



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110420337 A

(43)申请公布日 2019.11.08

(21)申请号 201910777330.4

(22)申请日 2019.08.22

(66)本国优先权数据

201910438506.3 2019.05.24 CN

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所

地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号

申请人 北京大学

(72)发明人 王凡 史继云 罗麒 贾兵

(74)专利代理机构 北京国林贸知识产权代理有

限公司 11001

代理人 李瑾 李连生

(51)Int.Cl.

A61K 51/08(2006.01)

A61K 103/00(2006.01)

A61K 103/10(2006.01)

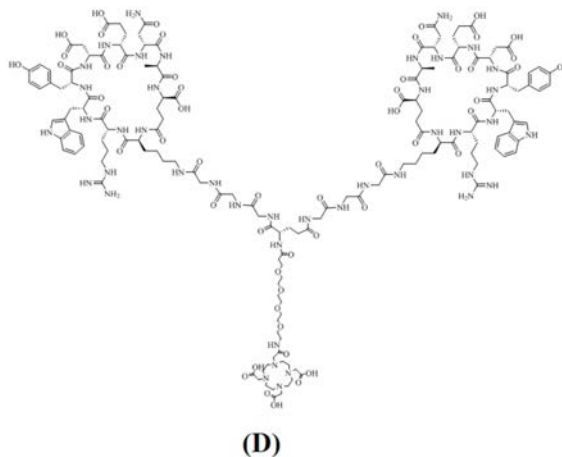
权利要求书2页 说明书9页 附图9页

(54)发明名称

一种靶向整合素 α_6 的二聚体多肽放射性药物及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种靶向整合素 α_6 的二聚体多肽放射性药物及其制备方法,该放射性药物包括cKiE二聚体多肽和放射性核素,所述放射性核素通过双功能螯合剂标记所述cKiE二聚体多肽;所述cKiE二聚体多肽由两个连接有连接剂的cKiE多肽单体二聚化而成;所述cKiE多肽单体为环形多肽,所述环形多肽由序列为Lys-Arg-Trp-Tyr-Asp-Glu-Asn-Ala-Glu的氨基酸分子链首尾连接而成;连接剂为3-5个惰性氨基酸分子依次连接的氨基酸分子链或聚合度为3-12的聚乙二醇,惰性氨基酸为甘氨酸或丝氨酸。发明的放射性药物环型多肽序列不会被体内的蛋白酶识别,能够有效的提高体内代谢稳定性,从而提高肿瘤组织的摄取。



1. 一种靶向整合素 α_6 的二聚体多肽放射性药物,其特征在于:包括cKiE二聚体多肽和放射性核素,所述放射性核素通过双功能螯合剂标记所述cKiE二聚体多肽;所述cKiE二聚体多肽由两个连接有连接剂的cKiE多肽单体二聚化而成;所述cKiE多肽单体为环形多肽,所述环形多肽由序列为Lys-Arg-Trp-Tyr-Asp-Glu-Asn-Ala-Glu的氨基酸分子链首尾连接而成;所述连接剂为3-5个惰性氨基酸分子依次连接的氨基酸分子链或聚合度为3-12的聚乙二醇,所述惰性氨基酸为甘氨酸或丝氨酸。

2. 根据权利要求1所述的靶向整合素 α_6 的环型多肽放射性药物,其特征在于:所述cKiE二聚体多肽与所述双功能螯合剂之间连接有药代动力学修饰分子。

3. 根据权利要求1所述的靶向整合素 α_6 的环型多肽放射性药物,其特征在于:所述药代动力学修饰分子为聚合度为4的聚乙二醇或者为8-氨基辛酸;所述放射性核素为 ^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{111}In , ^{90}Y 和 ^{177}Lu 中任意一种;双功能螯合剂为HYNIC, DOTA, NOTA和DTPA中任意一种。

4. 根据权利要求1所述的靶向整合素 α_6 的环型多肽放射性药物,其特征在于:所述连接剂为GGG、SSS、GSS、GGS、GSG、GGGG、GGGGG中任意一种氨基酸分子链。

5. 根据权利要求1所述的靶向整合素 α_6 的环型多肽放射性药物,其特征在于:所述连接剂为聚合度为4的聚乙二醇。

6. 根据权利要求1所述的靶向整合素 α_6 的环型多肽放射性药物,其特征在于:所述多肽放射性药物为无色透明液体针剂。

7. 一种靶向整合素 α_6 的cKiE多肽放射性药物的制备方法,其特征在于:

所述方法包括以下步骤:以下各步骤中以PKM表示药代动力学修饰分子,以PKM1表示连接剂;以cKiE表示cKiE多肽单体;

a、HYNIC-PKM-COOH的制备

将Fmoc-NH₂-PKM-COOH溶于终浓度体积分数20%哌啶的DMF溶液,室温反应15-30分钟后,加入乙醚使NH₂-PKM-COOH沉淀,离心,弃掉上清,沉淀用乙醚洗涤,除去残留的乙醚,获得预期产物NH₂-PKM-COOH;将HYNIC-NHS和NH₂-PKM-COOH溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物HYNIC-PKM-COOH;

b、HYNIC-PKM-OSu的制备

将HYNIC-PKM-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌5-10小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物HYNIC-PKM-OSu;

c、(PKM1-cKiE)₂-Glu的制备

将PKM1-cKiE和OSu₂-Glu-Boc溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc;将冻干产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc溶于1ml TFA,室温反应5min,反应液用氮气吹干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu;

d、HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

将(PKM1-cKiE)₂-Glu和HYNIC-PKM-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂;

e、 ^{99m}Tc -HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

配制含三苯基膦三磺酸钠、三羟甲基甘氨酸、琥珀酸二钠、琥珀酸和HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的混合液,混合液中上述各物质的质量比为:4-6:6-7:38-39:12-13:0.05,将混合液冻干。在冻干粉末中加入 $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ 溶液,100℃水浴加热反应20-25分钟,待反应结束后室温冷却,制成 ^{99m}Tc -HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂。

8.一种靶向整合素 α_6 的cKiE多肽放射性药物的制备方法,其特征在于:

所述方法包括以下步骤:以下各步骤中以PKM表示药代动力学修饰分子,以PKM1表示连接剂;以cKiE表示cKiE多肽单体;

a、DOTA-PKM-COOH的制备

将Fmoc保护的PKM-COOH溶于终浓度体积分数20%哌啶的DMF溶液,室温反应15~30分钟后,加入乙醚使PKM-COOH沉淀,离心,弃掉上清,沉淀用乙醚洗涤,除去残留的乙醚,获得预期产物 NH_2 -PKM-COOH;将DOTA-NHS和 NH_2 -PKM-COOH溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物DOTA-PKM-COOH;

b、DOTA-PKM-OSu的制备

将DOTA-PKM-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌5-10小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物DOTA-PKM-OSu;

c、(PKM1-cKiE)₂-Glu的制备

将PKM1-cKiE和OSu₂-Glu-Boc溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc;将冻干产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc溶于1ml TFA,室温反应5min,反应液用氮气吹干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu;

d、DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

将(PKM1-cKiE)₂-Glu和DOTA-PKM-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂;

e、 ^{68}Ga -DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

从锗-镓发生器新鲜淋洗 $^{68}\text{GaCl}_3$,用2.5M的 NH_4OAc 调节pH至3.5,加入DOTA-PEG₄-(PKM1-cKiE)₂,99℃水浴加热20分钟,待反应结束后室温冷却10分钟,制成 ^{68}Ga -DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂。

9.根据权利要求7或8所述的cKiE多肽放射性药物的制备方法,其特征在于:所述HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱或分析柱,梯度淋洗30分钟;其中流动A相为去离子水,含0.05%TFA;流动B相为乙腈,含0.05%TFA;步骤a:配备半制备柱,流速4mL/min,淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。步骤b:配备分析柱,流速1mL/min,淋洗梯度为初始时90%A和10%B,20分钟时30%A和70%B。

10.一种权利要求1所述的cKiE多肽放射性药物的应用,其特征在于:所述cKiE多肽放射性药物用于制备整合素 α_6 阳性肿瘤患者的显像诊断药物。

一种靶向整合素 α_6 的二聚体多肽放射性药物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新型肿瘤诊断放射性药物,特别涉及一种靶向整合素 α_6 的放射性制剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 整合素家族是一类由 α 和 β 两个亚单位以非共价键结合形成的异二聚体跨膜糖蛋白。目前已经在哺乳动物中发现18种 α 亚单位和8种 β 亚单位。这些亚单位可组合形成24种整合素。亚基组合的不同,整合素的分布和生理功能也不同。一种整合素可以有多个配体,而一种配体又可以和多种受体结合。整合素通常参与细胞内外的信号转导从而调控各种重要的细胞功能,如粘附、极性、分化、迁移和细胞分裂等。整合素 α_6 作为整合素家族成员之一,主要和 β_1 或 β_4 亚单位结合,组成 $\alpha_6\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_4$,是层黏连蛋白的特异性受体。整合素 α_6 在乳腺癌、肝癌、鼻咽癌和宫颈癌等多种肿瘤中表达上调,而在相应的正常组织中表达下调。整合素 α_6 在肿瘤的发生、新生血管生成、侵袭和转移中,发挥着重要作用。此外,肿瘤中整合素 α_6 的高表达,与其预后呈现负相关。因此,整合素 α_6 可以作为肿瘤诊断和预后评价的生物标志物,针对整合素 α_6 开发肿瘤分子影像探针显得尤为重要。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种新型的靶向整合素 α_6 阳性肿瘤的多肽放射性药物。该药物首先将氨基酸分子链或聚乙二醇分子与环型多肽cKRWDENAIsoE(cKiE)连接,然后再将此二聚化,使二聚体分子中的两个多肽有足够长的距离能够同时结合两个整合素 α_6 靶点,在增强体内稳定性、改善药代动力学性质的同时,提高肿瘤的靶向性。这种双价形式的结合可以进一步增强肿瘤对药物的摄取,达到更好的诊断效果。该药物通过双功能螯合剂将放射性核素标记到cKiE二聚体多肽分子上,在体内标记药物通过cKiE多肽的靶向作用浓聚到肿瘤部位,利用核医学的单光子断层显像(SPECT)技术或正电子发射计算机断层显像(PET)技术,对整合素 α_6 阳性肿瘤进行显像诊断。

[0004] 本发明的目的是通过如下技术方案实现:

[0005] 一种靶向整合素 α_6 的二聚体多肽放射性药物,包括cKiE二聚体多肽和放射性核素,所述放射性核素通过双功能螯合剂标记所述cKiE二聚体多肽;所述cKiE二聚体多肽由两个连接有连接剂的cKiE多肽单体二聚化而成;所述cKiE多肽单体为环形多肽,所述环形多肽由序列为Lys-Arg-Trp-Tyr-Asp-Glu-Asn-Ala-Glu(赖氨酸-精氨酸-色氨酸-酪氨酸-天冬氨酸-谷氨酸-天冬酰胺-丙氨酸-谷氨酸,简称为cKRWDENAIsoE)的氨基酸分子链首尾连接而成;所述连接剂(以PKM1表示)为3-5个惰性氨基酸分子依次连接的氨基酸分子链或聚合度为3-12的聚乙二醇(PEG_n, PEG=Polyethylene glycol, n=3-12),所述惰性氨基酸为甘氨酸或丝氨酸。(惰性氨基酸就是没有侧链基团或者有侧链基团但不容易与其它基团反应的氨基酸,本发明中限定为甘氨酸或丝氨酸)。

[0006] 进一步的,所述cKiE二聚体多肽与所述双功能螯合剂之间连接有药代动力学修

饰分子(PKM)。

[0007] 进一步的,所述药代动力学修饰分子(PKM)为聚合度为4的聚乙二醇(PEG₄)或者为8-氨基辛酸(Aoc);

[0008] 所述放射性核素为^{99m}Tc,⁶⁸Ga,⁶⁴Cu,¹¹¹In,⁹⁰Y和¹⁷⁷Lu中任意一种;

[0009] 双功能螯合剂为HYNIC,DOTA,NOTA和DTPA中任意一种。

[0010] 进一步的,所述连接剂为GGG、SSS、GSS、GGS、GSG、GGGG、GGGGG中任意一种惰性氨基酸分子链,优选为最简单的没有支链的三个甘氨酸依次连接的分子链GGG。根据需要可以增加Gly的数量以增加分子链长,比如GGGG或GGGGG,也可以用Ser替换Gly以增加分子链的亲水性,比如GSG、GGS、GSS和SSS

[0011] 进一步的,所述连接剂为聚合度为4的聚乙二醇。

[0012] 进一步的,所述多肽放射性药物为无色透明液体针剂。

[0013] 一种cKiE二聚体多肽放射性药物的制备方法,包括以下步骤:以下各步骤中以PKM表示药代动力学修饰分子,以PKM1表示连接剂;以cKiE表示cKiE多肽单体;

[0014] a、HYNIC-PKM-COOH的制备

[0015] 将Fmoc保护的PKM-COOH溶于终浓度体积分数20%哌啶的DMF溶液,室温反应15~30分钟后,加入乙醚使PKM-COOH沉淀,离心,弃掉上清,沉淀用乙醚洗涤,除去残留的乙醚,获得预期产物NH₂-PKM-COOH;将HYNIC-NHS和NH₂-PKM-COOH溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物 HYNIC-PKM-COOH;

[0016] b、HYNIC-PKM-OSu的制备

[0017] 将HYNIC-PKM-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌5-10小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物HYNIC-PKM-OSu;

[0018] c、(PKM1-cKiE)₂-Glu的制备

[0019] 将PKM1-cKiE和OSu₂-Glu-Boc溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc;将冻干产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc溶于TFA,室温反应5min,反应液用氮气吹干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu;

[0020] d、HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

[0021] 将(PKM1-cKiE)₂-Glu和HYNIC-PKM-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物 HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂;

[0022] e、^{99m}Tc-HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

[0023] 配制含三苯基膦三磺酸钠(TPPTS)、三羟甲基甘氨酸(tricine)、琥珀酸二钠、琥珀酸和HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂的混合液,混合液中上述各物质的质量比为:4~6:6~7:

38~39:12~13:0.05,将混合液冻干。在冻干粉末中加入 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ 溶液,100℃水浴加热反应20-25分钟,待反应结束后室温冷却,制成cKiE多肽放射性药物。经HPLC分析备用。

[0024] 另一种cKiE二聚体多肽放射性药物的制备方法,包括以下步骤:以下各步骤中以PKM表示药代动力学修饰分子,以PKM1表示连接剂;以cKiE表示cKiE多肽单体;

[0025] a、DOTA-PKM-COOH的制备

[0026] 将Fmoc保护的PKM-COOH溶于终浓度体积分数20%哌啶的DMF溶液,室温反应15-30分钟后,加入乙醚使PKM-COOH沉淀,离心,弃掉上清,沉淀用乙醚洗涤,除去残留的乙醚,获得预期产物 NH_2 -PKM-COOH;将DOTA-NHS和 NH_2 -PKM-COOH溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物DOTA-PKM-COOH;

[0027] b、DOTA-PKM-OSu的制备

[0028] 将DOTA-PKM-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌5-10小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物DOTA-PKM-OSu;

[0029] c、(PKM1-cKiE)₂-Glu的制备

[0030] 将PKM1-cKiE和OSu₂-Glu-Boc溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc;将冻干产物(PKM1-cKiE)₂-Glu-Boc溶于TFA,室温反应5min,反应液用氮气吹干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物(PKM1-cKiE)₂-Glu;

[0031] d、DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

[0032] 将(PKM1-cKiE)₂-Glu和DOTA-PKM-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析确认为预期产物DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂;

[0033] e、⁶⁸Ga-DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂的制备

[0034] 从锗-镓发生器新鲜淋洗⁶⁸GaCl₃,用2.5M的NH₄OAc调节pH至3.5。加入50μg DOTA-PEG₄-(PKM1-cKiE)₂,99℃水浴加热20分钟,待反应结束后室温冷却10分钟,制成cKiE多肽放射性药物。经HPLC分析备用。

[0035] 进一步的,所述HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm,I.D.S-5μm,12nm)或分析柱(250×4.6mm,I.D.S-5μm,12nm),梯度淋洗30分钟,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。步骤a:配备半制备柱,流速4mL/min,淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。步骤b:配备分析柱,流速1mL/min,淋洗梯度为初始时90%A和10%B,20分钟时30%A和70%B。

[0036] 所述cKiE多肽放射性药物用于整合素α₆阳性肿瘤患者的显像诊断。

[0037] 本发明的有益效果:

[0038] 1、在本发明cKiE多肽放射性药物,环型多肽序列不会被体内的蛋白酶识别,能够有效的提高体内代谢稳定性,从而提高肿瘤组织的摄取。

[0039] 2、本发明cKiE多肽放射性药物,首先将氨基酸分子链或聚乙二醇分子与环型多肽单体连接,然后再将此二聚化,使二聚体分子中的两个多肽有足够长的距离能够同时结合两个整合素 α_6 靶点,这种双价形式的结合可以进一步增强肿瘤对药物的摄取,达到更好的诊断效果。

[0040] 3、本发明不仅在两个cKiE多肽之间引入PKM1,同时在用于放射性核素标记的双功能螯合剂(如HYNIC或DOTA)与整合素 α_6 靶向的cKiE多肽二聚体之间引入了药代动力学修饰分子PKM,即HYNIC-PKM-(PKM1-cKiE)₂或DOTA-PKM-(PKM1-cKiE)₂,改善了探针的生物相容性,优化了药代动力学性质,特别是从非肿瘤组织的清除动力学。

[0041] 4、本发明中使用HYNIC作为双功能螯合剂,同时使用TPPTS和tricine作为协同配体从而使^{99m}Tc-HYNIC核具有更加良好的体内外稳定性。

[0042] 研究证实cCRWYDENAC序列多肽具有很好的整合素 α_6 靶向性能,能够有效地分辨出不同肿瘤细胞的整合素 α_6 表达情况。本实验合成优化的cKiE多肽药物(cKRWYDENAlisoE),酰胺键首尾成环,简化多肽合成工序。同时,cKiE二聚体多肽在两个多肽之间引入足够长的连接剂,使二聚体分子中的两个多肽有足够长的距离能够同时结合两个整合素 α_6 靶点,比单体具有更高的亲和力,增强药物的受体-配体亲和力以达到更高的肿瘤摄取。在用于放射性核素标记的双功能螯合剂与cKiE二聚体多肽之间加入了药代动力学修饰分子PKM,优化了药代动力学性质,以达到更好的肿瘤诊断效果。

附图说明

[0043] 图1. (A) cKiE多肽, (B) HYNIC-GGG-cKiE, (C) HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂, (D) DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂结构示意图。

[0044] 图2. ^{99m}Tc-HYNIC-PKM-(GGG-cKiE)₂标记物结构示意图。

[0045] 图3. ^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂细胞结合实验(***表示P<0.001)。

[0046] 图4. 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5、1和2h后,在BALB/c Nude鼠CNE2鼻咽癌模型中SPECT/CT显像图(虚线指示肿瘤部分)。

[0047] 图5. (A) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5h后,在BALB/c Nude鼠CNE2鼻咽癌模型,CNE2sh(整合素 α_6 敲低)肿瘤模型和CNE2鼻咽癌模型注射过量cKiE多肽阻断实验中的SPECT/CT显像图;(B) 注射^{99m}Tc-HYNIC-GGG-cKiE 0.5h后,在CNE2鼻咽癌模型中的SPECT/CT显像图(虚线指示肿瘤部分)。

[0048] 图6. (A) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5、1和2h后,在CNE2鼻咽癌模型中体内分布结果;(B) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5h后,在CNE2肿瘤模型和CNE2sh(整合素 α_6 敲低)肿瘤模型实验中的体内分布结果对比;(C) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5h后,在CNE2肿瘤模型和CNE2肿瘤模型阻断实验中的体内分布结果对比。

[0049] 图7. 在BALB/c Nude鼠HepG2肝细胞癌模型中注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ (A) 0.5、1和2h后的SPECT/CT显像图;(B) 0.5h冷肽阻断组的SPECT/CT显像图。

[0050] 图8. (A) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5、1和2h后,在HepG2肝细胞癌模型中体内分布结果;(B) 注射^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ 0.5h后,在HepG2肿瘤模型和

HepG2肿瘤模型阻断实验中的体内分布结果对比。

[0051] 图9.在CNE2鼻咽癌模型中注射 ^{99m}Tc -HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂(A) 0.5、1和2h后的SPECT/CT显像图；(B) 0.5h冷肽阻断组的SPECT/CT显像图。

具体实施方式

[0052] 本发明实施例中所采用的材料：

[0053] 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC·HCl, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐), N-hydroxysuccinimide (NHS, N-羟基琥珀酰亚胺), succinic acid (琥珀酸), disodium succinate hexahydrate (琥珀酸钠), trisodium triphenylphosphine-3,3',3''-trisulfonate (TPPTS, 三苯基膦三磺酸钠), N,N-Dimethylformamide (DMF, N,N-二甲基甲酰胺), tricine (三羟甲基甘氨酸)均购自美国Sigma-Aldrich公司。HYNIC-NHS (联胍尼克酰胺), DOTA-NHS购自美国Nocobiochem公司。GGG-cKRWDENAIsoE (GGG-cKiE), PEG₄-cKRWDENAIsoE (PEG₄-cKiE) 多肽单体购自中国吉尔生化公司。 $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ 洗脱液购自北京原子高科股份有限公司。

[0054] 实施例1：

[0055] 本实施例以 ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂多肽放射性药物及其制备方法为例。

[0056] ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂中, cKiE多肽单体为环型多肽 cKRWDENAIsoE, cKiE二聚体多肽是将连接剂GGG与cKiE多肽单体连接, 再将两个连接有GGG的cKiE多肽单体二聚化而成的cKiE二聚体多肽, 放射性核素 ^{99m}Tc 通过一个双功能螯合剂HYNIC标记所述cKiE二聚体多肽, cKiE二聚体多肽与双功能螯合剂之间还连接有药代动力学修饰分子PEG₄, 所述cKiE多肽放射性药物为 ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂, 所述cKiE多肽放射性药物为无色透明液体针剂。

[0057] ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂制备方法如下：

[0058] HYNIC-PEG₄-COOH的制备: 将Fmoc保护的PEG₄-COOH溶于DMF, 加入哌啶使终浓度为20%, 室温反应20分钟后, 加入10ml 4℃乙醚使PEG₄-COOH沉淀, 4000rpm 4℃离心5分钟, 弃掉上清, 沉淀用4℃乙醚洗涤3次, 旋蒸除去残留的乙醚, 获得产物为NH₂-PEG₄-COOH; 将HYNIC-NHS和NH₂-PEG₄-COOH溶于DMF, 加入DIEA调节pH值至8.5-9.0, 室温搅拌过夜, 粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260 HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm, I.D.S-5 μm, 12nm), 梯度淋洗30分钟, 流速4mL/min, 其中流动A相为去离子水(含0.05% TFA), 流动B相为乙腈(含0.05% TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B, 25分钟时60%A和40%B, 30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分, 合并收集液并冻干, 获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析m/z=568.60 ([M+H]⁺), 确认为预期产物HYNIC-PEG₄-COOH。

[0059] HYNIC-PEG₄-OSu的制备: 将HYNIC-PEG₄-COOH溶于DMF, 加入NHS和EDC·HCl, 室温搅拌7小时, 向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤, 滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm, I.D.S-5 μm, 12nm), 梯度淋洗30分钟, 流速4mL/min, 其中流动A相为去离子水(含0.05% TFA), 流动B相为乙腈(含0.05% TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B, 25分钟时60%A和40%B, 30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分, 合并收集液并冻

干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=665.67$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物HYNIC-PEG₄-OSu。

[0060] (GGG-cKiE)₂-Glu的制备:将GGG-cKiE和OSu₂-Glu-Boc溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10 mm I.D.S-5μm, 12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=2938.04$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物(GGG-cKiE)₂-Glu-Boc;将冻干产物(GGG-cKiE)₂-Glu-Boc溶于1ml TFA,室温反应5min,反应液用氮气吹干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=2837.92$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物(GGG-cKiE)₂-Glu。

[0061] HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的制备:将(GGG-cKiE)₂-Glu和HYNIC-PEG₄-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm, I.D.S-5μm, 12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=3388.51$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂。

[0062] ^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的制备:配制含三苯基膦三磺酸钠(TPPTS)5.0mg,三羟甲基甘氨酸(tricine)6.5mg,琥珀酸二钠38.5mg,琥珀酸12.7mg和50μg的HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的混合液500μL于10mL西林瓶中,将混合液冻干。在冻干粉末中加入1.0-1.5mL的Na^{99m}TcO₄溶液(10-35mCi),100℃水浴加热西林瓶反应20-25分钟,待反应结束后室温冷却10分钟,制成cKiE多肽放射性药物。

[0063] 对cKiE多肽放射性药物取样进行放射性HPLC分析。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A分析柱(250×4.6mm, I.D.S-5μm, 12nm),梯度淋洗20分钟,流速1mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时90%A和10%B,20分钟时30%A和70%B。^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的标记率>95%,经Sep-Pak C18柱纯化后放射化学纯度>98%。

[0064] HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂与整合素α₆结合亲和力测定:高表达整合素α₆的人鼻咽癌细胞CNE2和整合素α₆敲低的人鼻咽癌细胞CNE2sh作为实验样本,使用^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂作为整合素α₆受体特异性结合的放射性配基,采用细胞结合实验,分别测定^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂与CNE2、CNE2sh的结合力,并设置过量HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂封闭组,验证^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂与CNE2结合的特异性。实验结果显示^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂与CNE2、CNE2sh和CNE2封闭组的结合分别为2.47%,1.04%,1.09%每10⁵个细胞,存在明显的统计学差异(图3),表明HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂与整合素α₆有较高的亲和力,并且是特异性结合。

[0065] ^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂在荷瘤鼠中的SPECT/CT显像:在CNE2鼻咽癌肿瘤模型中,^{99m}Tc-HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的肿瘤摄取清晰可见(图4,图5A),明显高于^{99m}Tc-

HYNIC-GGG-cKiE (图5B),除了肾有较高摄取外,其它脏器背景较低,且多肽在肿瘤部位滞留时间更长,更有利于肿瘤的诊断。在CNE2sh(整合素 α_6 敲低)鼻咽癌肿瘤模型组和阻断实验组中,肿瘤摄取明显降低(图5A),说明多肽与整合素 α_6 位点的特异性结合。

[0066] 在HepG2肝细胞癌肿瘤模型中, ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的肿瘤摄取清晰可见(图7A),除了肾有较高摄取外,其它脏器背景较低,且多肽在肿瘤部位滞留时间更长,更有利于肿瘤的诊断。在阻断实验组中,肿瘤摄取明显降低(图7B),说明多肽与整合素 α_6 位点的特异性结合。

[0067] ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂在荷瘤鼠中生物分布:将BALB/c Nude鼠荷CNE2鼻咽癌肿瘤和HepG2肝细胞癌肿瘤,每组4只。各组小鼠分别经尾静脉注射100 μL (~74kBq) ^{99m}Tc -HYNIC-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的cKiE二聚体多肽,于注射后30分钟、60分钟和120分钟处死,取血及主要脏器,称重并测量放射性计数,经衰变校正后计算每克组织百分注射剂量率(%ID/g)。实验结果验证了显像结果并显示了探针在各个组织器官中的分布(图6,图8)。

[0068] 实施例2:

[0069] 本实施例以 ^{99m}Tc -HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂多肽放射性药物及其制备方法为例。

[0070] ^{99m}Tc -HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂中,cKiE多肽单体为环型多肽cKRWDENAIsoE,cKiE二聚体多肽是将连接剂GGG与cKiE多肽单体连接,再将两个连接有GGG的cKiE多肽单体二聚化而成的cKiE二聚体多肽,放射性核素 ^{99m}Tc 通过一个双功能螯合剂HYNIC标记所述cKiE多肽二聚体,cKiE二聚体多肽与双功能螯合剂之间还连接有药代动力学修饰分子Aoc,所述cKiE多肽放射性药物为 ^{99m}Tc -HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂,所述cKiE多肽放射性药物为无色透明液体针剂。

[0071] ^{99m}Tc -HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂制备方法如下:

[0072] HYNIC-Aoc-COOH的制备:将Fmoc保护的Aoc-COOH溶于DMF,加入哌啶使终浓度为20%,室温反应20分钟后,加入10ml 4 $^{\circ}\text{C}$ 乙醚使Aoc-COOH沉淀,4000rpm 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心5分钟,弃掉上清,沉淀用4 $^{\circ}\text{C}$ 乙醚洗涤3次,旋蒸除去残留的乙醚,获得产物为NH₂-Aoc-COOH;将HYNIC-NHS和NH₂-Aoc-COOH溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260 HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250 \times 10mm, I.D.S-5 μm ,12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析m/z=462.52([M+H]⁺),确认为预期产物HYNIC-Aoc-COOH。

[0073] HYNIC-Aoc-OSu的制备:将HYNIC-Aoc-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌7小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250 \times 10mm, I.D.S-5 μm ,12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析m/z=559.59([M+H]⁺),确认为预期产物HYNIC-

Aoc-OSu。

[0074] (GGG-cKiE)₂-Glu的制备:其制备方法同上。

[0075] HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂的制备:将(GGG-cKiE)₂-Glu和 HYNIC-Aoc-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温 搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化, HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半 制备柱(250×10mm, I.D.S-5μm, 12nm), 梯度淋洗30分钟, 流速 4mL/min, 其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA), 流动B相为 乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B, 25 分钟时60%A和40%B, 30分钟时80%A和20%B。收集目标物的 馏分, 合并收集液并冻干, 获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=3282.43$ ($[M+H]^+$), 确认为预期产物HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂。

[0076] ^{99m}Tc-HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂的制备:配制含三苯基膦三磺酸 钠(TPPTS) 5.0mg, 三羟甲基甘氨酸(tricine) 6.5mg, 琥珀酸二钠 38.5mg, 琥珀酸12.7mg和50μg的HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂的混 合液500μL于10mL西林瓶中, 将混合液冻干。在冻干粉末中加入 1.0-1.5mL的Na^{99m}TcO₄溶液(10-35mCi), 100℃水浴加热西林瓶 反应20-25分钟, 待反应结束后 室温冷却10分钟, 制成cKiE多肽放 射性药物。

[0077] 对cKiE多肽放射性药物取样进行放射性HPLC分析。HPLC方 法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A分析柱 (250×4.6mm, I.D.S-5μm, 12nm), 梯度淋洗20分 钟, 流速1mL/min, 其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA), 流动B相为乙腈(含0.05% TFA)。淋洗梯度设定为起始时90%A和10%B, 20分钟时30%A和 70%B。^{99m}Tc-HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂的标记率>95%, 经Sep-Pak C18柱纯化后放射化学纯度>98%。

[0078] ^{99m}Tc-HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂在荷瘤鼠中的SPECT/CT显像: 在CNE2鼻咽癌肿瘤 模型中, ^{99m}Tc-HYNIC-Aoc-(GGG-cKiE)₂的肿瘤 摄取清晰可见(图9A), 但胆囊和肝脏有明显 摄取。在阻断实验组中, 肿瘤摄取明显降低(图9B), 说明多肽与整合素α₆位点的特异性结 合。

[0079] 实施例3:

[0080] 本实施例以⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂多肽放射性药物及其 制备方法为例。

[0081] ⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂中, cKiE多肽单体为环型多肽 cKRWYDENAIsoE, cKiE 二聚体多肽是将连接剂GGG与cKiE多肽 单体连接, 再将两个连接有GGG的cKiE多肽单体 二聚化而成的cKiE 二聚体多肽, 放射性核素⁶⁸Ga通过一个螯合剂DOTA标记所述cKiE 多肽二 聚体, cKiE二聚体多肽与螯合剂之间还连接有药代动力学修 饰分子PEG₄, 所述cKiE多肽放 射性药物为 ⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂, 所述cKiE多肽放射性药物为无色透 明液体针 剂。

[0082] ⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂制备方法如下:

[0083] DOTA-PEG₄-COOH的制备:将Fmoc保护的PEG₄-COOH溶于 DMF, 加入哌啶使终浓度为 20%, 室温反应20分钟后, 加入10ml 4 °C 乙醚使PEG₄-COOH沉淀, 4000rpm 4°C离心5分钟, 弃掉上清, 沉淀用4°C乙醚洗涤3次, 旋蒸除去残留的乙醚, 获得产物为 NH₂-PEG₄-COOH; 将 DOTA-NHS和NH₂-PEG₄-COOH溶于DMF, 加入DIEA调节pH值至8.5-9.0, 室温搅拌过夜, 粗产品 经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260 HPLC系统配备 YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm, I.D.S-5 μm, 12nm), 梯度淋洗30分钟, 流速4mL/min,

其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=651.71$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物DOTA-PEG₄-COOH。

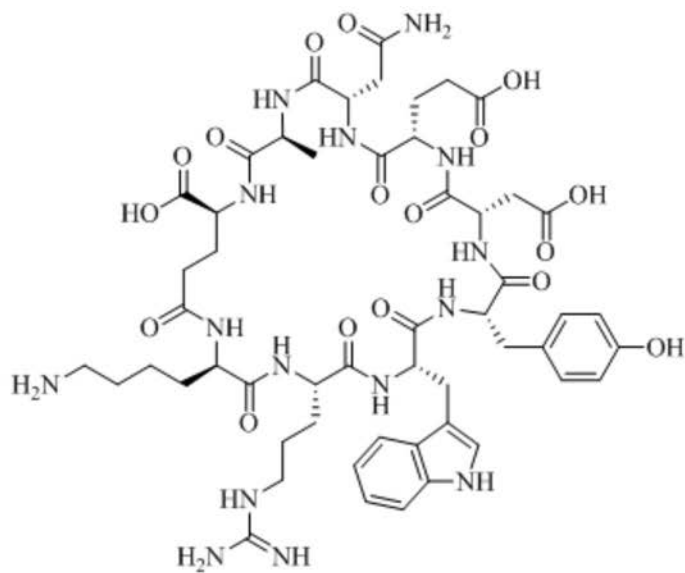
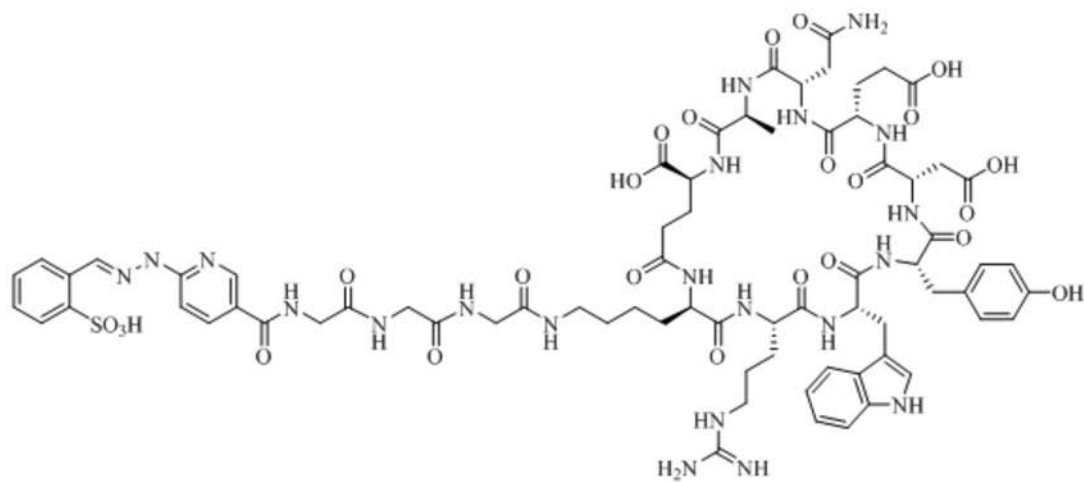
[0084] DOTA-PEG₄-OSu的制备:将DOTA-PEG₄-COOH溶于DMF,加入NHS和EDC·HCl,室温搅拌7小时,向反应液中加入体积分数50%ACN的水溶液并过滤,滤液经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm,I.D.S-5μm,12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=748.78$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物DOTA-PEG₄-OSu。

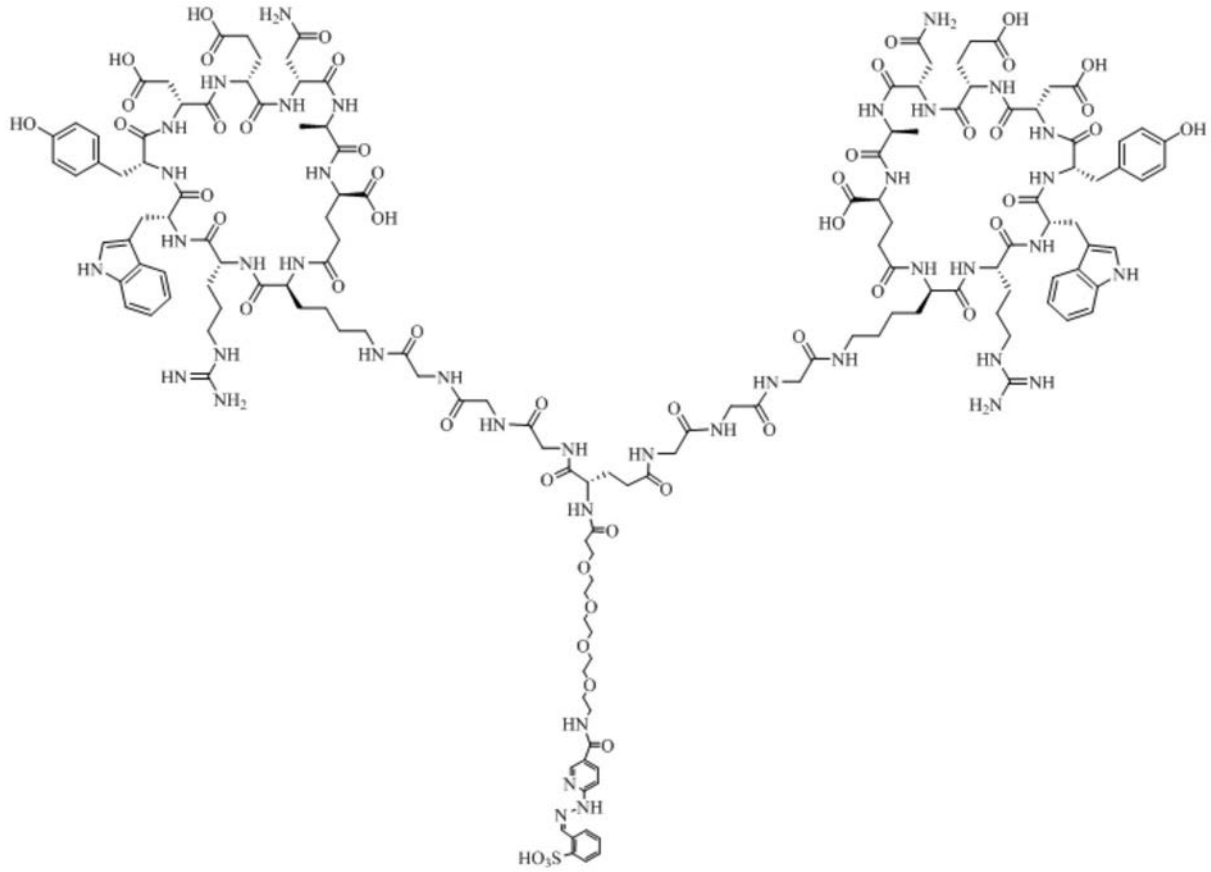
[0085] (GGG-cKiE)₂-Glu的制备:其制备方法同上。

[0086] DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的制备:将(GGG-cKiE)₂-Glu和DOTA-PEG₄-OSu溶于DMF,加入DIEA调节pH值至8.5-9.0,室温搅拌过夜,粗产品经YMC-Pack ODS-A半制备柱HPLC分离纯化,HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A半制备柱(250×10mm,I.D.S-5μm,12nm),梯度淋洗30分钟,流速4mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时80%A和20%B,25分钟时60%A和40%B,30分钟时80%A和20%B。收集目标物的馏分,合并收集液并冻干,获得产物经MALDI-TOF-MS质谱分析 $m/z=3471.62$ ($[M+H]^+$),确认为预期产物DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂。

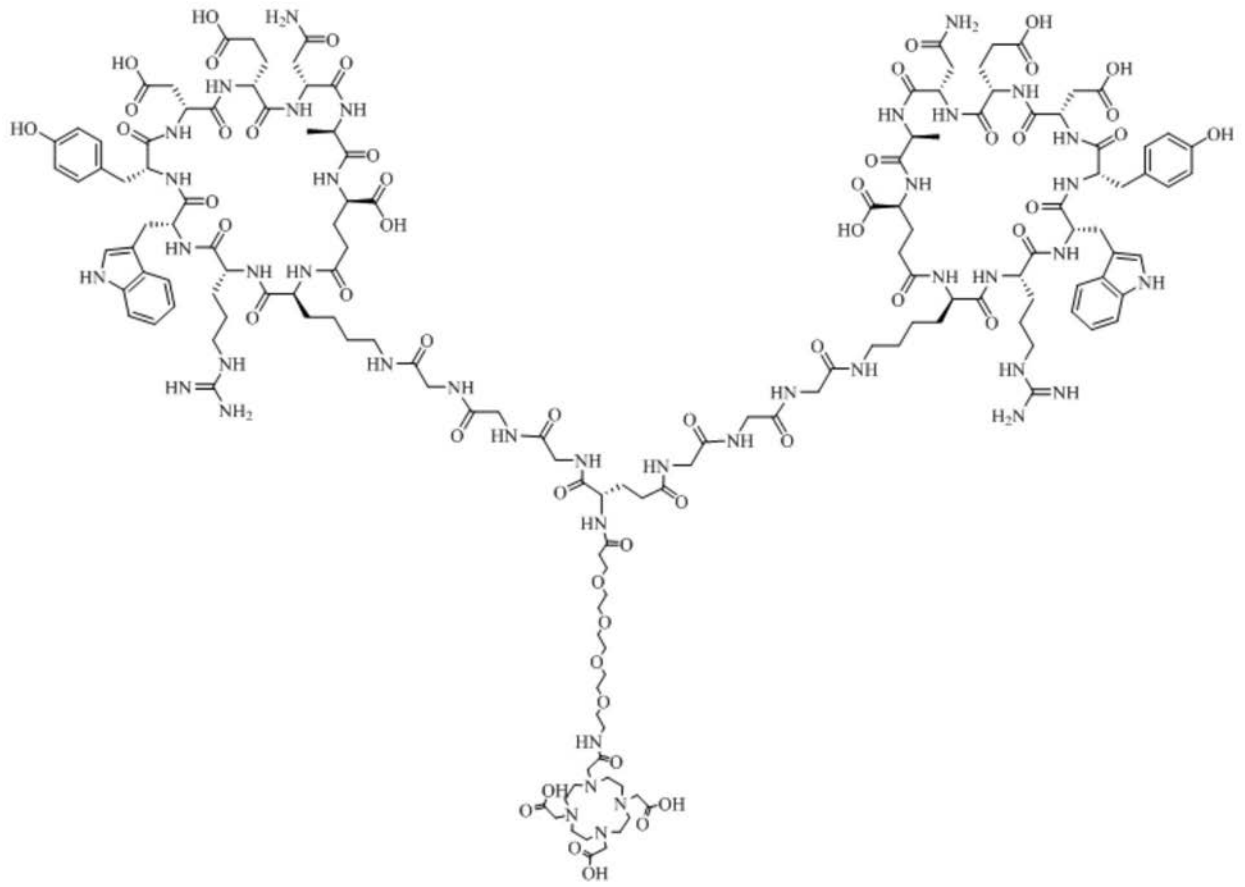
[0087] ⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的制备:使用0.05M的HCl从锗-镓发生器中每1mL一个馏分淋洗⁶⁸GaCl₃,共淋洗5mL。选取第1-2mL的⁶⁸GaCl₃,用2.5M的NH₄OAc调节pH至3.5。加入50μg DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂,99℃水浴加热20分钟,待反应结束后室温冷却10分钟,制成cKiE多肽放射性药物。

[0088] 对cKiE多肽放射性药物取样进行放射性HPLC分析。HPLC方法为使用Agilent 1260HPLC系统配备YMC-Pack ODS-A分析柱(250×4.6mm,I.D.S-5μm,12nm),梯度淋洗20分钟,流速1mL/min,其中流动A相为去离子水(含0.05%TFA),流动B相为乙腈(含0.05%TFA)。淋洗梯度设定为起始时90%A和10%B,20分钟时30%A和70%B。⁶⁸Ga-DOTA-PEG₄-(GGG-cKiE)₂的标记率>95%,经Sep-Pak C18柱纯化后放射化学纯度>98%。

**(A)****(B)**



(C)



(D)

图1

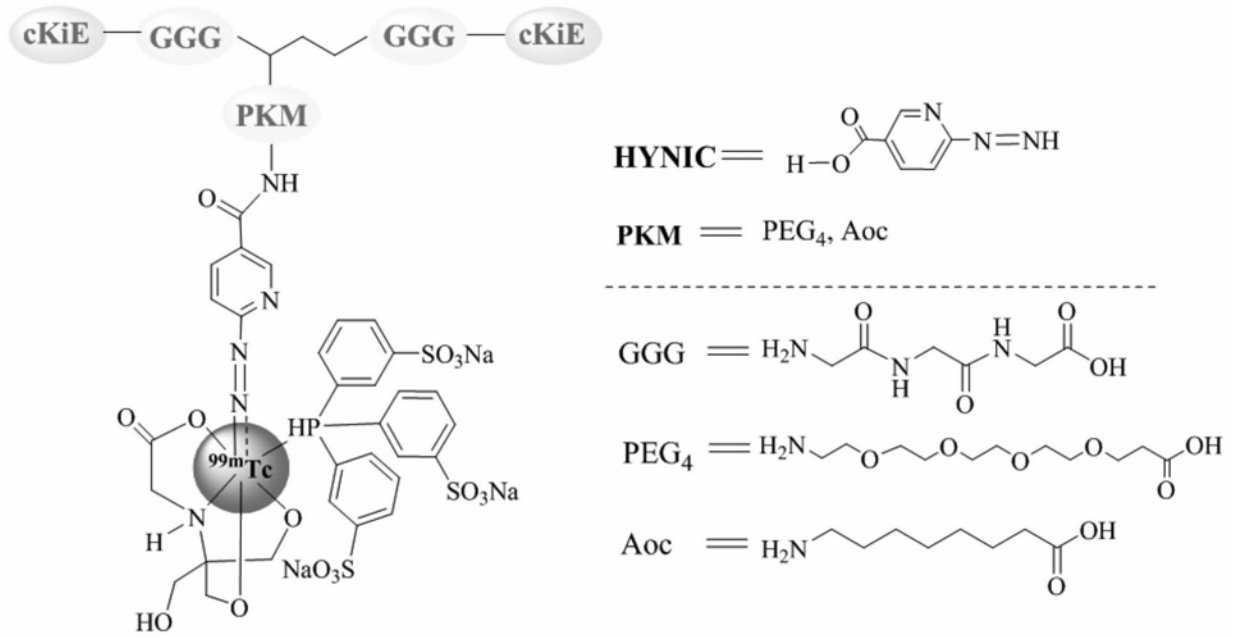


图2

Binding of ^{99m}Tc-PEG₄-(GGG-cKiE)₂ to CNE2 and CNE2sh cells

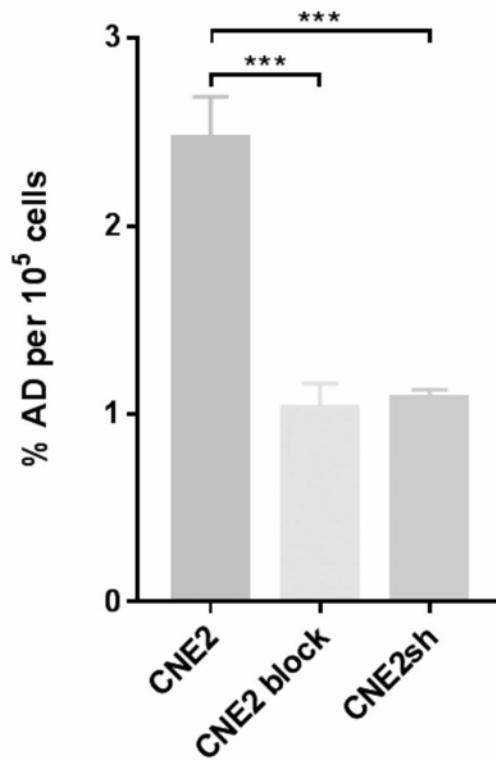


图3

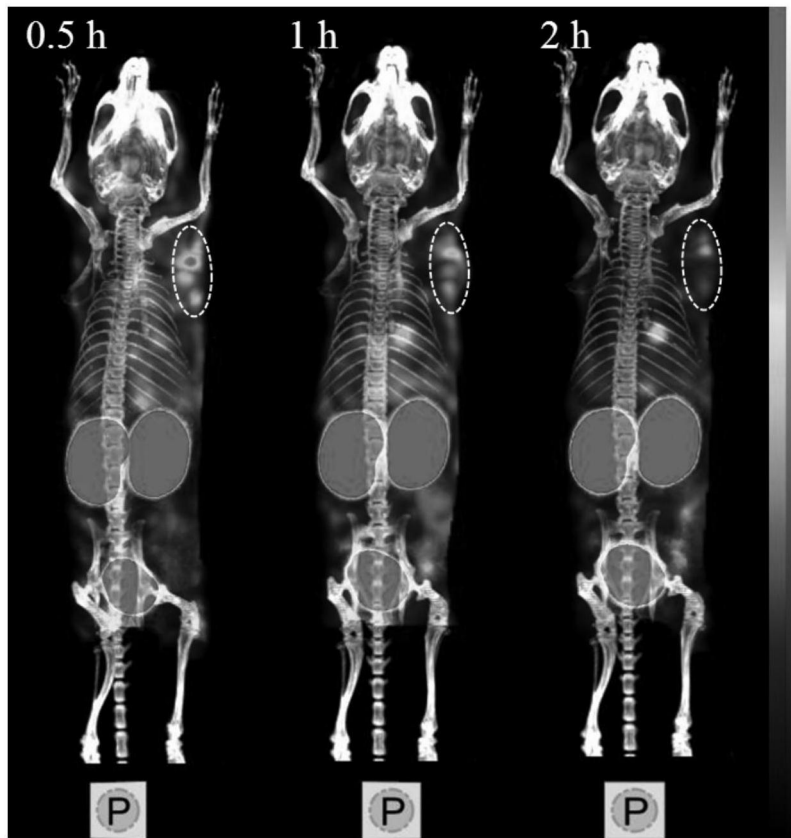


图4

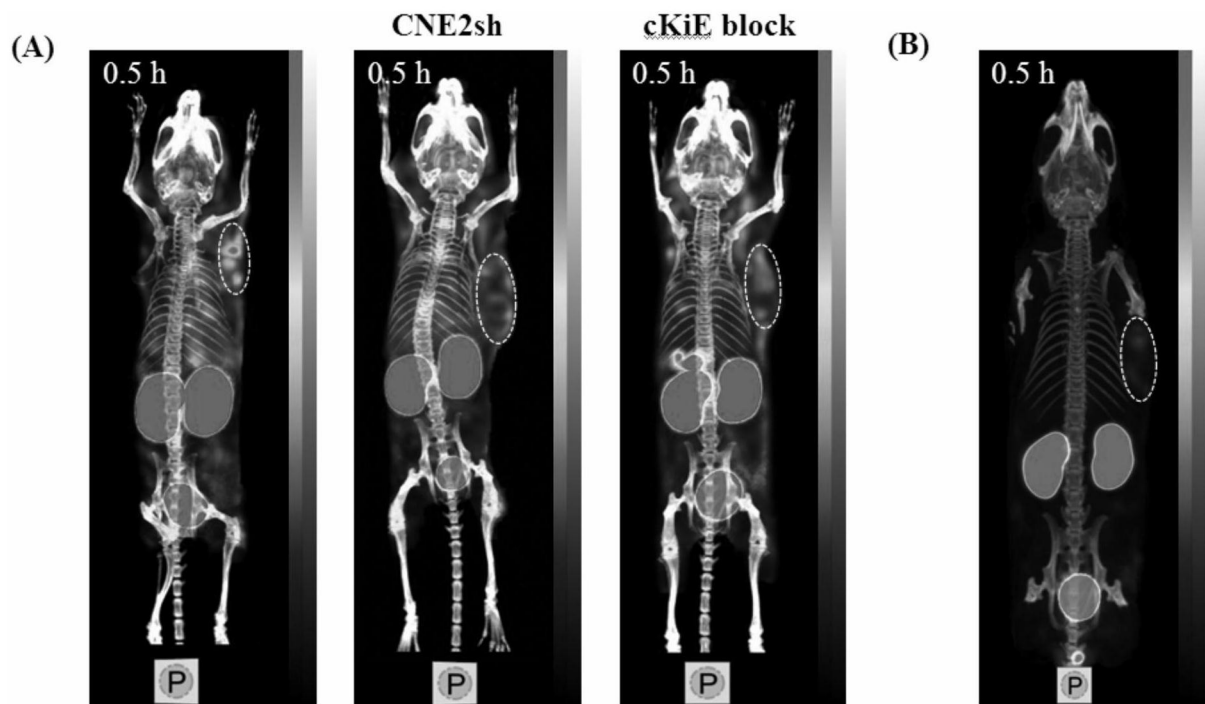
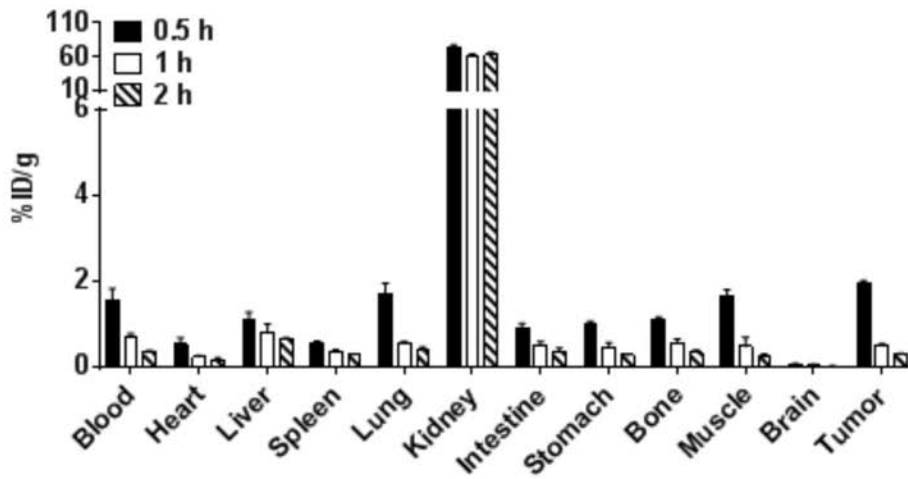
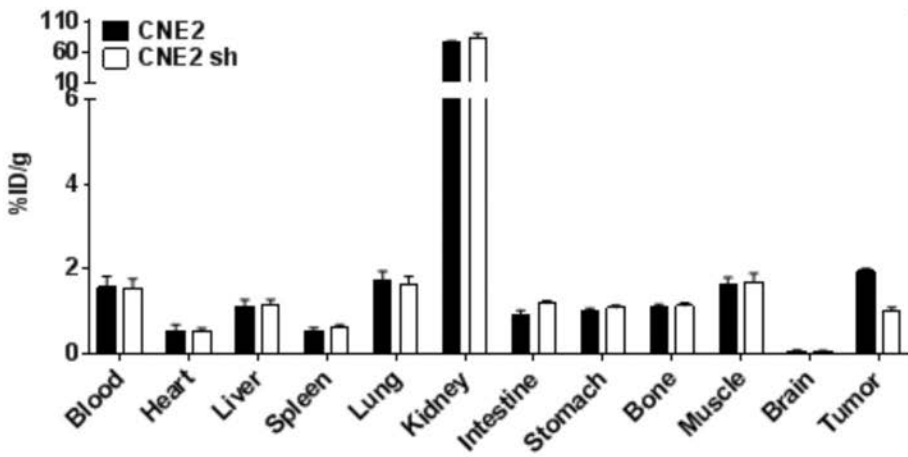


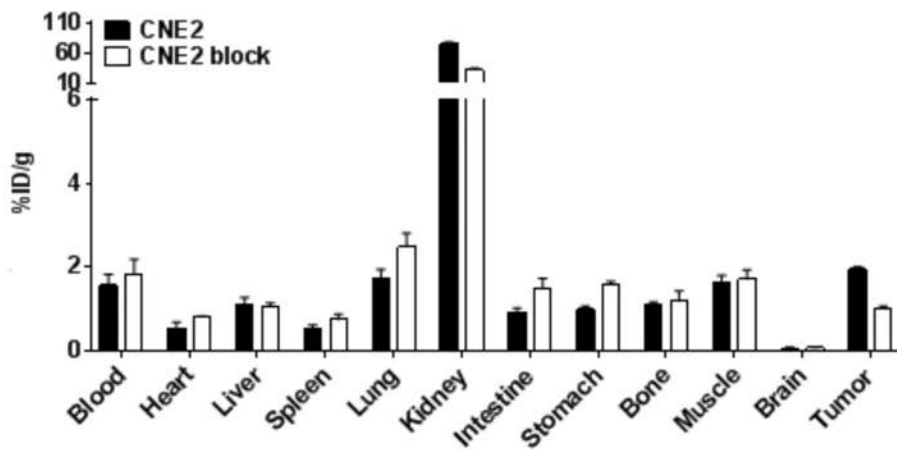
图5



(A)



(B)



(C)

图6

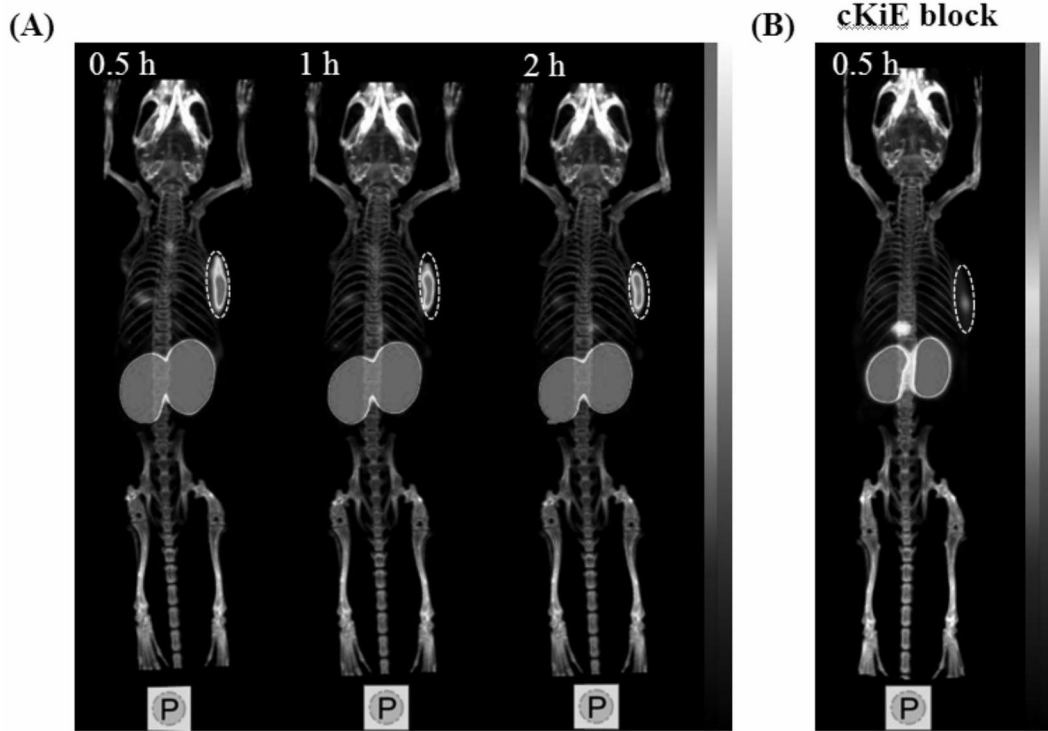
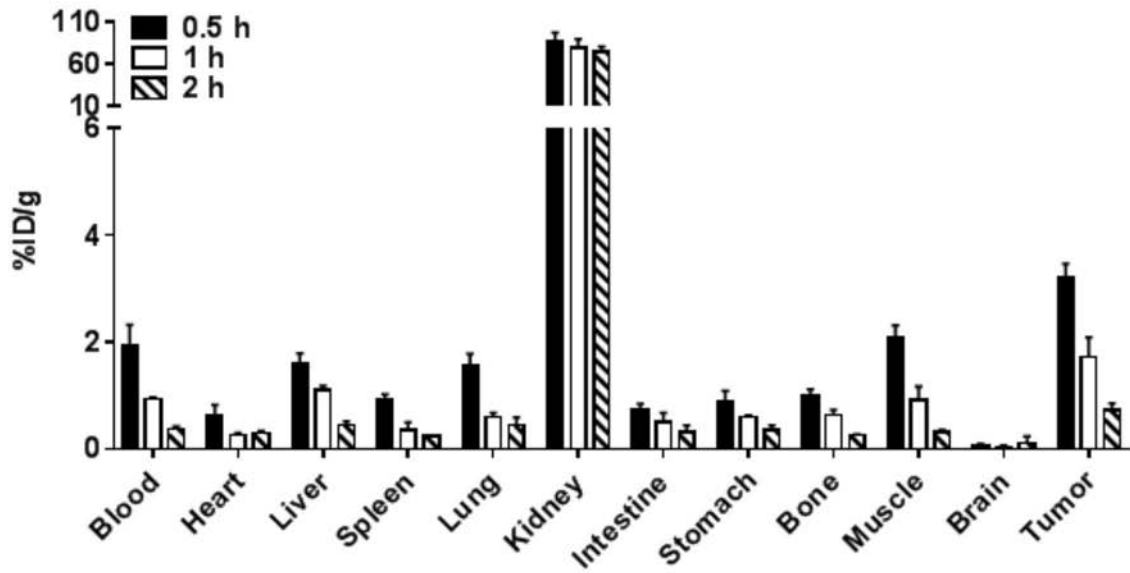
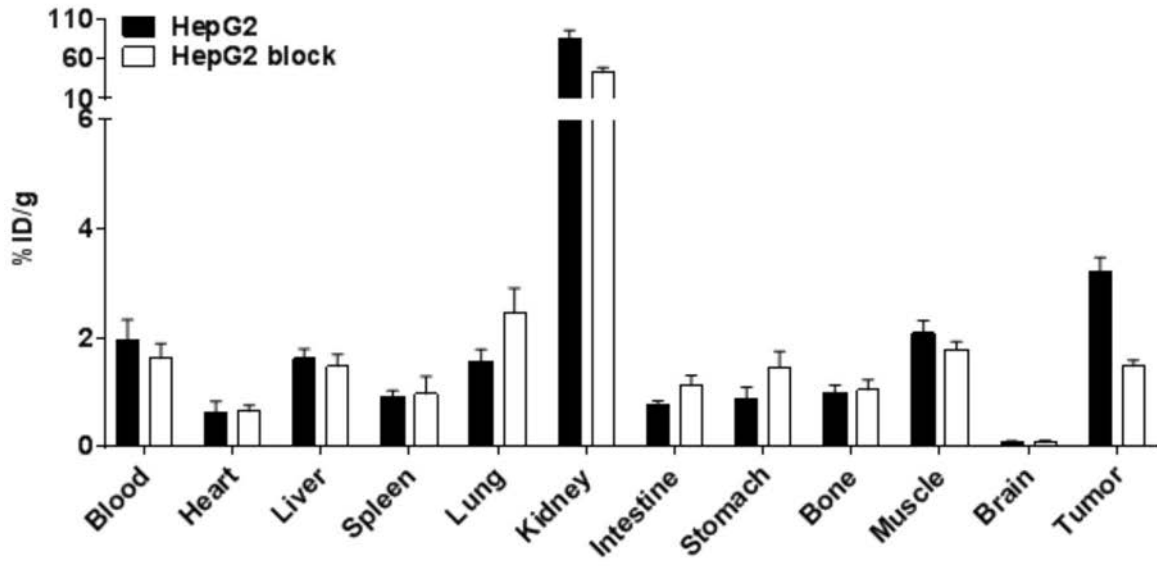


图7



(A)



(B)

图8

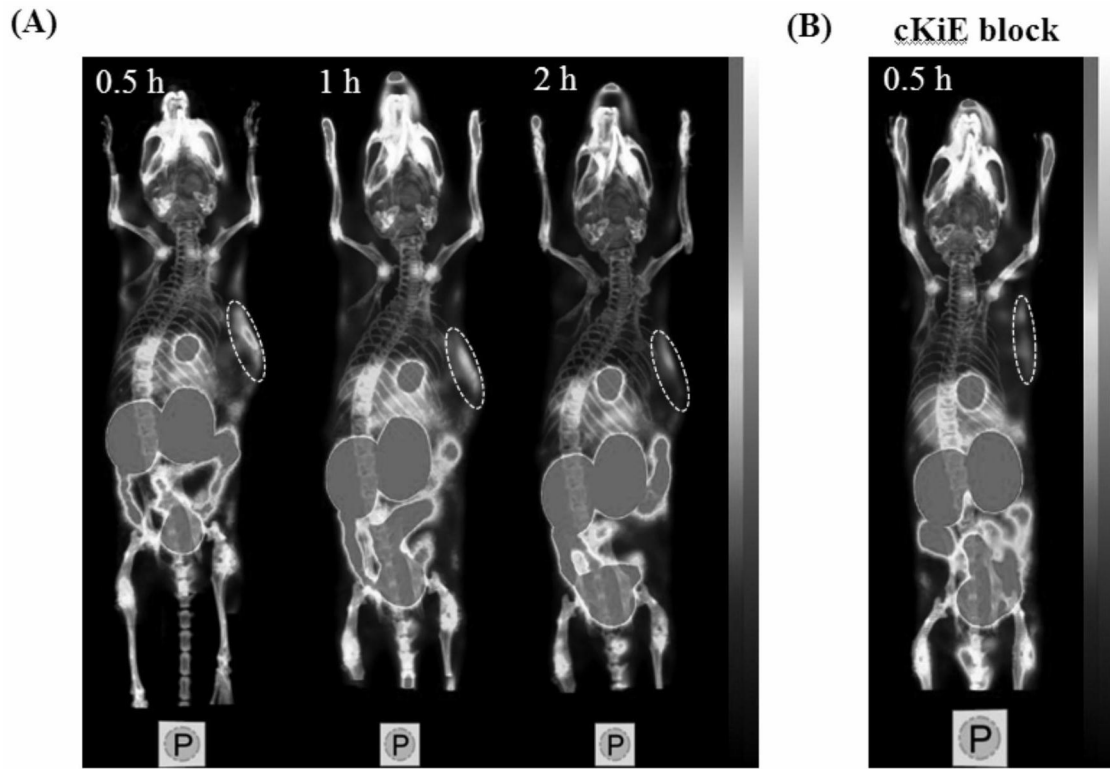


图9