



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
1-0053620
(51)⁷ C07D 295/145; C07B 59/00; A61K (13) B
51/04; A61P 35/00
-

- (21) 1-2016-01203 (22) 17/10/2014
(86) PCT/EP2014/002808 17/10/2014 (87) WO 2015/055318 23/04/2015
(30) 13004991.9 18/10/2013 EP; 14175612.2 03/07/2014 EP
(45) 25/11/2025 452 (43) 25/11/2016 344A
(73) NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland
(72) EDER, Matthias (DE); KOPKA, Klaus (DE); SCHÄFER, Martin (DE); BAUDER-
WÜST, Ulrike (DE); HABERKORN, Uwe (DE); EISENHUT, Michael (DE); MIER,
Walter (DE); BENESOVA, Martina (CZ); KRATOCHWIL, Clemens Walter (DE);
KLIEM, Hans-Christian (DE).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) HỢP CHẤT DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2016-01203

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất dùng để điều trị bệnh ung thư tuyến tiền liệt và/hoặc tình trạng di căn của chúng. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến hợp chất được đánh dấu phóng xạ, phức kim loại chứa nuclit phóng xạ và dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực được phẩm phóng xạ và việc sử dụng chúng trong y học hạt nhân làm chất đánh dấu, chất chụp ảnh và để điều trị các giai đoạn bệnh khác nhau của bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư tuyến tiền liệt (PCa) là bệnh ung thư đứng đầu ở dân số Mỹ và châu Âu. Ít nhất 1-2 triệu đàn ông ở tây bán cầu bị mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt và người ta ước tính rằng cứ sáu người đàn ông trong độ tuổi từ 55 đến 85 thì có một người bị mắc bệnh này. Mỗi năm có hơn 300.000 trường hợp mới được chẩn đoán là mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt ở Mỹ. Tỷ lệ tử vong của bệnh này đứng thứ hai chỉ sau bệnh ung thư phổi. Các phương pháp giải phẫu hiện nay, như chụp cắt lớp vi tính (computed tomography, CT), chụp cộng hưởng từ (magnetic resonance, MR) và siêu âm, là chiếm ưu thế trong phương pháp chụp ảnh lâm sàng bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Ước tính 2 tỷ đô la Mỹ đã được chi ra trên toàn cầu cho việc điều trị bằng phẫu thuật, xạ trị, điều trị thuốc và các điều trị xâm lấn tối thiểu. Tuy nhiên, hiện nay chưa có liệu pháp điều trị hiệu quả cho bệnh ung thư tuyến tiền liệt không phụ thuộc androgen, di căn, tái phát.

Nhiều chất chụp ảnh PCa phân tử lượng thấp thử nghiệm khác nhau hiện đang được nghiên cứu lâm sàng, bao gồm chất tương tự cholin được đánh dấu phóng xạ [^{18}F]florodihydrotestosteron ([^{18}F]FDHT), axit anti-1-amino-3-[^{18}F]floxyclobutyl-1-carboxylic (anti[^{18}F]F-FACBC, [^{11}C]axetat và 1-(2-deoxy-2-[^{18}F]floro-L-arabinofuranosyl)-5-metyluraxil (-[^{18}F]FMAU) (Scher, B.; et al. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2007**, 34, 45-53; Rinnab, L.; et al. *BJU Int* **2007**, 100, 786,793; Reske, S.N.; et al. *J Nucl Med* 2006, 47, 1249-1254; Zophel, K.; Kotzerke, J. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2004**, 31, 756-759; Veas, H.; et al. *BJU Int* **2007**, 99, 1415-1420; Larson, S. M.; et al. *J Nucl Med* **2004**, 45, 366-373; Schuster, D.M.; et al. *J Nucl Med* **2007**, 48, 56-63; Tehrani, O.S.; et al. *J Nucl Med* **2007**, 48, 1436-1441). Mỗi chất hoạt động theo các cơ chế khác nhau và có các ưu điểm nhất định, ví dụ, bài tiết qua nước tiểu thấp đối với [^{11}C]cholin, và các nhược điểm, như chu kỳ bán rã vật lý của nuclid phóng xạ phát xạ pozitron là ngắn.

Đã được biết rõ là các khối u có thể biểu hiện protein đặc trưng kết hợp với kiểu hình ác tính của chúng hoặc biểu hiện quá mức các protein thành phần thông thường ở số lượng lớn hơn so với tế bào bình thường. Việc biểu hiện các protein khác biệt trên bề mặt của tế bào khối u mang lại cơ hội để chẩn đoán và phân tích đặc điểm bệnh bằng cách dò nhận dạng kiểu hình và thành phần hóa sinh và hoạt tính của khối u. Các phân tử có hoạt tính phóng xạ liên kết chọn lọc với protein bề mặt khối u cụ thể, cung cấp phương pháp hứa hẹn trong việc chụp ảnh và điều trị khối u ở điều kiện không xâm lấn. Nhiều loại chất chụp ảnh phân tử lượng thấp mới đây hứa hẹn nhắm đích kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) (Mease R.C. et al. *Clin Cancer Res* 2008, 14, 3036-3043; Foss, C.A.; et al. *Clin Cancer Res* 2005, 11, 4022-4028; Pomper, M.G.; et al. *Mol Imaging* 2002, 1, 96-101; Zhou, J.; et al. *Nat Rev Drug Discov* 2005, 4, 1015-1026; WO 2013/022797).

PSMA là glycoprotein xuyên màng typ II có 750 axit amin được biểu hiện nhiều và giới hạn trên bề mặt của PCa, đặc biệt là ở bệnh di căn và tiến triển không phụ thuộc androgen (Schulke, N.; et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, 100, 12590-12595). Việc không phụ thuộc androgen là quan trọng do gần như tất cả các PCa đều trở nên không phụ thuộc androgen theo thời gian. PSMA có các tiêu chí của một chất mục tiêu triển vọng cho việc điều trị, nghĩa là, sự biểu hiện nhiều và có giới hạn (ở tuyến tiền liệt) ở tất cả các giai đoạn của bệnh, sự trình diện trên bề mặt tế bào nhưng không rơi vào sự tuần hoàn và kết hợp với hoạt tính truyền dẫn tín hiệu hoặc enzym (Schulke, N.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2003, 100, 12590-12595). Gen PSMA nằm ở cánh ngắn của nhiễm sắc thể 11 và có chức năng vừa như folat hydrolaza vừa như neuropeptidaza. Nó có chức năng neuropeptidaza tương đương với glutamat carboxypeptidaza II (GCPII), mà được gọi là “PSMA não (brain PSMA)”, và có thể điều biến sự truyền glutamat bằng cách phân cắt *N*-axetylaspartylglutamat (NAAG) thành *N*-axetylaspartat (NAA) và glutamat (Nan, F.; et al. *J Med Chem* 2000, 43, 772-774). Có tối đa 10^6 phân tử PSMA trên mỗi tế bào ung thư, gợi ý thêm rằng nó là chất mục tiêu lý tưởng để chụp ảnh và dùng cho việc trị liệu bằng các kỹ thuật dựa trên nuclit phóng xạ (Tasch, J.; et al. *Crit Rev Immunol* 2001, 21, 249-261).

Thể liên hợp miễn dịch-phóng xạ của kháng thể đơn dòng kháng PSMA (mAb) 7E11, được biết đến là quét PROSTASCINT®, hiện đang được sử dụng để chẩn đoán bệnh ung thư tuyến tiền liệt di căn và tái phát. Tuy nhiên, chất này có xu hướng tạo ra

các hình ảnh khó diễn giải (Lange, P.H. PROSTASCINT scan for staging prostate cancer. *Urology* **2001**, 57, 402-406; Haseman, M.K.; et al. *Cancer Biother Radiopharm* **2000**, 15, 131-140; Rosenthal, S.A.; et al. *Tech Urol* **2001**, 7, 27-37). Gần đây hơn, các kháng thể đơn dòng đã được phát triển liên kết với miền ngoại bào của PSMA và đã được đánh dấu phóng xạ và được chỉ ra là tích tụ trong mô hình khối u tuyến tiền liệt dương tính với PSMA ở động vật. Tuy nhiên, chẩn đoán và phát hiện khối u sử dụng kháng thể đơn dòng đã bị giới hạn bởi khả năng thâm qua của kháng thể đơn dòng vào khối u rắn là thấp.

Việc nhắm đích chọn lọc các tế bào ung thư bằng dược phẩm phóng xạ, cho mục đích chụp ảnh hoặc điều trị là một thách thức. Nhiều nuclit phóng xạ khác nhau đã được biết là hữu ích để chụp ảnh phóng xạ hoặc xạ trị bệnh ung thư, bao gồm ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{123}I và ^{131}I . Gần đây, người ta đã chỉ ra rằng một số hợp chất chứa yếu tố nhận biết glutamat-ure-glutamat (GUG) hoặc glutamat-ure-lysin (GUL) liên kết với thể liên hợp nuclit phóng xạ-phối tử thể hiện ái lực cao đối với PSMA.

Các chất mới mà sẽ có thể giúp hình dung nhanh chóng bệnh ung thư tuyến tiền liệt và nhắm đích đặc hiệu để cho phép việc xạ trị là cần thiết.

Do đó, mục đích của sáng chế là phát triển các phối tử tương tác với PSMA và mang nuclit phóng xạ thích hợp cung cấp tùy chọn nhắm đích mới và đầy hứa hẹn để phát hiện, điều trị và quản lý bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Giải pháp cho mục đích này đạt được bằng cách đề xuất các phương án được nêu đặc trưng trong phần yêu cầu bảo hộ.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra các hợp chất mới là các dược phẩm phóng xạ hữu dụng và sử dụng chúng trong y học hạt nhân làm chất đánh dấu, chất chụp ảnh và để điều trị các giai đoạn bệnh khác nhau của bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

Chất chụp ảnh mới với các cải biến trong cấu trúc ở vùng liên kết có các tính chất nhằm đích khối u và dược động học được cải thiện. Tính được là ba nhóm carboxylic có khả năng tương tác với chuỗi bên tương ứng của PSMA và oxy là một phần của phức kẽm trong tâm hoạt động. Bên cạnh các tương tác bắt buộc này, các tác giả sáng chế có thể tối ưu hóa các tương tác ưa béo trong vùng liên kết.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Chụp PET MB17

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB17 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15MBq/con chuột. Biểu đồ A thể hiện đường cong hoạt tính-thời gian tương ứng của thận và bàng quang và biểu đồ B thể hiện đường cong hoạt tính-thời gian tương ứng của tim, cơ và khối u. Các giá trị được thể hiện là SUV (standardized uptake values - giá trị hấp thu chuẩn hóa) trung bình.

Fig. 2: Sự phân bố trong cơ quan sau khi tiêm 1 giờ

Sự phân bố trong cơ quan ở thời điểm một giờ sau khi tiêm 0,06nmol chất ức chế PSMA được đánh dấu ^{68}Ga MB17. Chặn PSMA bằng cách sử dụng đồng thời 2mg/kg thể trọng 2-PMPA chỉ ra sự hấp thu đặc hiệu PSMA ở khối u và thận. Dữ liệu được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình % ID/g mô $\pm$ SD (n=3).

Fig. 3: Chụp PET MB4

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB4 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột. Biểu đồ A thể hiện đường cong hoạt tính-thời gian tương ứng của thận và bàng quang và biểu đồ B thể hiện đường cong hoạt tính-thời gian tương ứng của tim, cơ và khối u. Các giá trị được thể hiện là SUV trung bình.

Fig. 4: Sự phân bố trong cơ quan được biểu diễn theo % ID/g mô $\pm$ SD (n=5) 24 h sau khi tiêm 0,06nmol MB17 được đánh dấu ^{177}Lu

Sự phân bố trong cơ quan với ^{177}Lu chỉ ra rằng sự hấp thu ở thận ban đầu cao gần như được rửa sạch hoàn toàn ($2,13 \pm 1,36$ % ID/g) sau 24 giờ trong khi sự hấp thu ở khối u được duy trì cao và thậm chí tăng ($10,58 \pm 4,50$ % ID/g). Các cơ quan khác như gan ($0,08 \pm 0,03$ % ID/g), phổi ($0,11 \pm 0,13$ % ID/g) và lá lách ($0,13 \pm 0,05$ ID/g) cho thấy sự hấp thu rất thấp. Dược động học thuận lợi dẫn đến tỷ lệ khối u-nền cực cao (Khối u/Máu: 1058; Khối u/Cơ: 529) sau 24 giờ.

Fig. 5: Chụp PET MB 2

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB2 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 6: Chụp PET MB 3

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB 3 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 7: Chụp PET MB10

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB10 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 8: Chụp PET MB17.D

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB17.D được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

MB17D: chất đồng phân lập thể của MB17(L); tổng hợp dựa trên Fmoc-3(2-naphtyl)-D-alanin.

Fig. 9: Chụp PET MB22

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất dược động học của [^{68}Ga]MB22 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 10: Chụp PET MB 24

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất

được động học của [^{68}Ga]MB 24 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 11: Chụp PET MB25

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất được động học của [^{68}Ga]MB25 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 12: Chụp PET MB31

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất được động học của [^{68}Ga]MB31 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 13: Chụp PET MB33

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất được động học của [^{68}Ga]MB33 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 14: Chụp PET MB35

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực trụi lông khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất được động học của [^{68}Ga]MB35 được đánh giá bằng quét microPET động lực. Tiêm khoảng 15 MBq/con chuột.

Fig. 15: Quét PET cho chuột được tiêm ^{68}Ga -CHX-DTPA.

Ở bên trái đuôi, chính giữa lưng và phía bên phải của mặt bên. Hình ảnh bao gồm các khoảng thời gian 20-40 phút (đỉnh), 40-60 phút (giữa) và 120-140 phút (đáy).

Fig. 16: MB-17 so với MB-17.D

Hình ảnh microPET vành toàn bộ cơ thể của chuột đực khuyết tuyến ức mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Hiệu quả nhắm đích khối u và các tính chất được động học của chất đồng phân lập thể MB-17 và MB-17 D được so sánh trực tiếp tại thời

điểm 2 giờ sau khi tiêm.

Fig. 17: Chụp PET/CT MB17 được đánh dấu ^{68}Ga ở người

(a) Thử nghiệm lâm sàng đầu tiên với PET/CT MB17 được đánh dấu ^{68}Ga chứng minh việc phát hiện các di căn hạch bạch huyết nhỏ 1 giờ sau khi tiêm, chủ yếu do sự hấp thu chất chỉ thị phóng xạ cao. Mỗi tên đồ chỉ tổn thương đại diện với SUV tối đa là 36,5 và tỷ lệ khối u-nền là 52,1 một giờ sau khi tiêm. MIP = chiếu cường độ tối đa của PET 1 giờ sau tiêm.

(b) Ưu điểm lớn của PET/CT MB17 được đánh dấu ^{68}Ga là phát hiện nhạy các tổn thương ngay cả ở mức PSA thấp.

Fig. 18: Chụp PET bệnh nhân bị bệnh ung thư tuyến tiền liệt di căn đa tuyến

(a) Lần quét đầu tiên chứng minh rằng việc chụp PET ban đầu cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt di căn đa tuyến với giá trị PSA trong máu là 14. Hai tháng sau, 3,3 GBq của MB17 được đánh dấu ^{177}Lu được sử dụng. Ở thời điểm này, lượng PSA trong máu đạt giá trị 38. Sau chu kỳ đầu tiên, mức PSA giảm xuống 8. Ba tháng sau chu kỳ đầu tiên, thêm 4GBq của MB17 được đánh dấu ^{177}Lu được sử dụng. Thực hiện quét PET kiểm soát một tháng sau chu kỳ thứ hai. Việc điều trị đã thể hiện tác động đáng kể lên tổn thương khối u và giá trị PSA và dẫn đến việc giảm thương tổn xương.

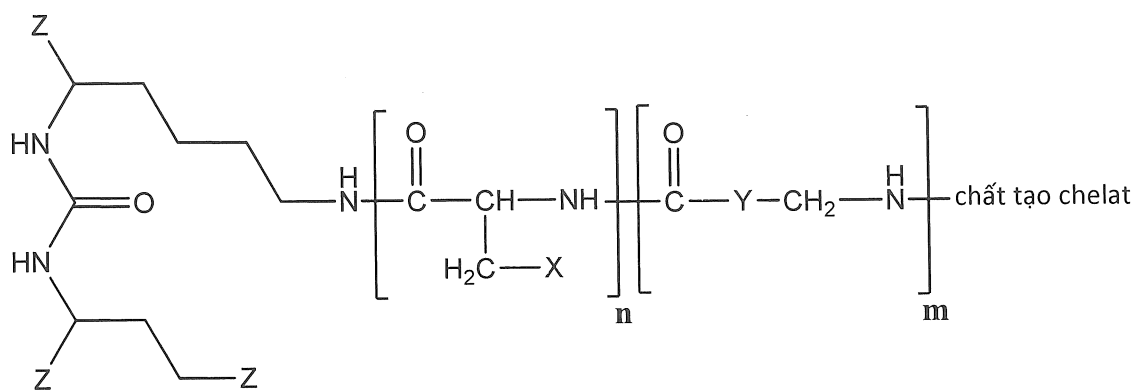
(b) Biểu đồ chứng minh tác động đáng kể lên giá trị PSA mà giảm sau khi sử dụng lần đầu liệu trị liệu của MB17 được đánh dấu ^{177}Lu .

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến được phẩm phóng xạ và sử dụng chúng trong y học hạt nhân làm chất đánh dấu, chất chụp ảnh và để điều trị các giai đoạn bệnh khác nhau của bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

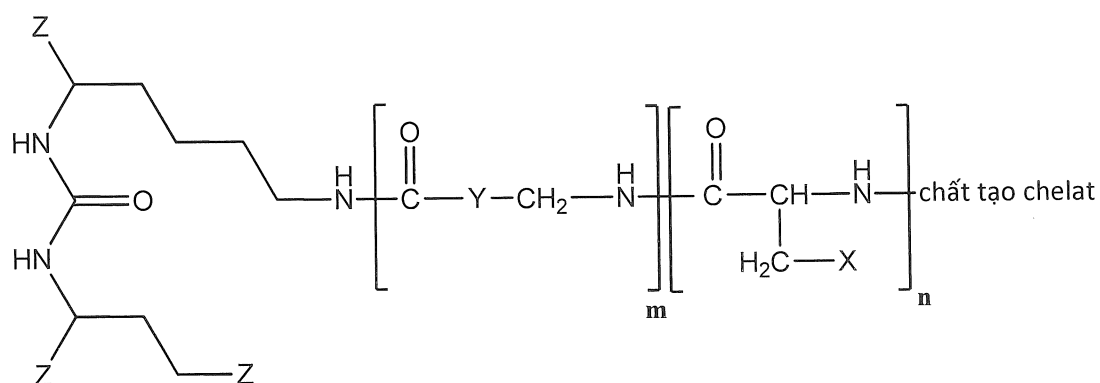
Do đó, sáng chế đề cập đến hợp chất được biểu diễn bằng công thức chung (Ia) hoặc (Ib):

Công thức (Ia)



hoặc

Công thức (Ib)



trong đó:

n:	0,1
m:	1,2,3,4
Z:	-CO ₂ H, -SO ₂ H, -SO ₃ H, -SO ₄ H, -PO ₂ H, -PO ₃ H, -PO ₄ H ₂
X:	Naphtyl, Phenyl, Biphenyl, Indolyl (=2,3-benzopyrolyl), Benzothiazolyl
Y:	Aryl, Alkylaryl, Xyclopentyl, Xyclohexyl, Xycloheptyl
Gốc chất tạo chelat gồm:	axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-N,N',N'',N'''-tetraaxetic (= DOTA), axit N,N''-bis[2-hydroxy-5-(carboxyetyl)benzyl]etylendiamin-N,N''-diaxetic (= HBED-CC), axit 1,4,7-triazaxyclononan-1,4,7-triaxetic (= NOTA), axit 2-(4,7-bis(carboxymetyl)-1,4,7-triazonan-1-yl)pentandioic (NODAGA),

	axit 2-(4,7,10-tris(carboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-1-yl)pentandioic (DOTAGA), axit 1,4,7-triazaxyclononan phosphinic (TRAP), 1,4,7-triazaxyclononan-1-[axit metyl(2-carboxyetyl)phosphinic]-4,7-bis[axit metyl(2-hydroxymetyl)phosphinic] (NOPO), axit 3,6,9,15-tetraazabixyclo[9.3.1.]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triaxetic (= PCTA), N'-{5-[Axetyl(hydroxy)amino]pentyl}-N-[5-({4-[(5-aminopentyl)(hydroxy)amino]-4-oxobutanoyl}amino)pentyl]-N-hydroxysuxinamit (DFO), axit diethylentriaminepentaaxetic (DTPA) axit trans-xyclohexyl-diethylentriaminpentaaxetic (CHX-DTPA) axit 1-oxa-4,7,10-triazaxyclododecan-4,7,10-triaxetic (oxo-Do3A) p-isothioxyanatobenzyl-DTPA (SCN-Bz-DTPA) 1-(p-isothioxyanatobenzyl)-3-metyl-DTPA (1B3M) 2-(p-isothioxyanatobenzyl)-4-metyl-DTPA (1M3B), hoặc 1-(2)-metyl-4-isoxyanatobenzyl-DTPA (MX-DTPA)
--	---

Nếu không được chỉ định khác, trong sáng chế này, gốc “alkyl” (tốt hơn nếu là C₁ đến C₁₀) có thể là mạch thẳng hoặc nhánh, được thế hoặc không được thế. Tốt hơn nếu gốc alkyl là metyl, etyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, tert-butyl, n-pentanyl, n-hexanyl. Điều này cũng được áp dụng tương tự cho hợp chất xycloalkyl tương ứng, tốt hơn nếu có từ 3 đến 10 nguyên tử cacbon.

“Aryl” chỉ hệ vòng thơm một vòng hoặc nhiều vòng có 6 đến 14 nguyên tử cacbon, tốt hơn nếu có từ 6 đến 10 nguyên tử cacbon. Nhóm aryl có thể được thế, khi thích hợp, bằng một hoặc một số phần tử thế của vòng, như nhóm alkyl. Nhóm aryl được ưu tiên là phenyl, benzyl hoặc naphthyl.

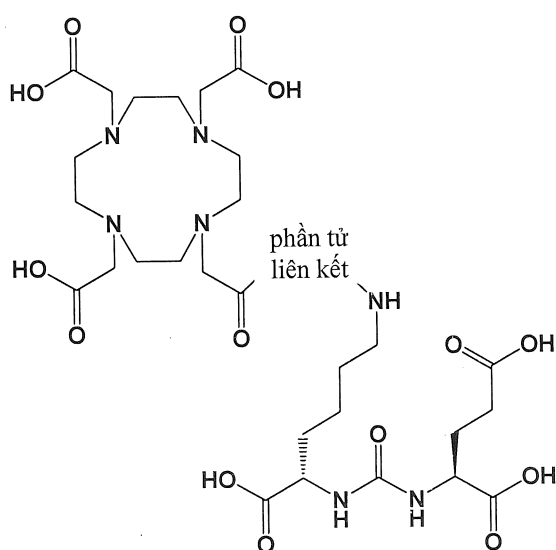
Mặc dù ưu tiên là nhóm Z là $-\text{CO}_2\text{H}$, nó có thể dễ dàng được thay thế bằng các thay thế không gian sinh học (biosteric) chẳng hạn như $-\text{SO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_4\text{H}$, $-\text{PO}_2\text{H}$, $-\text{PO}_3\text{H}$, $-\text{PO}_4\text{H}_2$, xem ví dụ “The Practice of Medicinal Chemistry” (Academic Press New York, 1996), trang 203.

Nằm trong định nghĩa của sáng chế, tất cả các gốc được xem là có thể kết hợp trừ khi có chỉ định khác trong khái niệm về các gốc đó. Tất cả các phân nhóm có thể có của chúng được xem là được bộc lộ.

Theo phương án được ưu tiên, môtip liên kết đặc hiệu với màng tế bào của tế bào ung thư là môtip liên kết đặc hiệu với màng tế bào của tế bào ung thư, tốt hơn nếu trong đó môtip này bao gồm kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (prostate-specific membrane antigen, PSMA), cụ thể trong đó PSMA này chứa môtip glutamat-ure-lysin theo công thức sau đây trong Sơ đồ 1.

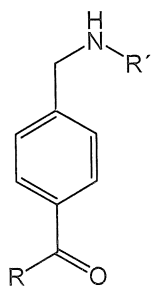
Do đó, các phân tử được ưu tiên theo sáng chế gồm ba thành phần chính (Sơ đồ 1): môtip liên kết PSMA ưa nước (gốc Glu-Ure-Lys; = Glu-NH-CO-NH-Lys), phân tử liên kết biến đổi và chất tạo chelat tốt hơn là gốc DOTA.

Sơ đồ 1: Cấu trúc của hợp chất được ưu tiên theo sáng chế



Phần tử liên kết được ưu tiên khác được nêu ở dưới đây, trong đó R= gốc Glu-

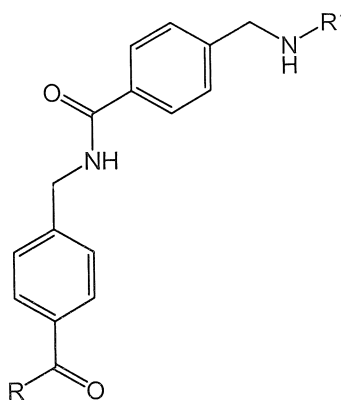
ure-Lys và R'=gốc DOTA (là ví dụ được ưu tiên về chất tạo chelat), như được nêu ở trên.



Phân tử liên kết MB2

Công thức hóa học: $C_{36}H_{54}N_8O_{15}$

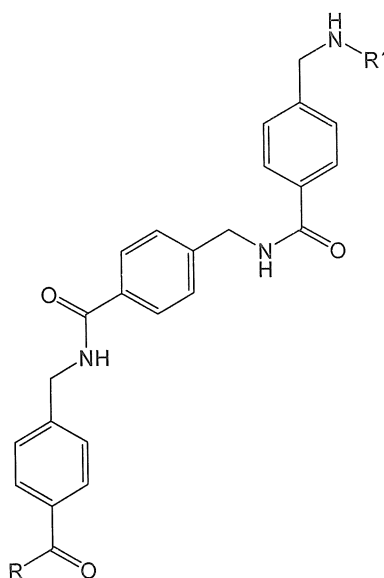
Phân tử lượng: 838,88 g/mol



Phân tử liên kết MB3

Công thức hóa học: $C_{44}H_{61}N_9O_{16}$

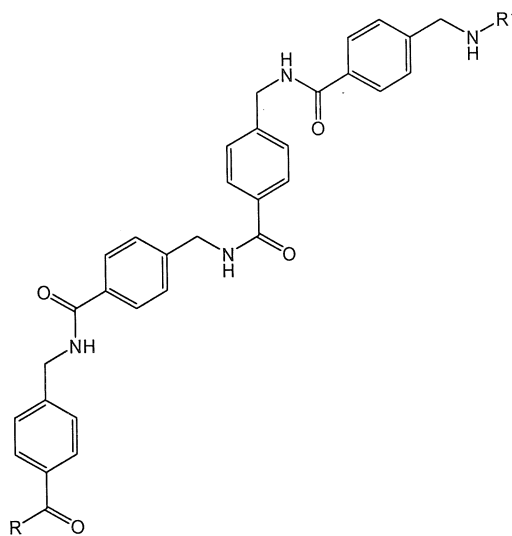
Phân tử lượng: 972,03 g/mol



Phân tử liên kết MB4

Công thức hóa học: $C_{52}H_{68}N_{10}O_{17}$

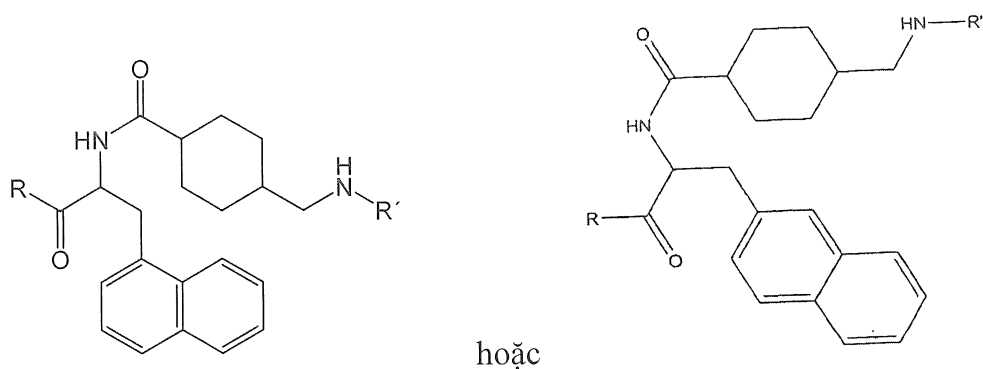
Phân tử lượng: 1105,18 g/mol



Phân tử liên kết MB10

Công thức hóa học: $C_{65}H_{70}N_{11}O_8$

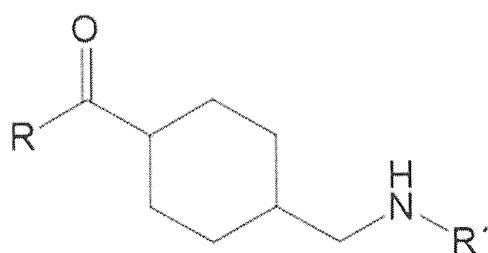
Phân tử lượng: 1238,33 g/mol



Phần tử liên kết MB 17

Công thức hóa học: $C_{49}H_{71}N_9O_{16}$

Phân tử lượng: 1042,16 g/mol

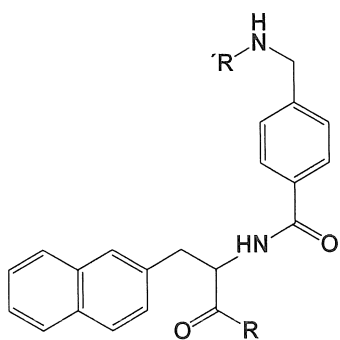


Phần tử liên kết MB22

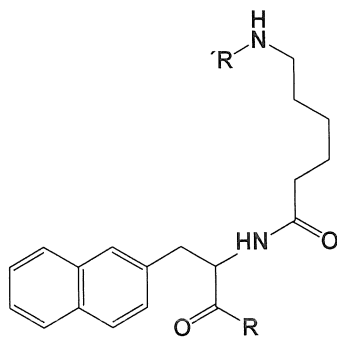
Công thức hóa học: $C_{36}H_{60}N_8O_{15}$

Phân tử lượng: 844,92 g/mol

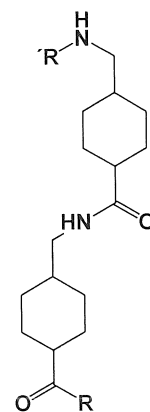
MB24



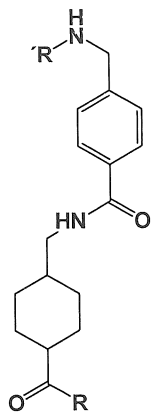
MB25



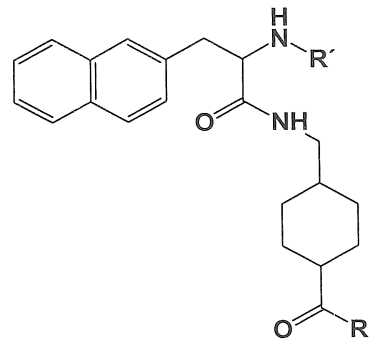
MB31



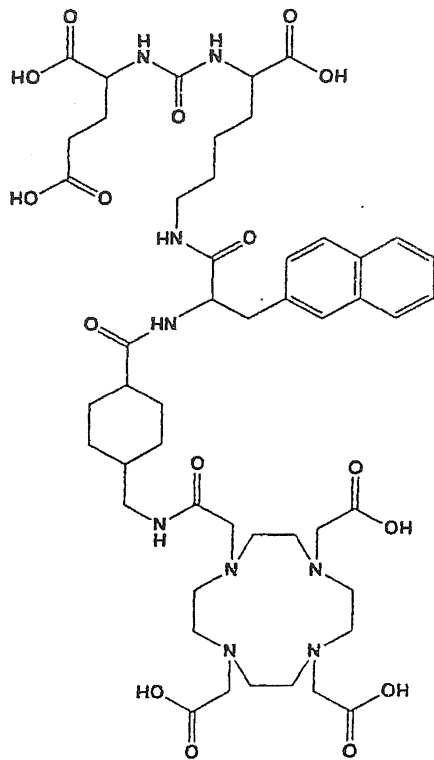
MB33



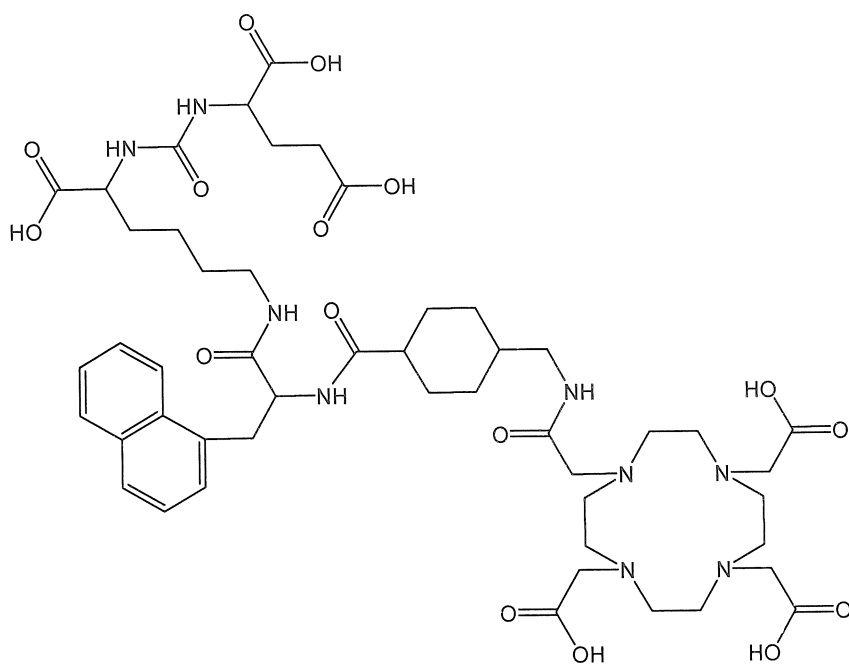
MB35



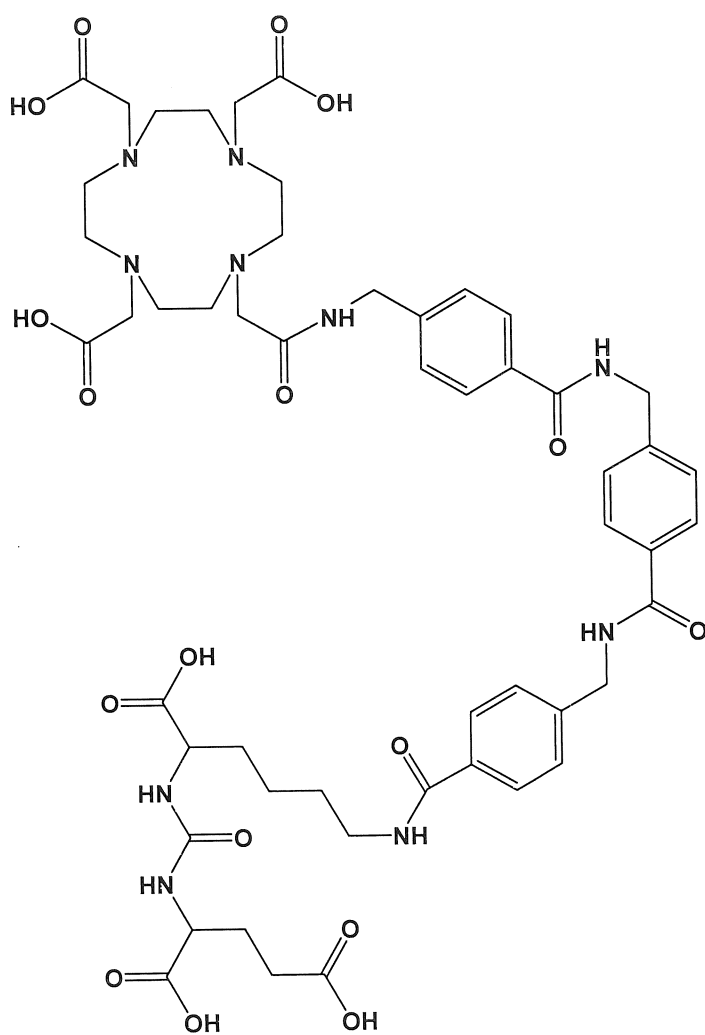
Hợp chất được ưu tiên theo sáng chế là, ví dụ,



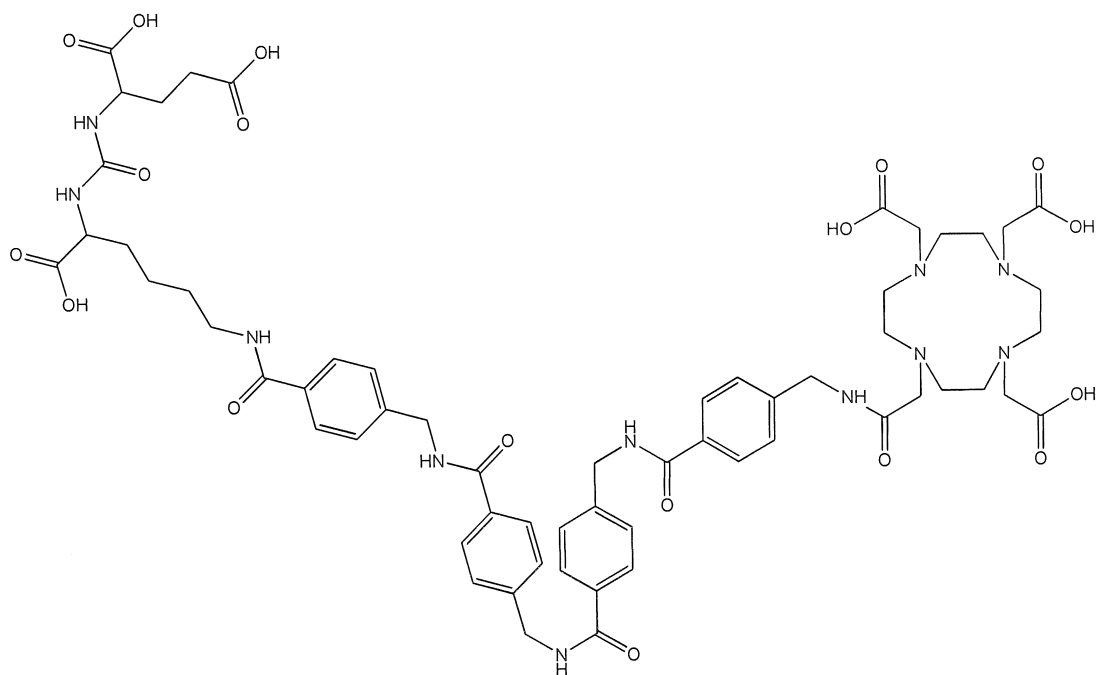
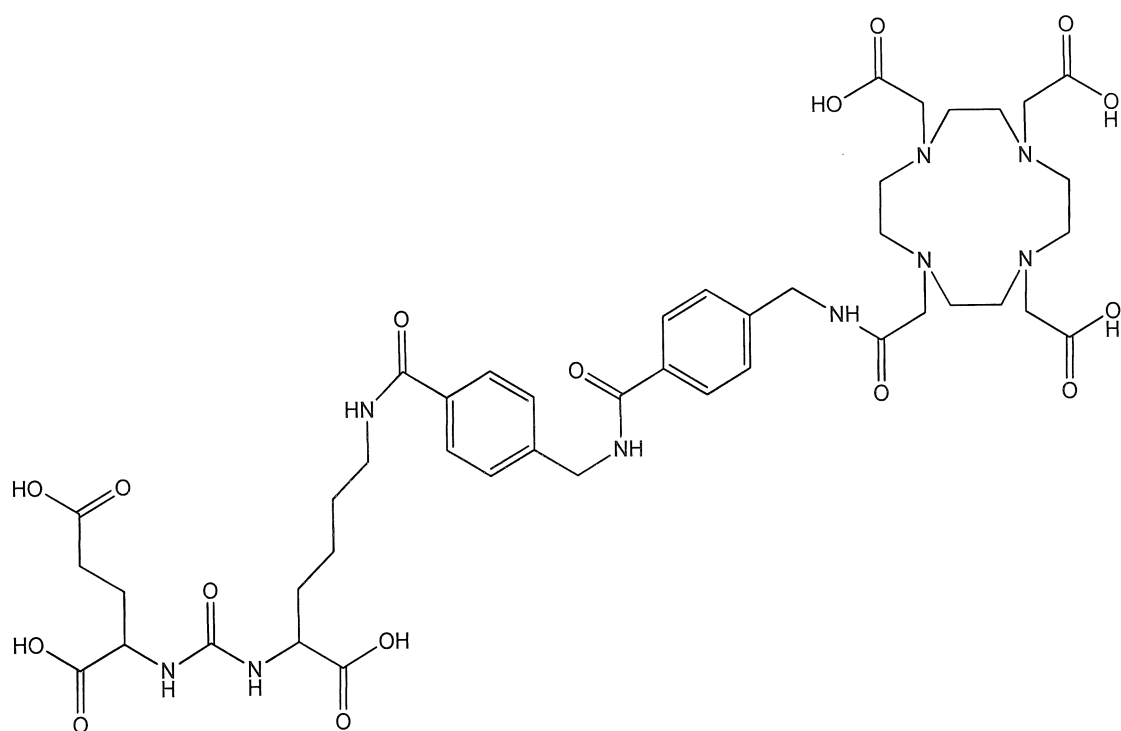
hoặc

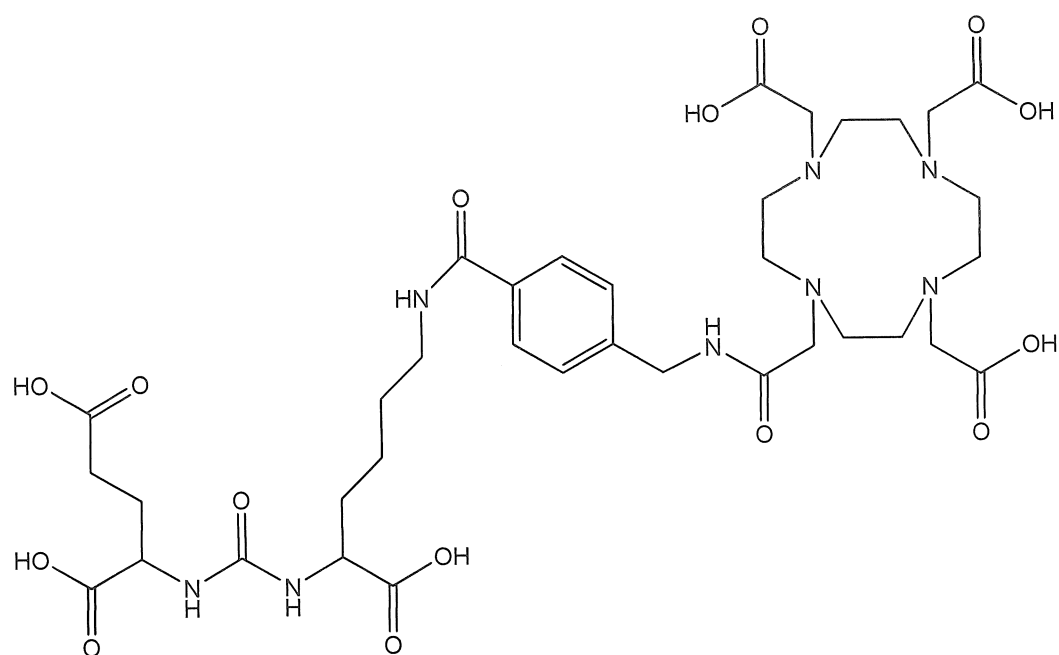
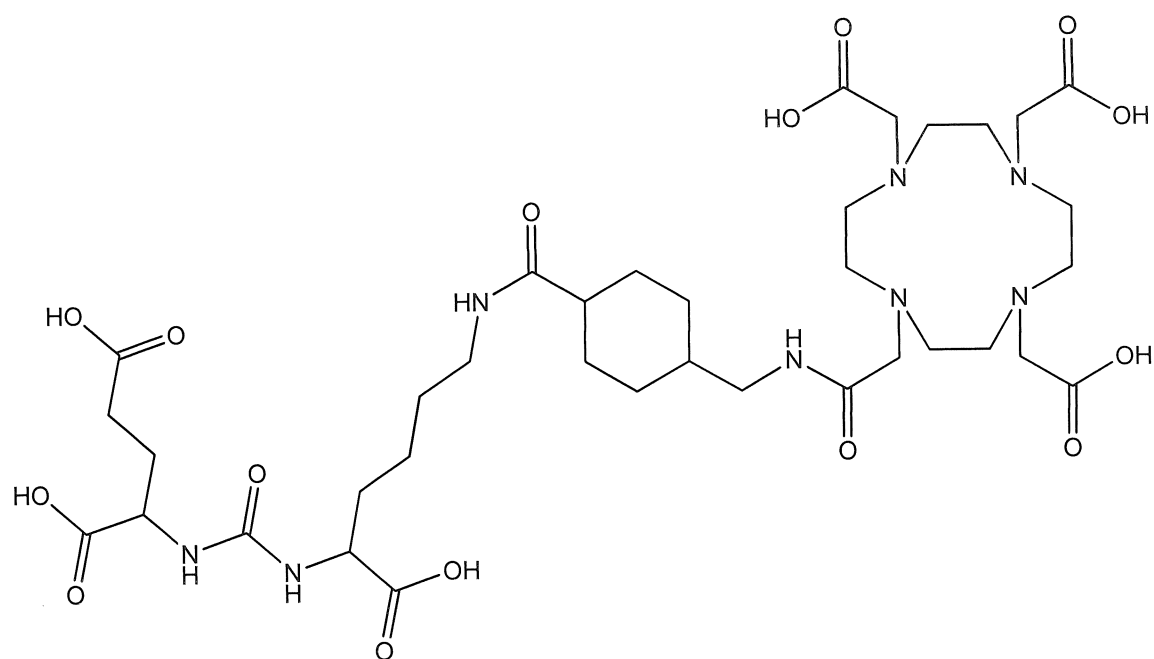


MB17

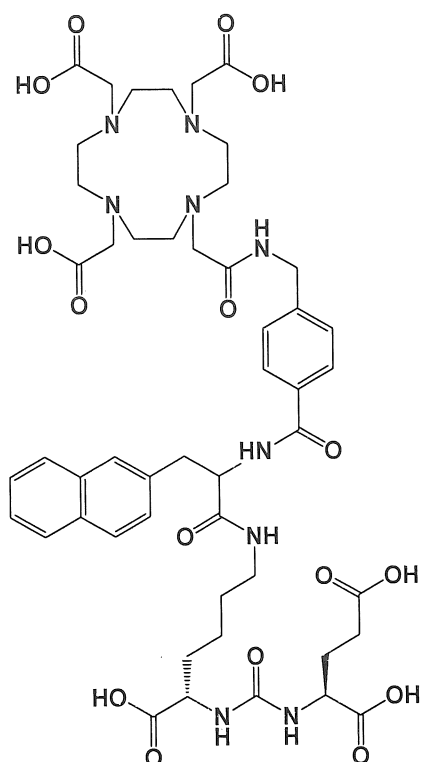


MB 4

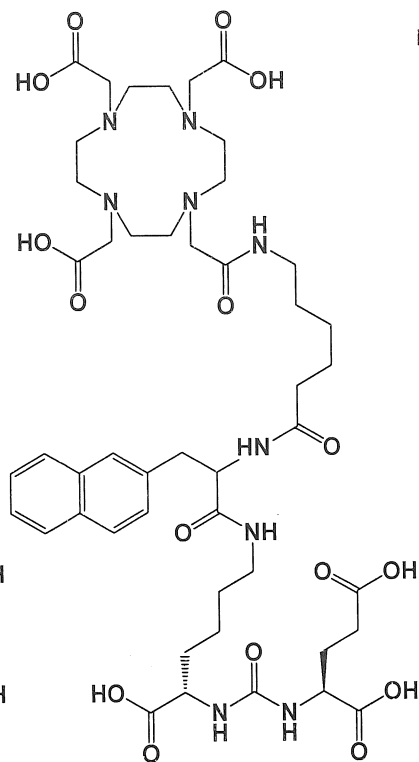
**MB 10****MB 3**

**MB 2****MB 22**

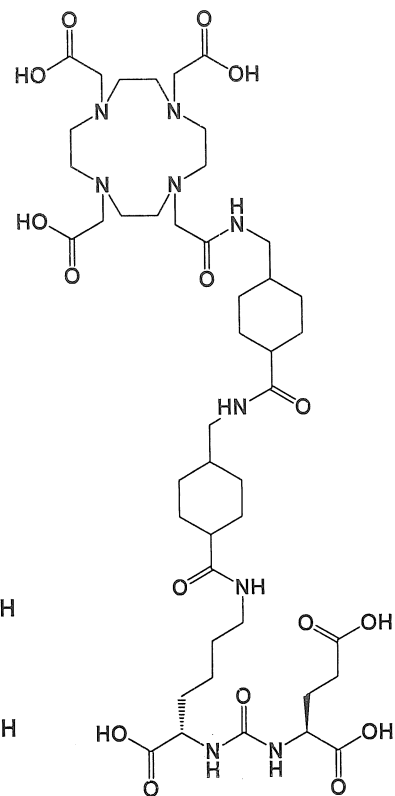
MB24



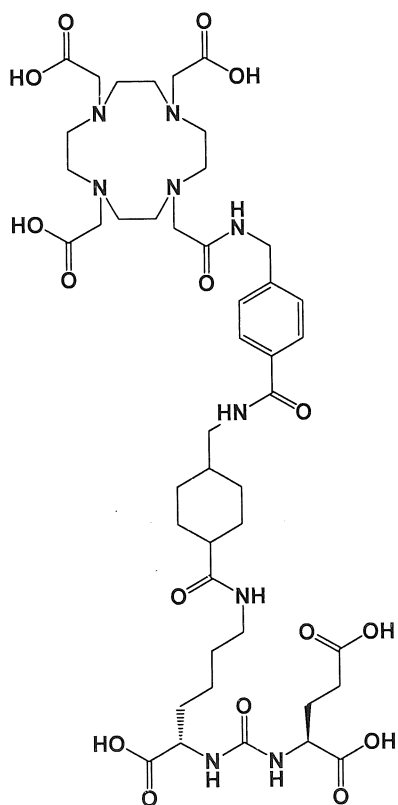
MB25



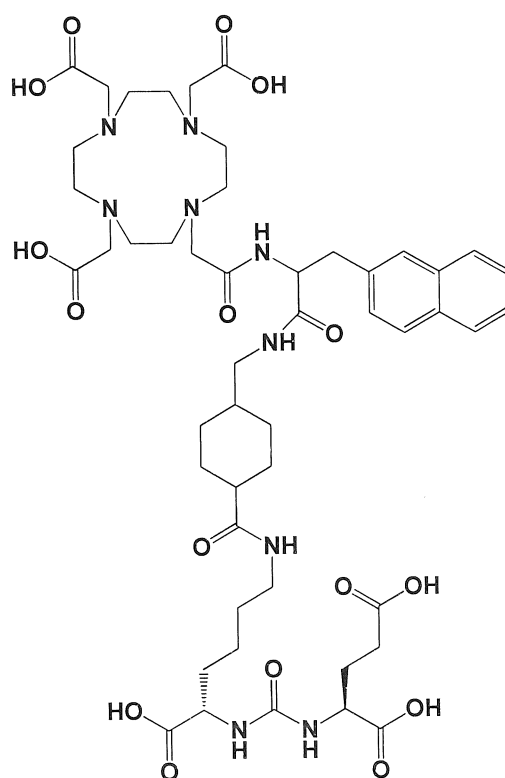
MB31



MB33



MB35



Sáng chế còn đề cập đến muối dược dụng của hợp chất có công thức tổng quát (Ia) và/hoặc (Ib). Sáng chế còn đề cập đến solvat của hợp chất, bao gồm muối cũng như

các chất chuyển hóa có hoạt tính của nó và, khi thích hợp, tautome của nó theo công thức tổng quát (Ia) và/hoặc (Ib) bao gồm chế phẩm tiền dược chất.

“Muối dược dụng” là muối axit hoặc bazơ vô cơ hoặc hữu cơ, dược dụng của hợp chất theo sáng chế. Muối dược dụng đặc trưng bao gồm, ví dụ, muối kim loại kiềm, muối kim loại kiềm thổ, muối amoni, muối không tan trong nước và tan trong nước, chẳng hạn như axetat, cacbonat, clorua, gluconat, glutamat, lactat, laurat, malate hoặc tartrat.

Thuật ngữ “tiền dược chất” chỉ chất tiền thân của thuốc là hợp chất mà khi sử dụng cho bệnh nhân, phải trải qua biến đổi hóa học bởi các quy trình chuyển hóa trước khi trở thành chất dược tính. Tiền dược chất minh họa của hợp chất theo công thức (Ia) và/hoặc (Ib) là các este và amit, tốt hơn nếu là các alkyl este của axit béo. Chế phẩm tiền dược chất ở đây bao gồm tất cả các chất được tạo thành bằng biến đổi đơn giản bao gồm thủy phân, oxy hóa hoặc khử bằng enzym, bằng cách chuyển hóa hoặc bằng cách bất kỳ khác. Tiền dược chất phù hợp chứa, ví dụ chất có công thức tổng quát (Ia) và/hoặc (Ib) được liên kết thông qua phần tử liên kết có thể cắt được bằng enzym (ví dụ nhóm cacbamat, phosphat, N-glycosit hoặc disulfit) thành chất cải thiện tính hòa tan (ví dụ tetraetylen glycol, sacarit, axit formic hoặc axit glucuronic, v.v.). Tiền dược chất của hợp chất theo sáng chế như vậy có thể được sử dụng cho bệnh nhân, và tiền dược chất này có thể được biến đổi thành chất có công thức tổng quát (Ia) và/hoặc (Ib) sao cho thu được tác dụng dược lý mong muốn.

Một số hợp chất có Công thức (Ia) và/hoặc (Ib) được bao gồm ở dạng raxemat, chất đồng phân đối ảnh của chúng và tùy ý ở dạng chất đồng phân không đối quang của chúng và tất cả các hỗn hợp có thể có của nó.

Theo sáng chế, tất cả các nguyên tử cacbon bất đối sẽ có cấu hình D và/hoặc L; và có thể có các kết hợp trong một hợp chất, nghĩa là một số nguyên tử cacbon bất đối có thể là cấu hình D và các nguyên tử C bất đối khác có thể là cấu hình L.

Hợp chất thu được có thể tùy ý được tách bằng các phương pháp đã biết (ví dụ Allinger, N.L. und Elliel E.L. in „Topics in Stereochemistry“ Vol. 6, Wiley Interscience, 1971) trong chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân không đối quang của chúng. Một phương pháp tách chất đồng phân đối ảnh có khả năng là sử dụng sắc ký.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa lượng hữu hiệu điều trị của thành phần

hoạt tính (hợp chất theo sáng chế có công thức (Ia) hoặc (Ib) cùng với chất mang được dụng lỏng hoặc rắn, hữu cơ hoặc vô cơ, thích hợp để sử dụng có chủ đích và tương tác với thành phần hoạt tính không hạn chế.

Thuật ngữ “được dụng” được sử dụng ở đây để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm và/hoặc dạng liều, trong phạm vi đánh giá y tế đúng đắn, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô của bệnh nhân mà không có độc tính, kích ứng, phản ứng dị ứng quá mức hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý.

“Bệnh nhân” bao gồm động vật, như người, khỉ, bò, ngựa, mèo hoặc chó. Động vật có thể là động vật có vú như động vật linh trưởng (ví dụ, khỉ và người) và không phải động vật linh trưởng. Theo một phương án, bệnh nhân là người.

Nói chung, hợp chất Công thức (Ia) hoặc (Ib) hoặc dược phẩm của chúng, có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc qua đường ngoài đường tiêu hóa, thường là tiêm hoặc truyền.

“Đường dùng ngoài đường tiêu hóa” nghĩa là kiểu dùng khác đường trong ruột và khu trú, thường bằng cách tiêm, và bao gồm, không bị giới hạn, tiêm và truyền trong tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, nội tủy mạc, trong nang, trong ổ mắt, trong tim, trong da, trong màng bụng, qua khí quản, dưới da, dưới biểu bì, trong gian khớp, dưới nang, dưới màng nhện, trong cột sống và trong xương ức.

Liều của hợp chất theo sáng chế được xác định bởi bác sĩ trên cơ sở các thông số riêng của bệnh nhân, như tuổi, cân nặng, giới tính, mức độ nghiêm trọng của bệnh, v.v.. Liều tốt hơn là từ 0,00001mg/kg đến 100mg/kg thể trọng, tốt hơn là từ 0,001 đến 50mg/kg thể trọng và tốt nhất là từ 0,01 đến 10mg/kg thể trọng.

Tương ứng với loại sử dụng, thuốc được bào chế thích hợp, ví dụ ở dạng dung dịch hoặc hỗn dịch, viên nén đơn giản hoặc viên bao đường, viên nang gelatin mềm hoặc cứng, viên đạn, noãn, dạng bào chế để tiêm, được bào chế theo phương pháp Galenic (phương pháp y lý của Galen) thông thường.

Hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế, khi thích hợp, cùng với chất hoạt tính khác và với tá dược và chất mang thông dụng trong dược phẩm, ví dụ - phụ thuộc vào chế phẩm được sản xuất - bột tal, gôm arabic, lactoza, tinh bột, magie stearat, bơ ca cao, chất mang chứa nước và không chứa nước, thể mỡ có nguồn gốc động vật hoặc

thực vật, dẫn xuất parafin, glycol (cụ thể polyetylen glycol), các chất làm dẻo khác, chất phân tán hoặc chất nhũ hóa, khí tương thích được lý (ví dụ không khí, oxy, cacbon dioxit, v.v.), chất bảo quản.

Để tạo ra chế phẩm lỏng, chất phụ gia, như dung dịch natri clorua, etanol, sorbitol, glyxerin, dầu ôliu, dầu hạnh nhân, propylen glycol hoặc etylen glycol, có thể được sử dụng.

Khi sử dụng dung dịch để truyền hoặc tiêm, tốt hơn nếu chúng là dung dịch hoặc hỗn dịch chứa nước, có thể tạo ra chúng trước khi sử dụng, ví dụ từ chế phẩm đông khô chứa chất hoạt tính như vậy hoặc cùng với chất mang, chẳng hạn như manitol, lactoza, glucoza, albumin và chất tương tự. Dung dịch đã chế sẵn được khử trùng và, khi thích hợp, được trộn với tá dược, ví dụ với chất bảo quản, chất ổn định, chất nhũ hóa, chất hòa tan, chất đệm và/hoặc muối để điều hòa áp suất thẩm thấu. Việc khử trùng có thể được thực hiện bằng cách lọc khử trùng sử dụng dụng cụ lọc có kích thước lỗ nhỏ theo đó chế phẩm có thể được sấy đông khô, khi thích hợp. Lượng nhỏ chất kháng sinh cũng có thể được thêm vào để đảm bảo duy trì tính vô trùng.

Thuật ngữ, “lượng hữu hiệu” hoặc “lượng hữu hiệu điều trị” như được sử dụng ở đây có nghĩa là lượng của hợp chất, nguyên liệu hoặc chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc thành phần hoạt tính khác hữu hiệu để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn nhất định ở ít nhất là tiểu quần thể tế bào ở động vật ở tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý áp dụng được cho điều trị y tế bất kỳ. Lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế nghĩa là lượng của một mình chất điều trị, hoặc kết hợp với các liệu pháp khác, tạo ra lợi ích điều trị trong điều trị ngăn ngừa bệnh. Sử dụng liên quan đến hợp chất theo sáng chế, thuật ngữ này có thể bao gồm lượng cải thiện liệu pháp chung, giảm hoặc tránh triệu chứng hoặc nguyên nhân của bệnh hoặc tăng cường hiệu quả điều trị của hoặc sự hiệp đồng với một chất điều trị khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” được nhằm để bao gồm cả việc chẩn đoán, phòng ngừa, ngăn ngừa, điều trị và chữa trị.

Thuật ngữ “ngăn ngừa”, “để ngăn ngừa” và “việc ngăn ngừa” chỉ việc ngăn sự khởi phát, tái phát hoặc lây lan của bệnh ở bệnh nhân thu được nhờ sử dụng chất điều trị hoặc phòng ngừa.

Phụ thuộc vào việc hợp chất công thức (Ia) và/hoặc (Ib) được sử dụng làm chất

chụp ảnh phóng xạ hay dược phẩm phóng xạ mà các nuclit phóng xạ khác nhau sẽ được tạo phức với chất tạo chelat. Các nuclit phóng xạ minh họa bao gồm, ví dụ, ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra , ^{165}Er và Fe. Theo một khía cạnh của sáng chế, nuclit phóng xạ là ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , Fe, hoặc ^{177}Lu .

Như lưu ý ở trên, phức của hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib) có thể chứa một hoặc nhiều nuclit phóng xạ thích hợp để sử dụng làm chất chụp ảnh phóng xạ hoặc làm chất điều trị để điều trị các tế bào tăng sinh nhanh chóng, ví dụ, PSMA biểu hiện tế bào ung thư tuyến tiền liệt. Theo sáng chế, chúng được gọi là “phức kim loại” hoặc “dược phẩm phóng xạ”.

Phương pháp chụp ảnh được ưu tiên là chụp cắt lớp phát xạ pozitron (positron emission tomography, PET) hoặc chụp cắt lớp vi tính phát xạ photon đơn (single photon emission computed tomography, SPECT).

Do đó, theo một phương án, dược phẩm được đề xuất bao gồm phức chất mà bao gồm nuclit phóng xạ và hợp chất có công thức (Ia) hoặc công thức (Ib), muối, solvat, chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của chúng, và chất mang dược dụng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm, thích hợp để chụp ảnh in vivo và cho xạ trị. Dược phẩm thích hợp có thể chứa chất chụp ảnh phóng xạ, hoặc chất xạ trị có nuclit phóng xạ là nguyên tố, nghĩa là iot có hoạt tính phóng xạ, hoặc phức chelat kim loại có hoạt tính phóng xạ của hợp chất có công thức (Ia) và/hoặc (Ib) ở lượng đủ để chụp ảnh, cùng với chất dẫn phóng xạ dược dụng. Chất dẫn phóng xạ cần phải thích hợp để tiêm hoặc truyền, như albumin huyết thanh người; dung dịch đệm chứa nước, ví dụ, tris(hydrometyl) aminometan (và muối của nó), phosphat, xitrat, bicarbonat, v.v.; nước muối sinh lý vô trùng; và dung dịch ion cân bằng chứa clorua và hoặc muối dicarbonat hoặc các cation huyết tương máu bình thường như canxi, kali, natri và magie.

Nồng độ của chất chụp ảnh hoặc chất điều trị trong chất dẫn phóng xạ cần đủ để tạo ra ảnh chụp thỏa đáng. Ví dụ, khi sử dụng dung dịch nước, liều là khoảng 1,0 đến 100 milicuri. Tuy nhiên, liều thực tế được sử dụng cho bệnh nhân để chụp ảnh hoặc cho mục đích điều trị được xác định bởi bác sỹ điều trị. Chất chụp ảnh hoặc chất điều trị cần được sử dụng để duy trì ở bệnh nhân trong khoảng 1 giờ đến 10 ngày, mặc dù cả khoảng

thời gian dài hơn và ngắn hơn đều có thể chấp nhận được. Do đó, các ống thuốc thuận tiện chứa 1 đến 10mL dung dịch nước có thể được chuẩn bị.

Có thể thực hiện việc chụp ảnh theo cách thông thường, ví dụ bằng cách tiêm lượng đủ của chế phẩm chụp ảnh để mang lại hình ảnh thỏa đáng và sau đó quét bằng máy quét hoặc máy chụp ảnh thích hợp, như camera chụp cắt lớp hoặc gamma. Theo các phương án nhất định, phương pháp chụp ảnh một vùng ở bệnh nhân bao gồm các bước: (i) cho bệnh nhân sử dụng lượng hữu hiệu chẩn đoán của hợp chất được tạo phức với nuclit phóng xạ; để lộ một vùng của bệnh nhân trước máy quét; và (ii) thu hình ảnh về vùng này của bệnh nhân. Theo các phương án nhất định, vùng được chụp ảnh là đầu hoặc ngực. Theo các phương án khác, hợp chất và phức có công thức I(a) và/hoặc (Ib) nhắm đích protein PSMA.

Do đó, theo một số phương án, phương pháp chụp ảnh mô như mô lá lách, mô thận, hoặc mô khối u biểu hiện PSMA được đề xuất bao gồm bước cho mô tiếp xúc với phức chất được tổng hợp bằng cách cho nuclit phóng xạ tiếp xúc với hợp chất công thức (Ia) và/hoặc công thức (Ib).

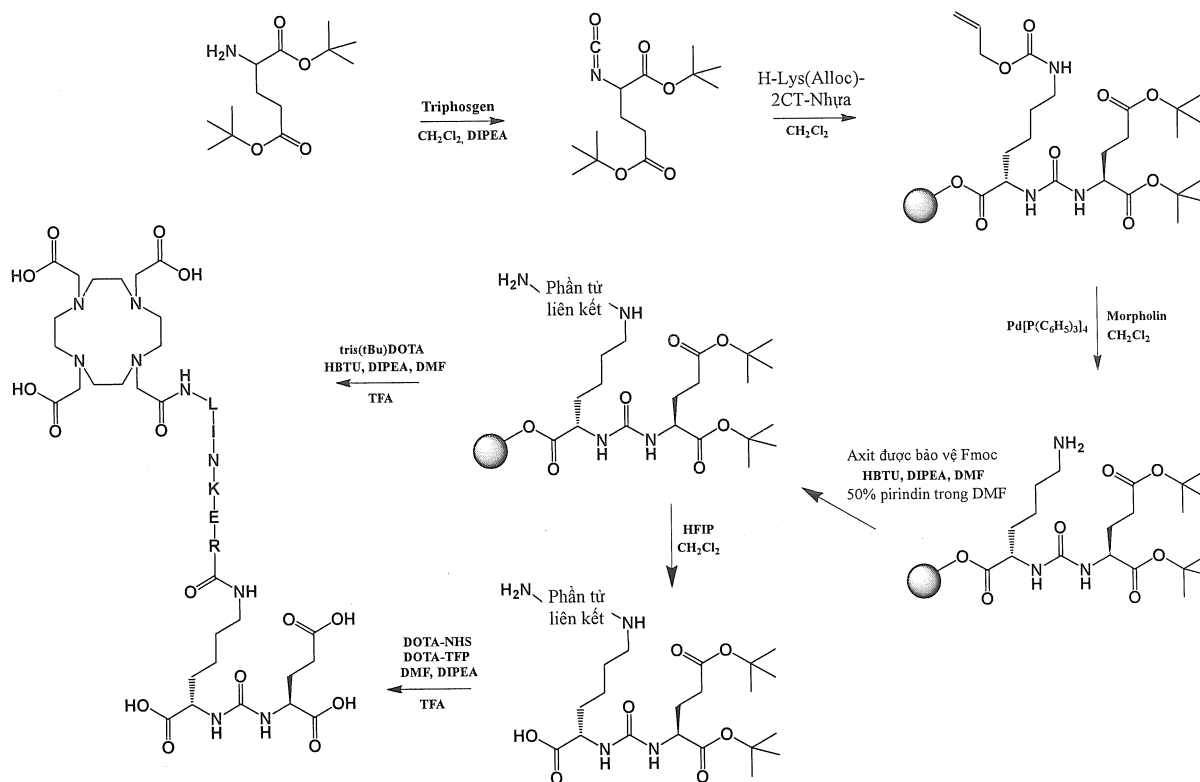
Lượng hợp chất theo sáng chế, hoặc chế phẩm chứa phức kim loại và hợp chất có công thức (Ia) và/hoặc (Ib), hoặc muối, solvat, chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó được sử dụng cho bệnh nhân phụ thuộc vào nhiều yếu tố sinh lý mà thường được dùng bởi bác sĩ, bao gồm bản chất của phương pháp chụp ảnh được sử dụng, mô được nhắm đích để chụp ảnh hoặc điều trị và thể trạng và tiền sử y tế của bệnh nhân được chụp ảnh hoặc được điều trị sử dụng được phức phóng xạ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho bệnh nhân bằng cách cho bệnh nhân sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (Ia) và/hoặc (Ib) được tạo phức với nuclit phóng xạ, hoặc muối được dùng hoặc solvat của phức chất để điều trị bệnh nhân mắc bệnh hoặc rối loạn tăng sinh tế bào. Cụ thể, rối loạn hoặc bệnh tăng sinh tế bào cần được điều trị hoặc chụp ảnh sử dụng hợp chất, được phức hoặc được phức phóng xạ theo sáng chế là bệnh ung thư, ví dụ, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và/hoặc bệnh ung thư tuyến tiền liệt di căn ở, ví dụ phổi, gan, thận, xương, não, tủy sống, bàng quang, v.v.

Quy trình tổng hợp hợp chất theo sáng chế được mô tả chi tiết trong phần ví dụ. Tổng quát về quy trình tổng hợp được nêu ví dụ trong Sơ đồ 2 liên quan đến chất ức chế

PSMA liên hợp DOTA. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể thay đổi các phản ứng, ví dụ bằng cách sử dụng một chất tạo chelat khác. Do đó, sơ đồ này sẽ không được hiểu là giới hạn hợp chất theo sáng chế chỉ ở chất tạo chelat DOTA.

Sơ đồ 2



Hợp chất được tổng hợp được đặc trưng bởi RP-HPLC, MS, và/hoặc NMR.

Chất chụp ảnh được liên hợp với chất tạo chelat có các cải biến về cấu trúc trong vùng phân tử liên kết đã được cải thiện các tính chất nhắm đích khối u và dược động học. Dược tính thể hiện ba nhóm carboxylic có khả năng tương tác với chuỗi bên tương ứng của PSMA và oxy là một phần của phức kẽm trong tâm hoạt động. Bên cạnh các tương tác bắt buộc này, các tác giả sáng chế có thể tối ưu hóa các tương tác ưa béo trong vùng phân tử liên kết.

Việc đánh giá tiền lâm sàng bao gồm thử nghiệm *in vitro* (ái lực, nội bào hóa) và thử nghiệm *in vivo* (quét μPET và phân bố trong cơ quan).

Hợp chất theo sáng chế là tốt hơn các hợp chất đã biết thông thường về mặt đào thải qua thận và làm giàu trong khối u. Ái lực liên kết của chất ức chế PSMA theo sáng chế có thể bị ảnh hưởng bởi cải biến phân tử liên kết. Hai gốc vòng và ít nhất một gốc

thơm trong vùng phần tử liên kết của chất đường như thích hợp hơn và dẫn đến các hợp chất MB4 và MB17 ái lực cao. Về vấn đề này, hợp chất rất hứa hẹn là MB17.

Do đó, hợp chất theo sáng chế là các chất dò nhắm đích PSMA mới với các đặc điểm tối ưu mà cũng được xác nhận bằng sự phân bố trong cơ quan và chụp ảnh PET ở động vật nhỏ. Hợp chất theo sáng chế thể hiện sự hấp thu ở khối u đặc hiệu PSMA cao. Ngoài ra, chúng được đặc trưng bởi sự làm giàu sớm trong bàng quang và cả sự hấp thu tối đa ở thận. Liên quan đến sử dụng điều trị, điều này mang lại lợi thế lâm sàng đối với hợp chất theo sáng chế so với các chất ức chế PSMA khác. Trong biểu đồ PET, hợp chất theo sáng chế, cụ thể MB17, thể hiện sự đào thải nền nhanh chóng cũng như giảm về cơ bản sự làm giàu trong thận sau 2 giờ trong khi nó được tích tụ tiếp và duy trì trong khối u biểu hiện PSMA. Ngoài ra, các điều trị in vivo đầu tiên bằng MB 17 cũng thể hiện các dữ liệu đầy hứa hẹn (xem Fig. 17 và 18).

Ví dụ dưới đây giải thích sáng chế chi tiết hơn nhưng không làm giới hạn sáng chế theo cách bất kỳ ở các phương án ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Tổng hợp chất ức chế liên hợp với DOTA

Chất ức chế PSMA liên hợp với DOTA được tổng hợp thông qua quy trình tổng hợp peptit pha rắn (xem Sơ đồ 2). Ở bước thứ nhất, isoxyanat của gốc glutamyl được tạo ra *in situ* bằng cách thêm hỗn hợp gồm 3mmol bis(tert-butyl)-L-glutamat hydroclorua và 3 mL N-etyldiisopropylamin (DIPEA) trong 200mL CH₂Cl₂ khô vào dung dịch chứa 1 mmol triphosgen trong 10mL CH₂Cl₂ khô ở 5°C trong 3 giờ. Sau phản ứng, bổ sung 0,5mmol lysin được bảo vệ bởi ε-alyloxycarbonyl, được cố định trên nhựa (nhựa 2-clo-trityl) và cho phản ứng trong 16 giờ có khuấy nhẹ. Lọc bỏ phần nhựa và loại bỏ nhóm bảo vệ alyloxy sử dụng 50mg tetrakis-(triphenyl)palladi và 400 µL morpholin trong 4mL CH₂Cl₂ trong 2 giờ.

Việc tổng hợp môtip liên kết PSMA giả peptit sau đó được thực hiện theo quy trình Fmoc chuẩn. Việc kết hợp phần phần tử liên kết sau đó được thực hiện sử dụng 2mmol axit được bảo vệ Fmoc tương ứng, 3,96mmol HBTU và 2mmol N-etyl-diisopropylamin ở thể tích cuối cùng là 4 mL DMF. Sau khi hoạt hóa bằng 3,95 đương lượng (eq) HBTU và DIPEA trong 2h, 4 đương lượng tris(t-bu)-DOTA (Chematech) tương ứng với tải trọng nhựa được phản ứng trong thể tích cuối cùng là 3mL DMF. Sản

phẩm được phân cắt khỏi nhựa trong 2mL hỗn hợp gồm axit trifloaxetic, triisopropylsilan, và nước (95:2,5:2,5).

Chất tạo chelat cũng được liên hợp bằng cách sử dụng este DOTA-NHS được hoạt hóa HBTU (CheMatech) hoặc este DOTA-TFP (Mier W., Hoffend J., Krämer S., Schuhmacher J., Hull W. E., Eisenhut M., Haberkorn U., *Bioconjugate Chem.* **2005**, 16: 237-240).

Phân tích phân tử tổng hợp được thực hiện sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo (RP-HPLC; Chromolith RP-18e, 100×4,6mm; Merck, Darmstadt, Germany) với gradien A-B tuyến tính (0% B đến 100% B trong 6 phút) ở tốc độ dòng 4mL/phút (phân tích) hoặc 6mL/phút (tinh sạch). Dung môi A gồm TFA chứa nước 0,1% và dung môi B là TFA 0,1% trong CH₃CN. Hệ thống HPLC (L6200 A; Merck-Hitachi, Darmstadt, Germany) được trang bị bộ phát hiện UV và gamma (Bioscan; Washington, USA). Đo độ hấp thụ UV ở 214nm. Đo khối phổ được thực hiện bằng hệ thống MALDI-MS Daltonics Microflex (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Ví dụ 2: Đánh dấu phóng xạ

Thông thường, 1,5nmol hợp chất được tổng hợp theo Ví dụ 1 (được hòa tan trong dung dịch đệm HEPES 0,1M pH=7,5) được bổ sung ở thể tích là 100μL vào hỗn hợp gồm 10μL dung dịch HEPES 2,1M và 40μL chất rửa giải [⁶⁸Ga]Ga³⁺ (40 MBq). pH của dung dịch đánh dấu được điều chỉnh đến 4,5.

Việc đánh dấu phóng xạ hợp chất dẫn đến hiệu suất hóa xạ là >97% sau 15 phút ở 95°C và được xác định bằng RP-HPLC và TLC. Việc tinh sạch sau đó được thực hiện sử dụng hộp Sep-Pak C18.

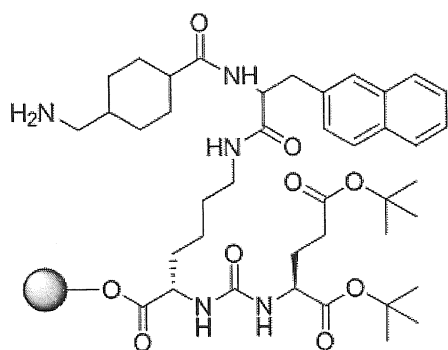
Ví dụ 3: Tổng hợp hợp chất MB4 và MB17

Isoxyanat của gốc glutamyl được tạo ra *in situ* bằng cách bổ sung hỗn hợp gồm 3mmol bis(tert-butyl) L-glutamat hydroclorua và 1,5mL *N*-etyldiisopropylamin (DIPEA) trong 200 mL CH₂Cl₂ khô vào dung dịch chứa 1 mmol triphosgen trong 10mL CH₂Cl₂ khô ở 0°C trong 4 h. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ ở 25°C, bổ sung 0,5mmol lysin được bảo vệ bởi ε-allyloxycarbonyl, được cố định trên nhựa (nhựa 2-clo-trityl) trong DCM 4mL và cho phản ứng trong 16h có khuấy nhẹ. Lọc bỏ nhựa và loại bỏ nhóm bảo vệ allyloxy sử dụng 30mg tetrakis(triphenyl)paladi(0) và 400 μL morpholin trong 4mL CH₂Cl₂ trong 3 giờ. Việc kết hợp sau đó của 3 lần axit 4-(Fmoc-

aminometyl)benzoic (trong trường hợp MB4) hoặc Fmoc-3-(2-naphtyl)-L-alanin và axit *trans*-4-(Fmoc-aminometyl)xyclohexancarboxylic (trong trường hợp MB17) lần lượt được thực hiện từng bước sử dụng 2mmol axit được bảo vệ Fmoc, 1,96 mmol HBTU và 2 mmol *N*-etyldiisopropylamin ở thể tích cuối cùng là 4mL DMF. Sau khi hoạt hóa bằng 3,95 đương lượng HBTU và DIPEA trong 2 giờ, 4 đương lượng tris(*t*-bu)-DOTA (Chematech) tương ứng với tải trọng nhựa được phản ứng trong 3 giờ ở thể tích cuối cùng là 3mL DMF. Sản phẩm được phân cắt khỏi nhựa trong 2mL hỗn hợp gồm axit trifloaxetic, triisopropylsilan, và nước (95:2,5:2,5). Thực hiện tinh sạch sử dụng RP-HPLC và sản phẩm tinh sạch được phân tích bằng RP-HPLC phân tích và MALDI-MS.

Để điều chế MB-17D mà là chất đồng phân lập thể của MB17(L), việc tổng hợp được dựa trên Fmoc-3(2-naphtyl)-D-alanin. Nếu không được chỉ định khác, trong bản mô tả này, MB17 nghĩa là chất đồng phân lập thể dạng L.

Ví dụ 4: Kết hợp các chất tạo chelat khác nhau



Chất tạo chelat (DOTA, NOTA, NODAGA, DTPA, CHX-DTPA, PCTA, Do3A) được kết hợp với phân tử liên kết MB17 nhờ quy trình tổng hợp pha rắn. Nói chung, 13 μ mol nhựa mà được kết hợp với môtip liên kết PSMA được làm trương nở với DCM trong xylanh có màng lọc. Sau khi rửa nhựa 5 $\times$ với DMF, nó được ủ 2 $\times$ trong 5 phút bằng 20% piperidin trong DMF để loại nhóm bảo vệ đầu tận N. Sau đó, rửa thêm 5 $\times$ bằng DMF.

Khoảng từ 1,5 đến 4 đương lượng chất tạo chelat (tùy chất tạo chelat), 0,98 $\times$ $n_{\text{chất tạo chelat}}$ HATU (nếu cần) và 10 đương lượng DIPEA được hòa tan trong 500 μ l DMF, dung dịch được hút vào xylanh chứa nhựa và được ủ qua đêm. Tiếp theo, nhựa được rửa 5 $\times$ mỗi lần bằng DMF, metanol, DCM và dietyl ete và được làm khô trong chân không.

Để kiểm tra tình trạng của phản ứng, thực hiện thử nghiệm tách. Điều này đạt

được bằng cách rửa lượng nhỏ nhựa với DCM vào trong đầu lọc và thêm 100µl dung dịch tách chứa 95% TFA, 2,5% nước và 2,5% TIPS. Sau 30 phút ủ, dung dịch được hút bằng pipet vào trong diethyl ete đã lạnh và ly tâm. Diethyl ete được gạn và viên pelet còn lại được hòa tan trong 35µl ACN:H₂O (1:1) và được phân tích bằng HPLC (0 – 100% ACN trong nước trong 5 phút) và LC/MS.

Nếu thu được sản phẩm mong muốn, toàn bộ peptit được tách ra khỏi nhựa. Nhựa đã sấy khô được ủ với 500µl dung dịch tách (95% TFA, 2,5% H₂O, 2,5% TIPS) trong 2 giờ. Dung dịch thu được được trộn với diethyl ete đã lạnh và được ly tâm (4000 phút⁻¹, 5 phút). Loại bỏ dịch nổi bề mặt, thêm diethyl ete mới và lắc mạnh vật chứa để tái tạo huyền phù viên pelet. Một lần nữa, dung dịch được ly tâm (4000 phút⁻¹, 5 phút) và dịch nổi bề mặt được loại bỏ. Sau đó, viên pelet được sấy chân không và được tái tạo huyền phù lần cuối trong 1ml ACN:H₂O (1:1).

Việc tinh sạch đạt được bằng HPLC điều chế, các pic được phân tích bằng HPLC phân tích (0 – 100% ACN trong nước trong 5 phút) và LC/MS và chúng chứa các sản phẩm được gộp và làm đông khô.

Ví dụ 5: Đánh dấu phóng xạ

Đánh dấu phóng xạ ¹⁷⁷Lu

¹⁷⁷Lu (xấp xỉ 100 MBq) được trộn với 200 µl đệm natri axetat 0,4M chứa Chelex (pH = 5). 10µl dung dịch 1mM chứa hợp chất này trong DMSO 10% trong nước, 2µl dung dịch bão hòa chứa axit ascorbic và 40µl dung dịch chứa ¹⁷⁷Lu được trộn lẫn và gia nhiệt đến 95°C trong 10 phút. Kiểm tra việc đánh dấu bằng HPLC phóng xạ (0 – 100% ACN trong nước trong 5 phút, cột Monolith).

Đánh dấu ⁶⁸Ga

Để quét PET CHX-DTPA được đánh dấu bằng ⁶⁸Ga. 1ml ⁶⁸Ga được rửa giải từ bộ sinh ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga với HCl 0,6M. 298µl đệm NaOAc và 1µl dung dịch 10mM chứa CHX-DTPA trong DMSO được bổ sung và ủ trong 5 phút. Sau đó, tinh sạch sản phẩm sử dụng hộp SOLA. Tiến hành rửa bằng dung dịch NaCl 0,9% và etanol được sử dụng để rửa giải. Sau đó, etanol được làm bay hơi và sản phẩm còn lại được hòa tan trong 100µl dung dịch NaCl 0,9% và 10µl đệm phosphat.

Ví dụ 6: Xác định giá trị IC₅₀

Ủ đĩa lọc MultiScreen_{HTS}-DV ở nhiệt độ trong phòng với 100µl PBS với BSA 1% mỗi giếng trong 30 phút. Sau khi loại bỏ dung dịch PBS/BSA, bổ sung 10^5 tế bào LNCaP trong 50µl Opti-MEM vào mỗi giếng. Các nồng độ khác nhau của các hợp chất (đưa đến các nồng độ 0, 0,5, 1, 2,5, 5, 10, 25, 50, 100, 500, 1000 và 5000nM trong mỗi giếng) trong 300µl Opti-MEM được trộn với 3µl dung dịch 150nM MIP – 1466 được đánh dấu ^{125}I trong Opti-MEM. Bổ sung 50µl dung dịch thu được vào mỗi giếng, mỗi nồng độ được hút pipet bốn lần. Mỗi giếng hiện tại chứa phôi tử được đánh dấu phóng xạ ở nồng độ 0,75nM và phôi tử cạnh tranh không được đánh dấu ở nồng độ nêu ở trên. Sau đó, ủ đĩa trong 45 phút ở nhiệt độ trong phòng trên máy lắc.

Sau khi ủ, các tế bào được rửa 2 x bằng 100µl PBS đá lạnh và 1 x bằng 200µl PBS đá lạnh. Cuối cùng, gom màng lọc và đo hoạt tính phóng xạ còn lại bằng máy đếm gamma. Mỗi ống được đo trong 5 phút.

Dữ liệu đo được bằng máy đếm gamma được đánh giá bằng Graphpad Prism để đạt được nồng độ ức chế 50 (IC_{50}) đối với MIP-1095 được đánh dấu phóng xạ.

Thế liên hợp	IC_{50} [nM]
MB17-DOTA	$0,13 \pm 0,08$
MB17-NOTA	$0,14 \pm 0,08$
MB17-DTPA	$0,12 \pm 0,05$
MB17-CHX-DTPA	$0,06 \pm 0,04$
MB17-PCTA	$0,10 \pm 0,06$
MB17-DO3A	$0,10 \pm 0,05$
MB17-NODAGA	$0,09 \pm 0,08$

Ví dụ 7: Chụp μ PET sử dụng CHX-DTPA-MB17

Trước khi tiêm vào chuột, dung dịch chứa chất ức chế PSMA kết hợp ^{68}Ga -CHX-DTPA đã tinh sạch được lọc khử trùng. Hút 100µl vào xylanh và sau đó tiêm vào trong mảnh ghép khác loại LNCaP của chuột trụi lông BALB/c, theo đường trong tĩnh mạch vào trong tĩnh mạch đuôi. Quét PET được ghi lại trong 140 phút bằng Siemens Inveon PET (Fig. 15)

Ví dụ 8: Xác định ái lực liên kết cạnh tranh

Để so sánh chuỗi các hợp chất mới, ái lực liên kết cạnh tranh và sự nội bào hóa đặc hiệu được phân tích sử dụng dòng tế bào biểu hiện PSMA LNCaP. Để xác định sự hấp thu tế bào đặc hiệu, các tế bào bị phong bế bằng axit 2-(phosphonometyl)-pentandioic (PMPA). Khả năng ức chế cũng được đánh giá bằng thử nghiệm NAALADaza dựa trên enzym.

Nuôi cấy tế bào

Đối với các nghiên cứu liên kết và thử nghiệm in vivo, tế bào LNCaP (tổn thương di căn caxinom tuyến tiền liệt ở người, ATCC CRL-1740) được nuôi cấy trong môi trường RPMI có bổ sung 10% huyết thanh thai bê và Glutamax (PAA, Austria). Trong quá trình nuôi cấy tế bào, tế bào được phát triển ở 37°C trong tủ nuôi có không khí đã được tạo ẩm, làm cân bằng bằng 5% CO₂. Tế bào được thu hoạch sử dụng trypsin-axit etylendiamintetraaxetic (trypsin-EDTA; trypsin 0,25%, EDTA 0,02%, tất cả được mua từ PAA, Austria) và rửa bằng PBS.

Liên kết tế bào và nội bào hóa

Thử nghiệm liên kết tế bào cạnh tranh và thử nghiệm nội bào hóa được thực hiện như được mô tả trước đó (Eder et al. 2012). Tóm lại, các tế bào tương ứng (10⁵ mỗi giếng) được ủ với phối tử phóng xạ ([Glu-ure-Lys(Ahx)]₂-HBED-CC được đánh dấu 68Ga (Schafer et al., 2012) khi có mặt 12 nồng độ khác nhau của chất phân tích (0–5000 nM, 100 µL/giếng). Sau khi ủ, thực hiện rửa bằng cách sử dụng bộ chia chân không nhiều vị trí (Millipore, Billerica, MA). Đo hoạt tính phóng xạ đã liên kết tế bào bằng cách sử dụng máy đếm gamma (Packard Cobra II, GMI, Minnesota, USA). Nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) được tính toán bằng cách làm khớp dữ liệu sử dụng thuật toán hồi quy phi tuyến tính (GraphPad Software). Thực hiện thử nghiệm ba lần.

Để xác định sự hấp thu tế bào đặc hiệu và nội bào hóa, 10⁵ tế bào được gieo trong khay môi trường tế bào 24 giếng được phủ poly-L-lysine 24 h trước khi ủ. Sau khi rửa, ủ tế bào với 25nM hợp chất đã đánh dấu phóng xạ trong 45 phút lần lượt ở 37°C và ở 4°C. Sự hấp thu tế bào đặc hiệu được xác định bằng cách phong bế cạnh tranh với axit 2-(phosphonometyl)pentandioic (nồng độ cuối cùng 500µM, PMPA, Axxora, Loerrach, Germany). Sự hấp thu tế bào được kết thúc bằng cách rửa 4 lần bằng 1mL PBS đá lạnh. Sau đó, ủ tế bào hai lần với 0,5mL glyxin-HCl trong PBS (50 mM, pH = 2,8) trong 5

phút để loại bỏ phần liên kết bề mặt. Tế bào được rửa bằng 1mL PBS đá lạnh và được dung giải sử dụng NaOH 0,3N (0,5 mL). Phần đã liên kết bề mặt và phần nội bào hóa được đo bằng máy đếm gamma. Tính toán sự hấp thu tế bào theo phần trăm hoạt tính phóng xạ bổ sung ban đầu liên kết với 10^6 tế bào [%ID/ 10^6 tế bào].

Thử nghiệm Naaladaza

PSMA tái tổ hợp của người (rhPSMA, R&D systems, Wiesbaden, Germany) được rửa giải trong dung dịch đệm thử nghiệm (HEPES 50mM, NaCl 0,1M, pH=7,5) đến 0,4 μ g/mL. Cơ chất Ac-Asp-Glu (Sigma, Taufkirchen, Germany, nồng độ cuối cùng 40 μ M) được trộn với chất phân tích được đánh dấu natGa ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05nM đến 1000nM ở thể tích cuối cùng là 125 μ L dung dịch đệm thử nghiệm. Các hỗn hợp được kết hợp với 125 μ L dung dịch rhPSMA (0,4 μ g/mL) và được ủ trong một giờ ở 37°C. Ngừng phản ứng bằng cách gia nhiệt ở 95°C trong 5 phút. 250 μ L dung dịch 15mM của ortho-phthaldialdehyt (Sigma, Taufkirchen, Germany) được thêm vào tất cả các lọ và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Cuối cùng, 200 μ L dung dịch phản ứng được nạp vào đĩa F16 Black Maxisorp Plate (Nunc, Langenselbold, Germany) và đọc ở bước sóng kích thích và phát xạ lần lượt là 330nm và 450 nm, sử dụng máy đọc vi đĩa (DTX-880, Beckman Coulter, Krefeld, Germany). Dữ liệu được phân tích bằng thuật toán hồi quy liên kết tổng một vị trí của GraphPad (GraphPad Software, California, USA).

Phân bố sinh học

Chuột đực BALB/c nu/nu 7 đến 8 tuần tuổi (Charles River Laboratories) được cấy dưới da vào thân bên phải 5×10^6 tế bào LNCaP (trong 50% Matrigel; Becton Dickinson, Heidelberg, Germany). Để khối u phát triển đến kích thước xấp xỉ 1cm³. Hợp chất đã đánh dấu phóng xạ được tiêm vào tĩnh mạch đuôi (xấp xỉ 1 MBq mỗi con chuột; 0,06nmol). Sau tiêm 1 giờ, động vật được gây chết. Mở các cơ quan quan tâm, thẩm khô, và cân. Hoạt tính phóng xạ được đo sử dụng máy đếm gamma và được tính theo % ID/g.

MicroPET

Cho nghiên cứu microPET, 10 – 25 MBq hợp chất đã đánh dấu phóng xạ ở thể tích 0,15ml (~ 0,5nmol) được tiêm qua tĩnh mạch đuôi bên vào chuột mang mảnh ghép khối u khác loại LNCaP. Động vật được gây mê (sevofluran 2%, Abbott, Wiesbaden,

Germany) được đặt ở vị trí úp sấp trong máy quét PET động vật nhỏ Inveon (Siemens, Knoxville, Tenn, USA) để thực hiện quét microPET động lực và quét tĩnh 20 phút; xem Fig.1, 3, 5-14

Bảng A

Cơ chất	IC_{50} [nM]	Nội bào hóa [%IA/ 10^6 tế bào]
MB2	$2,75 \pm 0,82$	$8,78 \pm 3,96$ đối với Ga-68 $5,22 \pm 0,67$ đối với Lu-177
MB3	$10,51 \pm 6,06$	$3,65 \pm 1,32$ đối với Lu-177
MB4	$0,74 \pm 0,50$	$14,18 \pm 0,98$ đối với Ga-68 $14,25 \pm 4,61$ đối với Lu-177
MB10	$8,67 \pm 1,58$	$6,96 \pm 3,90$ đối với Lu-177
MB17	$0,13 \pm 0,08$	$17,02 \pm 4,36$ đối với Ga-68 $17,51 \pm 3,99$ đối với Lu-177
MB17.D	$12,41 \pm 5,10$	$2,60 \pm 0,14$ đối với Lu-177
MB22	52,80	$1,15 \pm 0,19$ đối với Lu-177

Cơ chất	IC_{50} [nM]	Nội bào hóa [%IA/ 10^6 tế bào]
MB24	3,33	$7,26 \pm 2,76$ đối với Lu-177
MB25	6,64	$3,91 \pm 0,54$ đối với Lu-177
MB31	91,80	$0,53 \pm 0,48$ đối với Lu-177
MB33	59,33	$1,96 \pm 0,20$ đối với Lu-177
MB35	26,18	$0,97 \pm 0,17$ đối với Lu-177

Ví dụ theo sáng chế cho thấy rằng ái lực liên kết của chất ức chế PSMA có thể bị ảnh hưởng bởi các biến đổi phân tử liên kết. Hai gốc vòng và ít nhất một gốc thơm trong vùng phân tử liên kết của cơ chất dường như được ưu tiên và dẫn đến hợp chất MB4 và MB17 ái lực cao. Các biến thể mới này cho thấy ái lực nanomol thấp với dòng tế bào LNCap và được nội bào hóa đặc hiệu ở 37°C lên đến 48 %ID/ 10^6 tế bào. Các nghiên cứu trước đó cho thấy rằng bên cạnh ái lực liên kết, các tính chất nội bào hóa của mẫu dò nhắm đích PSMA là rất quan trọng và tỷ lệ nội bào hóa cao là cần thiết đối với sự hấp thu khối u *in vivo* và thời gian lưu. Do đó, MB17 là mẫu dò nhắm đích PSMA mới

với các đặc điểm tối ưu cũng đã được xác nhận bởi sự phân bố trong cơ quan và chụp PET động vật nhỏ. MB 17 thể hiện sự hấp thu khối u đặc hiệu PSMA cao (Fig.2). Ngoài ra, kết quả chụp PET động lực MB17 (Fig. 2) cho thấy việc làm giàu sớm trong bàng quang và cả sự hấp thu tối đa ở thận (điểm cao nhất trong đường cong hoạt tính-thời gian) là sớm 15 phút sau khi tiêm chất chỉ thị phóng xạ và giảm đáng kể sau 20 phút. Về mặt sử dụng điều trị, điều này mang lại lợi thế lâm sàng rõ ràng đối với MB17 so với các chất ức chế PSMA khác. Trong biểu đồ PET (Fig. 1), MB17 thể hiện độ thải trừ nền nhanh cũng như giảm về cơ bản sự làm giàu trong thận sau 2 giờ trong khi nó tiếp tục được tích tụ và duy trì trong khối u biểu hiện PSMA.

Ngoài ra, sự phân bố trong cơ quan với ^{177}Lu (Fig. 4) cho thấy rằng sự hấp thu ở thận ban đầu cao gần như được rửa sạch hoàn toàn ($2,13 \pm 1,36$ % ID/g) sau 24 giờ trong khi sự hấp thu ở khối u được duy trì cao và thậm chí tăng ($10,58 \pm 4,50$ % ID/g). Các cơ quan khác như gan ($0,08 \pm 0,03$ % ID/g), phổi ($0,11 \pm 0,13$ % ID/g) và lá lách ($0,13 \pm 0,05$ % ID/g) cho thấy sự hấp thu rất thấp. Dược động học thuận lợi dẫn đến tỷ lệ khối u-nền đặc biệt cao (Khối u/máu: 1058; Khối u/Cơ: 529) sau 24 giờ.

Bảng A xác nhận một cách rõ ràng rằng các biến đổi hóa học ở vùng phân tử liên kết của phân tử tác động đến các tính chất sinh học, ví dụ ái lực và hiệu quả nội bào hóa. MB17 và MB4 thể hiện các tính chất liên kết hứa hẹn nhất ở các tế bào.

Ví dụ 9: Dữ liệu lâm sàng liên quan đến MB17

Việc chụp PET/CT được thực hiện sử dụng chất chỉ thị phóng xạ MB17 được đánh dấu Ga-68 (xem Fig. 17)

Bộ sinh $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ được sử dụng để tạo ra dược phẩm phóng xạ được mua từ IDB-Holland BV (Baarle-Nassau, The Netherlands). Bộ kit catxet dùng một lần và các hóa chất bao gồm chất tiền thân ở cấp độ tuân thủ GMP được sử dụng để tổng hợp phóng xạ thu được từ hợp chất hóa sinh cấp tiến ABX (Radeberg, Germany). Hệ thống Ultimate 3000 HPLC (Dionex) (axetonitril (A), nước + TFA 0,1% (B); gradien: 0,5 phút 95% B, 10,0 phút 80% A, tốc độ dòng: 2 mL/phút) được trang bị cột Chromolith Performance RP-18e (100 x 4,6mm, Merck) và bộ phát hiện phóng xạ NaI (Raytest) được sử dụng để xác định độ tinh khiết hóa chất phóng xạ. Dung môi còn lại được xác định bằng cách sử dụng sắc ký khí xêri 6850 (Agilent Technologies). Thử nghiệm nội độc tố được thực hiện với thiết bị Endosafe®-PTS (Charles River).

2 μ g MB17 được hòa tan trong đệm axetat 1,5M pH=4,5 (1 mL) và axit ascorbic 1M (10 μ L) và được chuyển vào trong bình phản ứng. Bộ sinh $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ được rửa giải bằng 10mL HCl 0,6M và pha loãng chất rửa giải với 9mL nước siêu tinh khiết. Sau đó, chuyển hỗn hợp vào hộp trao đổi cation (Macherey-Nagel PS-H+, Size M) và rửa giải bằng dung dịch NaCl 5M (1,2 mL) vào bình phản ứng đã gia nhiệt trước (100°C). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng trong 10 phút. Sau đó, loại bỏ hỗn hợp phản ứng thô khỏi bình phản ứng và chuyển vào hộp C18 đã được đặt điều kiện trước (10mL EtOH/10mL nước siêu tinh khiết) (Waters Sep-Pak light). 9mL nước siêu tinh khiết được sử dụng để rửa bình phản ứng và được đi qua hộp C18. Hộp C18 được rửa với thêm 5mL nước siêu tinh khiết. Sản phẩm cuối cùng được rửa giải từ hộp C18 bằng 2mL EtOH/H₂O (v:v 1:1), được lọc khử trùng (Millipore Cathivex-GV, 0,22 μ m) và rửa giải bằng 10mL dung dịch nước muối đệm phosphat (PBS) pH=7,4 (theo Eur. Ph. 8.0 (4005000)). Dung dịch phức ^{68}Ga -MB17 được sử dụng cho bệnh nhân thông qua việc truyền bolus trong tĩnh mạch.

Ví dụ 10: Điều trị cho người bằng MB17 được đánh dấu ^{177}Lu

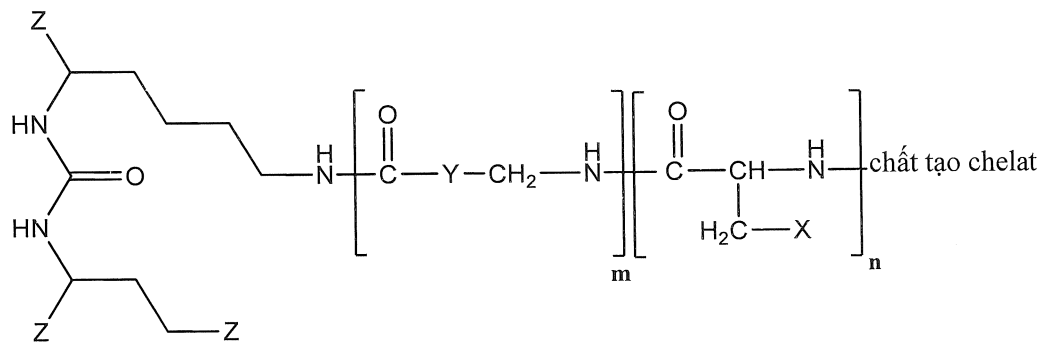
Để điều trị, PSMA phối tử MB17 được đánh dấu phóng xạ bằng Lu-177. $^{177}\text{LuCl}_3$ thu được từ Perkin Elmer (4 GBq, NEZ307D, HCl 0,04 M). 80 nmol MB17 được hòa tan trong 400 μ L đệm natri axetat (0,4M, pH=5) được bổ sung 5 μ L axit ascorbic 20%. Chuyển dung dịch vào $^{177}\text{LuCl}_3$ và ủ trong 10 phút ở 95°C. Cuối cùng, thêm 2mL NaCl 0,9%. Để kiểm soát chất lượng, ITLC và HPLC phóng xạ được thực hiện.

MB17 được đánh dấu ^{177}Lu được sử dụng cho bệnh nhân thông qua truyền bolus trong tĩnh mạch (5mL, từ từ trong 30 giây). Sử dụng trong tĩnh mạch kèm theo truyền NaCl 0,9% trong 4,5 giờ bắt đầu ở 0,5 giờ trước khi tiêm. Tham khảo Fig. 18.

1. Hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib):

$$\begin{array}{c} \text{Z} \\ | \\ \text{HN} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \left[\text{C}(=\text{O}) - \underset{\text{H}_2\text{C}-\text{X}}{\text{CH}} - \text{NH} \right]_n - \left[\text{C}(=\text{O}) - \text{Y} - \text{CH}_2 - \text{NH} \right]_m - \text{chất tạo chelat} \\ | \\ \text{HN} - \text{C}(=\text{O}) \\ | \\ \text{Z} \end{array}$$

(Ib)



Z độc lập được chọn từ $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_4\text{H}$, $-\text{PO}_2\text{H}$, $-\text{PO}_3\text{H}$, hoặc $-\text{PO}_4\text{H}_2$; và

chất tạo chelat là gốc của:

axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-N,N',N'',N'''-tetraaxetic (DOTA);

axit N,N''-bis[2-hydroxy-5-(carboxyetyl)benzyl]etylendiamin-N,N''-diaxetic (HBED-CC);

axit 1,4,7-triazaxyclononan-1,4,7-triaxetic (NOTA);

axit 2-(4,7-bis(carboxymetyl)-1,4,7-triazonan-1-yl)pentandioic (NODAGA);

axit 2-(4,7,10-tris(carboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-1-yl)pentandioic (DOTAGA);

axit 1,4,7-triazaxyclononan phosphinic (TRAP);

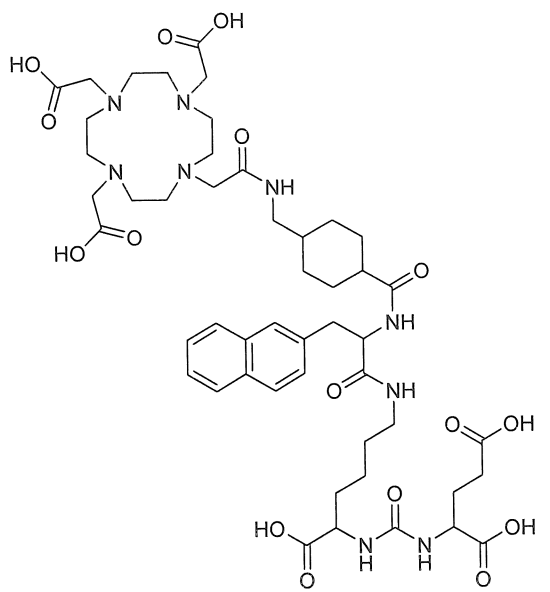
1,4,7-triazaxyclononan-1-[axit metyl(2-carboxyetyl)phosphinic]-4,7-bis[axit metyl(2-hydroxymetyl)phosphinic] (NOPO);

axit 3,6,9,15-tetraazabixyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triaxetic (PCTA); hoặc

axit dietylentriaminpentaaxetic (DTPA),

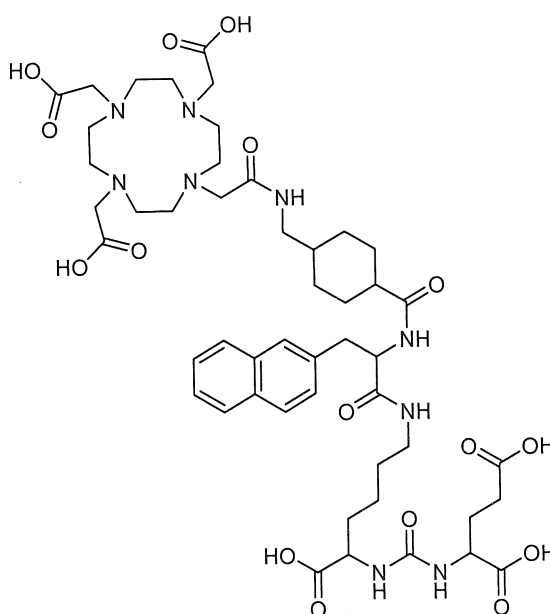
hoặc muối được dụng của chúng, solvat của chúng, solvat của muối của chúng hoặc tautome của chúng.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất là hợp chất có công thức (Ia) hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó X là naphtyl, hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.
4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó Y là xyclohexyl, hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.
5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó n là 1, hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó hợp chất có cấu trúc:

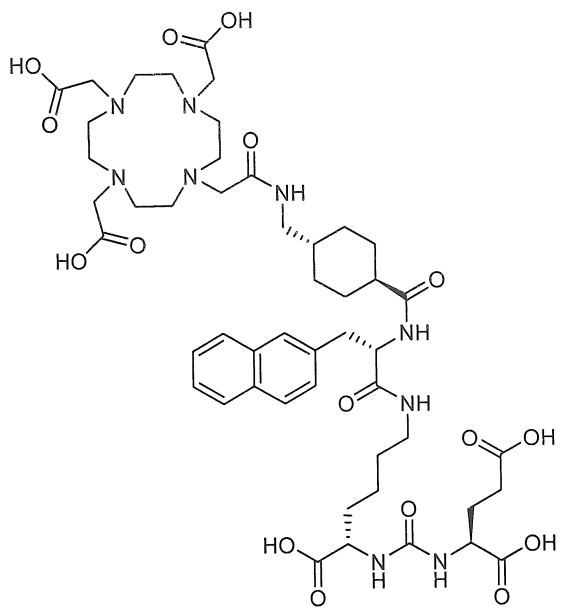


hoặc muối được dựng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó hợp chất có cấu trúc:

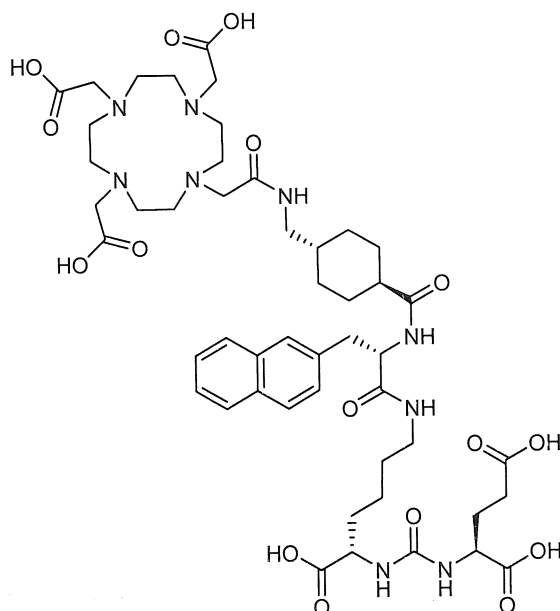


8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó hợp chất có cấu trúc:



hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó.

9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó hợp chất có cấu trúc:



10. Phức kim loại chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên; và nuclit phóng xạ, trong đó nuclit phóng xạ này được tạo phức với chất tạo chelat.

11. Phức kim loại theo điểm 10, trong đó nuclit phóng xạ được chọn từ ^{89}Zr ,

^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra , ^{165}Er , hoặc Fe.

12. Phức kim loại theo điểm 11, trong đó nuclit phóng xạ được chọn từ ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , ^{177}Lu , ^{64}Cu , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , hoặc Fe.

13. Phức kim loại theo điểm 12, trong đó nuclit phóng xạ là ^{177}Lu .

14. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối được dùng của nó, hoặc solvat của nó, hoặc solvat của muối của nó, hoặc tautome của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, hoặc phức kim loại theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 13, và chất mang được dùng.

Fig. 1**MB17**

Chụp PET

Đường cong thời gian-hoạt tính

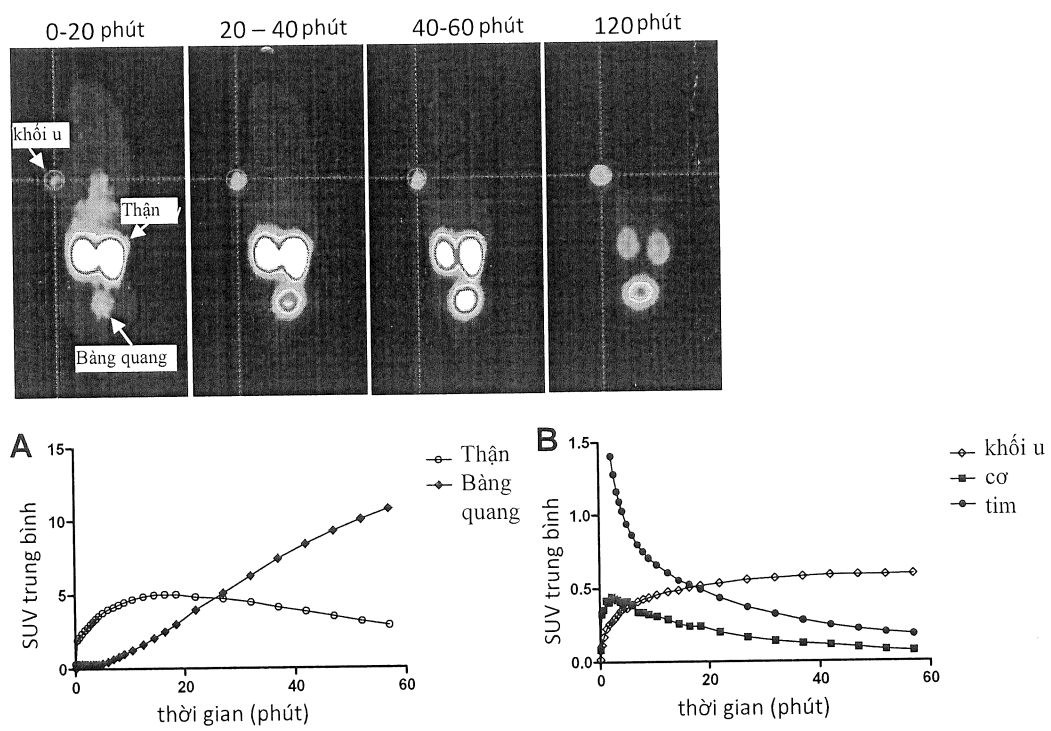


Fig. 2

Phân bố trong cơ quan 1 giờ sau khi tiêm

	MB17			MB17 bị phong bế		
	%ID/g	SD	n	%ID/g	SD	n
Máu	1,08	0,25	3	1,24	0,92	3
Tim	0,53	0,15	3	0,49	0,27	3
Phổi	1,41	0,41	3	1,10	0,53	3
Lá lách	2,13	0,16	3	0,53	0,36	3
Gan	1,17	0,10	3	0,73	0,07	3
Thận	113,34	24,45	3	2,38	1,40	3
Cơ	0,50	0,07	3	0,24	0,09	3
Ruột	0,46	0,13	3	0,35	0,23	3
Não	0,12	0,01	3	0,07	0,01	3
Khối u LNCaP	8,47	4,09	3	0,98	0,32	3

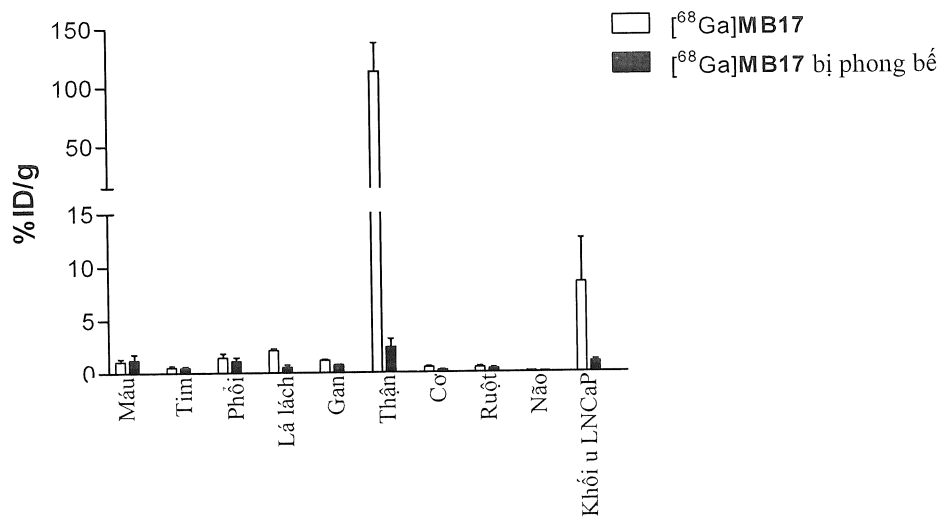


Fig. 3**MB04**

Chụp PET

Đường cong thời gian-hoạt tính

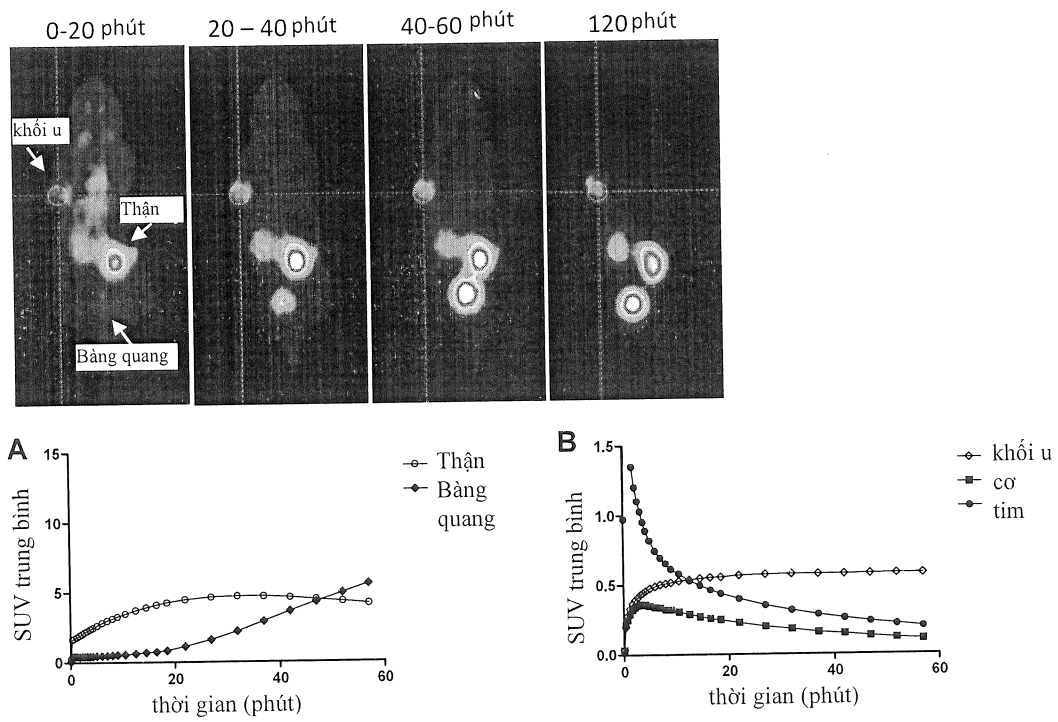
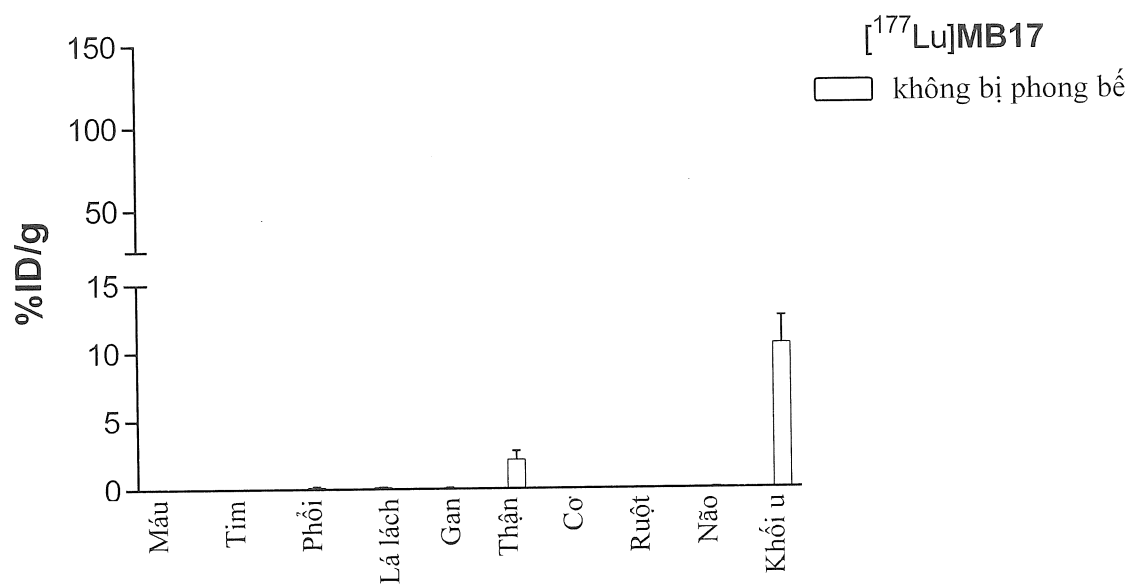


Fig. 4



24 h	%ID/g	SD	n
Máu	0,01	0,00	5
Tim	0,02	0,01	5
Phổi	0,11	0,13	5
Lá lách	0,13	0,05	5
Gan	0,08	0,03	5
Thận	2,13	1,36	5
Cơ	0,02	0,01	5
Ruột	0,02	0,01	5
Não	0,05	0,03	5
Khối u LNCaP	10,58	4,50	5

Fig. 5**MB-02**

Chụp PET

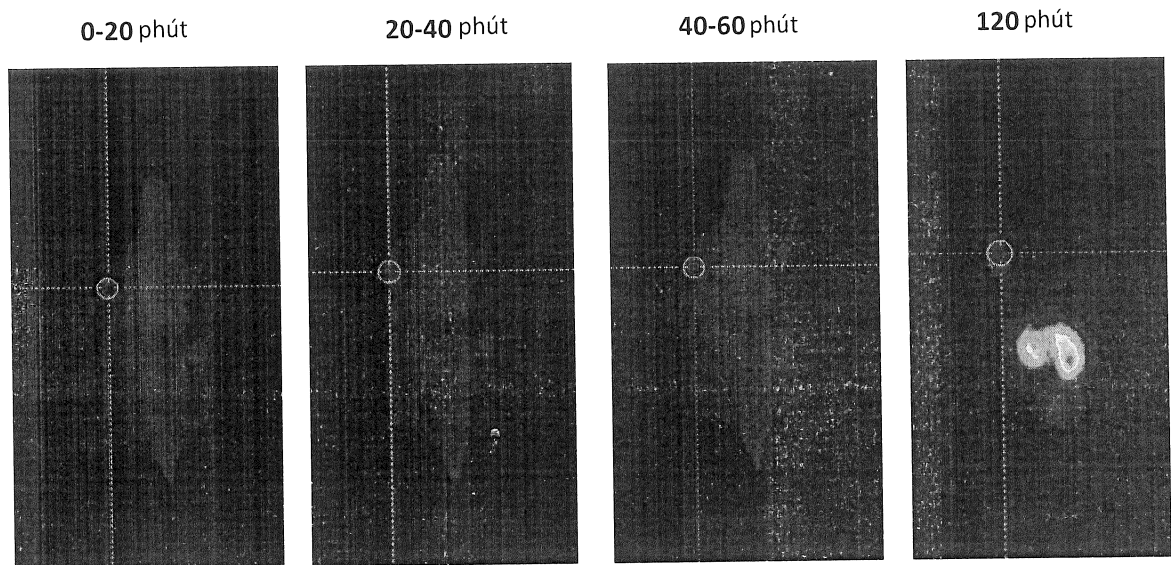


Fig. 6**MB-03**

Chụp PET

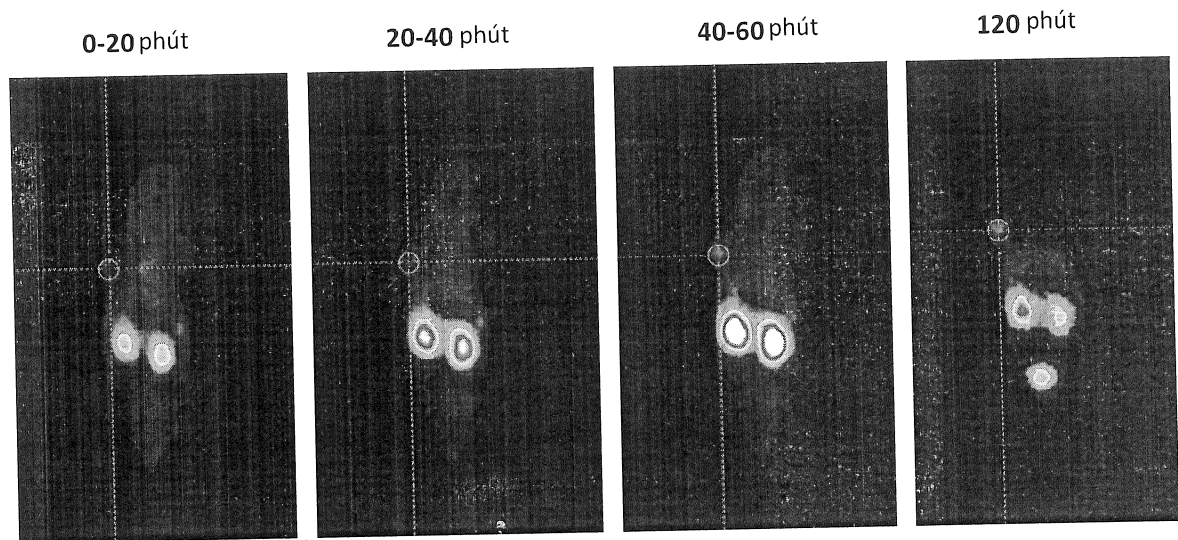


Fig. 7**MB-10**

Chụp PET

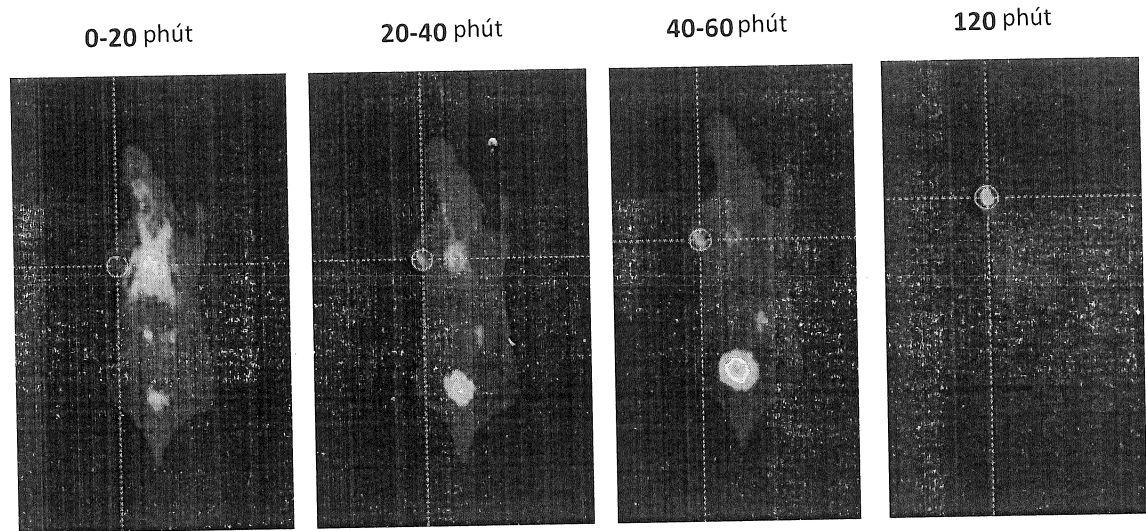
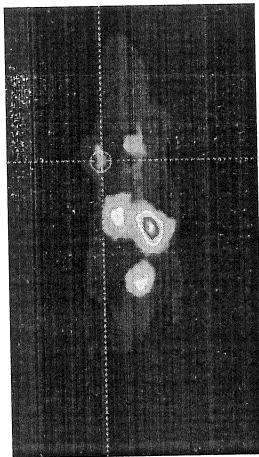
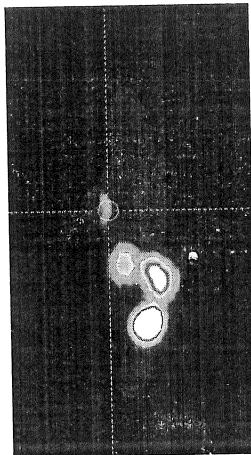
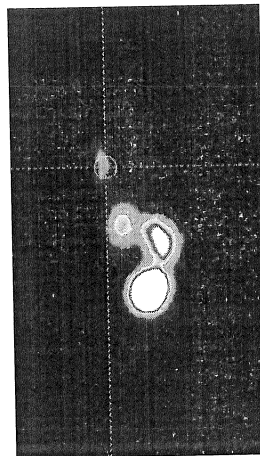
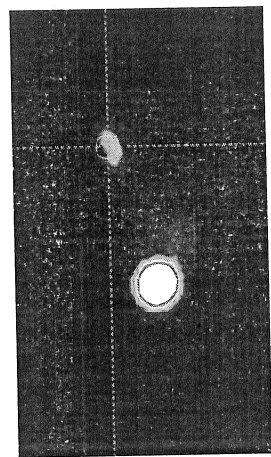


Fig. 8**MB-17.D**

Chụp PET

0-20 phút**20-40 phút****40-60 phút****120 phút**

9/20

Fig. 9**MB-22**

Chụp PET

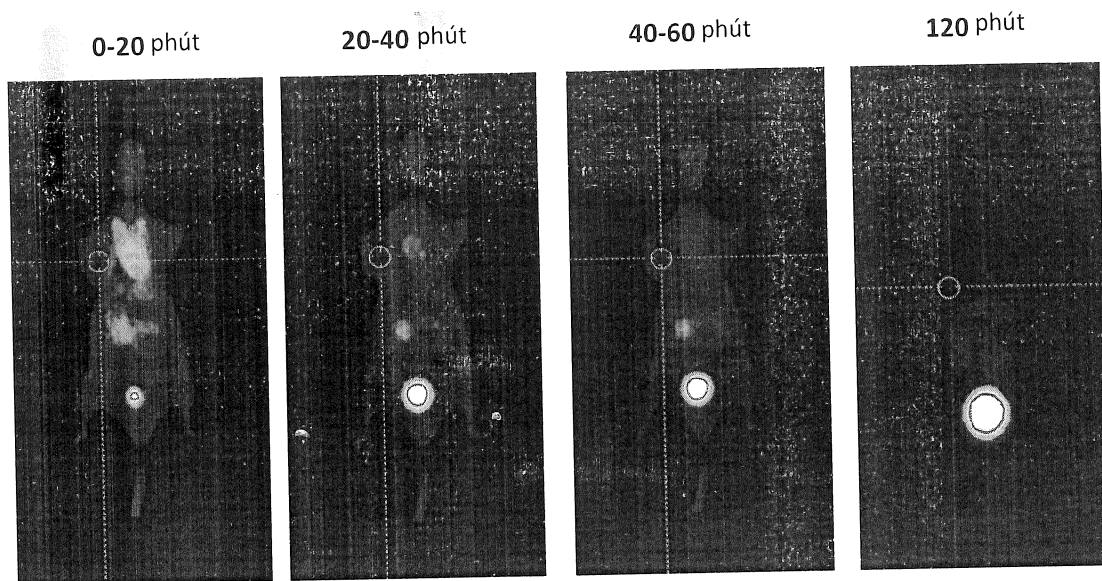


Fig. 10**MB-24**

Chụp PET

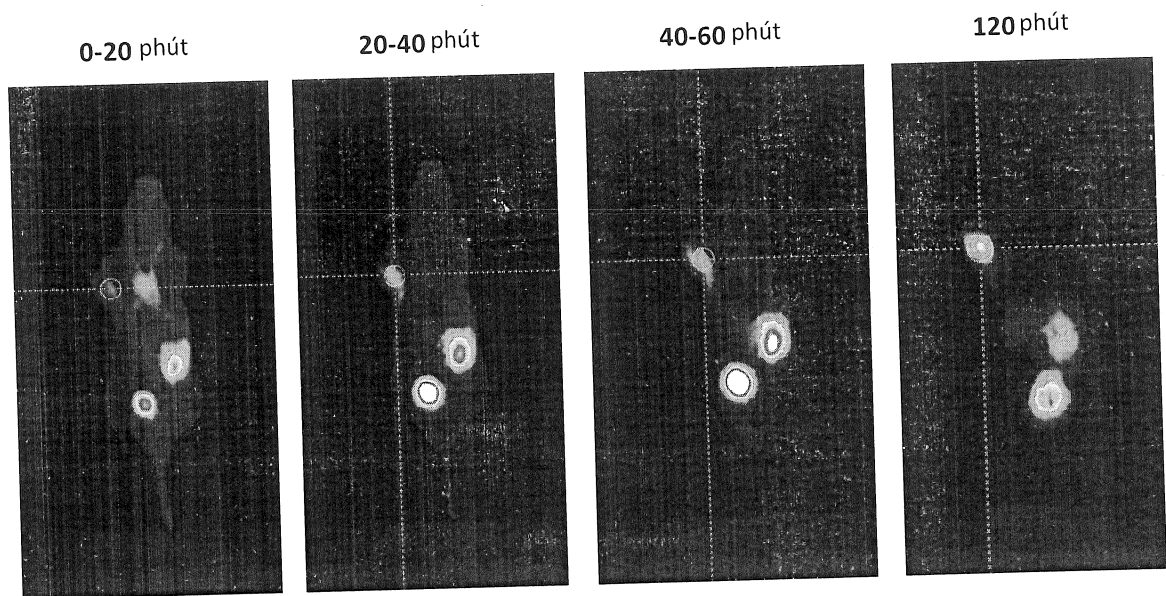


Fig. 11**MB-25**

Chụp PET

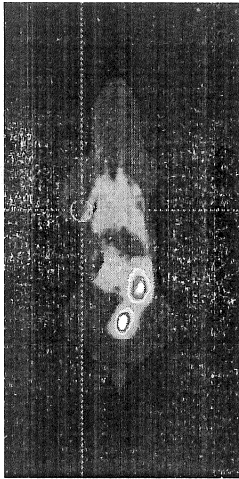
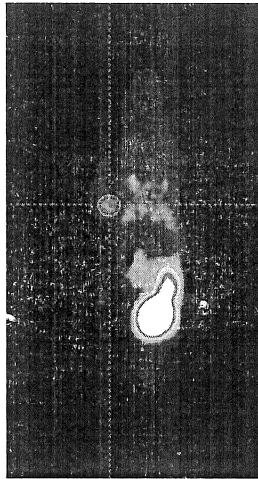
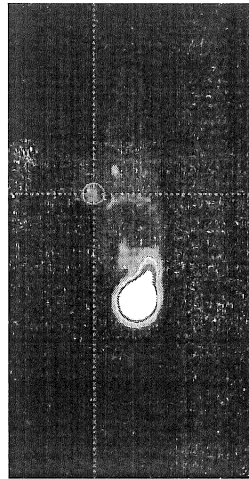
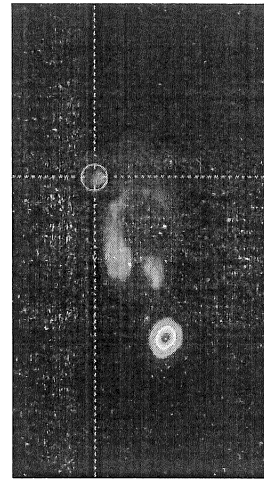
0-20 phút**20-40 phút****40-60 phút****120 phút**

Fig. 12**MB-31**

Chụp PET

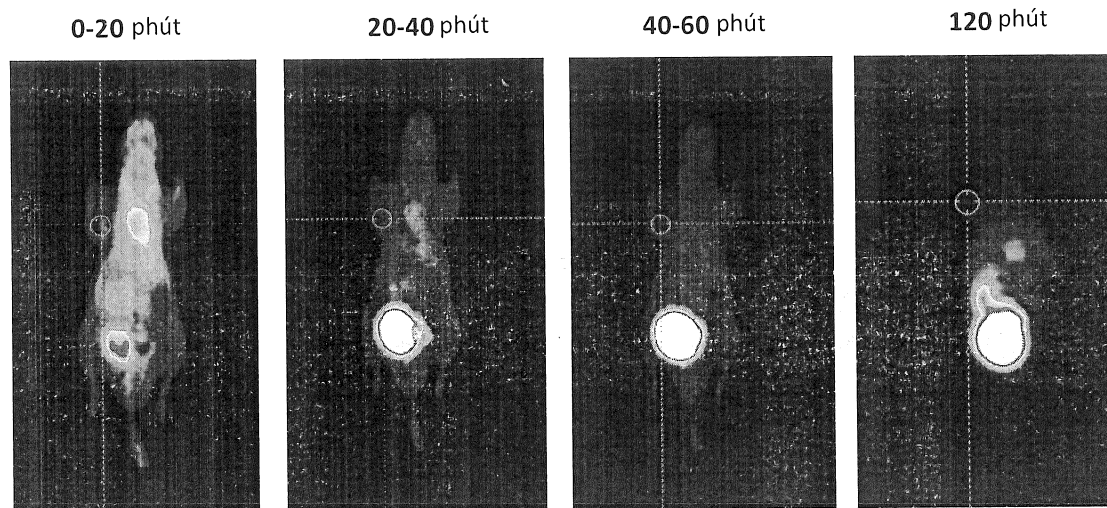


Fig. 13**MB-33**

Chụp PET

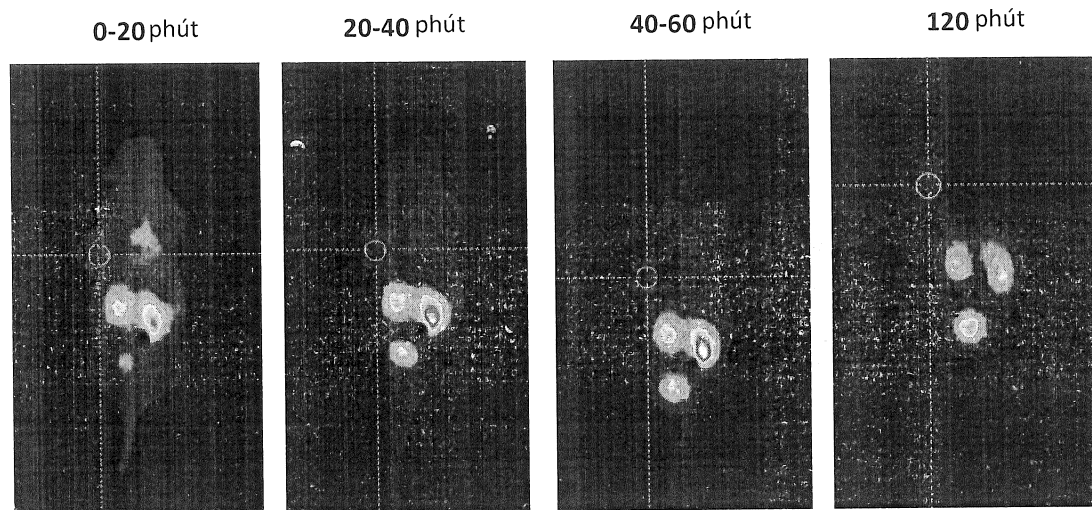


Fig. 14**MB-35**

Chụp PET

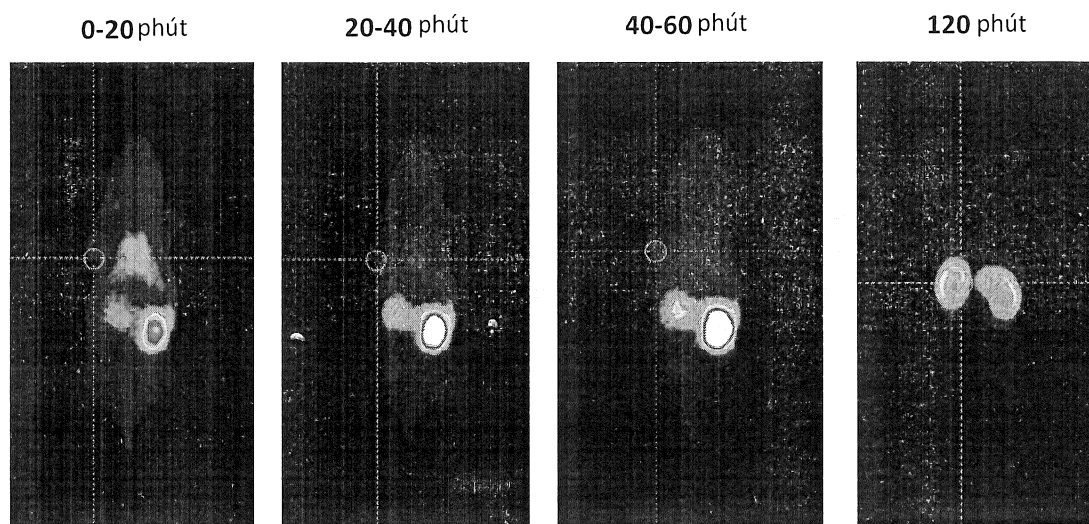


Fig. 15

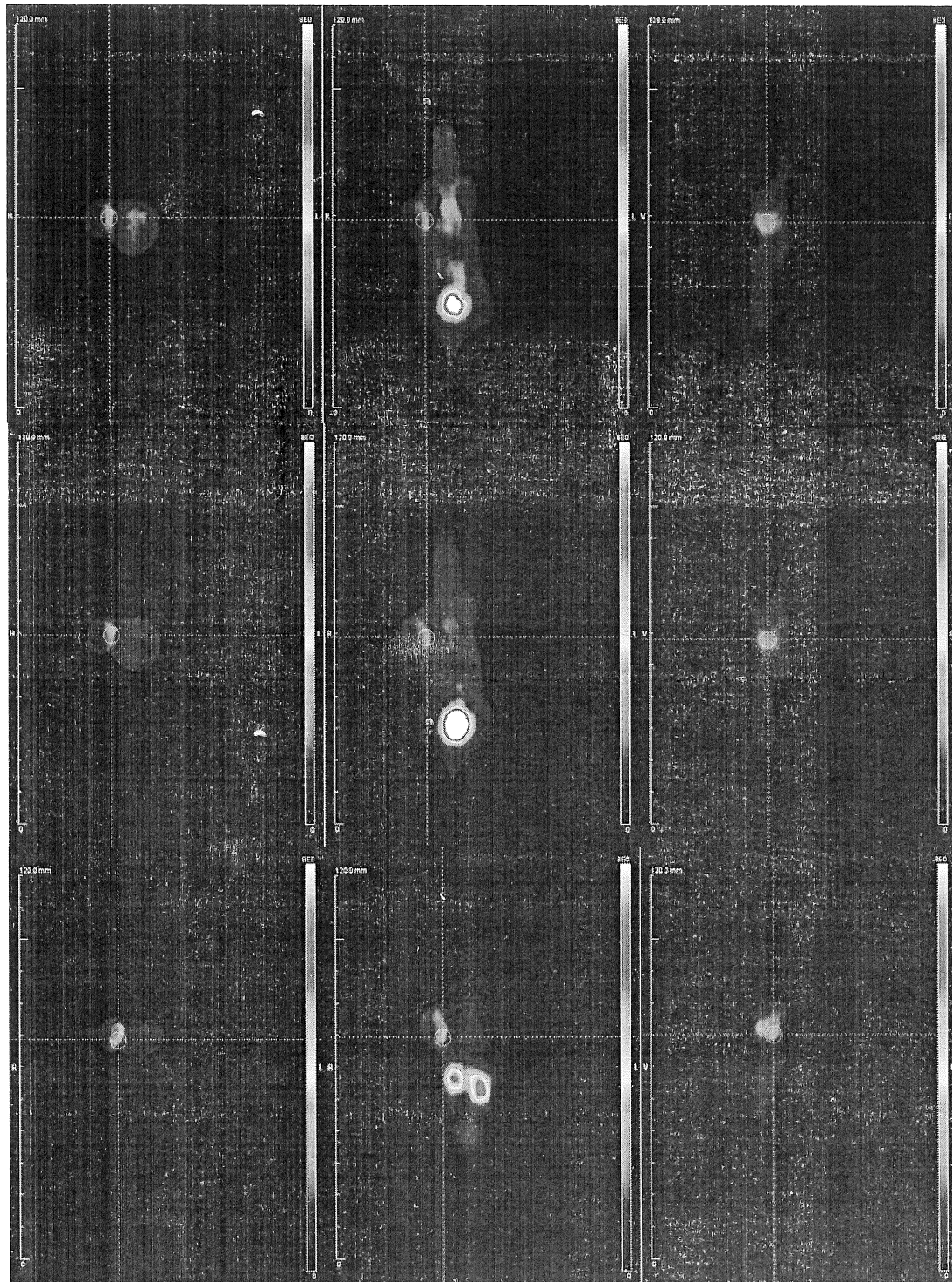


Fig. 16**MB-17 so với MB-17.D**

Chụp PET sau tiêm 2 giờ, so với hình ảnh quét toàn thân

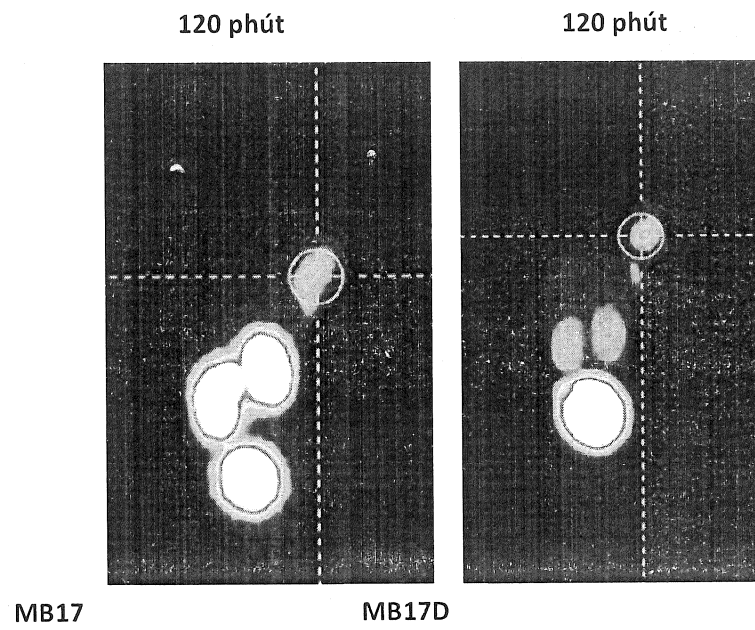


Fig. 17 a

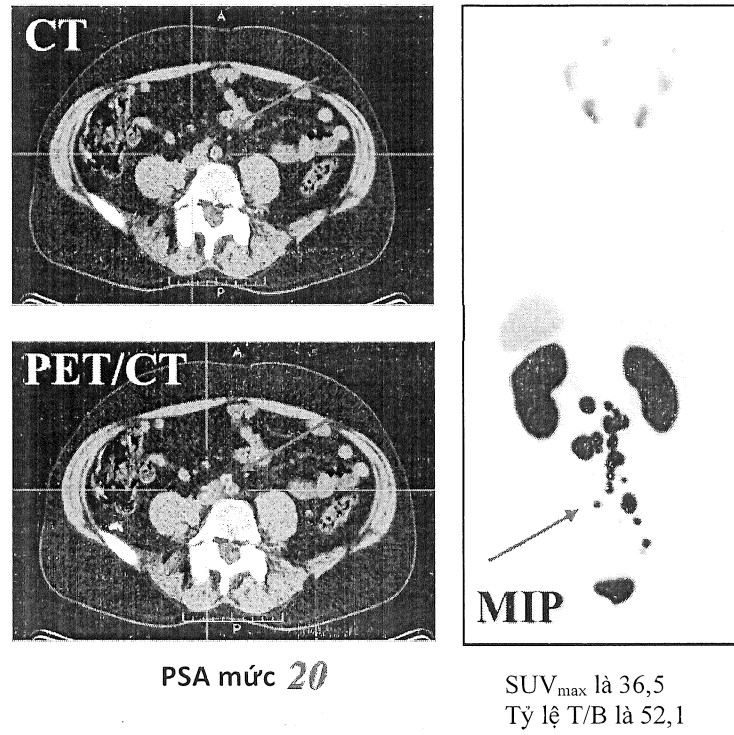
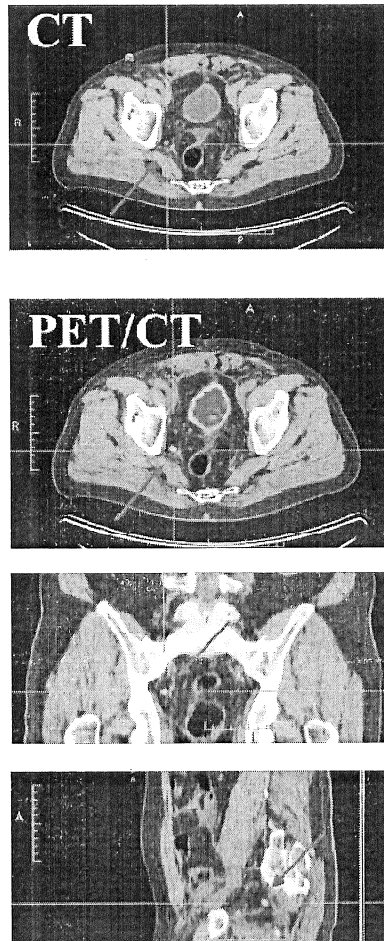


Fig. 17b

PSA mức 0,7

Fig. 18a

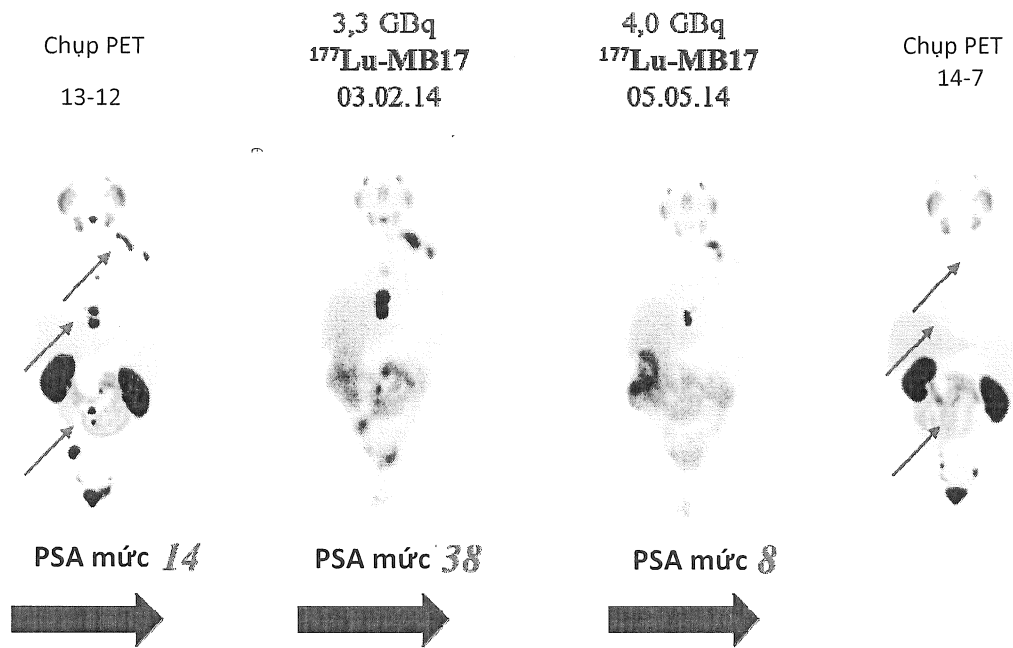


Fig. 18 b

