,作为TFA盐。化合物5以定量产率获得,并在冻干之后使用而不经进一步纯化。<sup>1</sup>H NMR(D<sub>2</sub>O) δ:8.01(d,2H)、7.89(m,2H)、7.78-7.44(m,4H)、4.78-4.75(m,2H)、4.32(m,1H)、4.11-4.09(m,1H)、4.01-3.98(t,1H)、3.50-3.11(m,3H)、3.10-2.99(m,2H)、2.01-1.01(m,12H)。在rt,经45min的时间段,向DOTA-NHS(在0.5mL DMSO中的100mg,0.13mmol)的溶液以小份添加5.2TFA(32mg,0.04mmol)和DIEA(0.78mmol,136μL)。然后将溶液搅拌持续另一2h,且反应的完成使用HPLC监测。在反应完成之后,反应通过HPLC纯化,以获得6。将化合物6用20%哌啶溶液处理至Fmoc基团,并使用90/10H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN(在每个中的0.1%TFA)溶液使用C<sub>18</sub>快速层析纯化并冻干。ESIMS:1046[M+H]<sup>+</sup>。将该冻干的化合物(50mg,0.047mmol)溶解于蒸馏水(2mL)中,添加至Gd<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>(在3mL水中的0.26mmol)的溶液中,并在60℃搅拌12h。化合物7使用90/10至80/20H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN(在每个中的0.1%TFA)溶液的梯度,使用C<sub>18</sub>快速层析纯化并冻干。向在DMSO中的3(25mg,0.004mmol)的溶液缓慢添加7(40mg,0.003mmol)持续30min,并在rt搅拌约2h直至反应完成。反应的完成使用HPLC监测。在完成之后,反应混合物随后通过HPLC纯化,并将产物冻干。ESI-MS:1813.08[M+H]<sup>+</sup>,得出为:1813.08。化合物然后通过HPLC纯化。方法1:对于C<sub>64</sub>H<sub>103</sub>Gd<sub>2</sub>N<sub>15</sub>O<sub>26</sub>,1813.5681[M]<sup>+</sup>的计算值得出为1813.5681[M+1]。溶剂A(在水中的0.1%TFA)和溶剂B(在乙腈中的0.1%TFA),流速为8mL/min。洗脱梯度为100%A和0%B持续5min,且100%A至80%A和0%B至20%B历时5-25min,且80%A至20%A和20%B至80%B从25-30min。

[0235] (3S,7S)-5,13,20,28-四氧代-32-(2,4,6-三(1-(2-羟基-3-(4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-基)丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苯氧基)-4,6,12,21,27-五氮杂三十二烷-1,3,7,22-四羧酸,三钆(III)盐.Gd<sub>3</sub>。Gd<sub>3</sub>通过使用如方案3中示出的多步合成来制备。遵循先前的报道制备化合物8。

[0236] 2,5-二氧代吡咯烷-1-基5-(2,4,6-三乙炔基苯氧基)戊酸酯,9。向8(在5mL DMF中的300mg,1.13mmol)的溶液添加TSTU(440mg,1.47mmol)和TEA(541μL,3.39mmol),并且将所得的溶液在室温放置搅拌4h,直至反应通过TLC监测完成。在高真空下去除溶剂,将剩余物溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中,并使用40/60至50/50EtOAc/己烷溶液作为洗脱液通过硅胶柱纯化。将包含产物的级分合并在一起并蒸发,以获得为无色固体的期望的产物。产率~310mg。NMR(CDCl<sub>3</sub>):δ7.56(s,2H)、4.26(t,2H)、3.39(s,2H)、3.04(s,1H)、2.78(s,4H)、2.48(t,2H)、2.01-1.80(m,4H)。

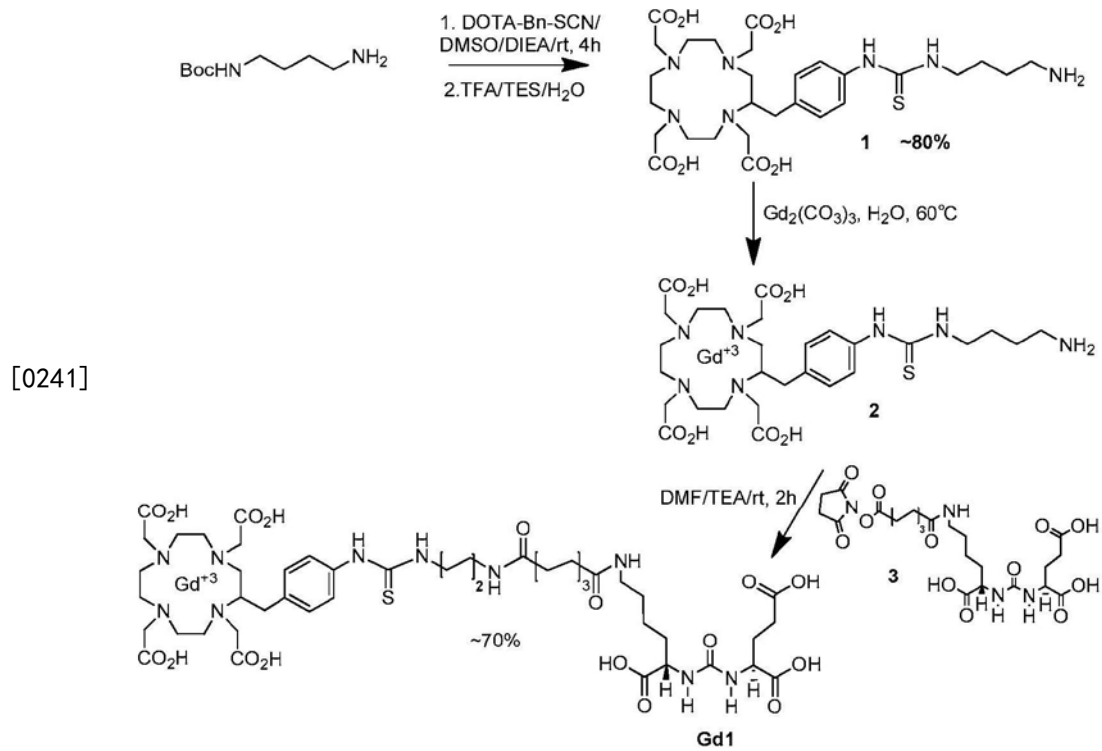
[0237] (3S,7S)-26-氨基-5,13,20-三氧代-4,6,12,21-四氮杂二十六烷-1,3,7,22-四羧酸2,2,2-三氟乙酸盐,10。遵循先前的报道制备化合物10。简言之,向Tris-t-Bu保护的3(在1.35mL DMF中的100mg,0.135mmol)的溶液添加H-Lys(Boc)(O-t-Bu)(59.5mg,0.175mmol),

随后是DIEA (70.7 $\mu$ L, 0.135), 并将澄清溶液在rt搅拌过夜。然后将溶液在真空下浓缩至澄清的油状剩余物。将剩余物溶解于2:1的MeCN/水 (6mL) 中并冻干, 以获得澄清泡沫状产物产率。使用产物而不经进一步纯化。产率: 117mg, 0.126mmol, 93%。ESI-MS: 928 [M+H]<sup>+</sup>。将化合物溶解于冰冷的2ml TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的溶液中, 随后逐滴添加TES (278 $\mu$ L, 1.7mmol)。将澄清溶液保持搅拌5h, 在真空下浓缩。将剩余物溶解于5mL水中, 并使用反相快速层析纯化。产物使用80/20水/CH<sub>3</sub>CN (在每个中的0.1% TFA) 洗脱。ESI-MS: 603 [M+H]<sup>+</sup>。

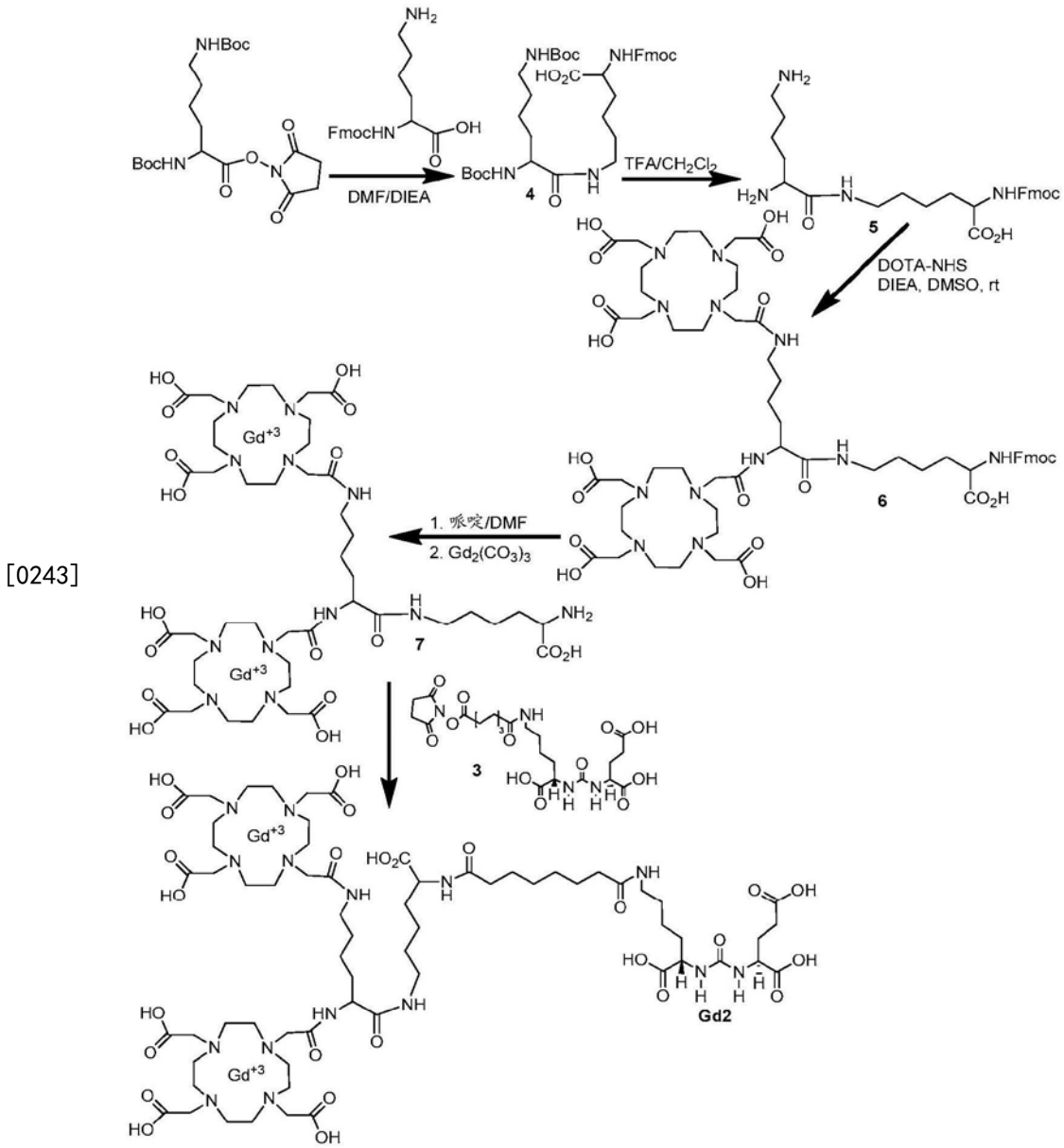
[0238] (3S, 7S)-5, 13, 20, 28-四氧代-32-(2, 4, 6-三乙炔基苯氧基)-4, 6, 12, 21, 27-五氮杂三十二烷-1, 3, 7, 22-四羧酸, 11。将化合物9 (132mg, 0.362mmol) 一次性添加至包含以下的溶液: (3S, 7S)-26-氨基-5, 13, 20-三氧代-4, 6, 12, 21-四氮杂二十六烷-1, 3, 7, 22-四氮杂羧酸2, 2, 2-三氟乙酸盐 (260mg, 0.362mmol)、三乙胺 (0.202mL, 1.44mmol) 和DMF (3.62mL)。将混合物在室温搅拌4h, 并浓缩至棕褐色剩余物。将剩余物溶解于1/1水/乙腈 (3mL) 中, 并使用C<sub>18</sub>反相快速层析纯化, 其中步骤梯度由100%水、0.1% TFA, 随后是80/20, 60/40水/乙腈 (在每个中的0.1%) 组成。每个梯度步骤由约144mL溶剂体积组成。流速为40mL/min。将包含期望产物的级分浓缩至剩余物并冻干, 以产生为白色固体的 (3S, 7S)-5, 13, 20, 28-四氧代-32-(2, 4, 6-三乙炔基苯氧基)-4, 6, 12, 21, 27-五氮杂三十二烷-1, 3, 7, 22-四羧酸。169mg, 54%产率。ESI-MS, 对于C<sub>43</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>13</sub> [M+H]<sup>+</sup>852.4的计算值, 得出为851.9。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 12.12 (bs, 4H) 8.01 (d, 1H)、7.76 (m, 2H)、7.57 (s, 2H)、6.33 (m, 2H)、4.47 (s, 2H)、4.28 (s, 1H)、4.09-4.15 (m, 4H)、3.00 (m, 4H)、2.21-2.27 (m, 2H)、2.10 (m, 4H)、2.02 (t, 2H)、1.89-1.94 (m, 1H)、1.22-1.69 (m, 24H)。<sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  175.0、174.6、174.3、174.1、172.8、172.3、172.1、162.1、158.9、158.5、157.7、137.6、118.0、117.5、86.6、82.0、81.5、78.6、74.1、52.7、52.1、38.7、38.6、35.8、35.5、32.2、31.1、30.3、29.7、29.3、29.2、28.9、28.8、27.9、25.7、25.6、23.3、23.0、22.1。

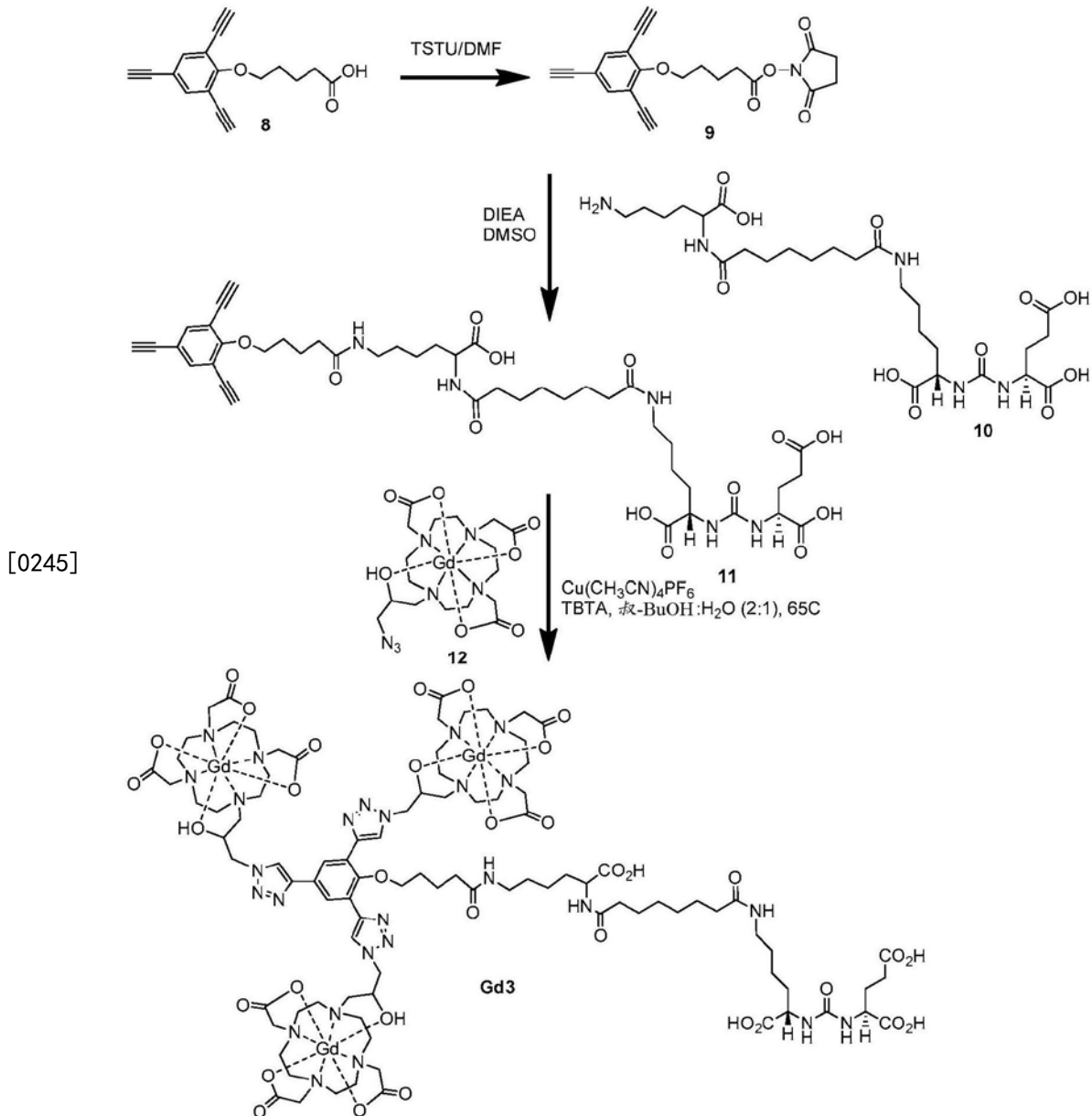
[0239] Gd<sub>3</sub>。向包含 (3S, 7S)-5, 13, 20, 28-四氧代-32-(2, 4, 6-三乙炔基苯氧基)-4, 6, 12, 21, 27五氮杂三十二烷-1, 3, 7, 22-四羧酸 (12mg, 0.14mmol)、化合物002 (28mg, 0.046mmol) 和叔丁醇 (0.1mL) 的混合物添加水 (0.05mL), 随后是TBTA (0.15mg, 0.3 $\mu$ mol) 和六氟磷酸四乙腈铜 (I) (tetrakis (acetonitrile) copper (I) hexafluorophosphate) (0.11mg, 0.3 $\mu$ mol)。将混合物在65 $^{\circ}$ C搅拌18h。将反应混合物溶解于2.5mL的0.1%碳酸氢钠中并过滤。因此获得的溶液使用Phenomenex, Luna, 10微米, 10 $\times$ 250mm柱和由0-95%乙腈:水组成的梯度在HPLC上经20分钟纯化。将期望的产物 (003) 在6.1-7.1分钟时洗脱。将包含003的级分合并, 浓缩并冻干, 以得到白色固体。13mg, 34%产率。ESI-MS, 对于C<sub>94</sub>H<sub>141</sub>Gd<sub>3</sub>N<sub>26</sub>O<sub>34</sub> [M-H]<sup>-</sup>2650.7的计算值, 得出为2648.9。

[0240] 方案1



[0242] 方案2





#### [0246] 结果

[0247] 代表性的PSMA造影剂单体-、二聚体-和三聚体Gd (Gd1、Gd2和Gd3) 的结构示于图1A中,其包含Lys-Glu脲作为靶向部分。开发了多步溶液相合成方法以制备靶化合物,并且在方案1-3中概述。

[0248] 由于DOTA形成具有高热力学和动力学稳定性的络合物,对于所有三种化合物,使用螯合剂DOTA。Gd1包含DOTA-Bn-SCN以提供更高的弛豫度。Gd1的结构是基于最近报道的用于正电子发射断层摄影术(PET)的铅86Y标记的成像剂,其在临床前模型中显示出高的和特异性的肿瘤累积(Banerjee,等2015)。Gd2通过采用基于溶液的肽合成策略将赖氨酸的 $\alpha$ -胺和 $\epsilon$ -胺二者与DOTA-NHS缀合来制备。在相同条件下,当反应在室温在超声浴中进行时,偶联反应的产率显著改进。Gd3包含酚核,该酚核与三个Gd(III)-DOTA使用点击化学反应(click chemistry)通过刚性三唑键合结合,如由Mastarone等先前报道的。将靶向PSMA的官能团通过酚氧缀合至该核。Gd3由于三唑连接基部分的刚性增加而显示出相对高的弛豫度。化合物通过反向HPLC纯化并通过LCMS表征。为了确定试剂的包含Gd(III)的部分对探针



的结合亲和力的任何潜在负效应,对于Gd1、Gd2和Gd3的PSMA抑制常数( $K_i$ )值使用基于荧光的PSMA抑制测定确定并列于表1中。

[0249] 表1. 造影剂的物理性质

化合物	摩尔质量 (g/mol)	$r_1^{[a]}$ ( $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$T_1$ ( $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$K_i$ [nM] <sup>[b]</sup>	$K_i$ 的 95% CI [nM]
[0250] <b>Gd1</b>	1250.40	3.0	2.65	0.45	0.36-0.55
<b>Gd2</b>	1803.13	6.2/12.5	5.44	18.18	14.07-22.16
<b>Gd3</b>	2651.03	3.3/9.81	12.47	7.19	5.17-10.01

[0251] <sup>[a]</sup>列出的弛豫度分别指示试剂的离子/分子弛豫度。20

[0252] <sup>[b]</sup>ZJ43 ( $K_i$  0.29;  $K_i$ 的95%CI 0.22–0.39nM)。

[0253] 使用已知的高亲和力PSMA抑制物, N-[[[(S)-1-羧基-3-甲基丁基]氨基]羰基]-L-谷氨酸(ZJ43) (Olszewski等, 2004) 作为参考配体。如预期的, 所有化合物显示出高的结合亲和力, 其中 $K_i$ 值范围是Gd1的最高(0.45nM), 随后是Gd3(7.19nM)且Gd2(18.18nM)最低。当在9.4T和25°C下成像时, 溶液幻影(solution phantom)指示在PBS中的 $r_1$ 弛豫度在每Gd(III)3.0和6.2 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间以及每造影剂3.0和12.5 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之间变化(表1)。如预期的, 在25°C, Gd1具有最低的弛豫度, 随后是Gd2和Gd3。为了确定试剂的选择性和特异性, 选择经遗传修饰以表达高量PSMA的人类前列腺癌细胞(PC3PIP)和作为阴性对照的对应的野生型未表达PSMA的细胞(PC3flu) (Banerjee, Angew., 2001)。与Gd1或Gd2孵育之后, 沉淀的PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3flu细胞未显示出 $T_1$ -加权的MR对比或 $R_1$ 的变化。相反, 与未标记的细胞以及与PSMA-PC3flu细胞沉淀相比, 与Gd3一起孵育的两种细胞系的 $T_1$ -加权图像显示出显著的MR对比增强, 如图4A中示出的。通过在50 $\mu\text{M}$  Gd3的存在和不存在下的细胞沉淀的MRI的增强和 $T_1$ 测量示出了, 在通过用标准介质洗涤从细胞系统去除Gd3之后, 与Gd3-处理的flu细胞和对照flu对照细胞相比, 较高的增强和在Gd3处理的PIP细胞和对照PIP细胞之间的 $T_1$ 弛豫率差异 $\Delta R_1$ (图4B和图4C)。

[0254] 通过进行Gd3和ZJ43的共孵育的选择性阻断实验确实显示 $T_1$ 增强的显著阻断。在ZJ43存在下与Gd3孵育的细胞在两种类型的细胞中仅显示 $T_1$ 值的微小变化, 指示, ZJ43能够特异性阻断Gd3的结合。这些结果指示, Gd3表现出对PSMA+PC3PIP细胞的受体特异性细胞结合, 并表现出PSMA-介导的对比增强, 证明受体介导的胞吞作用的概念。在成像分析之后, 对细胞的ICP-MS分析确实显示存在与PC3flu细胞沉淀缔合的可忽略不计的Gd(III), 而PC3PIP细胞沉淀具有高的Gd量(图2和图3)。PSMA+PC3PIP细胞沉淀对于Gd3具有 $\sim 22.82\mu\text{M}$ 的估计的细胞内Gd(III)浓度, 随后是对于Gd2和Gd1分别为 $\sim 12.5\mu\text{M}$ 和 $\sim 7.2\mu\text{M}$ 的估计的细胞内Gd(III)浓度(图2)。因此, PIP细胞和flu细胞的 $R_1$ 之间的差异反映了由于PIP细胞中特异性Gd3与PSMA结合而引起的变化。

[0255] 细胞内化测定显示, 在PSMA+PC3PIP细胞中对于Gd1和Gd2经历内化的孵育剂量的百分比(%ID)在孵育4h之后分别为 $9.06 \pm 0.31\%$  ID和 $21.63 \pm 3.51\%$  ID, 而那时仅有 $2.42 \pm 0.11\%$  ID和 $3.51 \pm 1.32\%$  ID与细胞表面缔合(图3)。此外, 稍高的非特异性摄取与PSMA-

PC3f1u细胞中的Gd<sup>2+</sup>相关,这可能与该试剂与Gd<sup>1+</sup>相比的较低的 $K_i$ 值相关。为了进一步检查细胞摄取和内化,制备用罗丹明-Red<sup>TM</sup>-X标记的双模式Gd单体造影剂,以确认PSMA-介导的这类造影剂的内化(图5D)。如预期的,该试剂仅在PSMA+PC3PIP细胞中显示出特异性和高累积(图5A至图5C)。这些结果显示,在该水平表达的细胞受体可使用这些简单的靶向剂通过MRI检测。

[0256] 在孵育1h、4h和24h之后,对于Gd<sup>3+</sup>进行时间依赖性内化研究(图6A和图6B)。在PSMA+PC3PIP细胞中,在1h和4h时的细胞内摄取是高的和特异性的,分别为 $28.30 \pm 0.47$ 和 $39.92 \pm 3.59\%$  ID,而在孵育后24h时,观察到 $\sim 89.69 \pm 3.90\%$  ID。在那些相同时间点,相似量的Gd( $\sim 33\% - 37\%$  ID)与细胞膜缔合。这些结果表明,在PSMA+PC3PIP细胞沉淀中Gd<sup>3+</sup>的可检测的 $T_1$ -加权增强与在PSMA+PIP细胞中Gd<sup>3+</sup>的高的特异性累积充分相关。

[0257] 在评价Gd<sup>3+</sup>用于活小鼠成像之前,Gd<sup>3+</sup>的生物相容性使用细胞增殖测定检查。将多种浓度的Gd<sup>3+</sup>与PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3f1u细胞孵育24小时。多达1mM的Gd(III)浓度的Gd<sup>3+</sup>对PSMA-f1u细胞的存活力不具有显著效应(即 $\sim 90\%$ 存活力)(图7)。然而, $>1$ mM的Gd(III)浓度影响PSMA+PC3PIP细胞存活力(图8)。观察到的PSMA+PC3PIP细胞死亡的水平可归因于Gd<sup>3+</sup>的高的细胞内化,以及采用的长孵育时间(24h)。

[0258] 体内MR成像通过使用携带分别在右下肋腹和左下肋腹皮下植入的PSMA+PC3PIP(右侧)和PSMA-PC3f1u(左侧)肿瘤的雄性NOD/SCID小鼠以9.4T静脉注射Gd<sup>3+</sup>(0.05mmol/Kg剂量)之后进行。在注射之后的前20min期间,PIP和f1u肿瘤接受非特异性摄取。在所有组织中观察到 $T_1$ 值的急剧下降,PSMA f1u最高0.63秒,然后是PIP肿瘤0.57秒和肌肉0.261秒。显著地,从肌肉和f1u肿瘤观察到造影剂的快速清除。在注射后40min时,PIP肿瘤处的对比增强最高,为36%,并且直至注射后1.5h保持高达30%。在3h时,发现肌肉和f1u肿瘤的 $T_1$ 值回到初始值,而PIP肿瘤的 $T_1$ 值未显示显著变化。

[0259] Gd<sup>3+</sup>的体内MR成像还对携带分别在右下肋腹和左下肋腹皮下植入的PSMA+PC3PIP和PSMA-PC3f1u肿瘤异种移植物的小鼠在单次快速推注式静脉注射(0.06mmol/kg)之后进行。图9A显示注射后40min至160min时的两个肿瘤的1mm切片的定量对比增强映射( $\Delta R_1$ )。对比增强在PSMA+PC3PIP肿瘤内保持恒定持续至少3h,但在PSMA-PC3f1u肿瘤和肌肉组织内迅速降低。在前40min至60min内,PSMA+PC3PIP肿瘤(图10A和图10B)的 $T_1$ 值的变化达到最小值 $1,819 \pm 76$ ms(平均值 $\pm$ SD, $R_1$ 值的平均36%增强, $n=4$ ),并以29%保持恒定直至90min,并在注射之后在190min时缓慢降低至24%。对于PSMA-PC3f1u肿瘤,在注射后20min时最高对比增强为 $\sim 24\%$ ,随后对比增强快速衰减(在40min之后 $\Delta R_1 < 20\%$ )。这些结果显示在注射后80min和120min时对于PSMA+PC3PIP肿瘤的特异性对比增强( $P \leq 0.05$ )。如图9B中示出的,将这些结果与使用无靶向部分的三聚体Gd-探针以相同方式给药的其他小鼠直接比较,这未显示肿瘤增强(Mastarone, 2011)。

[0260] 在相同的实验条件下,用盐水(PBS)的对照研究未显示PIP和f1u肿瘤的 $T_1$ 值的任何变化(图12)。

[0261] 不希望受任何一种特定理论所束缚,在与PSMA结合后,Gd<sup>3+</sup>的旋转相关时间(rotational correlation time)相对于未结合状态增加。结合还可改变对于每种试剂的水合数目和水交换速率,这可改变弛豫度值不同于从游离造影剂的弛豫度预期的那些值(Caravan等,2007)。此外,在高场,由于造影剂与细胞组分的相互作用,增加旋转相关时间

可稍微降低弛豫度 (Caravan, P., 等2009; De Leon-Rodriguez, L.M., 等2010; Geninatti-Crich, S. 2011)。通过利用灵敏的多聚体Gd(III) 复合物与已确立的靶向PSMA的小分子组合, 进行体外和体内PSMA靶向的MR分子成像。

[0262] 总之, 已显示, 基于Gd的造影剂Gd3可用于使用小鼠异种移植物的体内PSMA特异性MR成像。描述的用于前列腺和其他癌症中的平移使用的构建体的优化正在进行中。

[0263] 实施例2

[0264] PSMA的受体浓度

[0265] 每细胞受体数 (N.R.C.) =  $4.9 \times 10^6$  个,  $r_{\text{细胞}} = 8.75 \mu\text{m}$

[0266]  $\text{PC3 细胞体积} = \frac{4}{3} \pi r_{\text{细胞}}^3 = \sim 2.57 \text{ pL}$

[0267]  $[\text{PSMA}]_{\text{细胞}} = \frac{\text{N.R.C.}/N_A}{\frac{4}{3} \pi r_{\text{细胞}}^3} = \sim 3.16 \mu\text{M}$

[0268] 因此, 为了观察到  $0.05 \text{ s}^{-1}$  的变化 (约10% 增强, 考虑到组织  $T_1^0 = 2 \text{ s}$ ), 需要弛豫度 (如果受体: 对比1:1)

[0269]  $r_i = \frac{\Delta(\frac{1}{T})}{[\text{CA}]} = \sim 16 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$

[0270] 实施例3

[0271]  $^{86}\text{Y}$ -标记的前列腺特异性膜抗原抑制物的临床前评价用于剂量学估计

[0272] 概述

[0273]  $^{86}\text{Y}$  (半衰期 = 14.74h, 33%  $\beta^+$ ) 在具有相对长的物理半衰期的新兴类型的发射正电子的同位素内, 使得能够扩展生物过程的成像。已报道了在啮齿动物实验模型中三种低分子量  $^{86}\text{Y}$ -标记的PSMA结合肽的制备和生物分布的研究 (图14), 以及在非人类灵长类动物中的药物动力学上最有利的试剂用于在制备用对应的  $^{90}\text{Y}$ -和  $^{177}\text{Lu}$ -标记的试剂的临床试验中的放射剂量学的成像。

[0274] 在制备 [ $^{86}\text{Y}$ ]-4-6中使用多步合成。PSMA抑制常数通过竞争性结合测定评价。使用携带肿瘤的雄性小鼠的体内表征直到注射之后24h通过对于 [ $^{86}\text{Y}$ ]-4-6的PET/CT和通过 [ $^{86}\text{Y}$ ]-4和 [ $^{86}\text{Y}$ ]-6的生物分布研究进行。记录定量全身PET扫描以测量使用 [ $^{86}\text{Y}$ ]-6的雄性狒狒中的14个器官的动力学。

[0275] 化合物 [ $^{86}\text{Y}$ ]-4-6以高放射化学产率和纯度获得, 具有大于  $83.92 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$  的比放射性。使用携带PSMA1/2阳性PC-3PIP和PSMA-阴性PC-3flu肿瘤的小鼠的PET成像和生物分布研究揭示, [ $^{86}\text{Y}$ ]-4-6在注射之后20min时开始在PSMA阳性PC-3PIP肿瘤中具有高位点特异性摄取并且在24h时仍保持高的。化合物 [ $^{86}\text{Y}$ ]-6显示最高的肿瘤摄取和保留, 在5h和24h时分别具有每克  $32.17 \pm 7.99$  和  $15.79 \pm 6.44$  百分比注射剂量 (% ID/g)。低活性浓度与血液和正常器官 (除了表达PSMA的组织肾以外) 相关。在狒狒中的PET成像显示, 所有器官具有2相 (快速和缓慢) 清除率, 在25min时在肾中具有最高摄取 ( $8\% \text{ ID/g}$ )。使用单独的绝对摄取动力学来使用OLINDA/EXM软件计算放射剂量。最高的平均吸收剂量由肾皮质接收, 具有  $1.9 \text{ mGy}/[\text{Y}]-6$  的MBq。

[0276] 材料和方法

[0277] 从商业来源获得的溶剂和化学品是分析级或更好的, 且在进一步纯化的情况

下使用。所有9-芴基甲氧基羰基 (Fmoc) 保护的氨基酸,包括Fmoc-Lys (Boc)-Wang树脂、1-羟基苯并三唑一水合物和2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)购自Chem Impex International Inc. (Wooddale, IL)。无载体的 $[^{86}\text{Y}] (\text{NO}_3)_3$ 从美国国立卫生研究院的国家癌症研究所(the National Cancer Institute of the National Institutes of Health) (Bethesda) 获得。DOTA-三(叔丁基酯)-单酸和p-SCN-Bn-DOTA (B-205) 购自Macrocyclics, Inc. (Dallas, TX)。硝酸钇(III)、三乙基硅烷( $\text{Et}_3\text{SiH}$ )、二异丙基乙胺(DIEA)和三乙胺(TEA)购自Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA)。除非另有说明,所有其他化学品购自Thermo Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)。分析薄层层析(TLC)使用Aldrich铝背衬的0.2mm硅胶Z19, 329-1板进行,并通过紫外光(254nm)、 $\text{I}_2$ 和在EtOH中的1%茚三酮可视化。快速层析使用购自Bodman (Aston, PA)的硅胶MP SiliTech 32-63D60Å进行。所有实验以一式两份或一式三份进行以确保再现性。 $^1\text{H}$  NMR谱在Bruker Ultrashield™ 400MHz光谱仪上记录。通过参考由NMR溶剂的不完全氘化产生的质子共振,以低场ppm记录化学位移( $\delta$ )。低分辨率ESI质谱在Bruker Daltonics Esquire 3000Plus光谱仪, Billerica, MA上获得。高分辨质谱通过在Bruker micrOTOF-II上直接注入或通过经由具有用Bruker micrOTOF-Q II偶联的 $\text{C}_{18}$ 柱的超高压Dionex RSLC的LC洗脱使用ESI由the University of Notre Dame Mass Spectrometry&Proteomics Facility, Notre Dame, IN 获得。

[0278] 4-6和 $[^{89}\text{Y}]$ 4-6的高效液相色谱(HPLC)纯化在Waters 600E Delta LC系统与Waters 486可用的波长UV/Vis检测器(两者通过Empower软件控制)(Waters Corporation, Milford, MA)上使用Phenomenex  $\text{C}_{18}$ Luna  $10 \times 250\text{mm}^2$ 柱进行(图15A和图15B、图16A和图16B、以及图17A、图17B和图17C)。HPLC使用溶剂A(在水中的0.1%TFA)和溶剂B(在乙腈中的0.1%TFA)使用以下方法进行。方法1:洗脱梯度为75%A和25%B持续5min,且75%A至60%A和25%B至40%B历时5-25min,且60%A至75%A和40%B至25%B从25-30min,流速为8mL/min。方法2:流速为8mL/min。洗脱梯度为100%A和0%B持续0-5min,且100%A至45%A和0%B至55%B持续5-45min。 $[^{86}\text{Y}]$ 4-6的HPLC纯化在装备有模型490UV吸光度检测器和与Bioscan Flow-count系统连接的Bioscan NaI闪烁检测器(Bioscan, Washington D.C., USA)的Varian Prostar系统(Palo Alto, CA)上进行。对于 $[^{86}\text{Y}]$ 4-6的HPLC纯化,使用Waters Novapak  $\text{C}_{18}$  150x 3.9mm<sup>2</sup>柱。HPLC使用溶剂A(在水中的0.1%TFA)和溶剂B(在 $\text{CH}_3\text{CN}$ 中的0.1%TFA)和1mL/min的流速使用以下方法进行。使用等度方法(isocratic method) 85%A和15%B持续25min,以用于纯化 $[^{86}\text{Y}]$ 4。采用梯度方法0-5min 78%A和22%B, 5-25min 78%A至58%A和22%B至42%B,以用于 $[^{86}\text{Y}]$ 5。使用梯度方法0-5min 88%A和12%B, 5-25min 88%A至68%A和12%B至32%B,以用于纯化 $[^{86}\text{Y}]$ 6。比放射性被计算为在制备HPLC纯化期间产物的保留时间时洗脱的放射性除以对应于UV吸收曲线下面积的质量。如通过HPLC确定的,所有最终化合物以>95%放射化学纯度获得。化合物1遵循先前报道(Banerjee, Pullambhatla, Byun, 等, 2011)制备。化合物4和5通过如早前对于4报道的相同一般方法(Banerjee等, 2010)进行制备,且对于5下文简要提及。

[0279] 合成和放射化学:

[0280] (13S, 27S, 31S)-4, 7, 10-三苄基-2, 5, 8, 11, 18, 21, 29-七氧代-1-(4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基)-3, 6, 9, 12, 17, 22, 28, 30-八氮杂三十三烷-13,

27, 31, 33-四羧酸, 5。化合物5遵循先前报道 (Banerjee等, 2010) 制备, 如方案4中概述的。化合物3和4通过遵循固相肽策略制备。允许Fmoc-Lys (Boc)-Wang树脂 (100mg, 0.43mM) 用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3mL) 随后是DMF (3mL) 膨胀。将在DMF中的20%哌啶的溶液 (3x 3mL) 添加至树脂, 其然后在环境温度在机械振荡器上轻轻震荡30min。将树脂用DMF (3x 3mL) 和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x 3mL) 洗涤。游离胺的形成通过Kaiser测试 (Kaiser等, 1970) 评价。在DMF中膨胀树脂之后, 添加在DMF中的Fmoc-Phe-OH (3当量)、HBTU (3当量)、HOBT (3当量) 和DIPEA (4.0当量) 的溶液, 并轻轻震荡2h。然后将树脂用DMF (3x 3mL) 和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x 3mL) 洗涤。偶联效率通过Kaiser测试评价。对用Fmoc-Phe-OH和DOTA-(叔丁基酯)<sub>3</sub>-CO<sub>2</sub>H的两个更多偶联步骤重复上述顺序。将最终化合物使用TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1) 从树脂上切割并在真空下浓缩以产生3。浓缩的产物通过使用C<sub>18</sub>SepPak Vac 2g柱纯化。产物用70/30水/乙腈 (在每个中的0.1% TFA) 的溶液洗脱并冻干。ESI-MS: 974 [M+H]<sup>+</sup>。向3 (在1mL DMSO中的15mg, 15.4μmol) 的溶液添加1 (15mg, 26.18μmol) 和TEA (30μL) 并在环境温度放置2h。在去除溶剂之后, 化合物5通过HPLC (方法1) 纯化。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.64 (m, 1H)、8.44 (m, 1H)、8.29-8.18 (m, 2H)、7.77-7.75 (m, 2H)、7.30-7.17 (m, 15H)、6.35-6.33 (m, 2H)、4.65-4.63 (m, 2H)、4.17-2.59 (m, 26)、2.40-1.11 (m, 30H)。<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 175.00、174.64、173.82、173.52、172.11、172.02、171.05、170.95、158.20、157.88、157.39、137.79、137.67、137.52、129.52、129.34、129.27、126.35、54.01、53.61、52.36、51.74、38.37、38.31、37.65、35.52、31.88、29.98、28.95、27.61、25.33、22.92、22.73。ESI-MS: 1431 [M+H]<sup>+</sup>, HRESI+-MS: 对于C<sub>69</sub>H<sub>96</sub>N<sub>12</sub>O<sub>21</sub>, 1431.7042 [M+H]<sup>+</sup>的计算值, 得出为: 1431.7064。

[0281] (21S, 25S)-8, 15, 23-三氧代-1-((4-((1, 4, 7, 10-四(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-2-基)甲基)苯基)氨基)-1-硫代-2, 7, 16, 22, 24-五氮杂二十七烷-21, 25, 27-三羧酸, 6。化合物6如下文描述在三个步骤中进行制备。将商购可得的N-Boc-1, 4-二氨基丁烷 (在0.5mL DMSO中的27mg, 0.15mmol) 与1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸、2-[(4-异硫氰酸苯基)甲基] (p-SCN-Bn-DOTA) (100mg, 在1.5mL DMSO中的0.15mmol) 和DIEA (132μL, 0.75mmol) 混合并在40℃搅拌4h。将溶剂蒸发, 并将固体剩余物使用水和乙腈 (在各自中的0.1% TFA) 通过反相C<sub>18</sub>快速层析 (5.5g, Agilent SF10) 纯化, 以在冻干之后获得Boc-保护的7。产率: ~55%。ESI-MS 740 [M+H]<sup>+</sup>。然后将由该步骤得到的化合物用冰冷的TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1/1) 溶液处理, 并在环境温度下放置搅拌2小时。将溶剂蒸发, 并将剩余物在真空下干燥并通过反相快速层析 (5.5g, Agilent SF10) 纯化, 以中等产率产生7。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.80-8.64 (m, 1H)、8.12-7.90 (m, 2H)、7.75-7.10 (bm, 4H)、4.65-4.63 (m, 1H)、4.17-2.59 (m, 27H)、2.40-1.11 (m, 6H)。ESI-MS: 640 [M+1]<sup>+</sup>。向7 (在400μL DMSO中的11mg, 17μmol) 的溶液添加1 (在200μL DMSO中的10mg, 17.4μmol) 和DIEA (27μL, 170μmol), 并在环境温度放置2h。在蒸发溶剂之后, 将剩余物溶解于水中, 并通过HPLC纯化 (方法2), 以获得6。R<sub>t</sub>, 22.5min。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.88 (m, 1H)、8.44 (m, 1H)、8.21-7.98 (m, 2H)、7.77-7.75 (m, 2H)、6.35-6.33 (m, 2H)、4.65-4.63 (m, 2H)、4.17-2.59 (m, 29H)、2.40-1.11 (m, 30H)。HRESI-MS: 对于C<sub>48</sub>H<sub>77</sub>N<sub>10</sub>O<sub>17</sub>S, 1097.5183 [M+H]<sup>+</sup>的计算值, 得出为: 1097.5212。

[0282] [<sup>89</sup>Y]4。向4 (在500μL 0.5M NaOAc, pH 6.8中的10mg, 9.11μmol) 的溶液添加50μL的YNO<sub>3</sub> (0.5M), 并将混合物 (pH 6.1) 在90℃孵育30min。添加EDTA (200μL, 30mM, pH 6.0) 的溶液, 并将反应混合物在40℃孵育10min, 以络合未反应的钇 (III)。将所得化合物通过HPLC纯

化(方法2,  $R_t$ , 21min), 通过蒸发浓缩并冻干。ESI-MS: 1370  $[M+H]^+$ 。对于  $C_{60}H_{87}N_{11}O_{20}Y$ , 1370.5187的计算值, 得出为1370.5435。

[0283]  $[^{89}Y]$ 5。HPLC纯化通过方法2,  $R_t$ , 26min, ESI-MS: 1517  $[M+H]^+$ 。对于  $C_{69}H_{96}N_{12}O_{21}Y$ ,  $[M+H]^+$ 1516.5793的计算值; 得出为1516.5793。

[0284]  $[^{89}Y]$ 6。HPLC, 方法2,  $R_t$ , 23min, HRESI+-MS。对于  $C_{48}H_{77}N_{10}O_{17}SY$ , 1183.4007  $[M+H]^+$ 的计算值; 得出为1183.4020。

[0285] 放射化学:  $[^{86}Y]$ 4-5和 $[^{86}Y]$ 6的放射性标记遵循与对于 $[^{86}Y]$ 6描述的相同的一般方法进行。

[0286]  $[^{86}Y]$ 6。将新鲜制备的抗坏血酸(50 $\mu$ L, 220 $\mu$ g)的溶液添加至 $^{86}YNO_3$ (在0.1M 500 $\mu$ L硝酸中的111-148MBq (3-4mCi))的溶液以阻止放射分解。将在0.3M NaOAc中的约50-70 $\mu$ g的6(在 $N_2$ 下净化2-3min)添加至该溶液, 并通过加入 $\mu$ L 3M NaOAc中和至pH $\sim$ 5.5-6, 然后短暂涡旋混合物, 该混合物随后在95 $^\circ$ C孵育20min。将反应混合物用1mL水稀释。络合作用通过将10-15 $\mu$ L溶液的等分试样注入到HPLC来监测。如通过ITLC (Gelman ITLC条, 10mM EDTA)测量的, 以 $\sim$ 90-95%的放射化学产率获得放射性标记的产物 $[^{86}Y]$ 6, 其具有 $>$ 98%的放射化学纯度。对于作为混合物异构化合物的期望的产物获得宽的放射性峰,  $R_t$ ,  $\sim$ 13.9-14.8min, 并且对于游离配体的 $R_t$ 为15.8min。比放射性 $>$ 83.92GBq/ $\mu$ mol ( $n=5$ )。将酸性洗脱物用20 $\mu$ L 1M碳酸钠溶液中和, 并在真空下将洗脱物的体积减少至干燥。将固体剩余物用盐水稀释至期望的放射性浓度, 以用于生物分布和成像研究。有趣地, 在中和和蒸发洗脱峰之后, 在HPLC上再次注入示踪物后, 仅一个峰在约14.3min被分离。为了验证 $[^{86}Y]$ 6的异构化, 将化合物6用添加 $^{86}Y$ 的载体进行放射性标记, 且混合物通过HPLC分析。仅一个峰在14.3min时被分离。对于 $[^{86}Y]$ 4-5, 单个放射性标记的峰被分离。对于 $[^{86}Y]$ 4的 $R_t$ 为14.0min, 且对于未螯合的4的 $R_t$ 为15.5min, 而 $[^{86}Y]$ 5,  $R_t=16.9$ min, 且对于未螯合的5 $R_t=19.5$ min。

[0287] 动物模型和测定: PSMA抑制活性使用基于荧光的测定 (Banerjee, Pullambhatla, Byun, 等, 2011) 确定。酶抑制常数 ( $K_i$ 值) 使用Cheng-Prusoff转化 (Cheng和Prusoff, 1973) 产生。使用雄激素非依赖性PC-3人类前列腺癌异种移植物的亚系 (Banerjee, Pullambhatla, Byun, 等, 2011)。那些亚系已被修饰以表达高 (PC-3PIP) 水平的PSMA或天然产生低 (PC-3flu) 水平的PSMA (Warren Heston博士、Cleveland Clinic, Cleveland, OH)。

[0288] 将表达PSMA的 (PC-3PIP) 和不表达PSMA的 (PC-3flu) 细胞系两者在包含10%胎牛血清 (FBS) (Invitrogen) 和1%青霉素-链霉素 (Pen-Strep) (Biofluids) 的RPMI 1640培养基 (Invitrogen) 中生长, 如先前描述的 (Banerjee, Pullambhatla, Byun, 等, 2011)。

[0289] 将6至8周龄雄性、非肥胖性糖尿病 (NOD) /严重联合免疫缺陷 (SCID) 小鼠 (Charles River Laboratories) 分别在向头侧右肋腹和左肋腹处皮下 (SC) 植入PSMA+PC-3PIP和PSMA-PC-3flu细胞 (在100 $\mu$ L Matrigel中的 $2 \times 10^6$ 个)。当异种移植物的直径达到5mm至7mm时, 将小鼠成像或用于生物分布测定。

[0290] 对于生物分布测定, 携带PSMA+PC-3PIP和PSMA-PC-3flu异种移植物的NOD/SCID小鼠用0.55MBq (15 $\mu$ Ci)  $^{86}Y$ -4或 $^{86}Y$ -6经由尾静脉注射。在每种情况下, 将四只小鼠在注射后1h、2h、5h和24h时通过颈部脱位处死。将心脏、肺、肝、胃、胰腺、脾、脂肪、肾、肌肉、小肠和大肠、膀胱和PSMA+PC-3PIP和PSMA-PC-3肿瘤迅速取出。还收集了0.1-mL的血液样品。将每个器官称重, 并且组织放射性用自动 $\gamma$ 计数器 (1282Compugamma CS, Pharmacia/LKB Nuclear

Inc.) 测量。每克组织注射剂量的百分比 (% ID/g) 使用连续稀释的注射活性样品计算。将所有活性测量值针对注射时间校正放射性衰变。

[0291] 动物成像:

[0292] 小动物PET和CT。对于成像研究,将携带PSMA+PC-3PIP和PSMA-PC-3flu肿瘤的NOD/SCID小鼠用3%异氟烷(v/v)麻醉,并保持在1.5%异氟烷(v/v)下。将小鼠(对于<sup>86</sup>Y-4或<sup>86</sup>Y-6的n=3及对于<sup>86</sup>Y-5的n=2)用在pH~7的100μL盐水中制备的3.33-6.21MBq(90-168μCi)放射性示踪物经由尾静脉注射。对于结合特异性研究,在注射<sup>86</sup>Y-4之前30分钟时,将小鼠皮下施用阻断剂量的已知的PSMA抑制物N-[[[(S)-1-羧基-3-甲基丁基]氨基]羧基]-L-谷氨酸(ZJ43)(Olszewski等,2004)(50mg/kg),且另一小鼠用单独的<sup>86</sup>Y-4注射。在不同的时间点,将麻醉的单独的小鼠以俯卧位置放置在扫描仪台架上并用医用胶带固定,同时将麻醉流速增加至0.8L/min。图像使用FORE/2D-0SEM方法(两次迭代,16个子集)重建,并包括对放射性衰变、扫描仪死时间和散射放射的校正。未进行部分体积校正(PVC)。在每次PET扫描之后,为解剖学共配准(anatomic co-registration)获取CT扫描。为了促进PET和CT图像共配准,采用了适合PET和CT扫描仪两者的特殊动物床。当在扫描仪之间移动时以及在两次扫描期间,动物处于麻醉下并固定化。重建的PET和CT图像然后通过使用AMIDE软件(来自sourceforge.net/amide)对准天然标志(landmark)(诸如动物肢体和床轮廓)通过刚性变换来手动地共配准(co-registered)。数据使用AMIDE展示和分析。

[0293] 动态的全身PET和CT图像分别在eXplore VISTA小动物PET(GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK)和X-SPECT小SPECT/CT系统(GammaMedica Ideas, Northridge, CA)上获取。

[0294] <sup>86</sup>Y-6的东非狒狒(Papio anubis)(狒狒(baboon))PET成像。使用雄性东非狒狒(8岁,27.1kg)来研究<sup>86</sup>Y-6的生物分布。狒狒在图像采集期间仰卧放置。对于衰减校正,在第一和最后PET成像之前立即获取低剂量CT图像。PET和CT图像使用Hermes工作站(Hermes Medical Solutions, Greenville, SC)跨时间点共配准。将14个源器官轮廓借助于叠加的PET/CT图像在CT上描绘。从PET图像中提取每个源器官的衰变校正的平均活性浓度(Bq/g)。对肾、肾皮质和前列腺的PET图像绘制轮廓。对于前六个时间点(1h或更短),在PET图像内定量的每器官衰变校正的总活性与施用的放射性几乎一一对应,这证实了,所施用的放射性在PET图像上被完全解释,在这之后,由于排泄,总量小于施用量。在每个PET图像中定量的放射性的总量用于获得全身保留动力学。

[0295] 在作为快速推注式静脉内施用80.7MBq(2.2mCi)的<sup>86</sup>Y-6之后,在5min、10min、15min、20min、35min、1h、2h、3.5h和23h时获取9个静态PET图像。图像在Discovery Rx VCT扫描仪(GE Healthcare)上以2D模式获取。

[0296] 辐射剂量学:对于每个时间点,活性浓度(以Bq/cm<sup>3</sup>计)在14个描绘的器官中的每一个中进行测量,并乘以器官体积以获得每器官每时间点的总活性。然后将测量值进行衰减校正并除以狒狒器官质量(通过来自绘制的轮廓的CT密度和体积来确定)及注射的放射性,以获得每个时间点和每个器官的每克初始放射性的分数(FIA/g)。然后,将狒狒FIA/g值使用以下等式(Schwartz等,2011;Woodard等,1975)转化为人FIA(每器官):

$$[0297] \quad [FIA/器官]_{\text{人类}} = [FIA]_{\text{狒狒}} \cdot \frac{WB_{\text{质量狒狒}}}{WB_{\text{质量人类}}} \cdot \frac{\text{器官质量人类}}{WB_{\text{质量人类}}} \quad (1)$$

[0298] 其中WB质量<sub>狒狒</sub>=27.1kg且WB质量<sub>人类</sub>=73.7kg.

[0299] 该方法假定,相对于全身中的总浓度,特定组织中的活性的浓度跨物种保持(即,对于狒狒和人类,器官浓度/总浓度相同)。将所得的人类FIA值作为对于每个器官的时间(9个数据点)的函数作图,并拟合为双指数表达式:

$$[0300] \quad FIA(t) = A1 \cdot e^{-(\lambda_{1bio} \cdot t)} + A2 \cdot e^{-(\lambda_{2bio} \cdot t)} \quad (2)$$

[0301] 其中A1、A2、 $\lambda_{1bio}$ 和 $\lambda_{2bio}$ 为拟合参数。A1和A2的总和给出了施用的放射性在每个器官中的反外推的、时间零分数,且 $\lambda_{1bio}$ 和 $\lambda_{2bio}$ 为生物学清除常数。如其名称暗示的,通过积分等式(2)并引入物理衰减项 $\lambda_{\phi}$ (这取决于使用的同位素),获得每个源器官的时间积分活性系数[TIAC,先前称为停留时间(Bolch等,2009)等式:

$$[0302] \quad \tau(h) = \left( \frac{A1}{(\lambda_{1bio} + \lambda_{\phi})} + \frac{A2}{(\lambda_{2bio} + \lambda_{\phi})} \right). \quad (3)$$

[0303] 对 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 和 $^{86}\text{Y}$ 计算TIAC,其中它们对应的物理衰变常数: $^{90}\text{Y} \lambda_{\phi} = 0.01083\text{h}^{-1}$  ( $T_{1/2} = 64.0\text{h}$ );  $^{177}\text{Lu} \lambda_{\phi} = 0.00429\text{h}^{-1}$  ( $T_{1/2} = 161.52\text{h}$ )且 $^{86}\text{Y} \lambda_{\phi} = 0.04702\text{h}^{-1}$  ( $T_{1/2} = 14.74\text{h}$ ),分别排泄。放射吸收剂量通过使用OLINDA/EXM软件(Stabin等,2005),根据MIRD吸收分数方法(Bolch等,2009)将时间积分活性转换为吸收剂量来获得。对于膀胱的TIAC使用在OLINDA/EXM中实现的MIRD膀胱模型来获得。对该模型的输入要求全身TIAC,其从拟合至全身保留动力学的等式 $FIA(t) = A \cdot e^{(-\lambda_{bio}t)}$ 获得。将排泄间隔设置为2h。然后将TIAC输入到OLINDA/EXM(Stabin等,2005),并且获得14个器官的每单位放射性的所得的吸收剂量。使用OLINDA/EXM中的特定肾模型来获得肾皮质剂量值。将来自肾脏外部器官的吸收剂量与从内肾模型计算的肾皮质剂量相加。特定的前列腺模型用于前列腺自身剂量,并且将膀胱的外部剂量与前列腺剂量相加,作为全身的替代物。对于唾液腺的每单位活性吸收剂量的自身剂量组分使用3D-RD Monte Carlo(EGSnrc)和具有描绘唾液腺的人类CT获得。交叉剂量组分通过对相同大小的器官(胰腺)假设相同交叉剂量获取。

[0304] 将测量的每器官每时间点活性浓度(以Bq/cm<sup>3</sup>计)值进行衰减校正并除以狒狒器官质量(通过来自绘制的轮廓的CT密度和体积来确定)及注射的放射性,以获得每个时间点和每个器官的每克初始放射性的分数(FIA/g)。然后将狒狒FIA/g值使用相关等式转化为人类FIA(每器官)(Olszewski等,2004;Schwartz等,2011)。然后将所得的人类FIA值作为时间的函数作图,并拟合为双指数表达式,并且计算每个源器官的对于时间积分活性系数(TIAC,先前称为停留时间(Woodard等,1975))的值。放射吸收剂量通过使用OLINDA/EXM软件(Bolch等,2009),根据MIRD吸收分数方法(Woodard等,1975)将时间积分活性转换为吸收剂量来获得。

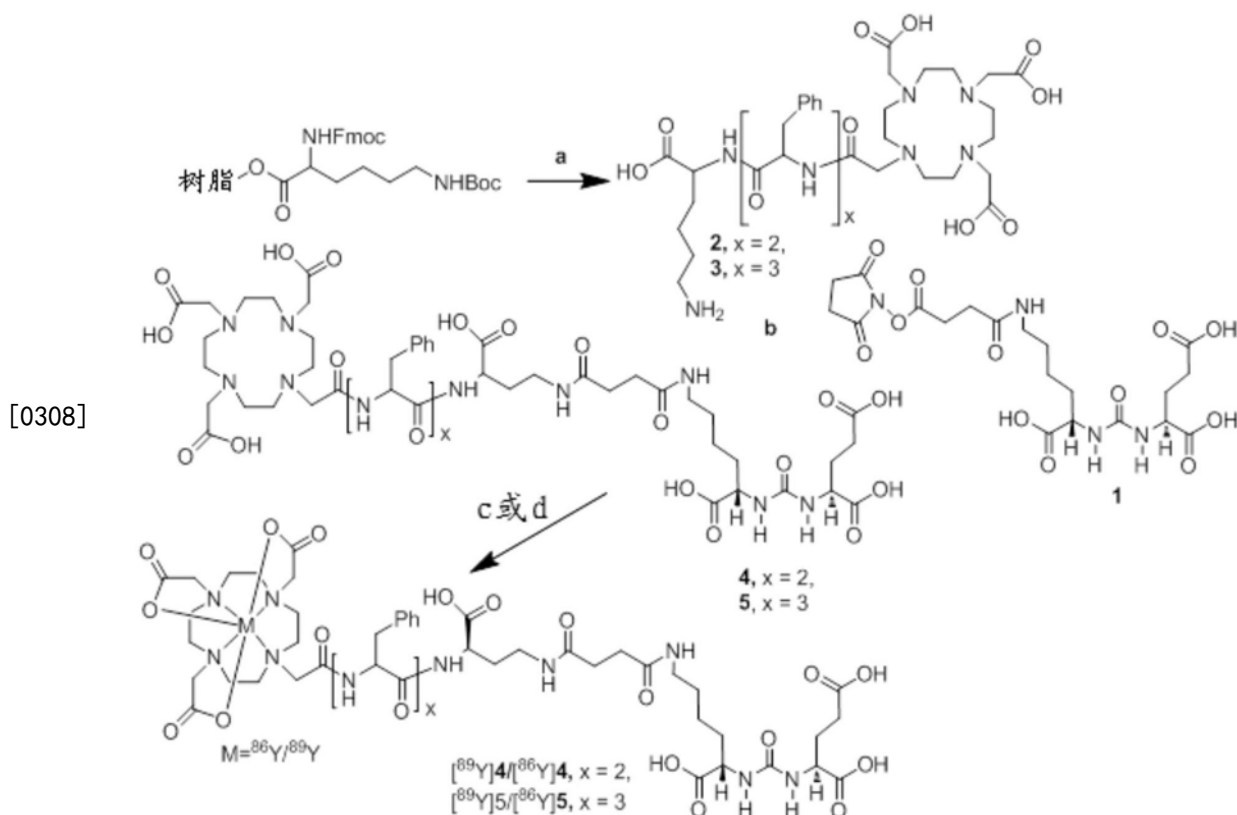
[0305] 数据被表示为使用Microsoft Excel(Microsoft Corporation,2010)计算的平均值±标准差(SD)。使用Prism软件(GraphPAD)以95%置信水平确定统计学显著性,其中P≤0.05被认为是显著的。

[0306] 结果

[0307] 化合物4和5使用如方案4和5中示出的组合的固相和溶液相肽合成策略制备。化合

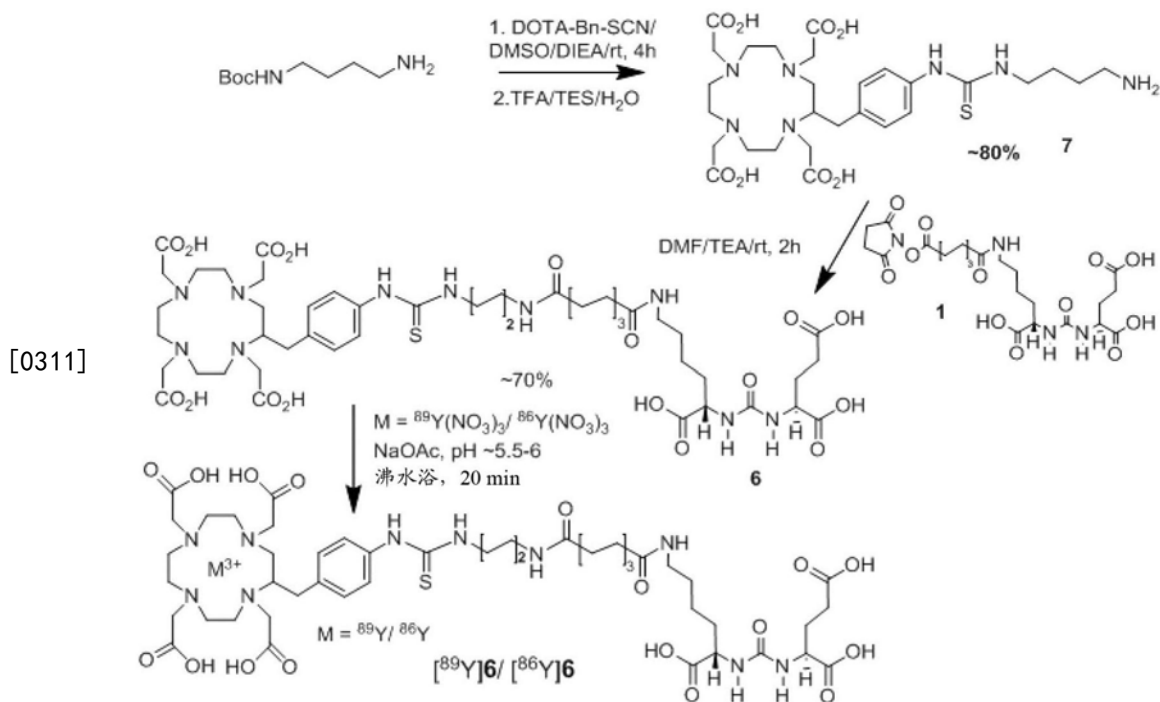


物1和4如先前报道的 (Banerjee, Pullambhatla, Byun, 等, 2011) 来制备。DOTA-缀合的配体5的合成根据方案5从Fmoc-Lys (Boc)-Wang树脂开始, 使用标准苄基甲氧基羰基 (Fmoc) 固相肽合成 (SPPS) 进行。将三个苯丙氨酸残基与树脂结合的赖氨酸偶联, 随后DOTA缀合, 在这之后, 将化合物通过TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的1/1混合物从树脂上切割, 以中等产率 (~20%) 产生3。然后将3的赖氨酸的游离ε-胺与1缀合 (Davis等, 2009) 以产生5。化合物6通过在二异丙基乙胺的存在下在DMSO中使商购可得的DOTA-苄基-异氰酸酯和N-Boc-1, 4-二氨基丁烷在40°C反应4h来合成, 然后去除Boc基团, 以在通过HPLC纯化之后以中等产率产生7。然后将化合物7与1缀合, 以良好产率产生6。如方案4-5中示出的, 稳定的钇 (<sup>89</sup>Y) 络合物通过在95°C将缀合物4-6与YNO<sub>3</sub>的水性溶液孵育来制备。值得提及的是, <sup>86/89</sup>Y (III)-标记的化合物4-5包含与金属配位的三个羧酸, 使得其为总体中性化合物, 而 [<sup>86/89</sup>Y]6具有四个配位的羧酸, 形成总体带负电荷的化合物。放射性示踪物 [<sup>86</sup>Y]4-6通过在pH 5-6的沸水中在10<sup>-6</sup>M的配体浓度下与 [<sup>86</sup>Y]NO<sub>3</sub>反应30min后, 使用相同的一般程序制备。



[0309] a. (i) 20% 哌啶/DMF; (ii) Fmoc-Phe-OH、HOBT、HBTU, 步骤 i-ii 对于 X=2 重复 2 次, 且对于 x=3 重复 3 次, (iii) 20% 哌啶/DMF; (iv) DOTA-三(叔丁基酯)-CO<sub>2</sub>H, HOBT, HBTU, DIEA; (v) TFA/TEA/H<sub>2</sub>O (98/0.5/1.5); b. DMSO/TEA, rt; c. Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>/NaOAc, pH 5.5, 90°C, 20min; d. <sup>86</sup>Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>/抗坏血酸/NaOAc, pH 5.5, 90°C, 20min

[0310] 方案 4.4-5 和 [<sup>86/89</sup>Y]4-5 的合成。



[0312] 方案5.6和[<sup>86/89</sup>Y]6的合成。

[0313] <sup>86</sup>Y-标记的PSMA靶向化合物<sup>86</sup>Y-4、<sup>86</sup>Y-5和<sup>86</sup>Y-6的化学结构示于图14中。靶化化合物的放射性标记以高产率(~90-97%)和放射化学纯度(>98%)与高比放射性(>83.92GBq/μmol (2.27Ci/μmol))进行。所有化合物展示出高结合亲和力,其中K<sub>i</sub>值范围为从0.10nM至4.69nM(表2)。

[0314] 表2.PSMA抑制活性

	<i>K<sub>i</sub></i> [nM]	<i>K<sub>i</sub></i> 的95% CI
4	0.41	0.34-0.56
<sup>89</sup> Y-4	0.36	0.2-0.51
5	3.12	1.7-5.60
<sup>89</sup> Y-5	0.10	0.04-0.32
6	1.80	0.83-3.92
<sup>89</sup> Y-6	2.99	1.91-4.69
ZJ43	1.16	0.08- 2.26

[0315]

[0316] 小动物PET成像:对<sup>86</sup>Y-4、<sup>86</sup>Y-5和<sup>86</sup>Y-6获得全身PET/CT图像(图18A、图18B、图18C、图19A、图20A、图20B和图20C)。在注射后2h时,所有三种放射性示踪物使得能够可视化PSMA+PC-3PIP肿瘤和肾(已知表达PSMA的器官)(图18A、图18B和图18C)。放射性示踪物的肾摄取部分地是由于这些试剂的排泄途径以及由于从小鼠近端肾小管中PSMA的表达的特异性摄取(Stabin等,2005)。试剂<sup>86</sup>Y-5在胃肠道中显示出非特异性累积,推测是由于连接基部分上的三个Phe残基的疏水性增加。考虑到这类低分子量化合物的短生物半衰期,<sup>86</sup>Y-4的PET-CT图像在注射后1h、4h和18h时获得。多达至4h观察到PSMA+PC-3PIP肿瘤和肾和膀胱中放射性示踪物的存在(图19A)。尽管PSMA+PC-3PIP肿瘤保留一些活性,到18h时,膀胱和肾中的放射

性显著清除。作为体内结合特异性的进一步测试,<sup>86</sup>Y-4的阻断研究通过用50mg/kg强效的、选择性PSMA抑制物ZJ43 (Silver等,1997) 预处理动物来进行。图19B显示了,ZJ43不仅在肿瘤内而且在肾皮质(另一个表达PSMA的组织)内能够阻断<sup>86</sup>Y-4的结合(Stabin等,2005)。图20A、图20B和图20C展示在注射后0.5h、2h和12h时对于<sup>86</sup>Y-6的PET-CT成像。显著地,<sup>86</sup>Y-6表现出放射性从正常组织的更快清除,并且到注射后12h时,放射性被大量地从肾清除,产生清楚的肿瘤对背景对比。早在15min时实现了PSMA+PC-3PIP肿瘤的清清楚楚描绘。显著地,<sup>86</sup>Y-6不包含<sup>86</sup>Y-4和<sup>86</sup>Y-5的另外的苯丙氨酸部分,并且使用对异硫氰酸根苯基1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)螯合物,其添加额外的羧酸盐以牢固地保持金属并降低亲脂性。

[0317] 小鼠中的生物分布:基于成像的结果,化合物<sup>86</sup>Y-4和<sup>86</sup>Y-6在标准生物分布测定(Banerjee、Pullambhatla、Byun,等,2011)中被进一步评价。表3和4示出了在注射后1h、2h、5h和24h时选择的器官中的% ID/g摄取值。两种放射性示踪物在PSMA+PC-3PIP肿瘤异种移植中显示PSMA依赖性结合,其中<sup>86</sup>Y-4在早在注射后1h时显示高的肿瘤摄取( $29.3 \pm 8.7\%$  ID/g),具有相对慢的清除率,在注射后5h为 $15.7 \pm 1.7\%$  ID/g且在24h时为 $5.9 \pm 0.8\%$  ID/g。PSMA+PC-3PIP肿瘤对PSMA-PC-3flu肿瘤摄取比率范围为从1h时的89至24h时的高的229。血液和正常组织诸如心脏、肝、胃和胰腺在24h之后未显示显著的摄取( $\sim 1\%$  ID/g)且降低至低于 $0.02\%$  ID/g。PSMA+PC-3PIP肿瘤与肌肉的比率也很高,在24h时达到最大值为1,046。发现肾摄取果然是高的并且在1h时达到峰值 $244.9 \pm 8.8\%$  ID/g且到24h时降低至 $1.5 \pm 0.7\%$  ID/g。

[0318] 表4示出了对于<sup>86</sup>Y-6的器官% ID/g摄取值。化合物<sup>86</sup>Y-6在注射后1h内在PSMA+PC-3PIP肿瘤内迅速累积,其中摄取值为 $26.6 \pm 1.9\%$  ID/g。放射性示踪物浓度在PSMA+PC-3PIP肿瘤内持续增加,在注射后5h时表现 $32.2 \pm 8.0\%$  ID/g的最高摄取。肿瘤摄取保持高的直至注射后24h。正常器官诸如血液、心脏、肝、脾、胃和胰腺在1h时表现出低摄取,其到5h时降低至低于 $0.4\%$  ID/g。对于<sup>86</sup>Y-6的肾摄取在1h和2h时分别为 $86.5 \pm 13.6\%$  ID/g和 $54.0 \pm 9.2\%$  ID/g,比对于<sup>86</sup>Y-4的低得多。

[0319] 表3.<sup>86</sup>Y-4在小鼠中的生物分布(% ID/g)

[0320]

	1H	2H	5H	24H
血液	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
心脏	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
肺	1.1 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
肝	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
脾	5.1 ± 1.4	1.3 ± 0.5	0.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0
肾	245.0 ± 9.0	123.0 ± 48	23.0 ± 9.7	1.5 ± 0.7
肌肉	0.5 ± 0.4	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0
小肠	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
大肠	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0

膀胱	1.5 ± 0.8	12.6 ± 12.5	3.6 ± 1.	0.2 ± 0.2
PC-3 PIP	29.0 ± 8.7	21.6 ± 3.6	15.7 ± 1.7	5.9 ± 0.8
PC-3 flu	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
PIP : flu	89	164	156	229
PIP : 血液	55	198	624	2,352
PIP : 肌肉	54	140	191	1,046

[0321] 表4. <sup>86</sup>Y-6在小鼠中的生物分布(% ID/g)

[0322]

	1H	2H	5H	24H
血液	0.6 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
心脏	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
肺	1.1 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
肝	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
胃	0.3 ± 0.1	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.09
胰腺	0.3 ± 0.1	0.23 ± 0.2	0.08 ± 0.04	0.01 ± 0.01
脾	3.0 ± 0.7	1.31 ± 0.7	0.36 ± 0.12	0.11 ± 0.05
脂肪	0.6 ± 0.5	1.87 ± 3.44	0.12 ± 0.17	0.01 ± 0.01
肾	87.0 ± 14.0	54.0 ± 9.0	15.6 ± 4.1	4.8 ± 0.8
肌肉	0.8 ± 1.2	0.25 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
小肠	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0.02
大肠	0.4 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0	0.0 ± 0.0
膀胱	6.0 ± 3.9	5.5 ± 3.7	0.8 ± 0.1	0.4 ± 0.3
PC-3PIP	26.6 ± 1.9	29.2 ± 2.3	32.2 ± 8.0	15.8 ± 6.4
PC-3flu	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
PIP : flu	66	152	183	130
PIP : 血液	44	145	378	620
PIP : 肌肉	33	115	921	3,010

[0323] <sup>86</sup>Y-6的狒狒PET成像和药代动力学:图21A和图21B描绘了PET研究,其中在肝、唾液

腺、肾和膀胱中观察到放射性示踪物。对于全肾、肾皮质和前列腺,在每个PET图像上绘制轮廓用于定量。所有器官显示两相(快速和缓慢)生物学清除。肾在注射后约25min时具有最高摄取(8% ID/g)。在肾中观察到的放射性的68%以约1h(0.84h)的生物半衰期被清除,且剩余的放射性以16.6h的生物半衰期被清除。肾皮质中的大部分(66%)放射性以1.1h的生物半衰期被清除,且剩余的放射性以约19h的生物半衰期被清除。尽管与用<sup>68</sup>Ga-标记的PSMA靶向的试剂和<sup>124/131</sup>I-MIP-1095(Zechmann等,2014)成像的患者的PET扫描相比为中度的,在肝和唾液腺中观察到显著的摄取和保留。表5给出了所有器官的生物清除动力学的小结。在剂量计算中使用的TIAC列于表6中。

[0324] 表5. [<sup>86</sup>Y]6拟合的药代动力学参数

器官	拟合参数	(% ID)	半衰期(h)
肾	A1	6.36	0.84
	A2	2.98	16.62
肾皮质	A1	4.23	1.10
	A2	2.16	19.19
脑	A1	0.53	0.71
	A2	0.11	8.71
肺	A1	2.78	0.42
	A2	1.27	6.29
心脏	A1	1.55	0.29
	A2	0.29	6.49
肝	A1	4.77	0.38
	A2	1.52	7.71
胃	A1	0.15	0.46
	A2	0.09	6.14
脾	A1	0.12	1.49
	A2	0.04	18.74
小肠	A1	0.24	0.26
	A2	0.10	10.17
大肠	A1	0.45	0.25
	A2	0.30	5.97
肌肉	A1	14.98	1.98
	A2	0.56	69.31
胰腺	A1	0.24	0.66
	A2	0.05	10.60
WB 保留	A1	100.00	5.62
唾液腺	A1	0.30	1.56
	A2	0.08	4.47
前列腺	A1	0.02	0.67
	A2	0.02	5.58

[0326] 表6. 时间积分活性系数(停留时间)

源器官	时间积分活性系数(MBq-h/MBq)		
	<sup>86</sup> Y	<sup>177</sup> Lu	<sup>90</sup> Y
脑	1.41E-02	1.89E-02	1.79E-02
小肠	9.31E-03	1.43E-02	1.32E-02
胃	6.44E-03	8.46E-03	8.06E-03
ULI	1.99E-02	2.64E-02	2.51E-02
心脏内容物	2.55E-02	3.30E-02	3.15E-02
[0327] 肾	4.08E-01	7.24E-01	6.43E-01
肾皮质	3.23E-01	6.02E-01	5.27E-01
肝	1.37E-01	1.88E-01	1.77E-01
肺	9.70E-02	1.28E-01	1.22E-01
肌肉	4.76E-01	8.15E-01	6.85E-01
胰腺	6.37E-03	9.00E-03	8.42E-03
脾	7.41E-03	1.29E-02	1.15E-02
膀胱内容物	7.41E-01	1.00	9.54E-01
[0328] 前列腺	1.15E-03	1.48E-03	1.42E-03
唾液腺	4.45E-02	4.97E-02	4.88E-02
剩余的	3.64	4.84	4.74

[0329] 器官吸收剂量：表7提供了对于<sup>86</sup>Y、<sup>90</sup>Y/<sup>177</sup>Lu的器官吸收剂量的详细列表，以mGy/MBq的单位表示。对于所有同位素，肾皮质接收到最高的每单位活性吸收剂量。因此，可能的是，在患者特异性吸收剂量治疗计划(Baechler等,2012;Hobbs等,2009)的背景下，肾皮质将是用于治疗性放射性金属的剂量限制器官，随后是膀胱。对于诊断同位素<sup>86</sup>Y,0.099mSv/MBq的有效剂量也在OLINDA/EXM中进行计算。

[0330] 表7. 基于狒狒PET成像数据的参考成年男性的器官吸收剂量

[0331]

靶器官	器官剂量(mGy/MBq)		
	<sup>86</sup> Y	<sup>177</sup> Lu	<sup>90</sup> Y
肾上腺	8.62E-02	6.96E-03	3.46E-02
脑	2.30E-02	1.48E-03	6.79E-03
乳腺	4.52E-02	6.08E-03	3.46E-02
胆囊壁	7.88E-02	6.79E-03	3.46E-02
LLI壁	9.61E-02	7.06E-03	3.46E-02
小肠	8.72E-02	8.30E-03	4.29E-02
胃壁	6.69E-02	7.88E-03	3.46E-02
ULI壁	8.56E-02	1.16E-02	6.29E-02
心脏壁	6.70E-02	9.54E-03	5.33E-02
肾	4.03E-01	2.10E-01	1.13
肾皮质	4.24E-01	2.45E-01	1.19
肝	7.19E-02	9.37E-03	4.99E-02
肺	5.98E-02	1.16E-02	6.57E-02
肌肉	5.47E-02	3.26E-03	1.32E-02
卵巢	9.48E-02	7.05E-03	3.46E-02
胰腺	8.09E-02	9.34E-03	4.64E-02
红骨髓	6.29E-02	5.04E-03	2.41E-02
成骨细胞	7.19E-02	1.94E-02	5.26E-02
皮肤	3.97E-02	6.01E-03	3.46E-02
脾	7.23E-02	7.16E-03	1.64E-02
睾丸	7.23E-02	6.56E-03	3.46E-02
胸腺	5.38E-02	6.29E-03	3.46E-02
甲状腺	5.07E-02	6.26E-03	3.46E-02
膀胱壁	6.17E-01	2.14E-01	1.25
子宫	1.34E-01	7.76E-03	3.46E-02
前列腺	7.64E-02	7.94E-03	4.78E-02
唾液腺	1.78E-01	4.76E-02	2.79E-01

[0332] 讨论

[0333] 三种<sup>86</sup>Y-标记的PSMA-靶向的试剂已被合成并评价,以便进行非人类灵长类剂量学。这些化合物包含与已公开的其他化合物相似的与靶向肽附连的DOTA-或DOTA单酰胺螯合的放射性金属(Banerjee等,2010;Banerjee、Pullambhatla、Byun,等,2011)。由于DOTA及其衍生物两者都可用于PET(<sup>86</sup>Y)或放射性药物疗法(<sup>90</sup>Y),它们一直是焦点。已经证明,药代

动力学取决于所用的放射性金属螯合物,包括特别设计用于结合PSMA的化合物的那些。不希望受任何一种特定理论所束缚,认为这主要归因于放射性配体的总电荷和金属螯合络合物的稳定性。特别地,在 $^{68}\text{Ga}$ -标记的PSMA-结合DOTA缀合的试剂的以前的报道中, $^{68}\text{Ga}$ -4显示从正常组织,包括肾的最快清除(Banerjee等,2010)。然而,在目前的研究中,观察到 $^{86}\text{Y}$ -4出乎意料地表现出较高的肾吸收。对 $^{86}\text{Y}$ -6的评价显示了放射疗法所需的期望的较低的肾摄取和较高的肿瘤保留,并且被随后选择用于在狒狒中定量PET成像,以用于剂量学测量。

[0334] 结合特异性研究(图19B)指示,在1小时时,几乎所有的 $^{86}\text{Y}$ -4的肾结合是特异性的而不是由于排泄。证据显示,与肿瘤相比,肾实质中更有组织且快速的血流可能解释许多这些试剂的较长久的肿瘤而不是肾保留。尽管PSMA结合亲和力为可能确定肿瘤对比肾摄取的一个因素,其他因素,诸如亲脂性、电荷、血浆蛋白结合和分子量也可能起重要作用。对于 $^{90}\text{Y}$ 为1.19mGy/MBq和对于 $^{177}\text{Lu}$ 为0.245mGy/MBq的估计肾皮质剂量与在涉及肽受体放射疗法的报道中计算的对于 $^{90}\text{Y}$ 为1.97mGy/MBq和对于 $^{177}\text{Lu}$ 为0.45mGy/MBq的值(其中肾皮质是剂量限制器官)相比有利(Baechler等,2012)。

[0335] 由于已知DOTA和许多DOTA衍生物形成动力学和热力学稳定的络合物,常用的和临床实施的螯合剂DOTA用于所有三种放射性配体。在许多情况下,已显示对应的Y(III)-络合物在体内是稳定的,这是螯合物的期望性状。显著地,还报道了,DOTA与包括镧系元素(例如, $^{177}\text{Lu}$ (III))和锕系元素(例如, $^{225}\text{Ac}$ (III))的一批三价金属离子(与 $^{86}\text{Y}$ (III)化学上不同)形成稳定的络合物。此外,结合PSMA的基于脲的试剂在用于DOTA的放射性标记条件下是稳定的。

[0336] 最近,PSMA-靶向的单克隆抗体J591的 $^{90}\text{Y}$ 或 $^{177}\text{Lu}$ -标记的版本在阶段I和II临床试验中显示有希望的结果(Bander等,2005;Tagawa、Akhtar,等,2013;Tagawa、Milowsky,等,2013)。在那些情况下, $^{111}\text{In}$ -标记的抗体用于剂量学计算(Vallabhajosula等,2005)。尽管那些放射性标记的单克隆抗体具有肿瘤检测和疗法的潜力,其适度的肿瘤靶向和对红色骨髓的相对高的吸收剂量减轻了对常规临床使用。作为一种可替代方法,使用 $^{131}\text{I}$ -标记的PSMA-靶向的、基于脲的小分子的早期临床结果显示高剂量递送至恶性病灶(Zechmann等,2014)。在那些公布的研究中,唾液腺显示出最高的吸收剂量(4.62mGy/MBq),随后是肝(1.47mGy/MBq)和肾(1.45mGy/MBq)二者(Zechmann等,2014)。如也由相对高(0.91mGy/MBq)的甲状腺吸收剂量证明的,唾液腺吸收剂量的显著贡献为游离碘摄取是可能的,这在本研究中不发生。通常,对于 $^{86}\text{Y}$ -6,从正常器官的清除率比公布的结果(Zechmann等,2014)更快,肾例外。

[0337] 总之,生物分布和剂量学结果表明, $^{86}\text{Y}$ -6为用于表达PSMA的肿瘤的定量PET成像的有希望的候选者,并且可提供用于计划和监测PSMA-靶向的基于 $^{90}\text{Y}$ -、 $^{177}\text{Lu}$ -的放射性药物疗法的适合的成像替代物。

#### [0338] 实施例4

[0339] 用于基于PSMA的靶向性放射性核素疗法的 $^{177}\text{Lu}$ -SR-VI-71、 $^{203}\text{Pb}$ -SR-VI-71和 $^{203}\text{Pb}$ -SR-IX-11

[0340] 图24,使用0.01-10 $\mu\text{Ci}$ 的 $^{177}\text{Lu}$ -SRVI71的细胞摄取研究显示,在PSMA+PIP肿瘤中的高摄取和在PSMA-flu肿瘤中的可忽略不计的摄取。另外,内化研究显示,总细胞相关放射性的~44%被内化。此外,在10 $\mu\text{M}$ 的N-[[[(1S)-1-羧基-3-甲基丁基]氨基]羰基]-L-谷氨酸



(ZJ43) (PSMA的一种特定抑制物)的共孵育后观察到PSMA+细胞中~90%阻断,进一步确认了试剂的优异特异性(图23)。体内评价在标准PSMA+PIP和PSMA-flu小鼠异种移植中并通过用VECT或具有额外超高灵敏度小鼠准直器的仪器进行SPECT成像来进行,如图25A、图25B和图25C公开的。在所有时间点在PSMA+PIP肿瘤中发现放射性的最高累积。其他可见器官为肾和膀胱。在2h ( $59.1 \pm 12.8\%$  ID/g)和在24h ( $40.6 \pm 5.8\%$  ID/g)时的生物分布研究(n=4)实际上显示了PSMA+肿瘤中以高特异性的高摄取和保留(在2h时在~180的PIP:flu)。在2h时,初始肾摄取高达 $89.3 \pm 28.9\%$ ,随后在24h内快速清除( $6.29 \pm 3.4\%$  ID/g)。

[0341] 表8.  $^{177}\text{Lu}$ -SR-VI-71的组织生物分布

	3h	24 h	48h	72 h	96h
血液	$0.14 \pm 0.04$	$0.03 \pm 0.03$	$0.03 \pm 0.03$	$0.01 \pm 0.01$	$0.00 \pm 0.00$
心脏	$0.09 \pm 0.04$	$0.04 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.00$	$0.03 \pm 0.01$	$0.01 \pm 0.00$
肺	$0.62 \pm 0.31$	$0.25 \pm 0.026$	$0.06 \pm 0.04$	$0.03 \pm 0.02$	$0.05 \pm 0.01$
肝	$0.31 \pm 0.25$	$0.38 \pm 0.35$	$0.11 \pm 0.07$	$0.05 \pm 0.03$	$0.04 \pm 0.0$
脾	$1.83 \pm 0.38$	$0.74 \pm 0.64$	$0.17 \pm 0.05$	$0.09 \pm 0.08$	$0.06 \pm 0.03$
肾	$53.66 \pm 9.64$	$4.35 \pm 0.41$	$2.35 \pm 0.62$	$2.59 \pm 1.10$	$1.44 \pm 0.11$
肌肉	$0.24 \pm 0.14$	$0.04 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.01$	$0.01 \pm 0.0$
SI	$0.23 \pm 0.12$	$0.10 \pm 0.05$	$0.04 \pm 0.01$	$0.05 \pm 0.03$	$0.01 \pm 0.00$
唾液腺	$0.42 \pm 0.09$	$0.07 \pm 0.08$	$0.10 \pm 0.04$	$0.09 \pm 0.04$	$0.06 \pm 0.02$
PIP	$41.46 \pm 7.88$	$27.52 \pm 1.19$	$16.99 \pm 2.65$	$15.63 \pm 4.62$	$9.04 \pm 1.72$
Flu	$0.14 \pm 0.03$	$0.09 \pm 0.01$	$0.05 \pm 0.00$	$0.04 \pm 0.00$	$0.03 \pm 0.0$

[0343] 表9.  $^{203}\text{Pb}$ -SR-VI-71的组织生物分布

	1 H	2 H	4 H	24 H
血液	0.60 ± 0.05	0.31 ± 0.04	0.24 ± 0.02	0.21 ± 0.02
心脏	0.30 ± 0.03	0.14 ± 0.06	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01
肺	1.20 ± 0.19	0.64 ± 0.14	0.28 ± 0.04	0.16 ± 0.01
肝	1.09 ± 0.07	1.01 ± 0.21	0.92 ± 0.09	0.64 ± 0.04
胃	0.30 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.07 ± 0.01
胰腺	0.49 ± 0.09	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.05	0.09 ± 0.06
脾	5.07 ± 1.68	1.59 ± 0.58	0.72 ± 0.16	0.24 ± 0.02
脂肪	0.77 ± 0.29	0.31 ± 0.22	0.31 ± 0.18	0.05 ± 0.06
[0344] 肾	75.18 ± 9.94	39.35 ± 7.28	22.75 ± 6.22	7.01 ± 0.80
肌肉	0.22 ± 0.14	0.22 ± 0.07	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.03
小肠	0.31 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.04 ± 0.03
唾液腺	1.78 ± 0.69	0.93 ± 0.07	0.29 ± 0.02	0.10 ± 0.05
膀胱	5.96 ± 2.24	10.40 ± 3.21	1.94 ± 0.49	0.31 ± 0.16
PC-3 PIP	41.88 ± 7.60	38.14 ± 6.30	34.74 ± 7.37	27.92 ± 7.01
PC-3 flu	0.43 ± 0.11	0.29 ± 0.14	0.20 ± 0.06	0.14 ± 0.01
PIP/flu	98	130	178	194

[0345] 表10. 在2h时<sup>203</sup>Pb-SR-IX-11 (n=2) 和<sup>203</sup>Pb-SR-VI-71 (n=4) 的组织生物分布

	<sup>203</sup> Pb-SR-IX-11	<sup>203</sup> Pb-SR-VI-71
血液	0.07 ± 0.01	0.31 ± 0.04
心脏	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.06
肺	0.24 ± 0.03	0.64 ± 0.14
肝	0.21 ± 0.01	1.01 ± 0.21
胃	0.12 ± 0.00	0.15 ± 0.03
胰腺	0.06 ± 0.00	0.29 ± 0.05
脾	0.25 ± 0.1	1.59 ± 0.58
脂肪	1.54 ± 1.64	0.31 ± 0.22
肾	3.61 ± 0.81	39.35 ± 7.28
肌肉	0.78 ± 0.83	0.22 ± 0.07
小肠	0.25 ± 0.15	0.23 ± 0.04
唾液腺	0.35 ± 0.10	0.93 ± 0.07
膀胱	8.64 ± 0.77	10.40 ± 3.21
PC-3PIP	21.64 ± 1.23	38.14 ± 6.30
PC-3flu	0.19 ± 0.04	0.29 ± 0.14
PIP:flu	114	130

[0347] 这些结果在制备具有用于放射性核素疗法的期望的药代动力学的此类低分子量治疗剂的可行性方面是相当有希望的。数据进一步支持,这类LMW剂可在与PSMA结合后有效内化。

[0348] 实施例5

[0349] 用于基于PSMA的靶向的放射性核素疗法的ZCP-01和相关的

[0350] 试剂的合成和使用

[0351] 概述

[0352] 用于表达PSMA的肿瘤的成像和可能的放射疗法的经由多种连接基基团与螯合的放射性金属缀合的PSMA结合肽的制备和使用已在几种专利和出版物 (Banerjee, 等, 2008; Banerjee, 等, 2010; Banerjee, 等, 2011; Banerjee, 等, Oncotarget 2011; Banerjee, 等, 2013; Banerjee, 等, 2014) 以及本专利申请中被描述。最近已开发了, 基于对应于氨基甲酸酯支架的新颖赖氨酸-氨基甲酸酯支架氧代戊二酸 (OPA) 和对应于“反向”氨基甲酸酯支架的氨基-戊二酸 (NPA) 构建的PSMA抑制物, 包括F-18标记的类似物, 如图29上公开的。F-18标记的NPA和OPA化合物在PSMA阳性肿瘤小鼠异种移植物中显示选择性摄取。

[0353] ZCP-01, 用于PSMA阳性肿瘤和组织的成像和放射疗法的用于络合放射性金属的DOTA-PEG-连接的赖氨酸OPA氨基甲酸酯已被合成作为实例。先前在专利申请第WO 2009/002529A2号和第WO2010/108125A2号中公开的用于与肽一起使用的宽范围的金属螯合配体和连接基可附连至OPA和NPA支架, 以提供用于前列腺癌的成像和/或放射疗法的新型放射性标记的试剂。

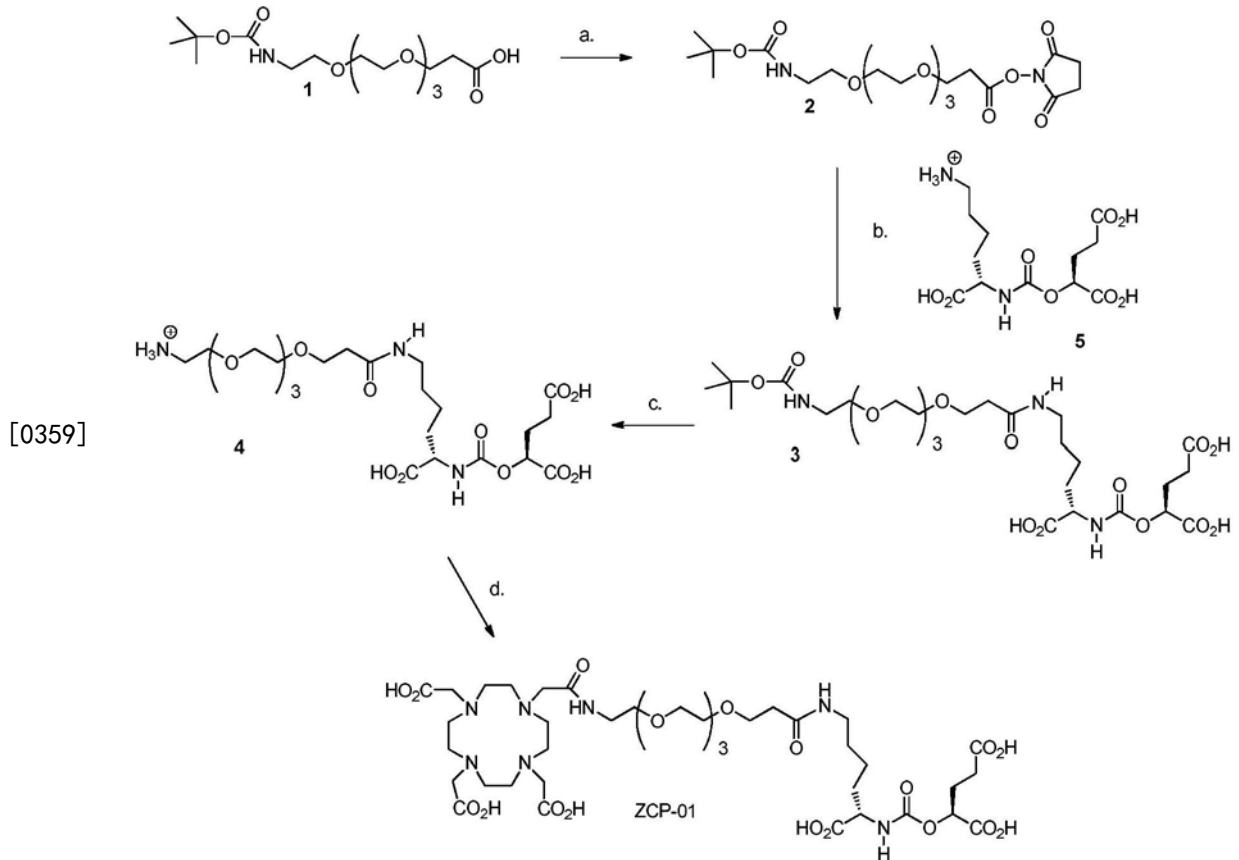
[0354] 材料和方法

[0355] (18S, 22S)-2, 12, 20-三氧代-1-(4, 7, 10-三(羧甲基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1-基)-6, 9, 21-三氧杂-3, 13, 19-三氮杂二十四烷-18, 22, 24-三羧酸, ZCP-01。参考方案7, 向化合物4 (在200 $\mu$ L DMSO中的8.5mg, 0.015mmol) 的溶液添加二异丙基乙胺 (27 $\mu$ L, 0.255mmol), 并随后缓慢添加DOTA-NHS (在200 $\mu$ L DMSO中的15.2mg, 0.023mmol), 并将所得溶液在室温下保持搅拌2h。然后将溶液用水稀释并通过HPLC纯化。HPLC方法: Phenomenex C<sub>18</sub>Luna, 10mm\*250mm, 流速: 8ml/min,  $\lambda$ : 200nm, 220nm, 溶剂H<sub>2</sub>O和CH<sub>3</sub>CN (在每个中的0.1% TFA)。梯度法: 0-20min, 100/0H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN至80/20H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN; 20-30min 80/20H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN至0/100H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN; 31min 100/0H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN。HPLC保留时间 ( $t_r$ ) = 16min。ESI-MS: 954 (M+H)<sup>+</sup>。产率: 在HPLC纯化之后为9.4mg (~65.7%)。

[0356] <sup>113/115</sup>In-ZPC-01的制备向ZPC-01 (在500 $\mu$ L 0.5M NaOAc, pH 6.8中的5mg, 5.24 $\mu$ mol) 的溶液添加50 $\mu$ L的InNO<sub>3</sub> (0.5M), 并将混合物 (pH 6) 在90 $^{\circ}$ C孵育30min。添加EDTA (200 $\mu$ L, 30mM, pH 6.0) 的溶液, 并将反应混合物在40 $^{\circ}$ C孵育10min, 以络合未反应的铟 (III)。将所得化合物通过HPLC纯化 (与ZPC-01相同), 通过蒸发浓缩并冻干。ESI-MS: 1066 [M+H]<sup>+</sup>。对于C<sub>39</sub>H<sub>64</sub>InN<sub>7</sub>O<sub>20</sub>, 计算为1065.79。

[0357] <sup>111</sup>In-ZPC-01的制备。将1.0 $\mu$ l在0.1N HCl中的<sup>111</sup>InCl<sub>3</sub> (1mCi) 添加至20 $\mu$ l在0.2M NaOAc中的1mM Ourea-PEG-DOTA。混合物的pH为~4.0。然后, 20 $\mu$ l 0.2M NaOAc以将pH调节为~6。将混合物在50 $^{\circ}$ C保持1小时, 并使用包含流动相90%水 (包含0.1% TFA) 和10% CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA) 的等度方法, 通过放射性-HPLC纯化; 流速: 1.0mL/min;  $\lambda$ : 200nm, 和C<sub>18</sub>柱 (25 $\times$ 4.6mm), Varian microsorb-MV 100-5。放射性标记的 [<sup>111</sup>In]ZPC-01在14.9min时洗脱, 而未标记的螯合剂在32min时洗脱。

[0358] 方案7



[0360] a. DCC, N-羟基琥珀酰亚胺,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b. 二异丙基乙胺, DMSO; TFA/水; d. DOTA-NHS (从 Macrocylics 商购可得)。

[0361] 结果

[0362] ZCP-01 和  $[\text{In}]-\text{ZCP-01}$  展示高结合亲和力, 其中  $K_i$  值范围分别为从 17.82 nM 至 58.21 nM 和 0.29  $\mu\text{M}$  至 0.92  $\mu\text{M}$  (表 11)。

[0363] 表 11. 对于 ZCP-01 和  $[\text{In}]-\text{ZCP-01}$  的 PSMA 抑制数据

[0364]

	In-ZCP-01	ZCP-01	ZJ43
EC50	89 nM - 291 nM	1.43 $\mu\text{M}$ - 4.62 $\mu\text{M}$	0.99 nM - 2.40 nM
KI	17.82 nM 至 58.21 nM	0.29 $\mu\text{M}$ 至 0.92 $\mu\text{M}$	0.20 nM 至 0.48 nM
95% 置信区间	0.96	0.97	0.97

[0365] 在静脉注射  $[\text{In}]-\text{ZCP-01}$  之后, 对携带分别在右肋腹和左肋腹皮下植入的 PSMA+PC3PIP 和 PSMA-PC3flu 肿瘤异种移植物的 小鼠进行  $[\text{In}]-\text{ZCP-01}$  的体内 SPECT 成像, 如图 34A、图 34B 和图 34C 上示出的。然而,  $[\text{In}]-\text{ZCP-01}$  使得能够在注射后 2h 和 4h 时可视化 PSMA+PC3PIP 肿瘤和肾 (已知的表达 PSMA 的器官), 而 flu 肿瘤接受非特异性摄取。到注射后 24h 时, 放射性被大量地从肿瘤和肾清除。

[0366] 这些结果在制备具有用于肿瘤的成像和放射疗法的期望的 药代动力学的此类低分子量治疗剂的可行性方面是相当有希望的。

[0367] 参考文献

[0368] 在说明书中提到的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献表示本发明公开

的主题所属领域的技术人员的水平。所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献在此通过引用并入,其程度如同每个单独出版物、专利申请、专利和其他参考文献被具体和单独指明通过引用并入的相同程度。将理解,尽管一些专利申请、专利和其他参考文献在本文中被提及,此类参考文献并不构成任何这些文件形成本领域公知常识的部分的承认。

[0369] 2008/12/31公布的用于Labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA), biological evaluation, and use as imaging agents的属于Pomper, M.G., Ray, S., Mease, R.C., Foss, C.的国际PCT专利申请公布第PCT/US2008/007947号(WO 2009/002529A2)。

[0370] 2010/09/23公布的用于PSMA-targeting compounds and uses thereof的属于Pomper, M.G., Mease, R.C.; Ray, S., Chen, Y.的国际PCT专利申请公布第PCT/US2010/028020号(WO2010/108125A2)。

[0371] 2009/06/04公布的用于Prostate specific membrane antigen (PSMA) targeted nanoparticles for therapy of prostate cancer的属于Chandran, S.S., Ray, S., Denmeade, S.R., Pomper, M.G., Mease, R.C.的国际PCT专利申请公布第PCT/US2008/013158号(WO2009/070302A1)。

[0372] Aime, S., et al. *Curr Pharm Biotechnol* 2004, 5, 509-518.

[0373] Artemov, D. *Molecular magnetic resonance imaging with targeted contrast agents*, *J. Cell. Biochem.* Oct 15 2003; 90 (3): 518-524.

[0374] Artemov, D., Mori N., Okollie, B., Bhujwalla, Z.M. *Magn Reson Med* 2003, 49, 403-408.

[0375] Artemov, D., Mori N., Ravi, R., Bhujwalla, Z.M. *Cancer Res* 2003, 63, 2723-2727.

[0376] Babich, J.W., Zimmerman, C., Joyal, J., Lu, G. *Radiolabeled prostate specific membrane antigen inhibitors*. US 2013/0034494 A1.

[0377] Baechler, S., et al. *Three-dimensional radiobiological dosimetry of kidneys for treatment planning in peptide receptor radionuclide therapy*. *Med. Phys.* 2012; 39: 6118-6128.

[0378] Bander, N.H., et al. *Phase I trial of <sup>177</sup>lutetium-labeled J591, a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen, in patients with androgen-independent prostate cancer*. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 4591-4601.

[0379] Banerjee, S.R., et al. *Synthesis and evaluation of technetium-99m- and rhenium-labeled inhibitors of the prostate-specific membrane antigen (PSMA)*. *J. Med. Chem.* 2008; 51: 4504-4517.

[0380] Banerjee, S.R., Pullambhatla, M., Byun, Y., et al. *<sup>68</sup>Ga-labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen (PSMA) for imaging prostate cancer*. *J. Med. Chem.* 2010; 53: 5333-5341.

[0381] Banerjee, S.R., Pullambhatla, M., Shallal, H., et al. *Sequential SPECT and Optical Imaging of Experimental Models of Prostate Cancer with a Dual Modality Inhibitor of the Prostate-Specific Membrane Antigen*. *Angew. Chem. Int.*

Ed.Engl.Sep 192011;50 (39) :9167-9170.

[0382] Banerjee,S.R.,et al.A modular strategy to prepare multivalent inhibitors of prostate-specific membrane antigen(PSMA).Oncotarget.2011;2:1244-1253.

[0383] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Foss,C.A.,Falk,A.,Byun,Y.,Nimmagadda,S.,Mease,R.C.,Pomper,M.G.Effect of chelators on the pharmacokinetics of  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled imaging agents for the prostate-specific membrane antigen (PSMA).J.Med.Chem.2013;56:6108-6121.

[0384] Banerjee,S.R.,Pullambhatla,M.,Foss,C.A.,Nimmagadda,S.,Ferdani,R.,Anderson,C.J.,Mease,R.C.,Pomper,M.G. $^{64}\text{Cu}$ -Labeled inhibitors of prostate-specific membrane antigen for PET imaging of prostate cancer.J.Med.Chem.2014;57:2657-2669.

[0385] Banerjee,S.R.,Foss,C.A.,Pullambhatla,M.,Wang,Y.,Srinivasan,S.R.F.K.E.Hobbs,M.Baidoo,R.C.Brechbiel,Mease,G.Sgouros,M.G.Pomper,Preclinical evaluation of  $^{86}\text{Y}$ -labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen for dosimetry estimates,J Nucl Med 2015.

[0386] Baur,B.,et al.Synthesis,radiolabelling and in vitro characterization of the Gallium-68-,Yttrium-90-and Lutetium-177-labelled PSMA ligand,CHX-A''-DTPA-DUPA-Pep.Pharmaceuticals.2014;7:517-529.

[0387] Behnam Azad,B.,et al.Nanoscale 2015,7,4432-4442.

[0388] Bodei,L.,et al.Receptor radionuclide therapy with  $^{90}\text{Y}$ -[DOTA]O-Tyr3-octreotide ( $^{90}\text{Y}$ -DOTATOC) in neuroendocrine tumours.Eur.J.Nucl.Med.Mol.Imaging.2004;31:1038-1046.

[0389] Bolch,W.E.,et al.,MIRD pamphlet No.21:a generalized schema for radiopharmaceutical dosimetry--standardization of nomenclature.J.Nucl.Med.2009;50:477-484.

[0390] Boros,E.,et al.J Am Chem Soc 2012,134,19858-19868.

[0391] Caravan,P.,et al.Inorg Chem 2007,46,6632-6639.

[0392] Caravan,P.,et al.Contrast Media Mol Imaging 2009,4,89-100.

[0393] Chandran,S.S.,et al.,Characterization of a targeted nanoparticle functionalized with a urea-based inhibitor of prostate-specific membrane antigen(PSMA).Cancer Biol.Therapy.2008;7:974-982.

[0394] Chappell,L.L.et al.Synthesis,characterization,and evaluation of a novel bifunctional chelating agent for the lead isotopes  $^{203}\text{Pb}$  and  $^{212}\text{Pb}$ ,Nucl Med Biol,27 (2000) 93-100.

[0395] Chen,Z.,Penet,et al.PSMA-targeted theranostic nanoplex for prostate cancer therapy.ACS Nano.2012;6:7752-7762.

[0396] Cheng,Y.and Prusoff,W.H.Relationship between the inhibition constant ( $K_i$ )and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition

- (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* 1973;22:3099-3108.
- [0397] Cho, S.Y. et al. Biodistribution, tumor detection, and radiation dosimetry of  $^{18}\text{F}$ -DCFBC, a low-molecular-weight inhibitor of prostate-specific membrane antigen, in patients with metastatic prostate cancer. *J. Nucl. Med.* 2012;53:1883-1891.
- [0398] Davis, S.L., et al. Bacterial thymidine kinase as a non-invasive imaging reporter for *Mycobacterium tuberculosis* in live animals. *PloS one* 2009;4:e6297.
- [0399] De Leon-Rodriguez, L.M., et al. MRI detection of VEGFR2 in vivo using a low molecular weight peptoid-(Gd)8-dendron for targeting. *J. Am. Chem. Soc.* Sep 22 2010;132(37):12829-12831.
- [0400] Evans, M.J., et al. *Proc Natl Acad Sci U SA* 2011,108,9578-9582.
- [0401] Frenzel, T., et al. *Invest Radiol* 2008,43,817-828.
- [0402] Geninatti-Crich, S. *Contrast Media Mol Imaging* 2011,6,421-425.
- [0403] Ghosh, A. and Heston, W.D. Tumor target prostate specific membrane antigen (PSMA) and its regulation in prostate cancer. *J. Cell. Biochem.* 2004;91:528-539.
- [0404] Haffner, M.C., et al. *Hum Pathol* 2009,40,1754-1761
- [0405] Haffner, M.C., et al. *Mod Pathol* 2012,25,1079-1085.
- [0406] Hanaoka, K., et al. *Magn Reson Imaging* 2008,26,608-617.
- [0407] Helisch, A., et al. Pre-therapeutic dosimetry and biodistribution of  $^{86}\text{Y}$ -DOTAPhe1-Tyr3-octreotide versus  $^{111}\text{In}$ -pentetreotide in patients with advanced neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2004;31:1386-1392.
- [0408] Hillier, S.M., et al. *J Nucl Med* 2011,52,1087-1093.
- [0409] Hobbs, R.F., et al.  $^{124}\text{I}$  PET-based 3D-RD dosimetry for a pediatric thyroid cancer patient: real-time treatment planning and methodologic comparison. *J. Nucl. Med.* 2009;50:1844-1847.
- [0410] Huang, C.H. and Tsourkas, A. *Curr Top Med Chem* 2013,13,411-421.
- [0411] Kaiser, E., et al. Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides. *Anal Biochem* 1970;34:595-598.
- [0412] Kam, B.L., et al. Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2012;39 Suppl 1:S103-112.
- [0413] Konda, et al. *Magma* 2001,12,104-113.
- [0414] Kulkarni, H.M.W., et al. First clinical results with Lu-177 PSMA-TUM 1 for the treatment of castrate-resistant metastatic prostate cancer, *J. NUCL. Med. Meeting Abstract Vol 55*;2014.
- [0415] Lanza, M., et al. *J Nucl Cardiol* 2004,11,733-743.
- [0416] Low, P.S., Chelvam, V., Kim, Y. PSMA binding linker conjugates and methods for using WO2011/106639, WO 2010/045598 A2, WO 2009/026177A1.

- [0417] Ma,D.,et al.Radioimmunotherapy for model B cell malignancies using  $^{90}\text{Y}$ -labeled anti-CD 19 and anti-CD20 monoclonal antibodies.Leukemia.2002;16:60-66.
- [0418] Major,J.L.and Meade,T.J.Acc Chem Res2009,42,893-903.
- [0419] Mastarone,D.J.,et al.A modular system for the synthesis of multiplexed magnetic resonance probes.J Am Chem Soc.Apr 132011;133(14):5329-5337.
- [0420] McDevitt,M.R.Radioimmunotherapy with alpha-emitting nuclides,Eur J Nucl Med,25(1998)1341-1351.
- [0421] Mease,R.C.,et al.PET imaging in prostate cancer:focus on prostate-specific membrane antigen.Curr.Top.Med.Chem.2013;13:951-962.
- [0422] Milowsky,M.I.,et al.Vascular targeted therapy with anti-prostatespecific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors.J.Clin.Oncol.2007;25:540-547.
- [0423] Nayak,T.K.and Brechbiel,M.W. $^{86}\text{Y}$  based PET radiopharmaceuticals: radiochemistry and biological applications.Med.Chem.2011;7:380-388.
- [0424] Olson,W.C.,et al.Clinical trials of cancer therapies targeting prostate specific membrane antigen.Rev.Recent Clin.Trials.2007;2:182-190.
- [0425] Olszewski,R.T.,et al.NAAG peptidase inhibition reduces locomotor activity and some stereotypes in the PCP model of schizophrenia via group II mGluR,J.Neurochem.2004;89:876-885.
- [0426] Palm,S.,et al.Pharmacokinetics and biodistribution of (86)Ytrastuzumab for (90)Y dosimetry in an ovarian carcinoma model:correlative MicroPET and MRI.J.Nucl Med.2003;44:1148-1155.
- [0427] Pomper,M.G.,Ray,S.,Mease,R.C.,Foss,C.Labeled inhibitors of prostate specific membrane antigen (PSMA),biological evaluation,and use as imaging agents.WO 2009/002529 A2.
- [0428] Rooney,W.D.,et al.Magn Reson Med 2007,57,308-318.
- [0429] Schulke,N.,et al.The homodimer of prostate-specific membrane antigen is a functional target for cancer therapy.Proc.Natl.Acad.Sci.U S A.2003;100:12590-12595.
- [0430] Schwartz,J.,et al.Renal uptake of bismuth-213 and its contribution to kidney radiation dose following administration of actinium-225-labeled antibody.Phys.Med.Biol.2011;56:721-733.
- [0431] Silver,D.A.,et al.Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues.Clin.Cancer Res.1997;3:81-85.
- [0432] Song,Y.,et al.J Am Chem Soc 2008,130,6662-6663.
- [0433] Stabin,M.G.,et al.OLINDA/EXM:the second-generation personal computer software for internal dose assessment in nuclear medicine,J.Nucl.Med.2005;46:



1023-1027.

[0434] Tagawa,S.T.,et al.Bone marrow recovery and subsequent chemotherapy following radiolabeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody j591 in men with metastatic castration-resistant prostate cancer.Front.Oncol.2013;3:1-6.

[0435] Tagawa,S.T.,et al.Phase II study of Lutetium-177-labeled anti-prostate specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer.Clin.Cancer Res.2013;19:5182-5191.

[0436] Tse,B.W.,et al.Nanomedicine 2015,10,375-386.

[0437] Vallabhajosula,S.,et al.Pharmacokinetics and biodistribution of<sup>111</sup>In- and <sup>177</sup>Lu-labeled J591 antibody specific for prostate-specific membrane antigen:prediction of <sup>90</sup>YJ591 radiation dosimetry based on<sup>111</sup>In or<sup>177</sup>Lu?, J.Nucl.Med.2005;46:634-641.

[0438] Witzig,T.E.,et al.Safety of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for relapsed low-grade,follicular,or transformed non-Hodgkin's lymphoma.J.Clin.Oncol.2003;21:1263-1270.

[0439] Woodard,H.Q.,et al.Letter:Expression of tissue isotope distribution.J.Nucl.Med.1975;16:958-959.

[0440] Wu,X.et al.Bioconjug Chem 2012;23,1548-1556.

[0441] Yong,K.and Brechbiel,M.W.Towards translation of <sup>212</sup>Pb as a clinical therapeutic;getting the lead in!,Dalton Trans,40 (2011) 6068-6076.

[0442] Yong,K.J.et al.(<sup>212</sup>Pb-radioimmunotherapy induces G(2) cell-cycle arrest and delays DNA damage repair in tumor xenografts in a model for disseminated intraperitoneal disease,Mol.Cancer Ther.,11 (2012) 639-648.

[0443] Yong,K.J.et al.<sup>212</sup>Pb-radioimmunotherapy potentiates paclitaxel-induced cell killing efficacy by perturbing the mitotic spindle checkpoint, Br.J.Cancer,108 (2013) 2013-2020.

[0444] Yoo,J.,et al.Preparation of high specific activity (<sup>86</sup>Y) using a small biomedical cyclotron.Nucl.Med.Biol.2005;32:891-897.

[0445] Zechmann,C.M.,et al.Radiation dosimetry and first therapy results with a(<sup>124</sup>I)/(<sup>131</sup>I)-labeled small molecule (MIP-1095) targeting PSMA for prostate cancer therapy.Eur.J.Nucl.Med.Mol.Imaging.2014;41:1280-292.

[0446] 尽管为了清楚理解的目的通过说明和实施例相当详细地描述了前述主题,本领域技术人员将理解,可在所附权利要求的范围内实践某些改变和修改。

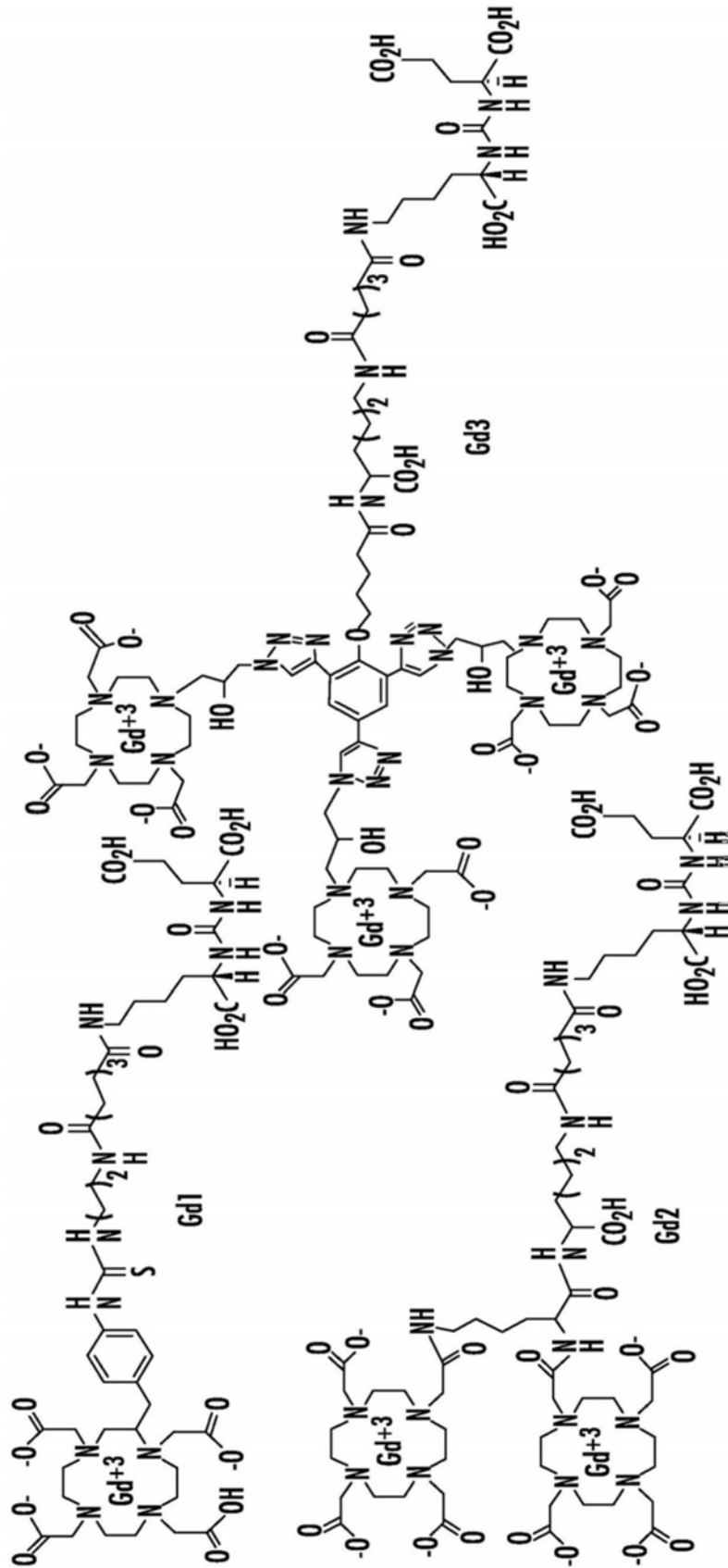


图1A

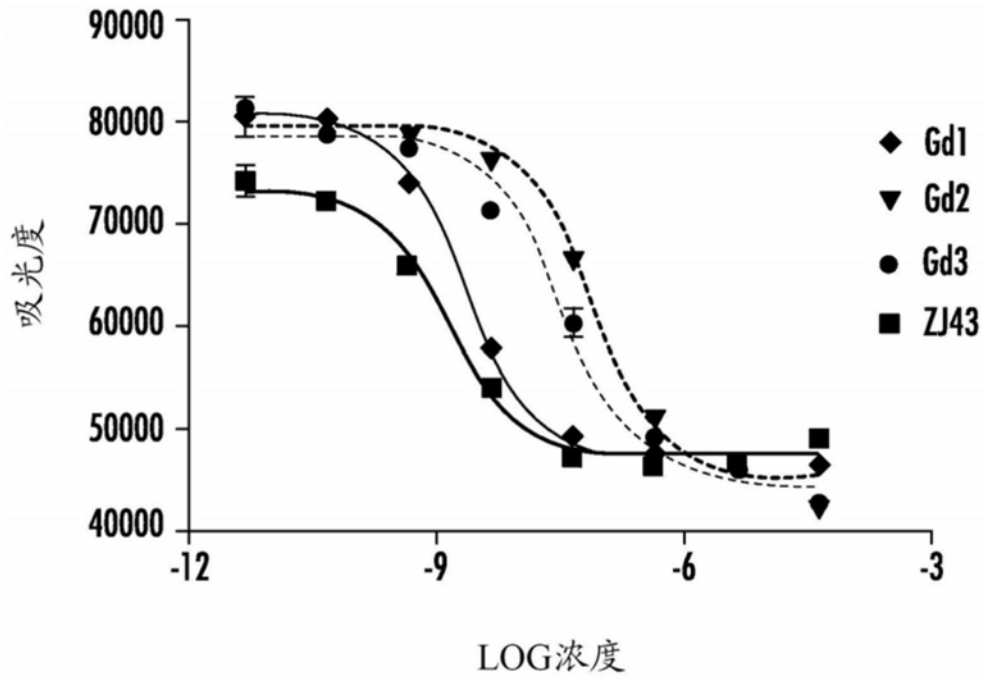


图1B

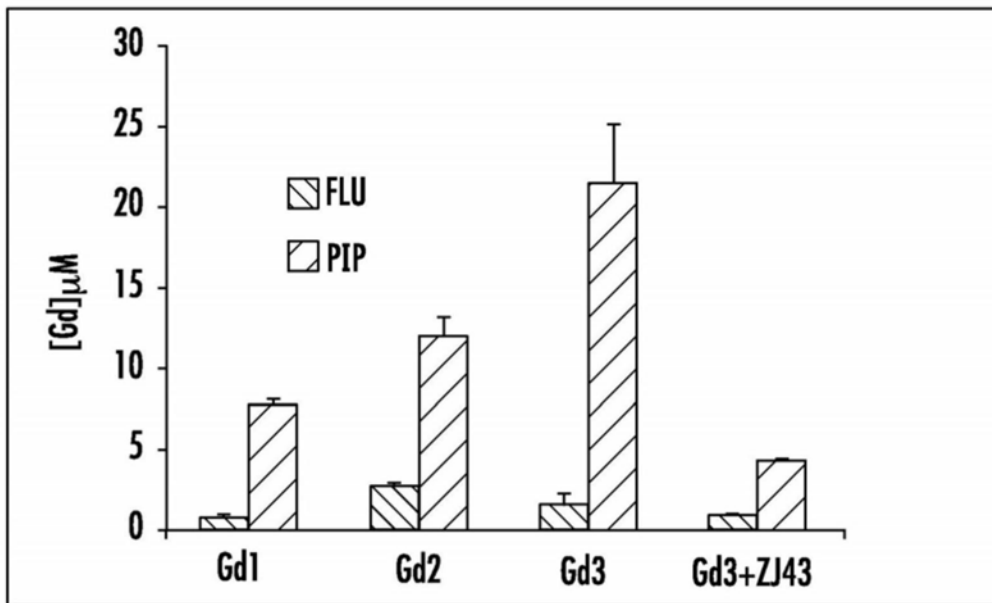


图2

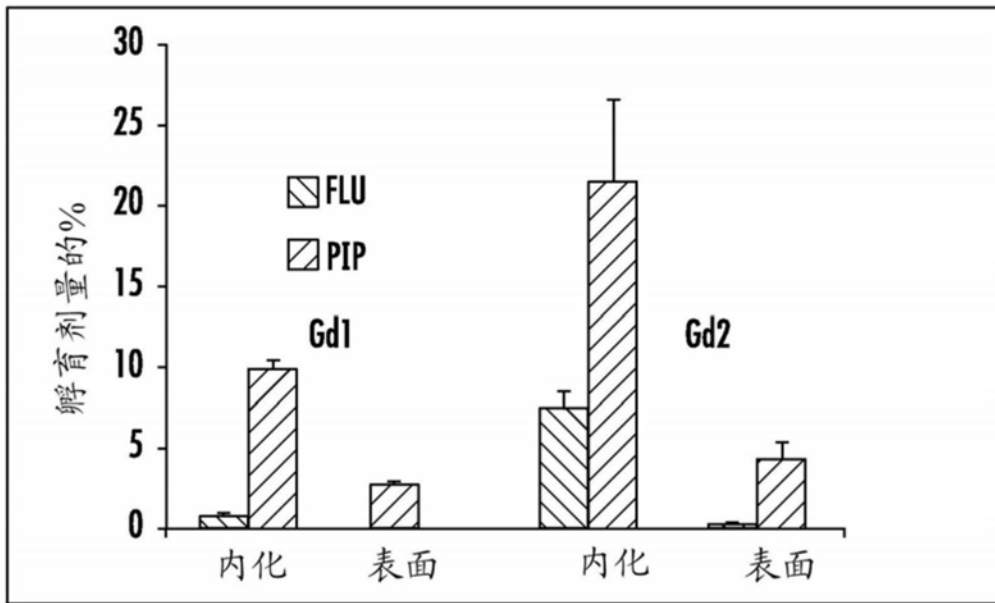


图3

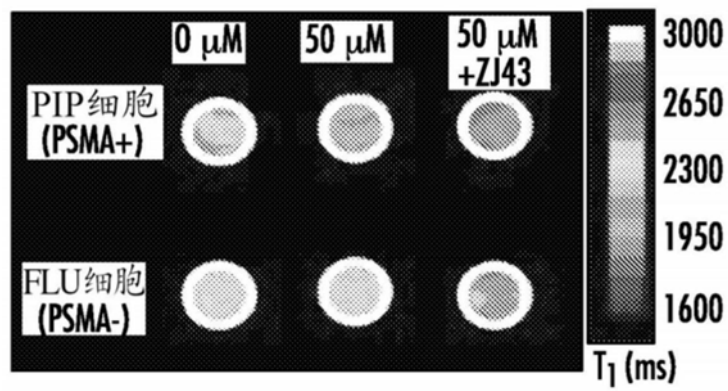


图4A

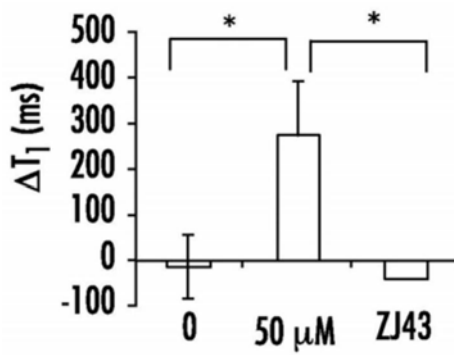


图4B

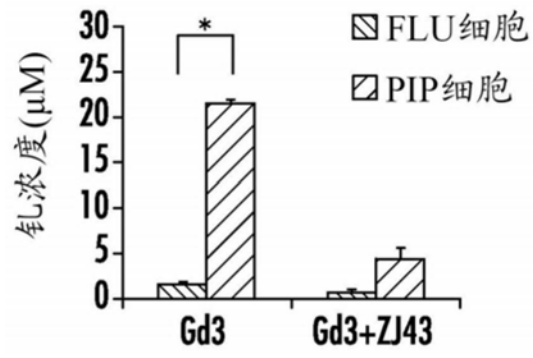


图4C

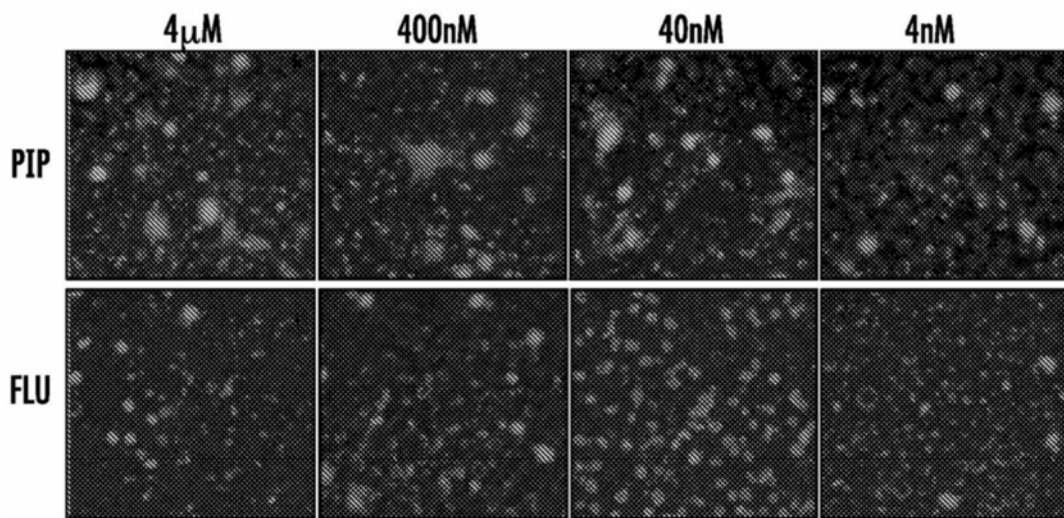


图5A

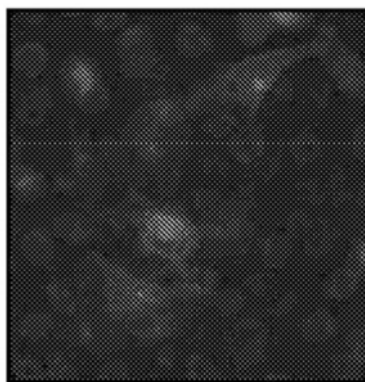


图5B

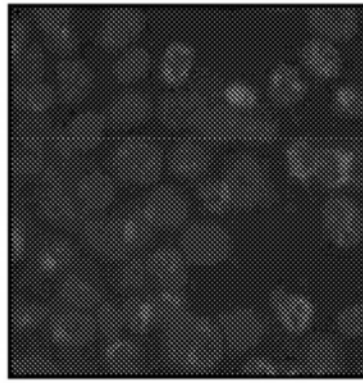


图5C

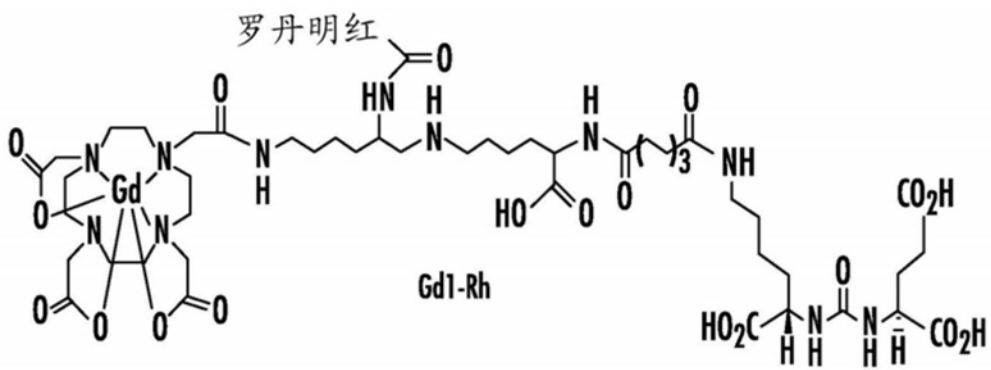


图5D

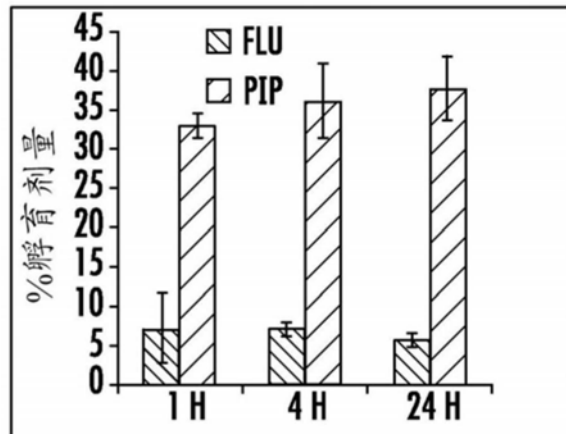


图6A

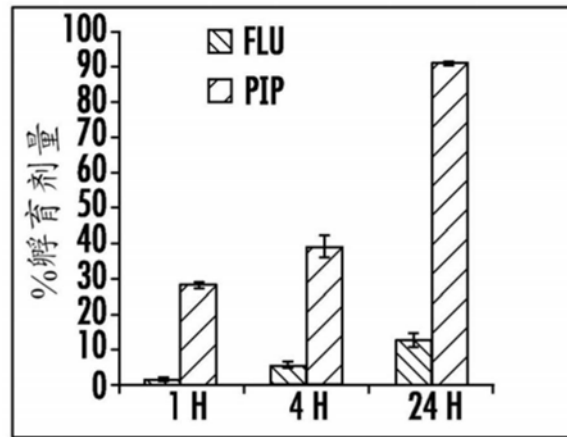


图6B

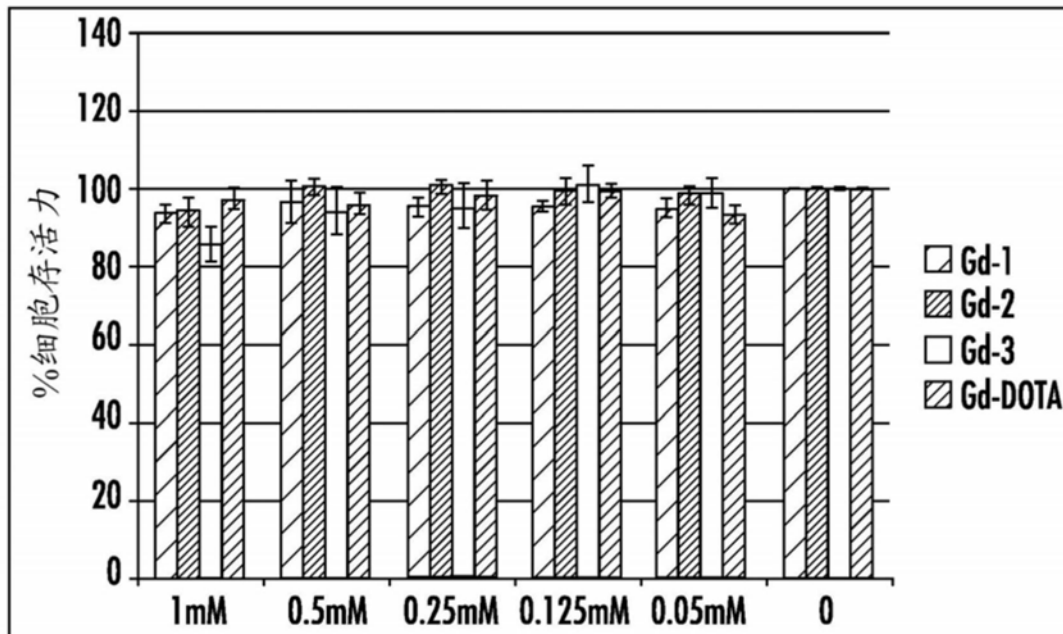


图7

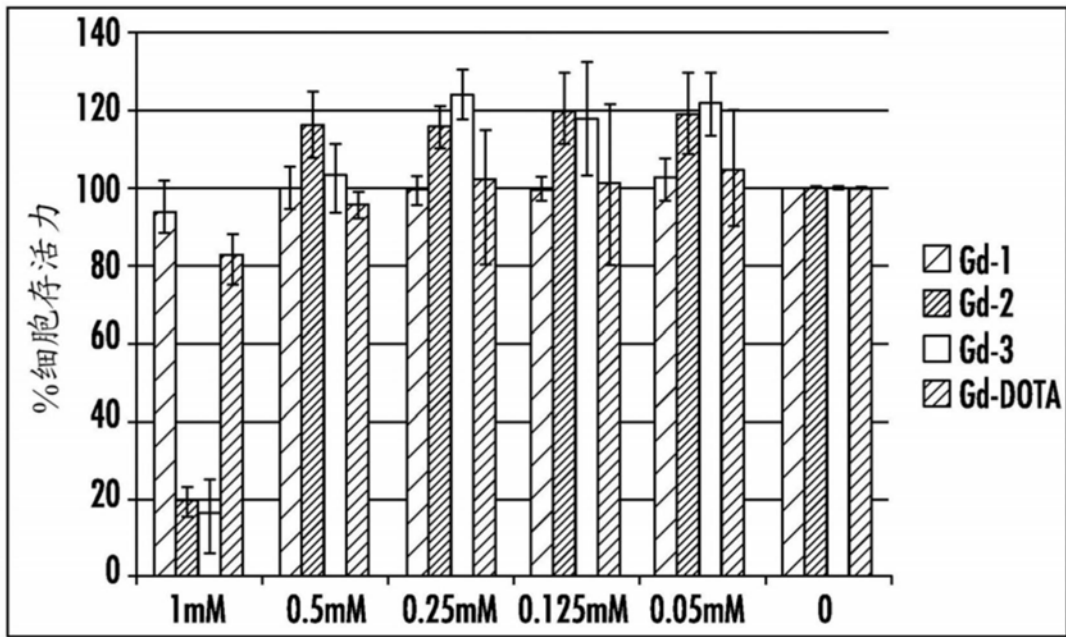
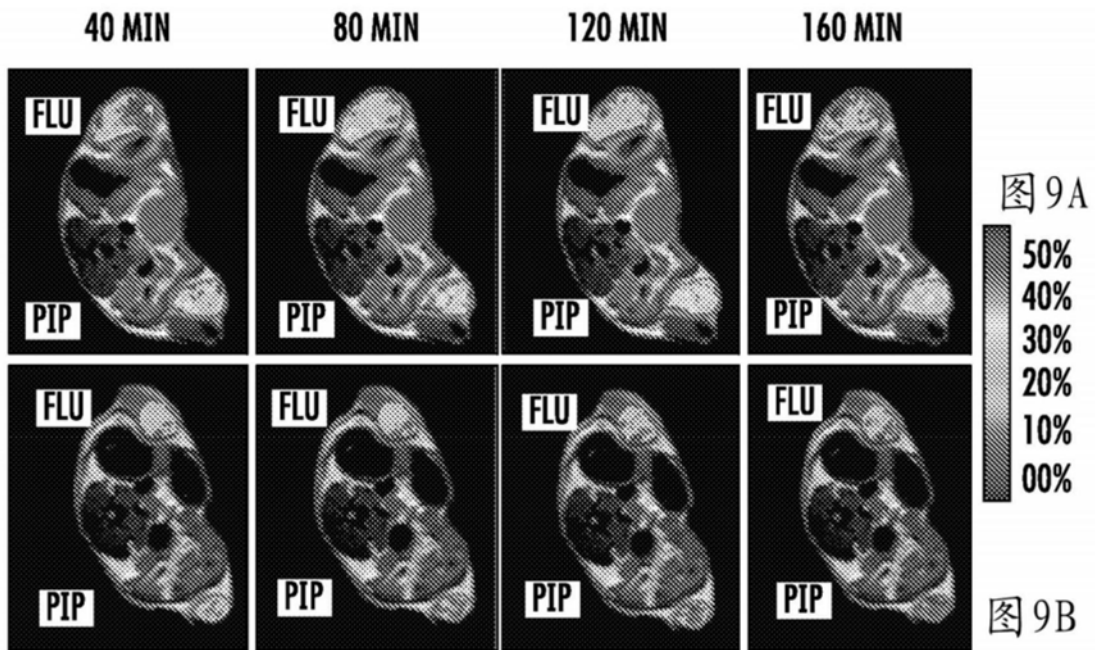


图8





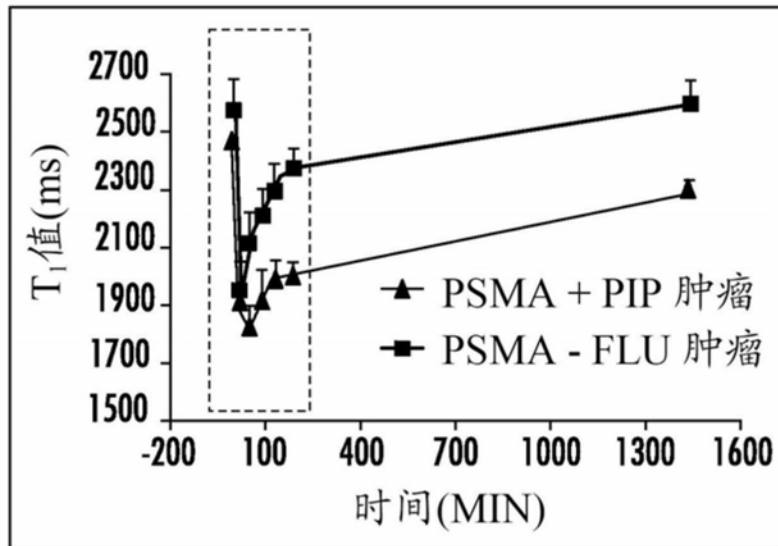


图10A

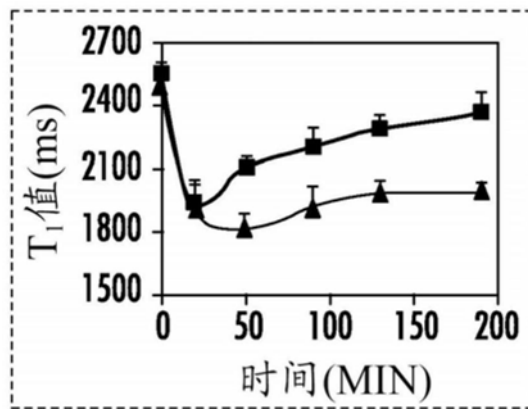


图10B

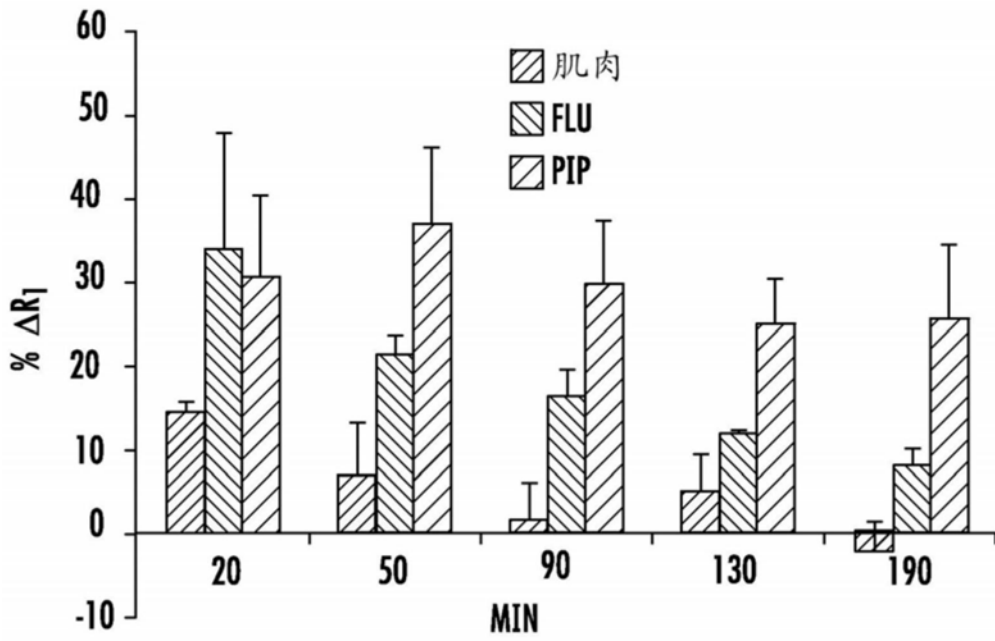


图11

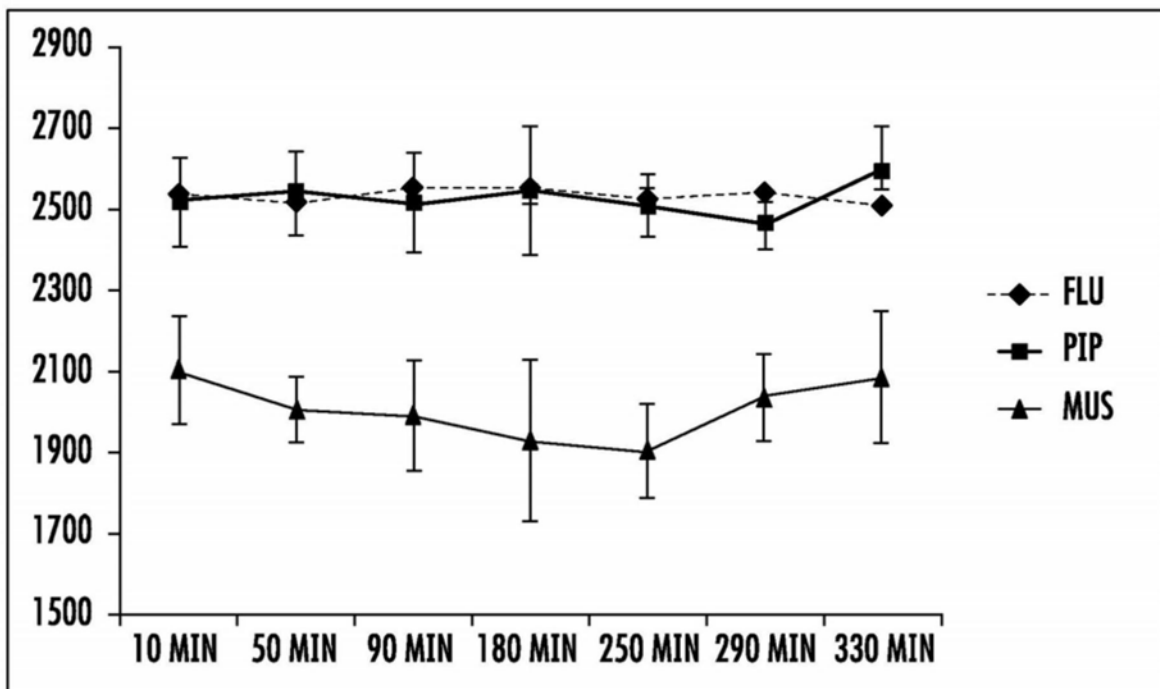


图12

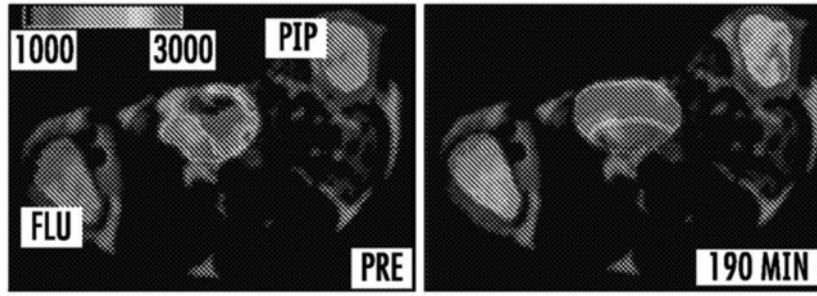


图13A

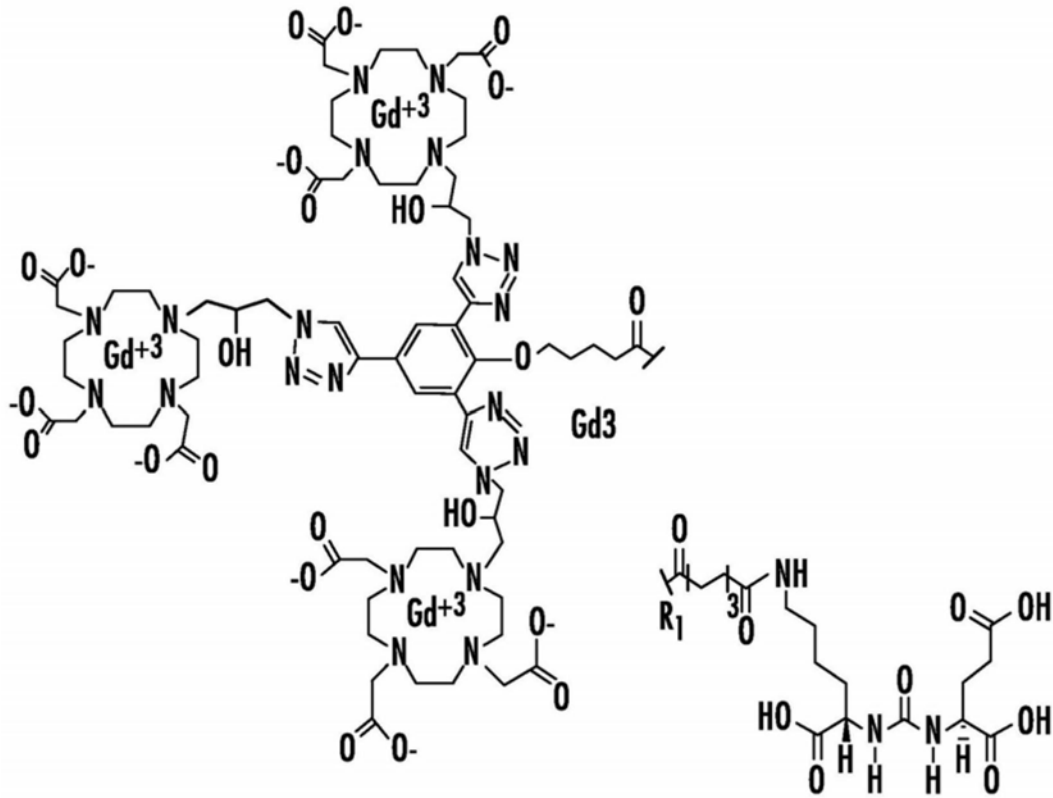


图13B

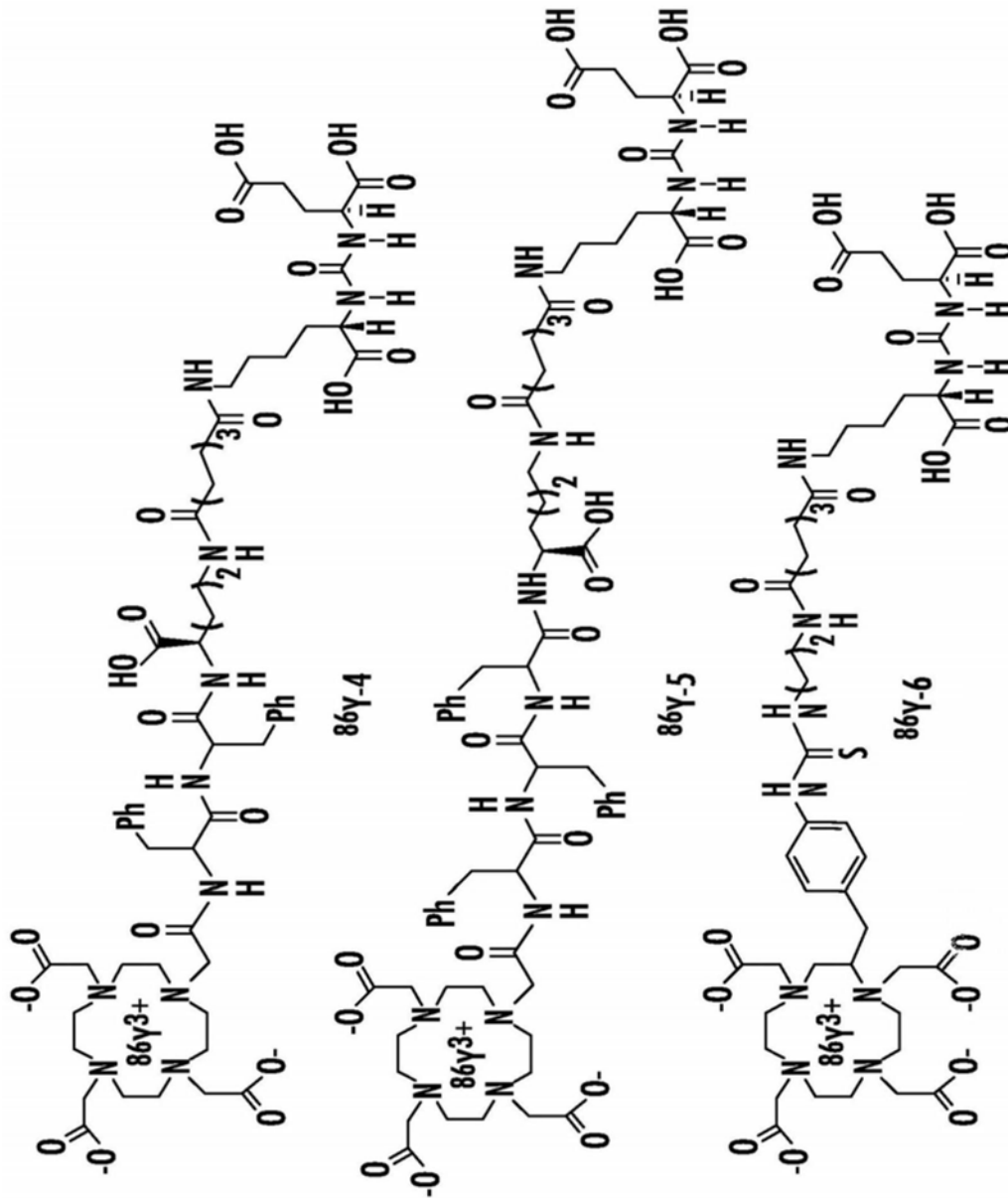


图14

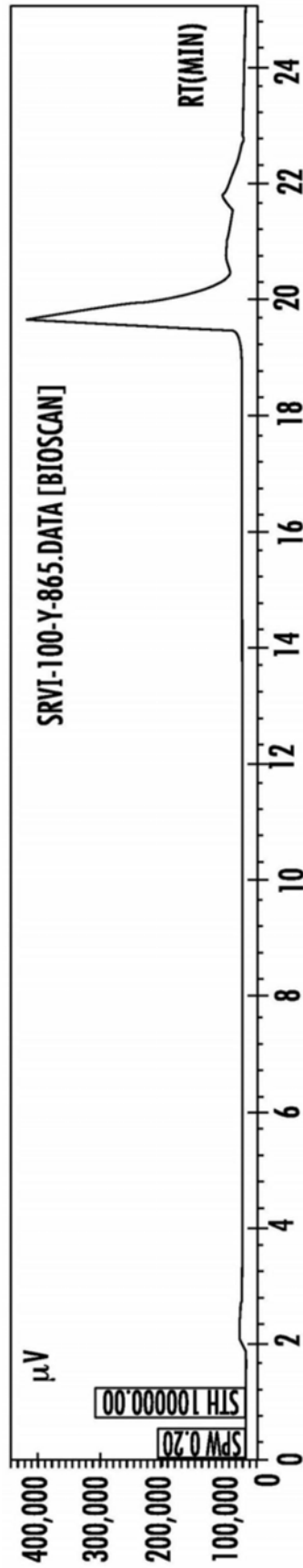


图15A

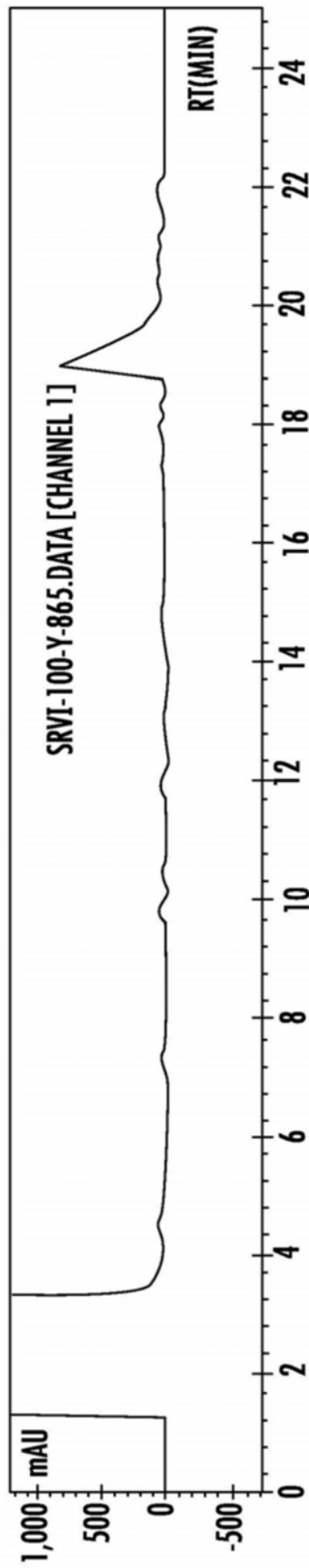


图15B

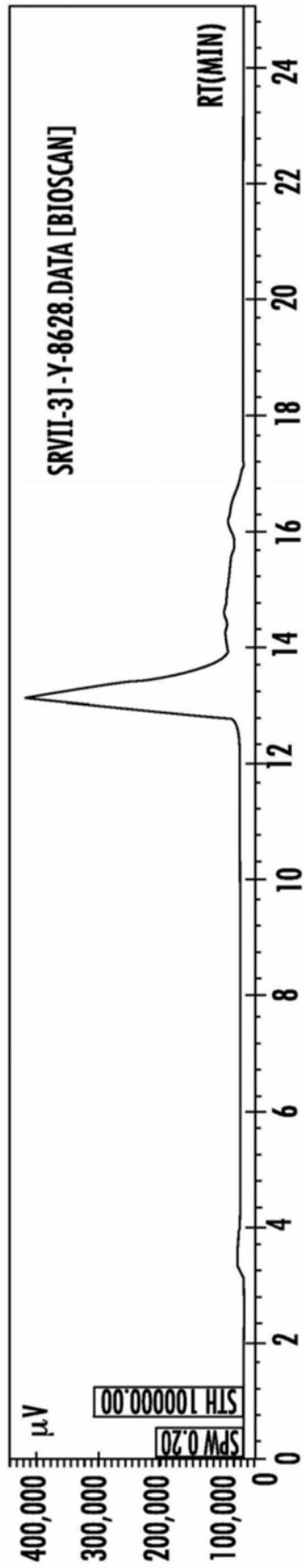


图16A

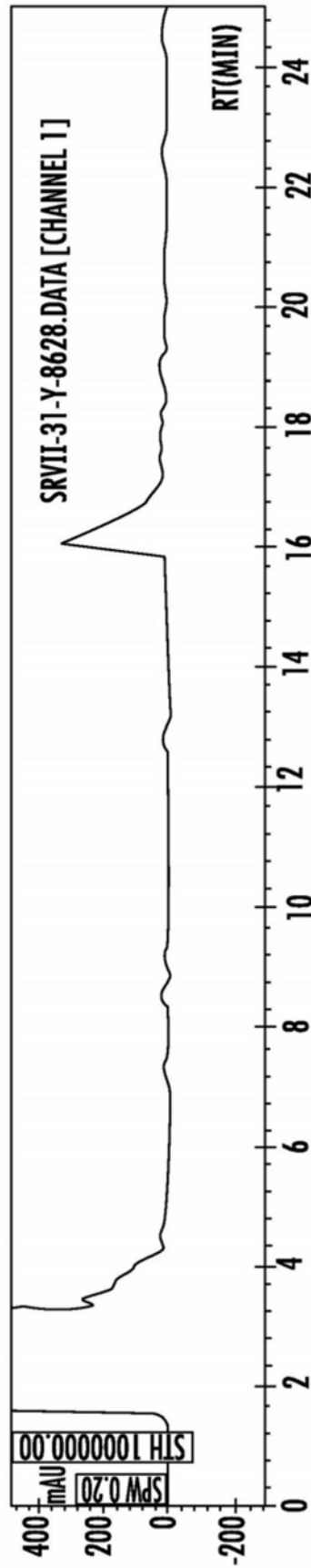


图16B



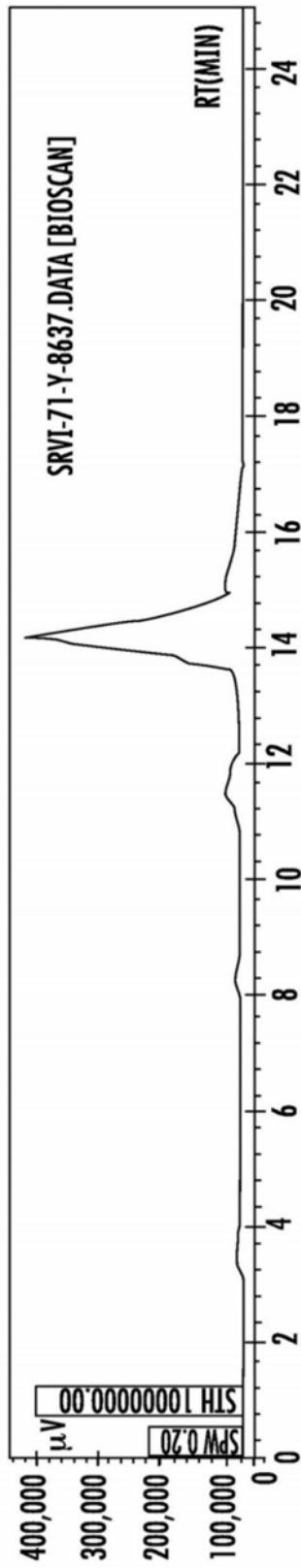


图17A

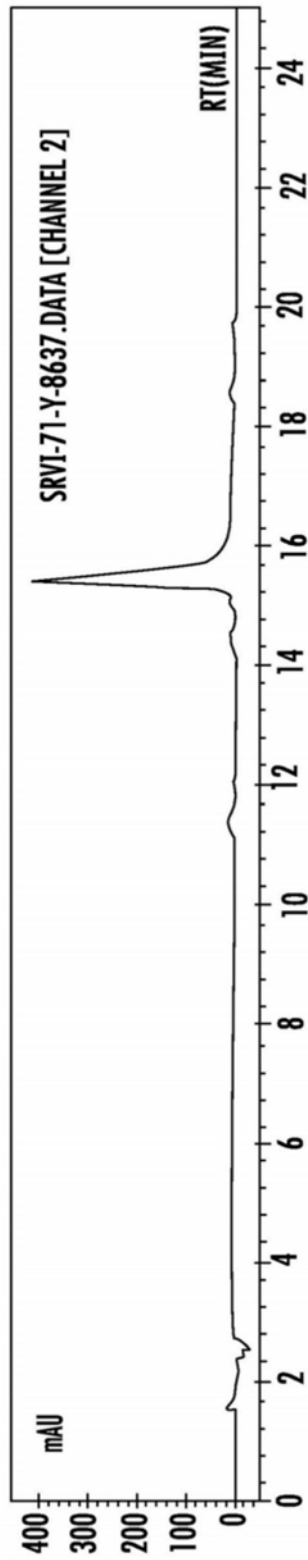


图17B

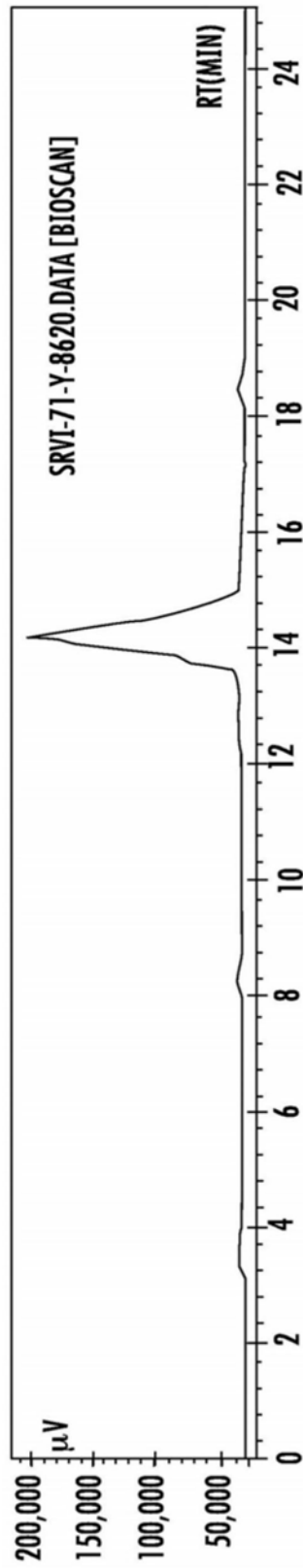
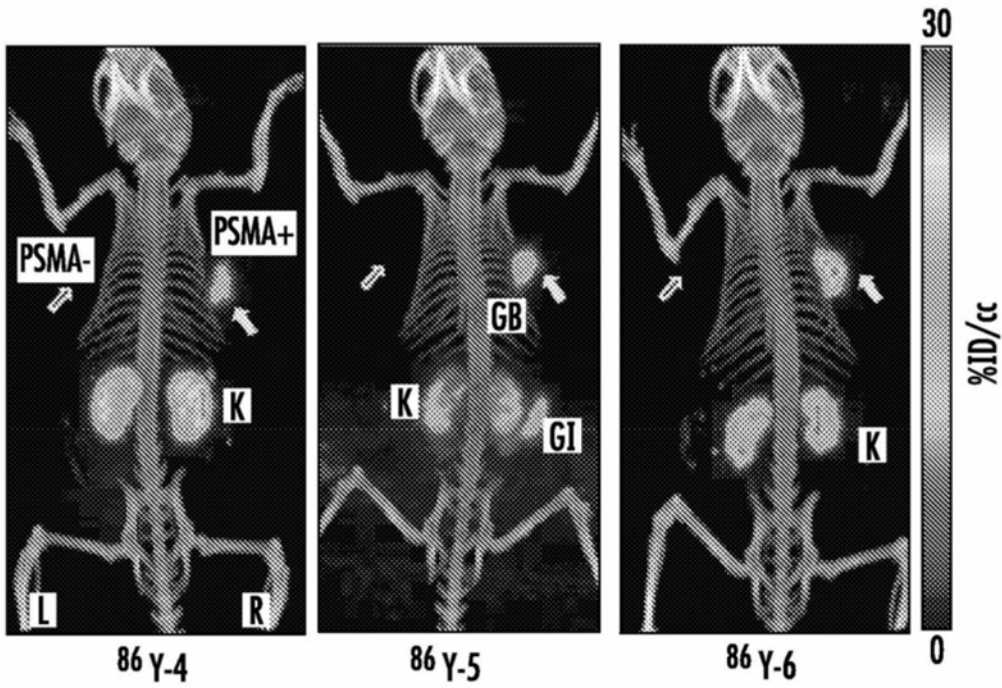


图17C



86 Y-4  
图 18A

86 Y-5  
图 18B

86 Y-6  
图 18C

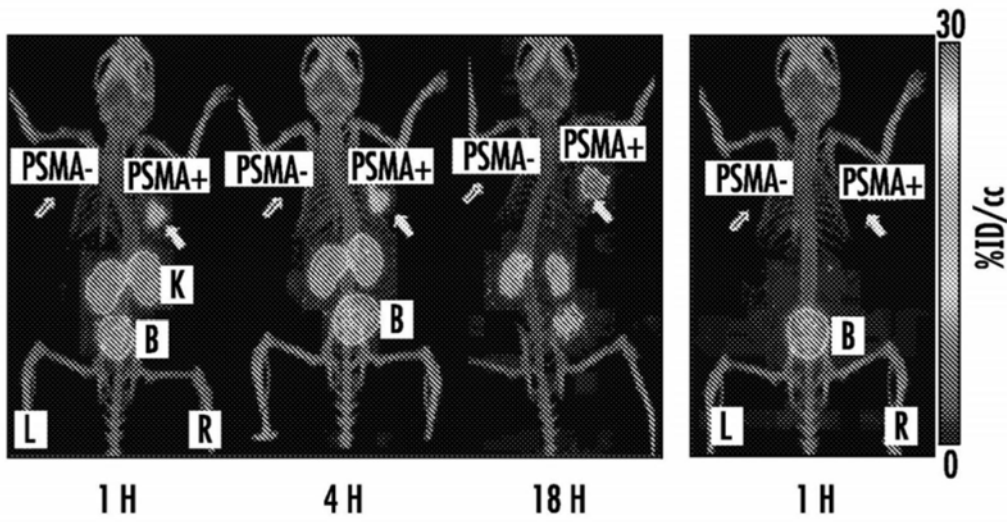


图 19A

图 19B

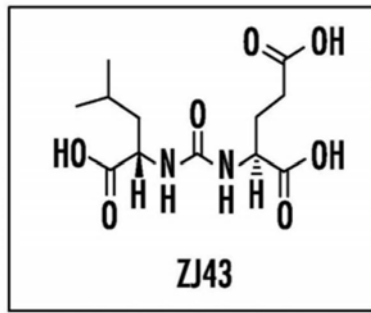


图19C

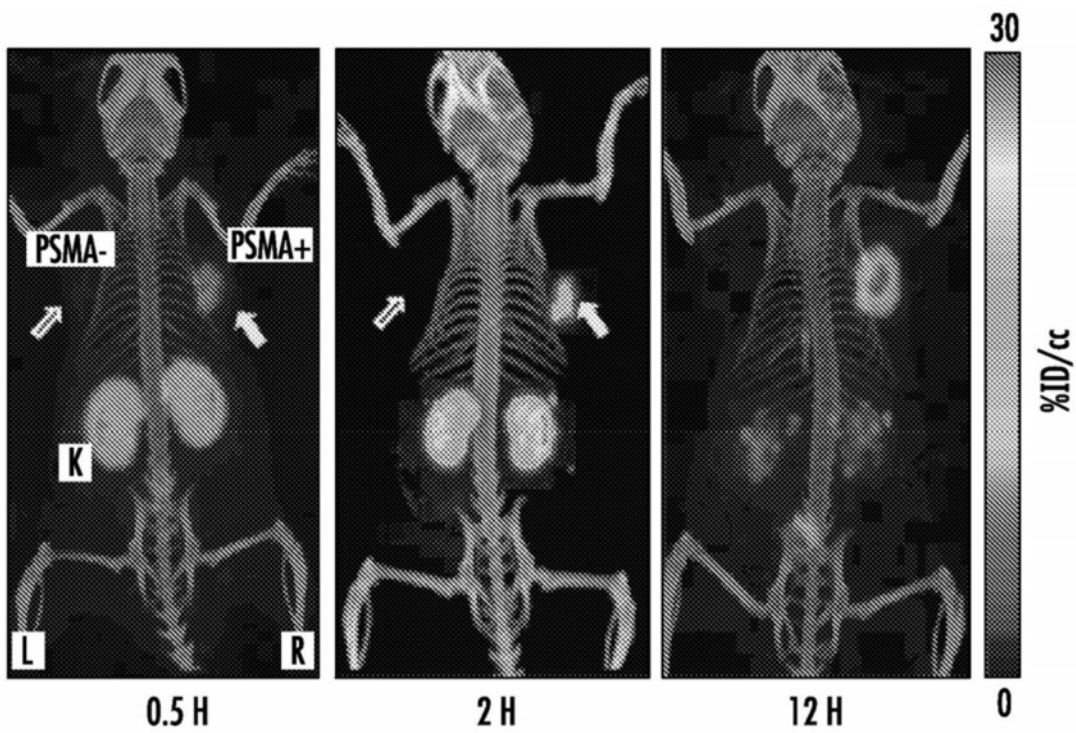


图 20A

图 20B

图 20C

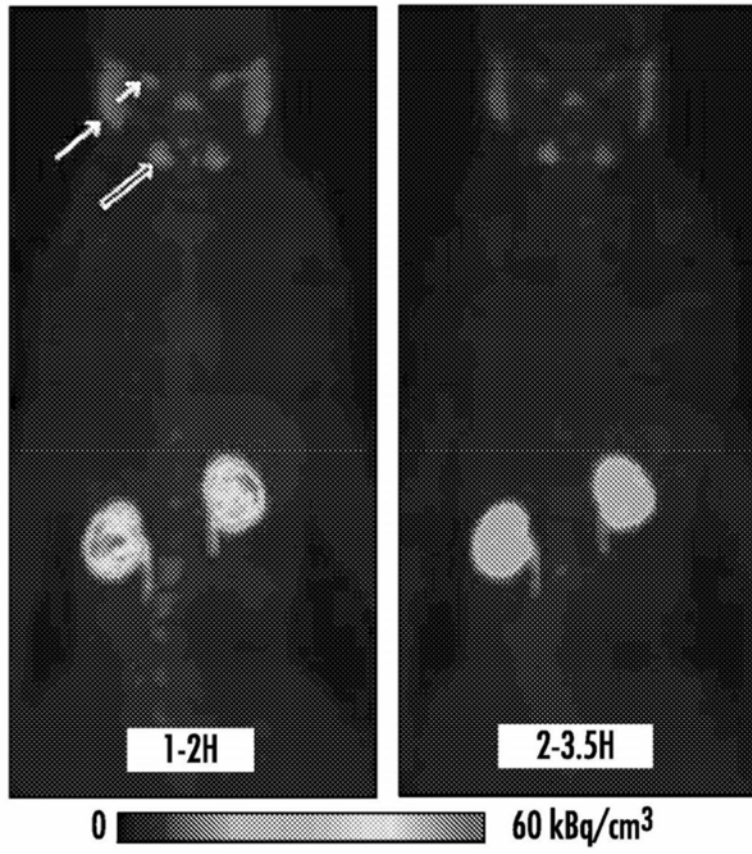


图 21A

图 21B

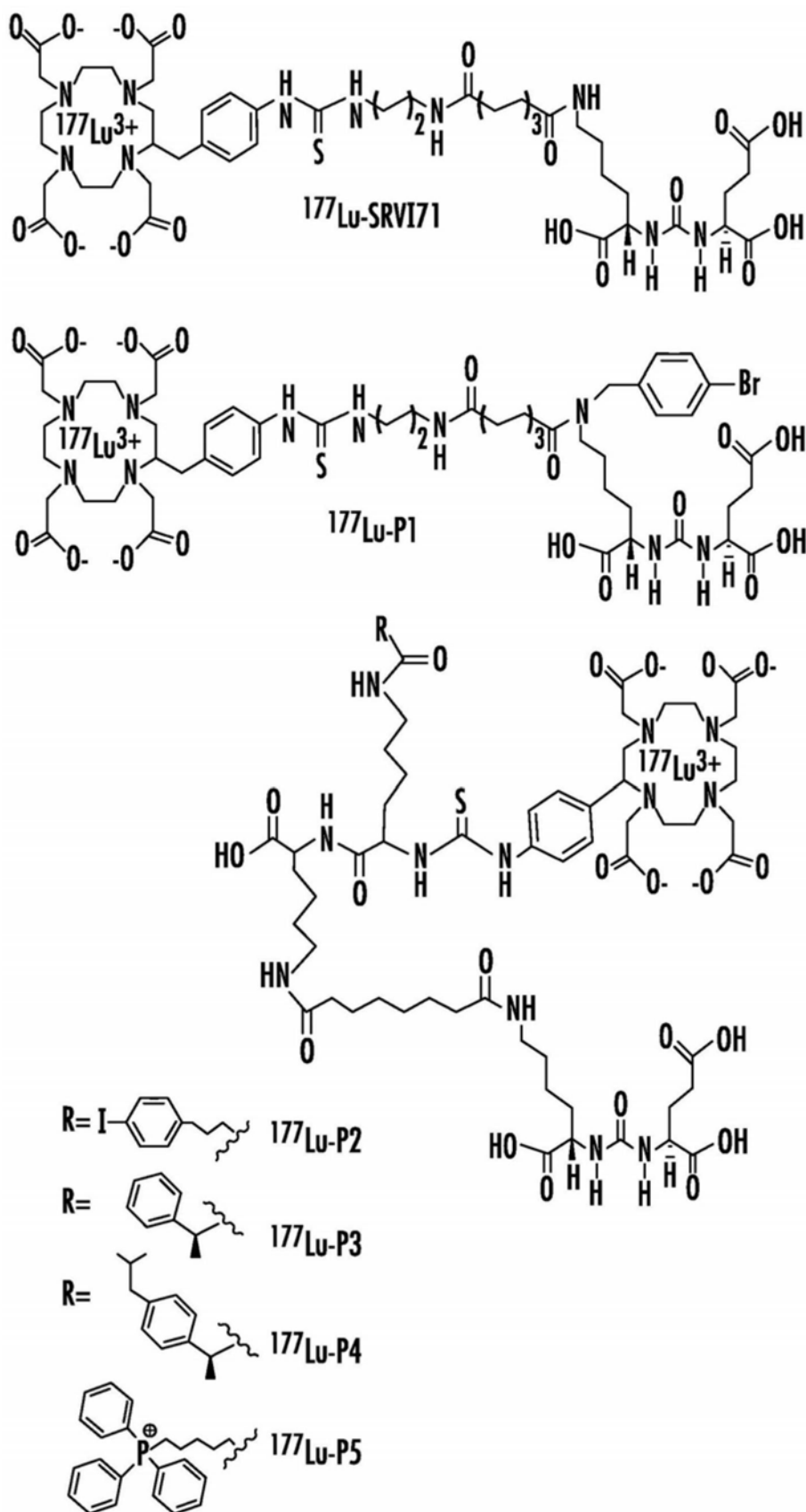


图22

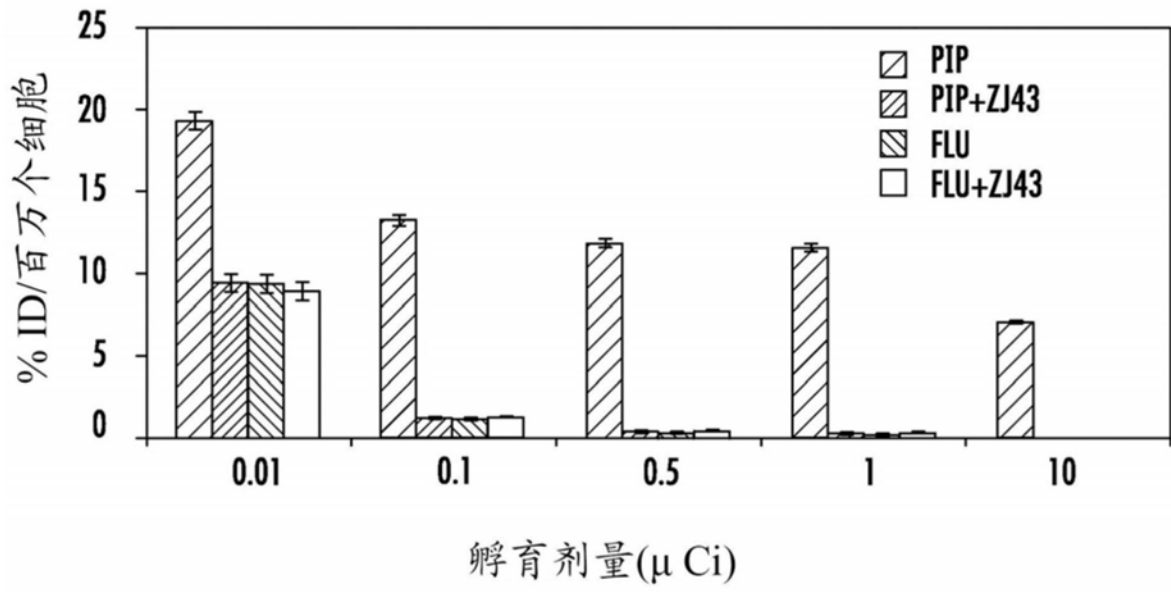


图23

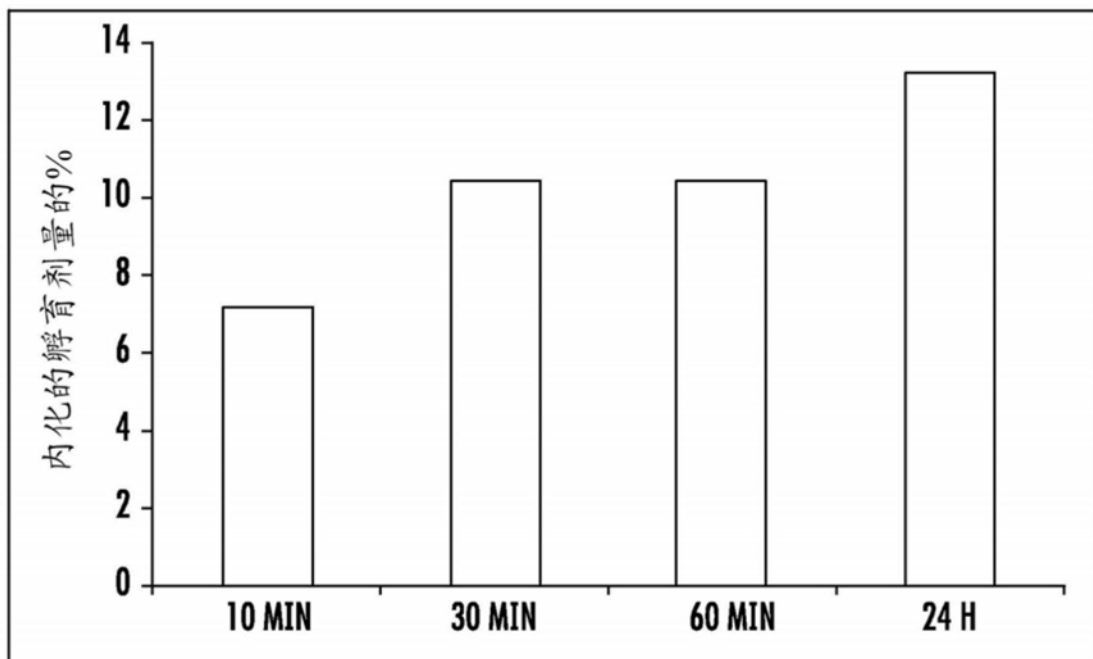


图24



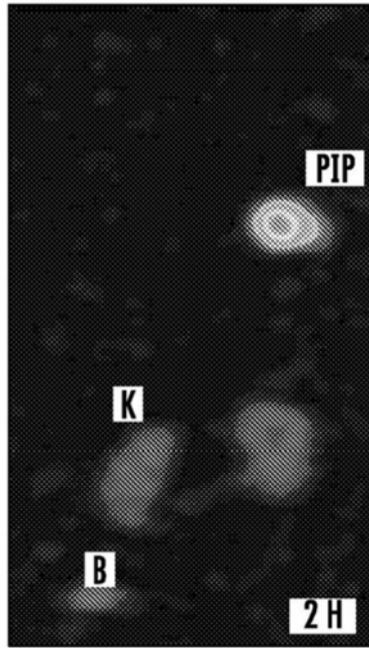


图25A

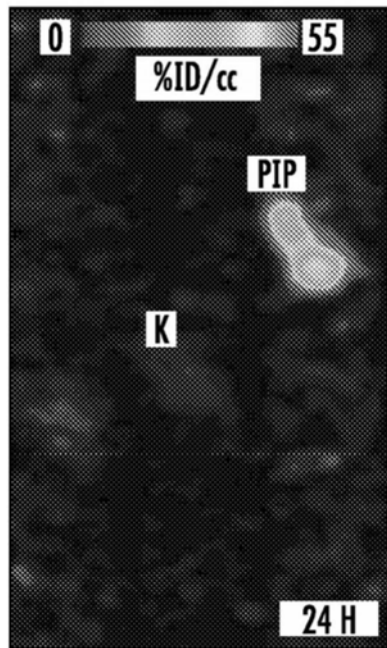


图25B

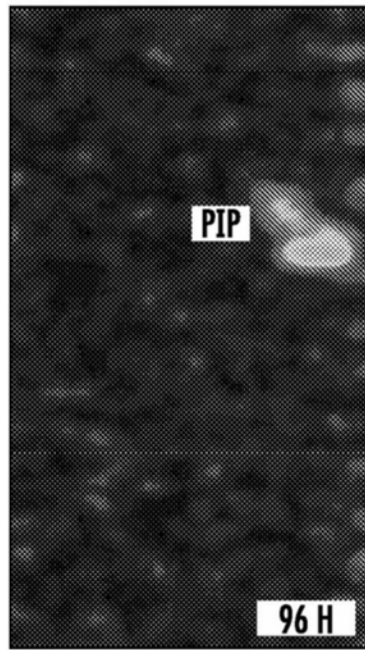


图25C

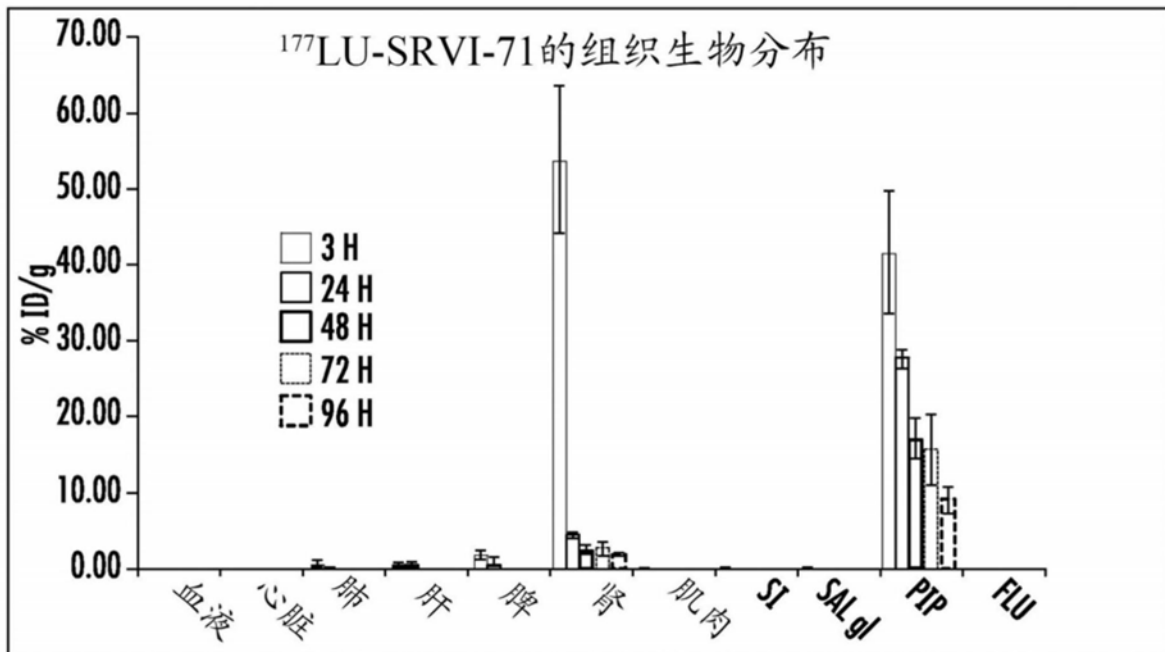


图26

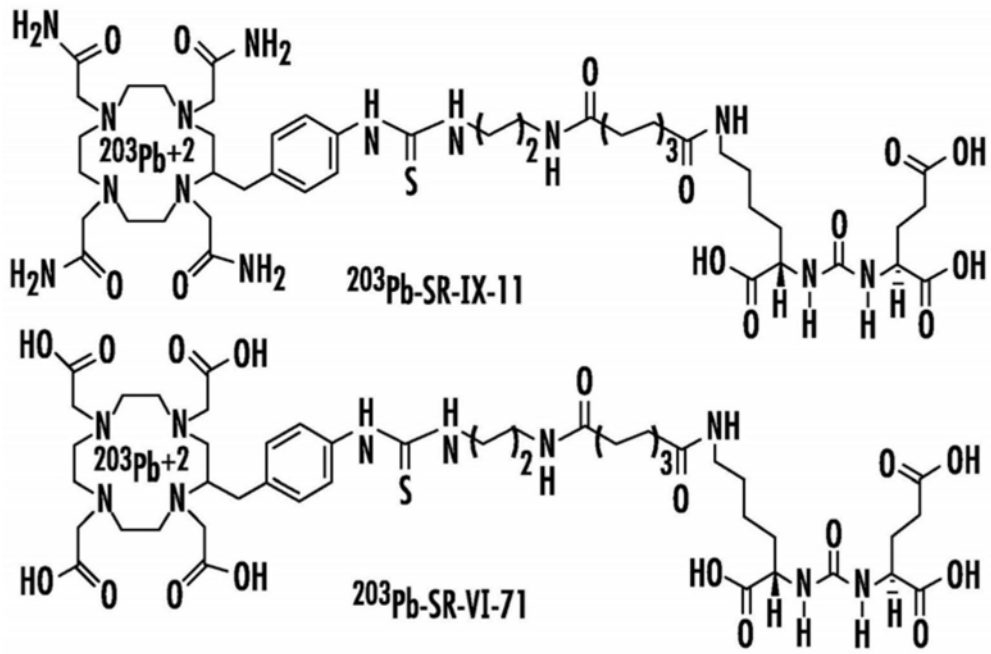
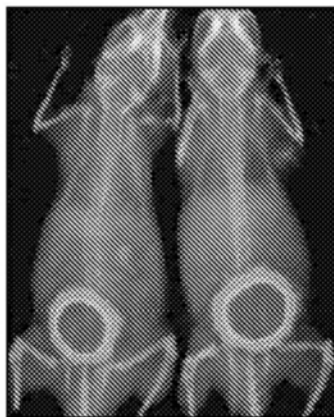
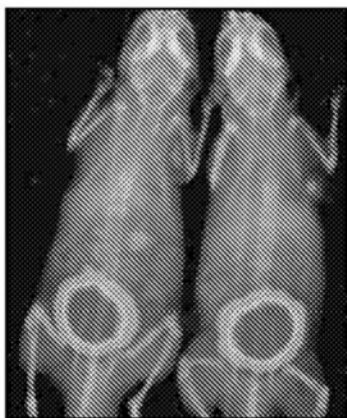


图27



60 MIN

图28A



120 MIN

图28B



240 MIN

图28C

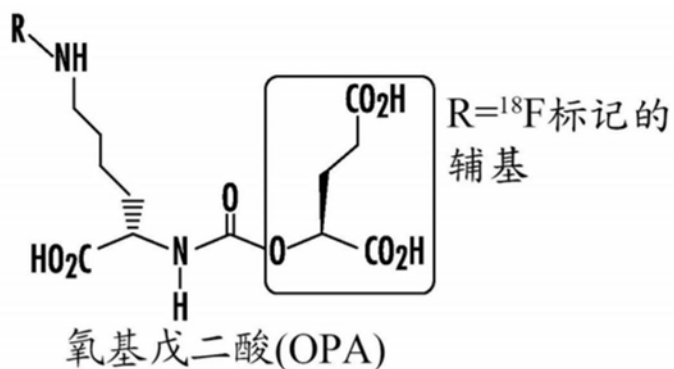
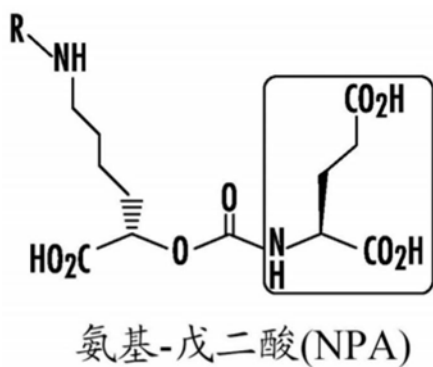


图29

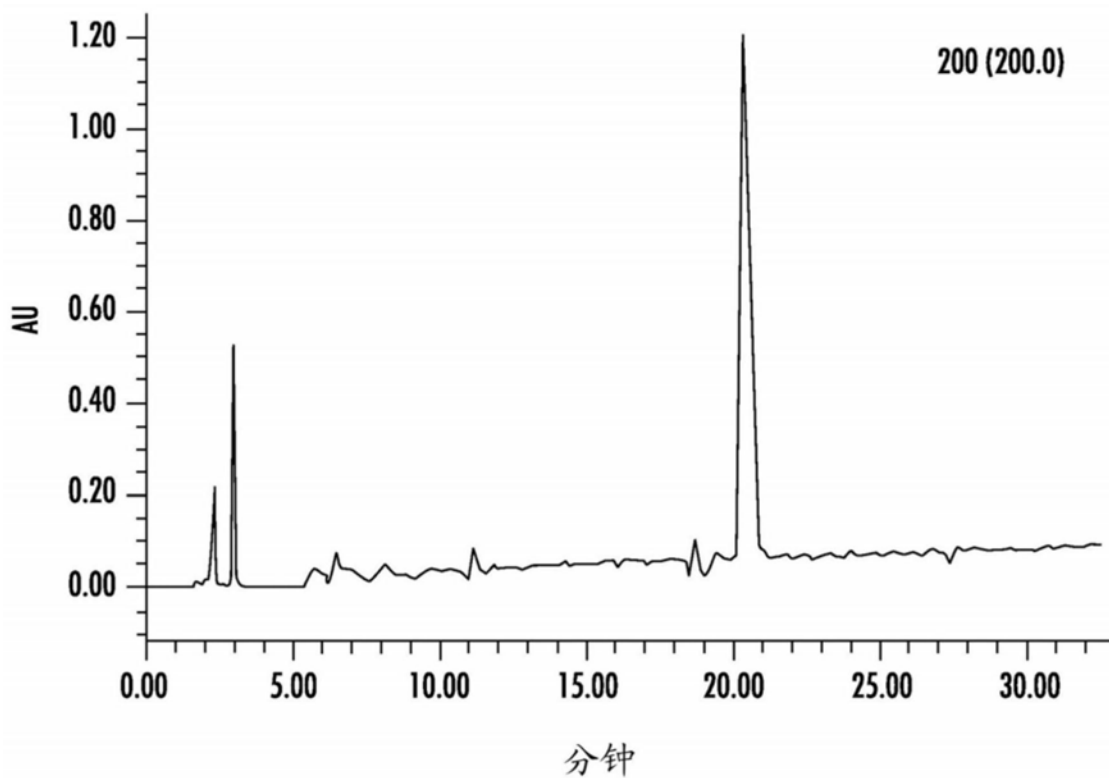


图30

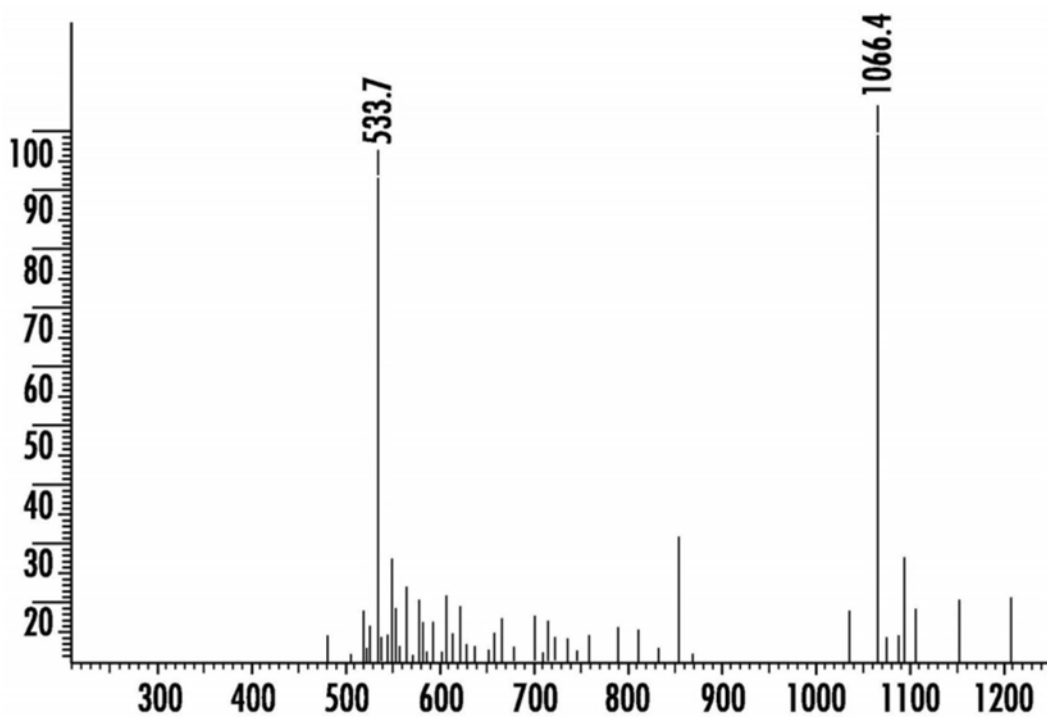


图31

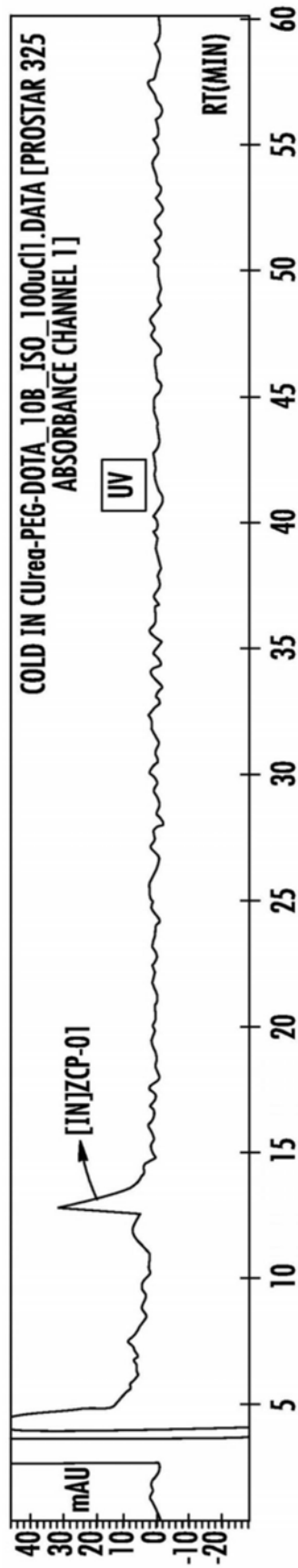


图32

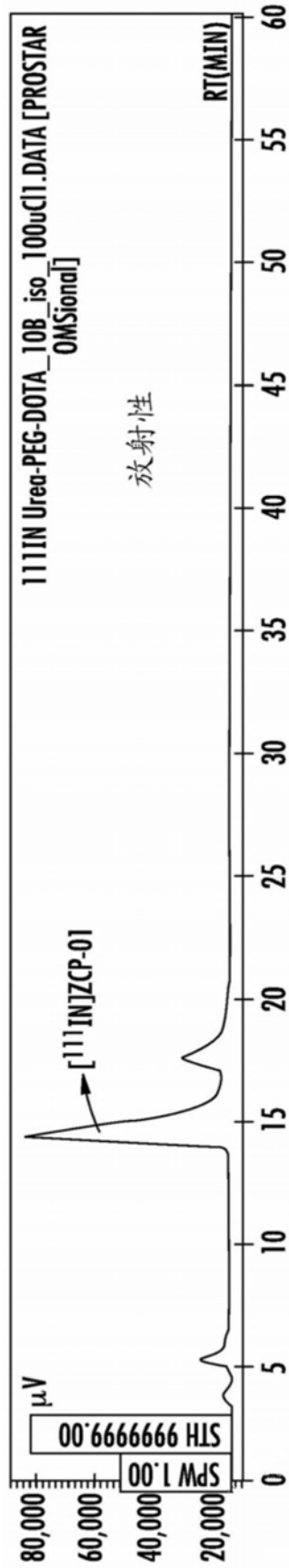


图33A

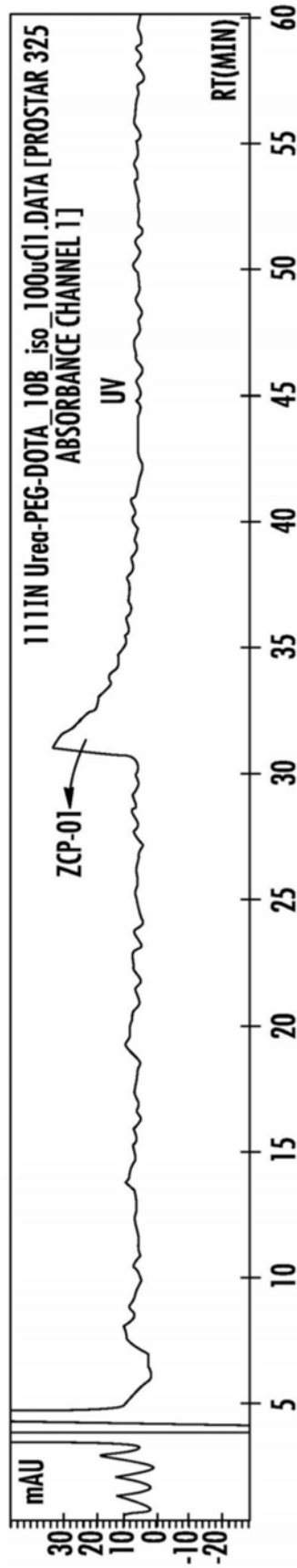


图33B



