

一种前列腺特异性膜抗原靶向化合物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，具体地涉及一种前列腺特异性膜抗原靶向化合物及其制备标记和应用。

背景技术

前列腺癌是全球范围内男性第二位最常见癌症，在中国是男性第六位最常见癌症。近十年来，中国前列腺癌发病率快速上升，年均增长率已达 12.07%。前列腺癌被形容为“沉默的杀手”，早期不易被发现，约三分之二患者在确诊时已发展至晚期。前列腺特异性膜抗原（PSMA）在前列腺癌细胞中的表达是正常细胞的 100 至 1000 倍，并且在癌症晚期和抗雄性激素治疗的癌细胞中的表达更高，这些特性使 PSMA 成为前列腺癌靶向诊疗的理想靶点。

2020 年 12 月美国食品和药物监督管理局批准了镓 68 标记的 PSMA-11(68Ga-PSMA-11)，这是第一种用于前列腺癌患者 PSMA 阳性病变的 PET 成像诊断剂。随后， ^{177}Lu 标记的 PSMA617 开始应用于 PSMA 阳性病变的治疗研究。作为小分子药物， ^{177}Lu -PSMA617 从血液中洗脱速度过快，这种代谢特性导致肿瘤部位摄取剂量较低、保留时间过短，约 30% 的患者对 ^{177}Lu -PSMA617 治疗没有反应。为了增加递送到肿瘤的剂量，有研究通过将马来酰亚胺修饰的截短型伊文斯兰与含有巯基的 PSMA 连接（ ^{177}Lu -EB-PSMA617），通过结合血液中的白蛋白，显著延长了 PSMA 靶向探针的循环半衰期。虽然这种修饰策略提高了肿瘤摄取剂量和延长肿瘤保留时间，但是后续研究发现了新问题，在接受 ^{177}Lu -EB-PSMA617 (3.52 ± 0.58 GBq) 治疗的患者中，有 37.5% 的患者出现 3-4 级贫血，12.5% 患者出现白细胞减少，37.5% 患者出现血小板减少症（Journal of Nuclear Medicine December 2020, 61 (12): 1772-1778）。这说明 ^{177}Lu -EB-PSMA617 的血液半衰期过长导致了血液毒性和骨髓抑制，尤其是对于前列腺癌骨转移负担重且骨髓功能处于临界状态的患者副作用更为严重。如此严重的副作用会使靶向药物的临床应用价值大打折扣。通过这些研究人们认识到：用于肿瘤治疗的靶向探针的血液循环半衰期并非越长越好，而是在保证肿瘤较高摄取的同时将血液循环时间控制在合理的范围内。

因此，需要进一步优化 PSMA 靶向探针，在满足肿瘤较高摄取的同时将血液循环时间调整至合适的范围，满足核素治疗需求，实现最大治疗获益。

发明内容

基于上述背景，本发明的首要目的在于开发一种的前列腺特异性膜抗原靶向化合物，其具有高肿瘤摄取和适宜的血液循环时间，既能够克服现有的小分子 $^{177}\text{Lu-PSMA617}$ 代谢过快以及靶器官保留时间过短的缺陷，同时也能避免像 $^{177}\text{Lu-EB-PSMA617}$ 那样因血液半衰期过长导致血液毒性和骨髓抑制，由此改善靶向 PSMA 核素诊疗效果，使其真正具有在临床上推广应用的价值和潜力。

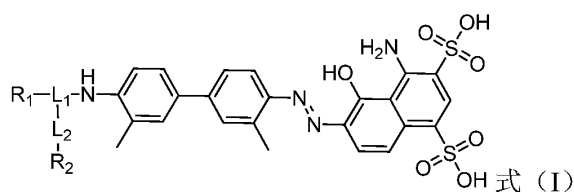
本发明的另一个目的在于提供一种放射性标记的前列腺特异性膜抗原靶向配合物，同样具有高肿瘤摄取和适宜的血液循环时间，可兼备高肿瘤治疗效果和低副作用的优势。

本发明的另一目的在于提供所述放射性标记的前列腺特异性膜抗原靶向配合物的制备方法。

本发明的再一目的是提供所述的配合物在靶向前列腺癌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，本发明提供一种高肿瘤摄取、适宜血液循环时间的前列腺特异性膜抗原靶向化合物，所述的化合物结构如下式(I)所示：

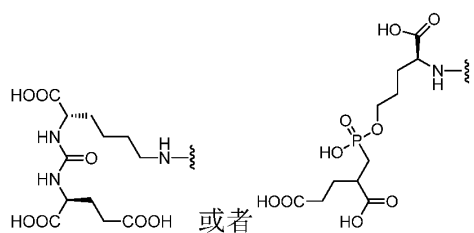


其中:

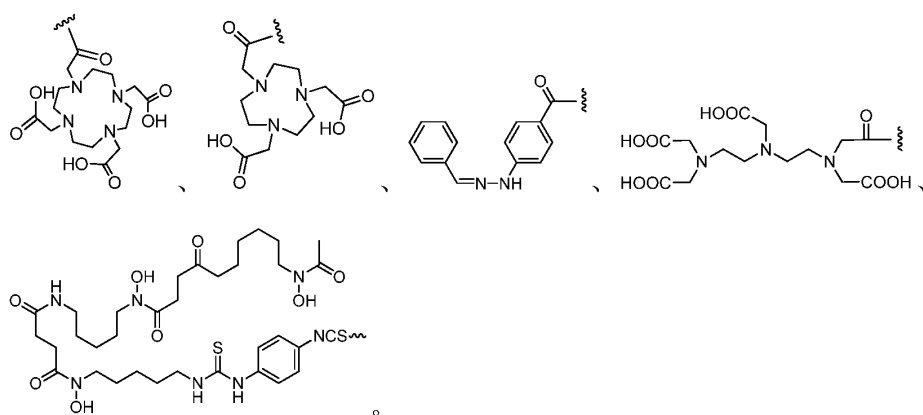
L_1 为 $-(X)_n-(CH_2)_m-(Y)_q-$, 其中 n 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数), X 和 Y 独立的选自赖氨酸、谷氨酸或者含有赖氨酸及谷氨酸的衍生结构, m 是 0 至 60 的整数(优选 0-30 的整数), q 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数), 其中每个 CH_2 可以单独地被 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换;

L₂是-(CH₂)_p-, 其中 p 是 0 至 30 的整数(优选 0-12 的整数), 其中每个 CH₂ 可以单独地用 -O-、-NH(CO)-或-(CO)-NH-替换, 条件是没有两个相邻的 CH₂ 基团被替换;

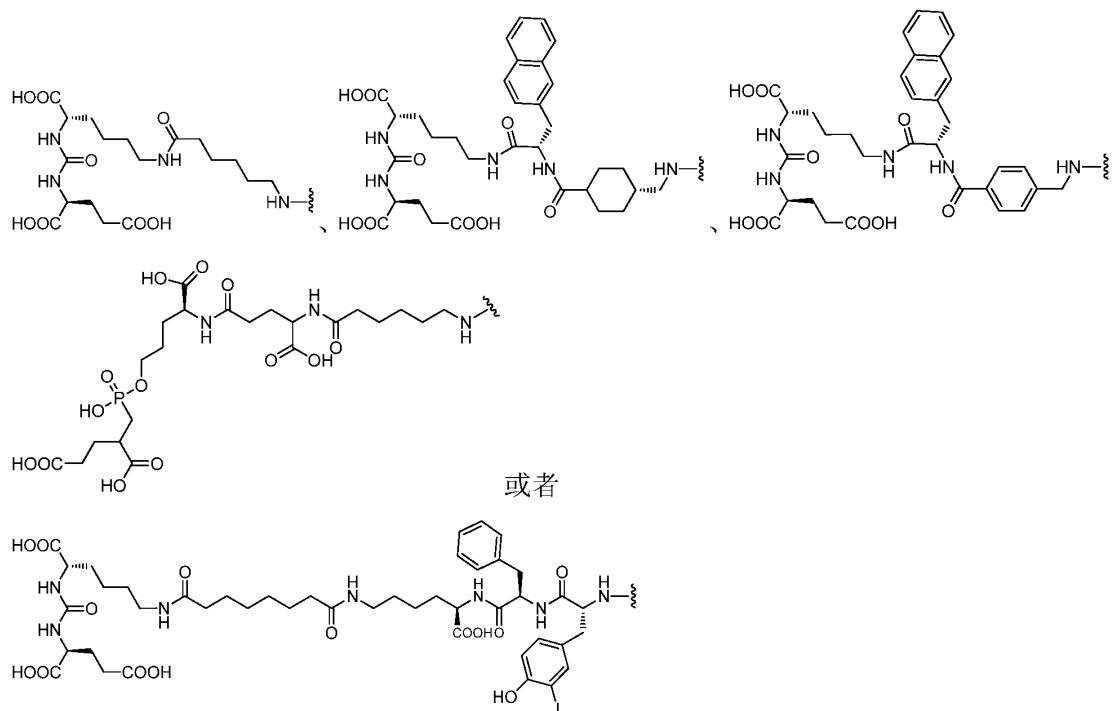
R₁ 来自前列腺特异性膜抗原靶向化合物，其结构中可以包含以下任意一种结构：

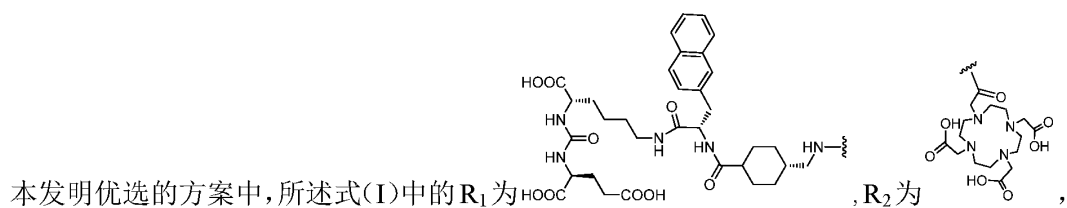


R_2 是核素螯合基团，选自以下任意一种结构：

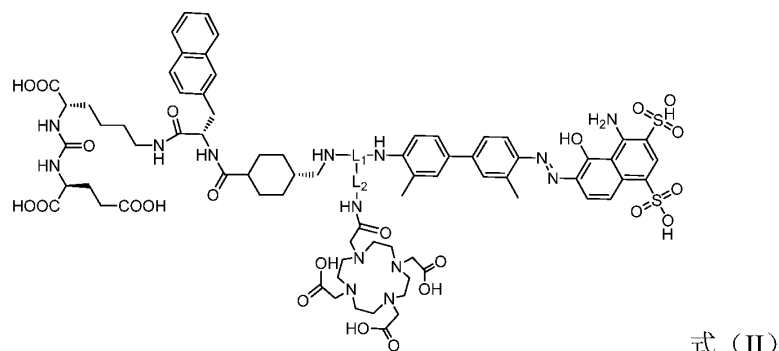


本发明方案中，所述式 (I) 中的 R_1 优先选自：





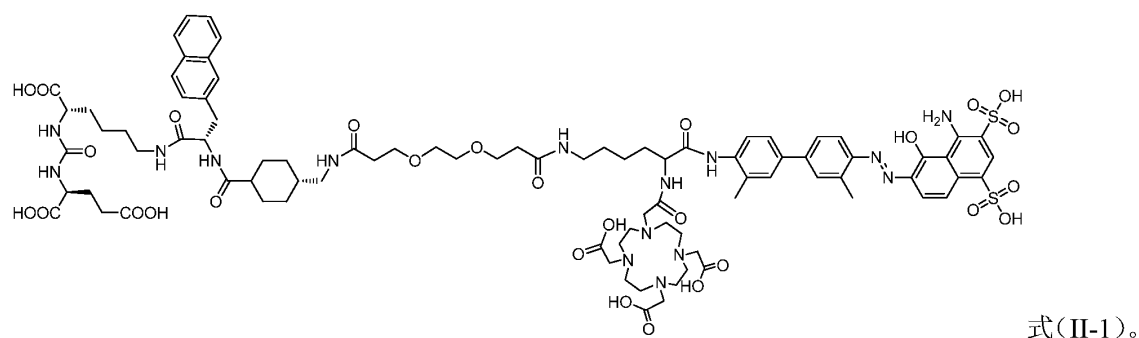
即所述化合物结构如下式 (II) 所示:



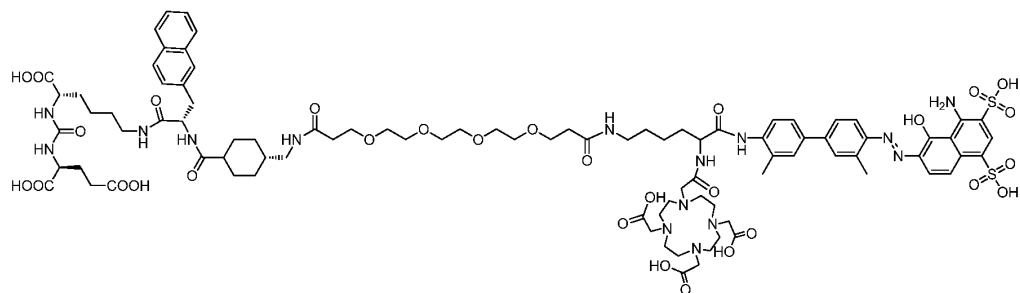
其中 L_1 优先选自:

- Lys-(CO)-CH₂CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
- Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
- Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
- Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₄-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、 -(CO)-CH₂CH₂-(CO)-Lys-、
- (CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-(CO)-Lys-、 -(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₂-(CO)-Lys-、
- (CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₄-Lys-、 -Lys-(CO)-CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
- Lys-(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)-O-CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
- Lys-(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)₃-O-CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、 -(CO)-CH₂-(CO)-Lys-、 或
- (CO)-(OCH₂CH₂)-O-CH₂-(CO)-Lys-、 -(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)₃-O-CH₂-(CO)-Lys-。

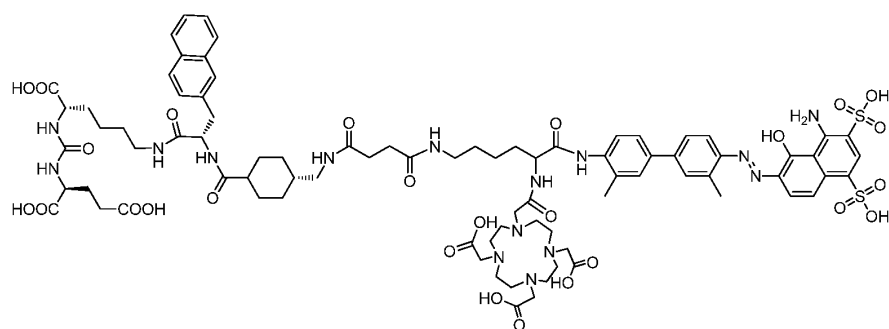
本发明进一步优选的方案中,所述的化合物结构如下式 (II-1) 所示:



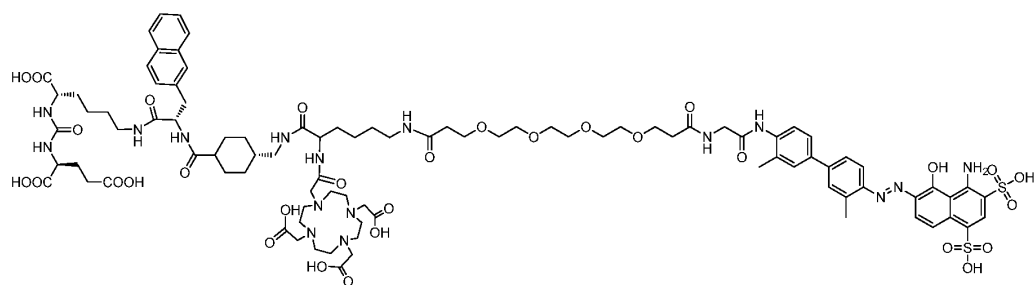
本发明优选的方案中，所述的化合物结构还可以是以下式（II-2）至式（II-8）所示的任意一种：



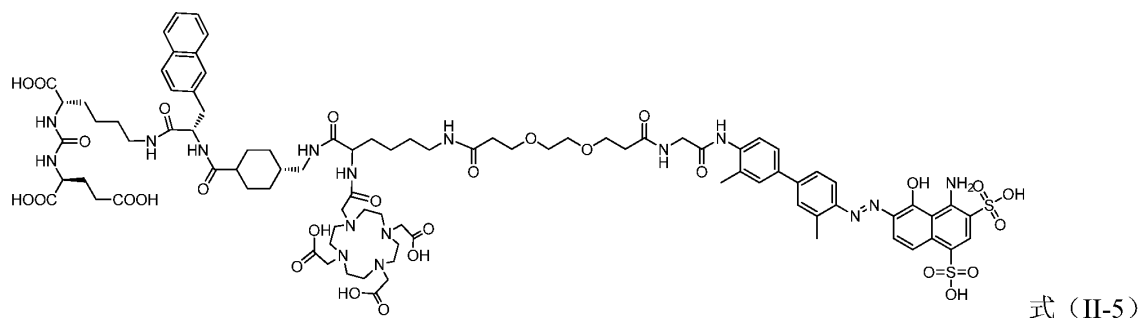
式（II-2）



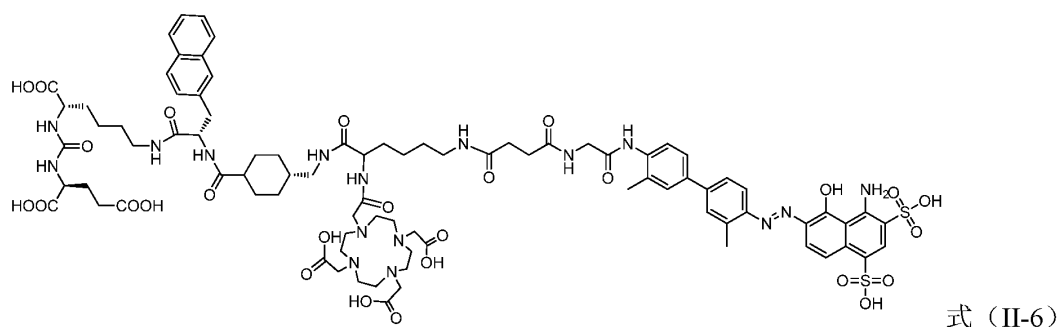
式（II-3）



式（II-4）



或者



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

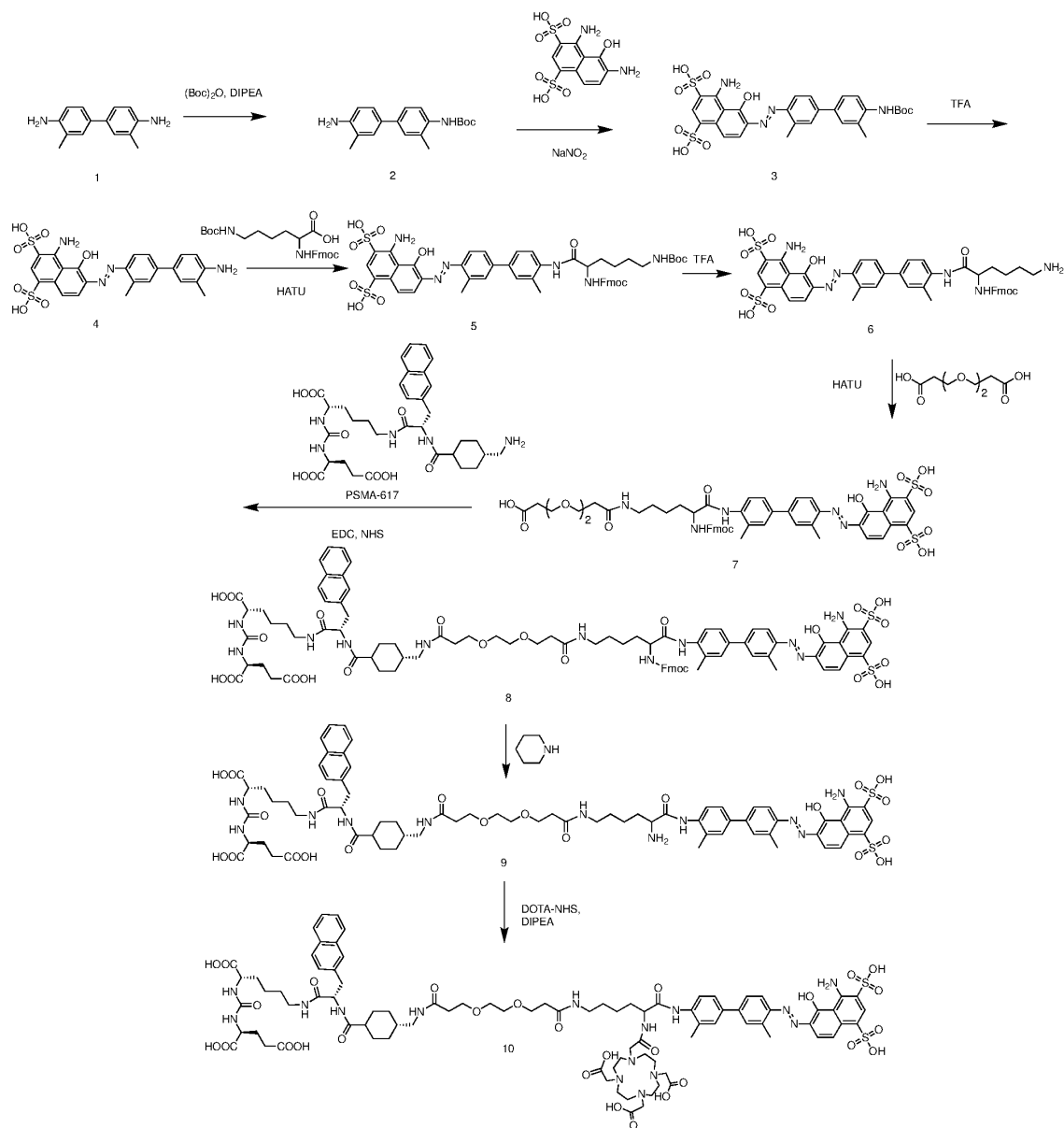
将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯单边引入 Boc 保护, 接着与 4,6-二氨基-5-羟基-1,3-萘二磺酸反应制备截短型伊文思蓝衍生物; 脱去 Boc 保护, 接着与 N α -Fmoc-N ϵ -Boc-L-赖氨酸发生酰胺缩合反应; 接着在 TFA 作用下脱除 Boc 保护基; 然后与 COOH-PEG₂-COOH 反应; 接着在 EDC 与 NHS 的参与下与 PSMA-617 发生反应; 接着利用哌嗪脱除 Fmoc 保护; 最后与 DOTA-NHS 反应, 得到结构如下式 (II-1) 所示的化合物。

本发明优选的制备式 (II-1) 所示化合物的方法, 具体包括以下步骤:

将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯 (化合物 1) 与二碳酸二叔丁酯反应, 得到化合物 2; 化合物 2 与 4,6-二氨基-5-羟基-1,3-萘二磺酸和亚硝酸钠反应, 制得截短型伊文思蓝衍生物 (化合物 3); 化合物 3 脱除 Boc 保护, 得到化合物 4; 化合物 4 与 N α -Fmoc-N ϵ -Boc-L-赖氨酸在 HATU 和 DIPEA 作用下, 发生缩合反应得到化合物 5; 将化合物 5 溶解在三氟乙酸溶液中脱除保护基团, 得到化合物 6; 化合物 6 溶解在 N,N-二甲基甲酰胺中, 在 HATU 参与下与 COOH-PEG₂-COOH 反应, 得到化合物 7; 接着在 EDC 与 NHS 的参与下与 PSMA-617 发生反应, 得到化合物 8; 接着利用哌嗪脱除 Fmoc 保护, 得到化合物 9; 最后与 DOTA-NHS 反应,

得到结构如下式 (II-1) 所示的化合物 10。

上述具体步骤的合成路线如下：

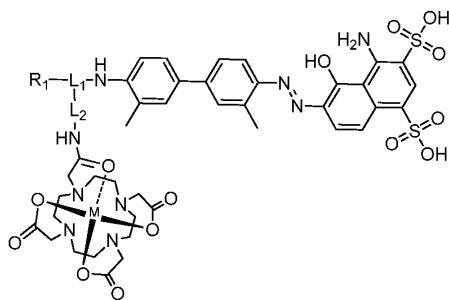


本发明方案中的其它化合物的制备方法与化合物 10 的制备方法类似，基本上可以基于现有常规手段参考化合物 10 的合成路线进行制备。

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 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{18}F 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{89}Sr 、 ^{153}Sm 、 ^{149}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{226}Th 、 ^{227}Th 、 ^{131}I 、 ^{211}At 或 ^{111}In 中的任意一种；优选 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{90}Y 。

本发明优选的所述配合物，其结构如下式 (III) 所示：

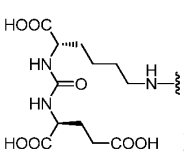
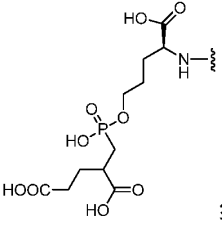


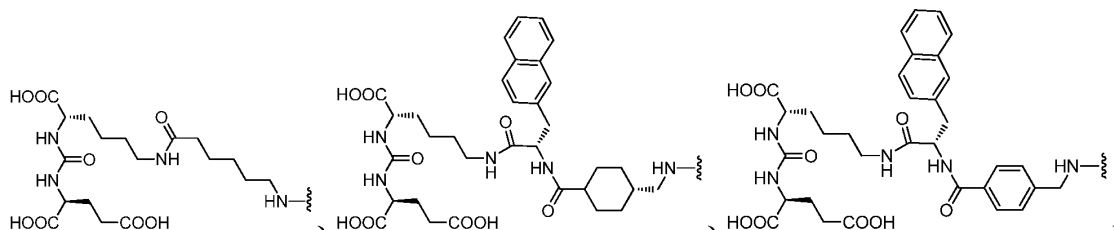
式 (III)

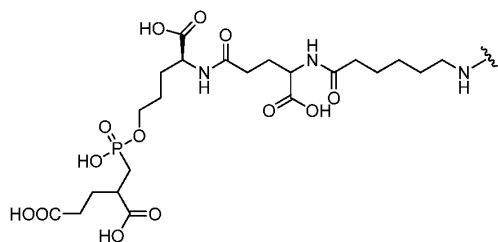
其中，

L_1 为 $-(X)_n-(CH_2)_m-(Y)_q-$ ，其中 n 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数)， X 和 Y 独立的选自赖氨酸、谷氨酸或者含有赖氨酸及谷氨酸的衍生结构， m 是 0 至 60 的整数(优选 0-30 的整数)， q 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数)，其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换；

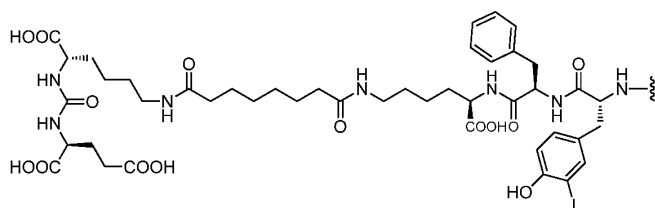
L_2 是 $-(CH_2)_p-$ ，其中 p 是 0 至 30 的整数(优选 0-12 的整数)，其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换，条件是没有两个相邻的 CH_2 基团被替换；

R_1 是一种包含  或者  结构的前列腺特异性膜抗原靶向化合物结构，优先选自：





或者



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

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：

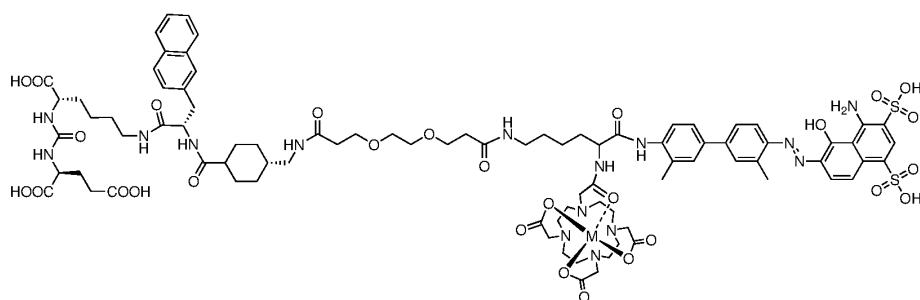
湿法标记方案，包括：将适量本发明所述的式 (I) 化合物溶于缓冲溶液或去离子水中；在所得溶液中加入放射性核素溶液，密闭反应 5-40min，即生成放射性核素标记的配合物；

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 10 为配体，优选的放射性标记化合物 10 的制备方法是湿法标记法，包括以下步骤：将化合物 10 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) 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}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{90}Y 等。

本发明另一种优选的优选的放射性标记化合物 10 的制备方法是冻干法标记法, 包括: 将化合物 10 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) 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}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{90}Y 等。



式 (IV)

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) 所示化合物或其药学上可接受的盐在制备哺乳动物 PSMA 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 (III) 所示放射性标记的配合物在哺乳动物 PSMA 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 PSMA 高表达肿瘤的人类患者或哺乳动物。

本发明提供一种高肿瘤摄取、适宜血液循环时间的前列腺特异性膜抗原靶向化合物, 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适宜的血液循环半衰期、较高的肿瘤摄取摄取和保留时间。这种优异性能是目前其它 PSMA 靶向剂所不具备的, 其适合用作 PSMA 高表达肿瘤的核素治疗和显像。

附图说明

图 1 体现的是使用不同药物在小鼠前列腺癌皮下移植瘤模型中注射 24 小时后的肿瘤摄取结果。

图 2 体现的是在正常小鼠注射实施例 31 化合物、 ^{177}Lu -PSMA 及 ^{177}Lu -EB-PSMA 617 后不同时间点血液摄取比较。

图 3 体现的是在前列腺癌小鼠皮下移植瘤模型注射实施例 31 化合物 24 小时后组织分布结果。

图 4 体现的是在前列腺癌小鼠皮下移植瘤模型注射 ^{177}Lu -EB-PSMA 617 后 24 小时组织分布结果。

图 5 是在正常小鼠注射实施例 31 化合物后不同时间点的 SPECT-CT 成像图。

图 6 是在正常小鼠注射实施例 ^{177}Lu 标记的化合物 II-2 后不同时间点的 SPECT-CT 成像图。

图 7 是在正常小鼠注射 ^{177}Lu 标记的化合物 II-2 后不同时间点血液摄取结果。

图 8 是实施例 1 制备的化合物 10 的质谱图。

图 9 是实施例 3 制备的化合物 II-3 的质谱图。

图 10 是实施例 1 制备的化合物 5 的 HPLC 色谱图。

图 11 是实施例 1 制备的化合物 6 的 HPLC 色谱图。

图 12 是实施例 1 制备的化合物 7 的 HPLC 色谱图。

图 13 是实施例 1 制备的化合物 8 的 HPLC 色谱图。

图 14 是实施例 1 制备的化合物 9 的 HPLC 色谱图。

图 15 是实施例 1 制备的化合物 10 的 HPLC 色谱图。

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：式 (II-1) 化合物 10 的制备

化合物 2 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 2，产率 59%。

化合物 3 的合成:

在 50 mL 烧瓶中分别投入化合物 2 (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 4,6-二氨基-5-羟基-1,3-萘二磺酸 (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 3, 产率 47%。

化合物 4 的合成:

在冰浴条件下, 将化合物 3 (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 4, 产率 73%。

化合物 5 的合成:

在 100 mL 烧瓶中分别投入化合物 4 (0.54g, 1.0mmol)、N α -Fmoc-N ϵ -Boc-L-赖氨酸 (0.46g, 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 5, 产率 57%。

化合物 6 的合成:

使用硫代苯甲醚: 1,2-乙二硫醇 : 苯甲醚 : TFA (5 : 3 : 2 : 90) 在室温下对化合物 5 进行脱除叔丁酯和 Boc 保护, 得到化合物 6。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 7 的合成:

向化合物 6 的 N,N-二甲基甲酰胺中分别加入 COOH-PEG₂-COOH (0.23g, 1.10mmol) HATU (0.38g, 1.0 mmol) 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 (rt. 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 7, 两步产率 50%。

化合物 8 的合成:

在 50 mL 烧瓶中分别投入化合物 7 (0.21g, 0.2mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.04 g, 0.2 mmol), NHS (0.02g, 0.2 mmol) 和以及 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。反应 4h 后, 加入 N,N-二异丙基乙胺 (0.06 g, 0.5mmol) 以及 PSMA-617 (0.13 g, 0.2 mmol)

后,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 8,产率 59%。

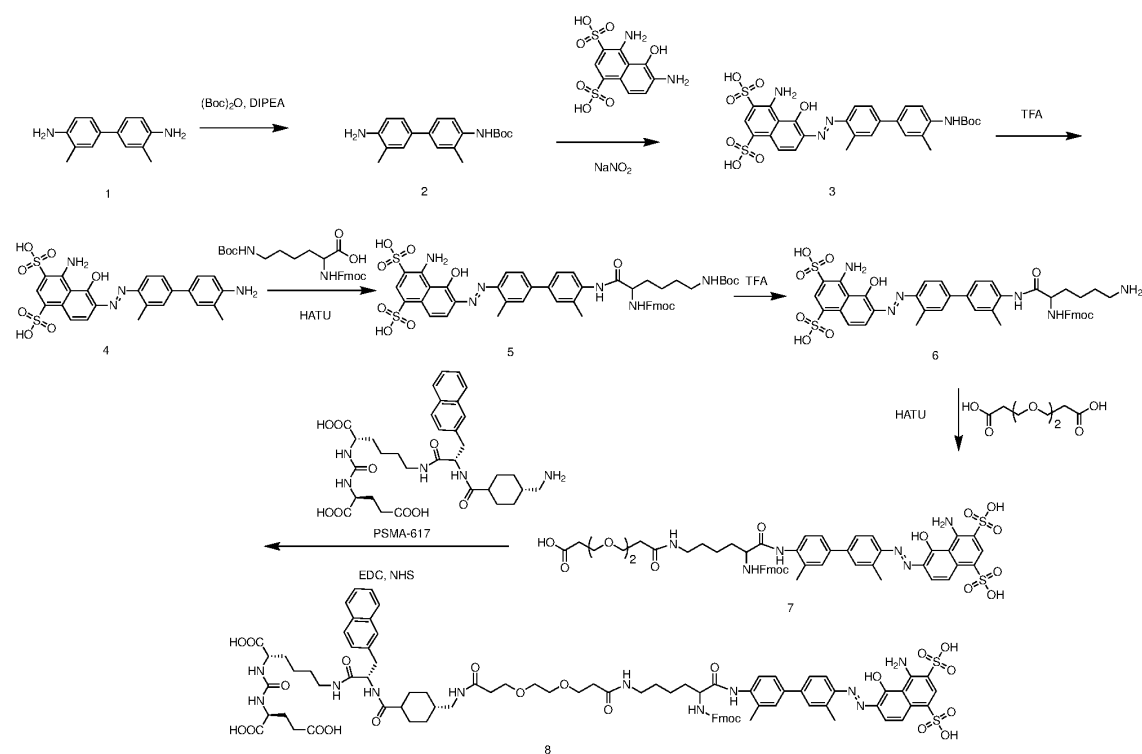
化合物 9 的合成:

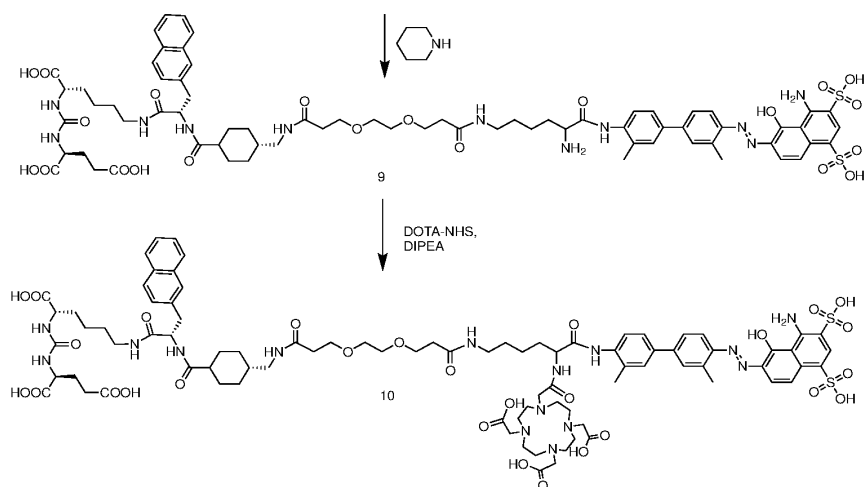
在 25 mL 烧瓶中分别投入化合物 8 (0.16g, 0.1mmol) 和哌啶 (0.08 g, 10.0 mmol) 投入至 5mL DMF 中。通过 HPLC 监测脱保护进程至反应结束 (r.t.为 10.47 分钟),减压蒸馏除去溶剂,得到粗产物。将粗产物经反相柱化,冷冻干燥得到纯的化合物 9,产率 63%。

化合物 10 的合成:

在 25 mL 烧瓶中分别投入化合物 9 (0.13g, 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,冷冻干燥得到纯的化合物 10,产率 61%。对其结构的表征参见图 8。

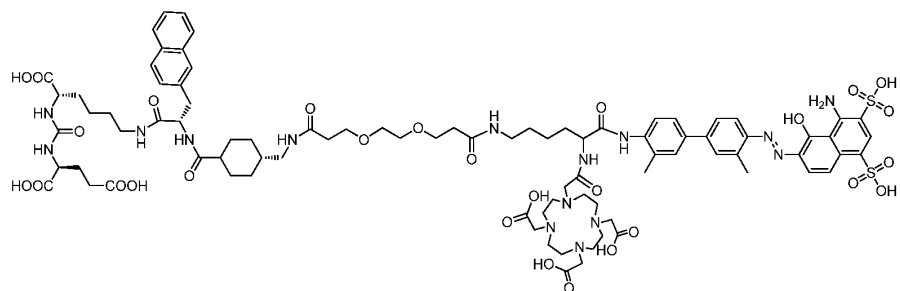
上述步骤合成路线如下:



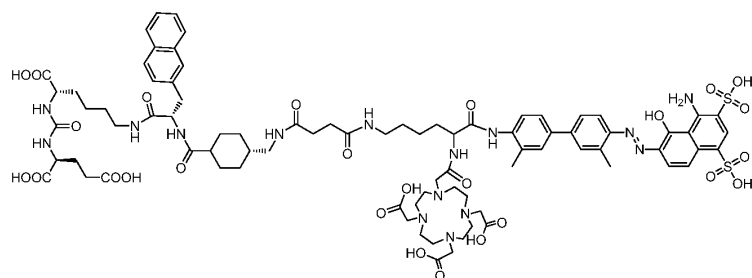


实施例 2-6

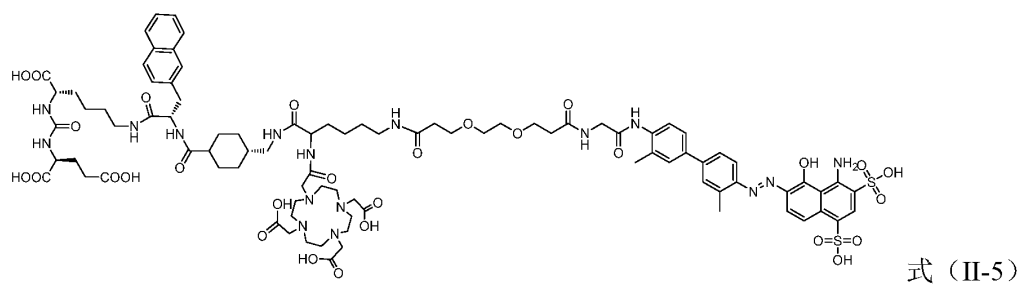
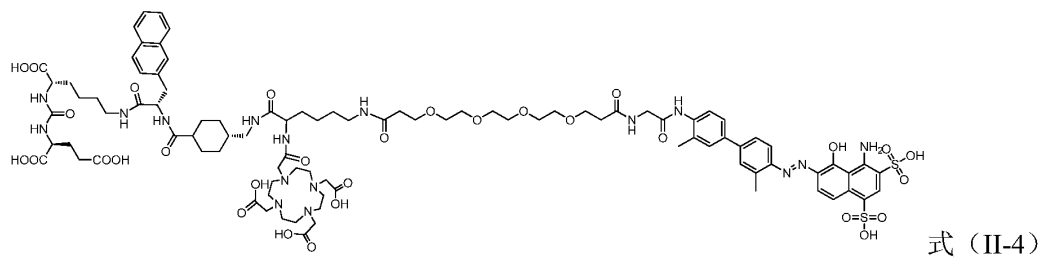
实施例 2-6 的化合物结构如式 (II-2) 至式 (II-6) 所示, 它们的制备方法均可参考实施例 1, 例如, 在式 (II-2) 和式 (II-3) 制备中将实施例 1 中与化合物 6 反应的 $\text{COOH-PEG}_2\text{-COOH}$ 替换成 $\text{COOH-PEG}_4\text{-COOH}$ 、丙二酸或其他合适的化合物; 在式 (II-4) 至式 (II-6) 制备中将实施例 1 中与化合物 4 反应的 $\text{N}\alpha\text{-Fmoc-N}\epsilon\text{-Boc-L-赖氨酸}$ 替换成 Boc 甘氨酸 , 同时替换实施例 1 中与化合物 7 反应的 PSMA-617 为 $\text{PSMA-617-(Fmoc)Lys-}$, 得到如下相应的结构:



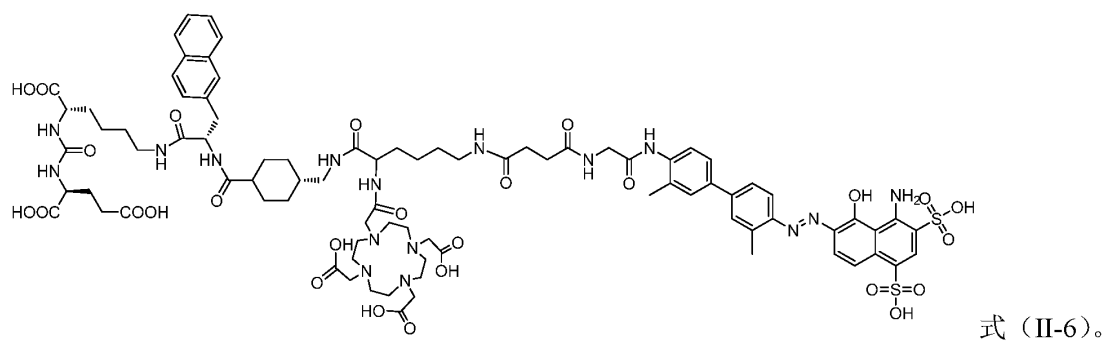
式 (II-2)



式 (II-3)



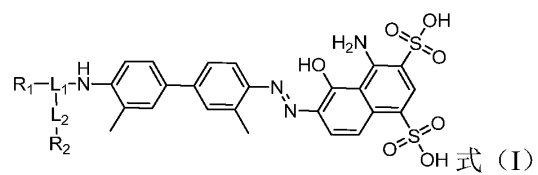
或者



对上述化合物 II-3 结构的表征参见图 9。

实施例 7-30:

参考实施例 1-6 的制备方法, 制备以下式 (I) 表达的化合物:



实施例 编号	R1	R2	L1	L2
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				-
14				
15				
16				
17				

18				-
19				
20				
21				
22				
23				
24				-
25				
26				
27				-
28				

29				-
30				

实施例 31. 一种 Lu-177 标记的配合物的制备:

湿法: 将约 18.5~1850MBq $^{177}\text{LuCl}_3$ 醋酸钠溶液分别加入到含 0.5mL 实施例 1 化合物 10 的醋酸-醋酸盐溶液(1.0g/L)的离心管中, 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 ^{177}Lu 离子, 再用 0.3mL 10 mM 的 HCl 的乙醇溶液淋洗得到 ^{177}Lu 标记的配合物。该淋洗液经生理盐水稀释, 并经无菌过滤后即得 ^{177}Lu 标记的配合物的注射液。

冻干法: 将约 18.5~1850MBq $^{177}\text{LuCl}_3$ 醋酸钠溶液分别加入到含有实施例 1 化合物 10 的冻干药盒中, 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 ^{177}Lu 离子, 再用 0.3mL 10mM 的 HCl 的乙醇溶液淋洗得到 ^{177}Lu 标记的配合物淋洗液。该淋洗液经生理盐水稀释, 并经无菌过滤后即得 ^{177}Lu 标记的配合物的注射液。

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, 3 μm , 4.6 $\times$ 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 5、化合物 6、化合物 7、化合物 8、化合物 9、以及化合物 10 进行鉴定分析。鉴定分析结果分别如图 10、图 11、图 12、图 13、图 14 和图 15 所示。

以下以实施例 31 制备的放射性标记探针为实验用试剂, 其性能测定实验描述如下:

2、 ^{177}Lu 标记的配合物在前列腺癌小鼠皮下移植瘤模型摄取实验

在小鼠前列腺癌皮下移植瘤模型中注射实施例 31 化合物或现有的其他靶向 PSMA 的放

射性探针，并对肿瘤摄取和组织分布结果进行比较。具体方案如下：

将前列腺癌小鼠皮下移植瘤模型（22RV1）随机分为3组，分别是实验组、对照组A和对照组B，每组3只小鼠。

按实施例31的方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu 配合物，该配合物是 ^{177}Lu 标记的实施例1的化合物10，作为本实验的实验组的药物，记作药物B。

按现有方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu -PSMA 617，作为本实验的对照组A的药物，记作药物A。

按照WO2019/165200中实施例8的方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu -EB-PSMA 617，作为本实验的对照组B的药物，记作药物C。

实验组、对照组A和对照组B分别经尾静脉注射5MBq的药物B、药物A和药物C。完成注射的24小时后，处死各组中的小鼠并解剖获得肿瘤组织、血液或其他组织，称重，用 γ 计数器测实验组、对照组A和对照组B样本的放射性计数。测量数据扣除本底，校正衰变时间，然后取平均值。数据表示为每克组织所摄取量占注射剂量的百分比（%ID/g），结果见图1、图3和图4。

由图1可见，本发明实施例31的 ^{177}Lu 配合物(B)在注射后24h肿瘤摄取为 $23.46 \pm 0.63\%$ ID/g，远高于对照组A注射的 ^{177}Lu -PSMA 617 (A)的肿瘤摄取($7.60 \pm 1.22\%$ ID/g)，同时低于对照组B注射的 ^{177}Lu -EB-PSMA 617 (C)的肿瘤摄取($48.97 \pm 7.77\%$ ID/g)。

图3和图4分别为实验组注射本发明实施例31的 ^{177}Lu 配合物(B)和对照组B注射 ^{177}Lu -EB-PSMA 617 (C) 24小时后主要组织的分布，可以观察到，本发明实施例31的 ^{177}Lu 配合物在注射后24h的肾脏摄取(图3)远低于 ^{177}Lu -EB-PSMA 617组(图4)。

3. ^{177}Lu 标记的配合物在正常小鼠中的实验

将正常小鼠随机分为实验一组、实验二组、对照组A和对照组B，每组3只。

按实施例31的方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu 配合物，该配合物是 ^{177}Lu 标记的实施例1的化合物10，作为本实验的实验组一的药物B。

参考实施例31的方法，用实施例2的化合物II-2替换化合物10，制备得到 ^{177}Lu 标记的化合物II-2，作为本实验的实验组二的药物D。

按现有方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu -PSMA 617，作为本实验的对照组A的药物，记作药物A。

按照WO2019/165200中实施例8的方法制备好纯度大于95%的 ^{177}Lu -EB-PSMA 617，

作为本实验的对照组 B 的药物，记作药物 C。

实验一组、实验二组、对照组 A 和对照组 B 分别经尾静脉注射 5MBq 的药物 B、药物 D、药物 A 和药物 C。完成注射的 1 小时后、4 小时后和 24 小时后分别进行血液摄取的测定，结果见图 2 和图 7。在完成注射的 1 小时后、4 小时后、24 小时后和 48 小时后分别进行 SPECT-CT 成像，结果见图 5 和图 6。

由图 2 可见，在所有测试的时间点（1 小时、4 小时和 24 小时），本发明实施例 31 的 ^{177}Lu 配合物（B）在血液中的摄取高于 ^{177}Lu -PSMA 617（A）组但远低于 ^{177}Lu -EB-PSMA 617（C）组。从图 7 与图 2 的对比可以看出，在所有测试的时间点（1 小时、4 小时和 24 小时）， ^{177}Lu 标记的化合物 II-2 在血液中的摄取远低于 ^{177}Lu -EB-PSMA 617（C）组。

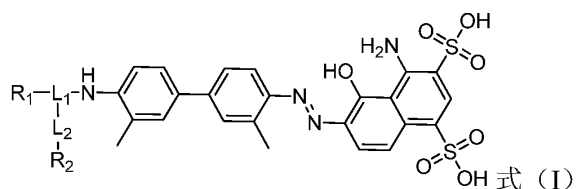
图 5 和图 6 分别为注射实施例 31 的 ^{177}Lu 配合物和 ^{177}Lu 标记的化合物 II-2 的正常小鼠的 SPECT-CT 成像图。

综上所述，与现有的靶向 PSMA 探针相比，本发明提供的前列腺特异性膜抗原靶向化合物不仅具有较高的高肿瘤摄取，更重要的是具有适宜的血液循环时间，使得本发明的放射性核素标记的前列腺特异性膜抗原靶向化合物在治疗前列腺癌时，不仅能够在血液摄取、肿瘤摄取等方面满足治疗需要，而且其血液毒性和骨髓抑制风险大大降低，具有更高的临床推广应用价值，有望应用于前列腺癌的核素治疗和显像。

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围。

权利要求书

1. 一种前列腺特异性膜抗原靶向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 和 L_2 将截短型伊文思蓝、PSMA 靶向化合物和核素螯合基团连接在一起构成, 其结构如下式 (I) 所示

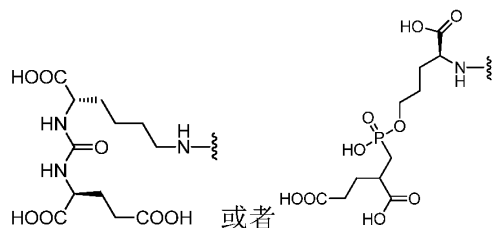


其中:

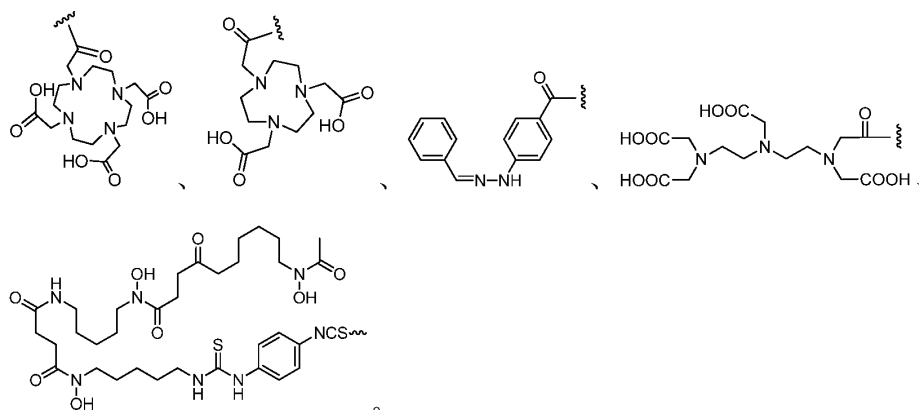
L_1 为 $-(X)_n-(CH_2)_m-(Y)_q-$, 其中 n 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数), X 和 Y 独立的选自赖氨酸、谷氨酸或者含有赖氨酸及谷氨酸的衍生结构, m 是 0 至 60 的整数(优选 0-30 的整数), q 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数), 其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换;

L_2 是 $-(CH_2)_p-$, 其中 p 是 0 至 30 的整数(优选 0-12 的整数), 其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换, 条件是没有两个相邻的 CH_2 基团被替换;

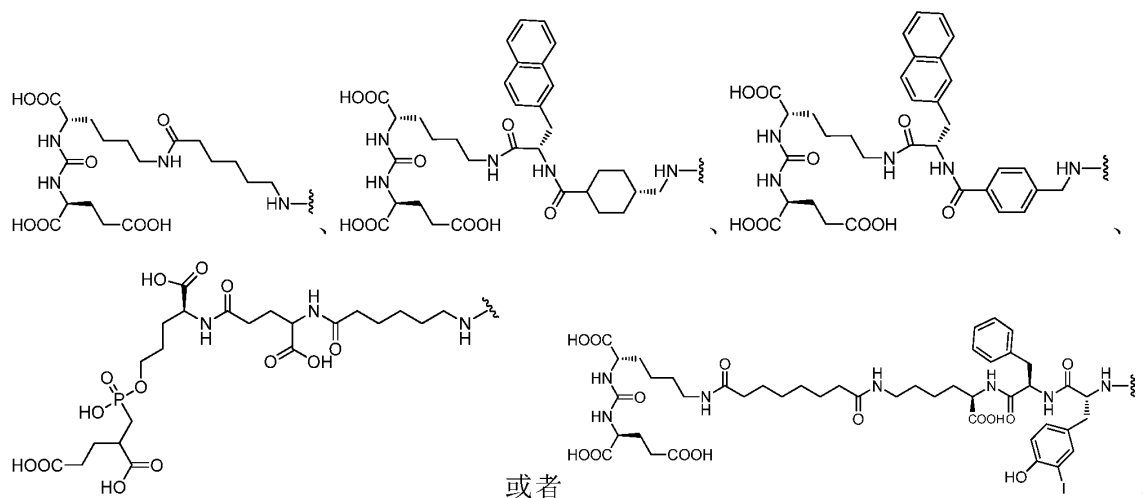
R_1 来自前列腺特异性膜抗原靶向化合物, 是包含以下任意一种结构的化合物结构:



R_2 是核素螯合基团, 选自以下任意一种结构:



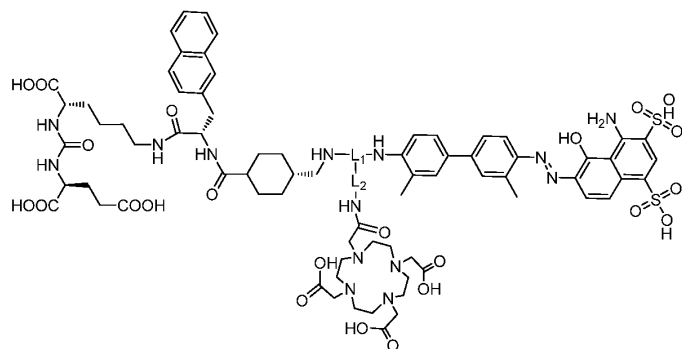
2. 权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述式 (I) 中的 R_1 选自：



3. 权利要求 1 所述的化合物，其特征在于：所述式 (I) 中的 R_1 为



，即所述化合物结构如下式 (II) 所示：



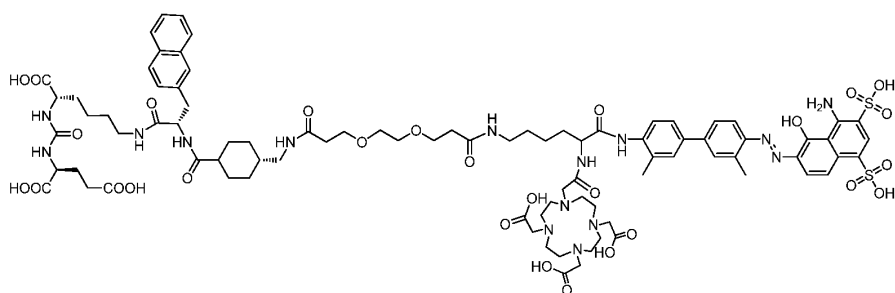
式 (II)

所述式 (II) 中的 L_1 选自：

-Lys-(CO)-CH₂CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、-Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
 -Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、
 -Lys-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₄-(CO)-NH-CH₂-(CO)-、-(CO)-CH₂CH₂-(CO)-Lys-、
 -(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-(CO)-Lys-、-(CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₂-(CO)-Lys-、

- (CO)-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)₄-Lys-, -Lys-(CO)-CH₂-(CO)-NH-CH₂-(CO)-,
 -Lys-(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)-O-CH₂(CO)-NH-CH₂-(CO)-,
 -Lys-(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)₃-O-CH₂(CO)-NH-CH₂-(CO)-, -(CO)-CH₂-(CO)-Lys-, 或
 -(CO)-(OCH₂CH₂)-O-CH₂(CO)-Lys-, -(CO)-CH₂-(OCH₂CH₂)₃-O-CH₂(CO)-Lys-。

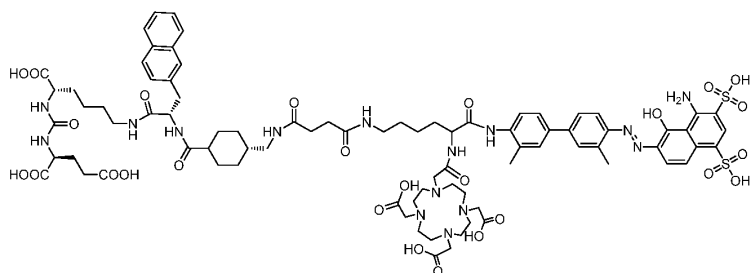
4. 权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于: 所述的化合物结构如下式 (II-1) 所示:



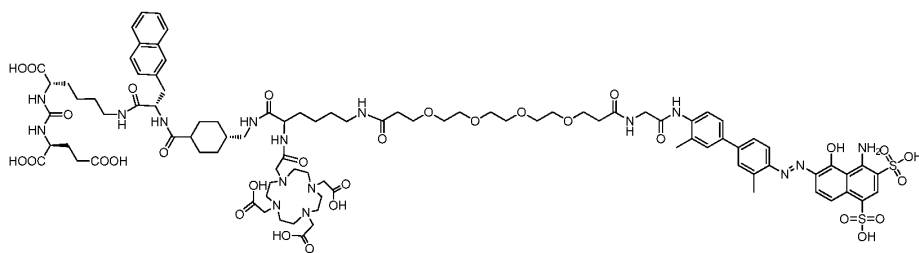
式 (II-1)。

5. 权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于: 所述的化合物结构是以下式 (II-2) 至式 (II-8) 所示的任意一种:

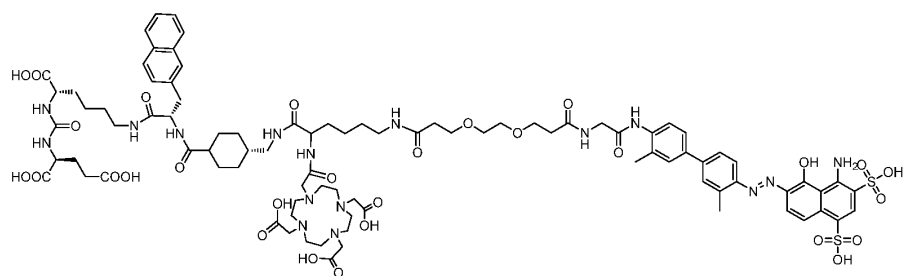
式 (II-2)



式 (II-3)

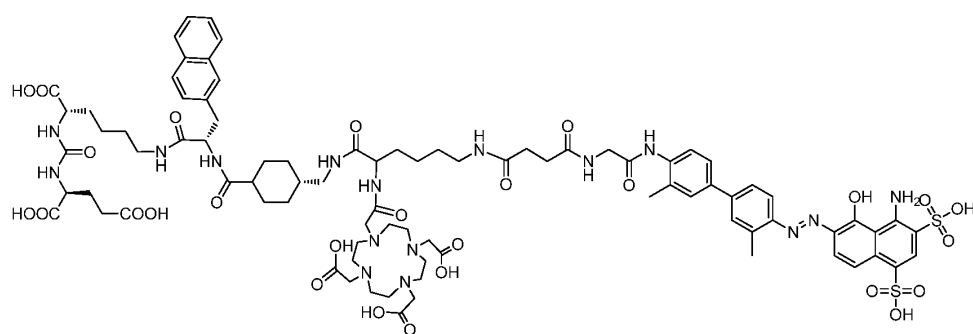


式 (II-4)



式 (II-5)

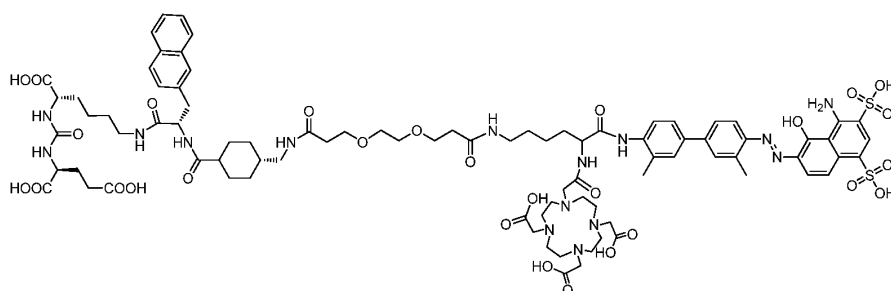
或者



式 (II-6)。

6. 制备前列腺特异性膜抗原靶向化合物的方法, 其特征在于: 包括以下步骤:

将 4,4'-二氨基-3,3'-二甲基联苯单边引入 Boc 保护, 接着与 4,6-二氨基-5-羟基-1,3-萘二磺酸反应制得截短型伊文思蓝衍生物; 脱去 Boc 保护, 接着与 N α -Fmoc-N ϵ -Boc-L-赖氨酸发生酰胺缩合反应; 接着在 TFA 作用下脱除 Boc; 然后与 COOH-PEG₂-COOH 反应酰胺缩合反应; 接着在 EDC 与 NHS 的参与下与 PSMA-617 发生反应; 接着利用哌嗪脱除 Fmoc 保护; 最后与 DOTA-NHS 反应, 得到结构如下式 (II-1) 所示的化合物:

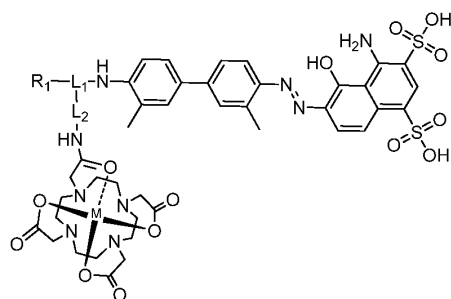


式 (II-1)。

7. 一种放射性标记的前列腺特异性膜抗原靶向化合物, 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 ¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、¹⁸F、⁶⁴Cu、

^{68}Ga 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{89}Sr 、 ^{153}Sm 、 ^{149}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{226}Th 、 ^{227}Th 、 ^{131}I 、 ^{211}At 或 ^{111}In 中的任意一种；进一步优选的放射性核为 ^{68}Ga 、 ^{177}Lu 或 ^{90}Y 。

8. 一种放射性标记的前列腺特异性膜抗原靶向化合物，其结构如下式 (III) 所示：

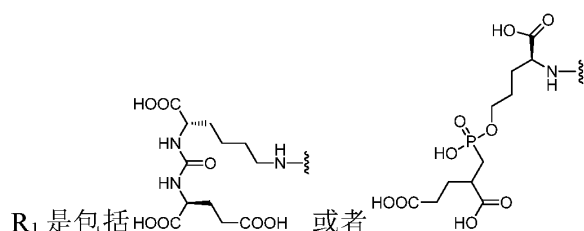


式 (III)

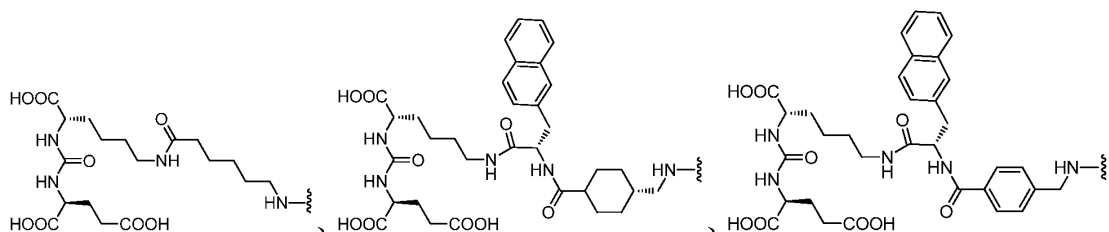
其中，

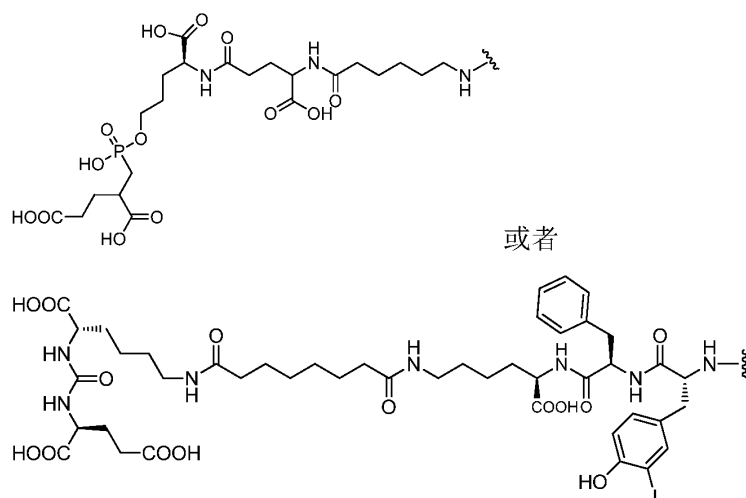
L_1 为 $-(X)_n-(CH_2)_m-(Y)_q-$ ，其中 n 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数)， X 和 Y 独立的选自赖氨酸、谷氨酸或者含有赖氨酸及谷氨酸的衍生结构， m 是 0 至 60 的整数(优选 0-30 的整数)， q 是 0 至 12 的整数(优选 0-6 的整数)，其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换；

L_2 是 $-(CH_2)_p-$ ，其中 p 是 0 至 30 的整数(优选 0-12 的整数)，其中每个 CH_2 可以单独地用 $-O-$ 、 $-NH(CO)-$ 或 $-(CO)-NH-$ 替换，条件是没有两个相邻的 CH_2 基团被替换；



R_1 是包括 结构的 前列腺特异性膜抗原靶向化合物结构，优选自：





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

9. 制备一种放射性标记的前列腺特异性膜抗原靶向化合物的方法，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；

或者包括以下步骤：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。

10. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-8 任意一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

11. 根据权利要求 10 所述的组合物，其特征在于：所述药学上可接受的载体选自粘合剂、缓冲剂、着色剂、稀释剂、崩解剂、乳化剂、调味剂、助流剂、润滑剂、防腐剂、稳定剂、表面活性剂、压片剂或润湿剂，或它们的组合。

12. 一种治疗或诊断哺乳动物中的前列腺癌的方法，包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的权利要求 1-8 任意一项所述的化合物，任选地与一种或多种其他活性成分组合。

13. 根据权利要求 11 所述的方法，其特征在于：所述一种或多种其他活性成分选自一种或多种其他治疗化合物；所述的其他治疗化合物进一步优选抗癌治疗化合物，更优选阿霉素、紫杉醇、多西紫杉醇、顺铂、喜树碱、替莫唑胺、阿瓦斯汀、赫赛汀或爱必妥或它们的组合。