

DISS. ETH Nr. 25938

Preclinical Evaluation of Albumin-Binding Radioligands for Nuclear Imaging and Radionuclide Therapy of Prostate Cancer

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. Sc. ETH Zurich)

presented by

CHRISTOPH ALOIS UMBRICHT

MSc UZH in Biology, Genetics, University of Zurich

born on 23.12.1989

citizen of Untersiggenthal AG, Switzerland

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Roger Schibli, examiner
Prof. Dr. Jonathan Hall, co-examiner
PD Dr. Cristina Müller, co-examiner

2019

Summary

The prostate-specific membrane antigen (PSMA) is physiologically expressed in the healthy prostate and gradually overexpressed from early stages of prostate cancer (PCa) towards metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC). This unique expression profile, combined with a limited expression in healthy organs, led to the development of various targeting agents directed against PSMA. The PSMA-targeting small molecule ^{68}Ga -PSMA-11 is currently the most often employed ligand for PET imaging of PCa patients, although it is likely that ^{18}F -based compounds will at least partially replace it in clinical routine. One of the most promising PSMA ligands for targeted radionuclide therapy of mCRPC is ^{177}Lu -PSMA-617, which is equipped with a DOTA chelator. ^{177}Lu -PSMA-617 proved effective in several hundreds of patients and has entered phase III clinical trials in 2018.

The main goal of this thesis was to develop small-molecular-weight PSMA ligands with higher tumor uptake than the currently available radiopharmaceuticals. The strategy to achieve this aim was to prolong the blood circulation time of PSMA ligands by modification with albumin-binding entities. This concept was based on previous studies performed by our group where a remarkably increased tumor-to-kidney ratio could be achieved with albumin-binding radiofolates. The aim was, furthermore, to evaluate exotic radionuclides for nuclear imaging using the herein presented PSMA-targeting compounds, as well as existing PSMA ligands.

In chapter 2, we investigated whether PSMA-targeting molecules can benefit from a prolonged blood circulation time. PSMA-ALB-02 was designed by conjugation of a glutamate-urea-based PSMA-binding entity, a DOTA chelator and an albumin-binding 4-(*p*-iodophenyl)-moiety. Additionally, two ligands modified with varying linker entities containing two (PSMA-ALB-05) or three D-aspartates (PSMA-ALB-07) were investigated. The radiolabeling with ^{177}Lu ($T_{1/2} = 6.65$ d, $E_{\beta_{\text{av}}}^- = 134$ keV, $E_{\gamma} = 208$ keV ($I = 10\%$), 113 keV ($I = 6\%$)) was achieved at high specific activity (50 MBq/nmol, radiochemical purity >98%) and resulted in radioligands that were stable (>90%) over at least 24 h. Ultrafiltration assays showed high binding of the new PSMA ligands to mouse (>64%) and human plasma proteins (>94%). Cell uptake studies performed with PSMA-positive PC-3PIP and PSMA-negative PC-3flu prostate cancer cell lines demonstrated PSMA-specific uptake at a comparable range to ^{177}Lu -PSMA-617 (60-63% after 4 h incubation). Enhanced blood circulation of the radioligands was observed in biodistribution studies. Tumor uptake was high with a 2-fold increased area under the curve (AUC) for ^{177}Lu -PSMA-ALB-02, the most promising radioligand, as compared to ^{177}Lu -PSMA-617. High tumor-to-kidney (~5.9) and tumor-to-blood ratios of AUCs (~46) were measured. These values were, however, lower than for ^{177}Lu -PSMA-617 (37 and 71), due to an increased blood and kidney activity. In a continuous effort to improve the herein developed molecules, we aimed to

evaluate two further modified PSMA ligands, as discussed in chapter 3. The design of these ligands was based on the PSMA binding entity and chelator used in the first study, while the albumin-binding entity was replaced. For the first compound (PSMA-ALB-53), the previously used 4-(*p*-iodophenyl)-structure was coupled with the ϵ -amino group of a D-lysine to obtain a strong albumin-binding ligand. The coupling of a *p*-tolyl-moiety resulted in a weaker albumin binding molecule (PSMA-ALB-56). In vitro binding of ^{177}Lu -PSMA-ALB-53 to human and mouse serum proteins was ten-fold higher than for ^{177}Lu -PSMA-ALB-56, while the uptake in PC-3PIP cell lines was comparable (55-59%, 4 h). Similar to PSMA-ALB-02, the AUCs for the in vivo tumor uptake of ^{177}Lu -PSMA-ALB-53 and ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 were more than 2-fold increased when compared to ^{177}Lu -PSMA-617. In line with the lower albumin-binding properties, ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 showed faster blood and kidney clearance than ^{177}Lu -PSMA-ALB-53. Based on these results and favorable SPECT images, ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 was selected for a preclinical therapy study in order to compare its effect to ^{177}Lu -PSMA-617. Applied at equal radioactivity (5 MBq per mouse), ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 revealed clearly better antitumor effects than ^{177}Lu -PSMA-617, with complete tumor remission in more than 50% of mice. The reduced tumor growth was reflected by an increased survival time with four out of six mice still alive at Day 84 (end of study), while all mice treated with ^{177}Lu -PSMA-617 had to be euthanized by Day 40. These results demonstrated the superiority of ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 over the clinically employed ^{177}Lu -PSMA-617 in a preclinical setting. The increased tumor uptake of the herein presented albumin-binding PSMA ligands is of particular interest, since it may allow radionuclide therapy using lower quantities or less frequent applications of radioactivity. The modification of the linker structure with negatively charged amino acids was not improving the pharmacokinetics and therefore not further investigated. The characteristic of a high tumor uptake, as observed with albumin-binding radioligands, might also be of interest for PET imaging at late time points after injection in order to enable the visualization of small metastases. This would, however, require the application of PET radionuclides with a longer half-life than the currently employed ^{68}Ga ($T_{1/2} = 68$ min, $E\beta_{\text{av}}^+ = 830$ keV ($I = 89\%$)). In chapter 4, an analogue of the PSMA-ALB-56 ligand, with a NODAGA-chelator for stable coordination of ^{64}Cu ($T_{1/2} = 12.7$ h, $E\beta_{\text{av}}^+ = 278$ keV ($I = 18\%$)), was designed and investigated. The resulting molecule, PSMA-ALB-89, was labeled with ^{64}Cu and evaluated in analogy to previous studies. Biodistributions in tumor-bearing mice revealed high accumulation of ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 in PSMA-positive PC-3PIP tumor xenografts ($>25.9\%$ IA/g, 1 h p.i.) with a significant increase over 24 h ($>97\%$ IA/g). The high renal uptake of ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 ($>36\%$ IA/g, 24 h p.i.) was unexpected, however, the low liver accumulation clearly demonstrated the high in vivo stability of ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 ($<5\%$ IA/g, 4 h p.i.). This was in clear contrast to the low in vivo stability of the ^{64}Cu -DOTA complex of ^{64}Cu -PSMA-ALB-56, which could be confirmed by an increased radioactivity in the liver in

biodistribution (>25.3 % IA/g, 4 h p.i.) and PET/CT studies. The data indicated that ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 was favorable over ^{64}Cu -PSMA-ALB-56 and ^{64}Cu -labeled PSMA ligands developed by other groups. However the high kidney uptake of ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 would be prohibitive for a therapeutic application with the matched-pair ^{67}Cu ($T_{1/2} = 61.8$ h, $E\beta_{\text{av}}^- = 141$ keV). As a result, a diagnostic PET radionuclide that can be stably coordinated with a DOTA chelator would be more favorable as it allowed using it for imaging purposes as a direct match to therapeutic PSMA radioligands. In this regard, we believe that ^{44}Sc would be of particular interest.

The aim of the project presented in chapter 5 was, therefore, to radiolabel PSMA-617 with ^{44}Sc ($T_{1/2} = 4.04$ h, $E\beta_{\text{av}}^+ = 632$ keV ($I = 94\%$); $E\gamma = 1157$ keV ($I = 100\%$)) in order to pre-clinically investigate its use as a diagnostic match to ^{177}Lu -PSMA-617 was labeled with cyclotron-produced ^{44}Sc , as well as with ^{177}Lu and ^{68}Ga . The obtained compounds ^{44}Sc -PSMA-617, ^{177}Lu -PSMA-617 and ^{68}Ga -PSMA-617 were tested in vitro and in vivo and compared to ^{68}Ga -PSMA-11. ^{44}Sc -PSMA-617 was prepared at excellent radiochemical purity (10 MBq/nmol, $>97\%$) and binding studies in PC-3PIP cells revealed similar properties to ^{177}Lu - and ^{68}Ga -labeled PSMA-617, as well as ^{68}Ga -PSMA-11 (55-70% after 4 h incubation). The overall tissue distribution of ^{44}Sc -PSMA-617 most closely resembled ^{177}Lu -PSMA-617, while ^{68}Ga -PSMA-617 and ^{68}Ga -PSMA-11 showed somewhat different distribution kinetics, as confirmed by PET imaging. ^{44}Sc -PSMA-617 enabled the visualization of PC-3PIP xenografts in mice with increasing tumor-to-background contrast over time. The almost four-fold longer half-life of ^{44}Sc as compared to ^{68}Ga would allow scanning over longer periods and a centralized production of ^{44}Sc -PSMA-617 with transport to distant PET centers lacking a cyclotron.

In chapter 6, we investigated radioisotopes that potentially allow a theragnostic application with PSMA-617. In vivo imaging studies of the PET radionuclide ^{152}Tb ($T_{1/2} = 17.5$ h, $E\beta_{\text{av}}^+ = 1140$ keV ($I = 20\%$)) with PSMA-617 demonstrated equal characteristics to its therapeutic match ^{149}Tb for targeted α -therapy ($T_{1/2} = 4.12$ h, $E\alpha = 3967$ keV ($I = 17\%$), $E\beta_{\text{av}}^+ = 740$ keV ($I = 7\%$)), as well as to the clinically used ^{177}Lu -PSMA-617. In a preclinical therapy study, we injected mice with two fractions of ^{149}Tb -PSMA-617 (2 x 3 MBq per mouse) and observed a median survival of ≥ 32 days, while mice treated with one dose (6 MBq per mouse) or saline had a median survival of 26 and 20 days, respectively. The data demonstrated the feasibility of using terbium with PSMA-617 for imaging and therapy of PCa.

A major drawback of small molecular PSMA ligands is an intense accumulation of radioactivity in salivary glands. The mechanism is not understood, but dose-limiting for a therapeutic application. In chapter 7, we investigated whether accumulation of PSMA-targeting radioligands in submandibular glands (SMG) correlates with PSMA expression levels. Expression of PSMA was investigated in biological samples of SMG and primary prostate cancer lesions by autoradiography using ^{177}Lu -PSMA-617 (ARG) and immunohistochemistry

(IHC) performed by a pathologist at UZH. The obtained data was then compared to PSMA-PET scans of PCa patients (as maximum standardized uptake value, SUV_{max}). PCa tissue revealed high PSMA staining intensity on ARG and IHC, which was in agreement with high uptake in PCa observed in patients undergoing ^{68}Ga -PSMA-11 PET scans (SUV_{max} 4.4-16). The SMG only displayed a minimal intensity on ARG, which was up to 17 times less than the signal observed on ARG of PCa tissue. This was confirmed by IHC where the staining intensity was 30 times less than the staining detected for PCa. The low signal intensity in ARG and IHC of SMG in contrast to the high uptake of radioligands in salivary glands (SUV_{max} 23.5 ± 5.2) seen on PET images confirmed that the uptake mechanism of PSMA-radioligands in salivary glands is not PSMA-mediated, but rather based on unspecific uptake mechanisms.

In conclusion, we demonstrated that small molecular weight PSMA radioligands could profit from an increased blood circulation time for therapeutic purposes and late-time imaging. The translational potential depends on whether an increased tumor uptake of PSMA radioligands will be confirmed in patients and whether it would result in a reduced uptake in salivary glands. The herein presented data also clearly supports future endeavors regarding the use of not yet clinically employed radionuclides to optimize the management of PCa patients.

ZUSAMMENFASSUNG

Das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) wird in der gesunden Prostata und in Prostatakarzinomen exprimiert. Die Expression korreliert mit dem Stadium des Prostatakrebses (PCa) und tritt beim metastasierten, kastrationsresistenten Prostatakrebs (mCRPC) häufiger auf. Dieses einzigartige Expressionsprofil, kombiniert mit einem begrenzten Auftreten in gesunden Organen, führte zur Entwicklung verschiedener Radiopharmaka, die gegen PSMA gerichtet sind. Das radioaktiv markierte Molekül ^{68}Ga -PSMA-11 bindet an PSMA und ist derzeit der am häufigsten eingesetzte Radiogand für die PET-Bildgebung von PCa-Patienten. In naher Zukunft wird es jedoch mit grosser Wahrscheinlichkeit von Verbindungen auf ^{18}F -Basis ersetzt oder zumindest ergänzt werden. Einer der vielversprechendsten PSMA-Radioliganden für die gezielte Radionuklidtherapie von mCRPC ist ^{177}Lu -PSMA-617, der mit einem DOTA-Chelator ausgestattet ist. ^{177}Lu -PSMA-617 erwies sich bei mehreren hundert Patienten als wirksam und wurde 2018 in klinische Phase-III-Studien aufgenommen.

Das Hauptziel dieser Arbeit war die Entwicklung von niedermolekularen PSMA-Radioliganden, welche sich im Tumorgewebe besser anreichern als die derzeit verfügbaren Radiopharmaka. Die Strategie bestand darin, die Blutzirkulationszeit von PSMA-Radioliganden durch Modifikationen mit Albumin-bindenden Einheiten zu verlängern. Dieses Konzept basierte auf früheren Studien unserer Gruppe, in denen mit Albumin-bindenden Radiofolaten ein erhöhtes Tumor-zu-Nieren Verhältnis erreicht werden konnte. Ziel war es ferner, exotische Radionuklide für die nukleare Bildgebung unter Verwendung der hier vorgestellten Verbindungen sowie mit bestehenden PSMA-Liganden zu testen.

In Kapitel 2 haben wir untersucht, ob PSMA-bindende Radioliganden von einer längeren Blutzirkulationszeit profitieren können. PSMA-ALB-02 wurde durch Konjugation einer PSMA-bindenden Glutamat-Urea-Sequenz mit einem DOTA-Chelator und einer Albumin-bindenden 4-(*p*-Iodophenyl)-Einheit konzipiert. Zusätzlich wurden zwei Liganden untersucht, bei welchen zwei (PSMA-ALB-05) oder drei D-Aspartate (PSMA-ALB-07) in die Molekülstruktur integriert wurden. Die Radiomarkierung mit ^{177}Lu ($T_{1/2} = 6.65$ d, $E_{\beta_{\text{av}}} = 134$ keV, $E_{\gamma} = 208$ keV (I = 10%), 113 keV (I = 6%)) resultierte in einem Produkt mit hoher spezifischer Aktivität und Reinheit (50 MBq/nmol, radiochemische Reinheit > 98%) das für mindestens 24 h stabil war (> 90%). In vitro Versuche basierend auf Ultrafiltration zeigten eine hohe Bindung der neuen PSMA-Liganden an Mausplasmaproteine (> 64%) und menschliche Plasmaproteine (> 94%). Studien zur Untersuchung der Aufnahme der neuen Radioliganden in PSMA-positive PC-3PIP- und PSMA-negative PC-3flu-Prostatakrebszellen zeigten eine PSMA-spezifische Aufnahme in vergleichbarem Ausmass wie ^{177}Lu -PSMA-617 (60-63% nach 4-stündiger Inkubation). In Biodistributionsstudien wurde eine verlängerte Blutzirkulationszeit

der Radioliganden beobachtet. Das Integral der Tumoraufnahme über die Zeit (Fläche unter der Kurve, «area under the curve» (AUC)) war für ^{177}Lu -PSMA-ALB-02, dem vielversprechendsten Radioliganden, um das 2-fache größer als beim ^{177}Lu -PSMA-617. Es wurden hohe Tumor-zu-Nieren- (~ 5.9) und Tumor-zu-Blut-Verhältnisse der AUCs (~ 46) ermittelt. Diese Werte waren jedoch aufgrund einer erhöhten Aufnahme von Radioaktivität im Blut und in den Nieren niedriger als für ^{177}Lu -PSMA-617 (37 und 71).

Um die Albumin-bindenden Moleküle weiter zu verbessern, wurden zwei weitere PSMA-Liganden entwickelt, die in Kapitel 3 beschrieben sind. Das Design dieser Liganden basierte auf der PSMA-bindenden Struktur und dem Chelator der ersten Studie, während die Albumin-bindende Einheit ersetzt wurde. Für die erste Verbindung (PSMA-ALB-53) wurde die zuvor verwendete 4-(*p*-Iodphenyl)-Struktur mit der ϵ -Aminogruppe eines D-Lysins gekoppelt, um einen stark an Albumin bindenden Liganden zu erhalten. Die Kupplung einer *p*-Tolyl-Einheit führte zu einem schwächeren Albumin-bindenden Molekül (PSMA-ALB-56). Die Affinität von ^{177}Lu -PSMA-ALB-53 an Blutserumproteine des Menschen und der Maus war rund zehnmal höher als es für ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 der Fall war, während die Aufnahme in PC-3PIP-Zelllinien vergleichbar war (55-59%, 4 h). Ähnlich wie PSMA-ALB-02 waren die AUCs für die Tumoraufnahme von ^{177}Lu -PSMA-ALB-53 und ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 im Vergleich zu ^{177}Lu -PSMA-617 mehr als doppelt so hoch. In Übereinstimmung mit der niedrigeren Albuminaffinität zeigte ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 eine schnellere Blut- und Nierenausscheidung als ^{177}Lu -PSMA-ALB-53. Basierend auf diesen Ergebnissen und den hervorragenden Eigenschaften für die SPECT-Bildgebung wurde ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 für eine vorklinische Therapiestudie ausgewählt, um die Wirkung mit jener von ^{177}Lu -PSMA-617 zu vergleichen. Bei gleicher Radioaktivität (5 MBq pro Maus) zeigte ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 deutlich bessere Antitumoreffekte als ^{177}Lu -PSMA-617 mit vollständiger Remission bei mehr als 50% der Mäuse. Das verringerte Tumorstadium spiegelte sich in einer erhöhten Überlebenszeit wider. Vier von sechs Mäusen, die mit ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 behandelt wurden, waren nach 84 Tagen bei guter Gesundheit (Ende der Studie), während alle Mäuse, die mit ^{177}Lu -PSMA-617 behandelt wurden, vor Tag 40 euthanasiert werden mussten. Diese Daten bestätigten die Überlegenheit von ^{177}Lu -PSMA-ALB-56 gegenüber dem klinisch eingesetzten ^{177}Lu -PSMA-617 in einer präklinischen Studie. Die erhöhte Tumoraufnahme der hier präsentierten Albumin-bindenden PSMA-Liganden ist von besonderem Interesse, da sie eine Radionuklidtherapie unter Verwendung geringerer Mengen oder einer reduzierten Anzahl an Injektionen von Radioaktivität ermöglichen kann. Die Modifikation der Linker-Struktur mit negativ geladenen Aminosäuren verbesserte die Pharmakokinetik nicht und wurde daher nicht weiter untersucht. Eine hohe Tumoraufnahme, wie sie bei Albumin-bindenden Radioliganden beobachtet wird, könnte auch für PET-Aufnahmen zu späten Zeitpunkten nach Injektion der jeweiligen Radiopharmaka von Interesse sein, um kleine Metastasen sichtbar zu machen. Das würde

allerdings die Anwendung von PET-Radionukliden mit längeren Halbwertszeiten als die des derzeit verwendeten ^{68}Ga erfordern ($T_{1/2} = 68 \text{ min}$, $E\beta_{\text{av}}^+ = 830 \text{ keV}$ ($I = 89\%$)). In Kapitel 4 wurde ein Molekül entworfen und untersucht, das auf PSMA-ALB-56 basierte, jedoch mit einem NODAGA-Chelator zur stabilen Koordination von ^{64}Cu ($T_{1/2} = 12.7 \text{ h}$, $E\beta_{\text{av}}^+ = 278 \text{ keV}$ ($I = 18\%$)) ausgestattet war. Das resultierende Molekül, PSMA-ALB-89, wurde mit ^{64}Cu markiert und in Analogie zu früheren Studien analysiert. Bioverteilungen in tumortragenden Mäusen zeigten eine hohe Akkumulation von ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 in PSMA-positiven PC-3PIP-Tumoren ($> 25.9\% \text{ IA/g}$, 1 h p.i.) mit einem signifikanten Anstieg über 24 Stunden ($> 97\% \text{ IA/g}$). Die hohe Nierenaufnahme von ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 ($> 36\% \text{ IA/g}$, 24 h p.i.) war unerwartet, jedoch zeigte die geringe Leberakkumulation eindeutig die hohe in vivo-Stabilität von ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 ($< 5\% \text{ IA/g}$, 4 h p.i.). Dies stand in deutlichem Gegensatz zur geringen in vivo-Stabilität des ^{64}Cu -DOTA-Komplexes von ^{64}Cu -PSMA-ALB-56, was durch eine erhöhte Radioaktivität in der Leber mittels Bioverteilungen ($> 25.3\% \text{ IA/g}$, 4 h p.i.) und PET/CT-Studien bestätigt werden konnte. Die Daten zeigten, dass ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 bessere Eigenschaften aufwies gegenüber ^{64}Cu -PSMA-ALB-56- und ^{64}Cu -markierten PSMA-Liganden, die von anderen Gruppen entwickelt wurden. Die hohe Nierenaufnahme von ^{64}Cu -PSMA-ALB-89 wäre jedoch nicht ideal für eine Anwendung mit dem therapeutischen Radioisotop ^{67}Cu ($T_{1/2} = 61.8 \text{ h}$, $E\beta_{\text{av}} = 141 \text{ keV}$). Folglich wäre ein diagnostisches PET-Radionuklid besser geeignet, das stabil mit einem DOTA-Chelator koordiniert werden kann. In dieser Hinsicht ist ^{44}Sc von besonderem Interesse. Ziel des in Kapitel 5 vorgestellten Projekts war es daher, PSMA-617 mit ^{44}Sc radioaktiv zu markieren ($T_{1/2} = 4.04 \text{ h}$, $E\beta_{\text{av}}^+ = 632 \text{ keV}$ ($I = 94\%$), $E\gamma = 1157 \text{ keV}$ ($I = 100\%$)), um seine Verwendung als diagnostisches Pendant zu ^{177}Lu vorklinisch zu untersuchen. Dazu wurde PSMA-617 sowohl mit ^{44}Sc , welches an einem Zyklotron hergestellt wurde, als auch mit ^{177}Lu und ^{68}Ga radioaktiv markiert. Die erhaltenen Verbindungen ^{44}Sc -PSMA-617, ^{177}Lu -PSMA-617 und ^{68}Ga -PSMA-617 wurden in vitro und in vivo getestet und mit ^{68}Ga -PSMA-11 verglichen. ^{44}Sc -PSMA-617 konnte mit einer hohen radiochemischen Reinheit (10 MBq/nmol , $> 97\%$) hergestellt werden und zeigte in Studien mit PC-3PIP Zellen ähnliche Eigenschaften wie ^{177}Lu - und ^{68}Ga -PSMA-617 sowie ^{68}Ga -PSMA-11 ($55\text{-}70\%$ nach 4 h Inkubation). Die Bioverteilung von ^{44}Sc -PSMA-617 in Mäusen war beinahe identisch mit ^{177}Lu -PSMA-617, während ^{68}Ga -PSMA-617 und ^{68}Ga -PSMA-11 teilweise eine unterschiedliche Verteilung zeigten, wie durch PET-Bildgebung bestätigt wurde. ^{44}Sc -PSMA-617 ermöglichte die Visualisierung von PC-3PIP-Tumoren in Mäusen mit zunehmendem Kontrast. Die fast vierfach längere Halbwertszeit von ^{44}Sc im Vergleich zu ^{68}Ga würde das Scannen über längere Zeiträume und eine zentralisierte Produktion mit einem Transport in entfernte PET Zentren ohne Zyklotron ermöglichen.

In Kapitel 6 haben wir Radionuklide untersucht, die eine theragnostische Anwendung mit PSMA-617 ermöglichen. In vivo-Bildgebungsstudien des PET-Radionuklids ^{152}Tb ($T_{1/2} = 17.5$

h, $E\beta_{av}^+ = 1140 \text{ keV}$ ($I = 20\%$) mit PSMA-617 zeigten gleiche Charakteristika wie das klinisch verwendete ^{177}Lu -PSMA-617. Gleiche Beobachtungen wurden gemacht mit dem therapeutische Radionuklid ^{149}Tb ($T_{1/2} = 4.12 \text{ h}$, $E\alpha = 3967 \text{ keV}$ ($I = 17\%$), $E\beta_{av}^+ = 740 \text{ keV}$ ($I = 7\%$)), welches für die zielgerichtete α -Therapie mit PSMA-617 geeignet wäre. In einer präklinischen Therapiestudie injizierten wir Mäusen zwei Fraktionen von ^{149}Tb -PSMA-617 ($2 \times 3 \text{ MBq}$ pro Maus) und beobachteten ein mittleres Überleben von ≥ 32 Tagen, während Mäuse, die mit nur einer Injektion ^{149}Tb -PSMA-617 (6 MBq pro Maus) oder mit einer Salzlösung behandelt wurden, eine mittlere Überlebenszeit von nur 26 bzw. 20 Tagen hatten. Die Daten zeigten deshalb eindeutig, dass Terbium mit PSMA-617 für die Bildgebung und Therapie von PCa verwendet werden kann.

Ein Nachteil von kleinemolekularen PSMA-Radioliganden ist deren intensive Aufnahme in den Speicheldrüsen. Der Mechanismus ist weitgehend unbekannt, aber begrenzt die verabreichbare Dosis für eine therapeutische Anwendung. In Kapitel 7 haben wir untersucht, ob die Anreicherung von PSMA-bindenden Radioliganden in den submandibulären Drüsen (SMG) mit dem PSMA-Expressionsniveau korreliert. Die Expression von PSMA wurde in biologischen Proben von SMG und primärem Prostatakrebsgewebe durch Autoradiographiestudien mit ^{177}Lu -PSMA-617 und mittels Immunohistochemie, die von einem Pathologen der UZH durchgeführt wurde, untersucht. Die erhaltenen Daten wurden dann mit PSMA-PET-Scans von Patienten (als maximaler standardisierter Aufnahmewert, SUV_{max}) verglichen. PCa-Gewebe zeigte eine hohe Färbungsintensität in Autoradiographie- und Immunohistochemiestudien, was mit der hohen Aufnahme in primärem Prostatakrebs in Patienten übereinstimmte ($\text{SUV}_{\text{max}} 4.4\text{-}16$ in ^{68}Ga -PSMA-11-PET-Scans). Im Vergleich zu PCa-Gewebe zeigten Autoradiographien von SMG nur eine minimale, bis zu 17-mal niedrigere Intensität. Diese Resultate wurden durch Studien mittels Immunohistochemie bestätigt, wo die Intensität sogar 30-mal geringer war als die festgestellte Färbung für PCa-Gewebe. Die niedrige Signalintensität in Autoradiographie- und Immunohistochemiestudien von SMG stand im Gegensatz zu der hohen Aufnahme von Radioliganden in Speicheldrüsen (PET-Bilder, $\text{SUV}_{\text{max}} 23.5 \pm 5.2$). Dadurch wurde bestätigt, dass der Aufnahmemechanismus von PSMA-Radioliganden in Speicheldrüsen nicht durch PSMA vermittelt ist, sondern auf einen unspezifischen Aufnahmemechanismus zurückzuführen ist.

Zusammenfassend haben wir gezeigt, dass niedrigmolekulare PSMA-Radioliganden für therapeutische Zwecke und die Bildgebung zu späten Zeitpunkten von einer längeren Blutzirkulationszeit profitieren können. Das Potential für eine klinische Anwendung hängt davon ab, ob eine erhöhte Tumoraufnahme von PSMA-liganden bei Patienten bestätigt wird, und ob dies zu einer verminderten Aufnahme in den Speicheldrüsen führt. Die hier präsentierten Daten unterstützen auch zukünftige Bemühungen hinsichtlich der Verwendung von noch nicht klinisch eingesetzten Radionukliden zur Optimierung der Behandlung von PCa-Patienten.