

## 一种截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂及其制备方法和应用

### 技术领域

本发明涉及核医学与分子影像学领域，具体地涉及一种截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂及其制备标记和应用。

### 背景技术

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

目前，放射性核素标记的以喹啉酸衍生物为代表的成纤维细胞活化蛋白抑制剂(FAPI)已在肿瘤精准成像领域取得了重要进展。例如，FAPI-02和FAPI-04等PET/CT显像剂已实现30余种不同类型的肿瘤特异性显像。与FDG显像相比，FAPI显像在脑、肝脏及口咽粘膜具有更低本底，对于肿瘤病灶有更高的检出率。目前报道的FAPI在血液循环中被快速清除，同时在肿瘤部位被快速洗脱。这种代谢特性对于显像是有益的，因为可以提供较为干净的背景。但对于治疗而言却十分不利，因为快速代谢和洗脱导致肿瘤部位有效剂量较低、保留时间过短，需要使用高剂量或更频繁的给药方式以满足治疗需求，增加了不良反应的可能性。

以FAPI-02为例，其在一个小时内便从血液循环中被完全清除，经过24h后在肿瘤部位保留剂量下降约75%。虽然最近的研究工作对FAPI结构中非药效团部分进行了优化，但对FAPI的肿瘤摄取剂量和保留时间的改善十分有限，不能满足治疗用途的需要。本领域普通技术人员可知，如果小分子药物在血管中循环时间过短或被机体快速清除，将造成药物与靶标结合不充分。因此，在制备FAPI探针时，如能适当延长探针的循环半衰期，将有可能提高探针在靶部位的摄取剂量和保留时间。

因此，需要新的策略来延长FAPI探针的循环半衰期，使其具有适宜的代谢动力学、较高的肿瘤摄取剂量和较长的肿瘤保留时间，满足核素治疗和显像需求。

### 发明内容

基于上述背景，本发明的首要目的在于开发一种截短型伊文思蓝(tEB)与成纤维细胞活化蛋白抑制剂(FAPI)连接物，其特点为通过截短型伊文思蓝与血清白蛋白有效结合，实现白蛋白作为FAPI递送载体，从而延长其在外周血中的半衰期，提高在肿瘤中的摄取富集和保留时间。本发明开发的tEB-FAPI连接物能够克服了小分子FAPI代谢过快以及靶器官保留时间过短的缺陷，改善靶向FAP蛋白核素治疗和显像效果，具有在临床上推广应用的潜力。

本发明的另一个目的在于提供一类具有长循环半衰期的放射性标记的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂(tEB-FAPI)；

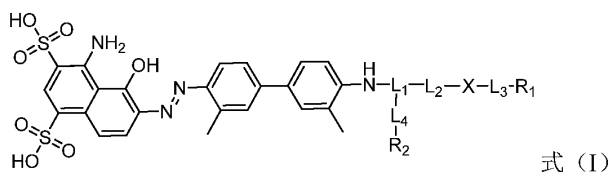
本发明的另一目的在于提供所述放射性标记的tEB-FAPI配合物的制备方法；

本发明的再一目的是提供所述的配合物在靶向FAP蛋白肿瘤核素显像和治疗中的应用。

实现本发明上述首要目的技术方案有以下配体合成和放射性标记两个方面。

第一方面，本发明提供一种截短型伊文思蓝(tEB)修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂(FAPI)，所述

的化合物结构如下式(I)所示, 记作“tEB-FAPI”;



其中:

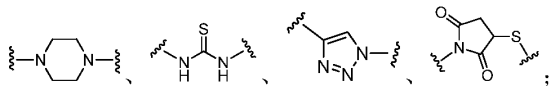
$L_1$  为赖氨酸或谷氨酸结构, 或含有赖氨酸或谷氨酸结构的衍生化合物结构;

$L_2$  是  $-(CH_2)_n-$ , 其中  $n$  是 0 至 30 的整数, 其中每个  $CH_2$  可以单独地用或不用  $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH(CO)-$  或  $-(CO)-NH-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $CH_2$  基团被替换;

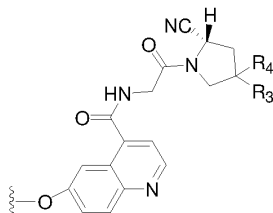
$L_3$  是  $-(CH_2)_m-$ , 其中  $m$  是 0 至 30 的整数, 其中每个  $CH_2$  可以单独地用或不用  $-O-$  或  $-(CO)-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $CH_2$  基团被替换;

$L_4$  是  $-(CH_2)_p-$ , 其中  $p$  是 0 至 30 的整数, 其中每个  $CH_2$  可以单独地用或不用  $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH(CO)-$  或  $-(CO)-NH-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $CH_2$  基团被替换;

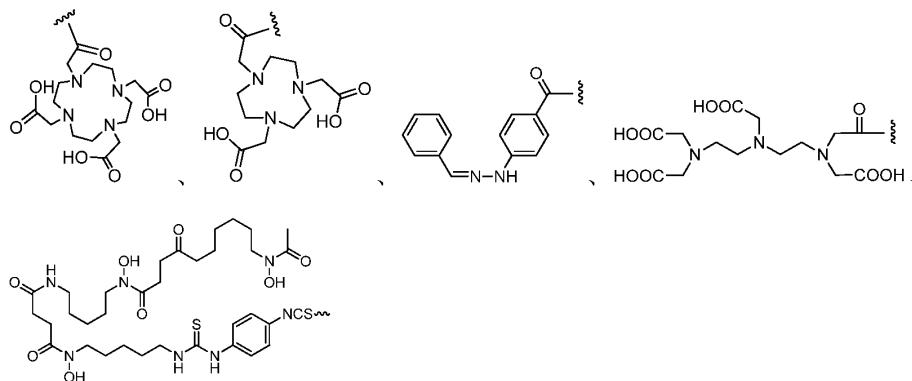
$X$  选自 N、C、O、S 或者以下结构中的任意一种:



$R_1$  为以下来自成纤维细胞活化蛋白抑制剂的结构:



$R_2$  是核素螯合基团, 选自以下任意一种结构:



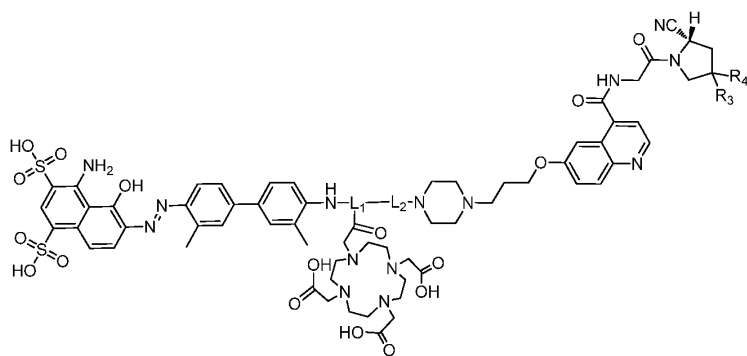
$R_3$ - $R_4$  相同或不同, 均独立的选自 H 或 F。

本发明优选的方案中, 所述式 (I) 中的  $L_2$  是  $-(CH_2)_n-$ ;  $n$  是 0-16 的整数, 更优选是 0-12 的整数, 进一步优选 0、3 或 10; 其中每个  $-CH_2-$  可以单独地用或不用  $-O-$ 、 $-NH-$  或  $-(CO)-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $-CH_2-$  基团被替换。

本发明优选的方案中, 所述式 (I) 中的  $L_3$  是  $-(CH_2)_m-$ ;  $m$  是 0-20 的整数, 更优选是 1-6 的整数, 进一步优选 2 或 3; 其中每个  $-CH_2-$  可以单独地用或不用  $-O-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $-CH_2-$  基团被替换。

本发明优选的方案中,所述式(I)中的 $L_4$ 是 $-(CH_2)_p-$ ;  $p$ 是0-20的整数,更优选是0-12的整数,进一步优选3、4、9或12,最优选3;其中每个 $-CH_2-$ 可以单独地用或不用 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换,替换的条件是没有两个相邻的 $-CH_2-$ 基团被替换。

本发明优选的一种实施方式中, 所述式 (I) 中的 X 为 , L<sub>3</sub> 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, L<sub>4</sub> 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-, R<sub>2</sub> 为 DOTA, 即本发明优选的一种化合物 tEB-FAPI, 结构如下式 II 所示:



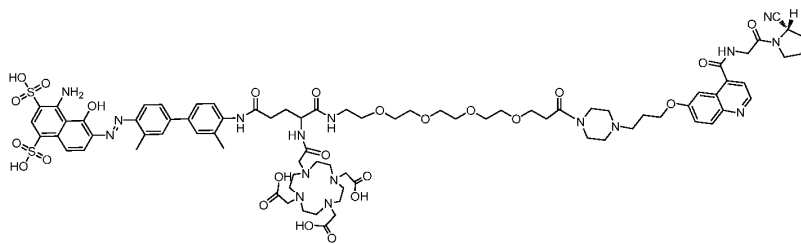
式 (II)

其中 R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 同为 H 或者同为 F 原子, L<sub>1</sub> 为谷氨酸或赖氨酸结构, L<sub>2</sub> 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>、-NH-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-(CO)-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CO)-、-(CO)-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-或-(CO)-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-。

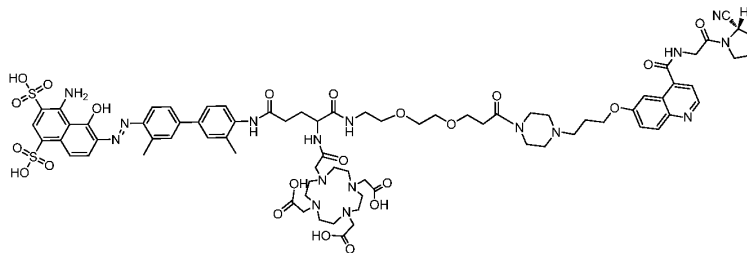
本发明更优选的一种实施方式中,所述式(I)中的X为, L<sub>1</sub>为谷氨酸结构, L<sub>2</sub>为-(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-、-NH-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-或-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>-(CO)-, L<sub>3</sub>为-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, L<sub>4</sub>为-(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-, R<sub>2</sub>为DOTA, R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>同为H或者同为F原子。

本发明更优选的另一种实施方式中,所述式(I)中的 X 为 , L<sub>1</sub> 为赖氨酸结构, L<sub>2</sub> 为 -(CO)-CH<sub>2</sub>-(CO)-、-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CO)-、-(CO)-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>(CO)-或 -(CO)-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>(CO)-, L<sub>3</sub> 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, L<sub>4</sub> 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-, R<sub>2</sub> 为 DOTA, R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 同为 H 或者同为 F 原子。

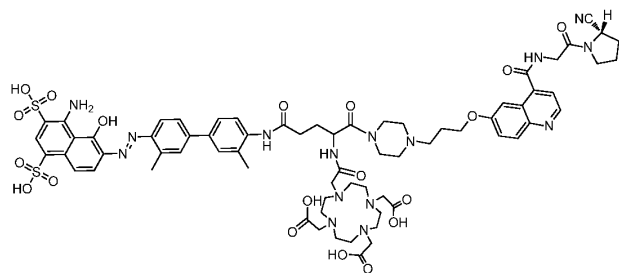
本发明进一步优选的方案中,所述的化合物 tEB-FAPI 结构是下式 (II-1) 至式 (II-16) 所示的任意一种:



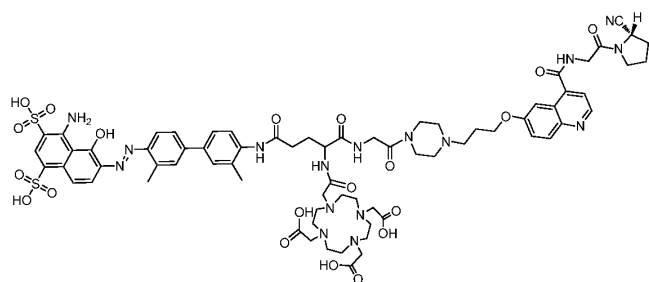
式 (II-1)。



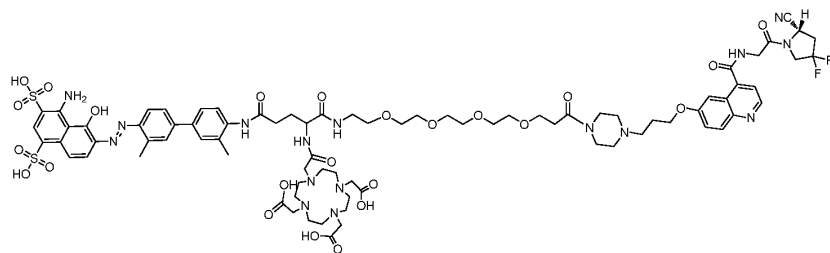
式 (II-2)



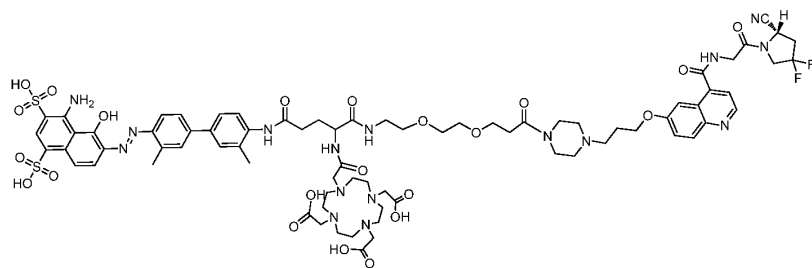
式 (II-3)



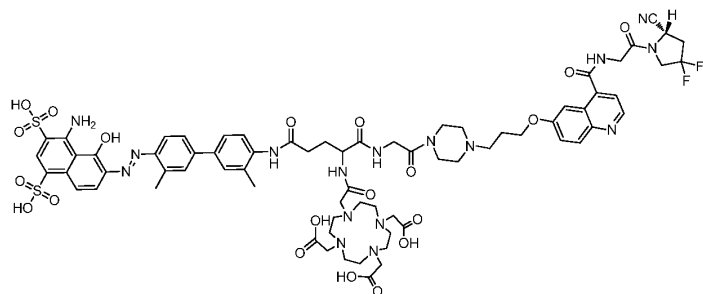
式 (II-4)



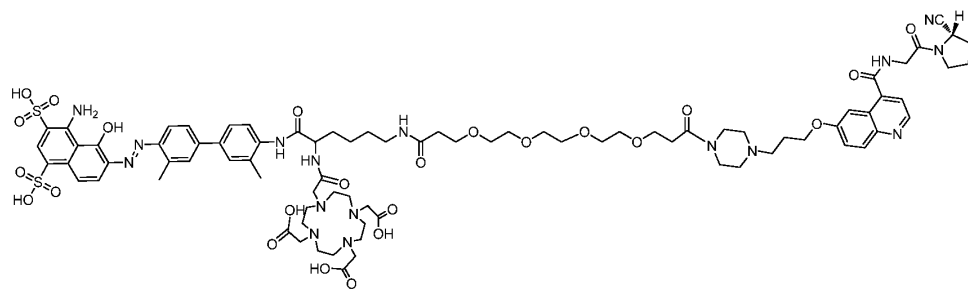
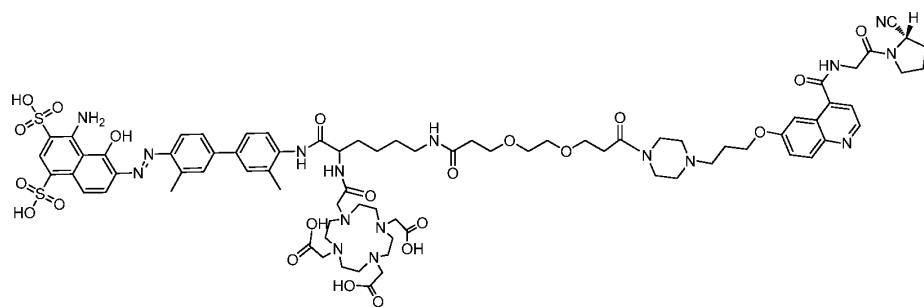
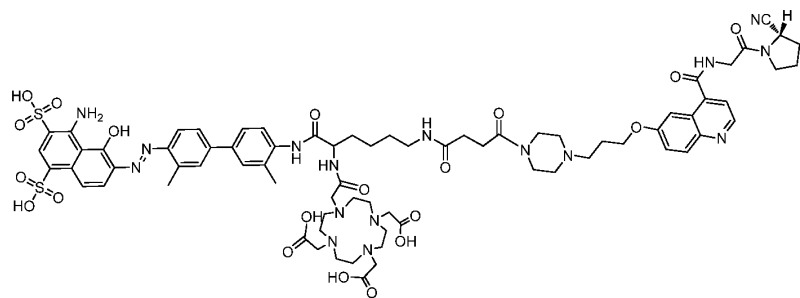
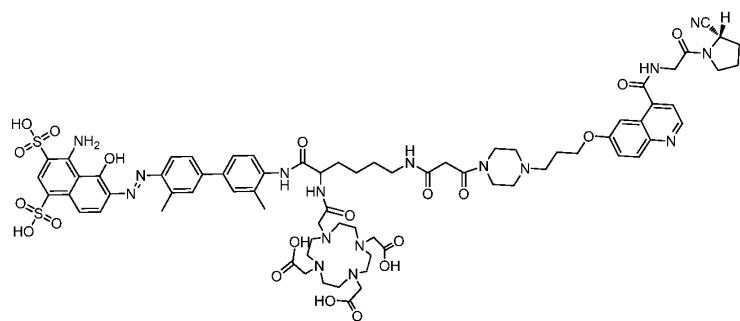
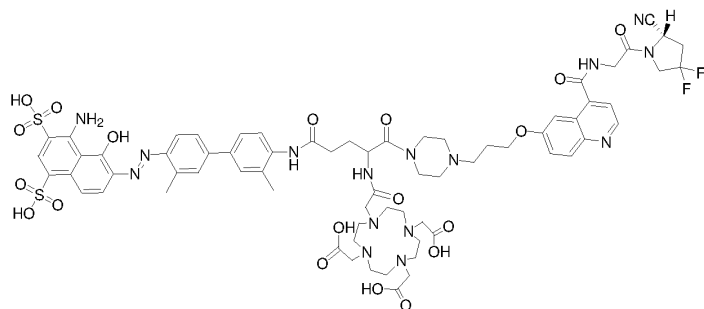
式 (II-5)

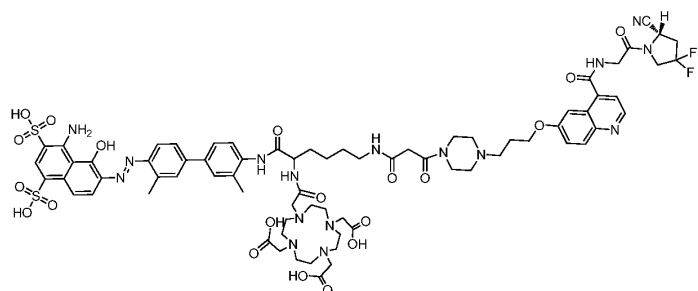


式 (II-6)

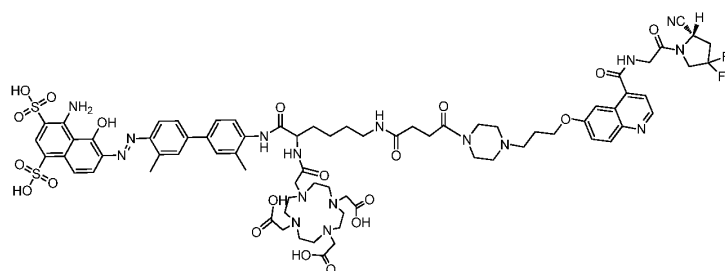


式 (II-7)

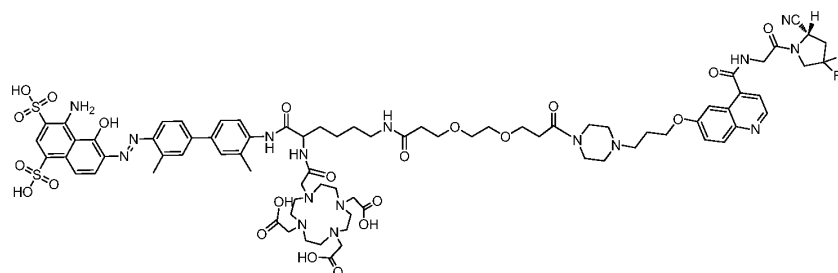




式 (II-13)

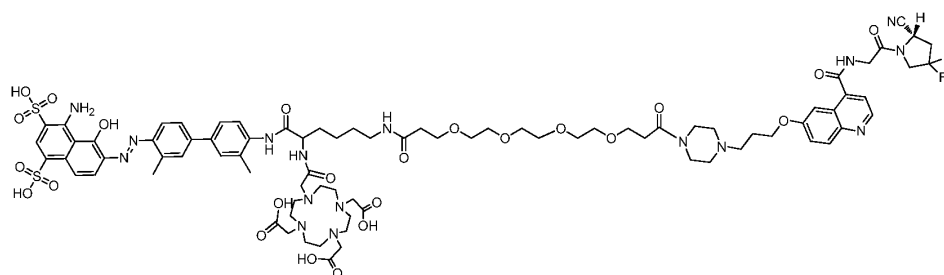


式 (II-14)



式 (II-15)

或者



式 (II-16)。

在此基础上, 本发明进一步提供制备式 (II-1) 所示化合物 tEB-FAPI 的方法, 包括以下步骤:

①将 6-羟基-4-喹啉羧酸与甘氨酸叔丁酯发生酰胺缩合反应; 然后依次与 1-溴-3 氯丙烷和 1-叔丁氧羰基哌嗪反应; 接着在 TFA 作用下脱除 Boc 和叔丁基保护基; 再在氨基上引入 Boc 保护; 接着与(S)-吡咯烷-2-甲腈盐酸盐发生酰胺缩合反应; 利用对甲基苯磺酸脱除 Boc 保护; 接着与 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七碳二酸-1-叔丁酯发生缩合反应; 再次利用对甲基苯磺酸作用下脱除 Boc 保护, 得到中间体化合物 A;

②将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯单边引入 Boc 保护, 接着与 1-氨基-8-萘酚-2,4-二磺酸钠盐反应制备截短型伊文思蓝衍生物; 脱去 Boc 保护, 接着与 N-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-1-叔丁酯发生酰胺缩合反应; 接着在 TFA 作用下脱除 Boc 和叔丁基保护基; 然后与二碳酸二叔丁酯反应, 在氨基上引入 Boc 保护, 得到中间体化合物 B;

③中间体化合物 A 与中间体化合物 B 发生酰胺缩合反应; 接着利用对甲基苯磺酸脱除 Boc 保护; 最

后与 DOTA-NHS 反应，得到式 (II-1) 所示的化合物。

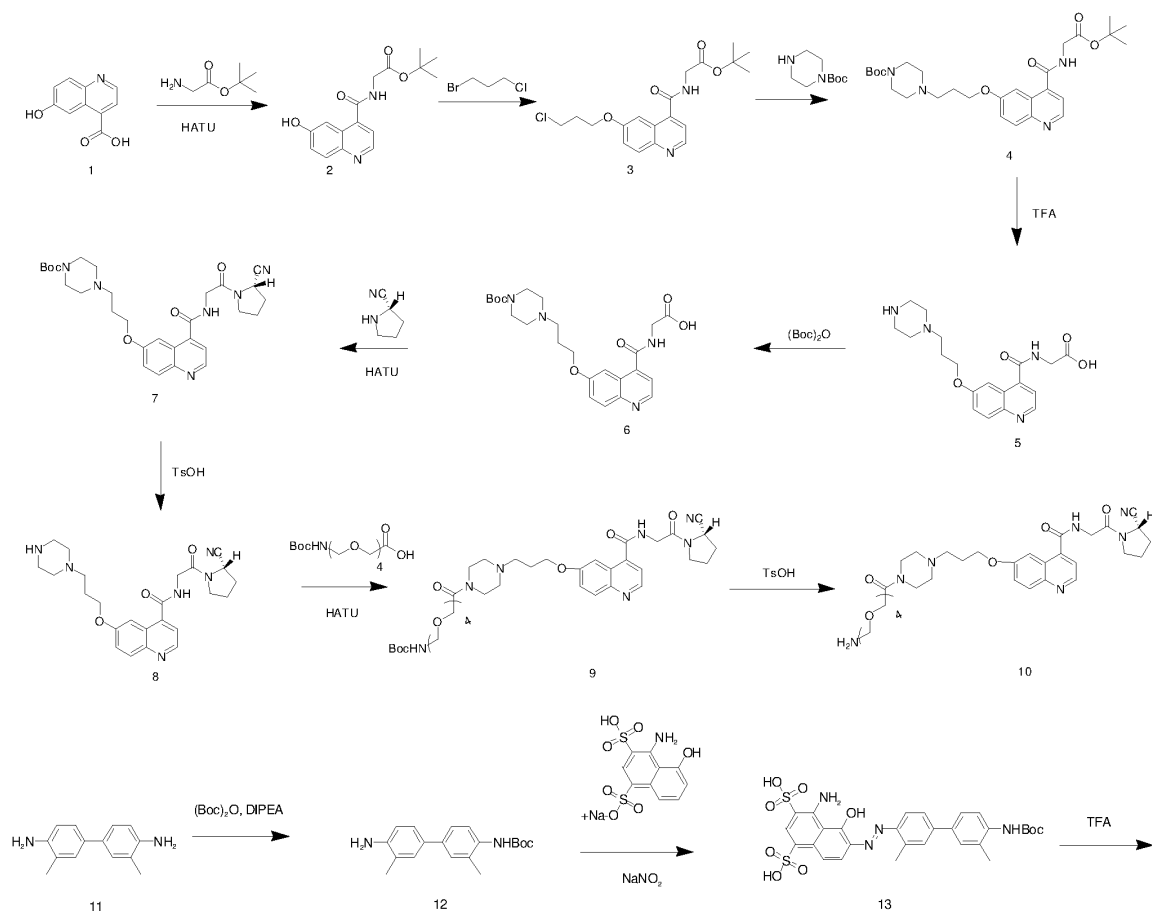
本发明优选的制备式 (II-1) 所示化合物 tEB-FAPI 的方法，具体包括以下步骤：

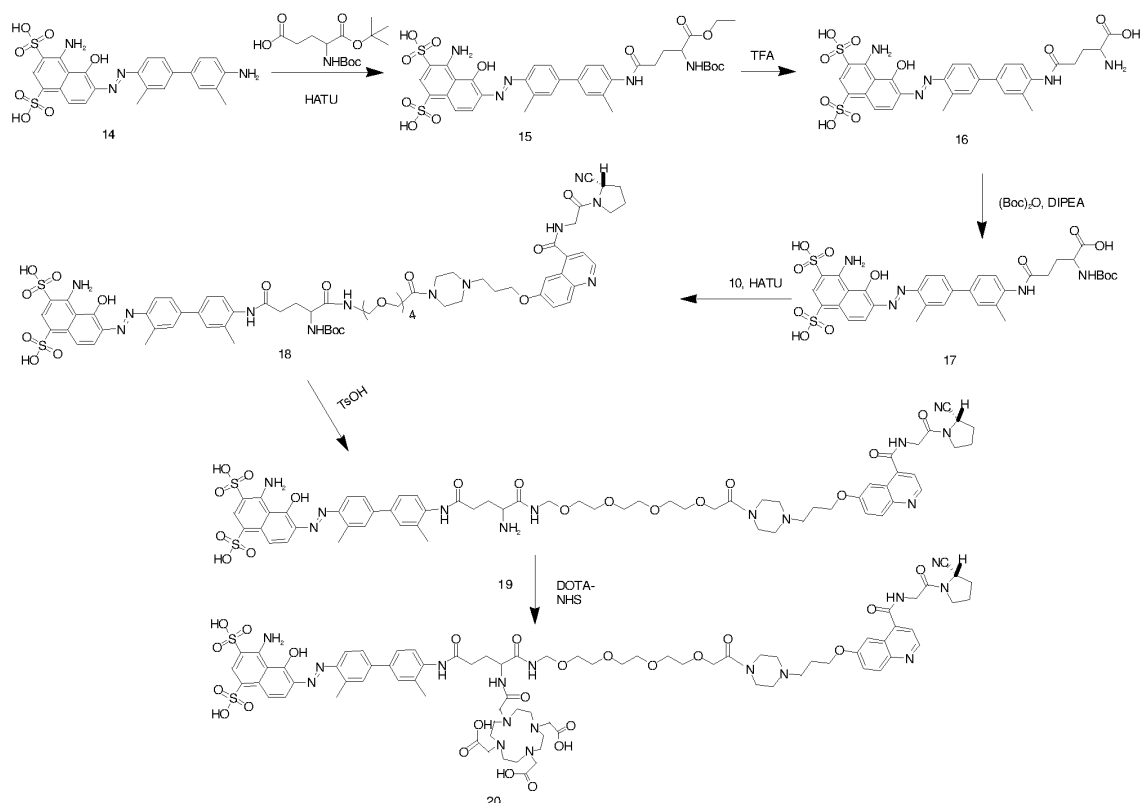
将 6-羟基-4-喹啉羧酸（化合物 1）和甘氨酸叔丁酯溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中，加入 HATU，得到化合物 2；将化合物 2 溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中，加入 1-溴-3 氯丙烷和碳酸钾，加热反应体系至 60℃ 维持一定时间，得到化合物 3；将化合物 3 溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中，加入 1-叔丁氧羰基哌嗪和碘化钾，反应得到化合物 4；将化合物 4 溶解在三氟乙酸溶液中脱除保护基团，得到化合物 5；化合物 5 溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中，加入二碳酸二叔丁酯和缚酸剂，得到化合物 6；化合物 6 与 (S)-吡咯烷-2-甲腈盐酸盐在 HATU 和 DIPEA 作用下，发生缩合反应得到化合物 7；化合物 7 在对甲基苯磺酸作用下脱除保护，得到化合物 8；化合物 8 与 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七碳二酸-1-叔丁酯在 HATU 和 DIPEA 作用下，发生缩合反应得到化合物 9；将化合物 9 在对甲基苯磺酸作用下脱除保护，得到化合物 10（即所述的中间体化合物 A）；

将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲苯（化合物 11）与二碳酸二叔丁酯反应，得到化合物 12；化合物 12 与 1-氨基-8-萘酚-2,4-二磺酸单钠盐和亚硝酸钠反应，制得截短型伊文思蓝衍生物（化合物 13）；化合物 13 脱除 Boc 保护，得到化合物 14；化合物 14 与 N-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-1-叔丁酯在 HATU 和 DIPEA 作用下，发生缩合反应得到化合物 15；将化合物 15 溶解在三氟乙酸溶液中脱除保护基团，得到化合物 16；化合物 16 溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中，加入二碳酸二叔丁酯和缚酸剂，得到化合物 17（即所述的中间体化合物 B）；

化合物 17 和化合物 10 在 HATU 和 DIPEA 作用下，发生缩合反应得到化合物 18；化合物 18 在对甲基苯磺酸作用下脱除保护，得到化合物 19；化合物 19 与 DOTA-NHS 反应，得到最终的式 (II-1) 所示的化合物 20；

上述具体步骤的合成路线如下：

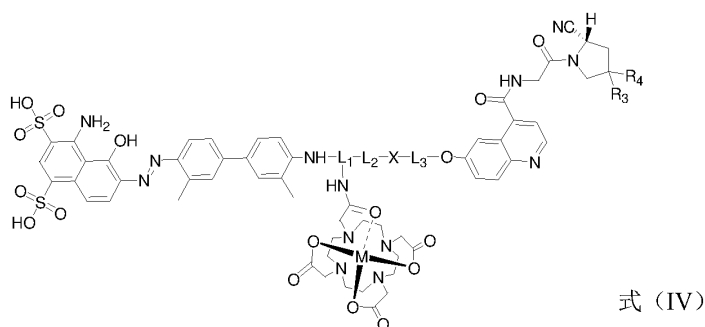




本发明方案中的其它 tEB-FAPI 化合物的制备方法与化合物 20 的制备方法类似,基本上可以基于现有常规手段参考化合物 20 的合成路线进行制备。

另一方面,本发明进一步提供一种放射性标记的 tEB-FAPI 配合物,它是以本发明所述的式(I)化合物为配体,标记放射性核素得到的配合物。所述的放射性标记配合物可以作为新型的肿瘤放射性诊疗探针,即可以作为放射性核素诊断探针或放射性核素治疗探针。所述的核素可以选择 <sup>177</sup>Lu、<sup>90</sup>Y、<sup>18</sup>F、<sup>64</sup>Cu、<sup>68</sup>Ga、<sup>62</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>86</sup>Y、<sup>89</sup>Zr、<sup>99m</sup>Tc、<sup>89</sup>Sr、<sup>153</sup>Sm、<sup>149</sup>Tb、<sup>161</sup>Tb、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>212</sup>Pb、<sup>213</sup>Bi、<sup>223</sup>Ra、<sup>225</sup>Ac、<sup>226</sup>Th、<sup>227</sup>Th、<sup>131</sup>I、<sup>211</sup>At 或 <sup>111</sup>In 中的任意一种;优选 <sup>68</sup>Ga、<sup>177</sup>Lu 或 <sup>90</sup>Y。

本发明优选的所述配合物,其结构如下式(IV)所示:



式(IV)

其中,

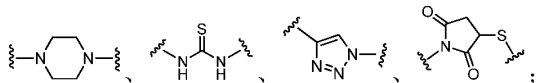
L<sub>1</sub>为赖氨酸或谷氨酸结构,或含有赖氨酸或谷氨酸结构的衍生化合物结构;

L<sub>2</sub>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,其中n是0至30的整数,其中每个CH<sub>2</sub>可以单独地用或不用-O-、-NH-、-(CO)-、-NH(CO)-或-(CO)-NH-替换,替换的条件是没有两个相邻的CH<sub>2</sub>基团被替换;

L<sub>3</sub>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-,其中m是0至30的整数,其中每个CH<sub>2</sub>可以单独地用或不用-O-或-(CO)-替换,替换

的条件是没有两个相邻的  $\text{CH}_2$  基团被替换；

X 选自 N、C、O、S 或者以下结构：



$\text{R}_3$  和  $\text{R}_4$  相同或不同，均独立的选自 H 或 F；

M 为放射性核素，选自  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  或  $^{90}\text{Y}$  中的任意一种。

本发明优选的配合物方案中，所述式 (IV) 中的  $\text{L}_2$  是  $-(\text{CH}_2)_n-$ ；n 是 0-16 的整数，更优选是 0-12 的整数，进一步优选 0、3 或 10；其中每个  $-\text{CH}_2-$  可以单独地用或不用 -O-、-NH- 或  $-(\text{CO})-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。更优选的  $\text{L}_2$  是  $-(\text{CH}_2)_0-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-(\text{CH}_2)_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2(\text{CO})-$ 。

本发明优选的配合物方案中，所述式 (IV) 中的  $\text{L}_3$  是  $-(\text{CH}_2)_m-$ ；m 是 0-20 的整数，更优选是 1-6 的整数，进一步优选 2 或 3；其中每个  $-\text{CH}_2-$  可以单独地用或不用 -O- 替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。更优选的  $\text{L}_3$  是  $-(\text{CH}_2)_3-$ 。

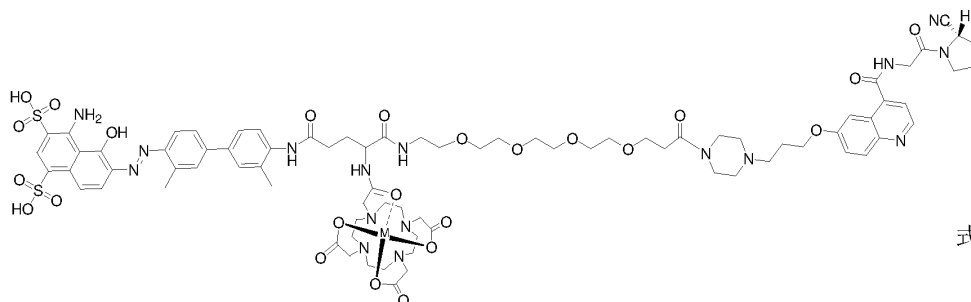
本发明所述的放射性标记配合物可以通过含放射性核素的化合物与本发明所述的式 (I) 化合物按照现有的多种标记方法制备得到；本发明优选的标记方法为下述的湿法或冻干法：

湿法标记方案，包括：将适量本发明所述的式 (I) 化合物溶于缓冲溶液或去离子水中；在所得溶液中加入放射性核素溶液，密闭反应 5-40min，即生成放射性核素标记的配合物；

或者，冻干法标记方案，包括：将适量本发明所述的式 (I) 化合物溶于缓冲溶液或去离子水中；将所得溶液经无菌过滤后，分装于容器中，经冷冻干燥后加塞密封，得到冻干药盒；向所述冻干药盒中加入适量乙酸溶液或缓冲液溶解，再加入相应的放射性核素溶液，密闭反应 5-40min，即生成放射性核素标记的配合物。其中，所述的分装用容器优选为冻存管或管制抗生素瓶。还可以根据药盒冻干粉成型情况选择在药盒中增加赋形剂，比如甘露醇、抗坏血酸等，并通过调节本发明所述的式 (I) 化合物及赋形剂的用量，使药盒成型达到最佳。

所述的湿法标记方案和冻干标记方案得到的产物均可经常规处理（如经色谱分离纯化、旋蒸除去溶剂、以 PBS 或水或生理盐水溶解剩余物、无菌过滤等）进一步制成注射液。

本发明一种优选的具体实施方式中，以式 (II-1) 所示的化合物 20 为配体，放射性标记化合物 20 的优选的一种制备方法是湿法标记法，包括以下步骤：将化合物 20 溶于缓冲溶液或去离子水中；在其中加入新鲜的放射性溶液，密闭 37-90°C 反应 5-40min，冷却；加水稀释反应液后经 Sep-Pak C18 色谱柱分离纯化，以缓冲液或水冲洗色谱柱以除去未反应的放射性离子，以盐酸乙醇溶液或乙醇溶液淋洗，再经生理盐水或 PBS 稀释后无菌过滤，即得到结构如式 (IV-1) 所述的放射性标记的配合物的注射液；其中放射性核素 M 为  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  或  $^{90}\text{Y}$  等。



式 (IV-1)

本发明放射性标记化合物 20 的另一种优选的制备方法是冻干法标记法, 包括: 将化合物 20 和其他必要试剂溶于缓冲液中, 所得溶液经无菌过滤后分装于冻存管中, 经冷冻干燥后密封得到冻干药盒; 向冻干药盒中加入适量缓冲溶液溶解, 再加入新鲜制的放射性溶液, 密闭 37-120°C 反应 5-40min, 冷却; 加水稀释反应液后经 Sep-Pak C18 色谱柱分离纯化, 以缓冲液或水冲洗色谱柱以除去未反应的放射性离子, 以盐酸乙醇溶液或乙醇溶液淋洗, 再经生理盐水或 PBS 稀释后无菌过滤得到即得到结构如式 (IV-1) 所示的放射性标记的配合物的注射液; 其中放射性核素 M 为  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  或  $^{90}\text{Y}$  等。

上述合成步骤中的所使用的其它化学物质为市售商品。

所述缓冲溶液为稳定反应液 pH 值的物质, 可以为醋酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、碳酸盐和磷酸盐, 以及它们的混合物等。

再一个方面, 本发明还提供式 (I) 所示 tEB-FAPI 化合物或其药学上可接受的盐在制备 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗或显像药物中的应用。

本发明还提供式 (IV) 所示放射性标记的 tEB-FAPI 配合物在 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗和显像中的应用。

本发明优选的所述应用中, 所述的配合物被制备成注射剂, 通过静脉注射给药, 用于 FAP 蛋白高表达肿瘤患者。

本发明所述的应用中, 所述的 FAP 蛋白高表达肿瘤包括但不限于乳腺癌、卵巢癌、肺癌、结直肠癌、胃癌或胰腺癌。

本发明提供一种截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂 tEB-FAPI 及其放射性核素标记的配合物, 并提供了该类化合物的制备方法和标记方法。生物试验结果表明其具有显著延长的血液循环半衰期、增强的肿瘤摄取富集和保留时间。这种新颖性能是目前其它 FAPI 显像剂所不具备的, 其适合作为 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗和显像。

#### 附图说明

图 1 为本发明实施例 1 中的化合物 2 的质谱图。

图 2 为本发明实施例 1 中的化合物 2 的核磁氢谱。

图 3 为本发明实施例 1 中的化合物 2 的核磁碳谱。

图 4 为本发明实施例 1 中的化合物 3 的质谱图。

图 5 为本发明实施例 1 中的化合物 3 的核磁氢谱。

图 6 为本发明实施例 1 中的化合物 4 的质谱图。

图 7 为本发明实施例 1 中的化合物 4 的核磁氢谱。

图 8 为本发明实施例 1 中的化合物 4 的核磁碳谱。

图 9 为本发明实施例 1 中的化合物 7 的质谱图。

图 10 为本发明实施例 1 中的化合物 7 的核磁氢谱。

图 11 为本发明实施例 1 中的化合物 7 的核磁碳谱。

图 12 为本发明实施例 1 中的化合物 10 的质谱图。

图 13 为本发明实施例 1 中的化合物 20 的质谱图。

图 14 为本发明实施例 10 中的化合物的质谱图。

图 15 为本发明实施例 11 中的化合物的质谱图。

图 16 为本发明实施例 1 中的化合物 10 的 HPLC 色谱图。

图 17 为本发明实施例 1 中的化合物 17 的 HPLC 色谱图。

图 18 为本发明实施例 1 中的化合物 17 与化合物 10 反应体系的 HPLC 色谱图。

图 19 为本发明实施例 1 中的化合物 19 的 HPLC 色谱图。

图 20 为本发明实施例 1 中的化合物 19 与 DOTA-NHS 反应体系的 HPLC 色谱图。

图 21A 和图 21B 体现了本发明中  $^{68}\text{Ga}$  标记的 tEB-FAPI 配合物与  $^{68}\text{Ga}$  标记的 FAPI-02 在正常小鼠体内的 MicroPET 显像。

图 22 体现了本发明实施例 40 制备的  $^{177}\text{Lu}$ -tEB-FAPI 在正常小鼠体内不同时间点的 SPECT 显像。

图 23 体现了本发明实施例 40 制备的  $^{177}\text{Lu}$ -tEB-FAPI 在人源胰腺癌异种移植模型小鼠不同时间点的 SPECT 显像。

### 具体实施方式

以下通过具体实施方式结合附图对本发明的技术方案进行进一步的说明和描述。

#### 实施例 1: tEB-FAPI 连接物 (化合物 20) 的制备

化合物 2 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 1 (6-羟基-4-喹啉羧酸, 1.89g, 10.0mmol)、甘氨酸叔丁酯 (1.89g, 10.0mmol), HATU (3.8g, 10.0 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (2.6 g, 20.0mmol) 依次投入至 30 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应混合物搅拌过夜, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=30:1) 纯化得白色固体化合物 2, 产率 87%, 图 1 为化合物 2 的质谱图, 图 2 显示了化合物 2 的核磁氢谱, 图 3 显示了化合物 2 的核磁碳谱。

化合物 3 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别将化合物 2 (1.51g, 5.0mmol)、1-溴-3-氯丙烷 (1.55g, 10.0mmol), 碳酸钾 (1.38g, 10.0mmol) 依次投入至 50 mL N,N-二甲基甲酰胺中。将体系升温到 60 度, 保持体系 60 度搅拌过夜, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=50:1) 纯化得白色固体化合物 3, 产率 63%, 图 4 为化合物 3 的质谱图, 图 5 显示了化合物 3 的核磁氢谱。

化合物 4 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别将化合物 3 (0.76g, 2.0mmol)、1-叔丁氧羰基哌嗪 (0.55g, 3.0mmol), 和碘化钾 (0.49g, 3.0mmol) 依次投入至 30 mL 乙腈中。将体系升温到 60 摄氏度, 保持体系 60 摄氏度搅拌过夜, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=30:1) 纯化得白色固体化合物 4, 产率 58%。MS(ESI)m/z calculated for  $[\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6]$ : 528.29; found: 529.10  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。图 6 为化合物 4 的质谱图, 图 7 显示了化合物 4 的核磁氢谱, 图 8 显示了化合物 4 的核磁碳谱。

化合物 5 的合成:

在冰浴条件下, 将化合物 4 (0.52g, 1.0mmol) 溶解在 10mL 二氯甲烷和三氟乙酸 (体积比 9:1) 混合溶液中, 将体系升温到室温反应 2h, 反应结束后减压蒸馏除去溶剂, 用 10mL N,N-二甲基甲酰胺溶解, 备用。

化合物 6 的合成:

向化合物 5 的 N,N-二甲基甲酰胺中分别加入二碳酸二叔丁酯 (0.22g, 1.0mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.39g, 3.0mmol), 室温搅拌过夜, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=10:1) 纯化得白色固体化合物 6, 产率 72%。

化合物 7 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 6 (0.47g, 1.0mmol)、(S)-吡咯烷-2-甲腈盐酸盐 (0.13g, 10.0mmol), HATU (0.38g, 1.0 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol) 依次投入至 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应混合物室温搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=50:1) 纯化得白色固体化合物 7, 产率 85%。图 9 为化合物 7 的质谱图, 图 10 显示了化合物 7 的核磁氢谱, 图 11 显示了化合物 7 的核磁碳谱。

化合物 8 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 7 (0.55g, 1.0mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.27g, 1.5mmol) 依次投入至 10 mL 乙腈中。反应体系升温至 60 摄氏度搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。

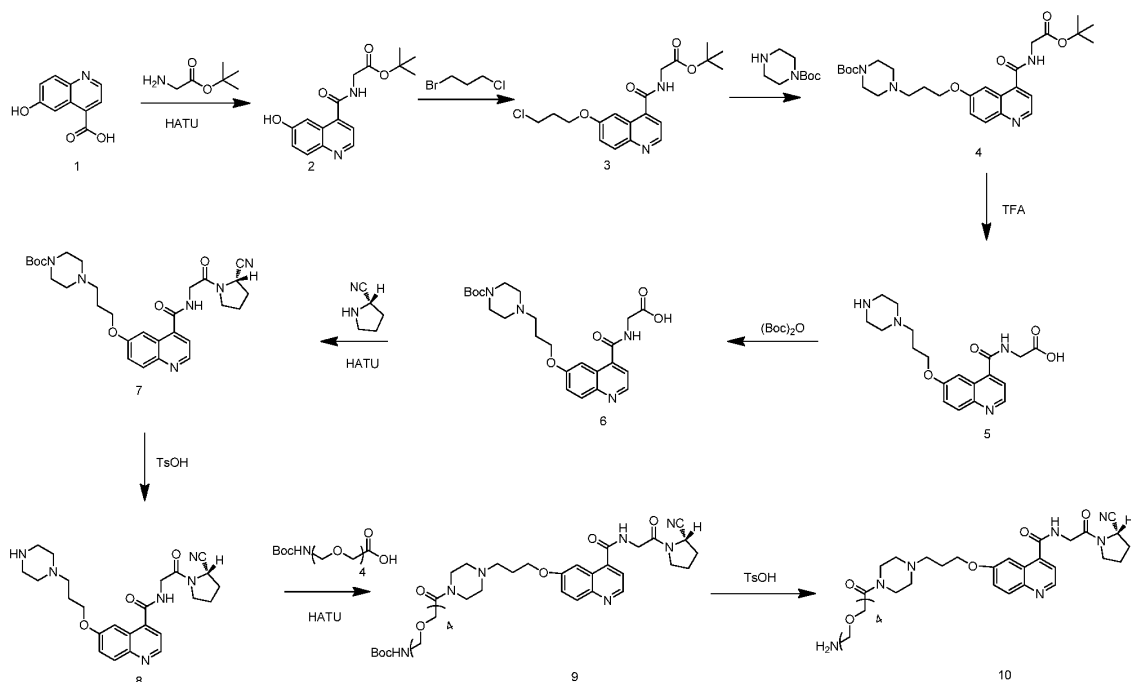
化合物 9 的合成:

在上述化合物 8 的反应烧瓶中分别投入 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七碳二酸-1-叔丁酯 (0.19g, 1.0mmol), HATU (0.38g, 1.0 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol) 以及 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应混合物搅拌过夜, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=50:1) 纯化得白色固体化合物 9, 产率 64%。

化合物 10 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 9 (0.61g, 1.0mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.27g, 1.5mmol) 依次投入至 10 mL 乙腈中。反应体系升温至 60 摄氏度搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。经硅胶柱 (二氯甲烷/甲醇=10:1) 纯化得白色固体化合物 10, 产率 59%。MS(ESI) m/z calculated for  $[C_{35}H_{51}N_7O_8]$ : 697.38; found: 698.43  $[M+H]^+$ 。图 12 为化合物 10 的质谱图。

上述步骤合成路线如下:



化合物 12 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯 (化合物 11) (2.12 g, 10.0mmol)、二碳酸二

叔丁酯 (2.2g, 10.0mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.3 g, 10.0mmol) 以及 20 mL 二氯甲烷, 室温搅拌过夜, 通过 HPLC 监测反应完成 (r.t. 为 10.13 分钟) 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物, 经硅胶柱 (石油醚/乙酸乙酯=5:1) 纯化得白色固体化合物 12, 产率 59%。

#### 化合物 13 的合成:

在 50 mL 烧瓶中分别投入化合物 12 (0.31g, 1.0mmol) 和 4mL 的乙腈, 冰浴, 将 2M 的盐酸 1.5mL 的滴加进反应瓶中, 反应 15min, 加入亚硝酸钠 (0.068g, 1.0mmol) 溶解在 2mL 水中, 再次滴加进反应瓶中, 反应半个小时, 作为 A 液待用。另外准备一个 50 mL 的反应烧瓶, 加入 1-氨基-8-萘酚-2,4-二磺酸单钠盐 (0.33g, 1.0mmol)、碳酸钠 (0.105g, 1.0mmol) 以及 5mL 水, 冰浴, 将 A 液缓慢滴加入 B 液, 冰浴搅拌反应 2h。经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 13, 产率 47%。

#### 化合物 14 的合成:

在冰浴条件下, 将化合物 13 (0.52g, 1.0mmol) 溶解在三氟乙酸中, 将体系升温到室温反应 2h, 反应结束后减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 14, 产率 73%。

#### 化合物 15 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 14 (0.54g, 1.0mmol)、N-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-1-叔丁酯 (0.30g, 1.0mmol), HATU (0.38g, 1.0 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol) 以及 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应混合物搅拌至反应结束, 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 15, 产率 52%。

#### 化合物 16 的合成:

使用硫代苯甲醚: 1,2-乙二硫醇 : 苯甲醚 : TFA(5 : 3 : 2 : 90)在室温下进行脱叔丁酯和 Boc 保护。反应结束后, 通过氩气流除去 TFA, 接着用 10mL N,N-二甲基甲酰胺溶解, 备用。

#### 化合物 17 的合成:

向化合物 16 的 N,N-二甲基甲酰胺中分别加入二碳酸二叔丁酯 (0.22g, 1.0mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.39g, 3.0mmol), 室温搅拌过夜, 通过 HPLC 监测反应完成 (r.t. 为 10.84 分钟)。减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 17, 两步产率 43%。

#### 化合物 18 的合成:

在 50 mL 烧瓶中分别投入化合物 17 (0.77g, 1.0mmol)、化合物 10 (0.51g, 1.0mmol), HATU (0.38g, 1.0 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (0.26g, 2.0mmol) 以及 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应混合物搅拌反应, 通过 HPLC 监测反应完成 (r.t. 为 12.16 分钟)。减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 18, 产率 55%。

#### 化合物 19 的合成:

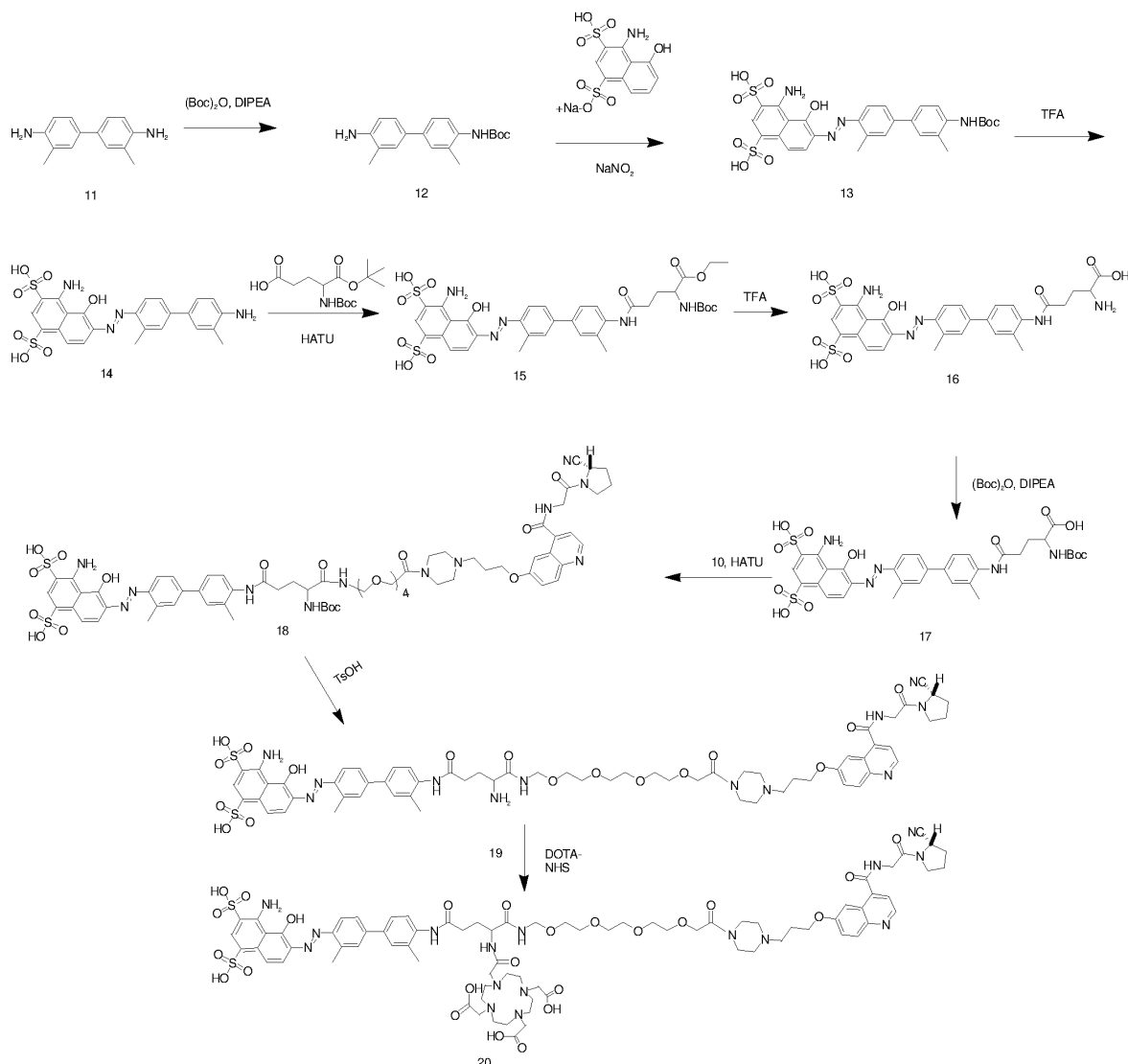
在 25 mL 烧瓶中分别投入化合物 15 (0.13g, 0.1mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.05g, 0.3mmol) 依次投入至 5mL 乙腈中。反应体系升温至 60 摄氏度搅拌反应, 通过 HPLC 监测脱保护进程至反应结束 (r.t. 为 10.47 分钟), 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干燥得到纯的化合物 19, 产率 61%。

#### 化合物 20 的合成:

在 25 mL 烧瓶中分别投入化合物 19 (0.12g, 0.1mmol)、DOTA-NHS (0.05g, 0.1mmol) 以及 N,N-二异丙基乙胺 (0.04g, 0.3mmol) 依次投入至 5mL N,N-二甲基甲酰胺。反应体系室温搅拌反应, 通过 HPLC 监测脱至反应结束 (r.t. 为 11.35 分钟), 减压蒸馏除去溶剂, 得到粗产物。将粗产物经反相柱化, 冷冻干

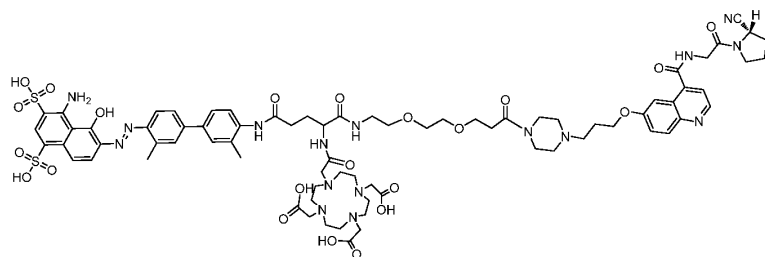
干燥得到纯的化合物 20，产率 53%。MS(ESI) $m/z$  calculated for  $[C_{80}H_{104}N_{16}O_{24}S_2]$ : 1736.69; found: 1737.743  $[M+H]^+$ 。图 13 为化合物 20 的质谱图。

上述步骤合成路线如下：

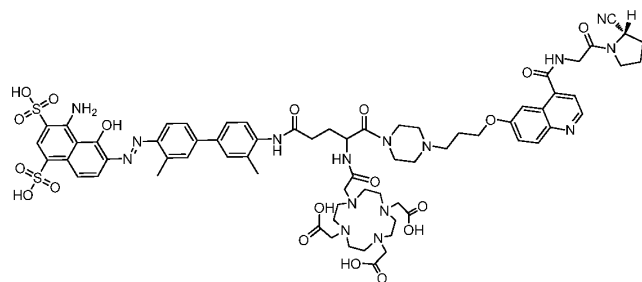


## 实施例 2-16

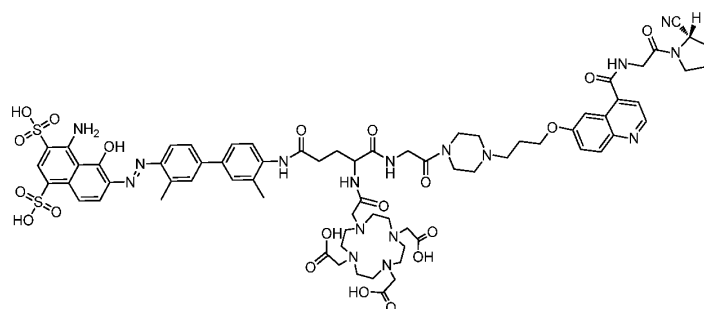
实施例 2-16 的化合物结构分别如式 (II-2) 至式 (II-16) 所示，它们的制备方法均可参考实施例 1，将其中与化合物 14 反应的谷氨酸结构替换为赖氨酸结构，或将与化合物 8 反应的 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七碳二酸-1-叔丁酯替换成 5,8,11-三氧杂-2-氮杂十三烷二酸-1-叔丁酯、9-氨基-4,7-二氧杂壬酸叔丁酯、甘氨酸叔丁酯或其他合适的化合物，或将与化合物 6 反应的(S)-吡咯烷-2-甲腈盐酸盐替换成 3,3-二氟吡咯烷盐酸盐，或同时替换，得到如下相应的结构：



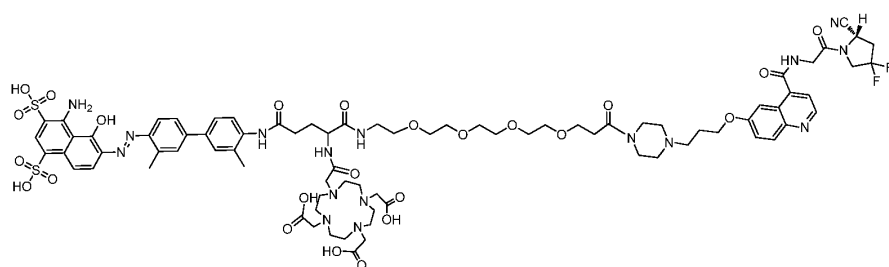
式 (II-2)



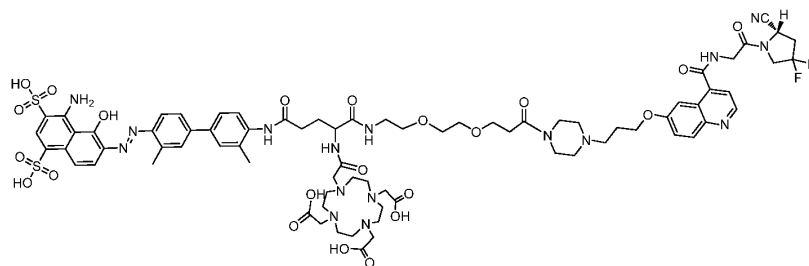
式 (II-3)



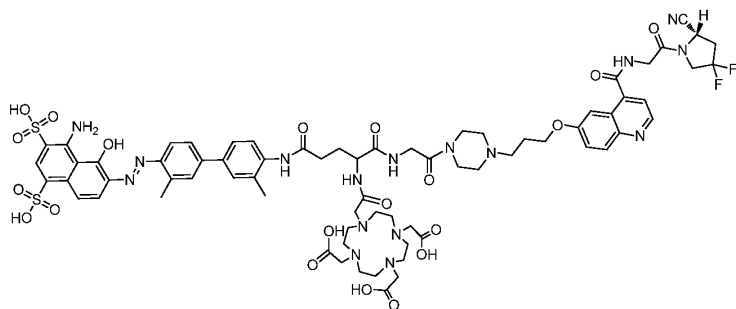
式 (II-4)



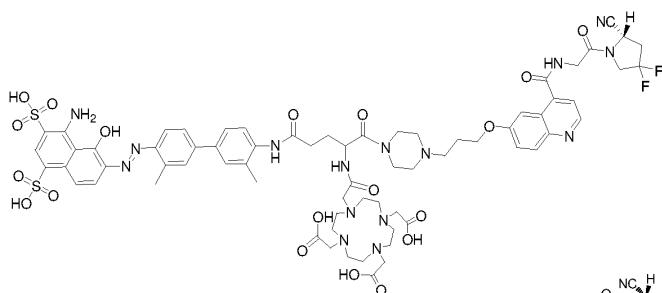
式 (II-5)



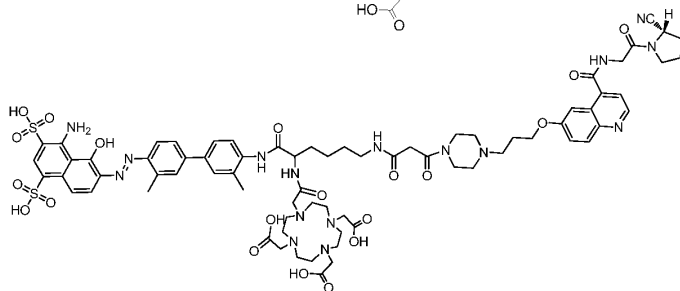
式 (II-6)



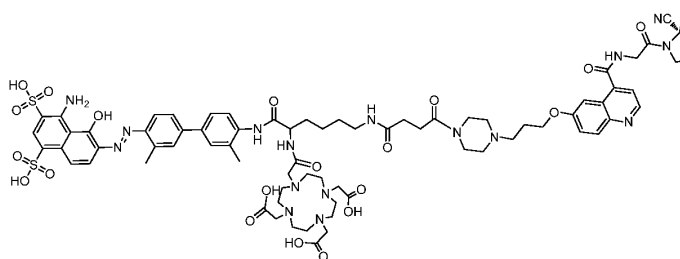
式 (II-7)



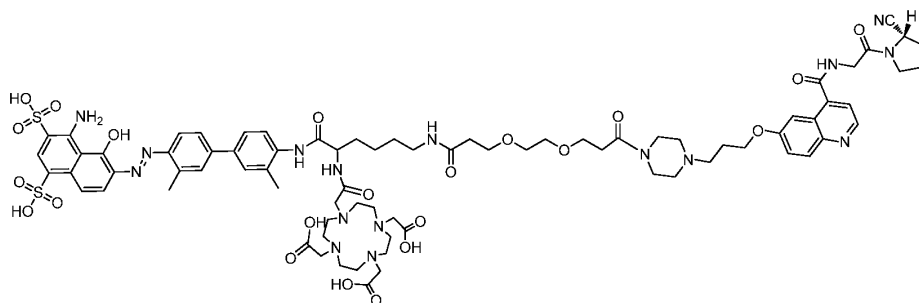
式 (II-8)



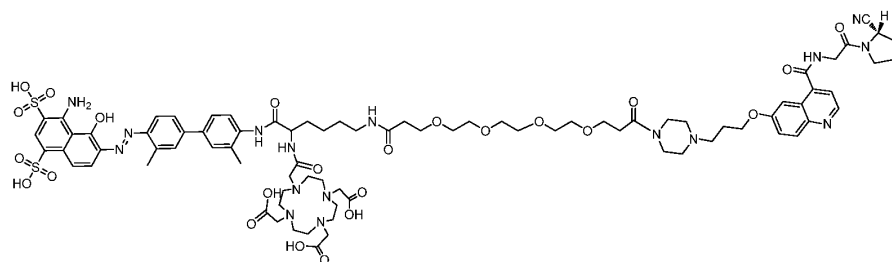
式 (II-9)



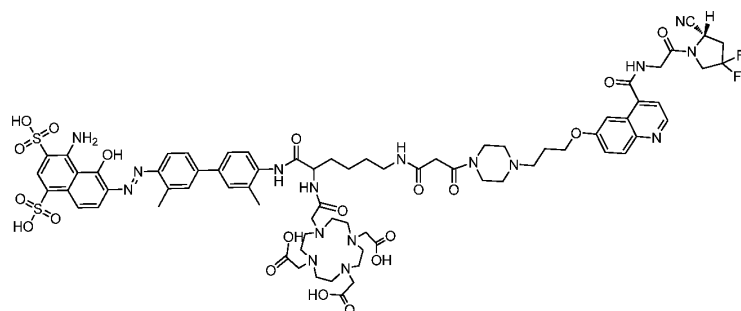
式 (II-10)



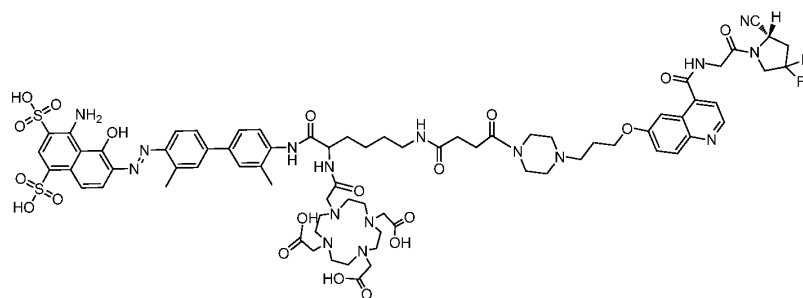
式 (II-11)



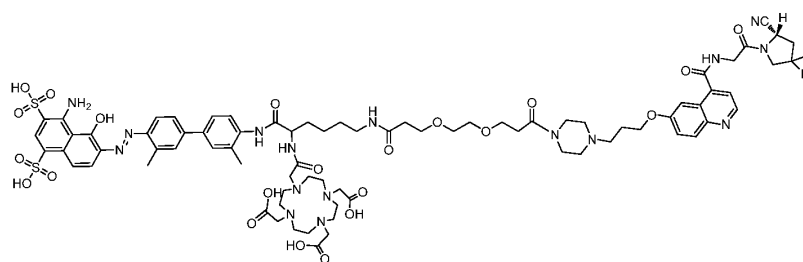
式 (II-12)



式 (II-13)

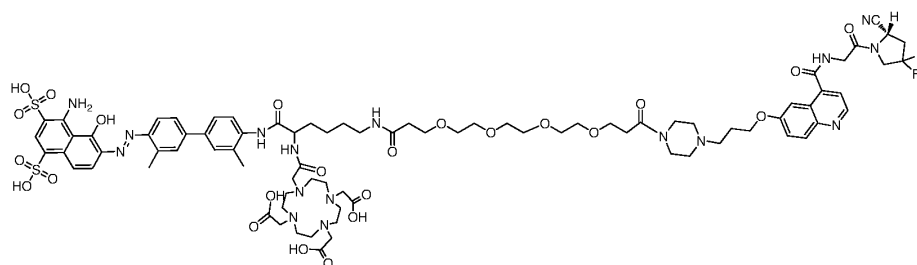


式 (II-14)



式 (II-15)

或者

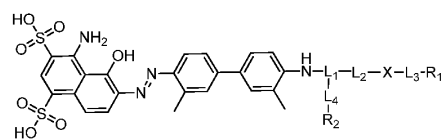


式 (II-16)。

其中, 实施例 10 中的化合物 (II-10) 的质谱图见图 14; 实施例 11 (II-11) 的化合物的质谱图见图 15。

## 实施例 17-38:

参考实施例 1-16 的制备方法, 制备以下式 (I) 表达的 tEB-FAPI 化合物:



式 (I)

| 实施例 | X | L <sub>1</sub> | L <sub>2</sub> | L <sub>3</sub> | L <sub>4</sub> | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> |
|-----|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 17  |   |                |                |                |                |                |                |
| 18  |   |                |                |                |                |                |                |
| 19  |   |                |                |                |                |                |                |
| 20  |   |                |                |                |                |                |                |
| 21  |   |                |                |                |                |                |                |
| 22  |   |                |                |                |                |                |                |
| 23  |   |                |                |                |                |                |                |
| 24  |   |                |                |                |                |                |                |
| 25  |   |                |                |                |                |                |                |
| 26  |   |                |                |                |                |                |                |
| 27  |   |                |                |                |                |                |                |
| 28  |   |                |                |                |                |                |                |

|    |   |  |   |   |   |  |  |
|----|---|--|---|---|---|--|--|
| 29 | N |  | - | - | - |  |  |
| 30 | S |  |   |   |   |  |  |
| 31 | O |  |   |   |   |  |  |
| 32 | C |  |   |   |   |  |  |
| 33 |   |  | - |   | - |  |  |
| 34 |   |  |   |   | - |  |  |
| 35 |   |  |   |   | - |  |  |
| 36 |   |  | - |   | - |  |  |
| 37 |   |  |   |   | - |  |  |
| 38 |   |  |   |   | - |  |  |

### 实施例 39.放射性 Ga-68 标记 tEB-FAPI 配合物的制备:

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

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

### 实施例 40.一种 Lu-177 标记的 tEB-FAPI 配合物的制备:

湿法：将约 18.5~1850MBq<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 醋酸钠溶液分别加入到含 0.5mL 实施例 1 化合物 20、实施例 2（式 II-2 化合物）和实施例 3（式 II-3 化合物）的化合物的醋酸-醋酸盐溶液(1.0g/L)的三个离心管中，置于 90℃ 下反应 20min。取一 C18 分离小柱，先用 10mL 无水乙醇缓慢淋洗，再用 10mL 水淋洗。用 10mL 水将标记液稀释后，上样到分离柱上，先用 10mL 水除去未标记的 <sup>177</sup>Lu 离子，再用 0.3mL 10mM 的 HCl 的乙醇溶液淋洗得到三个 <sup>177</sup>Lu 标记的 tEB-FAPI 配合物。该淋洗液经生理盐水稀释，并经无菌过滤后即得三个 <sup>177</sup>Lu 标记的 tEB-FAPI 配合物的注射液。

冻干法：将约 18.5~1850MBq<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 醋酸钠溶液分别加入到含有实施例 1 化合物 20、实施例 2（式 II-2 化合物）和实施例 3（式 II-3 化合物）的三个冻干药盒中，混匀后 90℃ 下反应 20min。取一 C18 分离小柱，先用 10mL 无水乙醇缓慢淋洗，再用 10mL 水淋洗。用 10mL 水将标记液稀释后，上样到分离柱上，先用 10mL 水除去未标记的 <sup>177</sup>Lu 离子，再用 0.3mL 10mM 的 HCl 的乙醇溶液淋洗得到三个 <sup>177</sup>Lu 标记的 tEB-FAPI 配合物淋洗液。该淋洗液经生理盐水稀释，并经无菌过滤后即得三个 <sup>177</sup>Lu 标记的 tEB-FAPI 配合物的注射液。

### 实验例.分析及应用效果

#### 1、HPLC 分析鉴定

HPLC 体系如下：SHIMADZULC-20A；C18 色谱柱（YMC，3μm，4.6× 150mm）用于分析。检测波长 254 nm，流速为 1mL/min，淋洗梯度：0~3 分钟：10%乙腈 0 和 90%水（50mM 醋酸铵）保持不变；3-16 分钟：增加到 90%乙腈和 10%水（50mM 醋酸铵）；16-18min：保持 90%乙腈和 10%水（50mM 醋酸铵）；18-20min：降低到 10%乙腈和 90%水（50mM 醋酸铵）；20-22min：保持 10%乙腈和 90%水（50mM 醋酸铵）。

按上述体系对实施例 1 中的化合物 10、化合物 17、化合物 10 与化合物 17 反应体系、化合物 19、以及化合物 19 与 DOTA-NHS 反应体系进行鉴定分析，得到的结果如图 16-图 20 所示。

以下以实施例 39、实施例 40 制备的两种放射性标记探针为实验用药剂，其性能测定描述如下：

#### 2、<sup>68</sup>Ga 标记的 tEB-FAPI 配合物在正常小鼠体内的 MicroPET 显像

按实施例 39 的方法制备好纯度大于 95%的 <sup>68</sup>Ga-tEB-FAPI，在正常 FVB 小鼠中，经尾静脉注射 3.7MBq 的 <sup>68</sup>Ga-tEB-FAPI 或者 <sup>68</sup>Ga-FAPI-02（作为对照），然后在异氟烷麻醉下，分别于给药后 0~120min 进行 MicroPET 显像，结果见图 21A 和图 21B。结果显示，实施例 39 的配合物 <sup>68</sup>Ga-tEB-FAPI 在小鼠心血池内有较高摄取（图 21A），而 <sup>68</sup>Ga-FAPI-02 在测试时间内几乎被完全清除（图 21B），表明截短型伊文思蓝的引入能够显著延长循环半衰期。

#### 3、<sup>177</sup>Lu 标记的 tEB-FAPI 配合物在人源胰腺癌异种移植模型小鼠肿瘤摄取实验。

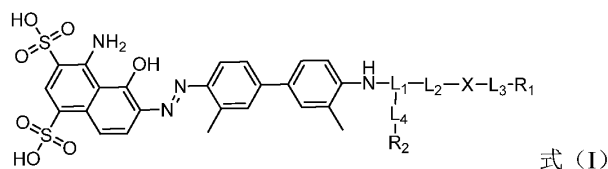
按实施例 40 的方法制备好纯度大于 95%的 <sup>177</sup>Lu-tEB-FAPI（基于实施例 1 的化合物 20），分别在正常小鼠和人源胰腺癌异种移植模型小鼠中，经尾静脉注射 1.3MBq 的 <sup>177</sup>Lu-tEB-FAPI。在注射后不同时间点进行 SPECT 显像，正常小鼠的 SPECT 显像结果见图 22，人源胰腺癌异种移植模型小鼠的 SPECT 显像结果见图 23。结果显示，<sup>177</sup>Lu-tEB-FAPI 在正常小鼠体内具有良好的药代动力学，在人源胰腺癌异种移植模型小鼠中能够持续被肿瘤组织摄取并维持超过 48h，表明 tEB-FAPI 具有显著增强的肿瘤摄取和保留时间，可以用作肿瘤治疗剂及显像剂。

综上所述，本发明提供的截短型伊文思蓝的修饰的成纤维活化蛋白抑制剂能够显著延长其循环半衰期，并且能够增强肿瘤摄取富集和保留时间，这种新颖性能是目前其它 FAPI 显像剂所不具备的。经进一步临床前动物水平及临床研究证实，其有望成为 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗和显像。

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

## 权利要求书

1. 一种截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂化合物或其药学上可用的盐，其特征在于：其分子结构是由连接基团  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 、 $L_4$  和 X 将截短型伊文思蓝、成纤维细胞活化蛋白抑制剂和核素螯合基团连接在一起构成，其结构如下式 (I) 所示



其中：

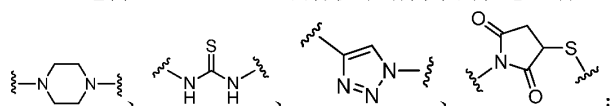
$L_1$  为赖氨酸、谷氨酸或含有赖氨酸或谷氨酸结构的衍生化合物；

$L_2$  是  $-(CH_2)_n-$ ，其中  $n$  是 0 至 30 的整数，其中每个  $-CH_2-$  单独地用或不用  $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH(CO)-$  或  $-(CO)-NH-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-CH_2-$  基团被替换；

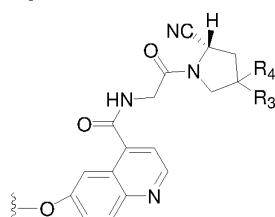
$L_3$  是  $-(CH_2)_m-$ ，其中  $m$  是 0 至 30 的整数，其中每个  $-CH_2-$  单独地用或不用  $-O-$  或  $-(CO)-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-CH_2-$  基团被替换；

$L_4$  是  $-(CH_2)_p-$ ，其中  $p$  是 0 至 30 的整数，其中每个  $-CH_2-$  单独地用或不用  $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-(CO)-$ 、 $-NH(CO)-$  或  $-(CO)-NH-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-CH_2-$  基团被替换；

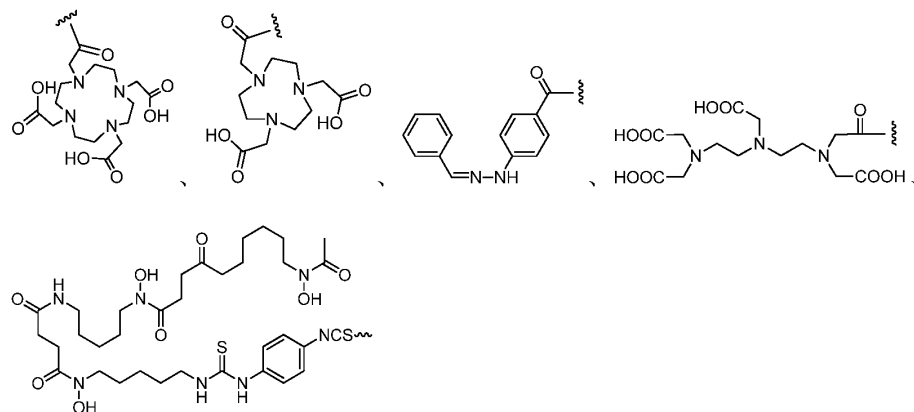
X 选自 N、C、O、S 或者以下结构中的任意一种：



$R_1$  为以下成纤维细胞活化蛋白抑制剂结构：



$R_2$  是核素螯合基团，选自以下任意一种结构：



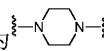
$R_3$ - $R_4$  相同或不同，均独立的选自 H 或 F。

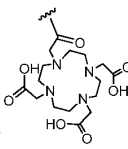
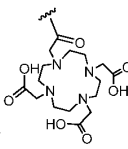
2. 权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述式 (I) 中的  $L_2$  是  $-(CH_2)_n-$ ； $n$  是 0-16 的整数，更优

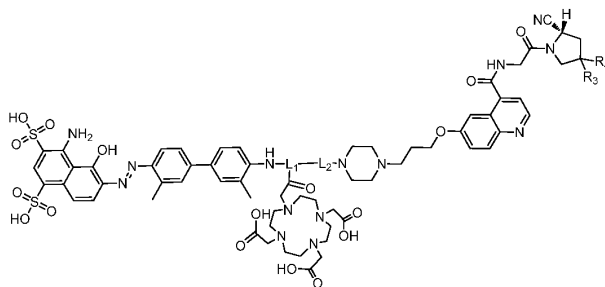
选是 0-12 的整数, 进一步优选 0、3 或 10; 其中每个  $-\text{CH}_2-$  单独地用或不用  $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$  或  $-(\text{CO})-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。

3. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述式 (I) 中的  $\text{L}_3$  是  $-(\text{CH}_2)_m-$ ;  $m$  是 0-20 的整数, 更优选是 1-6 的整数, 进一步优选 2 或 3; 其中每个  $-\text{CH}_2-$  可以单独地用或不用  $-\text{O}-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。

4. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述式 (I) 中的  $\text{L}_4$  是  $-(\text{CH}_2)_p-$ ;  $p$  是 0-20 的整数, 更优选是 0-12 的整数, 进一步优选 3、4、9 或 12, 最优选 3; 其中每个  $-\text{CH}_2-$  可以单独地用或不用  $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})\text{NH}-$  替换, 替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。

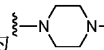
5. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述式 (I) 中的  $\text{X}$  为 ,  $\text{L}_3$  为  $-(\text{CH}_2)_3-$ ,

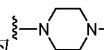
  
 $\text{L}_4$  为  $-(\text{CH}_2)_0-$ ,  $\text{R}_2$  为  , 即所述化合物结构如下式 (II) 所示:



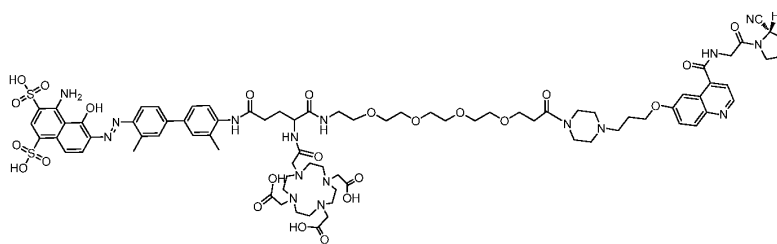
式 (II)

其中  $\text{R}_3$  和  $\text{R}_4$  同为 H 或者同为 F 原子,  $\text{L}_1$  为谷氨酸或赖氨酸结构,  $\text{L}_2$  为  $-(\text{CH}_2)_0-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-(\text{CH}_2)_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 。

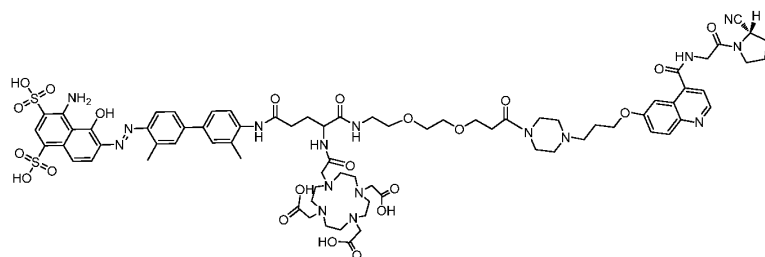
6. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述式 (I) 中的  $\text{X}$  为 ,  $\text{L}_1$  为谷氨酸结构,  $\text{L}_2$  为  $-(\text{CH}_2)_0-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$  或  $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ ,  $\text{L}_3$  为  $-(\text{CH}_2)_3-$ ,  $\text{L}_4$  为  $-(\text{CH}_2)_0-$ ,  $\text{R}_2$  为 DOTA,  $\text{R}_3$  和  $\text{R}_4$  同为 H 或者同为 F 原子。

7. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述式 (I) 中的  $\text{X}$  为 ,  $\text{L}_1$  为赖氨酸结构,  $\text{L}_2$  为  $-(\text{CO})-\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-(\text{CH}_2)_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ ,  $\text{L}_3$  为  $-(\text{CH}_2)_3-$ ,  $\text{L}_4$  为  $-(\text{CH}_2)_0-$ ,  $\text{R}_2$  为 DOTA,  $\text{R}_3$  和  $\text{R}_4$  同为 H 或者同为 F 原子。

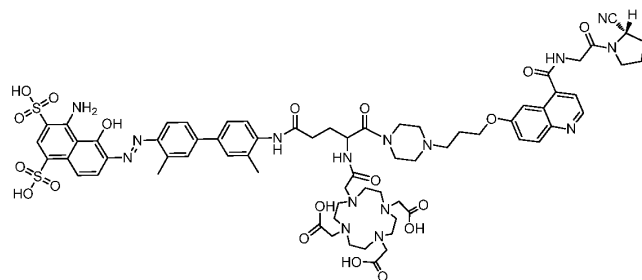
8. 权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于: 所述的化合物结构是以下式 (II-1) 至式 (II-16) 所示的任意一种:



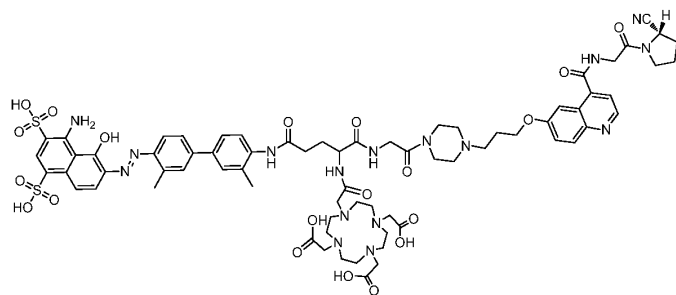
式 (II-1)



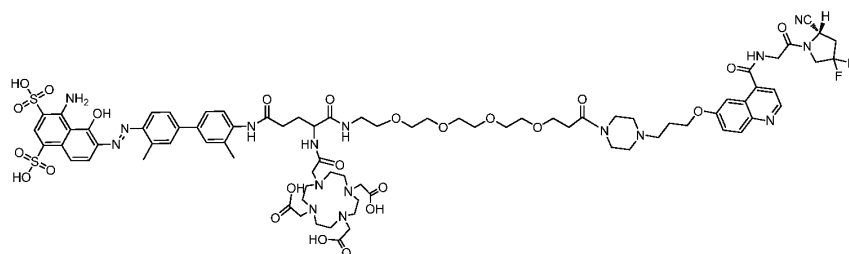
式 (II-2)



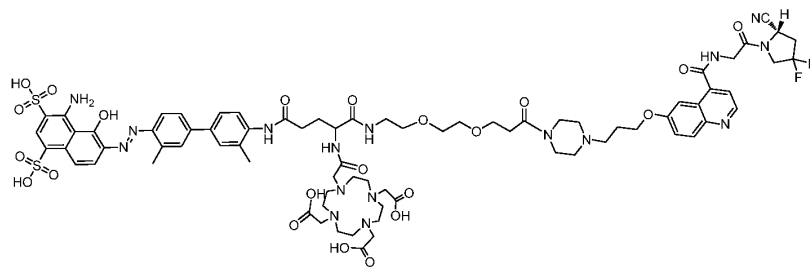
式 (II-3)



式 (II-4)

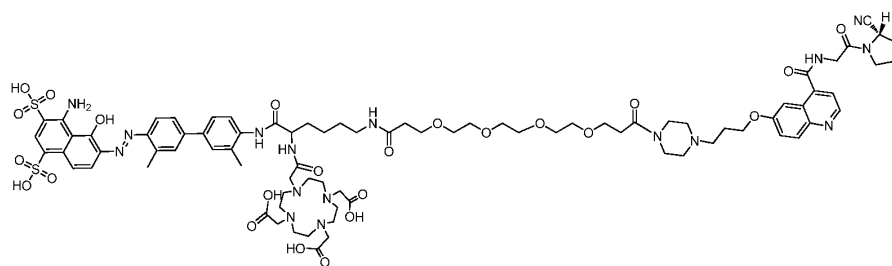


式 (II-5)

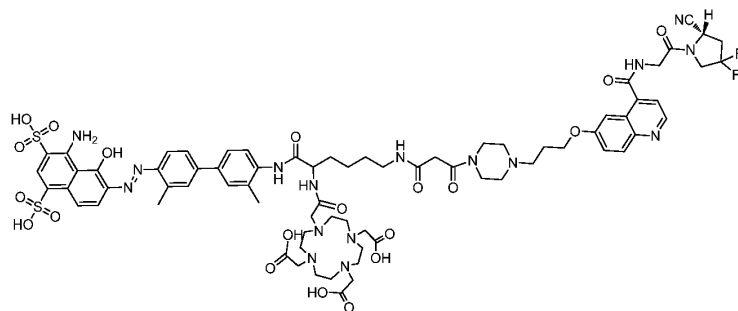


式 (II-6)

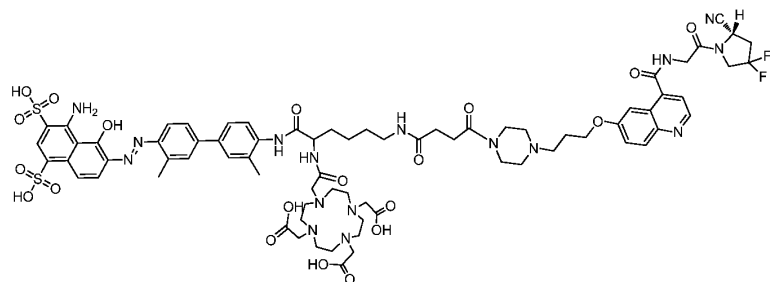




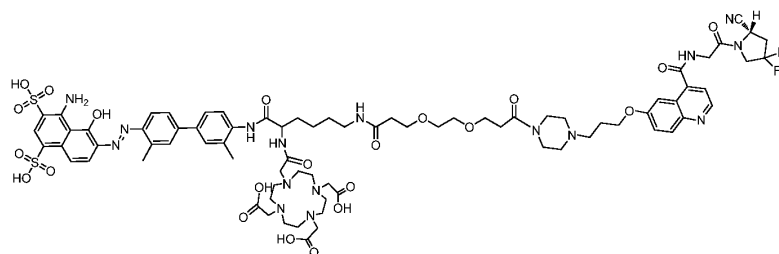
式 (II-12)



式 (II-13)

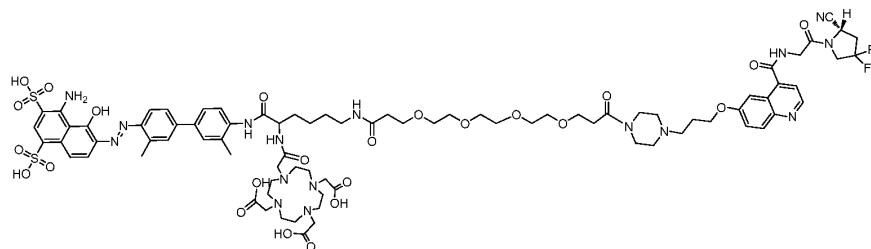


式 (II-14)



式 (II-15)

或者



式 (II-16)。

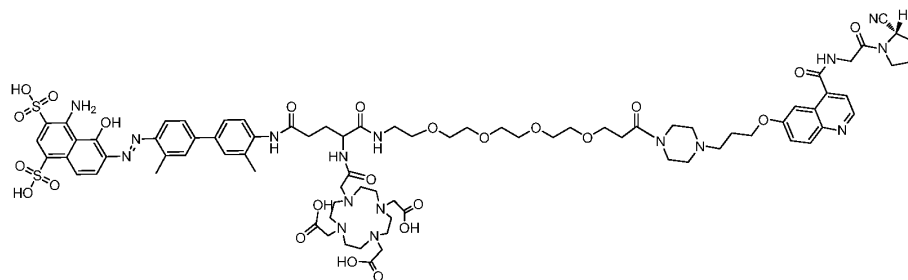
9. 制备截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂的方法，其特征在于：包括以下步骤：

①将 6-羟基-4-喹啉羧酸与甘氨酸叔丁酯发生酰胺缩合反应；然后依次与 1-溴-3-氯丙烷和 1-叔丁氧羰基哌嗪反应；接着在 TFA 作用下脱除 Boc 和叔丁基保护基；再在氨基上引入 Boc 保护；接着与(S)-吡咯烷

-2-甲脒盐酸盐发生酰胺缩合反应；利用对甲基苯磺酸脱除 Boc 保护；接着与 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七碳二酸-1-叔丁酯发生缩合反应；再次利用对甲基苯磺酸作用下脱除 Boc 保护，得到中间体化合物 A；

②将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯单边引入 Boc 保护，接着与 1-氨基-8-萘酚-2,4-二磺酸单钠盐反应制得截短型伊文思蓝衍生物；脱去 Boc 保护，接着与 N-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-1-叔丁酯发生酰胺缩合反应；接着在 TFA 作用下脱除 Boc 和叔丁基保护基；然后与二碳酸二叔丁酯反应，在氨基上引入 Boc 保护，得到中间体化合物 B；

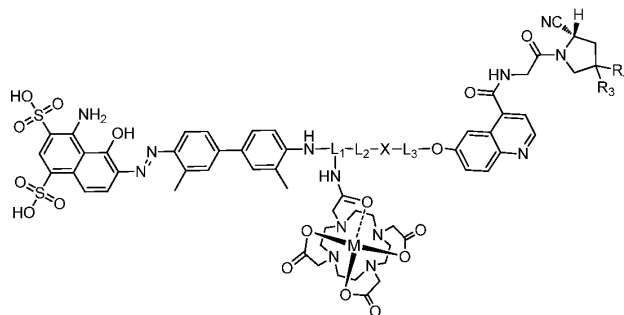
③将①得到的中间体化合物 A 与②得到的中间体化合物 B 发生酰胺缩合反应；接着利用对甲基苯磺酸脱除 Boc 保护；最后与 DOTA-NHS 反应，得到结构如下式 (II-1) 所示的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂化合物



式 (II-1)。

10. 一种放射性标记的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂配合物，它是以权利要求 1 所述的式 (I) 化合物为配体标记放射性核素得到的配合物；所述的放射性核素优选  $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{86}\text{Y}$ 、 $^{89}\text{Zr}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{149}\text{Tb}$ 、 $^{161}\text{Tb}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{223}\text{Ra}$ 、 $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{226}\text{Th}$ 、 $^{227}\text{Th}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{211}\text{At}$  或  $^{111}\text{In}$  中的任意一种；进一步优选的放射性核为  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  或  $^{90}\text{Y}$ 。

11. 一种放射性标记的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂配合物，其结构如下式 (IV) 所示：



式 (IV)

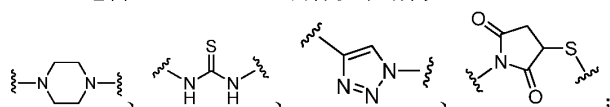
其中，

$L_1$  为赖氨酸或谷氨酸结构，或含有赖氨酸或谷氨酸结构的衍生化合物结构；

$L_2$  是  $-(\text{CH}_2)_n-$ ，其中  $n$  是 0 至 30 的整数，其中每个  $\text{CH}_2$  单独地用或不用  $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})\text{NH}-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $\text{CH}_2$  基团被替换；

$L_3$  是  $-(\text{CH}_2)_m-$ ，其中  $m$  是 0 至 30 的整数，其中每个  $\text{CH}_2$  单独地用或不用  $-\text{O}-$  或  $-(\text{CO})-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $\text{CH}_2$  基团被替换；

$X$  选自 N、C、O、S 或者以下结构：



$R_3$  和  $R_4$  相同或不同，均独立的选自 H 或 F；

M 为放射性核素，选自  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  或  $^{90}\text{Y}$  中的任意一种。

12. 权利要求 11 所述的配合物，其特征在于：所述式 (IV) 中的  $\text{L}_2$  是  $-(\text{CH}_2)_n-$ ；n 是 0-16 的整数，更优选是 0-12 的整数，进一步优选 0、3 或 10；其中每个  $-\text{CH}_2-$  单独地用或不用  $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$  或  $-(\text{CO})-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。

13. 权利要求 11 所述的配合物，其特征在于：所述式 (IV) 中的  $\text{L}_2$  是  $-(\text{CH}_2)_0-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-(\text{CH}_2)_2-(\text{CO})-$ 、 $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2-\text{CH}_2-(\text{CO})-$  或  $-(\text{CO})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_4-\text{CH}_2-(\text{CO})-$ 。

14. 权利要求 11 所述的配合物，其特征在于：所述式 (IV) 中的  $\text{L}_3$  是  $-(\text{CH}_2)_m-$ ；m 是 0-20 的整数，更优选是 1-6 的整数，进一步优选 2 或 3；其中每个  $-\text{CH}_2-$  单独地用或不用  $-\text{O}-$  替换，替换的条件是没有两个相邻的  $-\text{CH}_2-$  基团被替换。

15. 权利要求 11 所述的配合物，其特征在于：所述式 (IV) 中的  $\text{L}_3$  是  $-(\text{CH}_2)_3-$ 。

16. 制备放射性标记的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂配合物的方法，包括以下步骤：将权利要求 1 所述的式 (I) 化合物溶于缓冲溶液或去离子水中；在所得溶液中加入放射性核素溶液，密闭反应 5-40min，即生成放射性核素标记的配合物。

17. 制备放射性标记的截短型伊文思蓝修饰的成纤维细胞活化蛋白抑制剂配合物的方法，包括以下步骤：将权利要求 1 所述的式 (I) 化合物溶于缓冲溶液或去离子水中；将所得溶液经无菌过滤后，分装于容器中，经冷冻干燥后加塞密封，得到冻干药盒；向所述冻干药盒中加入适量乙酸溶液或缓冲液溶解，再加入相应的放射性核素溶液，密闭反应 5-40min，即生成放射性核素标记的配合物。

18. 权利要求 1-8 任意一项所述化合物或其药学上可接受的盐在制备 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗或显像药物中的应用。

19. 权利要求 10-15 任意一项所述的配合物在 FAP 蛋白高表达肿瘤的核素治疗或显像中的应用。

20. 权利要求 18 或 19 任意一项所述的应用，其特征在于：所述的化合物或配合物被制备成注射剂，通过静脉注射给药，用于 FAP 蛋白高表达肿瘤患者；所述的 FAP 蛋白高表达肿瘤包括但不限于乳腺癌、卵巢癌、肺癌、结直肠癌、胃癌或胰腺癌。