

放射性标记物、其前体化合物、及制法和应用

技术领域

本发明属于核医学技术领域，具体涉及放射性标记物、其前体化合物、及制法和应用。

背景技术

骨是恶性肿瘤远处转移的好发部位，其发生率仅次于肺与肝。转移性骨肿瘤的早期诊断、治疗能有效改善患者的预后及生存质量。

目前治疗转移性骨肿瘤的治疗方法主要包括放疗、化疗、放射性核素治疗、双膦酸盐治疗、止痛治疗及姑息手术治疗。转移性骨肿瘤靶向放射性核素治疗能够明显缓解骨痛，同时可以杀伤肿瘤细胞，且毒副作用小，是安全、有效的治疗方式。目前国内常用的治疗转移性骨肿瘤的放射性药物包括 $^{89}\text{SrCl}_2$ 、 $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ ，它们可明显缓解骨痛并减低骨相关事件的发生率，但两者需要通过反应堆生产，价格较为昂贵，且 $^{89}\text{SrCl}_2$ 不能用于显像，因此使用受到了一定的限制。临床上迫切需要更加有效、价廉、易于获得的治疗性放射性药物。

^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{221}At 都是具有优良核性质的医用同位素。 ^{68}Ga 是通过 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器获得，来源方便，成本较低；它可发射 β^+ 射线，用于 PET 显像。 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{221}At 均从国外购买，供货渠道通畅、稳定。 ^{177}Lu 的半衰期($T_{1/2}$)为 6.7d，其发射 3 种能量 β^- 粒子 497keV(78.6%)，384keV(9.1%)，176keV(12.2%)可用于治疗，同时还发射 γ 射线 113keV(6.4%)，208keV(11%)，适合体内定位显像。 ^{225}Ac 发射 α 射线， α 离子传能线密度更高，射线能量高，射程短，相对生物学效应更高，对肿瘤细胞的杀伤作用最强，其半衰期 ($T_{1/2}$) 为 9.9d，其子核素 ^{213}Bi 的半衰期 ($T_{1/2}$) 为 46min。 ^{64}Cu 核素因其适宜的半衰期 (12.7 h)、独特的衰变性质 (β^+ 衰变、 β^- 衰变、电子俘获)，以及可与多种配体配位形成配合物等特点，现已成为 PET 分子探针及诊疗一体化药物领域的研究热点。 ^{211}At 衰变释放的 α 射线平均能量为 6.8MeV，在组织中的射程为 55-88um，其半衰期为 7.2h，其具有很强的临床应用价值。目前 $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ 是临床最常用的骨显像剂，然而作为单光子显像剂，病灶的定位以及显示远低于正电子显像剂。膦酸盐 (HEDP) 是临床研究常用于转移性骨肿瘤的显像与靶向治疗的药物，然而作为第一代不含氮的双膦酸盐，HEDP 的作用强度明显低于第二、三代含氮的

双膦酸盐，如阿仑膦酸与伊班膦酸。因此提供显像效果更好，治疗效果更好、兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物成为了本领域技术人员亟待解决的问题。

发明内容

本发明的目的之一在于，提供式 I 所示的前体化合物，其经核素标记后，能得到兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物。

本发明的目的之二于，提供式 II 所示放射性标记物，其为式 I 化合物经核素标记而成。

本发明的目的之三在于，提供式 I 所示的前体化合物的制备方法。

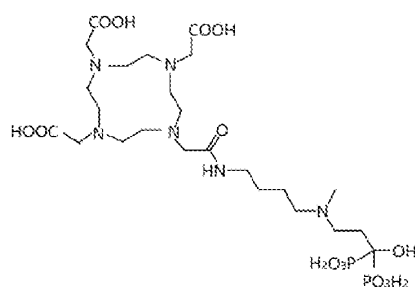
本发明的目的之四在于，提供式 II 所示放射性标记物的制备方法。

本发明的目的之五在于，提供式 I 所示的前体化合物的应用。

本发明的目的之六在于，提供式 II 所示放射性标记物的应用。

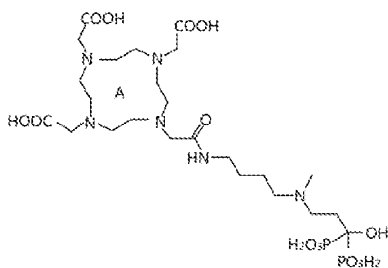
为实现上述目的，本发明采用的技术方案如下：

本发明提供的结构如式 I 所示的放射性标记物的前体化合物或其药学上可接受的盐，



式 I

本发明提供的式 I 化合物的放射性标记物或其药学上可接受的盐，其结构如式 II 所示，



式 II

其中 A 为核素，优选为 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At 。

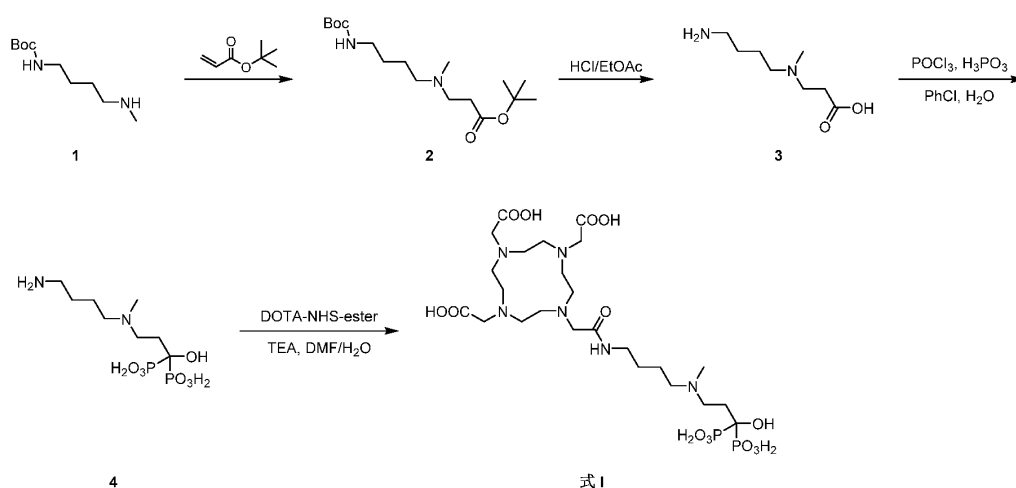
本发明创造性地将螯合剂 DOTA 与伊班膦酸结合，形成新的化合物 DOTA-伊班膦酸。在与放射核素 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At 标记时，前体用量远远低于单独的伊班膦酸，我们提供多种放射性核素标记的 DOTA-伊班膦酸，这既具有骨显像、又能针对转移性骨肿瘤进行治疗的新型药物，这种药物能更好地发挥放射性核素 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At 和 DOTA-伊班膦酸对转移性骨肿瘤的显像和治疗作用，创造出 1 加 1 大于 2 的效果。

本发明的部分实施方案中，其放射化学纯度大于等于 95%。

本发明提供的式 I 所示的放射性标记物的前体化合物的制备方法，包括以下步骤：

- S1. 化合物 1 与丙烯酸叔丁酯反应生成化合物 2；
- S2. 化合物 2 的 EtOAc 溶液中滴加 HCl/EtOAc，反应生成化合物 3；
- S3. 将化合物 3 加入 pHCl 中，氮气保护下加入 POCl_3 和 H_3PO_3 ，加热反应，冷却后将氯苯溶液倾倒入，加入 H_2O ，加热搅拌，生成化合物 4；
- S4. 向化合物 4 的 H_2O 溶液中加入 DOTA-NHS-ester 溶液，随后加入三乙胺，反应生成式 I 化合物；

其反应式如下：



本发明提供的式 II 所示的放射性标记物的制备方法，包括：将式 I 化合物

本发明的部分实施方案中，放射性核素为 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{64}Cu 时，将式 I 化合物溶液、醋酸钠溶液、及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得；

当放射性核素为 ^{225}Ac 时，将式 I 化合物溶液、柠檬酸钠溶液、抗坏血酸钠溶液及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得；

当放射性核素为 ^{211}At 时，将式 I 化合物溶液、硼酸钠溶液、及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得。

本发明的部分实施方案中，当放射性核素为 ^{68}Ga 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液；随后加入活度为 20mCi 的 ^{68}Ga 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，优选为 15min；反应后调节 pH 值为 5；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{68}Ga 盐溶液的浓度为 5mCi/ml $\sim$ 10mCi/ml；

当放射性核素为 ^{177}Lu 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液，随后加入活度为 2mCi 的 ^{177}Lu 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，优选为 15min；反应后调节 pH 值为 4.5；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{177}Lu 盐溶液的浓度为 10mCi/ml $\sim$ 20mCi/ml；

当放射性核素为 ^{225}Ac 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.1M 的抗坏血酸钠溶液和 0.8-1.4ml 浓度为 0.1M 的柠檬酸钠溶液，随后加入活度为 0.01mCi 的 ^{225}Ac 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，优选为 15min；反应后调节 pH 值为 4.5；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{225}Ac 盐溶液的浓度为 0.01mCi/ml $\sim$ 0.02mCi/ml；

当放射性核素为 ^{64}Cu 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液；随后加入活度为 5mCi 的 ^{64}Cu 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，

优选为 15min；反应后调节 pH 值为 4；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{64}Cu 盐溶液的浓度为 5mCi/ml~10mCi/ml；

当放射性核素为 ^{211}At 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的硼酸钠溶液；随后加入活度为 1mCi 的 ^{211}At 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，优选为 15min；反应后调节 pH 值为 7；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{211}At 盐溶液的浓度为 1.0mCi/ml~2.0mCi/ml。

本发明提供的式 I 化合物在制备兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物中的应用。

本发明提供的式 II 化合物在制备兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物中的应用。

与现有技术相比，本发明具有以下有益效果：

本发明设计科学、方法简单。本发明创造性地将伊班膦酸与螯合剂结合，得到 DOTA-伊班膦酸，再采用放射性核素 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At 标记 DOTA-伊班膦酸，得到 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸。本发明的 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸水溶性较大、室温下体外稳定性较好，血浆蛋白结合率高，在小鼠中的体内分布及新西兰兔的显像中都显示出较高及较长时间的骨骼摄取，是一个具有优良性能的骨显像剂及转移性骨肿瘤治疗性放射性药物。药效学试验表明， ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸，在用于诊断或治疗后的效果都高于相应组别的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 、 $^{177}\text{LuCl}_3$ 、 $^{225}\text{AcCl}_3$ 、 $^{64}\text{CuCl}_2$ 、 Na^{211}At 或 DOTA-伊班膦酸，表明 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸在恶性肿瘤骨转移诊断及治疗中的可行性及有效性。

本发明的制备 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸的标记方法简单，反应时间较短，标记产率高，前体用量很少（微克级别），病灶靶与非靶比值很高（T/N 值），最大可达 10 倍以上。根据文献报道，T/N 比值大于 4-5 就有很高的治疗潜在价值。

附图说明

附图 1 为试验例 5 的 ^{68}Ga -DOTA-IBA 新西兰兔 1h 及 3h 的 PET 显像图；

附图 2 为试验例 6 的 ^{177}Lu -DOTA-IBA 新西兰兔 1d、3d、5d、7d 的 SPECT

全身静态显像图；

附图3为试验例7的²²⁵-DOTA-IBA新西兰兔1d、3d、5d的SPECT全身静态显像图。

附图4为式I所示的前体化合物的HPLC图；

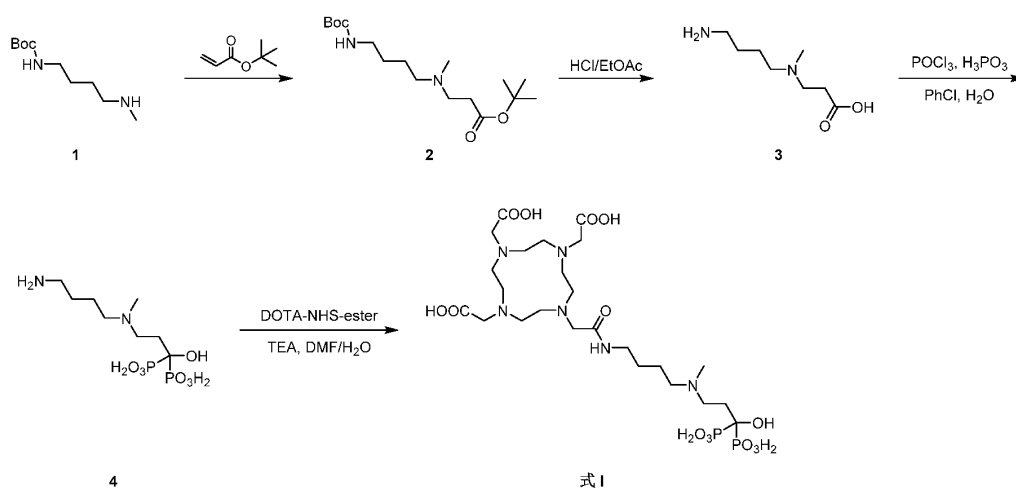
附图5为式I所示的前体化合物的LC-MS图。

具体实施方式

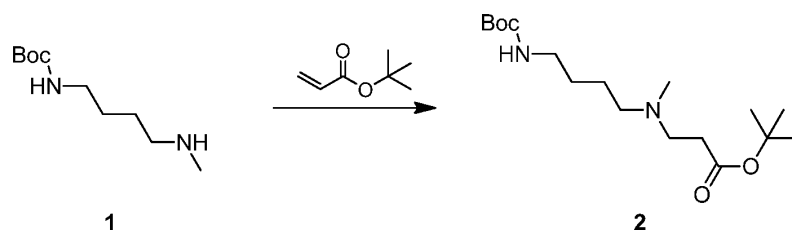
为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚，下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

实施例1

本实施例公开了本发明的式I所示的前体化合物的制备方法，其合成路线为：



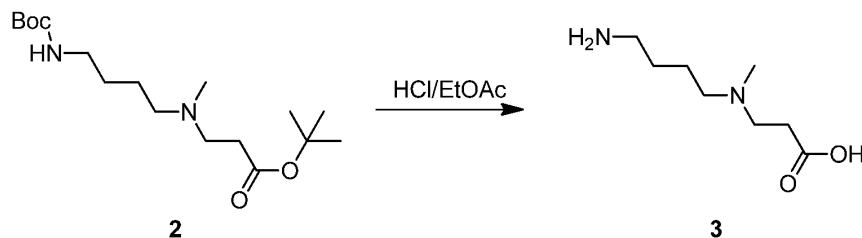
S1. 化合物2的制备



向化合物1 (5.00 g, 24.7 mmol) 中加入丙烯酸叔丁酯 (6.34 g, 49.4 mmol)。反应

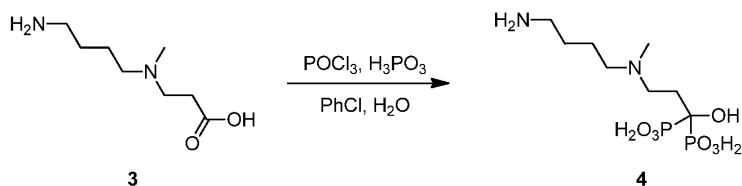
在 25℃下搅拌 3 小时。TLC 监测反应完全，有新点产生。反应液浓缩得到无色油状化合物 2 (7.90 g, 产率: 96.7%)。粗品不需要纯化直接用于下一步反应。

S2. 化合物 3 的制备



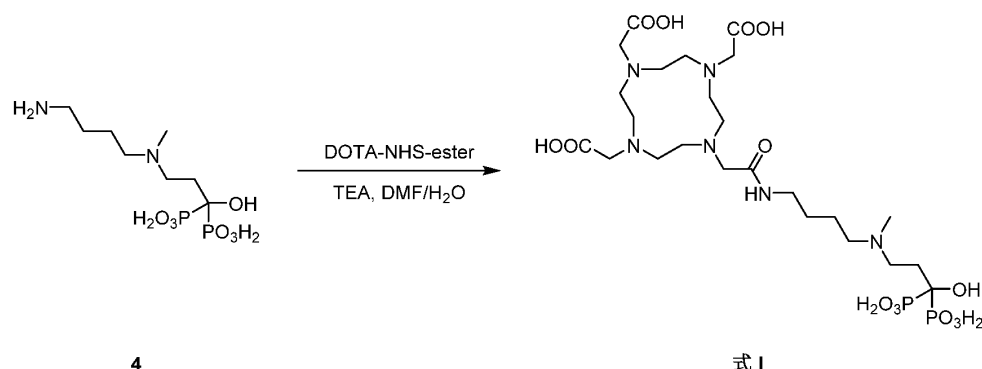
冰浴条件下，向化合物 2 (1.90 g, 5.75 mmol) 的 EtOAc (2.00 mL) 溶液中滴加 HCl/EtOAc (4 M, 20.0 mL)。反应液在 25℃搅拌 2 小时。LC-MS 检测原料反应完全。反应液真空浓缩得到无色油状粗品化合物 3 (800 mg, 产率: 79.9%)，不需要进一步纯化直接用于下一步反应

S3. 化合物 4 的制备



将化合物 3 (800 mg, 3.24 mmol, HCl salt) 加入 pHCl (100 mL) 中，氮气保护下加入 POCl₃ (9.93 g, 64.7 mmol) 和 H₃PO₃ (5.31 g, 64.7 mmol)。反应加热到 80℃ 搅拌 16 小时，冷却后将氯苯溶液倾倒入，加入 H₂O (20.0 mL)，80℃ 搅拌 5 小时。LC-MS 监测有产物 mass，反应液过滤并在真空下浓缩，剩余物通过 prep-HPLC (YMC-Actus Triart Diol-HILIC, 150*30 mm, 5 um, 120Å Mobile phase: 0.2% CH₃COOH, CH₃CN) 纯化得到白色固体化合物 4 (90.0 mg, 8.68% 产率)

S4. 式 I 化合物 Carbs 的制备



向化合物 4 (60.0 mg, 187 μmol) 的 H_2O (200 μL) 溶液中加入 DOTA-NHS-ester (141 mg, 281 μmol) 的 DMF (200 μL) 溶液, 随后加入三乙胺 (114 mg, 1.12 mmol)。反应液在 25°C 下搅拌 16 小时。LC-MS 监测有产物 mass。反应液过滤并浓缩, 残渣通过 prep-HPLC (Hilic, 0.2% CH_3COOH) 纯化。得到白色固体式 I 化合物 Carbs (4.00 mg, 3.02% yield, 86.8% purity)。

式 I 化合物的 HPLC 图如附图 4 所示, LC-MS 图如附图 5 所示。

实施例 2

本实施例公开了制备 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸时, DOTA-伊班膦酸的用量考察, 具体为:

取 8 个 EP 管, 向每管依次加入 DOTA-伊班膦酸 (1mg/ml) 5 μg 、10 μg 、15 μg 、20 μg 、25 μg 、30 μg 、35 μg 、40 μg , 分别加入醋酸钠溶液 (0.25M) 1ml, 随后每管分别加入新鲜淋洗的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液 (5mCi/ml) 4ml, 用 0.25 摩尔的醋酸钠溶液和 0.01 摩尔的盐酸调节 pH 值至 5 左右, 充分震荡混匀, 95°C 金属浴下反应 15min, 反应完成冷却至室温后, 每管调节 pH 值为 4-6, 采用 0.22 μm 的滤膜进行灭菌、过滤。随后采用薄层纸层析法 (TLC) 测定 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度, 结果如表 1 所示:

表 1 不同 DOTA-伊班膦酸用量下的放射化学纯度结果

序号	DOTA-伊班膦酸 (μg)	放化纯
1	5	50%
2	10	62%
3	15	83%

4	20	95%
5	25	97%
6	30	96%
7	35	92%
8	40	92%

从表 1 可以看出,在其他条件固定的情况下,当 DOTA-伊班膦酸用量为 20-30 μg 时, ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度最佳,用量低于或高于此范围,放射化学纯度都会逐渐降低。

实施例 3

本实施例对本发明中 pH 值进行了考察,具体为:

取 7 个 EP 管,向每管依次加入 DOTA-伊班膦酸(1mg/ml)25 μg 、醋酸钠溶液(0.25M) 1ml、加入新鲜淋洗的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液(5mCi/ml) 4ml,用 0.25 摩尔的醋酸钠溶液和 0.1 摩尔的盐酸分别调节 pH 值至 2、3、4、5、6、7、8,充分震荡混匀,95 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴下反应 15min,反应完成冷却至室温后,采用 0.22 μm 的滤膜进行灭菌、过滤。随后采用薄层纸层析法(TLC)测定 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度,结果如表 2 所示:

表 2 不同 PH 下的放射化学纯度结果

序号	PH 值	放化纯
1	2	47%
2	3	89%
3	4	92%
4	5	98%
5	6	95%
6	7	27%
7	8	18%

从表 2 可以看出,在 PH 值为 5 时,DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度最佳,PH 值高于或者低于 5 时放射化学纯度逐渐降低,PH 值高于 6 放射化学纯度迅速降低。

实施例 4

本实施例对本发明中醋酸钠用量进行了考察，具体为：

取 8 个 EP 管，每管分别加向每管依次加入醋酸钠溶液（0.25M）0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml、1.0ml、1.2ml、1.4ml、1.6ml，分别加入 DOTA-伊班膦酸（1mg/ml）25 μ g 及新鲜淋洗的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液（5mCi/ml）4ml，用 0.25 摩尔的醋酸钠溶液和 0.1 摩尔的盐酸分别调节 pH 值至 5，充分震荡混匀，95℃金属浴下反应 15min，反应完成冷却至室温后，每管调节 pH 值为 5，采用 0.22 μ m 的滤膜进行灭菌、过滤。随后采用薄层纸层析法（TLC）测定 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度，结果如下表 3 所示：

表 3 不同醋酸钠溶液（0.25M）用量下的放射化学纯度结果

序号	醋酸钠溶液（ml）	放化纯
1	0.2	60%
2	0.4	66%
3	0.6	85%
4	0.8	92%
5	1	96%
6	1.2	94%
7	1.4	91%
8	1.6	84%

从表 3 可以看出，在其他条件不变的情况下，当醋酸钠溶液用量为 0.8-1.4ml 时， ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度最佳，用量低于或高于此范围，放射化学纯度都会逐渐降低。

实施例 5

本实施例对本发明中反应温度及时间进行了考察，具体为：

取 18 个 EP 管，设 A（室温：25±2℃）、B（60℃）、C（95℃）3 组，每组各取 6 管分别标记为 A/B/C_{①-⑥}号，每管预先依次加入 DOTA-伊班膦酸（1mg/ml）25 μ g、醋酸钠溶液（0.25M）1ml 及新鲜淋洗的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液（5mCi/ml）4ml，用 0.25 摩尔的醋酸钠溶液和 0.1 摩尔的盐酸分别调节 pH 值至 5 左右，充分震荡混匀。随后每组 6 管在各组的温度下依次反应 5min、10min、15min、20min、25min、

30min，反应完成冷却至室温后，每管调节 pH 值为 5，采用 0.22 μm 的滤膜进行灭菌、过滤。随后采用薄层纸层析法（TLC）测定 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度，结果如下表 4 所示：

表 4 不同温度及时间下的放射化学纯度结果

温度/时间	5min	10min	15min	20min	25min	30min
25±2℃	40%	52%	56%	65%	70%	72%
60℃	56%	65%	79%	81%	84%	85%
95℃	78%	87%	96%	94%	94%	93%

从表 4 可以看出，在其他条件不变的情况下，当在 95℃下反应 15min 时，⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度最佳，反应时间过长、过短或温度过低，放射化学纯度都会降低。

实施例 6

本实施例公开了本发明的 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸的制备方法，具体为：

取 DOTA-伊班膦酸（25ug）加入 1ml 醋酸钠溶液（0.25M）再加入 0.2ml 新鲜淋洗的 ¹⁷⁷LuCl₃ 洗脱液（约 2.0mci），用 0.25 摩尔的醋酸钠溶液和 0.01 摩尔的盐酸调节 pH 值至 5 左右，在 95℃金属浴中反应 15 分钟，取出用 0.04M 的盐酸调节 pH 至 4.5 左右，反应液过 CM 柱子（除去游离 ¹⁷⁷Lu），再把产品过无菌滤膜，最终得到 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸。

实施例 7

本实施例公开了本发明的 ²²⁵Ac-DOTA-伊班膦酸在新的制备方法，具体为：

取 DOTA-伊班膦酸（25ug）加入 1ml 抗坏血酸溶液（0.1M）及 1ml 柠檬酸钠溶液（0.1M），再加入 100ul 新鲜淋洗的 ²²⁵AcCl₃ 洗脱液（约 0.01mci），用 0.04M 的盐酸调节 pH 至 4.5 左右，在 95℃金属浴中反应 15 分钟，取出用 0.04M 的盐酸调节 pH 至 4.5 左右，再把产品过无菌滤膜，最终得到 ²²⁵Ac-DOTA-伊班膦酸。

实施例 8

本实施例公开了本发明的 ⁶⁴Cu-DOTA-伊班膦酸在新的制备方法，具体为：

取 DOTA-伊班膦酸（25ug）加入 1ml 醋酸钠溶液（0.25M）再加入 1ml 新鲜淋洗的 ⁶⁴CuCl₂ 洗脱液（约 5mci），用 0.04M 的盐酸调节 pH 至 4 左右，在 95℃金属浴中反应 15 分钟，取出用 0.04M 的盐酸调节 pH 至 4 左右，再把产品过无

菌滤膜，最终得到 ^{64}Cu -DOTA-伊班膦酸。

实施例 9

本实施例公开了本发明的 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸在新的制备方法，具体为：

取 DOTA-伊班膦酸 (25ug)，加入 1ml 硼酸钠溶液 (0.25M) 再加入 1ml 新鲜淋洗的 Na^{211}At 洗脱液 (约 1.0mci)，调节 pH 至 7 左右，95℃ 在金属浴中反应 15 分钟，调节 pH 至 7 左右，再把产品过无菌滤膜，最终得到 ^{211}At -DOTA-伊班膦酸。

试验例 1-5 采用的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸为按实施例 2 表 1 编号 5 的方法制备而成。

试验例 1

本试验例公开了本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的体外稳定性实验，具体为：

取 4 个 EP 管，依次标记为①-④号，其中①、②号分别加入生理盐水 0.1ml，③、④号分别加入稀释了 10 倍的新鲜人血清 0.1ml，随后 4 管分别加入新鲜制备的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸 1.0mci，①、③号放置于室温(25±2℃)、②、④号放置于 37℃ 金属浴中孵育，在 10min、30min、1h、2h、3h、4h 分别采用薄层纸层析法 (TLC) 测定①-④号的放射化学纯度，结果如下表 5 所示。

表 5 不同处理方式及处理时间下 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的放射化学纯度

	10min	30min	1h	2h	3h	4h
室温 (生理盐水)	98%	97%	95%	95%	95%	93%
室温 (血清)	99%	99%	99%	96%	96%	93%
37℃ (生理盐水)	99%	96%	96%	92%	90%	87%
37℃ (血清)	99%	97%	96%	92%	88%	82%

从表 5 可以看出， ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸在室温下的体外稳定性较好，室温下在生理盐水和血清中放置 4h 其放射化学纯度仍 >90%。

试验例 2

本试验例公开了本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的脂水分布系数考察，具体为：

取 3 支 5ml 离心管分别编号 A-①、A-②、A-③，向每管中分别加入 0.5ml

正辛醇、0.485ml 去离子水及 0.25ml 约 0.5mci 新鲜制备的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸, 使用旋涡混匀器震荡 20min, 随后以 2000r/min 离心 5min, 分别收集上层液体(有机相)0.1ml 至 3 支对应试管中(分别编号 B-①、B-②、B-③), 并收集下层液体(水相)0.1ml 至 3 支对应试管中(分别编号 C-①、C-②、C-③)。使用 γ 计数器分别测定有机相和水相的放射性总计数, 最后使用公式计算脂水分配系数 $\lg P$ 。

结果表明, 本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的脂水分配系数 $\lg P$ 为-2.33, 表明标记物的水溶性较大, 脂溶性较小。

试验例 3

本试验例公开了本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸的血浆蛋白结合率考察, 具体为:

取肝素抗凝的新鲜人血浆 1ml 备用。取 3 个 EP 管分别编号 A-①、A-②、A-③, 每管分别加入 0.1ml 新鲜人血浆及 0.25ml 约 0.5mci 新鲜制备的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸, 然后分别置于 37℃ 金属浴中孵育 30min。取 3 支 5ml 离心管分别编号 B-①、B-②、B-③, 分别将孵育后的溶液移至对应离心管中, 随后在每支离心管中加入 1ml 的 25% 的三氯乙酸溶液, 充分混匀后以 2000r/min 离心 5min, 分别收集上清液至 3 支对应试管中(分别编号 C-①、C-②、C-③), 重复离心及收集上清液 3 次。使用 γ 计数器分别测定离心管中沉淀和试管中上清液的放射性总计数, 并计算血浆蛋白结合率 (PPB)。

结果表明, 本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸血浆中孵育 30min 后的 PPB 为 81%。血浆蛋白结合率越高, 提示标记物在机体中停留的时间较长, 不易被清除, 能达到较好的显像效果。

试验例 4

本试验例公开了本发明的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸在小鼠中的体内分布考察, 具体为:

取 20 只健康昆明种小鼠(体质量为 18-22g), 随机分为 4 组, 每组 5 只, 雌雄各半, 经尾静脉注射 0.5mci/0.1ml 新鲜制备的 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸, 分别于 15min、30min、1h、2h 后断头处死, 取颈动脉血、脑、心、肝、脾、肺、肾、胃、小肠、肌肉、股骨组织称重, 并使用 γ 计数器测定其放射性计数, 经时间衰减校正后, 计算每克组织百分注射剂量率 (%ID/g)。 ^{68}Ga -DOTA-伊班膦酸在小鼠中的体内分

布结果如下表 6 所示：

表 6 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸在小鼠中的体内分布结果

组织或 器官	%ID/g				
	15min	30h	1h	2h	4h
心	1.037	0.557	0.349	0.216	0.159
肝	0.526	0.658	0.498	0.418	0.325
脾	0.665	0.562	0.332	0.350	0.283
肺	0.869	1.479	0.659	0.477	0.272
肾	4.658	5.391	3.774	2.414	1.023
胃	1.254	1.365	0.964	0.658	0.562
血液	2.635	2.837	1.622	0.452	0.325
脑	0.097	0.063	0.036	0.039	0.061
股骨	2.318	3.346	6.693	8.365	4.268
肌肉	0.472	0.526	0.365	0.194	0.856

由表 6 可以看出，骨骼对 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸摄取率高，在 2h 时达到最大值（8.365 %ID/g）。此后随着时间的延长，在骨骼的摄取有所下降，但至 4h 时，骨骼的每克组织百分注射剂量率仍可达 4.268 %ID/g，明显高于其他脏器及组织，说明 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸在骨骼上的作用较强、停留时间较长，可达到较理想的显像效果。

试验例 5

本试验例公开了本发明的 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸在新西兰兔中不同时间点显像考察，具体为：

取 1 只约 2Kg 的新西兰兔，经耳缘静脉注射新鲜制备的 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸约 1.0mci/0.2ml，分别于注射后 1h、3h 进行 PET 全身显像（图 1）。

由图 1 可以看出，注射后 1h 双肾、膀胱显影明显，胸腔、软组织影较明显，全身骨显像较清晰，四肢关节处显影明显；图 2 显示，随着时间延长，胸腔、软组织影逐渐减退，双肾显影逐渐浅淡并逐渐向膀胱排泄，膀胱影逐渐增浓，且随着尿液排泄膀胱影亦逐渐消退。因此 ⁶⁸Ga-DOTA-伊班膦酸是一个软组织清除较快、骨骼摄取较高、经泌尿系统排泄的显像剂，且它在骨骼上的停留时间相对较长，若将其应用于转移性骨肿瘤患者，将会达到较好的显像效果。

试验例 6

将按实施例 6 的方法制得的 ^{177}Lu -DOTA-伊班膦酸在新西兰兔中不同时间点显像考察，具体为：

取 1 只约 2Kg 的新西兰兔，经耳缘静脉注射新鲜制备的 ^{177}Lu -DOTA-伊班膦酸约 2.0mCi/0.2ml，分别于注射后 1d、3d、5d、7d 进行 PET 全身显像（图 2）。

试验例 7

将按实施例 7 的方法制得的 ^{225}Ac -DOTA-伊班膦酸在新西兰兔中不同时间点显像考察，具体为：

取 1 只约 2Kg 的新西兰兔，经耳缘静脉注射上述最佳标记条件下新鲜制备的 ^{225}Ac -DOTA-伊班膦酸约 0.01mCi/2ml，分别于注射后 1d、3d、5d 进行 PET 全身显像（图 3）。

试验例 8

本试验例公开了本发明的 ^{177}Lu -DOTA-伊班膦酸的在荷瘤鼠（PC-3、H1975、MDA-MB-231 骨转移模型）的治疗作用考察，本试验例所用的 ^{177}Lu -DOTA-伊班膦酸按实施例 6 的方法制得。

（1）荷瘤鼠模型建立：备 24 只 SPF 级雄性裸鼠及 12 只 SPF 级雌性裸鼠，异氟烷麻醉后，消毒其左侧膝关节周围皮肤，弯曲其左后肢，使用胰岛素针（29G 针头）自胫骨头关节窝凹点处垂直胫骨进针，缓慢旋转刺入骨髓腔，注入 25 μl （约 2×10^6 ）PC-3（12 只雄性）、H1975（12 只雄性）、MDA-MB-231（12 只雌性）细胞培养液；随后消毒，用无菌骨蜡封孔，将动物放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 热板上复温，待其复苏后送回笼中继续饲养。

（2）荷瘤鼠模型检定：接种 4 周后，使用 Micro-CT 分别对 36 只裸鼠进行扫描，观察到每只裸鼠皆有不同程度的骨质破坏，并伴不同程度的软组织肿胀，提示骨转移模型造模成功。

（3）不同治疗方法及分组：将 36 只造模成功的荷瘤鼠随机分为 4 组。其中尾静脉注射 ^{177}Lu -DOTA-伊班膦酸低高放射性活度（100 μCi 、500 μCi ）各 2 组，每组 3 只；注射生理盐水空白对照组，分为小大体积组（10 μl 、50 μl ），每组 3 只。

(4) 治疗效果检定及结果:于第 0、7、14、21、28、35 天作自由行走痛行为评分,将其作为荷瘤鼠骨痛缓解的主要指标。在相应时间点将荷瘤鼠置于透明光滑平底塑料盒内,荷瘤鼠可在盒内自由走动,待其适应 30 min 后观察。按如下标准进行痛行为学评分: 0 分,行动正常,模型侧和对照侧后肢的动作相同; 1 分,模型侧后肢轻度跛行; 2 分,模型侧后肢跛行的程度在 1 分和 3 分之间; 3 分,模型侧后肢有严重的跛行; 4 分,模型侧后肢完全不能动作,不能着地。结果如下表 7 所示:

表 7 不同治疗方式及治疗时间下每组各只荷瘤鼠自由行走痛行为评分

	0 天	7 天	14 天	21 天	28 天	35 天
低活度 ¹⁷⁷ Lu-DOTA-伊班膦酸	(2,2,3)	(2,3,3)	(2,3,2)	(2,4,2)	(1,1,2)	(1,/,1)
高等活度 ¹⁷⁷ Lu-DOTA-伊班膦酸	(2,2,2)	(2,2,3)	(2,2,3)	(2,1,2)	(2,1,/)	(1,1,/)
小体积生理 盐水组	(1,3,4)	(2,3,4)	(3,4,/)	(3,/,/)	(/,/,/)	(/,/,/)
大体积生理 盐水组	(4,2,3)	(/,2,3)	(/,3,4)	(/,3,/)	(/,/,/)	(/,/,/)

注: () 代表每一组第 1、2、3 只荷瘤鼠, / 代表荷瘤鼠已死亡。

从表 7 可以看出,以第 0 天为基线,给予高等活度剂量 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸 (500 μ Ci) 治疗后第 5 周,仍存活荷瘤鼠的自由行走痛行为评分的平均降幅在所有组别中最大,且存活数量相对最多;使用不同活度剂量 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸的第 5 周仍存活荷瘤鼠的自由行走痛行为评分的平均降幅都高于相应对照组。

上述结果说明,在荷瘤鼠中给予高等活度剂量的 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸 (500 μ Ci) 进行治疗时,其骨痛缓解程度最大,给药 5 周内的存活率相对最高,且给予不同剂量 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸治疗后的疗效都高于相应对照组,这表明 ¹⁷⁷Lu-DOTA-伊班膦酸在恶性肿瘤骨转移治疗中的可行性及有效性。

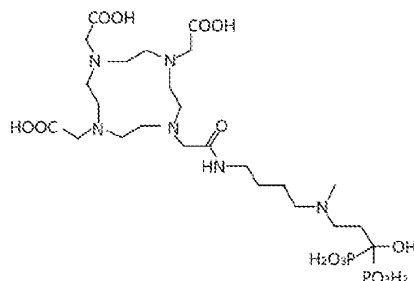
综合上述实施例 1-9 及试验例 1-8, ⁶⁸Ga/¹⁷⁷Lu/²²⁵Ac/⁶⁴Cu/²²¹At -DOTA-伊班膦酸的标记方法简单,反应时间较短,标记产率高,其水溶性较大、室温下体外稳定性较好,血浆蛋白结合率高,在小鼠中的体内分布及新西兰兔的显像中都显示出较高及较长时间的骨骼摄取,表明该研究所发明的制剂是具有优良性能的骨显

像剂及转移性骨肿瘤治疗性放射性药物。

以上所描述的实施例是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。本发明的实施例的详细描述并非旨在限制要求保护的本发明的范围，而是仅仅表示本发明的选定实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

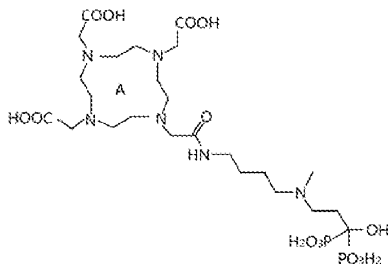
权利要求书

1. 一种结构如式 I 所示的放射性标记物的前体化合物或其药学上可接受的盐，



式 I

2. 一种式 I 化合物的放射性标记物或其药学上可接受的盐，其特征在于，结构如式 II 所示，



式 II

其中 A 为放射性核素，优选为 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{64}Cu 、 ^{221}At 。

3. 根据权利要求 2 所述的放射性标记物或其药学上可接受的盐，其特征在于，其放射化学纯度大于等于 95%。

4. 根据权利要求 1 所述的放射性标记物的前体化合物的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

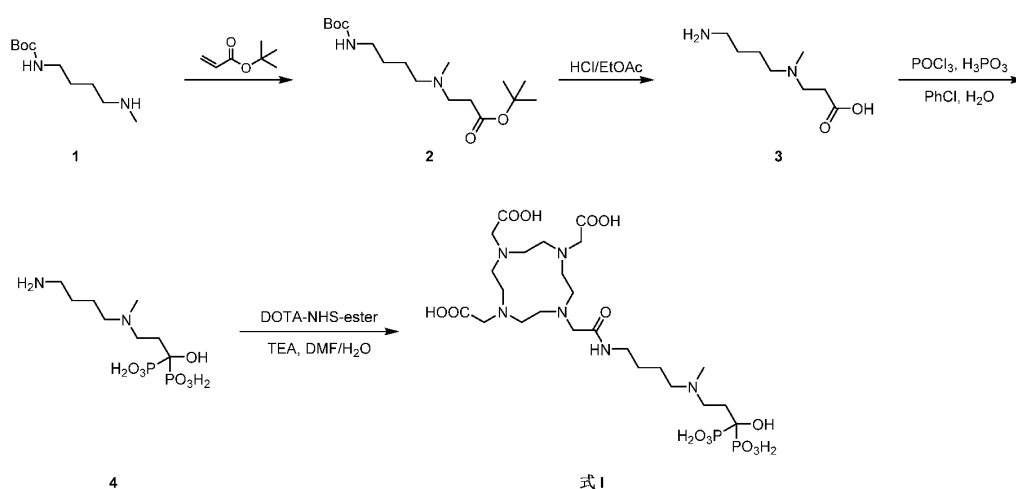
S1. 化合物 1 与丙烯酸叔丁酯反应生成化合物 2；

S2. 化合物 2 的 EtOAc 溶液中滴加 HCl/EtOAc，反应生成化合物 3；

S3. 将化合物 3 加入 pHCl 中，氮气保护下加入 POCl_3 和 H_3PO_3 ，加热反应，冷却后将氯苯溶液倾倒入，加入 H_2O ，加热搅拌，生成化合物 4；

S4. 向化合物 4 的 H_2O 溶液中加入 DOTA-NHS-ester 溶液，随后加入三乙胺，反应生成式 I 化合物；

其反应式如下：



。

5. 根据权利要求 2 或 3 所述的放射性标记物的制备方法，其特征在于，包括：将式 I 化合物与放射性核素盐溶液反应，得到式 II 所示的放射性标记物。

6. 根据权利要求 5 所述的制备方法，其特征在于，放射性核素为 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{64}Cu 时，将式 I 化合物溶液、醋酸钠溶液、及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得；

当放射性核素为 ^{225}Ac 时，将式 I 化合物溶液、柠檬酸钠溶液、抗坏血酸钠溶液及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得；

当放射性核素为 ^{211}At 时，将式 I 化合物溶液、硼酸钠溶液、及放射性核素盐溶液混合均匀，调节混合溶液 pH 值，反应，再次调节 pH 值、灭菌、过滤，即得。

7. 根据权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于，当放射性核素为 ^{68}Ga 时，将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液；随后加入活性为 20mCi 的 ^{68}Ga 盐溶液；混合均匀，调节混合溶液的 pH 值为 4-7，优选为 5；80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应，优选为 95 $^{\circ}\text{C}$ ；反应时间为 10-30min，优选为 15min；反应后调节 pH 值为 5；式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml； ^{68}Ga 盐溶液的浓度为 5mCi/ml~10mCi/ml；

当放射性核素为 ^{177}Lu 时, 将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液, 随后加入活度为 2mCi 的 ^{177}Lu 盐溶液; 混合均匀, 调节混合溶液的 pH 值为 4-7, 优选为 5; 80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 优选为 95 $^{\circ}\text{C}$; 反应时间为 10-30min, 优选为 15min; 反应后调节 pH 值为 4.5; 式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml; ^{177}Lu 盐溶液的浓度为 10mCi/ml $\sim$ 20mCi/ml;

当放射性核素为 ^{225}Ac 时, 将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.1M 的抗坏血酸钠溶液和 0.8-1.4ml 浓度为 0.1M 的柠檬酸钠溶液, 随后加入活度为 0.01mCi 的 ^{225}Ac 盐溶液; 混合均匀, 调节混合溶液的 pH 值为 4-7, 优选为 5; 80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 优选为 95 $^{\circ}\text{C}$; 反应时间为 10-30min, 优选为 15min; 反应后调节 pH 值为 4.5; 式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml; ^{225}Ac 盐溶液的浓度为 0.01mCi/ml $\sim$ 0.02mCi/ml;

当放射性核素为 ^{64}Cu 时, 将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的醋酸钠溶液; 随后加入活度为 5mCi 的 ^{64}Cu 盐溶液; 混合均匀, 调节混合溶液的 pH 值为 4-7, 优选为 5; 80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 优选为 95 $^{\circ}\text{C}$; 反应时间为 10-30min, 优选为 15min; 反应后调节 pH 值为 4; 式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml; ^{64}Cu 盐溶液的浓度为 5mCi/ml $\sim$ 10mCi/ml;

当放射性核素为 ^{211}At 时, 将 20-30 μg 式 I 化合物加入 0.8-1.4ml 浓度为 0.25M 的硼酸钠溶液; 随后加入活度为 1mCi 的 ^{211}At 盐溶液; 混合均匀, 调节混合溶液的 pH 值为 4-7, 优选为 5; 80-100 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 优选为 95 $^{\circ}\text{C}$; 反应时间为 10-30min, 优选为 15min; 反应后调节 pH 值为 7; 式 I 化合物溶液的浓度为 1mg/ml; ^{211}At 盐溶液的浓度为 1.0mCi/ml $\sim$ 2.0mCi/ml。

8. 如权利要求 1 所述的式 I 化合物在制备兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物中的应用。

9. 如权利要求 2 或 3 所述的式 II 化合物在制备兼具显像与治疗转移性骨肿瘤的药物中的应用。