

# 放射性标记小分子抑制剂用作靶向 FAP 肿瘤显像剂的现状与展望

韩沛雯<sup>1</sup>, 阮 晴<sup>1,2</sup>, 张俊波<sup>1</sup>

(1. 北京师范大学 化学学院, 放射性药物教育部重点实验室, 国家药监局放射性药物研究与评价重点实验室, 北京 100875;  
2. 射线束技术教育部重点实验室, 北京师范大学 核科学与技术学院, 北京 100875)

**摘要:** 成纤维细胞活化蛋白(FAP)存在于肿瘤基质成纤维细胞中, 是近年来肿瘤诊断和治疗的一个重要靶点。在靶向 FAP 的放射性肿瘤显像剂中, 小分子类显像剂受到了最广泛的关注。本文介绍了靶向 FAP 小分子显像剂的核心结构, 并对 2023 年 12 月前新型 FAP 小分子显像剂的设计策略进行分类。此外, 对目前表现优良或具有新颖结构的靶向 FAP 的 PET 显像剂和 SPECT 显像剂进行了系统梳理, 并对其结构和设计思路进行总结和展望, 以期对临床诊疗有所助益。

**关键词:** FAP; 小分子药物; 放射性肿瘤显像剂

中图分类号: TL92+3; R817.9

文献标志码: A

文章编号: 1000-7512(2024)02-0106-20

doi: 10.7538/tws.2024.37.02.0106

## Status and Prospect of Radiolabeled Small Molecule Inhibitors as Tumor Imaging Agents Targeting FAP

HAN Peiwen<sup>1</sup>, RUAN Qing<sup>1,2</sup>, ZHANG Junbo<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry, Key Laboratory of Radiopharmaceuticals of Ministry of Education, Beijing Normal University, NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Radiopharmaceuticals National Medical Products Administration, Beijing 100875, China;  
2. Key Laboratory of Beam Technology of the Ministry of Education, College of Nuclear Science and Technology, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**Abstract:** Fibroblast activation protein (FAP) exists in tumor stromal fibroblasts and is a significant target for tumor diagnosis and treatment recently. Among the radioactive FAP-targeted tumor imaging agents, small-molecule tracers have received the most extensive attention. This paper elucidates the core structure of FAP-targeted small molecule drugs, categorizes the various design approaches employed for the development of novel small molecule imaging agents targeting FAP, up until December 2023. Additionally, a comprehensive analysis of FAP-targeted PET imaging agents and SPECT imaging agents with excellent biological performance or innovative structure is conducted. The structures and design concepts of these agents are carefully examined and

收稿日期: 2023-06-20; 修回日期: 2024-01-19

基金项目: 国家自然科学基金(22076013, 22276015); 北京市自然科学基金(2232010); 中国博士后科学基金(2022M720464); 北京市科技新星计划交叉合作课题(20230484470)

通信作者: 张俊波

summarized, with the aim of making valuable contributions to clinical diagnosis and treatment.

**Key words:** FAP; small molecule drug; tumor imaging agent

肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)是一种肿瘤间质细胞<sup>[1]</sup>,在肿瘤组成中占比较高(50%~90%)。成纤维细胞活化蛋白(FAP)是一种170 kDa的II型跨膜丝氨酸蛋白酶,在肿瘤相关成纤维细胞中过表达,被公认为是CAF的标志性蛋白<sup>[2]</sup>。FAP在90%以上的上皮性肿瘤中呈阳性<sup>[3-4]</sup>,是近年肿瘤诊断和治疗的重要靶点之一,相较于直接靶向肿瘤细胞更不易出现抗原丢失和治疗耐受<sup>[5]</sup>。结合正电子发射断层扫描(PET)及单光子发射计算机断层扫描(SPECT)技术,系列靶向FAP的肿瘤显像剂应际而生<sup>[5-6]</sup>。

目前已开发的靶向FAP的肿瘤显像剂包括放射性核素标记的抗体(如<sup>[89</sup>Zr]Zr-Df-Bz-F19 mAb<sup>[7]</sup>)、环肽(如<sup>[68</sup>Ga]Ga-FAP-2286<sup>[8]</sup>)以及小分子抑制剂等。放射性标记的抗体类显像剂具有较高的靶向亲和力和选择性,但其高分子量带来的慢清除、长循环效应使其在临床应用上受到了一定限制。放射性标记的环肽类显像剂同样具有良好的肿瘤滞留表现,但其带来的非靶器官(特别是肾脏)暴露仍需重视。小分子抑制剂具有较低的分子量、强组织穿透性和便于改造的结构,其衍生的放射性标记靶向FAP的肿瘤显像剂受到了广泛的关注和研究<sup>[9]</sup>。

Val-boroPro是首个进入临床的小分子FAP抑制剂,以硼酸骨架为设计核心,但缺乏强选择性<sup>[10]</sup>。2013年及2014年,Jansen等<sup>[11-12]</sup>在前人研究的基础上筛选出了具有高亲和性、高特异性的喹诺酮类FAP小分子抑制剂:Compound 7及UAMC-1110。当前大部分靶向FAP的放射性小分子肿瘤显像剂的设计基于上述结构<sup>[13]</sup>。为推动显像剂的临床诊疗应用,包括优化连接剂结构(如引入方酸基团、PEG链、白蛋白结合基团)、设计同源多聚体或多靶向探针、改变螯合基团及标记方式、对药效团进行结构修改等策略,设计并开发出了一系列靶向FAP的放射性小分子肿瘤显像剂。

## 1 靶向FAP的PET肿瘤显像剂

PET显像技术具有极高的灵敏度及图像分辨率,多采用短半衰期正电子发射核素,如<sup>11</sup>C( $t_{1/2}$  = 20.4 min;  $\beta^+$ : 0.98 MeV)、<sup>68</sup>Ga( $t_{1/2}$  = 67.7 min;  $\beta^+$ : 1.92 MeV)、<sup>18</sup>F( $t_{1/2}$  = 109.8 min;  $\beta^+$ : 0.66 MeV)。作为一种应用广泛的分子影像学检查方法,PET显像技术为临床中多种疾病的诊断分期提供了有力支撑(靶向FAP的PET肿瘤显像剂见表1)。主要的小分子FAP抑制剂结构示于图1。

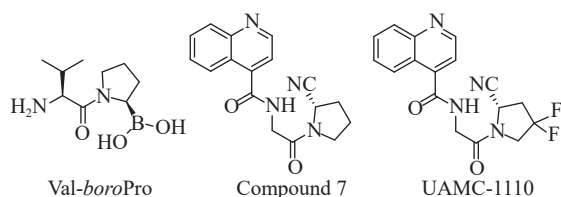
表1 靶向FAP的PET肿瘤显像剂

Table 1 FAP-targeted PET tumor imaging agents

核素	名称	设计策略	IC <sub>50</sub>	备注
<sup>68</sup> Ga	<sup>[68</sup> Ga]Ga-DOTA.SA.FAP <sub>1</sub> <sup>[22]</sup>	引入方酸基团	(0.9 ± 0.1) nM	初步临床研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-8-1 <sup>[24]</sup>	引入PEG链及芳香团	3.3 nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]PNT6555 <sup>[25]</sup>	以小分子3099为基础	(55 ± 3.0) nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-Alb-FAPtp-01 <sup>[27]</sup>	偶联白蛋白结合基团	25.8 nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-TEFAP1-06/07 <sup>[28]</sup>		(12.24 ± 0.65)/(17.02 ± 1.43) nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-RPS-309 <sup>[29]</sup>		(7.3 ± 1.4) nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-FSDDI <sup>[30]</sup>		(14.21 ± 11.55)/(22.61 ± 3.40)/(24.98 ± 8.80) nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-DOTA-2P(FAPi) <sub>2</sub> <sup>[32]</sup>	同源多聚体	17.04 nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-DOTAGA.(SA.FAPi) <sub>2</sub> <sup>[33]</sup>		(0.92 ± 0.06) nM	初步临床研究( <sup>177</sup> Lu标记)
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-DOTAGA.Glu.(FAPi) <sub>2</sub> <sup>[33]</sup>		(0.26 ± 0.04) nM	初步临床研究( <sup>177</sup> Lu标记)
	<sup>[68</sup> Ga]DOTA-4P(FAPi) <sub>4</sub> <sup>[34]</sup>		15.56 nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]Ga-FAPi-RGD <sup>[35]</sup>	多靶向异聚体	/	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]DOTA-FAPi-RGD <sup>[36]</sup>		(6.8 ± 0.6) nM	临床前研究
	<sup>[68</sup> Ga]AV01017 <sup>[37]</sup>		(1.25 ± 0.39) nM	临床前研究

表 1 续表

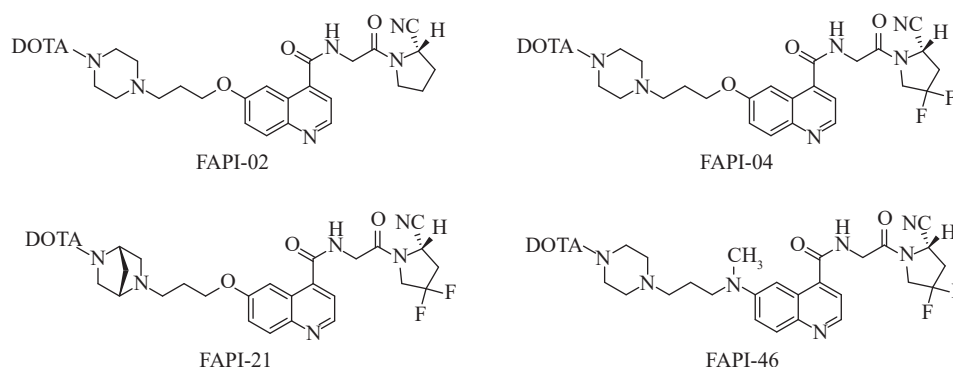
核素	名称	设计策略	IC <sub>50</sub>	备注
<sup>68</sup> Ga	[ <sup>68</sup> Ga]AV01030 <sup>[37]</sup>		(2.74 ± 0.33) nM	临床前研究
	[ <sup>68</sup> Ga]AV01038 <sup>[37]</sup>		(2.31 ± 0.13) nM	临床前研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-OncoFAP-DOTAGA <sup>[40]</sup>	拓展螯合基团	(0.51 ± 0.11) nM	初步临床研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-DATA <sup>5m</sup> .SA.FAPI <sup>[41]</sup>		(0.8 ± 0.2) nM	初步临床研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-HBED-CC-FAPI <sup>[43]</sup>		4~7 nM	临床前研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-SB03045 <sup>[44]</sup>	药效团修饰	(1.59 ± 0.45) nM	临床前研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-AV02053 <sup>[45]</sup>		(1.59 ± 0.45) nM	临床前研究
	[ <sup>68</sup> Ga]Ga-AV02053 <sup>[45]</sup>		(187 ± 52.0) nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]FGlc - FAPI <sup>[46]</sup>		167 nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]AIF-NOTA-FAPI <sup>[50]</sup>		(1.73 ± 0.93) nM	初步临床研究
<sup>18</sup> F	[ <sup>18</sup> F]AIF-P-FAPI <sup>[51]</sup>	引入PEG链	0.073 nM (Kd)	初步临床研究
	[ <sup>18</sup> F]-FAPT <sup>[52]</sup>	引入糖肽基团	0.44 nM	初步临床研究
	[ <sup>18</sup> F]-FAPTg <sup>[53]</sup>	引入氨基糖基团	1.00 nM	初步临床研究
	[ <sup>18</sup> F]AIF-PD-FAPI <sup>[54]</sup>	引入多肽	(0.13 ± 0.07) nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]6 <sup>[55]</sup>	引入方酸基团	(0.56 ± 0.03) nM	初步临床研究
	[ <sup>18</sup> F]AIF-ND-bisFAPI <sup>[56]</sup>	同源多聚体	(0.25 ± 0.05) nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]AIF-PSMA-FAPI-01 <sup>[57]</sup>	多靶向异聚体	1.7 nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]21([ <sup>18</sup> F]LuFL) <sup>[58]</sup>	拓展标记方法	(2.29 ± 1.12) nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]12 <sup>[59]</sup>		9.63 nM	临床前研究
	[ <sup>18</sup> F]13 <sup>[59]</sup>		4.17 nM	临床前研究
<sup>64</sup> Cu	[ <sup>64</sup> Cu]Cu-FAPI-04 <sup>[60]</sup>	多靶向异聚体	6.5 nM (EC <sub>50</sub> )	临床前研究
	[ <sup>64</sup> Cu]Cu-FP-L1/L2 <sup>[61]</sup>		0.31/ 0.13 nM (Ki)	临床前研究
<sup>11</sup> C	[ <sup>11</sup> C]C-RJ1101/RJ1102 <sup>[63]</sup>		/	临床前研究
<sup>86</sup> Y	[ <sup>86</sup> Y]Y-FAPI-C12/C16 <sup>[64]</sup>	偶联白蛋白结合基团	(6.80 ± 0.58)/(5.06 ± 0.69) nM	临床前研究

图 1 FAP 小分子抑制剂 Val-boroPro、Compound 7 及 UAMC-1110 的结构<sup>[10-13]</sup>Fig.1 The structures of the small-molecule FAP inhibitors Val-boroPro, Compound 7 and UAMC-1110<sup>[10-13]</sup>1.1 <sup>68</sup>Ga 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

<sup>68</sup>Ga 可由 <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga 发生器生产, 成本较低, 易于推广。<sup>68</sup>Ga 物理半衰期较短, 在实际应用中降低了患者所受的辐射剂量。

2018 年, Loktev 等<sup>[14]</sup> 在(4-喹啉酰基)-甘氨酸-2-氰基吡咯啉支架基础上进行结构修饰, 制备了含有 DOTA 基团的 FAPI-02 (图 2)。细胞实验表明其具有较高的亲和性; 荷瘤小鼠 PET 显像结果表明, [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-02 在体内主要通

过肾脏代谢, 具有较低的背景值; 临床显像中, [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-02 也可以清晰显像乳腺癌、肺癌等原发灶及转移灶, 但其肿瘤滞留不佳。同年, Lindner 等<sup>[15]</sup> 设计了系列 FAP 小分子抑制剂 FAPI-03~FAPI-15, 与之前设计的 FAPI-02 进行对比, [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-04 (图 2) 具有优于 [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-02 的稳定性以及快速内化、快速清除和在肿瘤部位快速积累的特点, 被认为是该系列最具前途的显像剂。目前, [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-04 被应用于多种动物模型<sup>[16]</sup> 及患者临床研究中, 具有较快的肿瘤摄取速度和优于 [<sup>18</sup>F]F-FDG 的图像对比度<sup>[17]</sup>, 而且在 28 种癌症患者的 PET 显像中, 肉瘤、食道癌、乳腺癌、胆管癌和肺癌中均出现高放射性摄取(平均 SUV<sub>max</sub> > 12)<sup>[18]</sup>。另一项研究用 [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-04 评估了 68 例在接受 [<sup>18</sup>F]F-FDG PET/CT 显像后肿瘤评估结果不确定的患者肿瘤情况<sup>[19]</sup>, 证明 [<sup>68</sup>Ga]Ga-FAPI-04 在定位未知恶性肿瘤原发部位及复发性肿瘤检测等

图2 用于 $^{68}\text{Ga}$ 标记的分子结构 (FAPI-02, FAPI-04, FAPI-21, FAPI-46)Fig.2 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (FAPI-02, FAPI-04, FAPI-21, FAPI-46)

方面具有一定补充作用。

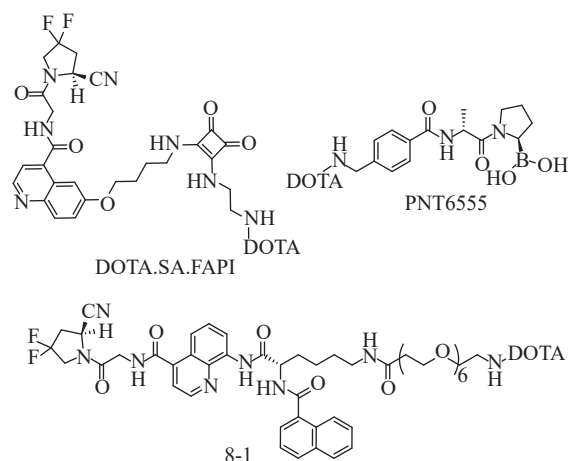
2019年, Loktev等<sup>[20]</sup>以甲基化氮取代了FAPI-04喹啉位置的桥接氧, 设计了系列配体, 希望增强示踪剂亲脂性、提高其肿瘤滞留。其中两种放射性显像剂 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-21和 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46(图2), 显示出比 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-04更为优越的肿瘤与血液、肝脏、肠道等非靶器官的摄取比。人体显像实验显示,  $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-21和 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46都有较高的肿瘤摄取, 但 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-21在唾液腺、口腔粘膜和甲状腺中有较高的非靶摄取, 其临床推广价值受限。 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46在临床中表现出优异的肿瘤摄取与滞留, 6例癌症患者的显像结果显示<sup>[21]</sup>,  $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46在正常组织中的摄取量较低, 靶与非靶比值随时间增高, 图像具有良好的对比度。

尽管 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-02、 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-04、 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46等显像剂的开发为靶向FAP的肿瘤显像剂的应用奠定了重要基础, 但仍存在快速清除、肿瘤滞留不佳等问题, 不利于推向临床诊疗。为克服上述不足, 研究者采用了多种策略进行改进开发。

**1.1.1 连接剂结构修饰类** 连接剂 linker 作为螯合基团与靶向基团的连接体, 具有丰富性和多变性。其结构修饰对于小分子的靶向效果影响较小, 常被用于显像剂结构改良。

2020年, Moon等<sup>[22]</sup>在FAPI-04的结构中引入芳酸基团, 标记得到了 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA.SA.FAPi(图3)。在人结直肠癌细胞系 HT-29 荷瘤小鼠显像中,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA.SA.FAPi 具有较高肿瘤积累和低背景信号。注射后 60 min 的生物分布实验中, 肿瘤放射性摄取可达 5.2 %ID/g。在 54

例癌症患者的 PET/CT 显像中,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA.SA.FAPi 表现出较高的肿瘤与非靶器官摄取比值, 诊断结果与  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 诊断结果匹配<sup>[23]</sup>。

图3 用于 $^{68}\text{Ga}$ 标记的分子结构

(DOTA.SA.FAPi, PNT6555, 8-1)

Fig.3 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (DOTA.SA.FAPi, PNT6555, 8-1)

2023年, Wang等<sup>[24]</sup>对UAMC1110基支架的氨基衍生物进行了结构改造, 在连接剂区引入了PEG链或具有共轭 $\pi$ 电子云的芳香基团, 探究其对显像剂药代动力学和靶向能力的影响。其中三种显像剂药代动力学表现较优: 引入6个PEG基团的 $^{68}\text{Ga}$ -Ga-3-3、引入芳香基团的 $^{68}\text{Ga}$ -Ga-6-3、同时引入PEG链及芳香基团的 $^{68}\text{Ga}$ -Ga-8-1(图3)。三种显像剂均展现出比 $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-04更高的肿瘤摄取率和更长的保留时间。 $^{68}\text{Ga}$ -Ga-3-3肾脏清除较快,  $^{68}\text{Ga}$ -Ga-6-3则在肿瘤摄取增加的同时出现肝腹部积累。

[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-8-1 保持了肿瘤的高摄取率和长保留, 肿瘤摄取比 [ $^{68}\text{Ga}$ ]FAPI-04 高出至少五倍, 甚至具有更低的非靶器官摄取, 具有一定临床转化潜力。

2023 年, Yang<sup>[25]</sup> 等以 FAP 硼酸类小分子抑制剂 3099 为结构基础, 通过氨基苯甲酸残基 (PNT6555)、氨基环酸残基 (PNT6952) 或 Gly-Gly-Val 三肽 (PNT6522) 引入双功能螯合基团 DOTA。[ $^{68}\text{Ga}$ ]PNT6555 (图 3) 注射后的前 5 min 内被肿瘤快速摄取, 肾脏清除较快 (4 h 后肿瘤/肾脏摄取比大于 5), 并可在 60 min 时获得肿瘤的高对比度 PET 图像。

过去十年中大量研究表明, 小分子放射性显像剂可以通过偶联各种白蛋白结合基团延长血液循环, 如伊文氏蓝 (Evans blue, EB) 片段、4-(对碘苯基) 丁酸和脂肪酸链等<sup>[26]</sup>, 增加血液滞留量, 从而增强肿瘤对放射性显像剂的摄取和滞留。

2021 年, Lin 等<sup>[27]</sup> 在 FAPI-04 的结构中引入白蛋白结合基团 4-(对氯苯基) 丁酸, 以改善显像剂药代动力学。在 U87 MG 荷瘤小鼠的生物评价中, [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-Alb-FAPtp-01 (图 4) 肿瘤摄取和滞留均优于 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 (注射后 3 h 肿瘤与肌肉摄取比值高达 9.5), 但不能完全排除其白蛋白结合能力对肿瘤血供的导向。

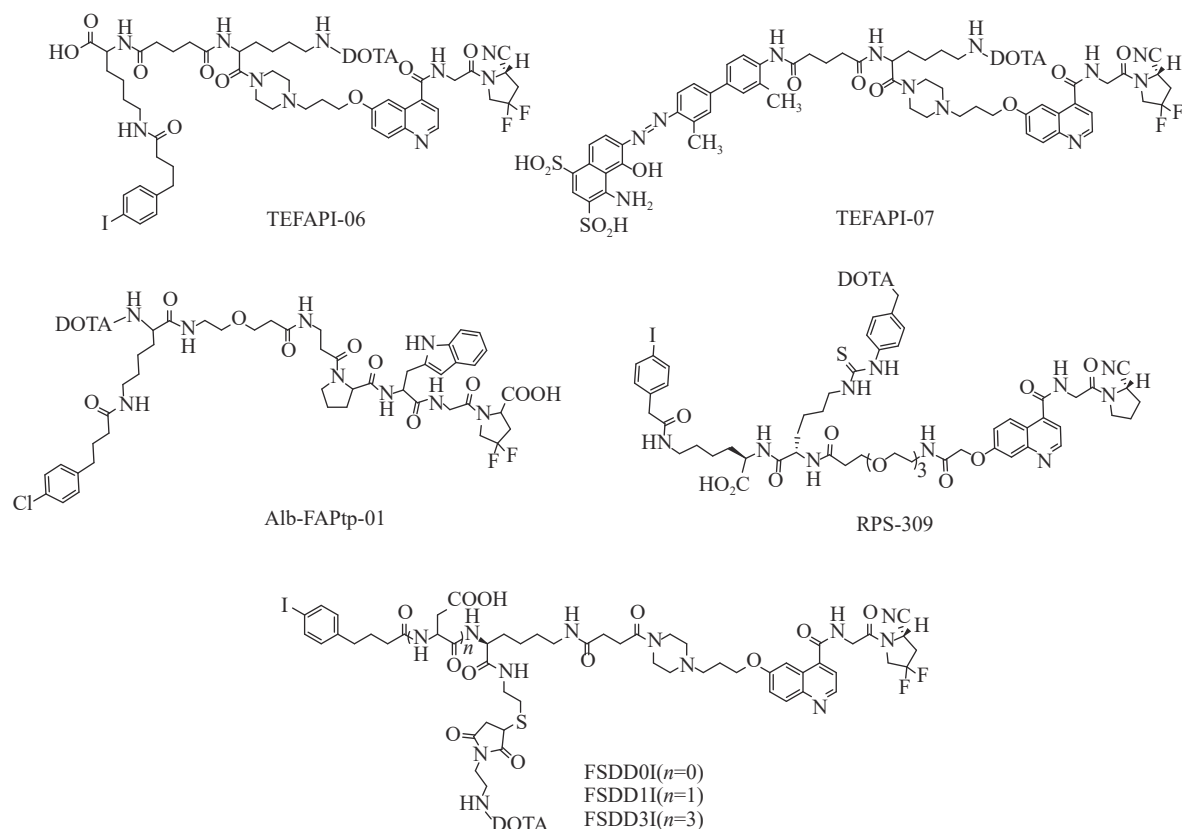


图 4 用于  $^{68}\text{Ga}$  标记的分子结构 (Alb-FAPtp-01、TEFAPI-06、TEFAPI-07、RPS-309、FSDD<sub>n</sub>I)

Fig.4 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (Alb-FAPtp-01, TEFAP-06, TEFAP-07, RPS-309, FSDD<sub>n</sub>I)

Xu 等<sup>[28]</sup> 在 FAPI-04 的基础上引入了 4-(对碘苯基) 丁酸基 (TEFAPI-06) 和伊文氏蓝 (EB) 片段, 设计了两种靶向 FAP 的新型小分子 TEFAP-06 和 TEFAP-07 (图 4)。[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-06 和 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-07 对 FAP 的结合亲和力 (解离常数) 分别为  $(10.16 \pm 2.56)$  nM 和  $(7.81 \pm 2.28)$  nM, 与 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 相比  $(1.91 \pm 0.62)$  nM, 亲和力没有显著降低。在 HT-1080-FAP 和 HT-1080 荷瘤

小鼠中进行了 PET 显像研究, [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-06 和 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-07 在肿瘤中的积累和滞留与 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 相比显著增强。[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-07 肾脏摄取明显高于 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-TEFAPI-06, 且没有明显的清除, 但未观察到组织损伤。

同年 Kelly 等<sup>[29]</sup> 采用相似策略, 引入 4-(对碘苯基) 丁酸基团并对连接剂结构进行了改善, 开发了 RPS-309 (图 4), 其  $\text{IC}_{50}$  值为  $(7.3 \pm 1.4)$  nM。



[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RPS-309 在荷瘤小鼠中注射 30 min 后即可被 SW872 异位肿瘤明显摄取 ( $>5\% \text{ID/g}$ ), 并滞留在肿瘤中 ( $(5.0 \pm 0.3)\% \text{ID/g}$ , 3 h)。但是, [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-RPS-309 并未表现出肿瘤摄取的增加, 同时伴有骨摄取 ( $4.7 \pm 0.5\% \text{ID/g}$  3 h 及其他显著的非靶器官积累, 限制了其进一步应用。

2022 年, Meng 等<sup>[30]</sup> 在 FAPI-04 的结构基础上, 通过结合 4-(对碘苯基)丁酸基团设计合成了系列 FAPI 配体 FSDD<sub>n</sub>I (图 4), 其中 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FSDD<sub>0</sub>I、[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FSDD<sub>1</sub>I、[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FSDD<sub>3</sub>I 和 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 的半抑制浓度值分别为 ( $14.21 \pm 11.55$ ) nM、( $22.61 \pm 3.40$ ) nM、( $24.98 \pm 8.80$ ) nM 和 ( $3.51 \pm 0.47$ ) nM。其中 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FSDD<sub>0</sub>I 在人肝癌细胞 (HCCPDXs) 异位肿瘤动物模型的血液滞留时间最长, 肿瘤摄取和滞留显著提高。

[ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FSDD<sub>3</sub>I 则显示出良好的靶与非靶比值, 其血液清除相对较快, 非靶器官如肾脏中的放射性积累可迅速清除, 并保持较高的肿瘤摄取, Meng 等<sup>[30]</sup> 分析可能是 FSDD<sub>3</sub>I 中重复肽序列对亲水性的贡献。

**1.1.2 多聚体小分子类** 多聚体的设计开发已被用作另一种改善肿瘤摄取和滞留的策略<sup>[31]</sup>, 根据亚基种类又可以分为同源多聚体以及异源多聚体。

2021 年, Zhao 等<sup>[32]</sup> 在 FAPI-46 的基础上设计了含有亲水 PEG 链的同源 FAPI 二聚体 DOTA-2P(FAPI)<sub>2</sub> (图 5)。HCC-PDX 荷瘤小鼠的生物分布结果显示, 注射后 1 h [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-2P(FAPI)<sub>2</sub> 的肿瘤摄取约是 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-46 的两倍 ( $(8.97 \pm 0.32)\% \text{ID/g}$  vs.  $(4.60 \pm 1.12)\% \text{ID/g}$ ), 健康器官

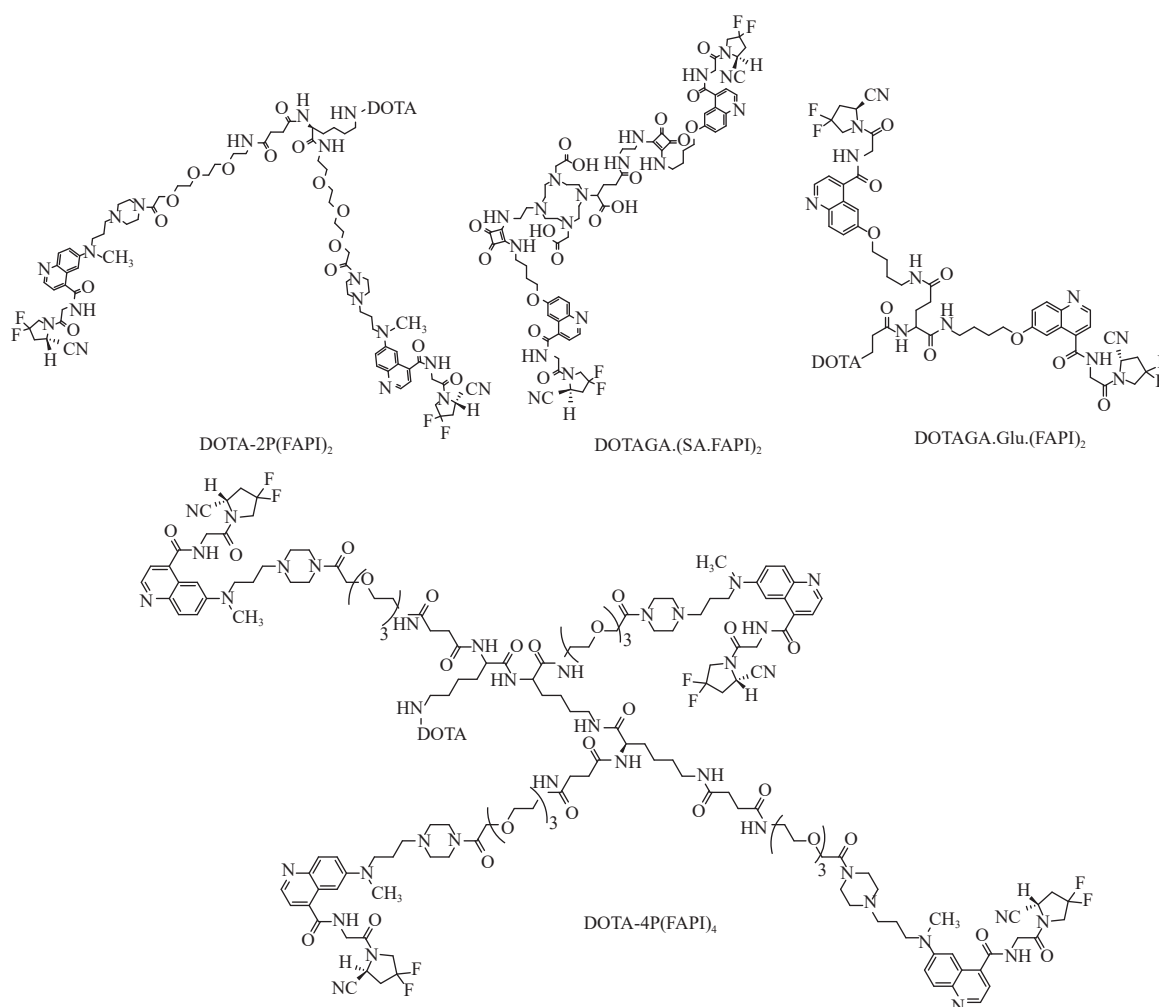


图 5 用于 $^{68}\text{Ga}$ 标记的分子结构(DOTA-2P(FAPI)<sub>2</sub>、DOTAGA.(SA.FAPI)<sub>2</sub>、DOTAGA.Glu.(FAPI)<sub>2</sub>、DOTA-4P(FAPI)<sub>4</sub>)

Fig.5 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (DOTA-2P(FAPI)<sub>2</sub>, DOTAGA.(SA.FAPI)<sub>2</sub>, DOTAGA.Glu.(FAPI)<sub>2</sub>, DOTA-4P(FAPI)<sub>4</sub>)

中则表现出较低的摄取,同时显像剂从体内被快速清除。患者的PET/CT显像中, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-2P(FAPI)}_2$ 的肿瘤摄取仍明显高于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-46}$ ,但在甲状腺、胰腺中也有较高的摄取。

2023年Martin<sup>[33]</sup>等基于前期单体显像剂 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-SA-FAPI}$ <sup>[29]</sup>的工作开发了系列同源FAPI二聚体显像剂,在优化药效学的同时保留其肿瘤滞留。其中 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA}(\text{SA-FAPI})_2$ (图5)主要通过肝胆排泄,并在结肠区域有比较显著的滞留。与单体相比,二聚体显像剂对肾脏的辐射剂量有所增加。为进一步优化显像剂药代动力学,Martin等又在连接剂中引入了谷氨酸(Glu),设计了 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA}(\text{Glu-FAPI})_2$ (图5),加速了显像剂从非靶组织的清除和排泄。

2023年,Pang等<sup>[34]</sup>在FAPI-46的基础上合成了FAPI四聚体DOTA-4P(FAPI)<sub>4</sub>(图5)。 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-4P(FAPI)}_4$ 主要通过肾脏和膀胱代谢,具有较好的肿瘤与背景比。在HT-1080-FAP荷瘤小鼠和U87MG荷瘤小鼠中, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-4P(FAPI)}_4$ 肿瘤摄取高于FAPI二聚体和单体,但在某些非靶器官(尤其是肾脏和肝脏)中也表现出更高的摄取。为观察肿瘤滞留情况,Pang采用半衰期相对较长的<sup>64</sup>Cu标记的相应配合物进行进一步评估,但其较高的肝脏滞留制约了其在临床上的应用。

由于肿瘤的异质性以及复杂的肿瘤-间质

相互作用,目前单靶向显像剂在肿瘤诊断和治疗方面的效率有限。开发靶向多种受体的异二聚体放射性显像剂可以拓展放射性显像剂的适应范围。

FAP和整合素 $\alpha_v\beta_3$ 是肿瘤间质和血管生成内皮细胞中两个高表达的靶点。为了利用异二聚体的良好特性,2022年Zang等<sup>[35]</sup>设计并开发了针对FAP和 $\alpha_v\beta_3$ 的异二聚体放射性肿瘤显像剂。与 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-02}$ 相比, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-RGD}$ (图6)的肿瘤摄取和滞留均明显增强,在Panc02荷瘤小鼠生物结果中,注射1h后 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-RGD}$ 的肿瘤放射性摄取量为 $(5.95 \pm 0.43) \% \text{ID/g}$ ,高于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-02}$ 的放射性摄取 $(0.97 \pm 0.09) \% \text{ID/g}$ ,同时具有较长的肿瘤滞留时间,以及较高的肿瘤/背景比,随时间的推移肿瘤/背景比进一步增加。在肺癌、鼻咽癌、乳腺癌等6例患者的PET显像中,显像剂在肿瘤中摄取迅速,瘤血比在2h时达到了6.9,瘤肝比为9.7,但仍需要注意其在甲状腺和胰腺中较高的非靶器官摄取。

2023年,Yan等<sup>[36]</sup>设计了以DOTA作为螯合基团的DOTA-FAPI-RGD(图6),并用<sup>68</sup>Ga进行标记。 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-FAPI-RGD}$ 在体外实验中显示出高特异性和细胞快速内化。但在显像抑制实验中,使用相应抑制剂的抑制效果不理想。

2023年,鉴于肿瘤细胞中前列腺特异性膜抗原(PSMA)的过表达和肿瘤间质中成纤维细

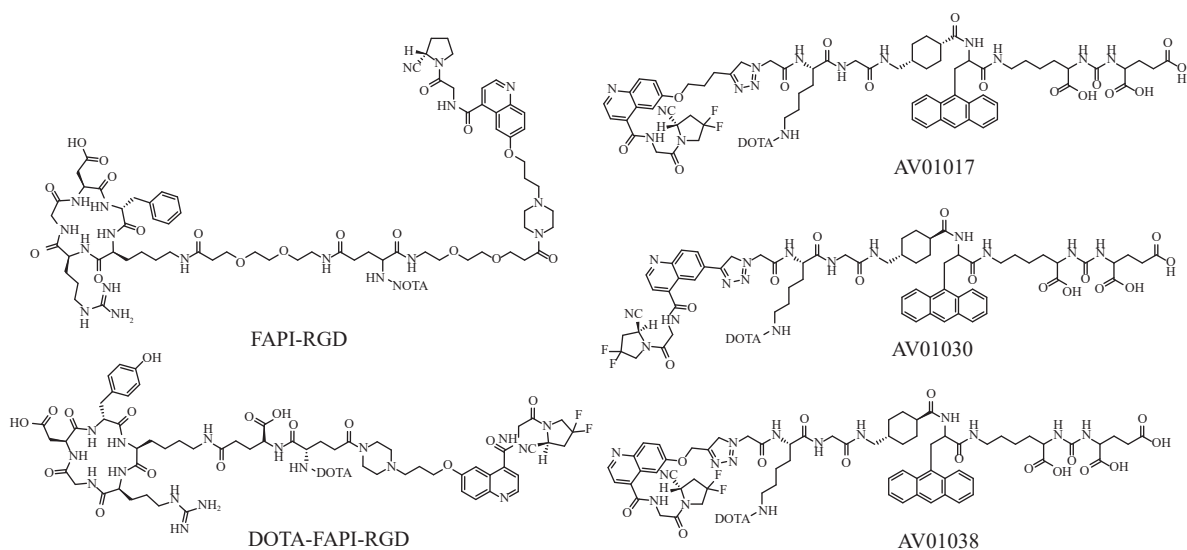


图6 用于<sup>68</sup>Ga标记的分子结构(FAPI-RGD、DOTA-FAPI-RGD、AV01017、AV01030、AV01038)

Fig.6 Chemical structures of molecules for <sup>68</sup>Ga labeling (FAPI-RGD, DOTA-FAPI-RGD, AV01017, AV01030, AV01038)

胞活化蛋白(FAP)的上调, Verena 等<sup>[37]</sup> 以  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-04}$  及  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-HTK03041}$  作为结构基础, 开发并评估了三种具有不同连接剂长度的、异二聚体双靶向 PSMA 和 FAP 的放射性显像剂  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-AV01017}$ ,  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-AV01030}$  和  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-AV01038}$ (图 6)。FAPI 药效团通过点击反应偶联, 形成相对亲脂的三唑环。但在表达 PSMA 的 LNCaP 肿瘤或表达 FAP 的 HEK293T: hFAP 肿瘤中, 异二聚体显像剂的肿瘤摄取均低于相关单靶向显像剂。同时异二聚体显像剂具有更高的血液摄取量, 且与三唑环和 FAPI 药效团之间的连接剂长度呈正相关, 阻碍了显像剂与靶点的结合。

### 1.1.3 拓展整合基团类 放射性金属核素与标

记前体通常通过金属螯合的方式结合, 目前有多种大环或无环整合基团<sup>[38]</sup>, 如 DOTA、NOTA 和 HBED 等, 可与 Ga 形成稳定的 Ga(III) 配合物。

2021 年, Millul 等<sup>[39]</sup> 在 UAMC-1110 的结构基础上开发了一种具有超高亲和力的小分子, 命名为 oncoFAP。2021 年, Backhaus 等<sup>[40]</sup> 报道了以 DOTAGA 作为双功能整合基团的化合物 OncoFAP-DOTAGA(图 7), 其具有高亲和性 ( $\text{IC}_{50} = 0.51 \pm 0.11 \text{ nM}$ ), 其  $^{68}\text{Ga}$  标记物在 FAP 阳性的 HT-1080 肿瘤中有较高的特异性摄取, 非靶脏器清除快, 注射后 1 h 的肿瘤与血液摄取比为  $8.6 \pm 5.1$ 。12 名患者临床 PET/CT 显像中, 该显像剂在原发癌、淋巴结和远处的转移瘤中摄取较高, 并从其他非靶器官和软组织中被快速消除。

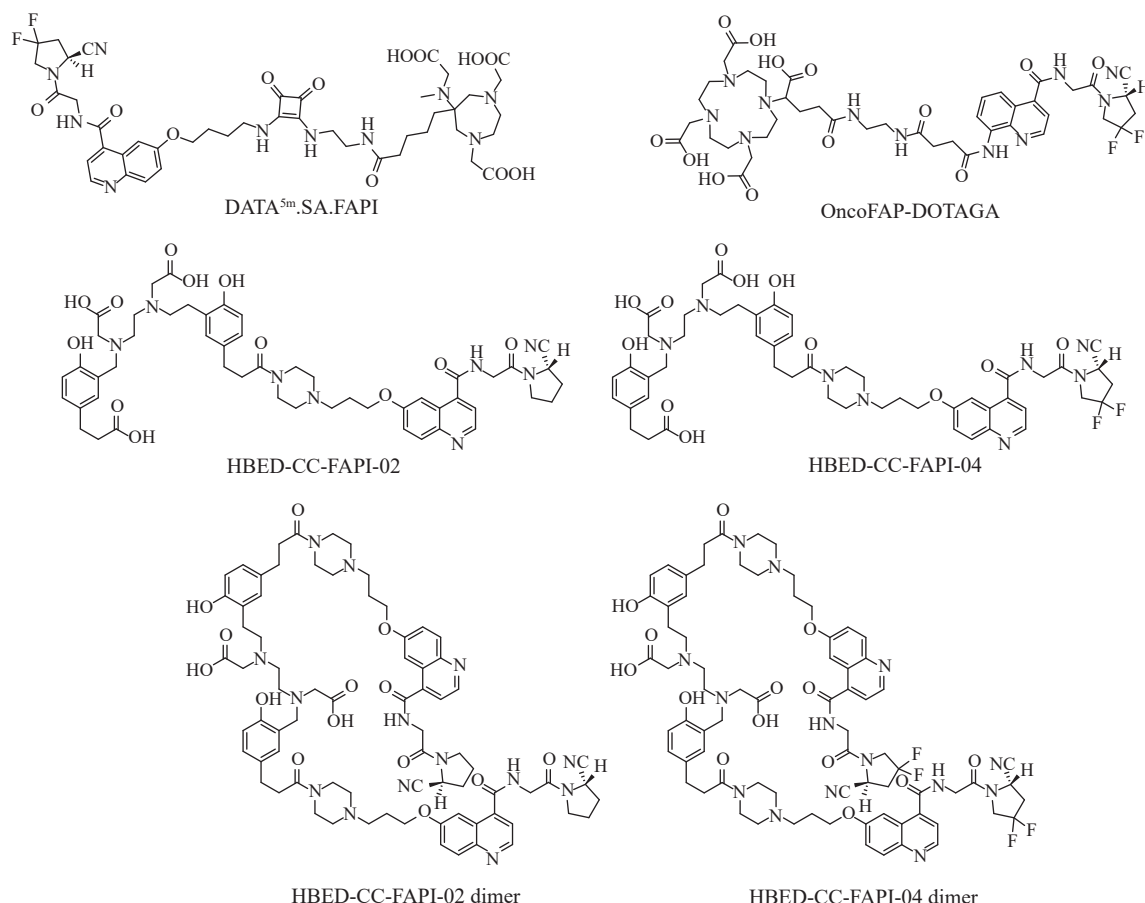


图 7 用于  $^{68}\text{Ga}$  标记的分子结构 (DATA<sup>5m</sup>.SA.FAPI、OncoFAP-DOTAGA、HBED-CC-FAPI)

Fig.7 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (DATA<sup>5m</sup>.SA.FAPI, OncoFAP-DOTAGA, HBED-CC-FAPI)

2022 年 Greifenstein 等<sup>[41]</sup> 在  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA.SA.FAPI}$  的设计基础上, 选择使用 DATA<sup>5m</sup> 作为螯合基团, 开发了  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DATA}^{5m}.\text{SA.FAPI}$ (图 7) 的自动合成路线, 研究结果显示其与 FAPI-02

具有相似的分布模式, 但肾脏摄取较少, 血本底较低, 在肝局灶性结节性增生 (focal nodular hyperplasia, FNH) 和转移性神经内分泌肿瘤患者的显像中<sup>[42]</sup> 显示出了良好的临床耐受性, 在



肿瘤处有较为明显的摄取,在脑、肝、骨、肺等非靶器官中积累较低,但同时其胰腺摄取在不同个体中具有显著差异,有待进一步的评估。

2023年Hong等<sup>[43]</sup>在FAPI-02和FAPI-04的结构基础上,使用HBED-CC螯合基团取代DOTA基团,设计了系列 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -HBED-CC-FAPI化合物(图7),其结合亲和力( $4\sim 7\text{ nM}$ )接近DOTA-FAPI-04( $5.16\pm 0.75\text{ nM}$ ),在HT1080( $\text{FAP}^+$ )细胞中具有更高的内化及摄取。 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -HBED-CC衍生物优先通过肝胆途径排泄,其中 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -HBED-CC-FAPI-04在裸鼠PET显像中表现出该系列中最好的肿瘤摄取和滞留。生物分布结果显示, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -HBED-CC-FAPI-04在小鼠FAP阳性肿瘤中具有较高的特异性摄取和较长的滞留时间(在30、60和120 min时,分别为 $(18.15\pm 1.37)$ 、 $(25.38\pm 3.68)$ 和 $(16.73\pm 0.64)\%$  ID/g,同时其肝脏的摄取被较快洗脱,但目前还缺乏相关临床显像数据。

**1.1.4 药效团修饰类** 2023年, Bendre等<sup>[44]</sup>在FAPI-04的结构基础上对吡咯烷环中的氟取代基部分进行了改造,设计了 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -SB03045和 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -SB03058(图8)。包含噻唑烷的 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -SB03058肿瘤/背景对比度稍差,而单氟取代的 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -SB03045肿瘤摄取与 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04相当( $11.8\pm 2.35\%$  ID/g vs.  $(11.90\pm 2.17)\%$  ID/g)。但由于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -SB03045在注射后1 h表现出了血液低滞留,后续时间点的显像和生物分布研究还需要进一步探索。

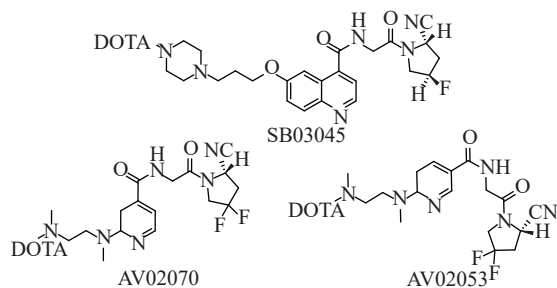


图8 用于 $^{68}\text{Ga}$ 标记的分子结构(SB03045、AV02053、AV02070)

Fig.8 Chemical structures of molecules for  $^{68}\text{Ga}$  labeling (SB03045, AV02053, AV02070)

2023年, Verena等<sup>[45]</sup>采取了 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc}$ -iFAP相似的结构改造策略,以吡啶基替代喹啉基团,设计了DOTA共轭小分子AV02053和AV02070(图8),以期通过更小的分子尺寸提高显像剂

亲水性,改善药代动力学。 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -AV02053和 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -AV02070主要通过肾脏排泄,与 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04相比,肿瘤绝对摄取值较低,但其低背景摄取提供了优于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04的显像对比度。但其肿瘤与肾脏摄取比仍然低于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04,需要进一步对结构进行调整。

## 1.2 $^{18}\text{F}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

与 $^{68}\text{Ga}$ 相比, $^{18}\text{F}$ 具有更低的能量,显像灵敏度和空间分辨率更佳,是临床最常应用于PET显像的放射性核素,且小型回旋加速器的发展使 $^{18}\text{F}$ 的生产变得更加便利。

2020年, Toms等<sup>[46]</sup>使用铜催化环加成法合成了一种含炔前体,并通过两步氟糖标记法合成了 $[^{18}\text{F}]\text{FGlc-FAPI}$ (图9)。与 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04相比, $[^{18}\text{F}]\text{FGlc-FAPI}$ 亲和力略低,半抑制浓度为167 nM,但其血浆蛋白结合率更高。HT1080-FAP荷瘤小鼠生物分布结果表明, $[^{18}\text{F}]\text{FGlc-FAPI}$ 主要通过肝胆排泄,具有高于 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04的特异性肿瘤摄取,但同时 $[^{18}\text{F}]\text{FGlc-FAPI}$ 在骨骼关节处及肝肠中的高摄取不利于其临床研究。

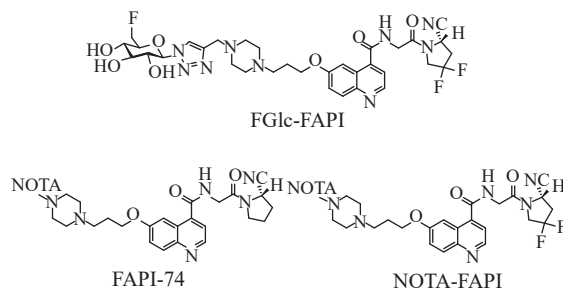


图9 用于 $^{18}\text{F}$ 标记的分子结构(FGlc-FAPI、FAPI-74、NOTA-FAPI)

Fig.9 Chemical structures of molecules for  $^{18}\text{F}$  labeling (FGlc-FAPI, FAPI-74, NOTA-FAPI)

$[^{18}\text{F}]\text{AIF}$ 标记策略目前已得到广泛的关注和应用。2021年, Jiang等<sup>[47]</sup>报道了 $[^{18}\text{F}]\text{AIF-NOTA-FAPI-42}$ 的临床显像,其具有较强的肝胆排泄。同年 Giesel等<sup>[48]</sup>报道了 $[^{18}\text{F}]\text{AIF}$ 标记的 $[^{18}\text{F}]\text{AIF-FAPI-74}$ (图9)。10例肺癌患者的评估显示, $[^{18}\text{F}]\text{AIF-FAPI-74}$ 的辐射剂量较低,且与 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-02和 $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}$ -FAPI-04相比具有更高的肿瘤摄取,但血本底摄取略高。Dahl等<sup>[49]</sup>首次完成了 $[^{18}\text{F}]\text{F-FAPI-74}$ 的全自动合成,为临床提供了一种无菌、无热原的 $[^{18}\text{F}]\text{F-FAPI-74}$ 产品。2021

年, Wang 等<sup>[50]</sup>报道了 [ $^{18}\text{F}$ ]AlF 标记的 [ $^{18}\text{F}$ ]AlF-NOTA-FAPI(图 9), 其在非靶脏器官摄取较低, 全身有效剂量低于 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04、 $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-46 及 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-74。U87 MG 荷瘤小鼠的显像及生物分布结果表明, [ $^{18}\text{F}$ ]AlF-NOTA-FAPI 具有特异性肿瘤摄取, 在骨中没有显示出广泛摄取。在患者 PET/CT 显像中, 检测病变效果优于 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, 且在非靶器官中摄取较低。

**1.2.1 连接剂结构修饰类** 2022 年, Hu 等<sup>[51]</sup>尝试改变连接剂结构, 设计了 PEG 链修饰的配合

物 [ $^{18}\text{F}$ ]AlF-P-FAPI(图 10)。在 A549-FAP 细胞实验中, [ $^{18}\text{F}$ ]AlF-P-FAPI 可被细胞特异性摄取, 具有快速内化、较低外排的特点, 同时其体内稳定性高于 [ $^{18}\text{F}$ ]F-FAPI-42。与 [ $^{18}\text{F}$ ]F-FAPI-4, ( $3.2 \pm 0.6$ ) %ID/g 和 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04, ( $2.7 \pm 0.5$ ) %ID/g 相比, [ $^{18}\text{F}$ ]AlF-P-FAPI 表现出更高的肿瘤摄取率, ( $7.0 \pm 1.0$ ) %ID/g 和滞留。该小分子显像剂主要通过肝胆途径排泄, 胆囊、肝脏、肠道等非靶器官摄取较高, 且在关节中表现出比 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 更高的摄取。

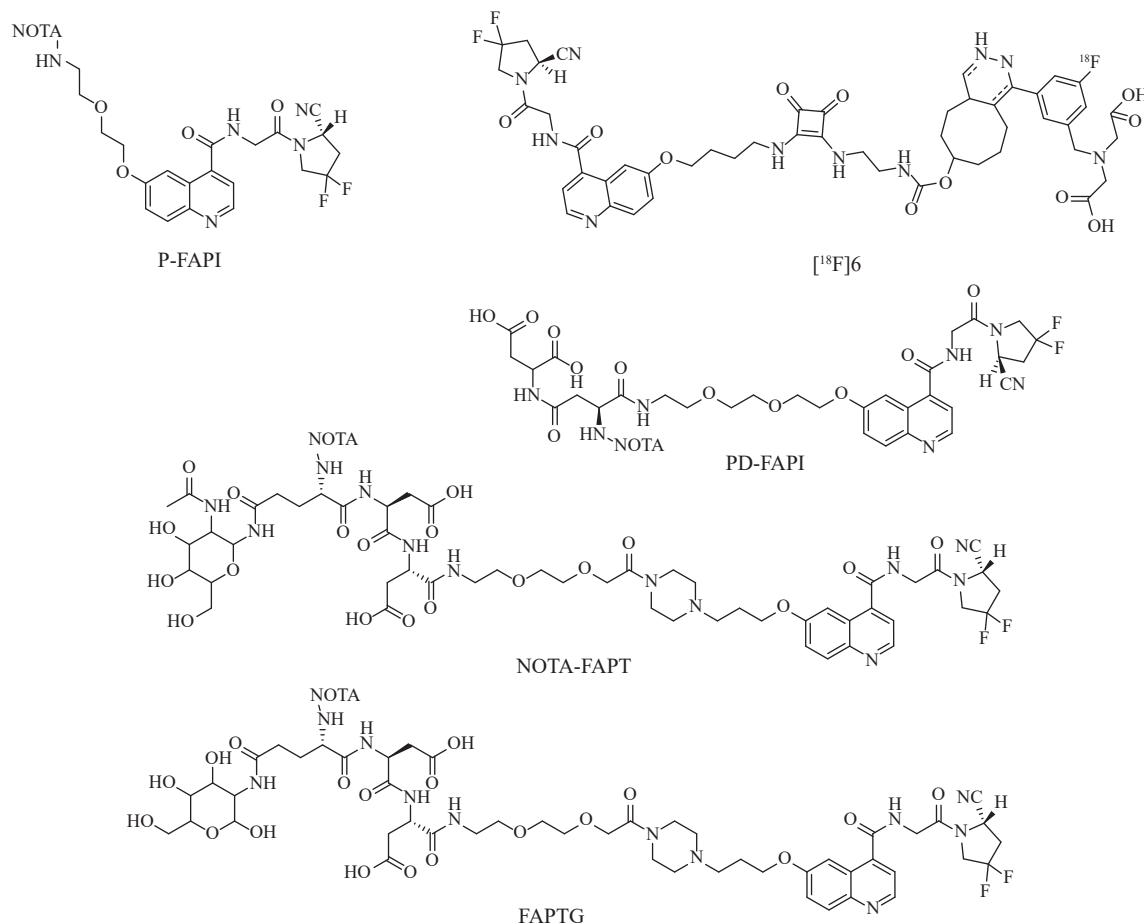


图 10 用于  $^{18}\text{F}$  标记的分子结构(P-FAPI、NOTA-FAPT、FAPTG、PD-FAPI、 $^{18}\text{F}$ ]6)

Fig.10 Chemical structures of molecules for  $^{18}\text{F}$  labeling (P-FAPI, NOTA-FAPT, FAPTG, PD-FAPI,  $^{18}\text{F}$ ]6)

与 [ $^{18}\text{F}$ ]FGlc-FAPI 引入氟糖标记基团不同, 2023 年 Huang 等<sup>[52]</sup>以 NOTA-FAPI-42 为基础结构设计合成了 [ $^{18}\text{F}$ ]FAPT(图 10): 以 NOTA 作为螯合基团、引入 PEG 链及糖肽基团改善其药代动力学特征。 [ $^{18}\text{F}$ ]FAPT 在胆囊、肝脏和肠道中的摄取非常低, 在对三名恶性癌症患者的初步临床研究中显示出良好的肿瘤背景比。虽在唾液腺、甲状腺和胰腺中, [ $^{18}\text{F}$ ]FAPT 摄取较高, 但与

[ $^{18}\text{F}$ ]FAPI-42 相比表现出更低的胆摄取 ( $\text{SUV}_{\text{max}}$ , ( $0.81 \pm 0.25$ ) %ID/g vs. ( $30.53 \pm 8.96$ ) %ID/g, 健康志愿者注射后 60 min)、更高的肿瘤摄取和更长的肿瘤保留时间。

2023 年, Fu 等<sup>[53]</sup>为降低肝脏摄取、增加肿瘤摄取保留时间, 在螯合剂 NOTA 和 FAPI 药效团之间引入了一个 PEG<sub>2</sub> 基团、两个天冬氨酸基团、一个谷氨酸基团和一个氨基葡萄糖基

团,设计了新型FAP显像剂 $[^{18}\text{F}]\text{FAPTG}$ (图10)。与 $[^{18}\text{F}]\text{-FAPT-42}$ 相比,肝胆的摄取更低,肿瘤摄取率更高(A549-FAP 荷瘤小鼠注射后 60 min,  $(5.00 \pm 0.60) \% \text{ID/g}$  vs.  $(3.11 \pm 0.89) \% \text{ID/g}$ )。 $[^{18}\text{F}]\text{-FAPTG}$ 在初步临床研究中在多数器官中显示出良好的肿瘤背景比,在胆囊中不摄取,但在胰腺中表现出了较高摄取,血液清除较慢。

2023年,Zhou等<sup>[54]</sup>在FAPI药效团及螯合基团NOTA中引入了富游离羧酸基团的多肽连接剂,合成两种前体(NOTA-DD-FAPI和NOTA-PD-FAPI)并通过 $[^{18}\text{F}]\text{AlF}$ 标记。与 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-FAPI-42}$ 相比,两种新型显像剂亲水性有所提高,其中 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-PD-FAPI}$ (图10)肿瘤摄取率最高,注射后2h在A549-FAP肿瘤中可达 $(31.1 \pm 3.6) \% \text{ID/g}$ 。在非靶组织中,肾脏摄取率为 $(4.3 \pm 0.1) \% \text{ID/g}$ ,血液摄取为 $(5.3 \pm 1.0) \% \text{ID/g}$ ,胆摄取较低,具有较高的肿瘤背景比,在后期的临床评估中有望进一步探究。

2023年,Poulie等<sup>[55]</sup>采用室温下四嗪连接反应的标记策略,成功标记了两种具有不同脂肪族连接剂(含/不含方酸)的前体。含有方酸的分子结构 $[^{18}\text{F}]\text{6}$ (图10)极性更强,且对于FAP蛋白的亲合性达到了亚纳摩尔。注射后60 min, $[^{18}\text{F}]\text{6}$ 在HT-29肿瘤模型和U87MG肿瘤模型中积累可达 $(1.35 \pm 0.57) \% \text{ID/g}$ 和 $(3.26 \pm 0.95) \% \text{ID/g}$ ,但与预期不同, $[^{18}\text{F}]\text{6}$ 表现出了在肝脏和小肠的高摄取,还需要进一步优化设计。

**1.2.2 多聚体小分子类** 2022年,Li等<sup>[56]</sup>合成了同源二聚体FAP配体(ND-bisFAP),由于分

别结合了NOTA螯合基团及DOTA螯合基团,因此ND-bisFAP(图11)可用 $^{18}\text{F}$ 或 $^{177}\text{Lu}$ 进行标记。ND-bisFAP的FAP结合能力为单体DOTA-FAPI-04的数倍( $\text{IC}_{50}$ ,  $0.25 \pm 0.05 \text{ nM}$  vs.  $2.0 \pm 0.18 \text{ nM}$ )。在A549-FAP或U87MG荷瘤小鼠PET显像中, $[^{18}\text{F}]\text{AlF-ND-bisFAP}$ 具有比单体 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-FAPI-42}$ 更高的特异性肿瘤摄取和较长时间的滞留。

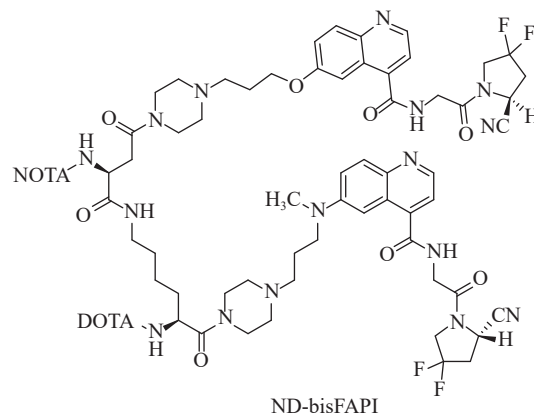


图11 用于 $^{18}\text{F}$ 标记的分子结构(ND-bisFAP)

Fig.11 Chemical structures of molecules for  $^{18}\text{F}$  labeling (ND-bisFAP)

$[^{18}\text{F}]\text{FGlc-FAPI}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-NOTA-FAPI-42}$ 和 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-P-FAPI}$ 等的主要缺点是在动物模型中显示的高肠道或高胆囊摄取。2022年,Hu等<sup>[57]</sup>设计了异二聚体双靶向PSMA和FAP的 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-PSMA-FAPI-01}$ 和 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-PSMA-FAPI-02}$ (图12)。与单体显像剂 $[^{18}\text{F}]\text{AlF-NOTA-FAPI-42}$ 相比,异二聚体显像剂在A549-FAP和PSMA阳性22Rv1

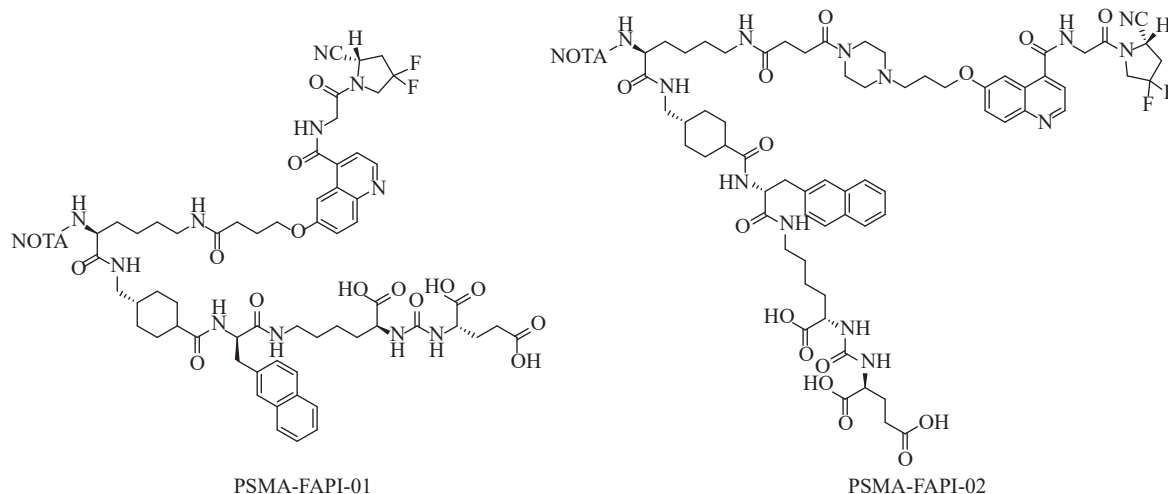


图12 用于 $^{18}\text{F}$ 标记的分子结构(PSMA-FAPI)

Fig.12 Chemical structures of molecules for  $^{18}\text{F}$  labeling (PSMA-FAPI)

荷瘤小鼠中均表现出更好的肿瘤摄取和滞留,且具有良好的药代动力学特性,通过肾脏快速洗脱。但限于并未使用同时高表达 FAP 和 PSMA 受体的同一肿瘤模型,该系列显像剂还有待进一步研究。

**1.2.3 拓展标记方法类** 2023 年, Yang 等<sup>[58]</sup>在 FAPI 药效团上修饰了有机硅基氟化物受体 (SiFA) 和 DOTAGA 螯合剂, 连接剂部分则通过甘氨酸和氨甲环酸调节亲脂性, 合成了小分子 LuFL (图 13)。LuFL 可通过简单高效的程序标记上  $^{18}\text{F}$  和  $^{177}\text{Lu}$ , 两种标记小分子结构类似, 因此可通过  $^{18}\text{F}$  标记物的生物分布结果分析治疗型核素标记后的体内药代动力学情况。 [ $^{18}\text{F}$ ]21 (即 [ $^{18}\text{F}$ ]LuFL) 与 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 相比, 肿瘤摄取率更高, 肿瘤保留时间更长。注射后 2 h 肿瘤摄取比 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04 高 14.9 倍 (10.04 %ID/g vs. 0.67 %ID/g)。但 [ $^{18}\text{F}$ ]21 在背景、肝脏、胆囊和肠道中的摄取量较高, 表明由于其亲脂性而导致肝胆排泄。

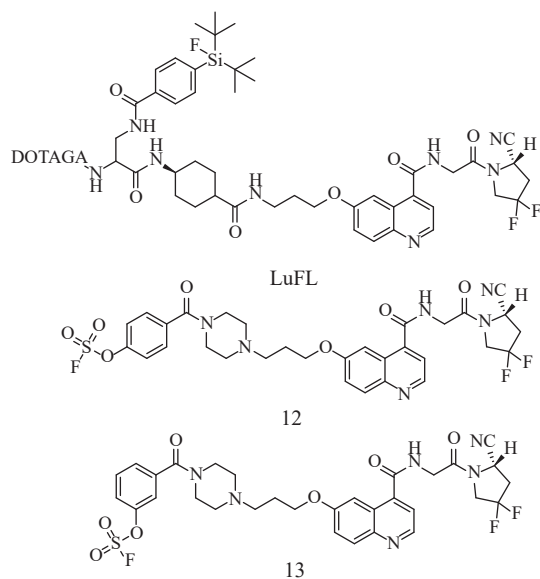


图 13 用于  $^{18}\text{F}$  标记的分子结构 (LuFL、12、13)

Fig.13 Chemical structures of molecules for  $^{18}\text{F}$  labeling (LuFL, 12, 13)

2023 年, Craig 等<sup>[59]</sup>通过高产率 (39%~56%) 的 [ $^{18}\text{F}$ ]SuFEx 反应合成了两种芳基氟硫酸盐类小分子 12 和 13 (图 13)。与亲水性强的 FAPI 衍生物不同, 该类化合物亲脂性强, 出现了小鼠肝脏排泄。在健康小鼠 PET/CT 显像中出现了脱氟现象, 推测可能是代谢产物或其血清中本身不稳定所致。

### 1.3 $^{64}\text{Cu}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

$^{64}\text{Cu}$  半衰期为 12.7 h, 既发射  $\beta^+$  粒子, 又发射  $\beta^-$  粒子, 可以用于 PET 显像剂的标记, 同时又具有发展为放射性治疗药物的潜力。随近年来铜配位化学的发展,  $^{64}\text{Cu}$  已成功在氨基酸、多肽、蛋白、核酸等分子及纳米颗粒上实现了标记。

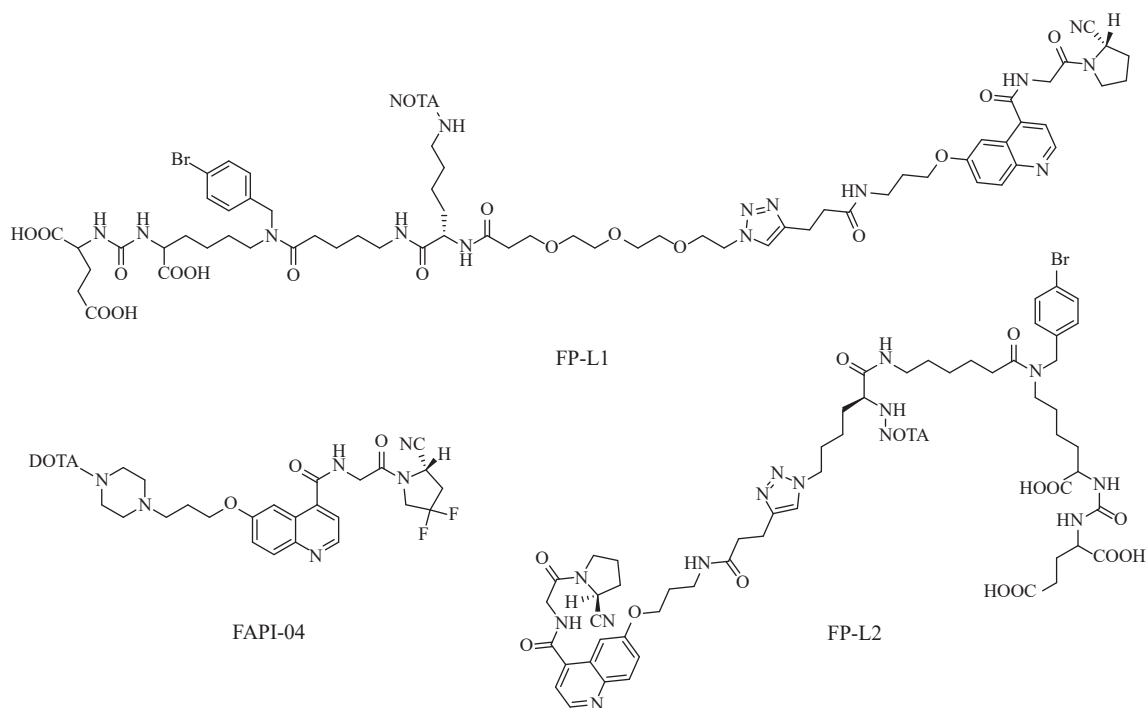
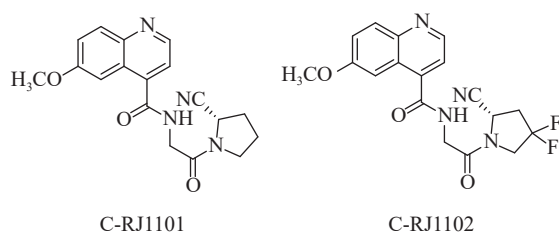
2020 年, Watabe 等<sup>[60]</sup>报道了  $^{64}\text{Cu}$  标记的小分子显像剂 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FAPI-04 (图 14), 在人胰腺癌肿瘤模型 (PANC-1、MIA PaCa-2) 小鼠的 PET 显像结果中表现出肾脏的快速清除及肿瘤中的滞留, 注射后 3 h 肿瘤与肌肉摄取比值为 4.1。相较于 [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-04, 虽然肿瘤摄取更高, 但是由于其在肝脏、肠道及肾脏等非靶器官中积累水平也较高, 因此显像效果不佳。推测此结果是肝脏中超氧化物歧化酶对于大环铜螯合物稳定性的破坏, 出现游离核素所致。

2022 年, Boinapally 等<sup>[61]</sup>设计了  $^{64}\text{Cu}$  标记二聚体双靶向 PSMA 和 FAP 的肿瘤显像剂 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1 与 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L2 (图 14), 与 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FAPI-04 相比, [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1 与 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L2 的肾脏摄取更加显著, [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L2 的肾脏摄取高于 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1。在 PSMA<sup>+</sup>PC3 PIP 和 FAP<sup>+</sup>U87 MG 荷瘤小鼠模型中, 注射显像剂后 2 h [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1 的 U87 MG 肿瘤摄取 (10.83 ± 1.02) %ID/g 与 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FAPI-04 (9.53 ± 2.55) %ID/g 相当, 并表现出较高的肿瘤滞留 (5.34 ± 0.29) %ID/g, 48 h。 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1 在 PC3 PIP 肿瘤中也表现出较高的滞留率 (2 h, (12.06 ± 0.78) %ID/g; 24 h, (10.51 ± 1.82) %ID/g)。Boinapally 等也尝试使用同时表达两个靶点的细胞系 SK-MEL-24<sup>[62]</sup> 进行研究, 但 [ $^{64}\text{Cu}$ ]Cu-FP-L1 并未在此模型中表现出协同摄取, 非特异性摄取较高, 同时肿瘤积累在 2 h 内被清除。

### 1.4 $^{11}\text{C}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

$^{11}\text{C}$  标记的放射性药物具有成本低廉、标记效率高、不改变化合物化学性质等优点。作为一种短半衰期核素,  $^{11}\text{C}$  的应用可以使患者在 1 d 内扫描多种正电子显像探针, 减少等待检查的时间。

2022 年 Wang 等<sup>[63]</sup>开发了  $^{11}\text{C}$  标记的 [ $^{11}\text{C}$ ]C-RJ1101 和 [ $^{11}\text{C}$ ]C-RJ1102 (图 15), 在 U87 MG 异位肿瘤 PET 显像研究中, 表现出肝脏和肠道的高摄取, 生物分布研究显示其肝胆排泄显著。

图 14 用于 $^{64}\text{Cu}$ 标记的分子结构 (FAPI-04、FP-L)Fig.14 Chemical structures of molecules for  $^{64}\text{Cu}$  labeling (FAPI-04, FP-L)图 15 用于 $^{11}\text{C}$ 标记的分子结构 (RJ1101、RJ1102)Fig.15 Chemical structures of molecules for  $^{11}\text{C}$  labeling (RJ1101, RJ1102)

由于两个氟原子的存在,  $[^{11}\text{C}]\text{C-RJ1102}$  脂溶性高于  $[^{11}\text{C}]\text{C-RJ1101}$ , 在肿瘤中快速积累, 并具有清除缓慢的性质。30 min 时  $[^{11}\text{C}]\text{C-RJ1102}$  表现出比  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-FAPI-04}$  更高的特异性肿瘤摄取 ( $1.71 \pm 0.08$ ) %ID/g vs. ( $1.29 \pm 0.04$ ) %ID/g。尽管与  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-FAPI-04}$  的吸收和清除途径不同, 但  $[^{11}\text{C}]\text{C-RJ1101}$  和  $[^{11}\text{C}]\text{C-RJ1102}$  具有与  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-FAPI-04}$  相似的肿瘤摄取和更长的肿瘤滞留时间。

### 1.5 $^{86}\text{Y}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

由于目前许多 FAP 靶向显像剂延长了显像剂在体内的循环, 需要突破短半衰期核素的限制, 长效同位素的使用成为了目前研究者的关注方向。如半衰期为 14.7 h 的  $^{86}\text{Y}$ , 其标记可以

配合多种新型显像剂的设计, 提高其药代动力学性质。

2021 年 Zhang 等<sup>[64]</sup>将两种与白蛋白高度结合的脂肪酸, 月桂酸(C12)和棕榈酸(C16)偶联到 FAPI-04 上, 得到两种靶向 FAP 的配体 FAPI-C12 和 FAPI-C16(图 16), 其半抑制浓度分别为 ( $6.80 \pm 0.58$ ) nM 和 ( $5.06 \pm 0.69$ ) nM。与  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-04}$  相比,  $[^{86}\text{Y}]\text{Y-FAPI-C12}$  和  $[^{86}\text{Y}]\text{Y-FAPI-C16}$  的循环时间显著增长, 肿瘤摄取更高。在 HT-1080-FAP 荷瘤小鼠 PET 显像中,  $[^{86}\text{Y}]\text{Y-FAPI-C12}$  在注射后 1 h 出现了最高肿瘤摄取 SUV 值 ( $0.64 \pm 0.19$ ), 之后逐渐被清除。 $[^{86}\text{Y}]\text{Y-FAPI-C16}$  则在注射后 12 h 出现了最高肿瘤摄取 SUV 值 ( $0.91 \pm 0.04$ ), 后逐渐下降。与 FAPI-C16 相比, 放射性标记的 FAPI-C12 清除得更快, 肿瘤滞留也随之减少, 但  $[^{86}\text{Y}]\text{Y-FAPI-C12}$  的肿瘤/血液和肿瘤/肝脏的比值更高。

## 2 靶向 FAP 的 SPECT 肿瘤显像剂

虽然 PET/CT 显像具有较高的灵敏度和分辨率, 但其检查费用昂贵, 仪器数量较少。相比之下, SPECT/CT 仪器的使用范围更加广泛, 利于进一步推广(靶向 FAP 的 SPECT 肿瘤显像剂见表 2)。



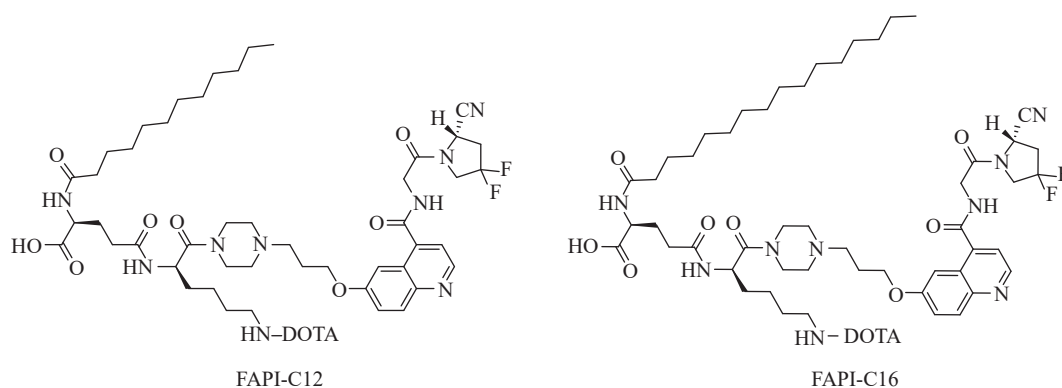
图 16 用于 $^{86}\text{Y}$ 标记的分子结构 (FAPI-C12、FAPI-C16)Fig.16 Chemical structures of molecules for  $^{86}\text{Y}$  labeling (FAPI-C12, FAPI-C16)

表 2 靶向 FAP 的 SPECT 肿瘤显像剂

Table 2 FAP-targeted SPECT tumor imaging agents

核素	名称	设计策略	IC <sub>50</sub>	备注
$^{125}\text{I}$	$^{125}\text{I}$ -FAPI-01 <sup>[14]</sup>		39.4 nM	临床前研究
$^{111}\text{In}$	$^{111}\text{In}$ -QCP02 <sup>[65]</sup>	引入酰胺烷基链	16.20 nM	临床前研究
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-iFAP <sup>[66]</sup>		0.536 nM (Ki)	初步临床研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-HYNIC-FAPI <sup>[67]</sup>		/	临床前研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-FL-L3 <sup>[68]</sup>	三肽螯合	10.5 nM (Kd)	临床前研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-FAPI-34 <sup>[69]</sup>	引入氨基酸	6.9 nM	初步临床研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-(CN-PEG <sub>4</sub> -FAPI) <sub>6</sub> <sup>[70]</sup>	引入PEG链	4.7 nM	临床前研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-(CN-C <sub>5</sub> -FAPI) <sub>6</sub> <sup>[70]</sup>	引入脂肪链	3.4 nM	临床前研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-L1/L2 <sup>[71]</sup>	引入脯/甘氨酸	0.9 nM/6.5 nM	临床前研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-DP-FAPI <sup>[72]</sup>	引入D-脯氨酸	2.2 nM	初步临床研究
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tc-TE-FAPT <sup>[73]</sup>	引入氨糖基团	7.1 nM	临床前研究

## 2.1 $^{125}\text{I}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

I 有 23 种放射性同位素,目前在医学上应用较广的是  $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$  和  $^{131}\text{I}$ 。 $^{125}\text{I}$  可发射能量为 0.03548 MeV 的  $\gamma$  射线,被用于放射性自显影或体外放射性分析等。

2018 年, Loktev 等<sup>[14]</sup>通过钼催化溴/锡交换制备有机锡化前体,制备了  $^{125}\text{I}$  取代的 FAPI-01 (图 17),其 IC<sub>50</sub> 值为 39.4 nM,并在表达 FAP 的细胞中快速内化,孵育 10 min 后具有高结合率。但碘标记的化合物通常表现出一种时间依

赖性的脱碘现象,  $^{125}\text{I}$ -FAPI-01 也具有体内脱碘现象,无法进一步推进应用。

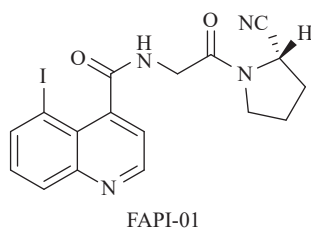
## 2.2 $^{111}\text{In}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

$^{111}\text{In}$  具有适中的物理半衰期 ( $t_{1/2}=2.8\text{ d}$ ),适用于观察慢生物学过程的研究,在核医学基础研究和临床应用中有重要的应用。

2021 年, Slania 等<sup>[65]</sup>报道了  $^{111}\text{In}$  标记的引入酰胺烷基链的 FAP 小分子抑制剂衍生物  $^{111}\text{In}$ -In-QCP02 (图 18),其亲和性较高 ( $K_i$  值为 16.20 nM),在 U87MG (FAP<sup>+</sup>) 及 PC3 (FAP<sup>-</sup>) 荷瘤小鼠的 SPECT 显像中表现出靶向 FAP 的肿瘤特异性摄取,在 U87 MG 肿瘤中 30 min 摄取为 18.2 %ID/g,且具有较长时间的滞留。 $^{111}\text{In}$ -In-QCP02 相对于  $^{68}\text{Ga}$ -Ga-FAPI-02 和  $^{68}\text{Ga}$ -Ga-FAPI-04 显示出更高的肿瘤和正常器官摄取,在肾脏中的摄取较低,目前还待进一步研究。

## 2.3 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记的靶向 FAP 肿瘤显像剂

$^{99\text{m}}\text{Tc}$  具有理想的核素性质 ( $t_{1/2}=6.0\text{ h}$ ,  $E_\gamma=$

图 17 用于 $^{125}\text{I}$ 标记的分子结构 (FAPI-01)Fig.17 Chemical structures of molecules for  $^{125}\text{I}$  labeling (FAPI-01)

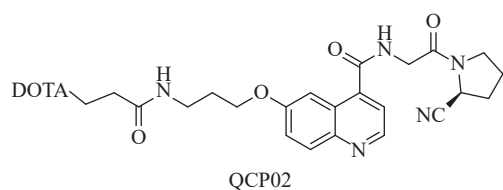


图 18 用于<sup>111</sup>In 标记的分子结构 (QCP02)

Fig.18 Chemical structures of molecules for <sup>111</sup>In labeling (QCP02)

140 keV)且具有多种氧化态,其制备较为简易,可使用<sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc发生器以低成本获得。<sup>99m</sup>Tc

的标记简单、高效,在核医学诊断中具有广阔的应用前景。

2022年,Trujillo-Benitez等<sup>[66]</sup>在Val-boroPro的支架基础上修饰了6-胍基烟酰胺(HYNIC)基团,同时选择EDDA/SnCl<sub>2</sub>作为共配体,合成并制备了[<sup>99m</sup>Tc]Tc-iFAP(图19)。<sup>[99m</sup>Tc]Tc-iFAP在裸鼠肝癌肿瘤Hep-G2中摄取较高(30 min, (7.05 ± 1.13) %ID/g),同时通过肾脏快速消除,血液清除较快,具有高灵敏检测FAP在肿瘤微环境中表达的能力。

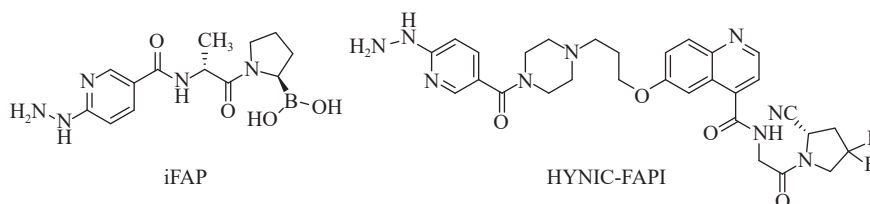


图 19 用于<sup>99m</sup>Tc 标记的分子结构 (iFAP、HYNIC-FAPI)

Fig.19 Chemical structures of molecules for <sup>99m</sup>Tc labeling (iFAP, HYNIC-FAPI)

2023年Jiang等<sup>[67]</sup>报道了[<sup>99m</sup>Tc]Tc-HYNIC-FAPI(图19)探针,使用6-胍基烟酰胺(HYNIC)作为螯合剂进行了<sup>99m</sup>Tc的放射性标记,同时利用PANC-1细胞系进行迁移实验。当共孵育[<sup>99m</sup>Tc]Tc-HYNIC-FAPI时,PANC-1细胞的迁移受到明显抑制。但目前为止还未见其动物显像及生物分布的相关报道。

**2.3.1 拓展螯合基团类** 2020年Roy等<sup>[68]</sup>发表了

另一种<sup>99m</sup>Tc靶向FAP显像剂FL-L3(图20),利用三肽部分(2,3-二氨基丙酸天冬氨酸-半胱氨酸)作为螯合基团,同时对UAMC-1110支架进行了修改。MDA-MB-231荷瘤小鼠的生物分布研究结果显示,其肾脏摄取相对较高((8.74 ± 1.44) %ID/g, 2 h),肿瘤摄取相对值较低(2.23 %ID/g, 2 h),而显像剂是否随时间具有更显著的肿瘤摄取还待后续研究。

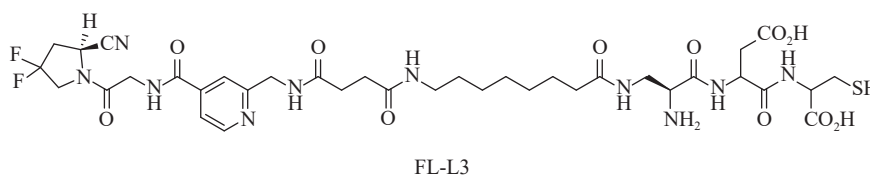


图 20 用于<sup>99m</sup>Tc 标记的分子结构 (FL-L3)

Fig.20 Chemical structures of molecules for <sup>99m</sup>Tc labeling (FL-L3)

**2.3.2 连接剂结构修饰类** 2020年,Lindner等<sup>[69]</sup>为提高FAPI羧酸衍生物的药代动力学性质,在螯合基团部分嵌入了亲水氨基酸,并用[<sup>99m</sup>Tc][Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>中间体进行标记,得到了系列<sup>99m</sup>Tc标记的FAPI显像剂。该系列化合物显示出良好的结合性能,亲和力较高(IC<sub>50</sub> = 6.4 ~ 12.7 nM);其中[<sup>99m</sup>Tc]Tc-FAPI-34(IC<sub>50</sub> = 6.9 nM)在HT-1080-FAP小鼠肝、胆和肠道的摄取最低,在小鼠肿瘤病变中摄取显著((5.4 ± 2.05) %ID/g)。

但[<sup>99m</sup>Tc]Tc-FAPI-34(图21)的制备较为复杂,需要制备中间体、调整溶液pH后进行标记,且在小鼠体内肾脏摄取较高,在一定程度上制约其应用。

2022年,Ruan等<sup>[70]</sup>合成了配体CN-C<sub>5</sub>-FAPI及CN-PEG<sub>4</sub>-FAPI(图21),测定其IC<sub>50</sub>为3.4 nM及4.7 nM,并进行了<sup>99m</sup>Tc标记。[<sup>99m</sup>Tc][Tc-(CN-PEG<sub>4</sub>-FAPI)<sub>6</sub>]<sup>+</sup>由于具有PEG链修饰,亲水性高于[<sup>99m</sup>Tc][Tc-(CN-C<sub>5</sub>-FAPI)<sub>6</sub>]<sup>+</sup>,有更高的肿瘤摄

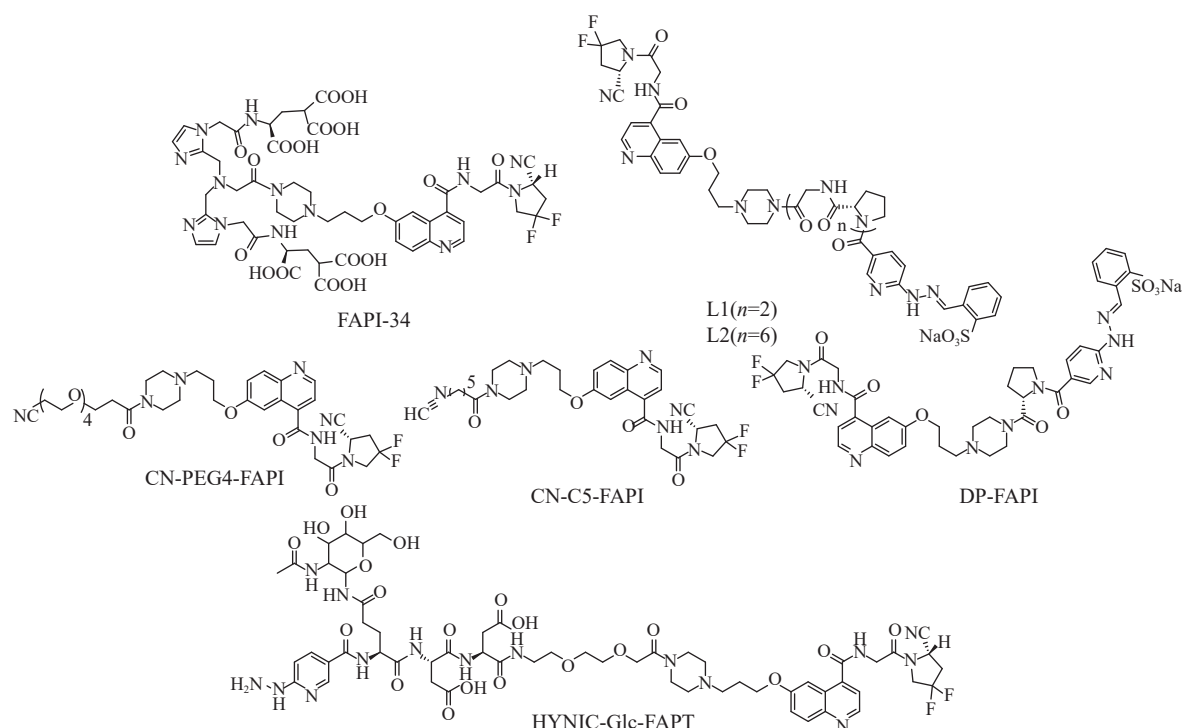


图 21 用于  $^{99m}\text{Tc}$  标记的分子结构 (FAPI-34、L1/L2、CN-PEG<sub>4</sub>-FAPI、CN-C<sub>5</sub>-FAPI、DP-FAPI、HYNIC-Glc-FAPT)

Fig.21 Chemical structures of molecules for  $^{99m}\text{Tc}$  labeling (FAPI-34, L1/L2, CN-PEG<sub>4</sub>-FAPI, CN-C<sub>5</sub>-FAPI, DP-FAPI, HYNIC-Glc-FAPT)

取和更高的肿瘤/非靶比值,主要通过肝胆和肾脏排泄。U87 MG 荷瘤小鼠体内生物分布实验结果显示 1 h 和 4 h 后,  $[\text{}^{99m}\text{Tc}][\text{Tc}(\text{CN-PEG}_4\text{-FAPI})_6]^+$  在肿瘤中的摄取分别为  $(8.05 \pm 1.48) \% \text{ID/g}$ 、 $(11.02 \pm 1.59) \% \text{ID/g}$ , 肿瘤/肌肉比分别为 11.10、12.82, 肿瘤/血液比分别为 3.78、4.42。SPECT 显像结果表明,  $[\text{}^{99m}\text{Tc}][\text{Tc}(\text{CN-PEG}_4\text{-FAPI})_6]^+$  在小鼠肿瘤部位有明显浓集,在除肾脏外的非靶脏器中摄取较低,具有良好的显像效果。

2023 年, Ruan 等<sup>[71]</sup> 为降低非靶器官的摄取, 采取了 HYNIC、TPPTS 及 tricine 共配标记的方案提高亲水性, 并以不同长度的 DPro-Gly 作为连接剂, 设计并合成了两种 FAP 抑制剂 (FAPI) 衍生配体 (L1 和 L2, 图 21)。L1 的半抑制浓度相对 L2 较低 ( $0.9 \text{ nM}$  vs.  $6.5 \text{ nM}$ ), 亲和力也高于 L2。由于亲水性 DPro-Gly (PG) 重复单元的增多,  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-L2}$  具有更高的亲水性及更快的血液清除速度。但 U87 MG 肿瘤小鼠的生物分布显示,  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-L2}$  快速的血液清除不利于显像剂在肿瘤和其他组织中的分布和滞留, 总摄取量较低。  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-L1}$  则具有较高的肿瘤摄取 ( $(13.18 \pm 1.26) \% \text{ID/g}$ ) 和靶与非靶器官摄取比值。与  $[\text{}^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-04}$  相比, 其肿瘤摄取

值更高, 且具有相等的瘤/血比、瘤/肉比与瘤/肾比。同年 Ruan 等<sup>[72]</sup> 设计合成了含 D-脯氨酸的 FAPI 衍生配体 (DP-FAPI, 图 21), 以 HYNIC 基团作为螯合剂, tricine 及 TPPTS 作为共配体, 通过药盒标记得到了亲和力为 nM 级别的  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DP-FAPI}$ 。在 U87MG 荷瘤小鼠体内注射 1 h 后, 其肿瘤摄取 ( $(16.26 \pm 2.71) \% \text{ID/g}$ ) 相对较高, 且优于前期该团队设计的  $[\text{}^{99m}\text{Tc}][\text{Tc}(\text{CN-PEG}_4\text{-FAPI})_6]^+$  ( $(8.05 \pm 1.48) \% \text{ID/g}$ )。同时其具有良好的靶与非靶值 (肿瘤与肝脏摄取比:  $7.72 \pm 1.56$ 、肿瘤与骨骼摄取比:  $2.92 \pm 0.67$ 、肿瘤与肾脏摄取比:  $3.74 \pm 1.13$ ), 肿瘤与肝脏、肿瘤与肾脏的比率高于  $[\text{}^{68}\text{Ga}]\text{Ga-FAPI-04}$ , 肿瘤与肌肉比值相当。在 3 例临床胃肠道肿瘤患者的研究中,  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DP-FAPI}$  的 SPECT/CT 结果显示高肿瘤摄取率及高的肿瘤与非靶标比, 后续还需要临床的进一步探究。

2023 年 Yang 等<sup>[73]</sup> 延续  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{-FAPT}$  的设计思路, 以 FAPI-04 为先导分子、HYNIC 为螯合基团, 对连接剂部分进行修饰, 设计并开发了一步法标记的  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-tricine/EDDA-HYNIC-Glc-FAPT}$  ( $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-TE-FAPT}$ ) 及  $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-tricine(2)-HYNIC-Glc-FAPT}$  ( $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-T(2)-FAPT}$ )。其中

[ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-TE-FAPT(图 21)更具亲水性,  $\log P$  为  $-3.53 \pm 0.12$ , 肾脏清除较快。在携带 U87MG 肿瘤的 BALB/c 裸鼠中, [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-TE-FAPT 显示出持续的特异性高肿瘤摄取, 且 1 h 后肿瘤/肾脏摄取比值始终大于 10, 具有相当的临床研究价值。

### 3 总结与展望

现有研究表明, 放射性核素标记的靶向 FAP 小分子抑制剂是一类很有发展潜力的广谱肿瘤显像剂, 具有广阔的临床应用前景。目前研究数量与临床应用最广的是 FAPI-04 与 FAPI-46, 其骨架结构(4-喹啉酰基)-甘氨酸-2-氰基吡咯啉是大多数新型小分子 FAP 抑制剂的设计基础。为了提高肿瘤摄取及滞留、降低非靶器官摄取, 研究者采取了包括改变连接剂结构(如引入方酸基团、PEG 链、白蛋白结合基团)、设计同源多聚体或多靶向探针、改变螯合基团及标记方式、对药效团进行结构修改等多种方法, 成功开发了系列肿瘤高摄取、高滞留、靶与背景比值较高的放射性标记靶向 FAP 的小分子肿瘤探针。

但在成功开发系列新型探针的同时, 也需要更加注意权衡其潜在风险。连接剂 Linker 中亲水性基团的引入可能会提高药物在肾脏中的积累, 同理白蛋白结合基团的引入可能带来血液辐射毒性; 同源多聚体空间位阻、连接剂长度及分子量设计不合理可能引起药物性能降低, 靶向多种靶点的异聚体药物则在提高检测限的同时增加了假阳性结果的风险, 仍需要依赖组织取样表征进行验证; 长效循环探针的开发可能会引起更高的肿瘤积累, 但同时也有可能提高正常器官(如肝脏、肠道)的非特异性摄取。值得注意的是, 多种新型探针展现出的小鼠体内骨关节等非靶器官的特异性摄取, 可能与 FAP 在小鼠成骨细胞和骨髓干细胞中的高表达有关。同时由于 FAP 也选择性表达于组织修复和纤维化部位, 因此在心肌梗死、动脉粥样硬化、结核病、肝肾纤维化、免疫球蛋白 G4 相关性疾病等非肿瘤性疾病中出现了 FAPI 探针摄取增加的报道<sup>[74-75]</sup>。因此, 研究者需要客观谨慎地对靶向 FAP 的肿瘤显像结果进行评估以避免误诊。

目前, 在脑胶质瘤、肝癌、鼻咽癌等多种癌症<sup>[76]</sup>的临床显像中, 靶向 FAP 的小分子显像剂都显示出了比 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG 更为优越的性能。但目前新型靶向 FAP 小分子的相关研究仍缺乏大

量、多中心的临床样本, 如何鉴别恶性肿瘤与非肿瘤性病变也需要进一步的探究。未来伴随着更多合成开发与临床研究, 放射性标记的靶向 FAP 的分子探针将进一步提高靶向的精准性, 结合诊疗一体化, 为恶性疾病的早期诊断、精确分期、监测疗效以及指导治疗提供更加可靠的信息。

### 参考文献:

- [1] Peng Z, Tong Z, Ren Z, et al. Cancer-associated fibroblasts and its derived exosomes: a new perspective for reshaping the tumor microenvironment[J]. *Molecular Medicine*, 2023, 29(1): 66.
- [2] Wu Z, Hua Y, Shen Q, et al. Research progress on the role of fibroblast activation protein in diagnosis and treatment of cancer[J]. *Nuclear Medicine Communications*, 2022, 43(7): 746-755.
- [3] Hamson E J, Keane F M, Tholen S, et al. Understanding fibroblast activation protein (FAP): substrates, activities, expression and targeting for cancer therapy[J]. *Proteomics Clinical Applications*, 2014, 8(5-6): 454-463.
- [4] Yamashita M, Ogawa T, Zhang X, et al. Role of stromal myofibroblasts in invasive breast cancer: stromal expression of alpha-smooth muscle actin correlates with worse clinical outcome[J]. *Breast Cancer*, 2012, 19(2): 170-176.
- [5] Altmann A, Haberkorn U, Siveke J. The latest developments in imaging of fibroblast activation protein[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2021, 62(2): 160-167.
- [6] Hicks R J, Roselt P J, Kallur K G, et al. FAPI PET/CT: Will it end the hegemony of  $^{18}\text{F}$ -FDG in oncology?[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2021, 62(3): 296-302.
- [7] Pandya D N, Sinha A, Yuan H, et al. Imaging of fibroblast activation protein alpha expression in a preclinical mouse model of glioma using positron emission tomography[J]. *Molecules*, 2020, 25(16): 3672.
- [8] Pang Y, Zhao L, Meng T, et al. PET imaging of fibroblast activation protein in various types of cancer using  $^{68}\text{Ga}$ -FAP-2286: Comparison with  $^{18}\text{F}$ -FDG and  $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-46 in a single-center, prospective study[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2023, 64(3): 386-394.
- [9] Lindner T, Giesel F L, Kratochwil C, et al. Radioligands targeting fibroblast activation protein (FAP)[J]. *Cancers*, 2021, 13(22): 5744.
- [10] Narra K, Mullins S R, Lee H O, et al. Phase II trial of single agent *Val-boroPro* (Talabostat) inhibiting Fibroblast Activation Protein in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2007,

- 6(11): 1691-1699.
- [11] Jansen K, Heirbaut L, Cheng J D, et al. Selective inhibitors of Fibroblast Activation Protein (FAP) with a (4-quinolinoyl)-glycyl-2-cyanopyrrolidine scaffold[J]. *Acs Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 4(5): 491.
- [12] Jansen K, De Winter H, Heirbaut L, et al. Selective inhibitors of fibroblast activation protein (FAP) with a xanthine scaffold[J]. *MedChemComm*, 2014, 5(11): 1700-1707.
- [13] 刘敬如, 芮建中, 朱虹. 放射性核素标记的小分子FAP抑制剂的临床应用研究进展[J]. *同位素*, 2022, 35(2): 135-143.
- [14] Loktev A, Lindner T, Mier W, et al. A tumor-imaging method targeting cancer-associated fibroblasts[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2018, 59(9): 1423-1429.
- [15] Lindner T, Loktev A, Altmann A, et al. Development of quinoline-based theranostic ligands for the targeting of fibroblast activation protein[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2018, 59(9): 1415-1422.
- [16] 向一立, 钟璇, 付晶晶, 等.  $^{68}\text{Ga}$  标记成纤维细胞活化蛋白抑制剂的生物分布和胶质瘤模型 micro-PET 显像[J]. *同位素*, 2022, 35(5): 365-375.
- [17] Giesel F L, Kratochwil C, Lindner T, et al.  $^{68}\text{Ga}$ -FAPi PET/CT: Biodistribution and preliminary dosimetry estimate of 2 DOTA-containing FAP-targeting agents in patients with various cancers[J]. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 2019, 60(3): 386-392.
- [18] Kratochwil C, Flechsig P, Lindner T, et al.  $^{68}\text{Ga}$ -FAPi PET/CT: Tracer uptake in 28 different kinds of cancer[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2019, 60(6): 801-805.
- [19] Chen H, Zhao L, Ruan D, et al. Usefulness of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-FAPi-04 PET/CT in patients presenting with inconclusive [ $^{18}\text{F}$ ]FDG PET/CT findings[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2021, 48(1): 73-86.
- [20] Loktev A, Lindner T, Burger E M, et al. Development of fibroblast activation protein-targeted radiotracers with improved tumor retention[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2019, 60(10): 1421-1429.
- [21] Meyer C, Dahlbom M, Lindner T, et al. Radiation dosimetry and biodistribution of  $^{68}\text{Ga}$ -FAPi-46 PET imaging in cancer patients[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 61(8): 1171-1177.
- [22] Moon E S, Elvas F, Vliegen G, et al. Targeting fibroblast activation protein (FAP): Next generation PET radiotracers using squaramide coupled bifunctional DOTA and DATA<sup>5m</sup> chelators[J]. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 2020, 5(1): 19.
- [23] Ballal S, Yadav M P, Moon E S, et al. Biodistribution, pharmacokinetics, dosimetry of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA. SA. FAPi, and the head-to-head comparison with [ $^{18}\text{F}$ ]F-FDG PET/CT in patients with various cancers[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2021, 48(6): 1915-1931.
- [24] Wang Y, Yuan H, Liu N, et al. High affinity and FAP-targeted radiotracers: a potential design strategy to improve the pharmacokinetics and tumor uptake for FAP inhibitors[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(13): 8614-8627.
- [25] Poplawski S E, Hallett R M, Dornan M H, et al. Preclinical development of PNT6555, a boronic acid-based, Fibroblast Activation Protein- $\alpha$  (FAP)-targeted radiotheranostic for imaging and treatment of FAP-positive tumors[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2024, 65(1): 100-108.
- [26] Liu Z, Chen X. Simple bioconjugate chemistry serves great clinical advances: Albumin as a versatile platform for diagnosis and precision therapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(5): 1432-1456.
- [27] Lin J J, Chuang C P, Lin J Y, et al. Rational design, pharmacomodulation, and synthesis of [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-alb-FAPtp-01, a selective tumor-associated fibroblast activation protein tracer for PET imaging of glioma[J]. *ACS Sensors*, 2021, 6(9): 3424-3435.
- [28] Xu M, Zhang P, Ding J, et al. Albumin binder-conjugated fibroblast activation protein inhibitor radiopharmaceuticals for cancer therapy[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2022, 63(6): 952-958.
- [29] Kelly J M, Jeitner T M, Ponnala S, et al. A trifunctional theranostic ligand targeting fibroblast activation protein- $\alpha$  (FAP $\alpha$ )[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2021, 23(5): 686-696.
- [30] Meng L, Fang J, Zhao L, et al. Rational design and pharmacomodulation of protein-binding theranostic radioligands for targeting the fibroblast activation protein[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 65(12): 8245-8257.
- [31] Mahon E, Barboiu M. Synthetic multivalency for biological applications[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2015, 13(43): 10590-10599.
- [32] Zhao L, Niu B, Fang J, et al. Synthesis, preclinical evaluation, and a pilot clinical PET imaging study of  $^{68}\text{Ga}$ -labeled FAPi dimer[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2022, 63(6): 862-868.
- [33] Martin M, Ballal S, Yadav M P, et al. Novel generation of FAP inhibitor-based homodimers for improved application in radiotheranostics[J]. *Cancers*, 2023, 15(6): 1889.



- [34] Pang Y, Zhao L, Fang J, et al. Development of FAPI tetramers to improve tumor uptake and efficacy of FAPI radioligand therapy[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2023, 64(9): 1449-1455.
- [35] Zang J, Wen X, Lin R, et al. Synthesis, preclinical evaluation and radiation dosimetry of a dual targeting PET tracer [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-FAPI-RGD[J]. *Theranostics*, 2022, 12(16): 7180-7190.
- [36] Yan Q, Zhong J, Liu Y, et al. Synthesis and preclinical evaluation of a heterodimeric radioligand targeting fibroblast activation protein and integrin- $\alpha\text{v}\beta 3$ [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 251: 115279.
- [37] Verena A, Zhang Z, Kuo H T, et al. Synthesis and preclinical evaluation of three novel  $^{68}\text{Ga}$ -labeled bispecific PSMA/FAP-targeting tracers for prostate cancer imaging[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1088.
- [38] Larenkov A, Maruk A, Kodina G. Quality control of  $^{68}\text{Ga}$  radiopharmaceuticals: pitfalls and solutions[C]// International Symposium On Trends in Radiopharmaceuticals, [S.l.]:[s.n.], 2019.
- [39] Millul J, Bassi G, Mock J, et al. An ultra-high-affinity small organic ligand of fibroblast activation protein for tumor-targeting applications[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(16): e2101852118.
- [40] Backhaus P, Gierse F, Burg M C, et al. Translational imaging of the fibroblast activation protein (FAP) using the new ligand [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-OncoFAP-DOTAGA[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, 49(6): 1822-1832.
- [41] Greifenstein L, Kramer C S, Moon E S, et al. From automated synthesis to *in vivo* application in multiple types of cancer-clinical results with [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DATA<sup>5m</sup>. SA.FAPI[J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(8): 1000.
- [42] Kreppel B, Gonzalez-Carmona M A, Feldmann G, et al. Fibroblast activation protein inhibitor (FAPi) positive tumour fraction on PET/CT correlates with Ki-67 in liver metastases of neuroendocrine tumours[J]. *Nuklearmedizin Nuclear Medicine*, 2021, 60(5): 344-354.
- [43] Hong H, Zha Z, Zhao R, et al. [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-HBED-CC-FAPI derivatives with improved radiolabeling and specific tumor uptake[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2023, 20(4): 2159-2169.
- [44] Bendre S, Zhang Z, Colpo N, et al. Synthesis and evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -labeled (2S, 4S)-4-fluoropyrrolidine-2-carbonitrile and (4R)-thiazolidine-4-carbonitrile derivatives as novel Fibroblast Activation Protein-targeted PET tracers for cancer imaging[J]. *Molecules*, 2023, 28(8): 3481.
- [45] Verena A, Kuo H T, Merckens H, et al. Novel  $^{68}\text{Ga}$ -labeled pyridine-based fibroblast activation protein-targeted tracers with high tumor-to-background contrast[J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(3): 449.
- [46] Toms J, Kogler J, Maschauer S, et al. Targeting fibroblast activation protein: radiosynthesis and preclinical evaluation of an  $^{18}\text{F}$ -labeled FAP inhibitor[J]. *Journal of Nuclear Medicine, Society of Nuclear Medicine*, 2020, 61(12): 1806-1813.
- [47] Jiang X, Wang X, Shen T, et al. FAPI-04 PET/CT using [ $^{18}\text{F}$ ]AIF labeling strategy: automatic synthesis, quality control, and *in vivo* assessment in patient[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 649148.
- [48] Giesel F L, Adeberg S, Syed M, et al. FAPI-74 PET/CT using either  $^{18}\text{F}$ -AIF or cold-kit  $^{68}\text{Ga}$  labeling: Biodistribution, radiation dosimetry, and tumor delineation in lung cancer patients[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2021, 62(2): 201-207.
- [49] Dahl K, Jussing E, Bylund L, et al. Fully automated production of the fibroblast activation protein radiotracer [ $^{18}\text{F}$ ]FAPI-74[J]. *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*, 2021, 64(8): 346-352.
- [50] Wang S, Zhou X, Xu X, et al. Clinical translational evaluation of Al $^{18}\text{F}$ -NOTA-FAPI for fibroblast activation protein-targeted tumour imaging[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2021, 48(13): 4259-4271.
- [51] Hu K, Li J, Wang L, et al. Preclinical evaluation and pilot clinical study of [ $^{18}\text{F}$ ]AIF-labeled FAPI-tracer for PET imaging of cancer associated fibroblasts[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2022, 12(2): 867-875.
- [52] Huang J, Fu L, Zhang X, et al. Noninvasive imaging of FAP expression using positron emission tomography: a comparative evaluation of a [ $^{18}\text{F}$ ]-labeled glycopeptide-containing FAPI with [ $^{18}\text{F}$ ]FAPI-42[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2023, 50: 3363-3374.
- [53] Fu L, Huang J, Liu Q, et al. Radiosynthesis, preclinical evaluation and pilot clinical PET imaging study of a  $^{18}\text{F}$ -labeled tracer targeting fibroblast activation protein[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2023, 141: 106878.
- [54] Zhou H, Zhong J, Peng S, et al. Synthesis and preclinical evaluation of novel  $^{18}\text{F}$ -labeled fibroblast activation protein tracers for positron emission tomography imaging of cancer-associated fibroblasts[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2024, 264: 115993.
- [55] Poulie C, Shalgunov V, Elvas F, et al. Next generation fibroblast activation protein (FAP) targeting PET tracers: The tetrazine ligation allows an easy and convenient way to  $^{18}\text{F}$ -labeled (4-quinolinoyl)glycyl-2-

- cyanopyrrolidines[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 262: 115862.
- [56] Li H, Ye S, Li L, et al.  $^{18}\text{F}$ - or  $^{177}\text{Lu}$ -labeled bivalent ligand of fibroblast activation protein with high tumor uptake and retention[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, 49(8): 2705-2715.
- [57] Hu K, Li L, Huang Y, et al. Radiosynthesis and preclinical evaluation of bispecific PSMA/FAP heterodimers for tumor imaging[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 15(3): 383.
- [58] Yang T, Peng L, Qiu J, et al. A radiohybrid theranostics ligand labeled with fluorine-18 and lutetium-177 for fibroblast activation protein-targeted imaging and radionuclide therapy[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2023, 50: 2331-2341.
- [59] Craig A, Kogler J, Laube M, et al. Preparation of  $^{18}\text{F}$ -labeled tracers targeting Fibroblast Activation Protein via sulfur [ $^{18}\text{F}$ ] Fluoride exchange reaction[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(12): 2749.
- [60] Watabe T, Liu Y, Kaneda-Nakashima K, et al. Theranostics targeting fibroblast activation protein in the tumor stroma:  $^{64}\text{Cu}$ - and  $^{225}\text{Ac}$ -labeled FAPI-04 in pancreatic cancer xenograft mouse models[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 61(4): 563-569.
- [61] Boinapally S, Lisok A, Lofland G, et al. Correction to: Hetero-bivalent agents targeting FAP and PSMA[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, 49(13): 4755.
- [62] Nimmagadda S, Pullambhatla M, Chen Y, et al. Low-level endogenous PSMA expression in nonprostatic tumor xenografts is sufficient for in vivo tumor targeting and imaging[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2018, 59(3): 486-493.
- [63] Wang C, Hu Z, Ding F, et al. Radiosynthesis and first preclinical evaluation of the novel  $^{11}\text{C}$ -labeled FAP inhibitor  $^{11}\text{C}$ -FAPI: a comparative study of  $^{11}\text{C}$ -FAPIs and ( $^{68}\text{Ga}$ ) Ga-DOTA-FAPI-04 in a high-FAP-expression mouse model[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 939160.
- [64] Zhang P, Xu M, Ding J, et al. Fatty acid-conjugated radiopharmaceuticals for fibroblast activation protein-targeted radiotherapy[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, 49(6): 1985-1996.
- [65] Slania S L, Das D, Lisok A, et al. Imaging of fibroblast activation protein in cancer xenografts using novel (4-quinolinoyl)-glycyl-2-cyanopyrrolidine-based small molecules[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(7): 4059-4070.
- [66] Trujillo-Benítez D, Luna-Gutiérrez M, Ferro-Flores G, et al. Design, synthesis and preclinical assessment of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -iFAP for in vivo fibroblast activation protein (FAP) imaging[J]. *Molecules*, 2022, 27(1): 264.
- [67] Jiang Y, Tian Y, Feng B, et al. A novel molecular imaging probe [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]Tc-HYNIC-FAPI targeting cancer-associated fibroblasts[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 3700.
- [68] Roy J, Hettiarachchi S U, Kaake M, et al. Design and validation of fibroblast activation protein alpha targeted imaging and therapeutic agents[J]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 5778-5789.
- [69] Lindner T, Altmann A, Krämer S, et al. Design and development of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled FAPI tracers for SPECT imaging and  $^{188}\text{Re}$  therapy[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 61(10): 1507-1513.
- [70] Ruan Q, Feng J, Jiang Y, et al. Preparation and bioevaluation of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled FAP inhibitors as tumor radiotracers to target the fibroblast activation protein[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2022, 19(1): 160-171.
- [71] Ruan Q, Wang Q, Jiang Y, et al. Synthesis and evaluation of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled FAP inhibitors with different linkers for imaging of fibroblast activation proteins in tumors[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(7): 4952-4960.
- [72] Ruan Q, Zhou C, Wang Q, et al. A simple kit formulation for preparation and exploratory human studies of a novel  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled Fibroblast Activation Protein inhibitor tracer for imaging of the Fibroblast Activation Protein in cancers[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2023, 20(6): 2942-2950.
- [73] Yang X, Li G, Ruan C, et al. Formulation and preclinical testing of Tc-99m-labeled HYNIC-Glc-FAPT as a FAP-targeting tumor radiotracer[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2023, 34(11): 2133-2143.
- [74] Zheng S, Lin R, Chen S, et al. Characterization of the benign lesions with increased  $^{68}\text{Ga}$ -FAPI-04 uptake in PET/CT[J]. *Annals of Nuclear Medicine*, 2021, 35(12): 1312-1320.
- [75] Qin C, Song Y, Liu X, et al. Increased uptake of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-FAPI-04 in bones and joints: Metastases and beyond[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2022, 49(2): 709-720.
- [76] Huang R, Pu Y, Huang S, et al. FAPI-PET/CT in cancer imaging: A potential novel molecule of the century[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 854658.