

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6370785号
(P6370785)

(45) 発行日 平成30年8月8日 (2018.8.8)

(24) 登録日 平成30年7月20日 (2018.7.20)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00	Z N A
A 6 1 K	47/50	(2017.01)	A 6 1 K	47/50	
A 6 1 K	47/42	(2017.01)	A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/34	(2017.01)	A 6 1 K	47/34	
A 6 1 P	13/08	(2006.01)	A 6 1 P	13/08	

請求項の数 26 (全 86 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-527444 (P2015-527444)
(86) (22) 出願日	平成25年3月15日 (2013.3.15)
(65) 公表番号	特表2015-532641 (P2015-532641A)
(43) 公表日	平成27年11月12日 (2015.11.12)
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/032200
(87) 国際公開番号	W02014/028057
(87) 国際公開日	平成26年2月20日 (2014.2.20)
審査請求日	平成28年3月14日 (2016.3.14)
(31) 優先権主張番号	61/683,305
(32) 優先日	平成24年8月15日 (2012.8.15)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	508064849
	ビセン メディカル、 インコーポレイテッド
	アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォーザン, ウィンター ストリート 940
(74) 代理人	100078282
	弁理士 山本 秀策
(74) 代理人	100113413
	弁理士 森下 夏樹
(74) 代理人	100181674
	弁理士 飯田 貴敏
(74) 代理人	100181641
	弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

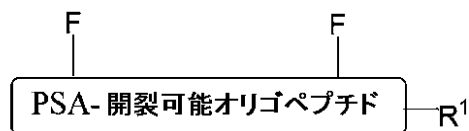
(54) 【発明の名称】 前立腺がんイメージングのための前立腺特異的抗原薬剤およびその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I I :

【化 3 4】



(II)

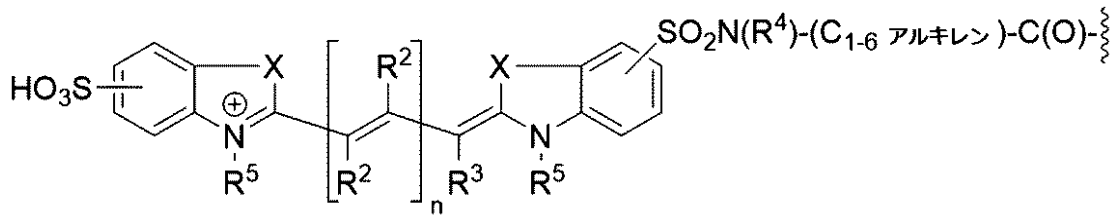
(式中、

R¹ は、 - (C₁ ~ 6 アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール、または - (C₁ ~ 6 アルキレン) - N (R^{*}) C (O) - (C₁ ~ 6 アルキレン) - N (- (C₁ ~ 6 アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール) C (O) - (C₁ ~ 6 アルキレン) - メトキシポリエチレングリコールであり、

R^{*} は、水素または非置換 C₁ ~ 6 アルキルであり、

F が、以下の構造式：

【化 3 8】



(式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルを表すか、または2つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にになって、5員または6員の炭素環式環を形成し、

R^3 は、水素もしくは非置換 C_{1-6} アルキルであるか、または R^3 および隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にになって、5員もしくは6員の炭素環式環を形成し、

R^4 は、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

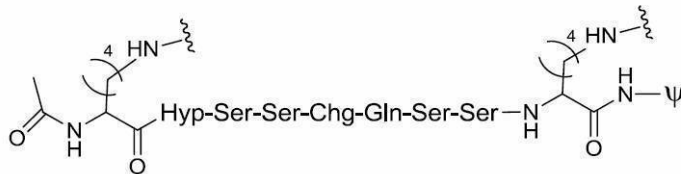
M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、

n は、1、2または3であり、

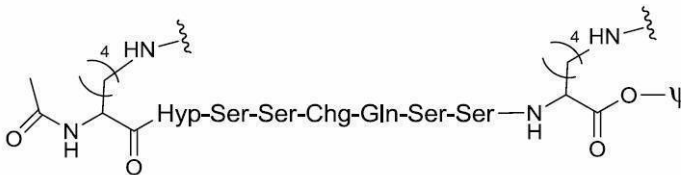
X は、 $C(CH_3)_2$ または $C(CH_2CH_3)_2$ である)

を表し、該 PSA 開裂可能オリゴペプチドは、

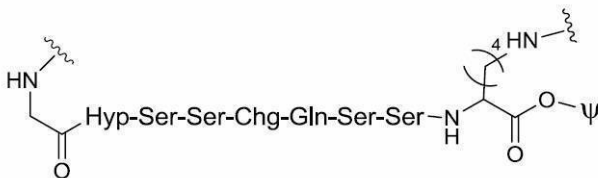
【化 3 7 - 1】



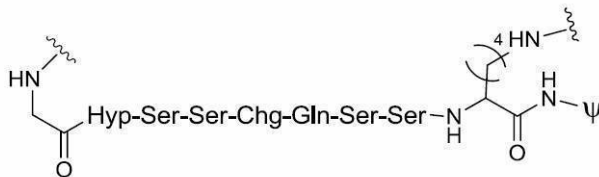
(配列番号 14),



(配列番号 19),



(配列番号 32)または



(配列番号 33)

の1つであり、ここで、 は、 R^1 への共有結合である)

によって表される前立腺特異的抗原 (PSA) 活性化可能薬剤またはその塩。

【請求項 2】

10

20

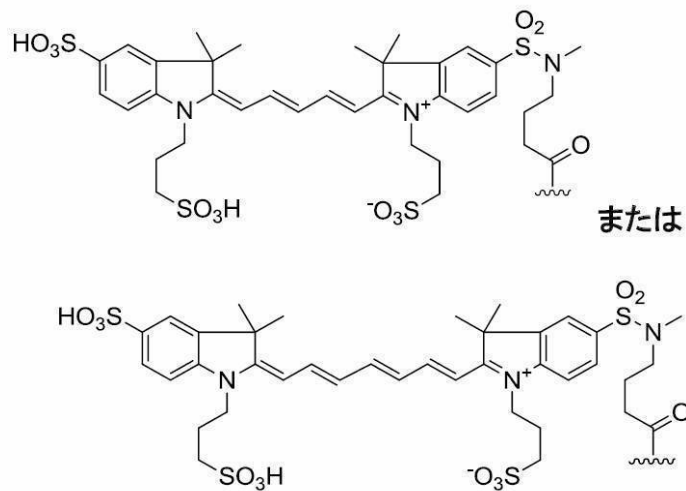
30

40

50

F が、以下の構造式：

【化 3 9 - 1】



10

によって表される、請求項 1 に記載の薬剤。

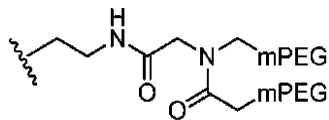
【請求項 3】

R^1 が - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - N (R^*) C (O) - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - N (- ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール) C (O) - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコールである、請求項 1 に記載の薬剤。 20

【請求項 4】

R^1 が、

【化 4 4】



30

である、請求項 1 に記載の薬剤。

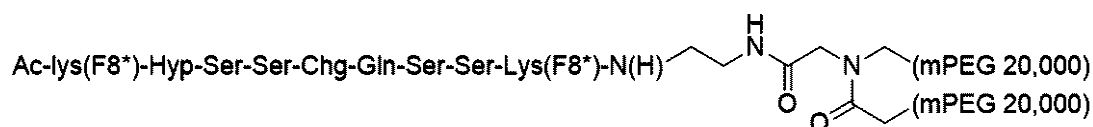
【請求項 5】

R^1 が 40 k D a である、請求項 1 に記載の薬剤。

【請求項 6】

A 1 0 および A 1 2 の薬剤またはその塩であって、該 A 1 0 の薬剤が、

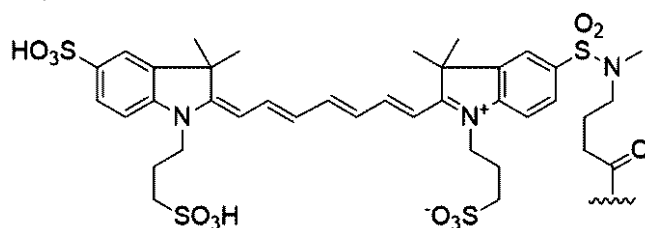
【化 4 6】




40

(配列番号 4 5) であり、F 8 ^{*} が、

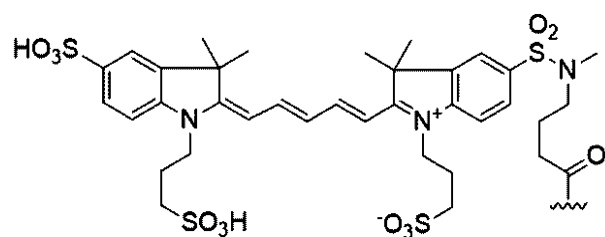
【化 4 7】



によって表される蛍光団であり、そして該 A 1 2 の薬剤が、

F2*-Gly-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F2*)-N(H) 

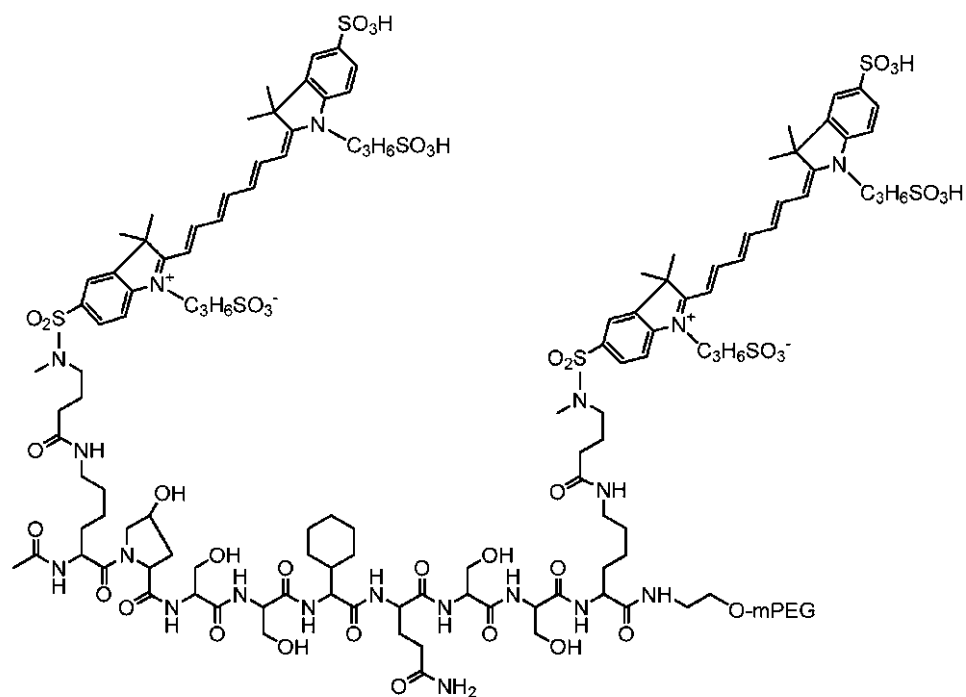
【化 4 9】



【請求項 7】

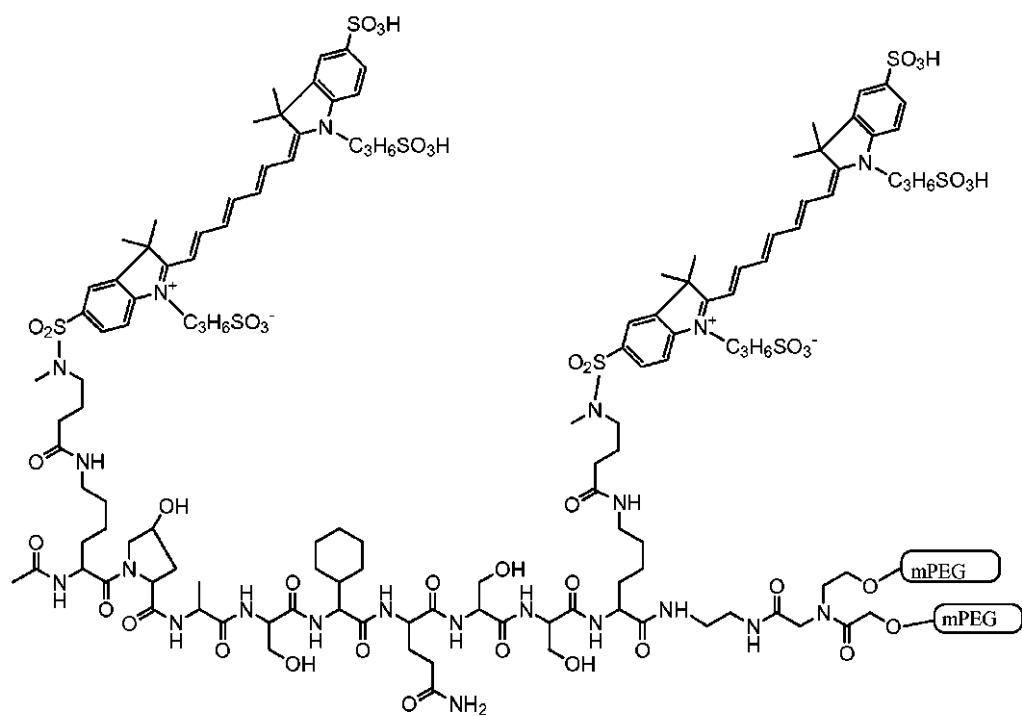
以下またはその塩：

【化 4 5 - 1】



10

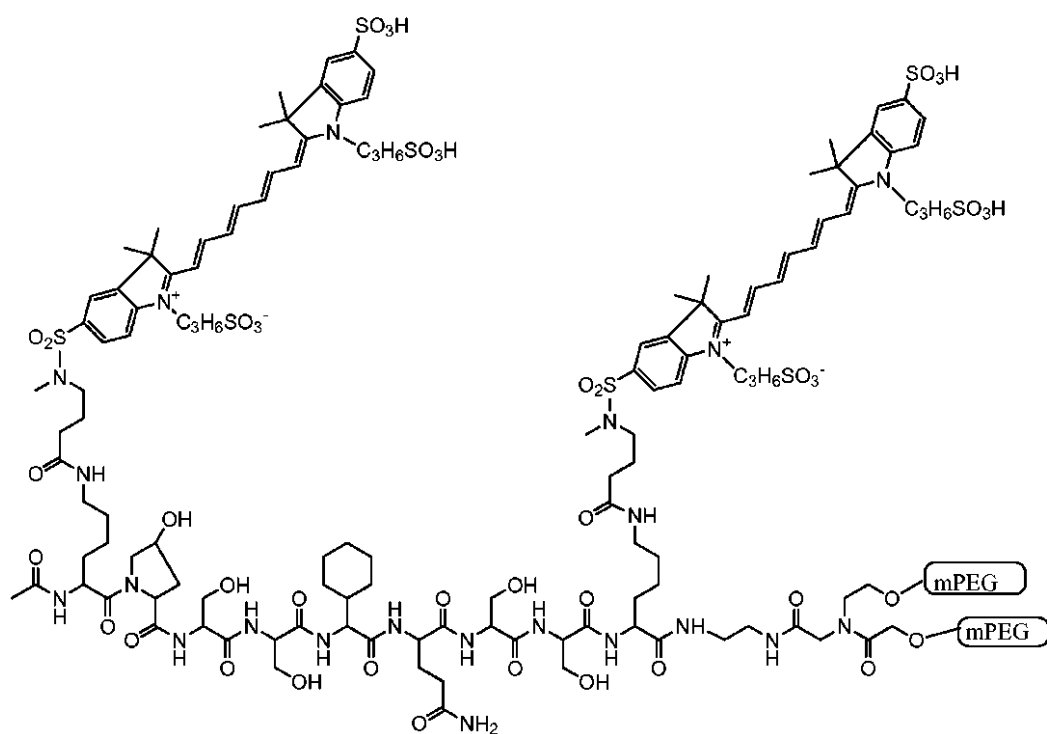
20



30

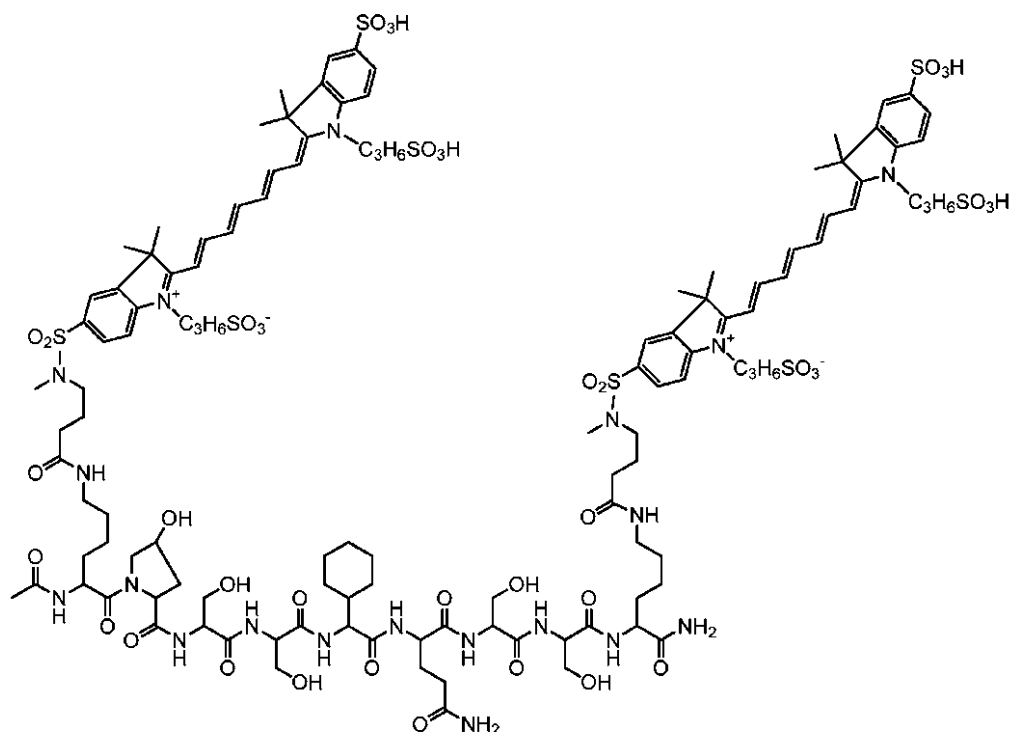
40

【化 4 5 - 2】



10

20



30

40

の 1 つである、請求項 1 に記載の薬剤。

【請求項 8】

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 9】

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤を含む、*in vivo* イメージングの方

50

法において使用するための組成物であって、該組成物は、被験体に投与されることを特徴とし、該方法は、

(a) 前記薬剤が前記被験体内に分布するのを可能にすること；および

(b) 前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む、組成物。

【請求項 10】

(a) 請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤を含む、*in vivo* 光学イメージングの方法において使用するための組成物であって、該薬剤は、蛍光色素を含み、該組成物は、被験体に投与されることを特徴とし、該方法は、

(a) 前記薬剤が前記被験体内に分布するのを可能にすること；

(b) 前記蛍光色素によって吸収可能な波長の光に前記被験体を曝露すること；および

(c) 前記薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む、組成物。

【請求項 11】

前記薬剤によって放出される前記シグナルが、画像を構築するために使用される、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記画像が断層撮影画像である、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

ステップ (a) ~ (b) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に前記被験体における前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の前記放出シグナルの評価を可能にする、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 14】

ステップ (a) ~ (c) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に前記被験体における前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の前記放出シグナルの評価を可能にする、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記被験体が動物またはヒトである、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 16】

シグナル特性が互いに区別可能である 2 つまたは 2 つより多くのイメージングプローブが被験体に投与され、前記イメージングプローブの少なくとも 1 つが前立腺特異的抗原活性化可能薬剤であることを特徴とする、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 17】

ステップ (b) および (c) が、内視鏡機器、カテーテル、断層撮影システム、携帯用光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して行われる、請求項 10 に記載の組成物。

【請求項 18】

放出シグナルの存在、非存在またはレベルが疾患状態を示す、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記方法が疾患を検出および / またはモニタリングするために使用される、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記疾患が、異形成、新形成およびがんからなる群から選択される、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

前記組成物は、前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤で標識された細胞を含む、請求項 9 または 10 に記載の組成物。

【請求項 22】

前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルが、前記細胞の輸送および局在化をモニタリングするために使用される、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 23】

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤を含む、被験体において前立腺がんをイメージングする方法において使用するための組成物であって、該組成物は、被験体に投与されることを特徴とし、該方法は、

(a) 前記薬剤の存在を検出すること；

(b) 前記酵素的に活性な前立腺特異的抗原を表す画像を生成し、それによって、前立腺がんの存在をイメージングすること

を含む、組成物。

10

【請求項 24】

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤を含む、被験体における疾患を処置するための組成物であって、前記薬剤が、前記疾患領域において局所化するとともに有効量の放射線を送達する放射標識を含む組成物。

【請求項 25】

(a) 請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤と試料とを接触させること；

(b) 前記薬剤が生物学的標的に結合するのを可能にすること；および

(c) 前記薬剤から放出されるシグナルを検出することで、前記薬剤が前記生物学的標的によって活性化したかまたはそれに結合されているかを決定すること、

を含む *in vitro* イメージングの方法。

20

【請求項 26】

前記試料が生物学的試料である、請求項 25 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願に対する相互参照)

本願は、その全体が参考として本明細書により援用されている、2012年8月15日に出願された、米国仮特許出願第61/683,305号明細書に対する利益および優先権を主張する。

【0002】

30

(発明の分野)

本発明は、被験体における前立腺がんを検出するための組成物および方法を提供する。組成物は、一般に、前立腺特異的抗原ターゲティング部分、および蛍光団であり得るイメージングレポーターを含有する。

【背景技術】

【0003】

(背景)

ある特定の疾患における分子エンドポイントを判定するための現在の手法は、通常、組織および血液のサンプリング、外科手術、ならびに実験動物の場合においては、異なる時点での屠殺を必要とする。非侵襲的イメージングにおける改善にもかかわらず、より感受性のおよび特異的なイメージング剤および方法が必要とされる。特異的分子標的を可視化できるイメージング技術および/または全経路は、多くの異なる疾患状態について治療的介入の処置効力を診断および判定するという我々の能力を有意に増強する。最新のイメージング技術は、主に、解剖学的または生理学的情報について報告する(例えば、磁気共鳴画像法(MRI)、コンピューター断層撮影(CT)および超音波)。より新たなモダリティ、例えば光学イメージングおよび新たな分子イメージングプローブは、疾患が検出、処置およびモニタリングされるやり方を改革するための潜在性を有する。

40

【0004】

分子イメージングのための共通のパラダイムは、特別な遺伝子、タンパク質、受容体または細胞機能を選択的にターゲティングする「分子」プローブまたは薬剤の使用を伴い、

50

特異的標的の非存在、存在またはレベルは、特別な疾患状態を示す。特に、光学イメージングは、研究調査および臨床の両方の状況において、それを強力な分子イメージング手法にするいくつかの利点を提供する。光学イメージングは、迅速、安全、費用効果的および高感度であり得る。走査時間は、秒から分の桁であり、イオン化放射線の必要性がなく、イメージングシステムは使用するのに単純であり得る。加えて、光学プローブは、*in vivo*でのそれらの報告プロファイルを変えることで分子のおよび機能的の情報をリアルタイムで提供することができる動的分子イメージング剤として設計することができる。*in vivo*での最大の侵入性および感受性を達成するために、生物系における最も光学的なイメージングのための選択は、赤外および近赤外（NIR）スペクトル領域（600 ~ 900 nm）内であるが、可視領域における他の波長も使用することができる。NIR波長範囲において、ヘモグロビンまたは水、および組織自己蛍光などの生理的に豊富な吸収体による吸収は最小化される。

10

【0005】

前立腺がんは、世界におけるがん関連死の第6の主要な原因であり、それは合衆国におけるがん関連死の第2の主要な原因である。前立腺がんは、男性生殖器系の腺である前立腺において発達する。それは攻撃的であり得る一方で、大部分の形態は、ゆっくりと成長するがんである。がんの転移または拡散は、骨およびリンパ節など、身体他の部分において生じ得る。前立腺がんは、排尿困難、頻尿、夜間排尿の増加、血尿、排尿時痛、勃起機能不全、性交問題および疼痛などの症状を引き起こす恐れがある。

【0006】

20

前立腺特異的抗原（PSA）は、前立腺の細胞によって産生されるタンパク質である。PSAは、最初に同定された前立腺抗原であり、前立腺癌の診断、モニタリングおよび生命予後のための最初の腫瘍マーカーになった。前立腺特異的抗原は、現在検討中の新規な活性および受動免疫療法のための分子標的として役立つ。

【0007】

PSAは、前立腺の外側の組織において有意なレベルで見出されることはない。通常の条件下で、高濃度のPSAは、前立腺管網に貯蔵される。前立腺がん細胞による前立腺または遠位部位における正常組織構造の破壊は、組織間質および次いで循環へのPSAの増加した量の漏出を引き起こす。

【0008】

30

PSAは、前立腺がんについてスクリーニングするために使用されるが、患者の血清PSAレベルが単独で、良性の前立腺状態を前立腺の実際のがんと区別するための十分な情報を提供することはない。さらに、治療のための標的としてのPSAの使用に関して、いくつかの課題がある。第1に、それは血清において高濃度で分泌されるとともに存在する。これは、治療剤または診断剤ががん細胞を結合するかまたはがん細胞に進入することができる前に腫瘍細胞に対するターゲティングを遮断する恐れがある。第2に、PSAは、ホルモン抵抗性がんにおいて、より低いレベルで発現される。

【0009】

有効な前立腺がんスクリーニングに対する1つの複雑さは、PSAタンパク質の複数の形態の存在である。前立腺内で、ペプチダーゼは、未成熟PSAタンパク質からアミノ酸配列を除去することで、PSAタンパク質の成熟した酵素的に活性な形態を創出する。酵素的に活性なPSAは、前立腺組織中だけに存在する。PSAの酵素的に不活性な変異体は、未成熟タンパク質が適正にプロセッシングされない場合に創出される。標準的診断試験は、PSAの酵素的に活性な形態と不活性な形態との間で区別しない。少量の酵素的に活性なPSAは、前立腺管網から循環中に漏出する。PSAの酵素的に活性な形態の高い血清レベルだけが前立腺がん中に見出される。循環すると、活性PSAは、血清プロテアーゼ阻害剤アルファ-1-抗キモトリプシン（ACT）との複合体を形成し、一方、酵素的に不活性な形態は、非結合のままである。合わせた計は、循環中に測定することができる低いレベルに寄与する。複合化された（およびそのため酵素的に活性な）PSAの高いレベルは、がんの存在を示す可能性が高い。PSAの酵素的に活性な形態のターゲティ

40

50

ングは、より信頼できる前立腺がん診断に至る。

【 0 0 1 0 】

がんからの長期生存は、早期の検出および処置に高く依存する。異常な前立腺組織と対比して健康な前立腺組織におけるタンパク質発現の異なるパターンを検出するための能力は、がんに至り得る早期の前立腺変化を分類するのに役立ち得る。成熟した前立腺特異的抗原のレベルを、より正確におよび効果的に検出および定量化するための能力は、前立腺がんの病変形成および生命予後の理解における、ならびに最も適切な処置レジメンの決定における助けとなる。

本発明は、例えば、以下を提供する。

(項目 1)

10

a . 酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列を含む前立腺特異的抗原ターゲティング部分；および

b . 該前立腺特異的抗原ターゲティング部分に、任意選択によりリンカー (L) 部分を介して、化学的に連結されている、消光剤を有するまたは有さない 2 つまたは 2 つより多くの蛍光団部分、および

c . 該前立腺特異的抗原ターゲティング部分に化学的に連結されている任意選択の改質剤、 M

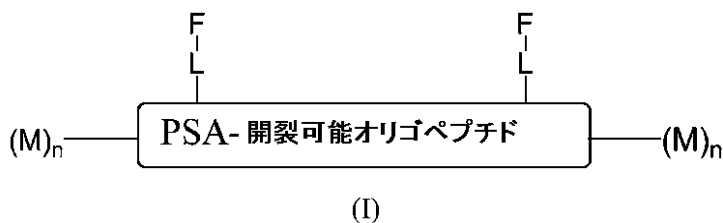
を含む前立腺特異的抗原 (P S A) 活性化可能薬剤。

(項目 2)

前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が、式 (I) またはその塩：

20

【 化 3 1 】



(式中、

30

F は、近赤外蛍光団または消光剤であり、

L は、結合またはリンカーであり、

M は、オリゴペプチドの C 末端もしくは N 末端のいずれかまたは両方に結合している改質剤であり、

n は、独立して、0 または 1 を表し、但し、少なくとも 1 つの M が存在する)

によって表される、項目 1 に記載の薬剤。

(項目 3)

前記蛍光団または消光剤が、複数の化学修飾性部分を保有する、項目 1 または 2 に記載の薬剤。

(項目 4)

40

P S A によって活性化されると、遠赤外または近赤外の波長において蛍光性である、項目 1 から 3 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 5)

前記 P S A 開裂可能オリゴペプチドが、以下のオリゴペプチド：

a . A c - L y s - H y p - S e r - S e r - C h g - G l n - S e r - S e r - L y s - N H ₂ (配列番号 1)

b . G l y - H y p - A l a - S e r - C h g - G l n - S e r - S e r - L y s - N H ₂ (配列番号 2)

c . G l y - H y p - A l a - S e r - C h g - G l n - S e r - S e r - L y s (配列番号 3)

50

d . Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 4)

e . Ac - Lys - Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 5)

f . Ac - Lys - Hyp - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 6)

g . Gly - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 7)

h . Ac - Lys - Ala - Ser - Phe - Gln - Ser - Leu - Lys (配列番号 9)

i . Hyp - Ser - Chg - Gln - Ser - Lys (配列番号 10)

j . Ac - Lys - Hyp - Ser - Ser - Phe - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 11)

k . Gly - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号 12)

の 1 つのラジカルである、項目 2 に記載の薬剤。

(項目 6)

M が、水素、スルホネート、ポリスルホネート、スルホンアミド、スルホキシド、スルホン、カルボキシレート、ケトン、ホスホネート、ホスフェート、イミノジアセテート、またはアルコール、システイン酸、アミン、エチレンジアミン四酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、テトラアザシクロドデカン四酢酸、アミノ酸もしくはポリアミノ酸、オリゴ-もしくはポリエチレングリコール、第 4 級アンモニウムイオン、糖、グルコサミン、ガラクトサミン、マンノサミン、ポリエチレングリコール (PEG)、分岐ポリプロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ-リシンおよびメトキシポリエチレングリコールのグラフトコポリマー、ペプチド、脂質、脂肪酸、パルミテート、リン脂質、リン脂質-PEG コンジュゲート、炭水化物、ポリビニルピロリドン、酸化鉄ナノ粒子、ナフチルアラニン、フェニルアラニン、3, 3 - ジフェニルプロピルアミン、タウリン、ホスホネート、ホスフェート、カルボキシレートもしくはポリカルボキシレートのラジカルである、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 7)

L が、グリシン、アラニン、 α -アラニン、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-$ (式中、n は 1 から 8 の整数である)、4 - アミノメチル安息香酸、システイン酸、グルタミン酸、アミノ-ポリエチレングリコール-カルボン酸、アミノ-ポリエチレングリコールアミン、エチレンジアミン、プロピレンジアミン、スペルミジン、スペルミン、ヘキサレンジアミン、ジアミン-アミノ酸、ホモリシン、リシン、オルニチン、ジアミノ酪酸、ジアミノプロピオン酸、コハク酸、グルタル酸、スベリン酸、アジピン酸、アミド、トリアゾール、尿素およびチオ尿素からなる群から選択される部分のジラジカルである、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 8)

前記化学改質剤 (単数または複数) M が、生きた動物に投与される場合に前記薬剤の薬物動態を改善する、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 9)

一緒になった F - L が、式 B または C によって表され、ここで、式 B が、

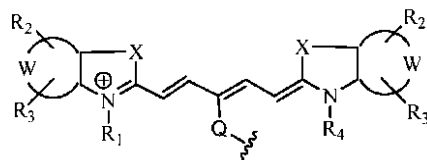
10

20

30

40

【化 3 2】



(B)

またはその塩（式中、

Xは、独立して、 $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、SおよびSeからなる群から選択され、

Y_1 および Y_2 は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基、および $-OR^*$ 、 $N(R^*)$ または $-SR^*$ で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基からなる群から選択され、

Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

R^* は、アルキルであり、

R_1 は、 $-(CH_2)_xCH_3$ 、 $-(CH_2)_nSO_3^-$ 、および $-(CH_2)_nSO_3H$ からなる群から選択され、ここで、xは、0から6から選択される整数であり、nは、2から6から選択される整数であり、

R_4 は、 $-(CH_2)_xCH_3$ 、 $-(CH_2)_nSO_3^-$ 、および $-(CH_2)_nSO_3H$ からなる群から選択され、ここで、xは、0から6から選択される整数であり、nは、2から6から選択される整数であり、

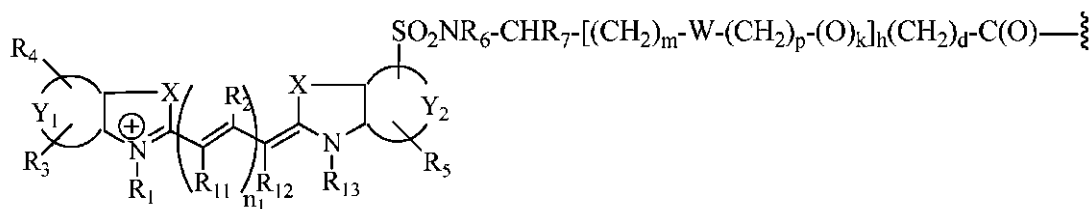
R_2 および R_3 は、独立して、H、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、アルコキシル、スルホン酸部分、およびスルホネート部分からなる群から選択され、

Qは、 $-アリーレン-C(O)N(R^{**})-(C_{1-8}アルキレン)C(O)-$ であり、ここで、該アリーレン基は、式Bのアルケニレンコアに共有結合によって結合されており、

R^{**} は、水素またはアルキルである）

によって表され、式Cが、

【化 3 3】



(C)

またはその塩（式中、

Xは、独立して、 $C(CH_2K_1)(CH_2K_2)$ 、O、SおよびSeからなる群から選択され、

K_1 および K_2 は、独立して、Hもしくは $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族であるか；または K_1 および K_2 は一緒に、置換または非置換の炭素環式環または複素環式環の一部であり、

Y_1 および Y_2 は、各々独立して、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環であり、

n_1 は、1、2または3であり、

R_2 、 R_{11} および R_{12} は、独立して、H、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、アリーロキシ、アリール、スルホネート、イミニウムイオンであるか、または任意の2つの隣

10

20

30

40

50

接する R_{12} および R_{11} 置換基は、組み合わせあって、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ハロゲン、または - S - アルキルによって 1 回または複数回任意選択により置換されている 4 員、5 員または 6 員の炭素環式環を形成し、

R_1 および R_{13} は、 x が 0 から 6 から選択される整数である場合、 $-(CH_2)_x CH_3$ であり；または R_1 および R_{13} は、 n が 2 から 6 から選択される整数である場合、独立して $-(CH_2)_n SO_3^-$ または $-(CH_2)_n SO_3 H$ であり、

R_3 、 R_4 および R_5 は、独立して、H、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、アルコキシル、スルホン酸部分、およびスルホネート部分からなる群から選択され、

R_6 は、非置換 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族、非置換アリール、または非置換アルキルアリールであり、

R_7 は、H、非置換 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族、非置換アリールもしくは非置換アルキルアリールであり、式中、 R_7 はハロゲンで任意選択により置換されており；または

R_6 および R_7 は、一緒になって、ハロゲンで任意選択により置換されている 4 員、5 員、6 員または 7 員の複素環式環を形成し、

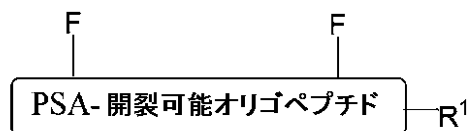
W は、存在しないか、または $-SO_2 NR_6 - Q - CHR_7 -$ 、 $-O -$ 、 $-C(O)O -$ 、および $-C(O)N(H) -$ からなる群から選択される基であり、

$h = 0 \sim 70$ ； $k = 0$ または 1 ； $d = 0 \sim 12$ ； $m = 0 \sim 12$ ； $p = 0 \sim 12$ である）によって表される、項目 2 に記載の薬剤。

(項目 10)

式 I I：

【化 3 4】



(II)

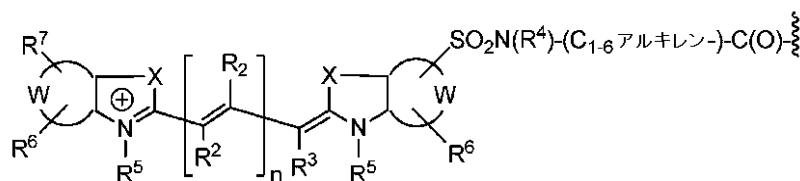
またはその塩（式中、

R^1 は、水素、 $-(C_1 \sim 6 \text{ アルキレン}) -$ メトキシポリエチレングリコール、または $-(C_1 \sim 6 \text{ アルキレン}) - N(R^*)C(O) - (C_1 \sim 6 \text{ アルキレン}) - N(- (C_1 \sim 6 \text{ アルキレン}) - \text{メトキシポリエチレングリコール})C(O) - (C_1 \sim 6 \text{ アルキレン}) - \text{メトキシポリエチレングリコール}$ であり、

R^* は、水素または非置換 $C_1 \sim 6$ アルキルであり、

F は、出現する毎に独立して、構造式 I I a または I I b：

【化 3 5】



(IIa)

を表し、

式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素もしくは非置換 $C_1 \sim 6$ アルキルを表すか、または

10

20

30

40

50

2つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の炭素環式環を形成し、

R^3 は、水素もしくは非置換 C_{1-6} アルキルであるか、または R^3 および隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の炭素環式環を形成し、

R^4 は、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

R^6 および R^7 は各々、出現する毎に独立して、水素、 $-SO_3 H$ 、または $-SO_3^- M^+$ を表し、

Mは、一価のカチオンであるか、または存在せず、

nは、1、2または3であり、

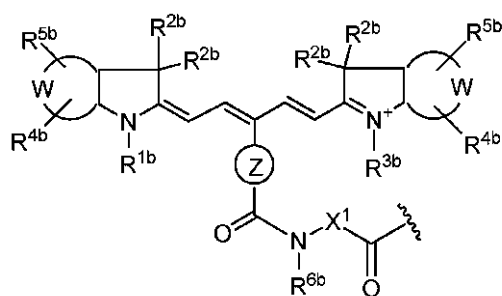
Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

Xは、出現する毎に独立して、 $C(CH_2 Y_1)(CH_2 Y_2)$ 、O、またはSを表し、

Y_1 および Y_2 は、独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

式 I I bは、

【化36】



(IIb)

によって表され、

式中、

R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

R^{2b} は各々、出現する毎に独立して、メチル、エチルまたはプロピルを表し、

R^{4b} および R^{5b} は各々、出現する毎に独立して、水素、 $-SO_3 H$ 、または $-SO_3^- M^+$ を表し、

R^{6b} は、水素または C_{1-6} 非置換アルキルであり、

Mは、一価のカチオンであるか、または存在せず、

Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

Zは、アリーレンであり、

X^1 は、非置換 C_{1-8} アルキレンであり、

該PSA開裂可能オリゴペプチドは、

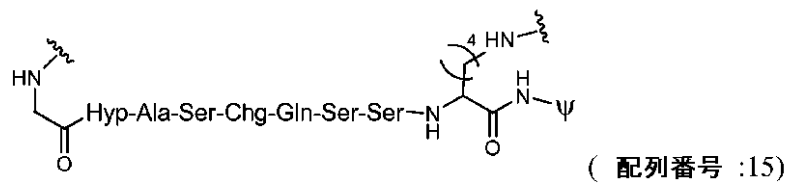
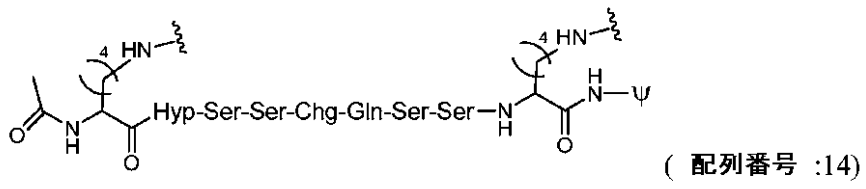
10

20

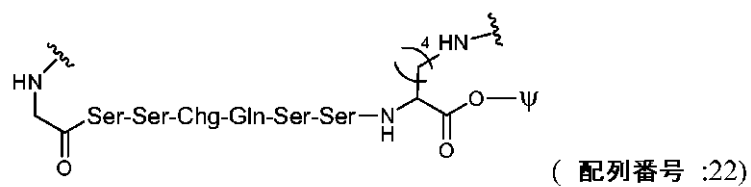
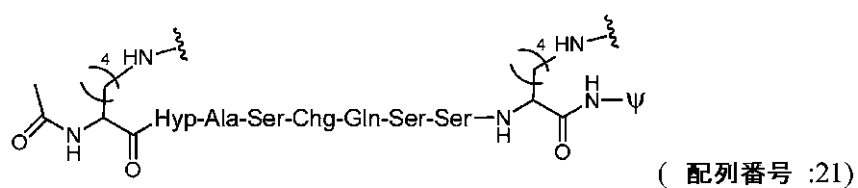
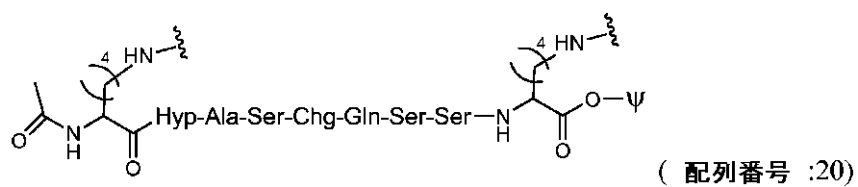
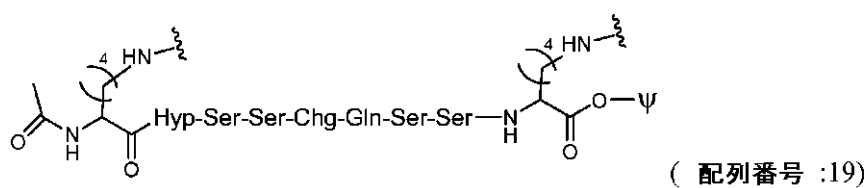
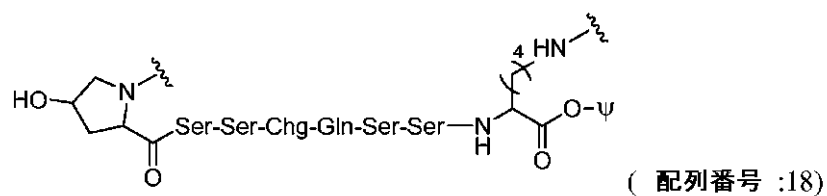
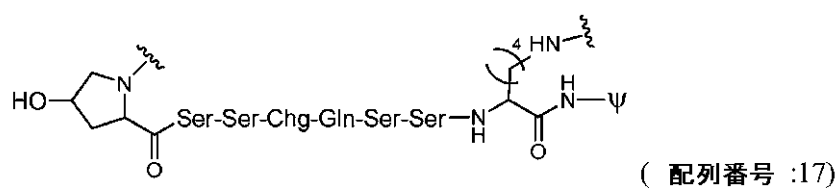
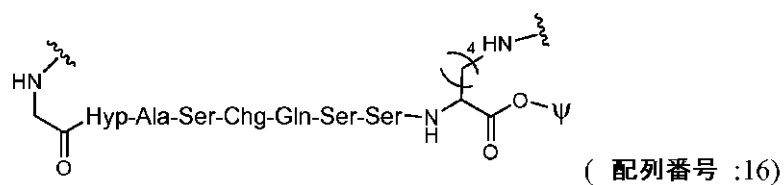
30

40

【化 3 7 - 1】



【化 3 7 - 2】



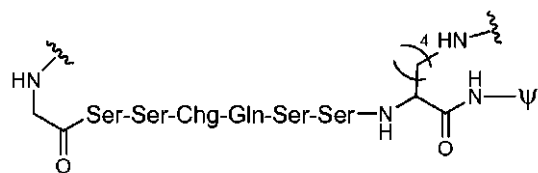
10

20

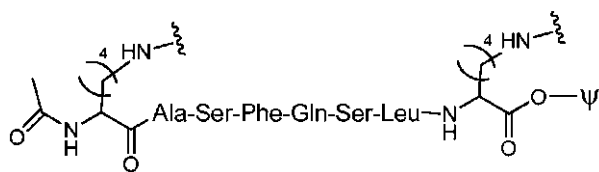
30

40

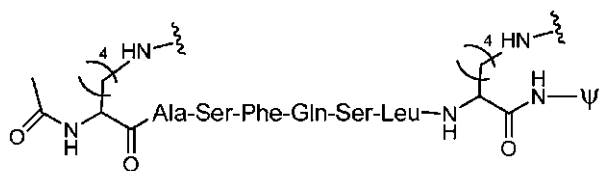
【化 3 7 - 3】



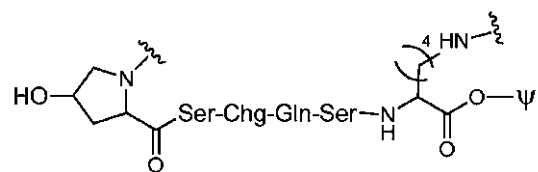
(配列番号 :23)



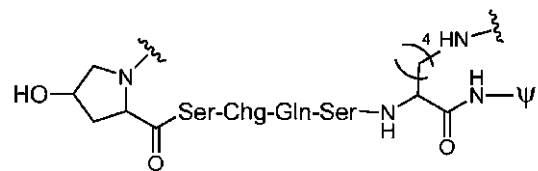
(配列番号 :24)



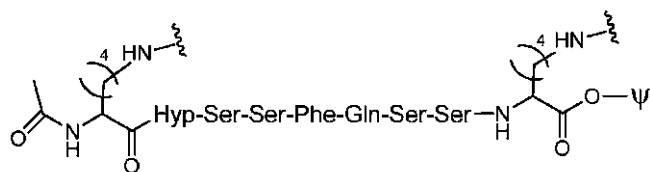
(配列番号 :25)



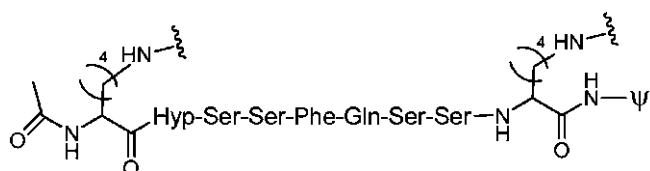
(配列番号 :26)



(配列番号 :27)



(配列番号 :28)



(配列番号 :29)

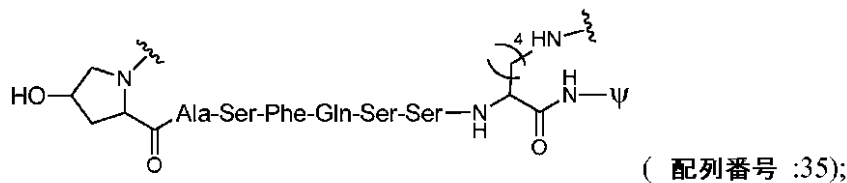
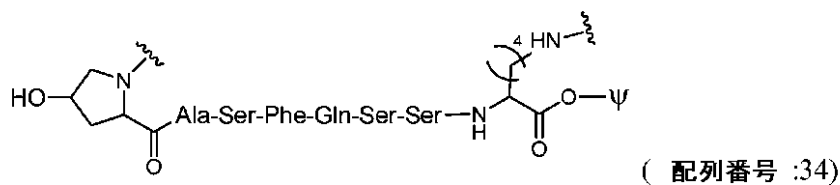
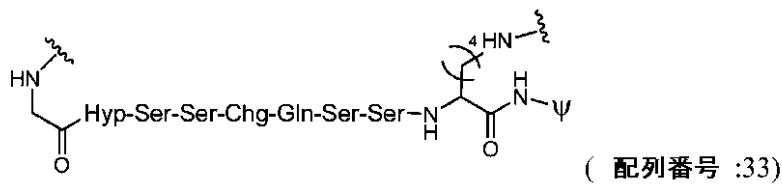
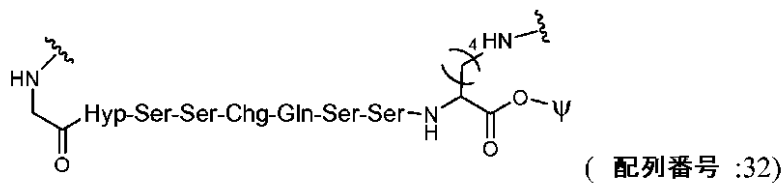
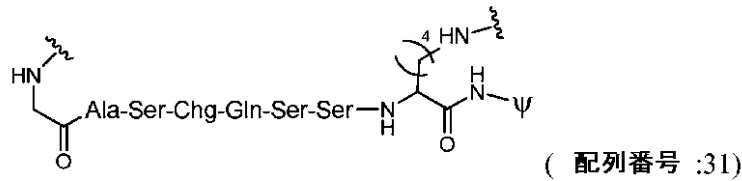
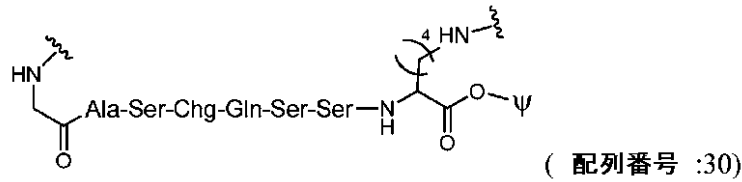
10

20

30

40

【化 3 7 - 4】



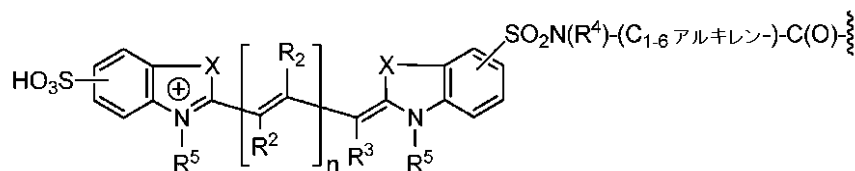
の 1 つであり、ここで、 R^1 は、 R^1 への共有結合である)
 によって表される前立腺特異的抗原 (P S A) 活性化可能薬剤。
 (項目 1 1)

F が構造式 I I a によって表される、項目 1 0 に記載の薬剤。
 (項目 1 2)

W がベンゾ縮合環を表す、項目 1 1 に記載の薬剤。
 (項目 1 3)

F が、以下の構造式：

【化 3 8】



10

20

30

40

50

(式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素または非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキルを表すか、または2つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の炭素環式環を形成し、

R^3 は、水素もしくは非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキルであるか、または R^3 および隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員もしくは6員の炭素環式環を形成し、

R^4 は、水素または非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキル - $SO_3^- M^+$ または非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキル - $SO_3 H$ を表し、

Mは、一価のカチオンであるか、または存在せず、

nは、1、2または3であり、

Xは、 $C(CH_3)_2$ または $C(CH_2CH_3)_2$ である)

によって表される、項目10に記載の薬剤。

(項目14)

R^2 および R^3 が水素である、項目10から13のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目15)

R^4 がメチルである、項目10から14のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目16)

nが2または3である、項目10から15のいずれか一項に記載の薬剤。

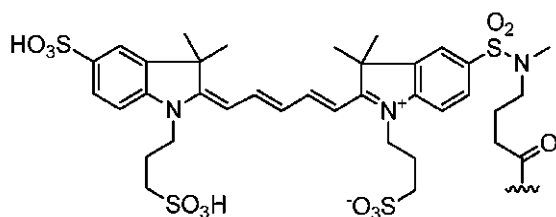
(項目17)

Xが $C(CH_3)_2$ である、項目10から16のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目18)

Fが、以下の構造式：

【化39-1】

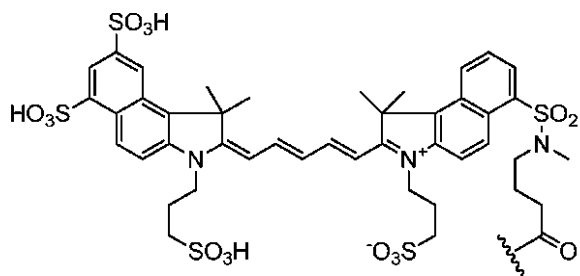


10

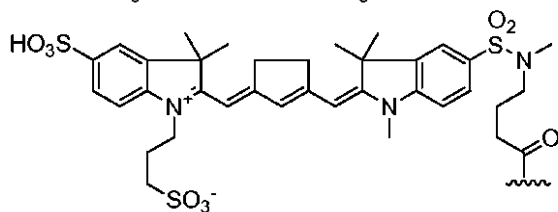
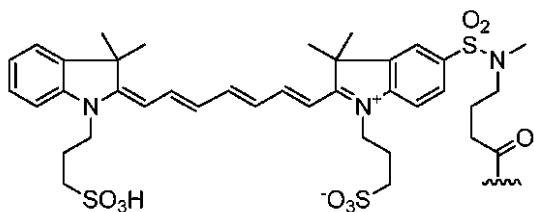
20

30

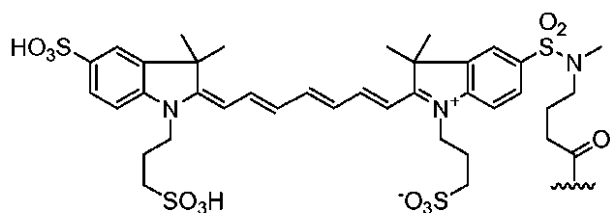
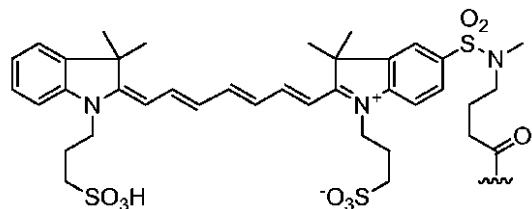
【化 3 9 - 2】



10



20



30

の 1 つによって表される、項目 1 0 に記載の薬剤。

(項目 1 9)

F が構造式 I I b によって表される、項目 1 0 に記載の薬剤。

(項目 2 0)

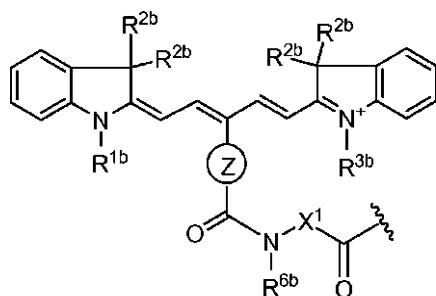
W がベンゾ縮合環を表す、項目 1 9 に記載の薬剤。

(項目 2 1)

F が、以下の構造式：

40

【化 4 0】



10

(式中、

R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

R^{2b} は、出現する毎に独立して、メチルまたはエチルを表し、

R^{6b} は、水素またはメチルであり、

M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、

Z は、アリーレンであり、

X^1 は、非置換 C_{1-6} アルキレンである)

によって表される、項目 10 に記載の薬剤。

20

(項目 22)

R^{1b} および R^{3b} が各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表す、項目 19 から 21 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 23)

R^{2b} がメチルである、項目 19 から 22 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 24)

R^{6b} が水素である、項目 19 から 23 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 25)

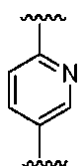
Z が 6 員の複素芳香族ジラジカルである、項目 19 から 24 のいずれか一項に記載の薬剤。

30

(項目 26)

Z が、

【化 4 1】



40

である、項目 19 から 24 のいずれか一項に記載の薬剤。

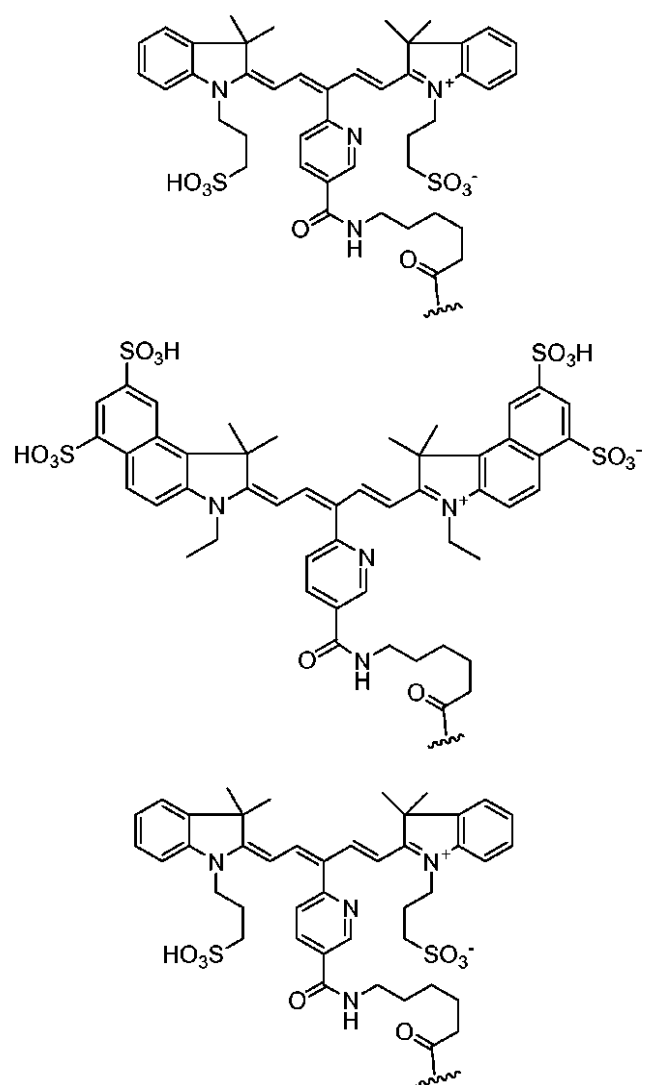
(項目 27)

X^1 が - $(CH_2)_4$ -、- $(CH_2)_5$ -、または - $(CH_2)_6$ - である、項目 19 から 26 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 28)

F が、以下の構造式：

【化 4 2】



10

20

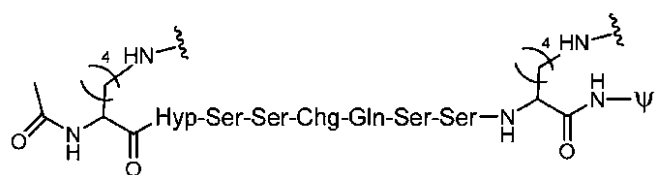
30

の 1 つによって表される、項目 10 に記載の薬剤。

(項目 29)

前記 P S A 開裂可能オリゴペプチドが、

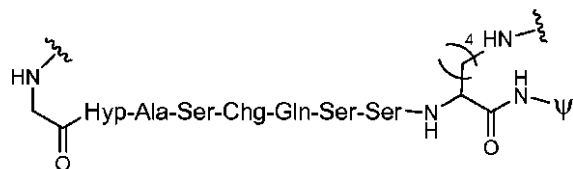
【化 4 3 - 1】



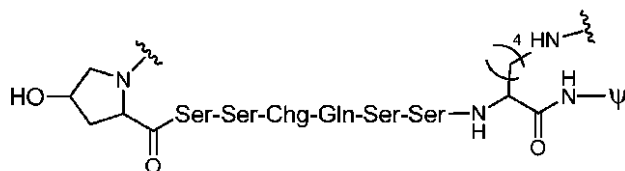
40

(配列番号 :14)

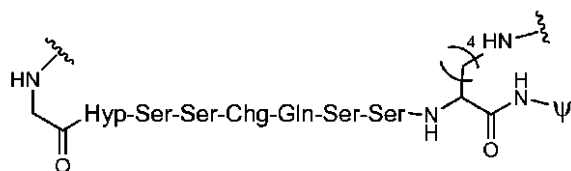
【化 4 3 - 2】



(配列番号 :15)



(配列番号 :17)



(配列番号 :33)

の 1 つである、項目 1 0 から 2 8 のいずれか一項に記載の薬剤。

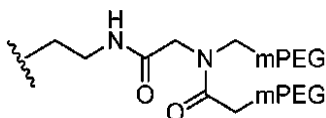
(項目 3 0)

R^1 が - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - N (R^*) C (O) - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - N (- ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール)) C (O) - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコールである、項目 1 0 から 2 9 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 3 1)

R^1 が、

【化 4 4】



である、項目 1 0 から 2 9 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 3 2)

前記メトキシポリエチレングリコールが、約 5 , 0 0 0 g / m o l から約 3 0 , 0 0 0 g / m o l の重量平均分子量を有する、項目 1 0 から 3 1 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 3 3)

前記メトキシポリエチレングリコールが、約 2 0 , 0 0 0 g / m o l の重量平均分子量を有する、項目 1 0 から 3 1 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 3 4)

R^1 が水素である、項目 1 0 から 2 9 のいずれか一項に記載の薬剤。

(項目 3 5)

前記薬剤は表 4 中の薬剤またはその塩の 1 つである、項目 1 に記載の薬剤。

(項目 3 6)

以下またはその塩：

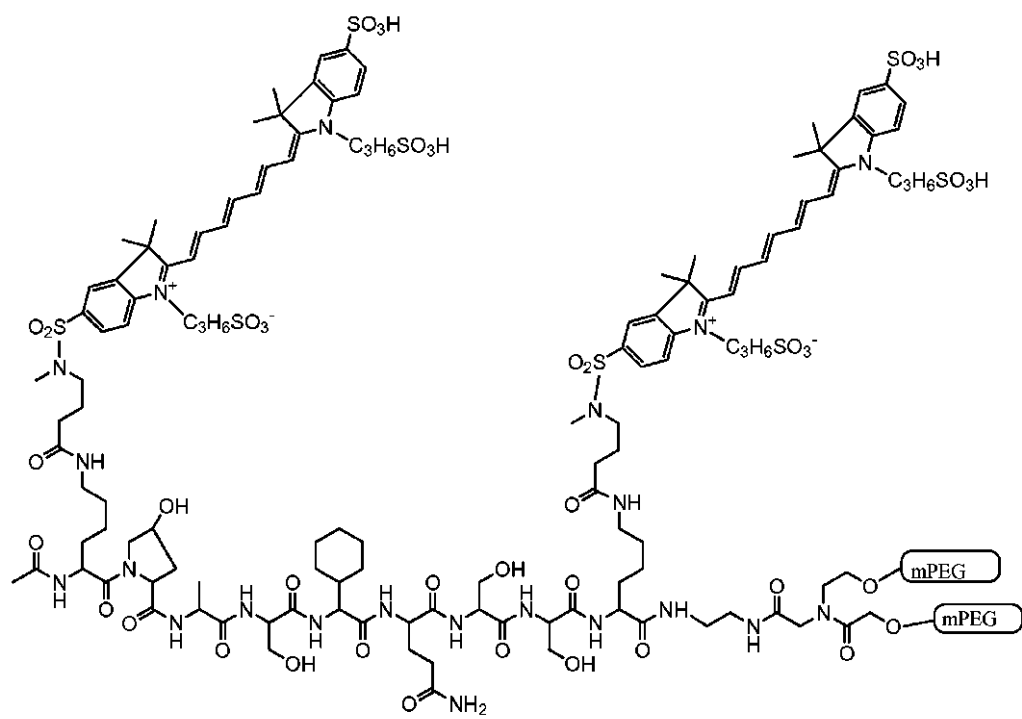
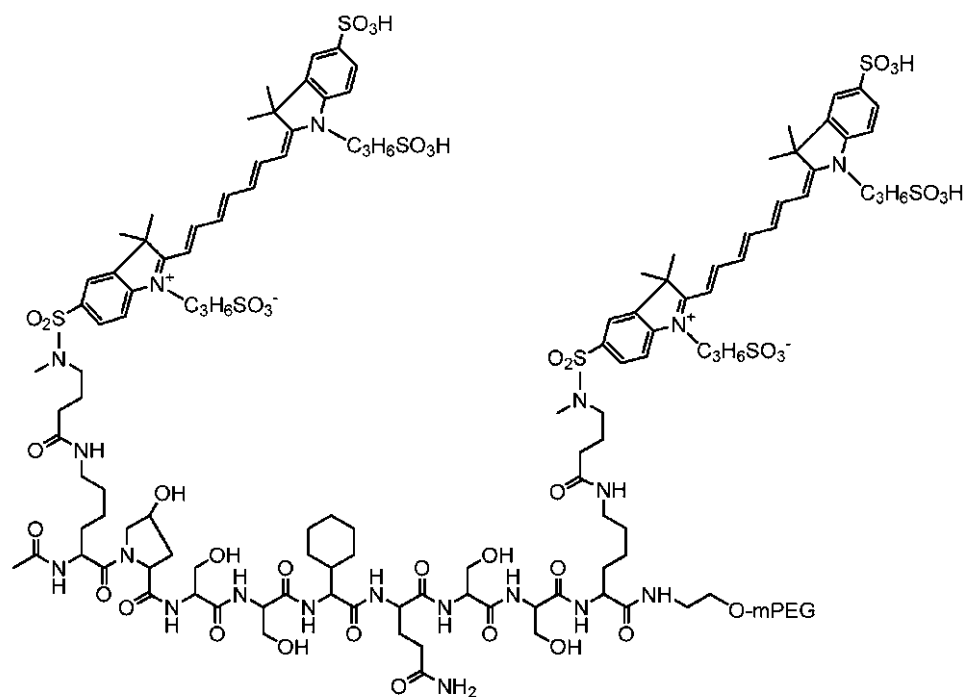
10

20

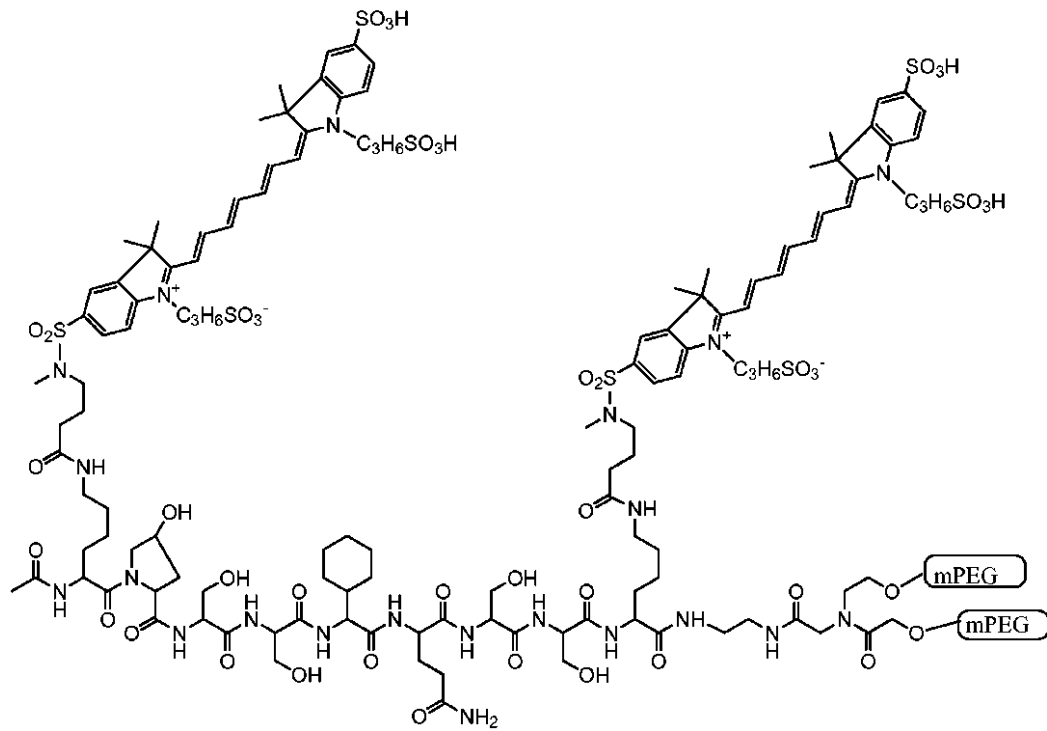
30

40

【化 4 5 - 1】

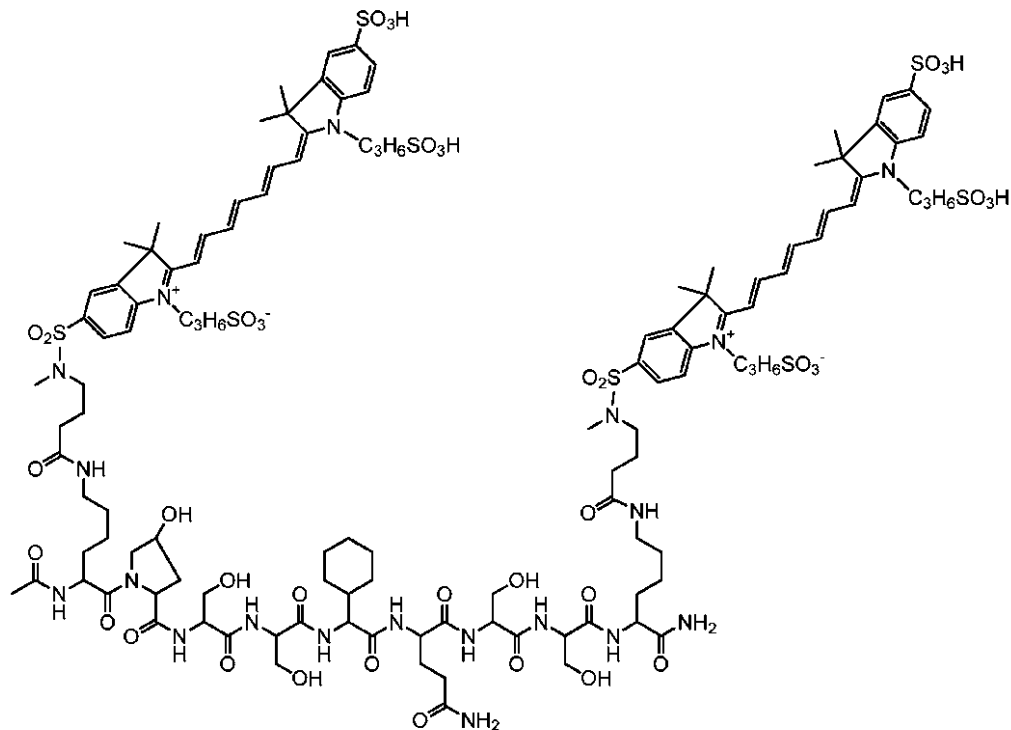


【化 4 5 - 2】



10

20



30

40

の 1 つである、項目 1 に記載の薬剤。

(項目 3 7)

項目 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の薬剤および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

(項目 3 8)

(a) 項目 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の薬剤を被験体に投与すること；

50

(b) 前記薬剤が前記被験体内に分布するのを可能にすること；および
(c) 前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出すること
を含む in vivo イメージングの方法。

(項目 39)

(a) 項目 1 から 36 のいずれか一項に記載の薬剤を被験体に投与すること（該薬剤は
蛍光色素を含む）；

(b) 前記薬剤が前記被験体内に分布するのを可能にすること；

(c) 前記蛍光色素によって吸収可能な波長の光に前記被験体を曝露すること
；および

(d) 前記薬剤によって放出されるシグナルを検出すること
を含む in vivo 光学イメージングの方法。

10

(項目 40)

前記薬剤によって放出される前記シグナルが、画像を構築するために使用される、項目
38 または 39 に記載の方法。

(項目 41)

前記画像が断層撮影画像である、項目 38 または 39 に記載の方法。

(項目 42)

ステップ (a) ~ (c) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に前記被
験体における前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の前記放出シグナルの評価を可能にす
る、項目 38 に記載の方法。

20

(項目 43)

ステップ (a) ~ (d) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に前記被
験体における前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の前記放出シグナルの評価を可能にす
る、項目 39 に記載の方法。

(項目 44)

前記被験体が動物またはヒトである、項目 38 または 39 に記載の方法。

(項目 45)

ステップ (a) において、シグナル特性が互いに区別可能である 2 つまたは 2 つより多
くのイメージングプローブが被験体に投与され、前記イメージングプローブの少なくとも
1 つが前立腺特異的抗原活性化可能薬剤である、項目 38 または 39 に記載の方法。

30

(項目 46)

前記照射および検出ステップが、内視鏡機器、カテーテル、断層撮影システム、携帯用
光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して行われる、項目 38 に記載の方
法。

(項目 47)

放出シグナルの存在、非存在またはレベルが疾患状態を示す、項目 38 または 39 に記
載の方法。

(項目 48)

前記方法が疾患を検出および / またはモニタリングするために使用される、項目 38 ま
たは 39 に記載の方法。

40

(項目 49)

前記疾患が、異形成、新形成およびがんからなる群から選択される、項目 48 に記載の
方法。

(項目 50)

ステップ (a) において、前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤で標識された細胞が前
記被験体に投与される、項目 38 または 39 に記載の方法。

(項目 51)

前記前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルが、前記細胞の輸送
および局在化をモニタリングするために使用される、項目 50 に記載の方法。

(項目 52)

50

(a) 項目 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の薬剤を被験体に投与すること ; および (b) 前記薬剤の存在を検出すること ;

(c) 前記酵素的に活性な前立腺特異的抗原の代表的な画像を生成し、それによって、前立腺がんの存在をイメージングすること

を含む、被験体における前立腺がんをイメージングする方法。

(項目 5 3)

項目 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の薬剤を被験体に投与することを含む、被験体における疾患を処置する方法であって、前記薬剤が、前記疾患領域において局所化するとともに有効量の放射線を送達する放射標識を含む方法。

(項目 5 4)

(a) 項目 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の薬剤と試料とを接触させること ;

(b) 前記薬剤が生物学的標的に結合するのを可能にすること ; および

(c) 前記薬剤から放出されるシグナルを検出することで、前記薬剤が前記生物学的標的によって活性化したかまたはそれに結合されているかを決定すること、

を含む *in vitro* イメージングの方法。

(項目 5 5)

前記試料が生物学的試料である、項目 5 4 に記載の方法。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

本発明は、酵素的に活性な前立腺特異的抗原だけによって活性化される蛍光イメージング剤を提供し、これらの薬剤は、以下に限定されないが、前立腺がんのためのスクリーニングを含めて、様々な *in vitro* および *in vivo* の用途において使用することができる。さらに、ヒトにおける前立腺がんの *in vivo* イメージングに特別有用である遠赤外または近赤外の領域において、活性化されると蛍光性である薬剤 / リガンドが提供される。加えて、薬剤の *in vitro* 特性および *in vivo* 特性の最適化のために使用することができる複数の化学修飾性基によって修飾された遠赤外または近赤外の蛍光団を独立して含有する薬剤が提供される。

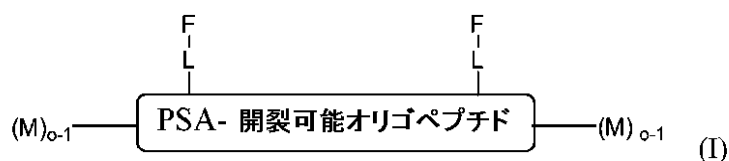
【 0 0 1 2 】

したがって、本発明の一態様は、(i) 酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列を含む前立腺特異的抗原ターゲティング部分 ; (i i) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分に、任意選択によりリンカー (L) 部分を介して、化学的に連結されている 2 つまたは 2 つより多くのイメージングレポーター部分 ; および (i i i) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分に化学的に連結されている任意選択の薬物動態学的 (P K) 改質剤を含む前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を提供する。ある特定の実施形態において、イメージングレポーターは蛍光部分である。さらに他の実施形態において、イメージングレポーターは複数の化学修飾性部分を保有する。

【 0 0 1 3 】

ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、式 (I) またはその塩 :

【化 1】



(式中、F は、蛍光団または消光剤分子であり、L は、結合またはリンカーであり、M は、オリゴペプチドの C 末端もしくは N 末端のいずれかまたは両方に結合している改質剤である)

によって表される。

【 0 0 1 4 】

ある特定の実施形態において、薬剤は、前立腺特異的抗原によって活性化されると、遠赤外または近赤外の波長において蛍光性である。

【 0 0 1 5 】

ある特定の実施形態において、P S A開裂オリゴペプチドは、表1にリストされているオリゴペプチドのラジカルである。

【表1】

表1. 例示的な酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列

オリゴペプチド	配列番号
Ac-Lys-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys-NH ₂	1
Gly-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys-NH ₂	2
Gly-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	3
Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	4
Ac-Lys-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	5
Ac-Lys-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	6
Gly-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	7
Gly-Ser-Ser-Phe-Gln-Ser-Ser-Lys	8
Ac-Lys-Ala-Ser-Phe-Gln-Ser-Leu-Lys	9
Hyp-Ser-Chg-Gln-Ser-Lys	10
Ac-Lys-Hyp-Ser-Ser-Phe-Gln-Ser-Ser-Lys	11
Gly-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	12
Gly-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys	13

【 0 0 1 6 】

ある特定の実施形態において、Mは、水素、アルコール、スルホネート、ポリスルホネート、システイン酸、スルホンアミド、スルホキシド、スルホン、カルボキシレート、ケトン、ホスホネート、ホスフェート；イミノジアセテート、エチレンジアミン四酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、テトラアザシクロドデカン四酢酸、アミノ酸またはポリアミノ酸、オリゴまたはポリエチレングリコール、アミン、第4級アンモニウムイオン、糖類、グルコサミン、ガラクトサミン、マンノサミン、ポリエチレングリコール（PEG）およびその誘導体、例えば、アルコキシポリエチレングリコール（例えば、メトキシポリエチレングリコール、エトキシポリエチレングリコールなど）、分岐ポリプロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ-リシンおよびメトキシポリエチレングリコールのグラフトコポリマー、ペプチド、脂質、脂肪酸、パルミテート、リン脂質、リン脂質-PEGコンジュゲート、炭水化物（デキストラン、アミノ-デキストラン、カルボキシメチル-デキストランなど）、ポリビニルピロリドン、酸化鉄ナノ粒子、ナフチルアラニン、フェニルアラニン、3,3-ジフェニルプロピルアミン、タウリン、ホスホネート、ホスフェート、カルボキシレートならびにポリカルボキシレートからなる群から選択される。

【 0 0 1 7 】

ある特定の実施形態において、結合またはリンカー（L）部分は、グリシン、アラニン、-アラニン、-NH-（CH₂）_n-C（=O）-（式中、n=1~8である）、4-アミノメチル安息香酸、システイン酸、グルタミン酸、アミノ-ポリエチレングリコール-カルボン酸、アミノ-ポリエチレングリコールアミン、エチレンジアミン、プロピレンジアミン、スペルミジン、スペルミン、ヘキサレンジアミン、およびジアミン-アミノ酸、例えばホモリシン、リシン、オルニチン、ジアミノ酪酸およびジアミノプロピオン酸、

コハク酸、グルタル酸、スベリン酸、アジピン酸、アミド、トリアゾール、尿素またはチオ尿素からなる群から選択される部分の二価ラジカルを含む。

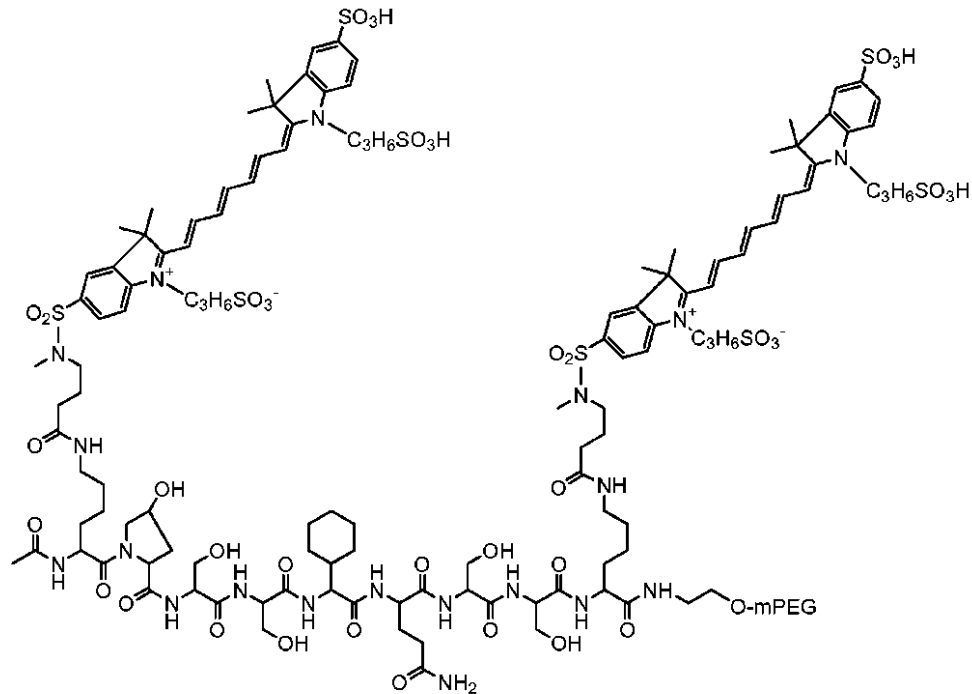
【 0 0 1 8 】

ある特定の実施形態において、化学改質剤（単数または複数）Mは、生きた動物に投与されると、薬剤の安定性、薬物動態または体内分布を改善する。

【 0 0 1 9 】

ある特定の実施形態において、化合物は、以下もしくはその塩：

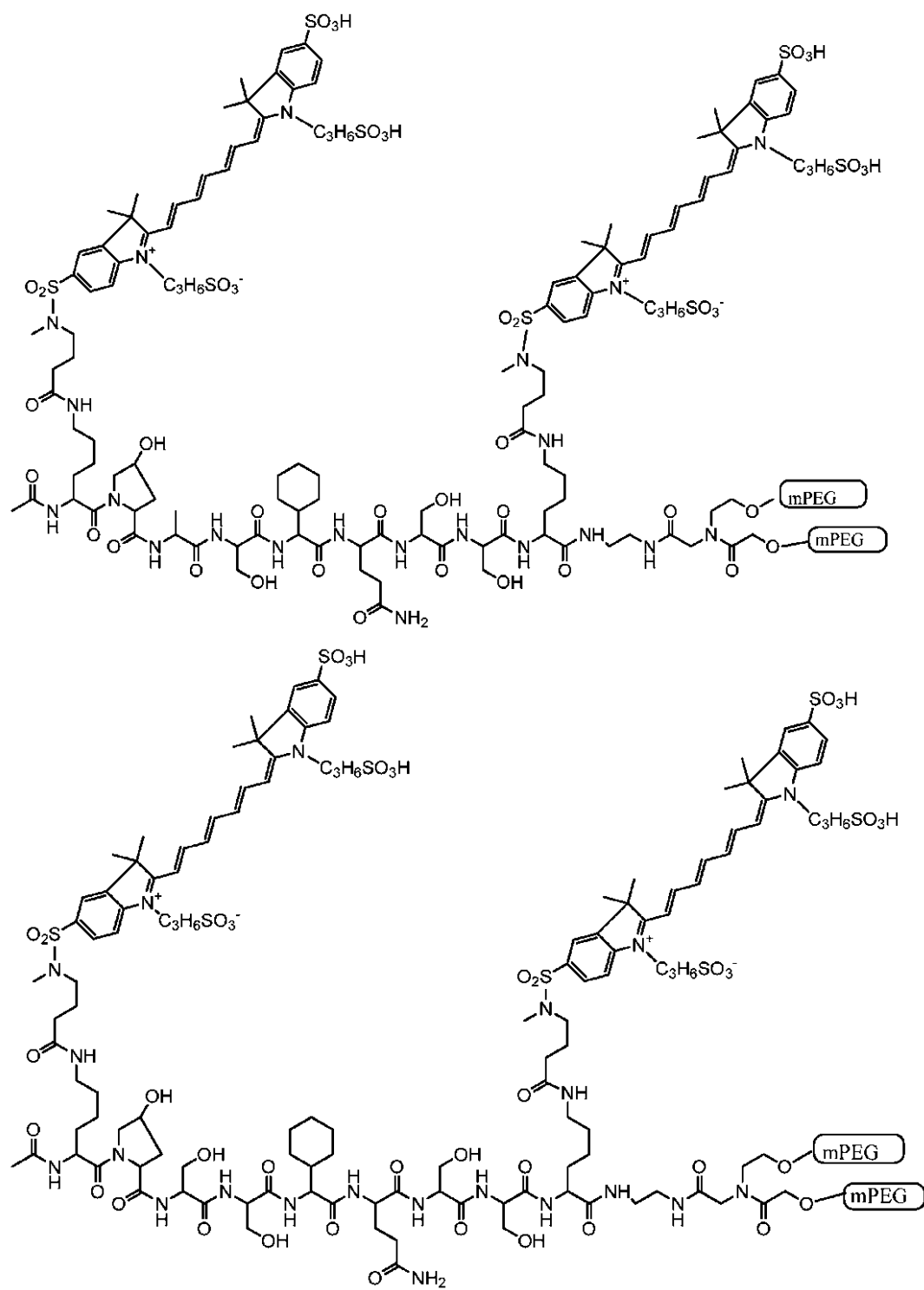
【 化 2 - 1 】



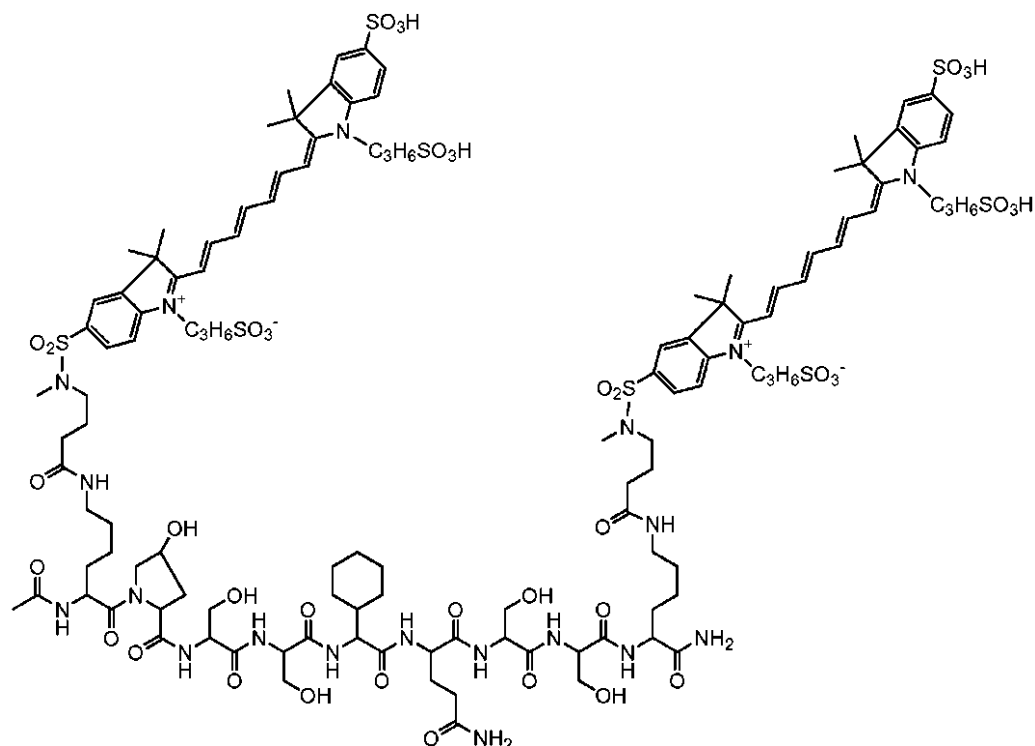
10

20

【化 2 - 2】



【化 2 - 3】



10

20

または表 4 からの化合物の 1 つである。

【 0 0 2 0】

追加の例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤としては、詳細な記述に記載されている式 I および II によって包含される化合物が挙げられる。

【 0 0 2 1】

本発明の別の態様は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【 0 0 2 2】

本発明の別の態様は、(a) 薬剤を被験体に投与すること；(b) 薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；および (c) 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む *in vivo* イメージングの方法を提供する。

【 0 0 2 3】

本発明の別の態様は、(a) 薬剤を被験体に投与すること（薬剤は蛍光色素を含む）；(b) 薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；(c) 蛍光色素によって吸収可能な波長の光に被験体を曝露すること；および (d) 薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む *in vivo* 光学イメージングの方法を提供。

【 0 0 2 4】

本発明の別の態様は、薬剤によって放出されるシグナルが、画像を構築するために使用される、*in vivo* イメージングの方法を提供する。他の実施形態において、画像は、断層撮影画像である。本発明の別の態様は、上に記載されているステップ (a) ~ (c) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的な被験体における薬剤（前立腺特異的抗原イメージング剤など）の放出シグナルの評価を可能にする、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。本発明の別の態様は、上に記載されているステップ (a) ~ (d) が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的な被験体における薬剤（前立腺特異的抗原イメージング剤など）の放出シグナルの評価を可能にする、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。本発明の別の態様は、被験体が動物またはヒトである、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。本発明の別の態様は、ステップ (a) において、そのシグナル特性が互いに区別可能な 2 つまたは 2 つより多くのイ

30

40

50

メージングプローブは被験体に投与され、イメージングプローブの少なくとも1つが、本明細書に記載されている薬剤（前立腺特異的抗原イメージング剤など）である、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。

【0025】

本発明の別の態様は、照射および検出ステップが、内視鏡機器、カテーテル、断層撮影システム、携帯用光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して実施される、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。ある特定の実施形態において、方法は、放出シグナルの存在、非存在またはレベルが疾患状態を示す *in vivo* イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、方法は、疾患を検出および/またはモニタリングするために使用される *in vivo* イメージングの方法である。ある特定の
10 実施形態において、疾患は、異形成、新形成およびがんからなる群から選択される。

【0026】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されている薬剤（前立腺特異的抗原イメージング剤など）で標識された細胞が被験体に投与される、*in vivo* 光学イメージングの方法を提供する。他の実施形態において、薬剤（前立腺特異的抗原イメージング剤など）によって放出されるシグナルは、細胞の輸送および局在化をモニタリングするために使用される。

【0027】

本発明の別の態様は、(a) 薬剤を被験体に投与するステップ；および (b) 薬剤の存在を検出し、それによって、前立腺がんを代表する画像を生成するステップを含む、被験
20 体における前立腺がんをイメージングする方法を提供する。

【0028】

本発明の別の態様は、薬剤を全身的または局所的のいずれかで被験体に投与することを含む、被験体における疾患を処置する方法であって、薬剤が疾患領域において局所化するとともに有効量の放射線を送達する放射標識を含む方法を提供する。

【0029】

本発明の別の態様は、(a) 試料と薬剤とを接触させること；(b) 薬剤が生物学的標的に結合するのを可能にすること；(c) 任意選択により、非結合薬剤を除去すること；および (d) 薬剤から放出されるシグナル検出し、それによって、薬剤が生物学的標的によって活性化されたかまたは生物学的標的に結合されているかを決定することを含む *in*
30 *vitro* イメージング方法を提供する。ある特定の実施形態において、試料は生物学的試料である。

【0030】

本明細書に記載されている化合物は、前立腺特異的抗原の結合に、ならびに前立腺がんの *in vitro* および *in vivo* 蛍光イメージングに有効であると理解され、そのため、治療的および診断的適用の両方に使用することができる。

【0031】

加えて、本発明は、蛍光性の前立腺特異的抗原イメージング剤を使用する *in vitro* および *in vivo* イメージングのための方法を提供する。光学 *in vivo* イメージングに関して、方法は、(a) 本発明の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を被験
40 体に投与すること；(b) 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；(c) 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の蛍光団によって吸収可能な波長の光に被験体を曝露すること；および (d) 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出される光学的シグナルを検出することを含む。薬剤によって放出されるシグナルは、画像を構築するために使用することができる。ある特定の実施形態において、ある特定の画像は、断層撮影画像である。さらに、前述のステップは所定の間隔で反復され、それによって、経時的な被験体の評価を可能にすることができると理解される。

【0032】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、被験体、例えば動物および/またはヒト被験体への投与に適当な医薬組成物に製剤化することができる。医薬組成物は、生理学的に許容さ
50

れる担体における1つまたは複数の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤および1つまたは複数の安定剤を含むことができる。

【0033】

被験体は、脊椎動物、例えば哺乳動物、例えばヒトであり得る。被験体は、その上、実験室研究調査において使用される非脊椎動物（例えば、*C. elegans*、ショウジョウバエ、または別のモデル研究調査生物体など）であり得る。

【0034】

ある特定の実施形態において、蛍光団は、例えば一連の蛍光レポーターから選択することができる。

【0035】

加えて、本発明の別の態様は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を使用する *in vitro* および *in vivo* イメージングのための方法を提供する。光学 *in vivo* イメージングに関して、1つの例示的な方法は、(a) 2つまたは2つより多くの蛍光色素を含む、本明細書に記載されている前述の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数を被験体に投与すること；(b) 薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；(c) 少なくとも1つの蛍光色素によって吸収可能な波長の光に被験体を曝露すること；および(d) 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む。薬剤によって放出されるシグナルは、画像、例えば、断層撮影画像を構成するために使用することができる。さらに、前述のステップは所定の間隔で反復され、これで、経時的な被験体の評価を可能にすることが理解される。

【0036】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、酵素的に活性な前立腺特異的抗原（前立腺がん）または他の生理的プロセス、例えば被験体におけるがんのレベルを測定するために使用することができる。1つの例示的な方法は、(a) 前述の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数を被験体に投与すること；(b) 薬剤（単数または複数）の存在を検出し、それによって、被験体内の前立腺特異的抗原活性の部位を代表する画像を生成することを含む。

【0037】

前述の方法の各々において、被験体は、脊椎動物、例えば哺乳動物、例えばヒトであり得る。被験体は、その上、実験室研究調査において使用される非脊椎動物（例えば、*C. elegans*、ショウジョウバエ、または別のモデル研究調査生物体など）であり得る。

【0038】

加えて、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、キット、例えば、*in vivo* または *in vitro* イメージング方法において前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を使用するための任意選択の指示を有するキットに組み込むことができる。キットは、任意選択により、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤、例えば緩衝剤、および他の製剤薬剤の使用の助けとなる構成成分を含むことができる。代替として、キットは、被験体への前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の投与および/または検出の助けとなる医療装置を含むことができる。

【0039】

本発明の他の特色および利点は、以下の図、詳細な記述、および特許請求の範囲から明らかである。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】図1は、不活性な（複合化されている）PSAと対比して、活性PSAでインキュベートされた場合の、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の蛍光を比較する散布図である。図1におけるデータは、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤（化合物A10）の活性化を描写している。

【0041】

【図2A】図2は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤（化合物A10）を使用して、マウ

10

20

30

40

50

ス中で検出された活性 P S A の部位に関する断層撮影画像および全蛍光を描写する図である。図 2 A は、注入 6 時間後の、前立腺がん発現マウスの落射蛍光反射率および断層撮影画像を描写する図である。図 2 B は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤（化合物 A 1 0 ）を注入され、断層撮影的にイメージングされた、前立腺がん発現（P S A 陽性）マウスと対照（P S A 陰性）マウスとの間の蛍光を比較するヒストグラムである。

【図 2 B】図 2 は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤（化合物 A 1 0 ）を使用して、マウス中で検出された活性 P S A の部位に関する断層撮影画像および全蛍光を描写する図である。図 2 A は、注入 6 時間後の、前立腺がん発現マウスの落射蛍光反射率および断層撮影画像を描写する図である。図 2 B は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤（化合物 A 1 0 ）を注入され、断層撮影的にイメージングされた、前立腺がん発現（P S A 陽性）マウスと対照（P S A 陰性）マウスとの間の蛍光を比較するヒストグラムである。

10

【発明を実施するための形態】

【0042】

本発明は、被験体における前立腺特異的抗原を検出するための組成物および方法を提供する。本明細書に記載されている技術は、それが、安定な生体適合性であり、*in vitro*において低い非特異的細胞取込みおよび*in vivo*において低い非特異的組織取込みを呈し、様々な*in vitro*および*in vivo*アッセイならびにイメージング用途において、ならびに様々な治療的用途において使用することができる蛍光性の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を生成することが可能であるという発見に部分的に基づく。前立腺特異的抗原活性化可能薬剤およびそれらの使用の様々な態様は、下記のセクションに記載されている。1つの特別なセクションに記載されている本発明の態様は、任意の特別なセクションに限定されるべきでない。さらに、可変物が定義を伴っていないならば、可変物の前の定義が支配する。

20

I. 前立腺特異的抗原活性化可能薬剤

【0043】

本発明の一態様は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を提供する。前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、一般に、(i) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分、および(ii) 蛍光団であり得るイメージングレポーターを含む。前立腺特異的抗原ターゲティング部分は、リンカーを介してイメージングレポーター（例えば、蛍光団）に接続することができる。

30

【0044】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の特性は、特別な型のイメージングレポーター部分、リンカー、および前立腺特異的抗原ターゲティング部分を選択することによって調整することができる。加えて、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の特性は、1個または複数の化学修飾性基(M)を結合させることによって調整することができる。前立腺特異的抗原ターゲティング部分、リンカー、蛍光団および化学修飾性部分は、下記のサブセクションにおいて、より詳細に記載されている。

【0045】

「イメージングレポーター」または「F」は、イメージングにおけるコントラストまたはシグナルを提供するために使用されるとともにイメージング技術によって検出可能である任意の適当な化学物質または物質であり得る。ある特定の実施形態において、イメージングレポーターは、1つまたは複数の蛍光団または光ルミネセンスナノ粒子を含む。

40

【0046】

「化学修飾性基」または「M」という用語は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の物理的、化学的または生物学的な特性を変えるため、例えば限定せずに、M非修飾の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤と比較して、投与のための媒体において、より水溶性もしくはより分散性にする、結合特異性を増加すること、正味分子電荷を増加もしくは減少すること、免疫原性もしくは毒性を減少すること、または細胞取込み、薬物動態学的もしくは体内分布のプロファイルを修飾することに使用することができる任意の部分の意味すると理解される。

50

【0047】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤における追加の情報は、例えば、米国特許第7,371,728号；同6,127,333号；同6,174,858号；同6,391,305号；同6,177,404号；および同6,130,204号；ならびに米国特許出願第20070244055号で見出すことができ、これらの全てを、本明細書に参照によりそれらの全体を組み込む。

A．前立腺特異的抗原ターゲティング部分

【0048】

前立腺特異的抗原ターゲティング部分は、一般に、酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列である。例示的な前立腺特異的抗原ターゲティング部分は、以下のオリゴペプチド配列（その上、上記の表1において少なくとも部分的に記載されている）のラジカルを含む：Gly-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号3）；Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号4）；Ac-Lys-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号5）；Ac-Lys-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号6）；Gly-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号7）；およびGly-Ser-Ser-Phe-Gln-Ser-Ser-Lys（配列番号8）。

B．イメージングレポーター

【0049】

様々な蛍光団、例えば蛍光レポーターは、本発明における使用のために受け入れ可能であると企図される。例示的な蛍光団は、下に記載されている。蛍光団は、複数の化学修飾性部分で置換され得る。

(a) 蛍光レポーター

【0050】

ある特定の実施形態において、イメージングレポーターは、蛍光団分子である。「蛍光団」としては、以下に限定されないが、蛍光色素、蛍光色素消光剤分子、任意の有機もしくは無機染料、金属キレート、またはプロテアーゼ活性化可能酵素基質を含む任意の蛍光性の酵素基質が挙げられる。

【0051】

ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、蛍光団を含む。ある特定の実施形態において、蛍光団は、最大約600nmから約1200nmの間、より好ましくは約600nmから約900nmの間の吸収および発光を有する遠赤外および近赤外の蛍光色素（NIRF）である。他のスペクトルにおいて励起波長および発光波長を有する蛍光色素の使用も、本発明の組成物および方法において用いることができることは認められる。例示的な蛍光色素としては、以下に限定されないが、カルボシアニン蛍光色素およびインドシアニン蛍光色素が挙げられる。

【0052】

遠赤外から近赤外の蛍光色素は、好ましくは、水性媒体において1蛍光色素分子当たり少なくとも $50,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ の吸光係数を有する。蛍光色素は、好ましくは、（1）高い量子収率（すなわち、水性媒体において5%を超える量子収率）、（2）狭い励起/発光スペクトル、スペクトル的に分離される吸収および発光スペクトル（すなわち、少なくとも15nm分離される励起および発光の最大）、（3）高い化学安定性および光安定性、（4）非毒性、（5）良好な生体適合性、生分解性および排出性、ならびに（6）*in vivo*およびヒトの使用に必要とされる、工業的生存能および大定量的ためのスケラブルな生成（すなわち、グラムおよびキログラムの定量）も有する。

【0053】

ある特定のカルボシアニンまたはポリメチンの蛍光染料は、本発明の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を生成するために使用することができ、例えば、米国特許第6,747,159号；米国特許第6,448,008号；米国特許第6,136,612号；米国特

10

20

30

40

50

許第4,981,977号;同5,268,486号;米国特許第5,569,587号;
;米国特許第5,569,766号;米国特許第5,486,616号;米国特許第5,
627,027号;米国特許第5,808,044号;米国特許第5,877,310号
;米国特許第6,002,003号;米国特許第6,004,536号;米国特許第6,
008,373号;米国特許第6,043,025号;米国特許第6,127,134号
;米国特許第6,130,094号;米国特許第6,133,445号;その上WO97/
40104、WO99/51702、WO01/21624、およびEP106525
0A1;ならびにTetrahedron Letters 41巻、9185~88頁
(2000年)に記載されているものが挙げられる。

【0054】

10

様々な蛍光色素は市販されており、本発明の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を構築するために使用することができる。例示的な蛍光色素としては、例えば、Cy5.5、Cy5およびCy7(GE Healthcare);AlexaFluor660、AlexaFluor680、AlexaFluor750、およびAlexaFluor790(Invitrogen);VivoTag680、VivoTag-S680、およびVivoTag-S750(PerkinElmer);Dy677、Dy682、Dy752、およびDy780(Dyomics);DyLight547、DyLight647(Pierce);HiLyte Fluor 647、HiLyte Fluor 680、およびHiLyte Fluor 750(AnaSpec);IRDye 800CW、IRDye 800RS、およびIRDye 700DX(Li-Cor);ならびにADS780WS、ADS830WS、およびADS832WS(American Dye Source)、ならびにKodak X-SIGHT 650、Kodak X-SIGHT 691、Kodak X-SIGHT 751(Carestream Health)が挙げられる。

20

【0055】

表2は、本発明の実施において有用な多数の例示的な市販の蛍光色素を、それらのスペクトル特性と一緒にリストしている。

【表 2】

表 2

蛍光色素	$\varepsilon_{\max} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	吸光度最大 (nm)
Cy5	250,000	649
Cy5.5	250,000	675
Cy7	250,000	743
AlexaFlour660	132,000	663
AlexaFlour680	184,000	679
AlexaFlour750	280,000	749
VivoTag680 (VT680)	100,000	670
VivoTag-S680	220,000	674
VivoTag-S750	100,000	750
Dy677	180,000	673
Dy682	140,000	690
Dy752	270,000	748
Dy780	170,000	782
DyLight547	150,000	557
DyLight647	250,000	653
IRDye800CW	240,000	774
IRDye800RS	200,000	767
IRDye700DX	165,000	689
ADS780WS	170,000	782
ADS830WS	240,000	819
ADS832WS	190,000	824

10

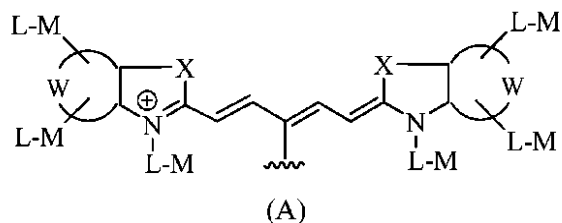
20

30

【 0 0 5 6 】

ある特定の実施形態において、蛍光団は、複数の化学修飾性基によって置換されている。
ある特定の実施形態において、蛍光団は、式 A：

【化 3】



40

またはその塩（式中、
Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、
Xは、出現する毎に独立して、C(CH₂Y₁)(CH₂Y₂)、O、SおよびSeからなる群から選択され、
Y₁およびY₂は、独立して、H、C₁~C₂₀脂肪族基からなる群から選択されており、
任意選択によりL-Mで置換されており、

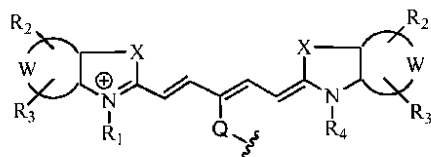
50

Lは、出現する毎に独立して、結合またはリンカー部分を表し
Mは、出現する毎に独立して、修飾性部分を表す）
によって表される。

【0057】

ある特定の他の実施形態において、蛍光団は、式B：

【化4】



(B)

10

またはその塩（式中、

Xは、独立して、 $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、SおよびSeからなる群から選択され、

Y_1 および Y_2 は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基、および $-OR^*$ 、 $N(R^*)$ または $-SR^*$ で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基からなる群から選択され、

Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

R^* は、アルキルであり、

R_1 は、 $-(CH_2)_xCH_3$ 、 $-(CH_2)_nSO_3^-$ 、および $-(CH_2)_nSO_3H$ からなる群から選択され、ここで、xは、0から6から選択される整数であり、nは、2から6から選択される整数であり、

R_4 は、 $-(CH_2)_xCH_3$ 、 $-(CH_2)_nSO_3^-$ 、および $-(CH_2)_nSO_3H$ からなる群から選択され、ここで、xは、0から6から選択される整数であり、nは、2から6から選択される整数であり、

R_2 および R_3 は、独立して、H、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、アルコキシル、スルホン酸部分、およびスルホネート部分からなる群から選択され、

Qは、 $-アリーレン-C(O)N(R^{**})-(C_1 \sim 8 \text{ アルキレン})C(O)-$ であり、ここで、アリーレン基は、式Bのアルケニレンコアに共有結合によって結合されており、

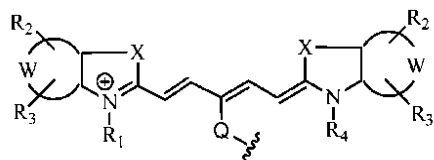
R^{**} は、水素またはアルキルである）

によって表される。

【0058】

ある特定の他の実施形態において、蛍光団は、式B1：

【化5】



(B1)

40

またはその塩（式中、

Xは、独立して、 $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、SおよびSeからなる群から選択され、

Y_1 および Y_2 は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基、および $-OR^*$ 、 $N(R^*)$ または $-SR^*$ で置換されている $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族基からなる群から選択され、

Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

50

R^* は、アルキルであり、

R_1 は、 $(CH_2)_x CH_3$ 、 $(CH_2)_n SO_3^-$ 、および $(CH_2)_n SO_3 H$ からなる群から選択され、ここで、 x は、0 から 6 から選択される整数であり、 n は、2 から 6 から選択される整数であり、

R_4 は、 $(CH_2)_x CH_3$ 、 $(CH_2)_n SO_3^-$ 、および $(CH_2)_n SO_3 H$ からなる群から選択され、ここで、 x は、0 から 6 から選択される整数であり、 n は、2 から 6 から選択される整数であり、

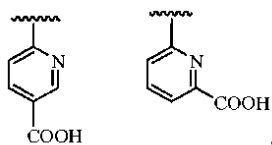
R_2 および R_3 は、独立して、H、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、アルコキシル、スルホン酸部分、およびスルホネート部分からなる群から選択され、

Q は、カルボキシル基で置換されているヘテロアリール環もしくはカルボニル基で置換されている 6 員ヘテロアリール環からなる群から選択されるか；または Q は、(i) カルボキシル官能化複素環式環、(ii) カルボキシル官能化窒素含有複素環式環、(iii) ピリジン、ピリミドン、ピラジンおよびピリダジンなど、カルボキシル官能化窒素含有 6 員複素環式環、(iv) ピリジンなど、カルボキシル官能化窒素含有 6 員複素環式環、ならびに (v) ピリジンなど、カルボニル官能化窒素含有 6 員複素環式環からなる群から選択される)

によって表される。

ある特定の他の実施形態において、式 B 1 は、イソニコチン酸、ニコチン酸およびピコリン酸から調製される可変物 Q 、または

【化 6】



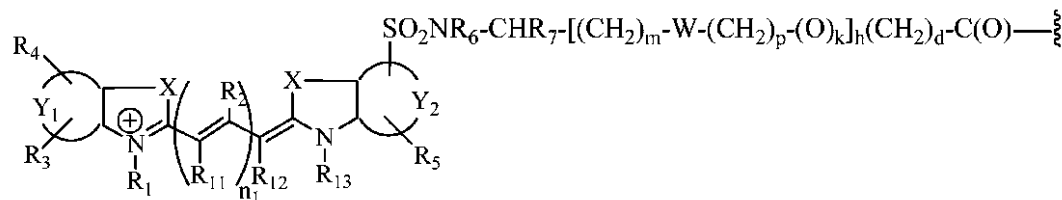
から選択される基を有し、

式中、カルボキシル基は、その上、求核試薬と反応できるエステル、活性化エステルまたはハロゲン化カルボニルの形態であり、例えば、 $-C(O)-O$ ベンゾトリアゾリル、 $-C(O)-ON$ - ヒドロキシスクシンイミジル、 $-C(O)-O$ - テトラフルオロフェニル、 $-C(O)-O$ - ペンタフルオロフェニル、 $-C(O)-O$ - イミダゾール、および $-C(O)-O$ - p - ニトロフェニルであってよい。

【0059】

別の実施形態において、蛍光団は、式 C：

【化 7】



(C)

またはその塩（式中、

X は、独立して、 $C(CH_2 K_1)(CH_2 K_2)$ 、 O 、 S および Se からなる群から選択され、

K_1 および K_2 は、独立して、 H もしくは $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族であるか；または K_1 および K_2 は一緒に、置換または非置換の炭素環式環または複素環式環の一部であり、

Y_1 および Y_2 は、各々独立して、ベンゾ縮合環、ナフト(naphtha)縮合環またはピリド縮合環であり、

n_1 は、1、2 または 3 であり、

R_2 、 R_{11} および R_{12} は、独立して、H、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、アリーロキシ、アリール、スルホネート、イミニウムイオンであるか、または任意の 2 つの隣接する R_{12} および R_{11} 置換基は、組み合わせあって、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ハロゲン、または -S- アルキルによって 1 回または複数回任意選択により置換されている 4 員、5 員または 6 員の炭素環式環を形成し、

R_1 および R_{13} は、 x が 0 から 6 から選択される整数である場合、 $(CH_2)_x CH_3$ であり；または R_1 および R_{13} は、 n が 2 から 6 から選択される整数である場合、独立して $(CH_2)_n SO_3^-$ もしくは $(CH_2)_n SO_3 H$ であり、

R_3 、 R_4 および R_5 は、独立して、H、カルボキシレート、カルボン酸、カルボン酸エステル、アミン、アミド、スルホンアミド、ヒドロキシル、アルコキシル、スルホン酸部分、およびスルホネート部分からなる群から選択され、

R_6 は、非置換 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族、非置換アリール、または非置換アルキルアリールであり、

R_7 は、H、非置換 $C_1 \sim C_{20}$ 脂肪族、非置換アリールもしくは非置換アルキルアリールであり、式中、 R_7 はハロゲンで任意選択により置換されており；または

R_6 および R_7 は、一緒になって、ハロゲンで任意選択により置換されている 4 員、5 員、6 員または 7 員の複素環式環を形成し、

W は、存在しないか、または $-SO_2NR_6-Q-CHR_7-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、および $-C(O)N(H)-$ からなる群から選択される基であり、

$h = 0 \sim 70$ ； $k = 0$ または 1； $d = 0 \sim 12$ ； $m = 0 \sim 12$ ； $p = 0 \sim 12$ である）によって表される。

【0060】

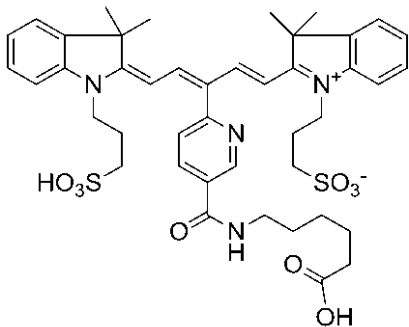
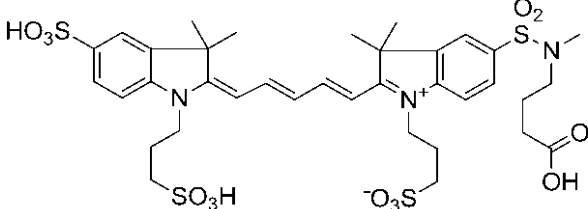
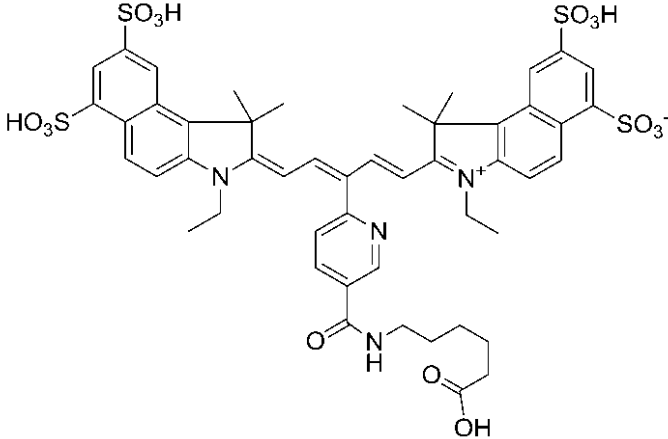
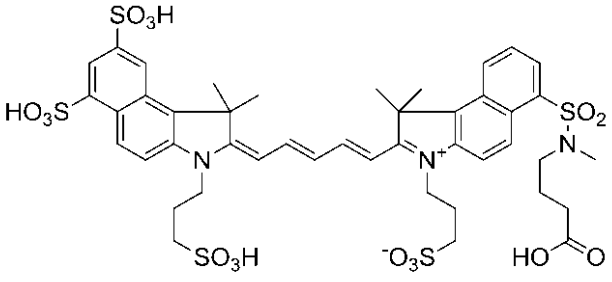
本発明の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の合成において使用することができる一部の例示的な化学的に修飾された蛍光団としては、例えば、表 3 にリストされているものが挙げられる。

10

20

【表 3 - 1】

表 3.

番号	蛍光団	
F1		10
F2		20
F3		30
F4		40

【表 3 - 2】

番号	蛍光団
F5	
F6	
F7	
F8	
F9	
F10	

10

20

30

40

【0061】

ある特定の実施形態において、2つまたは2つより多くの蛍光色素分子は、前立腺特異的抗原ターゲティング部分に化学的に連結されることで、蛍光性の前立腺特異的抗原薬剤を生成することができる。

【0062】

ある特定の実施形態において、蛍光団の1つは、消光剤分子によって置き換えることが

50

できる。

【0063】

イメージングレポーターが蛍光色素分子である場合において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の吸光係数は、式 $A = \epsilon \cdot c \cdot l$ を使用して、粒子の濃度に対する 1 cm 路長セルにおけるその吸収最大での（例えば、VivoTag 680 について約 670 nm での）染料の吸光度の比として算出することができ、式中、 A は吸光度であり、 c はモル濃度であり、 l は cm における路長である。

【0064】

蛍光性シリコンナノ粒子は、以下の特性も有し得る：（１）高い量子収率（すなわち、水性媒体において 5 % を超える量子収率）、（２）狭い発光スペクトル（すなわち、75 nm 未満、より好ましくは 50 nm 未満）、（３）スペクトル的に分離された吸収および発光スペクトル（すなわち、20 nm 超、より好ましくは 50 nm 超分離される）、（３）高い化学的安定性および光安定性を有する（すなわち、光への曝露後にルミネセンス特性を維持する）、（４）生体適合性であるか（下記を参照されたい）、またはより生体適合性になり得る；（５）イメージングプロトコルのために使用される用量で細胞または被験体に対して非毒性または最小毒性である（例えば、LD₅₀ もしくは過敏研究、または当技術分野で公知の他の同様の方法によって測定される場合）、ならびに／または（６）in vivo およびヒトの使用のために必要とされる、工業的生存能および大量のためのスケラブルな生成（すなわち、グラムおよびキログラムの定量）を有する。

【0065】

他の例示的な蛍光団としては、蛍光性であるとともに様々な in vitro および in vivo 用途において使用することができる金属酸化物ナノ粒子が挙げられる。一実施形態において、前立腺特異的抗原ターゲティング部分は、以下の特色の 1 つまたは複数を有する蛍光性金属酸化物ナノ粒子にコンジュゲートされる：（１）複数の蛍光色素を結合させ、それによって大きな吸光係数（1,000, 000 M⁻¹ cm⁻¹ を上回る）を達成するのに適当なポリマーコーティング、（２）1 粒子当たり約 10 種から約 300 種の蛍光色素を結合させるのに適当な非架橋ポリマーコーティング、（３）蛍光色素の量子収率を有意に損なうことがない方式で複数の蛍光色素を結合させるのに適当なポリマーコーティング（例えば、ナノ粒子は、同条件下で試験された場合に実質的に同じ数の遊離蛍光色素によって創出される蛍光シグナルの少なくとも 50 % を維持する）、および（４）分子イメージング剤を得るための、それらの生物学的特性を保持しながら生体分子の効果的な化学的連結化を受け入れ可能であるポリマーコーティング。蛍光金属酸化物ナノ粒子は、蛍光色素および細菌ターゲティング薬剤の化学的連結化の前後の両方において、in vitro では高安定性分子イメージング剤であるが in vivo ではなお不安定および／または分解性である。

【0066】

さらに、前立腺特異的抗原ターゲティング部分は、光力学治療を誘発できる分子にコンジュゲートすることができる。これらとしては、以下に限定されないが、フォトフリン、Lutrin、Antrin、アミノレブリン酸、ヒペリシン、ベンゾポルフィリン誘導体が挙げられ、ポルフィリンを選択する。

【0067】

ある特定の実施形態において、イメージング剤は、以下の特色の 1 つまたは複数を有するナノ粒子上に組み込まれる：（１）複数の薬剤を結合させるのに適当なポリマーコーティング、（２）1 粒子当たり約 10 種から約 300 種の薬剤を結合させるのに適当な非架橋ポリマーコーティング、および（３）分子イメージング剤を得るための、それらの生物学的特性の維持を有する薬剤の効果的な化学的連結化を受け入れ可能であるポリマーコーティング。薬剤修飾された金属酸化物ナノ粒子は、薬剤の化学的連結化の前後の両方において、in vitro では高安定性分子イメージング剤であり得るが in vivo ではなお不安定および／または分解性である。

【0068】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤にコンジュゲートされた金属酸化物ナノ粒子は、被験体、例えば動物および/またはヒト被験体への投与に適当な医薬組成物に製剤化することができることが認められる。

(i i i) 超音波レポーター

【 0 0 6 9 】

超音波イメージングのため、イメージングレポーターとしては、Levovist、AlbunexもしくはEchovistなど気体が充填されている気泡、または金属イオンが原子番号21~29、42、44もしくは57~83を有する粒子もしくは金属キレートが挙げられ得る。こうした化合物の例は、Tylerら、Ultrasonic Imaging、3巻、323~29頁(1981年)およびD. P. Swanson、
「Enhancement Agents for Ultrasound: Fundamentals」、Pharmaceuticals in Medical Imaging、682~87頁(1990年)に記載されている。

10

(i v) X線レポーター

【 0 0 7 0 】

例示的なレポーターは、原子番号57から83の重金属イオンのヨウ化有機分子またはキレートを含むことができる。こうした化合物の例は、M. Sovak編、「Radiocontrast Agents」、Springer-Verlag、23~125頁(1984年)および合衆国特許第4,647,447号に記載されている。

C. リンカー

20

【 0 0 7 1 】

リンカーまたはスペーサー部分(L)は、1つもしくは複数の化学改質剤(M)を蛍光団に化学的に連結するために、および/または前立腺特異的抗原ターゲティング部分をQに、もしくはQが存在しないならば本発明の薬剤の蛍光団に直接に連結するために使用することができる。有用なリンカー部分としては、天然および非天然アミノ酸および核酸の両方、ペプチド、例えばグリシン、 α -アラニン、 α -アミノ酪酸もしくはアミノカプロン酸、ならびに合成リンカー分子、例えばアミノエチルマレイミドもしくはアミノメチル安息香酸、またはポリマー、例えばホモ二官能性もしくはヘテロ二官能性のポリエチレングリコール(PEG)が挙げられる。リンカーがペプチドである場合、ペプチドは、任意選択により、様々な薬剤、例えば酵素で開裂することができるタンパク質分解的開裂部位を含むことができる。

30

【 0 0 7 2 】

所与のリンカーについて特別な構造、サイズまたは含有量の限界はないことが理解される。リンカーとしては、例えば、多様な構造の分子のアセンブリを可能にする、マレイミド、ジチオピリジル、チオール、アジド、アルケンまたはアルキンなどの様々な官能基が挙げられ得る。

【 0 0 7 3 】

リンカーは、ホモ官能性リンカーまたはヘテロ官能性リンカーであってよい。例えば、アミン(NH_2)官能化部分は、アミノ基と反応するように設計された二官能性クロスリンカーと反応させることができる。リンカーの形成を容易にするか、または例えば蛍光団と酵素的に開裂可能なオリゴペプチドとの間の共有結合を容易にすることができる特に有用なコンジュゲーション試薬としては、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)エステルおよび/またはマレイミドが挙げられ得る。NHSエステルは、例えばペプチドまたは蛍光団のアミノ基と反応することができる。マレイミドは、別の分子のスルフヒドリル基と反応することができる。他の特に有用なリンカー部分は、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、長鎖SPDP、マレイミド安息香酸-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)、スクシンイミジルtrans-4-(マレイミジルメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、スクシンイミジルヨードアセテート(SIA)などの二官能性架橋剤である。

40

【 0 0 7 4 】

50

ある特定の実施形態においてリンカーは、存在するならば、ジアミンの誘導体であってよい。ジアミン部分または誘導体は、任意選択によりカルボン酸を用いて誘導体化することによって化学的に結合する分子についての長さおよび化学的性質を変動するリンカーアームを提供することができる。ジアミンの非限定的な例としては、エチレンジアミン（EDA）、プロピレンジアミン、スペルミジン、スペルミン、ヘキサレンジアミン、およびジアミン-アミノ酸、例えばホモリシン、リシン、オルニチン、ジアミノ酪酸およびジアミノプロピオン酸が挙げられる。他の実施形態において、イメージング剤の部分は、ジカルボン酸、例えばコハク酸、グルタル酸、スベリン酸またはアジピン酸に化学的に連結することができる。一実施形態において、リンカーはアミノエチルマレイミドである。

【0075】

10

ある特定の実施形態において、リンカーは、分岐されている、例えばグルタミン酸もしくは5-（アミノメチル）イソフタル酸、またはデンドリマー、例えばリシンまたはグルタミン酸デンドリマーであってよく、複数のM基が蛍光団上の単一部位に連結される。

【0076】

ある特定の実施形態において、Lは、官能化されている置換または非置換の $C_1 \sim C_{18}$ のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基またはチオアルキル基である。他の実施形態において、Lは、官能化されている置換または非置換の芳香族環またはヘテロ芳香族環である。他の実施形態において、Lは存在しない。

【0077】

ある特定の実施形態において、リンカーは、アジド-アセチレンHuisgen[3+2]付加環化における置換アルキンと反応することができるアジド部分から形成することができる。ある特定の実施形態において、アジドまたはアルキンリンカーは、ポリエチレングリコール（PEG）部分を、例えば酵素的に開裂可能なオリゴペプチドに連結することができる。他の企図されるリンカーとしては、プロパルギルグリシン、ペンタノイル、ペンチン酸、プロパルギル酸、および/またはプロパルギルアミン部分が挙げられる。

20

【0078】

ある特定の実施形態において、イメージングレポーターは、アミノ官能化前立腺特異的抗原ターゲティング部分のアミン基と反応するF上の反応性NHSEステル基を使用して、前立腺特異的抗原ターゲティング部分に直接化学的に連結されている。ある特定の他の実施形態において、F上のカルボン酸基は、2-（1H-ベンゾトリアゾール-1-イル）-1,1,3,3,-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（HBTU）、1-エチル-3-（3'-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミドヒドロクロリド（EDC）、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）、N,N'-ジスクシンイミジルカーボネート（DSC）など当技術分野において公知の活性化剤によって、インサイチュで活性化することができる。他の実施形態において、スルフヒドリル基またはチオール基を含有するFは、スルフヒドリル（チオール）基と反応することができる第2の部分に有する二官能性クロスリンカーを介して前立腺特異的抗原ターゲティング部分に化学的に連結されている。こうした架橋薬剤としては、例えばおよび上に記載されている通り、SPDP、長鎖SPDP、SIA、MBS、SMCC、および当技術分野において周知の他のものが挙げられる。

30

40

【0079】

有用なリンカー部分としては、天然および非天然アミノ酸の両方、オリゴペプチド、例えば線状または環状オリゴペプチド、ならびに核酸が挙げられる。リンカーは、ペプチドまたはペプチド部分であってよい。リンカーは、任意選択により、目的の部位でのpH変化により開裂することができるエステル連結などのタンパク分解または非タンパク分解開裂部位が挙げられ得る。

【0080】

「アミノ酸」という用語は、本明細書で使用される場合、塩基性アミノ基および酸性カルボキシル基の両方を含有する有機化合物を意味すると理解される。この用語内に含まれるのは、天然アミノ酸（例えば、L-アミノ酸）、修飾されたアミノ酸および異常なアミ

50

ノ酸（例えば、D - アミノ酸）、ならびに遊離形態または組み合わせた形態で生物学的に生じるが、通常タンパク質において生じないことが公知のアミノ酸である。天然アミノ酸としては、以下に限定されないが、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、セリン、トレオニン、チロシン、チロシン、トリプトファン、プロリンおよびバリンが挙げられる。他のアミノ酸としては、以下に限定されないが、アルギノコハク酸、シトルリン、システインスルフィン酸、3, 4 - ジヒドロキシフェニルアラニン、ホモシステイン、ホモセリン、オルニチン、カルニチン、セレノシステイン、セレノメチオニン、3 - モノヨードチロシン、3, 5 - ジヨードチロシン (diiodotyrosine)、3, 5, 5' - トリヨードチロニン、および3, 3', 5, 5' - テトラヨードチロニンが挙げられる。

10

【0081】

本発明を実施するために使用することができる修飾されたアミノ酸または異常なアミノ酸としては、以下に限定されないが、D - アミノ酸、ヒドロキシリシン、デヒドロアラニン、ピロリジン、2 - アミノイソ酪酸、ガンマアミノ酪酸、5 - ヒドロキシトリプトファン、S - アデノシルメチオニン、S - アデノシルホモシステイン、4 - ヒドロキシプロリン、N - Cbz 保護アミノ酸、2, 4 - ジアミノ酪酸、ホモアルギニン、ノルロイシン、N - メチルアミノ酪酸、ナフチルアラニン、フェニルグリシン、. ベータ . - フェニルプロリン、tert - ロイシン、4 - アミノシクロヘキシルアラニン、N - メチル - ノルロイシン、3, 4 - デヒドロプロリン、N, N - ジメチルアミノグリシン、N - メチルアミノグリシン、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸、6 - アミノカプロン酸、trans - 4 - (アミノメチル) - シクロヘキサンカルボン酸、2 - 、3 - 、および4 - (アミノメチル) - 安息香酸、1 - アミノシクロペンタンカルボン酸、1 - アミノシクロプロパンカルボン酸、および2 - ベンジル - 5 - アミノペンタン酸が挙げられる。

20

【0082】

本明細書で使用される場合、「擬ペプチド」または「ペプチド模倣の」は、例えばアミド連結（擬ペプチド結合）を介する以外の連結基を使用することによって、および/または非アミノ酸置換基および/もしくは修飾されたアミノ酸残基を使用することによって、アミノ酸残基またはペプチドの構造を模倣する化合物である。「擬ペプチド残基」は、ペプチド中に存在する擬ペプチドまたはペプチド模倣物のその部分を意味する。「擬ペプチド結合」という用語は、正常のアミド連結の代わりにまたは代替物として使用することができるペプチド結合アイソスターを含む。これらの代替物またはアミド「等価物」の連結は、アミド結合の空間要件を模倣するとともに酵素分解に対して分子を安定化するべきである、ペプチドまたはタンパク質において通常には見出されない原子の組合せから形成される。以下の従来の3文字アミノ酸略語を本明細書で使用する：Ala = アラニン；Ac = アミノカプロン酸、Ahx = 6 - アミノヘキサン酸、Arg = アルギニン；Asn = アスパラギン；Asp = アスパラギン酸；Cha = シクロヘキシルアラニン；Cit = シトルリン；Cys = システイン；Dap = ジアミノプロピオン酸；Gln = グルタミン；Glu = グルタミン酸；Gly = グリシン；His = ヒスチジン；Ile = イソロイシン；Leu = ロイシン；Lys = リシン；Met = メチオニン；Nal = ナフチルアラニン；Nle = ノルロイシン；Orn = オルニチン；Phe = フェニルアラニン；Phg = フェニルグリシン；Pro = プロリン (proline)；Sar = サルコシン；Ser = セリン；Thi = チエニルアラニン；Thr = トレオニン；Trp = トリプトファン；Tyr = チロシン；およびVal = バリン；Hpy = ヒドロキシプロリン；Cha = シクロヘキシルアラニン；Chg = シクロヘキシルグリシン。接頭辞D - の使用は、そのアミノ酸のD - 異性体を示し；例えばD - リシンはD - Lysと表される。

30

40

【0083】

ペプチドは、溶液相化学もしくは固相化学または両方の組合せのいずれかを使用して合成することができる (Albericio, Curr. Opinion. Cell Biol., 8巻, 211~221頁 (2004年)、M. Bodansky, Pep

50

tide Chemistry: A Practical Textbook, Springer-Verlag; N. L. Benoiton, Chemistry of Peptide Synthesis, 2005年, CRC Press)。

【0084】

本発明の薬剤を調製するため、選択的または直交性アミン保護基が必要とされることがある。本明細書で使用される場合、「アミン保護基」という用語は、アミン基の保護のための有機合成の技術分野において公知の任意の基を意味する。こうしたアミン保護基としては、Greene、「Protective Groups in Organic Synthesis」John Wiley & Sons, New York (1981年)および「The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, 3巻, Academic Press, New York (1981年)にリストされているものが挙げられる。当技術分野において公知の任意のアミン保護基は使用され得る。アミン保護基の例としては、限定されないが、以下が挙げられる：1) アシル型、例えばホルミル、トリフルオロアセチル、フタリルおよびp-トルエンシルホニル；2) 芳香族カルバメート型、例えばベンジルオキシカルボニル(CbzまたはZ)および置換ベンジルオキシカルボニル、1-(p-ピフェニル)-1-メチルエトキシカルボニル、および9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)；3) 脂肪族カルバメート系、例えばtert-ブチルオキシカルボニル(Boc)、エトキシカルボニル、ジイソプロピルメトキシカルボニルおよびアリルオキシカルボニル；4) 環式アルキルカルバメート系、例えばシクロペンチルオキシカルボニルおよびアダマンチルオキシカルボニル；5) アルキル型、例えばトリフェニルメチルおよびベンジル；6) トリアルキルシラン、例えばトリメチルシラン；および7) チオール含有型、例えばフェニルチオカルボニルおよびジチアスクシノイル。その上、「アミン保護基」という用語に含まれるのは、アジドベンゾイル、p-ベンゾイルベンゾイル、o-ベンジルベンゾイル、p-アセチルベンゾイル、ダンシル、グリシル-p-ベンゾイルベンゾイル、フェニルベンゾイル、m-ベンゾイルベンゾイル、ベンゾイルベンゾイルなどのアシル基である。

【0085】

ある特定の実施形態において、酵素的に開裂可能なオリゴペプチドとしては、オリゴ-L-アルギニン、オリゴ-L-リシン、オリゴ-L-アスパラギン酸またはオリゴ-L-グルタミン酸が挙げられ得る。

【0086】

リンカーの酵素的に開裂可能なオリゴペプチドは、ヒドロラーゼ、エラスターゼ、カテプシン、マトリックスメタロプロテアーゼ、ペプチダーゼ、エキソペプチダーゼ、エンドペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ、グリコシダーゼ、リパーゼ、ヌクレアーゼ、リアーゼ、アミラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスファターゼ、ホスホジエステラーゼ、スルファターゼ、セリンプロテアーゼ、スブチリシン、キモトリプシン、トリプシン、トレオニンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、カルパイン、パパイン、カスパーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、ペプシン、キモシン、グルタミン酸プロテアーゼ、レニン、レダクターゼ、ならびに寄生性、ウイルス性および細菌性の酵素から選択される少なくとも1つの酵素によって開裂可能である。

D. 化学改質剤

【0087】

意図される使用に依存して、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の物理的、化学的または生物学的特性を変えることができる1つまたは複数の化学改質剤(M)を含むことができる。特に、複数のMは、薬剤の蛍光団部分に化学的に連結することができる。Mは同じであってよいが、または出現する毎について異なっていてよい。例えば、Mは、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を、生物学的イメージングのためにより有用に、すなわち、例えば投与のための媒体において、より水溶性またはより分散性にすることができ、非置換またはより少なく置換されている蛍光団部分と比較して、結合特異性が増加されるか、または免疫原性もしくは毒性が少なくなるか、または非特

異的結合が低減され、体内分布および薬物動態が変化される。

【0088】

例えば、メトキシポリエチレングリコール (mPEG) もしくはポリペプチドまたは複数のアニオン性Mの組込みは、in vivoでの前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の薬力学および血液クリアランス速度を修飾するように機能し得る。他のMは、筋肉または肝臓などのバックグラウンド組織からおよび/または血液からの前立腺特異的抗原活性化可能薬剤のクリアランスを加速し、それによって、バックグラウンド干渉を低減し、画像品質を改善するように選択することができる。追加として、Mが使用されることで、例えば、肝臓を介するよりむしろ腎臓を介する排出の特別な経路の方を好むことができる。Mは10
その上、プローブを医薬組成物中に製剤化する際の助けとなることができるか、または前立腺特異的抗原活性化可能薬剤のシグナル報告特性を変えるかもしくは保存するために使用し得る。特に、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤へのポリエチレングリコール (PEG) またはその誘導体の化学的連結化は、より長い血中滞留時間 (より長い循環) および免疫原性の減少をもたらすことができる。

【0089】

例示的な改質剤としては、ポリエチレングリコール (PEG) およびその誘導体、例えば、アルコキシポリエチレングリコール (例えば、メトキシポリエチレングリコールおよびエトキシポリエチレングリコールなど)、分岐ポリプロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ-リシンおよびメトキシポリエチレングリコールのグラフトコポリマー、アミノ酸、ペプチド、脂質、脂肪酸、パルミテート、リン脂質、リン脂質-PEG
20
コンジュゲート、炭水化物 (デキストラン、アミノ-デキストラン、カルボキシメチル-デキストランなど)、酸化鉄ナノ粒子、スルホネート、ポリスルホネート、システイン酸、ナフチルアラニン、フェニルアラニン、ならびに3,3'-ジフェニルプロピルアミンタウリン、ホスホネート、ホスフェート、カルボキシレートおよびポリカルボキシレートが挙げられる。

【0090】

ある特定の実施形態において、化学改質剤Mは、カルボキシレート、ホスホネート、ホスフェート、イミノジアセテート、システイン酸、またはタウリンからなる群から選択されるアニオン性部分である。

【0091】

ある特定の実施形態において、化学改質剤Mは、スルホネートまたはポリスルホネートである。

【0092】

ある特定の実施形態において、化学改質剤Mは、水素、アルコール、スルホンアミド、スルホキシド、スルホン、ケトン、アミノ酸、例えばグルタミン酸またはタウリン、ポリアミノ酸、例えばポリシステイン酸、オリゴまたはポリエチレングリコール、アミン、第4級アンモニウムイオン、または炭水化物、例えばグルコサミン、ガラクトサミンまたはマンノサミンである。

【0093】

ある特定の実施形態において、化学改質剤Mは、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、またはテトラアザシクロデカン四酢酸 (DOTA) などの金属キレート剤である。本発明の別の態様において、1つまたは複数の金属キレート化M基は、金属イオンに配位される。

【0094】

ある特定の実施形態において、上記で考察されている通り、生物学的改質剤は、例えば約0.1 kDaから約50 kDa、約5 kDaから約45 kDa、または約10 kDaから約40 kDaの分子量を有するPEG部分であってよい。代替として、PEGは、例えば約1100ダルトンの別個の分子量で官能化されているdPEGであってよい。

【0095】

ある特定の実施形態において、PEGは、メトキシPEG (5000) - スクシンイミ

10

20

30

40

50

ジルプロピオネート (mPEG-SPA)、メトキシPEG(5000)-スクシンイミジルスクシネート (mPEG-SS) である。こうしたPEGsは、Nektar TherapeuticsまたはSunBiowestまたはLaysanBioまたはNOFから市販されている。

【0096】

PEG部分は、カルボキシル官能性基を介して前立腺特異的抗原活性化可能薬剤上の反応性アミンにコンジュゲートすることができる。代替として、PEG改質剤は、チオール反応性クロスリンカーを使用すること、および次いでPEG上のチオール基と反応させることによって、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤にコンジュゲートすることができる。代替として、PEG部分は、アミド官能性基を介して前立腺特異的抗原活性化可能薬剤上の反応性カルボン酸にコンジュゲートすることができる。

10

【0097】

一実施形態において、PEGは、JenKem USAまたはNOFから利用可能なように分岐化もしくはY形状化するか、またはくし形状化するか、またはグルタミン酸などの小分子に2つまたは2つより多くのPEGをカップリングすることによって合成することができる。

【0098】

他の実施形態において、生物学的改質剤は、ポリビニルピロリドン (PVP) 型ポリマーであってよい。生物学的改質剤は、官能化ポリビニルピロリドン、例えば、ポリマー (Polymer source から利用可能な通り) の1つ (または両方) の末端上またはポリマー鎖内で官能化されたカルボキシまたはアミンであってよい。

20

【0099】

代替として、生物学的改質剤としては、ポリN-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド (HPMA)、または官能化HPMA (アミン、カルボキシなど)、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、または官能化ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)が挙げられ得る。

【0100】

生物学的改質剤としては、直鎖または分岐鎖アシル基、例えばペンテノイル (pentenoyl) ; 酸性基、例えばスクシニル ; 低級アルキル基、例えばメチル、エチル、プロピルなど ; カルボキシアシル基、例えばカルボキシエチル ; ハロアルキル基、例えばトリフルオロメチルなどが挙げられる。

30

【0101】

一般に、Mの化学的連結は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の親和性および/または結合特性に不利に影響することがない。

E. 例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の第1群

【0102】

上に記載されている前立腺特異的抗原ターゲティング部分、イメージングレポーター、リンカー、および任意選択により化学修飾性部分は、異なる順列で組み合わせられることで、様々な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を提供することができる。

【0103】

40

したがって、本発明の一態様は、2つの蛍光団に化学的に連結されている1つの前立腺特異的抗原ターゲティング部分を含む前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を提供し、ここで、複数の化学修飾性部分 (M) は、蛍光団に化学的に連結されている。任意選択により、1つまたは複数のリンカー (L) 部分が使用されることで、蛍光団にまたは蛍光団のMに前立腺特異的抗原ターゲティング部分を化学的に連結することができる。

【0104】

ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、酵素的に活性な前立腺特異的抗原に対する親和性を有する。他の実施形態において、酵素的に活性な前立腺特異的抗原の親和性は、酵素的に不活性な前立腺特異的抗原より大きい。「前立腺特異的抗原ターゲティング部分」は、本明細書において定義されている通り、酵素的に活性であ

50

る成熟した前立腺特異的抗原と特異的に結合する分子である。

【0105】

「蛍光団」は、イメージングにおける蛍光シグナルまたはコントラストを提供するために使用されるとともにイメージング技術によって検出可能である任意の適当な化学物質または物質であってよい。ある特定の実施形態において、蛍光団は、例えばシアニン染料、カルボシアニン染料、インドシアニン染料、またはポリメチン蛍光染料を含む。ある特定の実施形態において、蛍光団は、対称シアニン染料を含む。他の実施形態において、蛍光団は、非対称シアニン染料を含む。他の実施形態において、蛍光団は、複数の化学修飾性基で修飾されていてよく、薬剤の *in vitro* および *in vivo* の特性ならびに最終的に蛍光イメージング剤としての薬剤の性能の最適化を可能にする。

10

【0106】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、酵素的に活性な前立腺特異的抗原に対する親和性を有することができる。ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、前立腺がんの病態中の血清において上昇される成熟した酵素的に活性な前立腺特異的抗原に結合する。

【0107】

本発明の別の態様は、

(i) 酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列を含む前立腺特異的抗原ターゲティング部分；および

(ii) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分に、任意選択によりリンカー (L) 部分を介して、化学的に連結されている2つまたは2つより多くのイメージングレポーター；および

20

(iii) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分に化学的に連結されている1つまたは2つの任意選択の化学修飾性部分M

を含む前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を提供する。

【0108】

「化学的に連結されている」という用語は、組み合わせられた凝集体が単位として機能するのを可能にするのに十分に強い原子間引力によって接続されていることを意味すると理解される。これとしては、以下に限定されないが、化学結合、例えば共有結合、非共有結合、例えばイオン結合、金属結合およびブリッジ結合、疎水性相互作用、水素結合、ならびに *van der Waals* 相互作用が挙げられる。

30

【0109】

本発明の別の態様は、

(i) 酵素的に開裂可能なオリゴペプチド配列を含む前立腺特異的抗原ターゲティング部分；

(ii) 前立腺特異的抗原ターゲティング部分に、任意選択によりリンカー (L) 部分を介して、化学的に連結されているイメージングレポーター；および

(iii) 前立腺特異的抗原ターゲティング活性化可能部分に、任意選択によりリンカー (L) 部分を介して、化学的に連結されている蛍光レポーターであって、蛍光部分が複数の化学修飾性基を保有する、蛍光レポーター

40

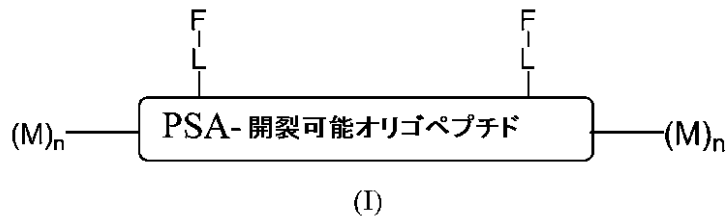
を含む前立腺特異的抗原薬剤を提供する。

F. 例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の第2群

【0110】

本発明の別の態様は、式 (I) の化合物：

【化 8】



またはその塩（式中、

F は、出現する毎に独立して、蛍光色素または消光剤を表し、

L は、出現する毎に独立して、結合またはリンカーを表し、

M は、オリゴペプチドの C 末端もしくは N 末端のいずれかまたは両方に結合している改質剤であり、

n は、独立して、0 または 1 を表し、但し、少なくとも 1 つの M が存在する）

を提供する。

【0111】

ある特定の実施形態において、薬剤は、遠赤外または近赤外の波長において蛍光性である。

【0112】

ある特定の実施形態において、化学修飾性部分（M）は、水素、アルコール、スルホネート、ポリスルホネート、システイン酸、スルホンアミド、スルホキシド、スルホン、カルボキシレート、ケトン、ホスホネート、ホスフェート；イミノジアセテート、エチレンジアミン四酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、テトラアザシクロドデカン四酢酸、アミノ酸またはポリアミノ酸、オリゴまたはポリエチレングリコール、アミン、第 4 級アンモニウムイオン、糖類、グルコサミン、ガラクトサミン、マンノサミン、ポリエチレングリコール（PEG）およびその誘導体、例えば、アルコキシポリエチレングリコール（例えば、メトキシポリエチレングリコールおよびエトキシポリエチレングリコールなど）、分岐ポリプロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ-リシンおよびメトキシポリエチレングリコールのグラフトコポリマー、ペプチド、脂質、脂肪酸、パルミテート、リン脂質、リン脂質-PEG コンジュゲート、炭水化物（デキストラン、アミノ-デキストラン、カルボキシメチル-デキストランなど）、酸化鉄ナノ粒子、ナフチルアラニン、フェニルアラニン、3,3-ジフェニルプロピルアミン、タウリン、ホスホネート、ホスフェート、カルボキシレートおよびポリカルボキシレートからなる群から選択される。

【0113】

ある特定の実施形態において、化学修飾性部分（M）は、水素、スルホネート、ポリスルホネート、スルホンアミド、スルホキシド、スルホン、カルボキシレート、ケトン、ホスホネート、ホスフェート、イミノジアセテート、または以下のラジカル：アルコール、システイン酸、アミン、エチレンジアミン四酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、テトラアザシクロドデカン四酢酸、アミノ酸もしくはポリアミノ酸、オリゴ-もしくはポリエチレングリコール、第 4 級アンモニウムイオン、糖、グルコサミン、ガラクトサミン、マンノサミン、ポリエチレングリコール（PEG）およびその誘導体、分岐ポリプロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ-リシンおよびメトキシポリエチレングリコールのグラフトコポリマー、ペプチド、脂質、脂肪酸、パルミテート、リン脂質、リン脂質-PEG コンジュゲート、炭水化物、ポリビニルピロリドン、酸化鉄ナノ粒子、ナフチルアラニン、フェニルアラニン、3,3-ジフェニルプロピルアミン、タウリン、ホスホネート、ホスフェート、カルボキシレートまたはポリカルボキシレートである。

【0114】

他の実施形態において、化学改質剤（単数または複数）M は、薬剤の非特異的細胞膜透過性を低減する。他の実施形態において、化学改質剤（単数または複数）M は、生きた動物に投与される場合に薬剤の非特異的組織蓄積を低減する。

【 0 1 1 5 】

ある特定の実施形態において、結合またはリンカー部分 (L) は、グリシン、アラニン、
 - アラニン、 $-NH-(CH_2)_n-C(=O)-$ (式中、 $n=1\sim 8$ である)、4
 - アミノメチル安息香酸、システイン酸、グルタミン酸、アミノ - ポリエチレングリコー
 ル - カルボン酸、アミノ - ポリエチレングリコールアミン、エチレンジアミン、プロピレ
 ンジアミン、スペルミジン、スペルミン、ヘキサレンジアミン、ならびにジアミン - アミノ
 酸、例えばホモリシン、リシン、オルニチン、ジアミノ酪酸およびジアミノプロピオン酸
 、コハク酸、グルタル酸、スベリン酸、アジピン酸、アミド、トリアゾール、尿素または
 チオ尿素からなる群から選択される部分のジラジカルを含む。

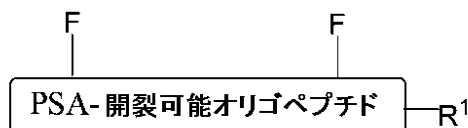
G . 例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の第 3 群

10

【 0 1 1 6 】

本発明の別の態様は、式 I I :

【 化 9 】



20

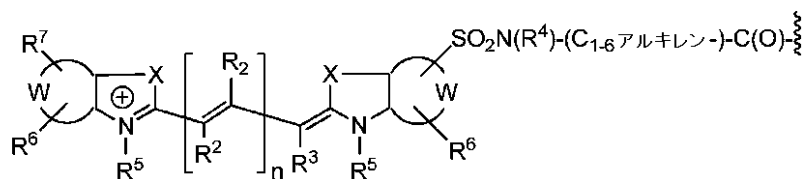
またはその塩 (式中、

R^1 は、水素、 $-(C_{1\sim 6} \text{ アルキレン })$ - メトキシポリエチレングリコール、または
 $-(C_{1\sim 6} \text{ アルキレン })$ - $N(R^*)C(=O)-$ ($C_{1\sim 6}$ アルキレン) - $N(-(C_{1\sim 6}$
 アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール) $C(=O)-$ ($C_{1\sim 6}$ アルキレン
) - メトキシポリエチレングリコールであり、

R^* は、水素または非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキルであり、

F は、出現する毎に独立して、構造式 I I a または I I b を表し :

【 化 1 0 】



30

(IIa)

式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素もしくは非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキルを表すか、または
 2 つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5 員または 6 員の炭
 素環式 (c a r b o c y l i c) 環を形成し、

40

R^3 は、水素もしくは非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキルであるか、または R^3 および隣接する R^2
 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5 員または 6 員の炭素環式環を形成し、

R^4 は、水素または非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキル、非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキル - S
 $O_3^- M^+$ 、または非置換 $C_{1\sim 6}$ アルキル - $S O_3 H$ を表し、

R^6 および R^7 は各々、出現する毎 (e a c h o c c u r r e n c e o c c u r r e
 n c e) に独立して、水素、 $-S O_3 H$ 、または $-S O_3^- M^+$ を表し、

M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、

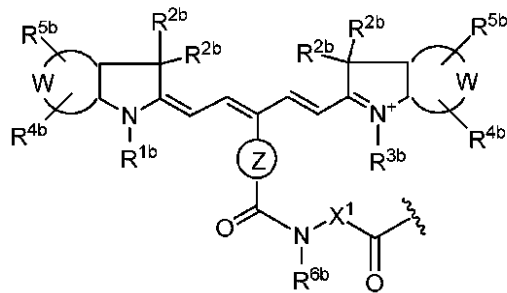
n は、1、2 または 3 であり、

W は、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

50

X は、出現する毎に独立して、 $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、またはSを表し、
 Y_1 および Y_2 は、独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、
 式 I I b は、

【化 1 1】



(IIb)

10

によって表され、

式中、

R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル- $SO_3^-M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル- SO_3H を表し、

R^{2b} は各々、出現する毎に独立して、メチル、エチルまたはプロピルを表し、

20

R^{4b} および R^{5b} は各々、出現する毎に独立して、水素、 $-SO_3H$ 、または $-SO_3^-M^+$ を表し、

R^{6b} は、水素または C_{1-6} 非置換アルキルであり、

Mは、一価のカチオンであるか、または存在せず、

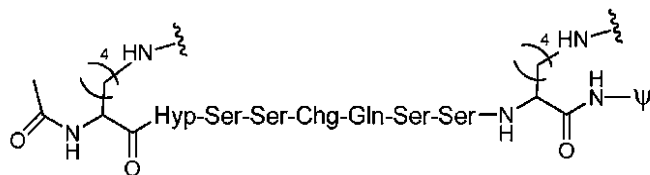
Wは、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

Zは、アリーレンであり、

X^1 は、非置換 C_{1-8} アルキレンであり、

PSA開裂可能オリゴペプチドは、

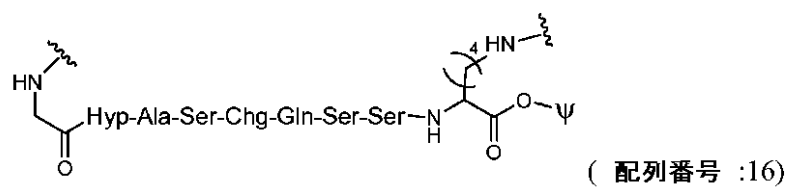
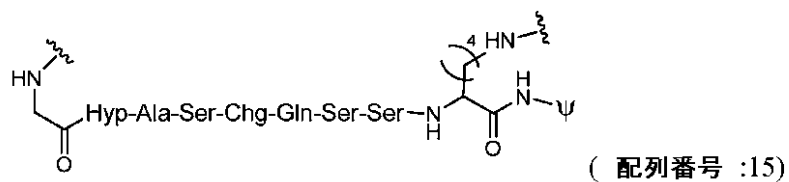
【化 1 2 - 1】



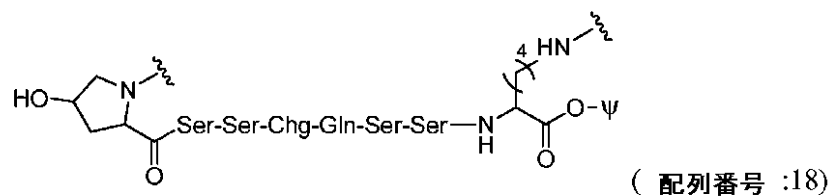
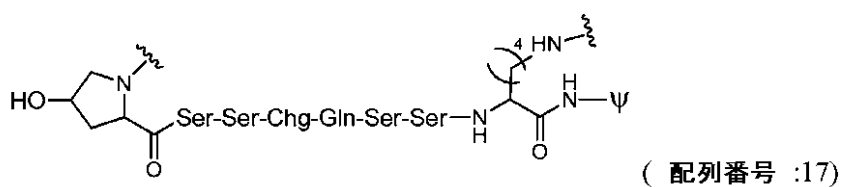
(配列番号 :14)

30

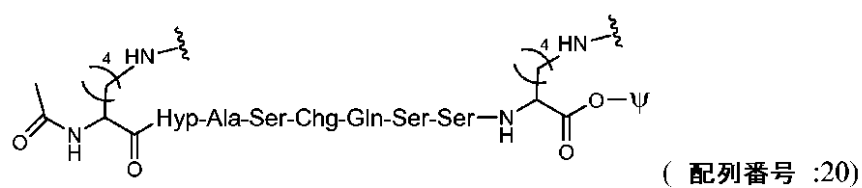
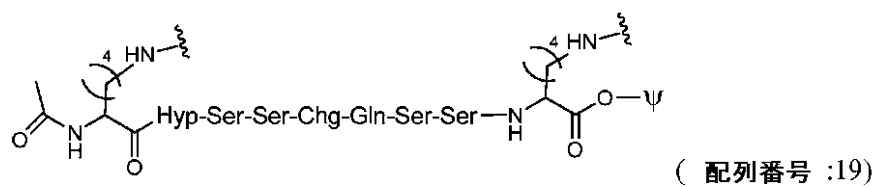
【化 1 2 - 2】



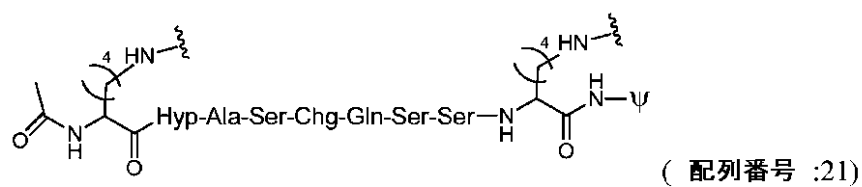
10



20

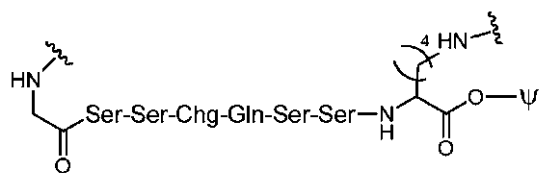


30

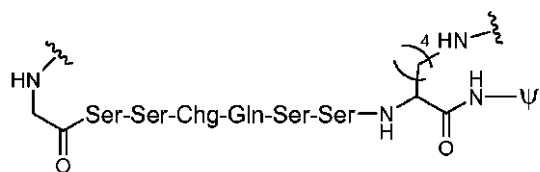


40

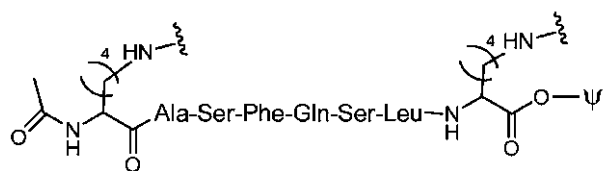
【化 1 2 - 3】



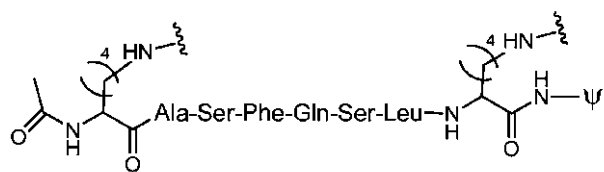
(配列番号 :22)



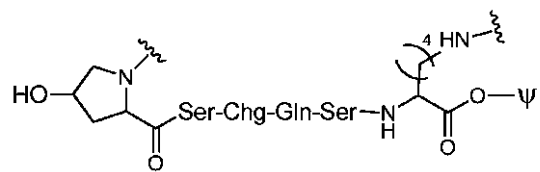
(配列番号 :23)



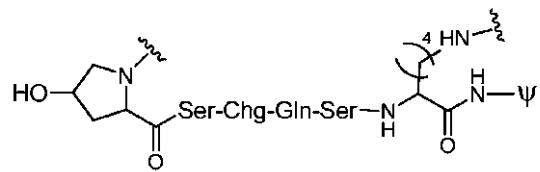
(配列番号 :24)



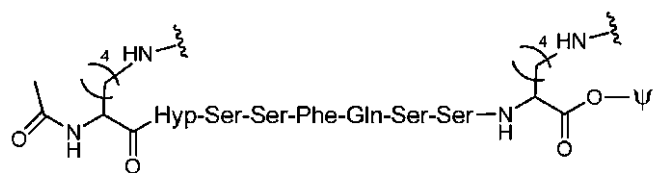
(配列番号 :25)



(配列番号 :26)



(配列番号 :27)



(配列番号 :28)

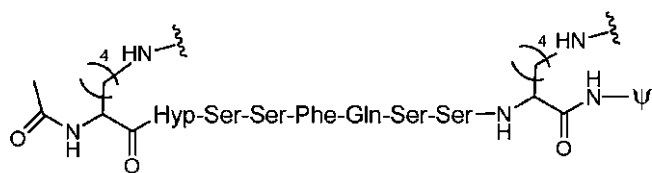
10

20

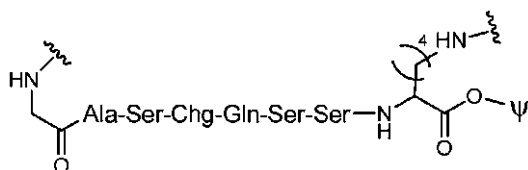
30

40

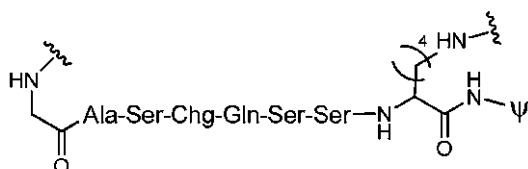
【化 1 2 - 4】



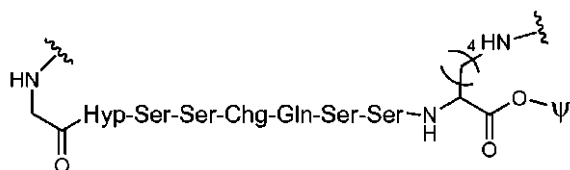
(配列番号 :29)



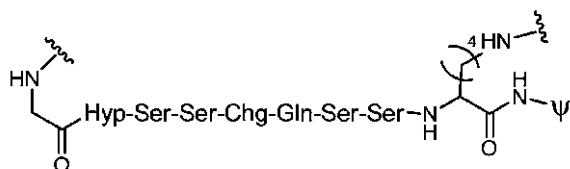
(配列番号 :30)



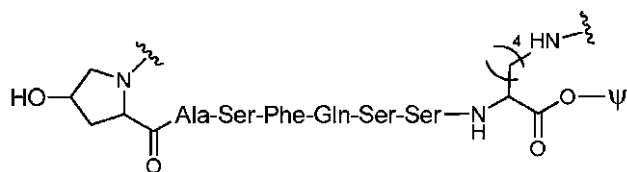
(配列番号 :31)



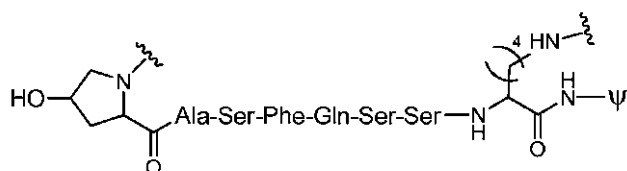
(配列番号 :32)



(配列番号 :33)



(配列番号 :34)



(配列番号 :35);

の1つであり、ここで、 R^1 は、 R^1 への共有結合である)
 によって表される前立腺特異的抗原 (P S A) 活性化可能薬剤を提供する。

【 0 1 1 7】

ある特定の実施形態において、Fは構造式 I I a によって表される。ある特定の実施形態において、Wはベンゾ縮合環を表す。ある特定の実施形態において、 R^6 および R^7 は各々、出現する毎に独立して、水素または $-SO_3H$ を表す。

【 0 1 1 8】

ある特定の実施形態において、Fは、以下の構造式：

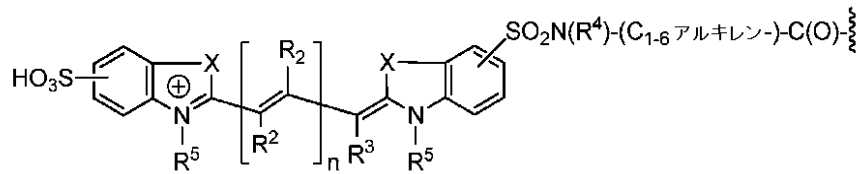
10

20

30

40

【化 1 3】



(式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルを表すか、または2つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の炭素環式環を形成し、

R^3 は、水素もしくは非置換 C_{1-6} アルキルであるか、または R^3 および隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員もしくは6員の炭素環式環を形成し、

R^4 は、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ または非置換 C_{1-6} アルキル - SO_3H を表し、

Mは、一価のカチオンであるか、または存在せず、

nは、1、2または3であり、

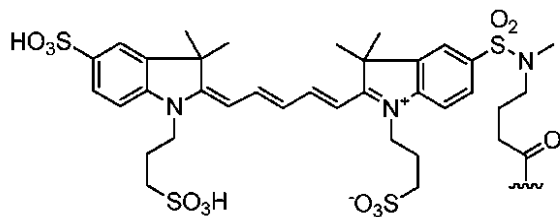
Xは、 $C(CH_3)_2$ または $C(CH_2CH_3)_2$ である)

によって表される。

【0119】

ある特定の実施形態において、 R^2 および R^3 は水素である。ある特定の実施形態において、 R^4 はメチルである。ある特定の実施形態において、nは2または3である。ある特定の実施形態において、Xは $C(CH_3)_2$ である。ある特定の実施形態において、Fは、以下の構造式：

【化 1 4 - 1】

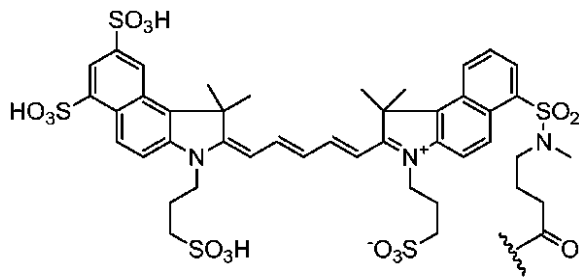


10

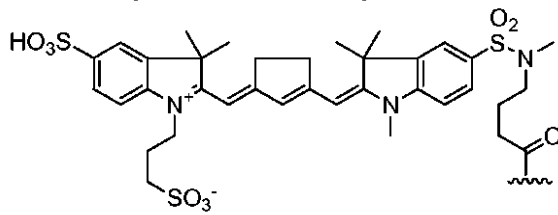
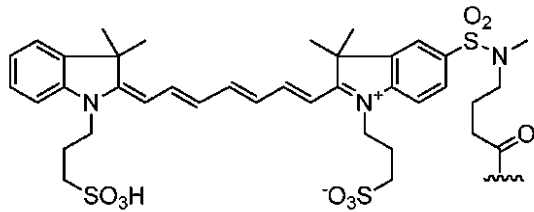
20

30

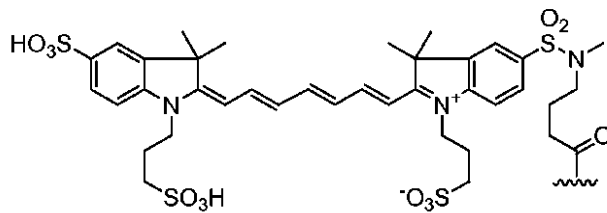
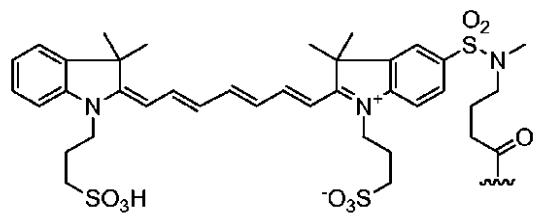
【化 1 4 - 2】



10



20



30

の 1 つによって表される。

【 0 1 2 0】

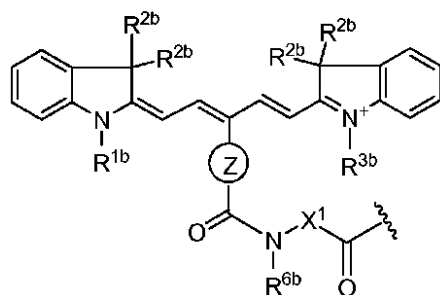
ある特定の他の実施形態において、Fは構造式 I I b によって表される。ある特定の
実施形態において、Wはベンゾ縮合環を表す。ある特定の実施形態において、R^{4b}および
R^{5b}は各々、出現する毎に独立して、水素または -SO₃Hを表す。

【 0 1 2 1】

ある特定の実施形態において、Fは、以下の構造式：

40

【化 15】



10

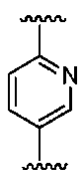
(式中、
 R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、
 R^{2b} は、出現する毎に独立して、メチルまたはエチルを表し、
 R^{6b} は、水素またはメチルであり、
 M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、
 Z は、アリーレンであり、
 X^1 は、非置換 C_{1-6} アルキレンである)
 によって表される。

20

【 0 1 2 2 】

ある特定の実施形態において、 R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表す。ある特定の実施形態において、 R^{2b} はメチルである。ある特定の実施形態において、 R^{6b} は水素である。ある特定の実施形態において、 Z は 6 員の複素芳香族ジラジカルである。ある特定の実施形態において、 Z は、

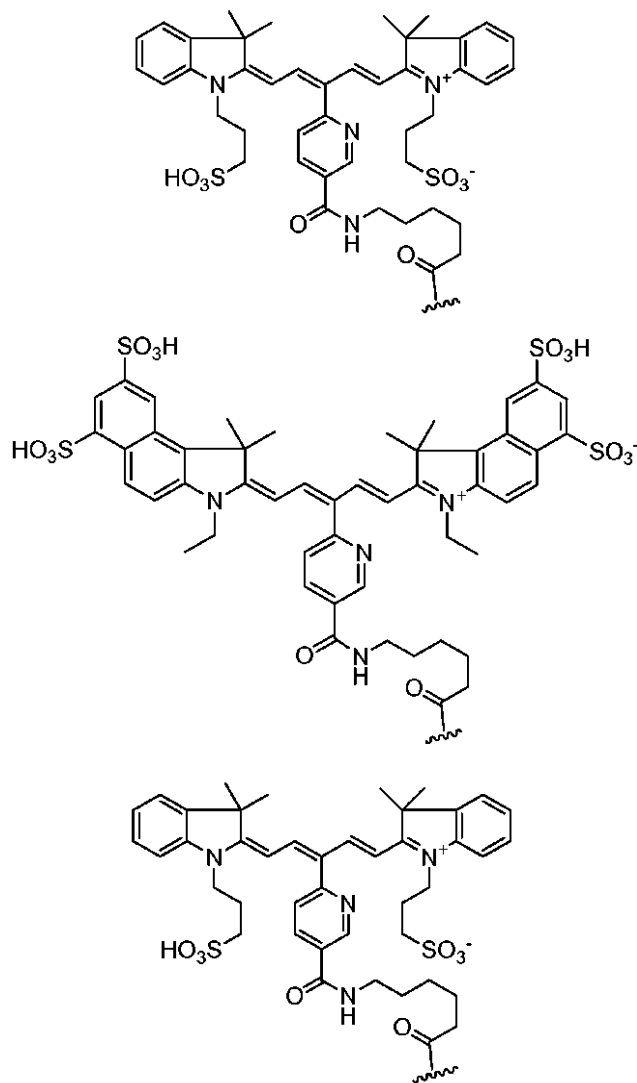
【化 16】



30

である。ある特定の実施形態において、 X^1 は $-(CH_2)_4-$ 、 $-(CH_2)_5-$ 、または $-(CH_2)_6-$ である。ある特定の実施形態において、 F は、以下の構造式：

【化 1 7】



10

20

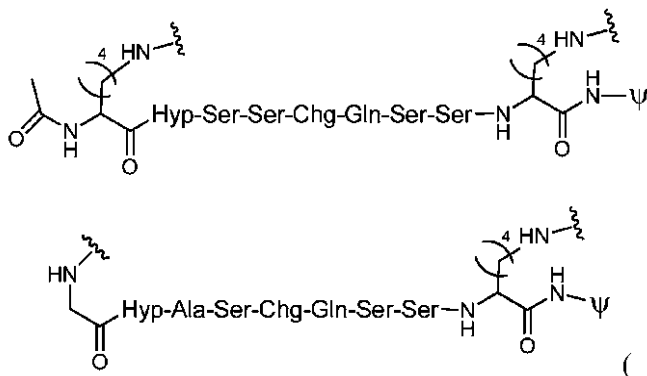
30

の 1 つによって表される。

【 0 1 2 3】

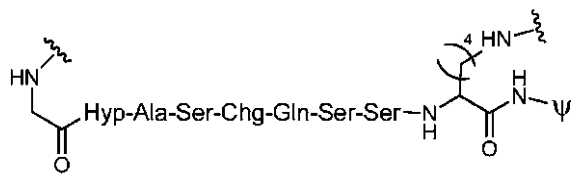
ある特定の実施形態において、P S A 開裂可能オリゴペプチドは、

【化 1 8 - 1】



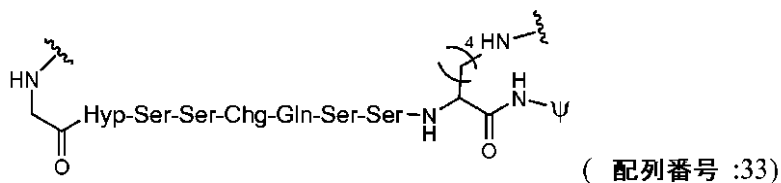
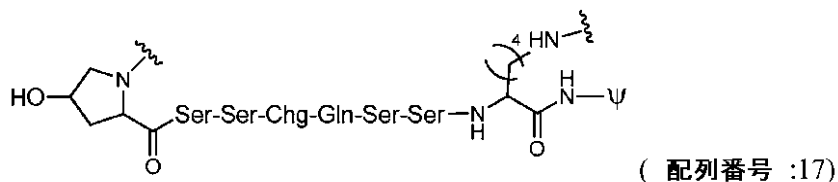
(配列番号 :14)

40



(配列番号 :15)

【化 18 - 2】



10

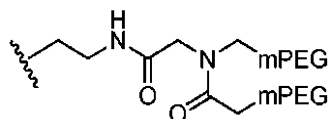
の 1 つである。

【 0 1 2 4】

ある特定の実施形態において、 R^1 は - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - $N(R^*)C(O)$ - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - $N(- (C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコール) $C(O)$ - ($C_{1 \sim 6}$ アルキレン) - メトキシポリエチレングリコールである。ある特定の実施形態において、 R^1 は、

【化 19】

20



である。ある特定の実施形態において、メトキシポリエチレングリコールは、約 5,000 g/mol から約 30,000 g/mol の重量平均分子量を有する。ある特定の実施形態において、メトキシポリエチレングリコールは、約 20,000 g/mol の重量平均分子量を有する。

【 0 1 2 5】

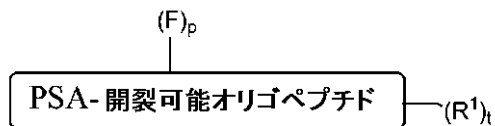
ある特定の他の実施形態において、 R^1 は水素である。

30

【 0 1 2 6】

本発明の別の態様は、式 III によって表される前立腺特異的抗原 (PSA) 活性化可能薬剤：

【化 20】



(III)

40

またはその塩 (式中、

p は、1、2、3、4 または 5 であり

t は、1、2、3 または 4 であり

PSA 開裂可能オリゴペプチドは、

Ac - Lys - Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys - NH_2 (配列番号 1)、

Gly - Hyp - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys - NH_2 (配列番号 2)、

Gly - Hyp - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号

50

3)、
 Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号4)、
 Ac - Lys - Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号5)、
 Ac - Lys - Hyp - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号6)、
 Gly - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号7)、
 Gly - Ser - Ser - Phe - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号8)、
 Ac - Lys - Ala - Ser - Phe - Gln - Ser - Leu - Lys (配列番号9)
)、
 Hyp - Ser - Chg - Gln - Ser - Lys (配列番号10)、
 Ac - Lys - Hyp - Ser - Ser - Phe - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号11)、
 Gly - Ala - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号12)、
 および
 Gly - Hyp - Ser - Ser - Chg - Gln - Ser - Ser - Lys (配列番号13)

10

から選択されるオリゴペプチドの単原子価または多原子価のラジカルであり、

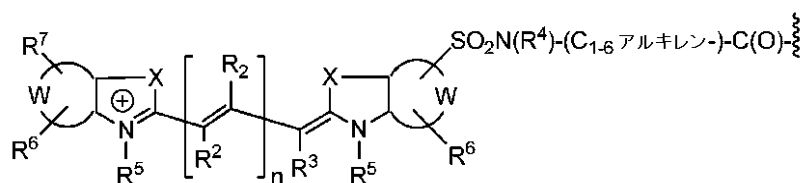
R^1 は、水素、 $-(C_{1-6} \text{ アルキレン})$ -メトキシポリエチレングリコール、または
 $-(C_{1-6} \text{ アルキレン})-N(R^*)C(O)-(C_{1-6} \text{ アルキレン})-N(-(C_{1-6} \text{ アルキレン})-$
 $-メトキシポリエチレングリコール)C(O)-(C_{1-6} \text{ アルキレン})$
 $-メトキシポリエチレングリコール$ であり、

20

R^* は、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

F は、出現する毎に独立して、構造式 III a または III b を表し：

【化 2 1】



30

(IIIa)

式中、

R^2 は、出現する毎に独立して、水素もしくは非置換 C_{1-6} アルキルを表すか、または
 2つの隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の炭
 素環式環を形成し

R^3 は、出現する毎に独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルを表すか、または R_3
 および隣接する R^2 は、それらが結合している原子と一緒にあって、5員または6員の
 炭素環式環を形成し、

40

R^4 は、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

R^5 は、出現する毎に独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

R^6 および R^7 は各々、出現する毎に独立して、水素、 $-SO_3 H$ 、または $-SO_3^- M^+$
 を表し、

M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、

n は、1、2または3であり、

W は、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

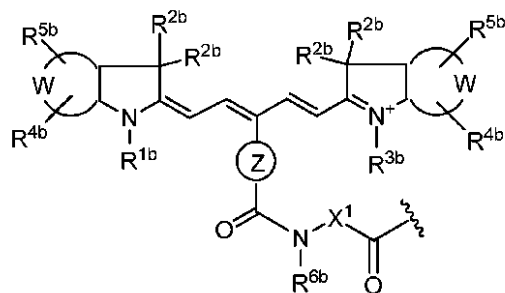
X は、出現する毎に独立して、 $C(CH_2 Y_1)(CH_2 Y_2)$ 、O、または S を表し、

Y_1 および Y_2 は、独立して、水素または非置換 C_{1-6} アルキルであり、

50

式 III b は、

【化 2 2】



(IIIb)

10

によって表され、

式中、

R^{1b} および R^{3b} は各々、独立して、非置換 C_{1-6} アルキル、非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3^- M^+$ 、または非置換 C_{1-6} アルキル - $SO_3 H$ を表し、

R^{2b} は各々、出現する毎に独立して、メチル、エチルまたはプロピルを表し、

R^{4b} および R^{5b} は各々、出現する毎に独立して、水素、 $-SO_3 H$ 、または $-SO_3^- M^+$ を表し、

20

R^{6b} は、水素または C_{1-6} 非置換アルキルであり、

M は、一価のカチオンであるか、または存在せず、

W は、ベンゾ縮合環、ナフト縮合環またはピリド縮合環を表し、

Z は、アリーレンであり、

X^1 は、非置換 C_{1-8} アルキレンである)

を提供する。

【0127】

式 II および III についての上記の記載は、複数の実施形態を記載する。実施形態の全ての組合せは、明確に企図される。さらに、上記の式 II における可変物の定義は複数の化学基を包含するので、本出願は、例えば、(i) 可変物の定義が、上記で説明されているような化学基から選択される単一の化学基である実施形態、(ii) 定義が、上記で説明されているものから選択される化学基の 2 つまたは 2 つより多くを集めたものである実施形態、および (iii) 化合物が、(i) または (ii) によって定義されている可変物の組合せによって定義される実施形態を企図する。

30

H. 例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤

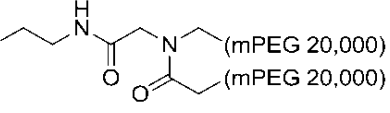
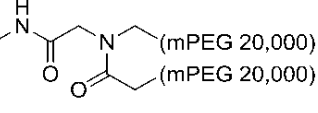
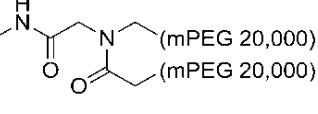
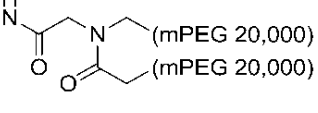
【0128】

有用な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、当技術分野において公知の標準的な化学的性質を使用する、上文において記載されている前立腺特異的抗原ターゲティング部分、イメージングレポーター、生物学的改質剤およびリンカーの 1 つまたは複数を使用して創出することができる。特別な用途に依存して、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、水溶性または水分散性である (すなわち、水性または生理学的媒体溶液中で十分に可溶性または懸濁可能である) ように設計することができる。前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、好ましくは、任意の所望でない光毒性特性を有さず、および / または低い血清タンパク質結合親和性を呈する。例示的な特定の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、表 4 にリストされている。ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、表 4 にリストされている前立腺特異的抗原活性化可能薬剤またはその塩である。

40

【表 4】

表 4.*

化合物 番号	化学構造	
A1	Ac-Lys(F2*)-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F2*)-NH ₂ (配列番号 36)	
A2	F4*-Gly-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F4*)-NH ₂ (配列番号 37)	
A3	F2*-Gly-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F2*)-NH-(mPEG 20,000) (配列番号 38)	10
A4	Ac-lys(F4*)-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F4*)-NH-(mPEG 20,000) (配列番号 39)	
A5	F8*-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F8*)-NH-(mPEG 10,000) (配列番号 40)	
A6	Ac-lys(F8*)-Hyp-Ala-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F8*)-NH-(mPEG 10,000) (配列番号 41)	
A7	Ac-lys(F4*)-Hyp-Ser-Ser-Phe-Gln-Ser-Ser-Lys(F4*)-NH-(mPEG 20,000) (配列番号 42)	
A8	F2*-Hyp-Ala-Ser-Phe-Gln-Ser-Ser-Lys(F2*)-NH-(mPEG 20,000) (配列番号 43)	20
A9	F1*-Gly-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F1*)-N(H)  (mPEG 20,000) (配列番号 44)	
A10	Ac-lys(F8*)-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F8*)-N(H)  (mPEG 20,000) (配列番号 45)	
A11	Ac-lys(F4*)-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F4*)-N(H)  (mPEG 20,000) (配列番号 46)	30
A12	F2*-Gly-Hyp-Ser-Ser-Chg-Gln-Ser-Ser-Lys(F2*)-N(H)  (mPEG 20,000) (配列番号 47)	

化学構造の F*部分の構造は、表 4A で下記に提供されている。F*部分は、示されているアミノ酸残基に共有結合によって結合されることで、アミド連結を形成する。

【表 4 A】

表 4A.

番号	蛍光団構造
F1*	
F2*	
F4*	
F8*	

10

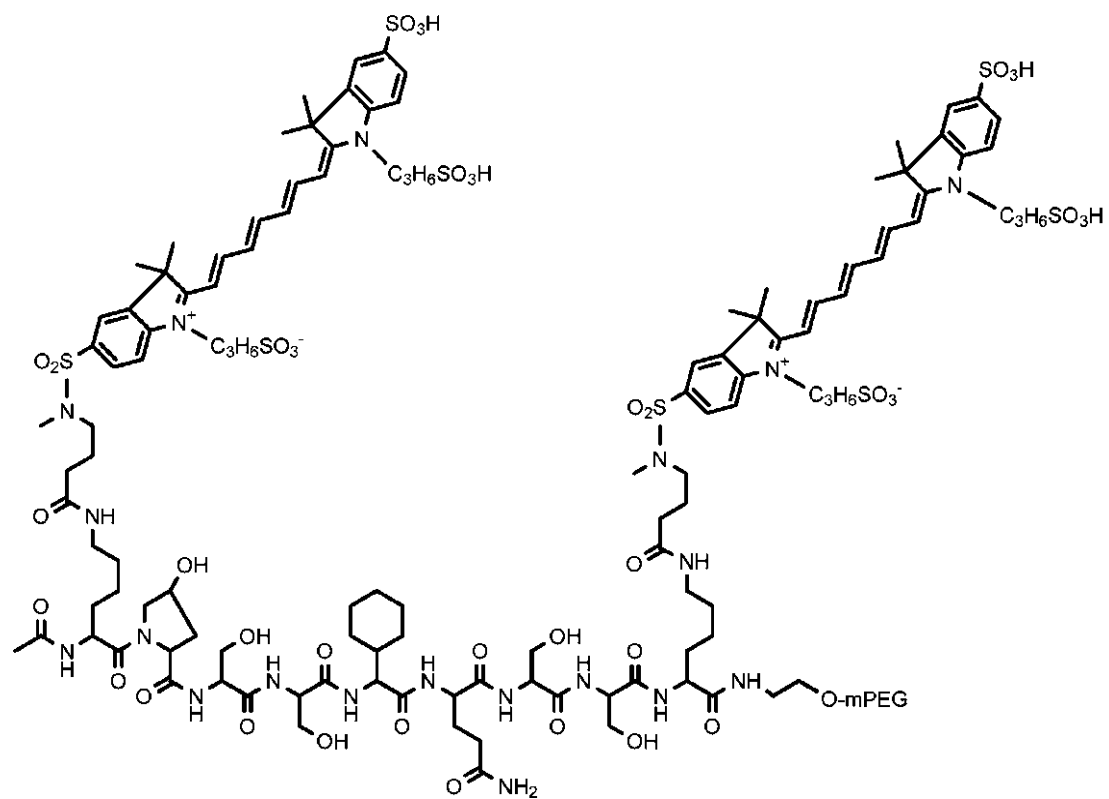
20

30

【 0 1 2 9 】

例示的な前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、以下またはその塩を含むことができる：

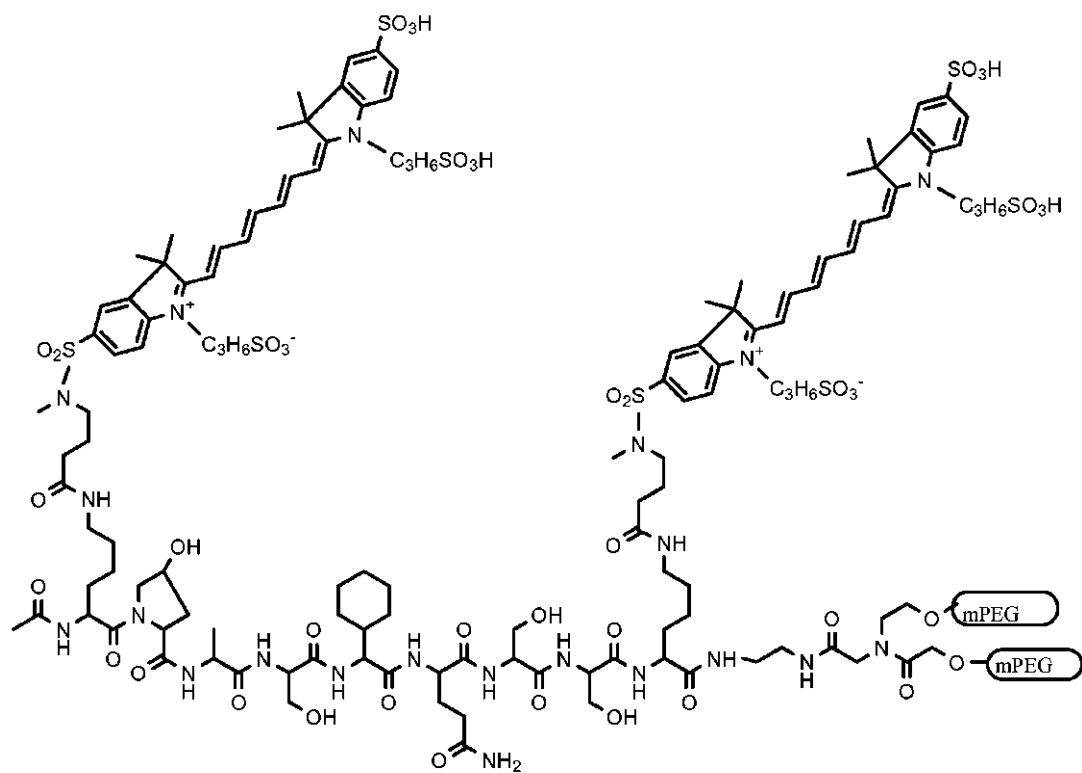
【化 2 3 - 1】



10

20

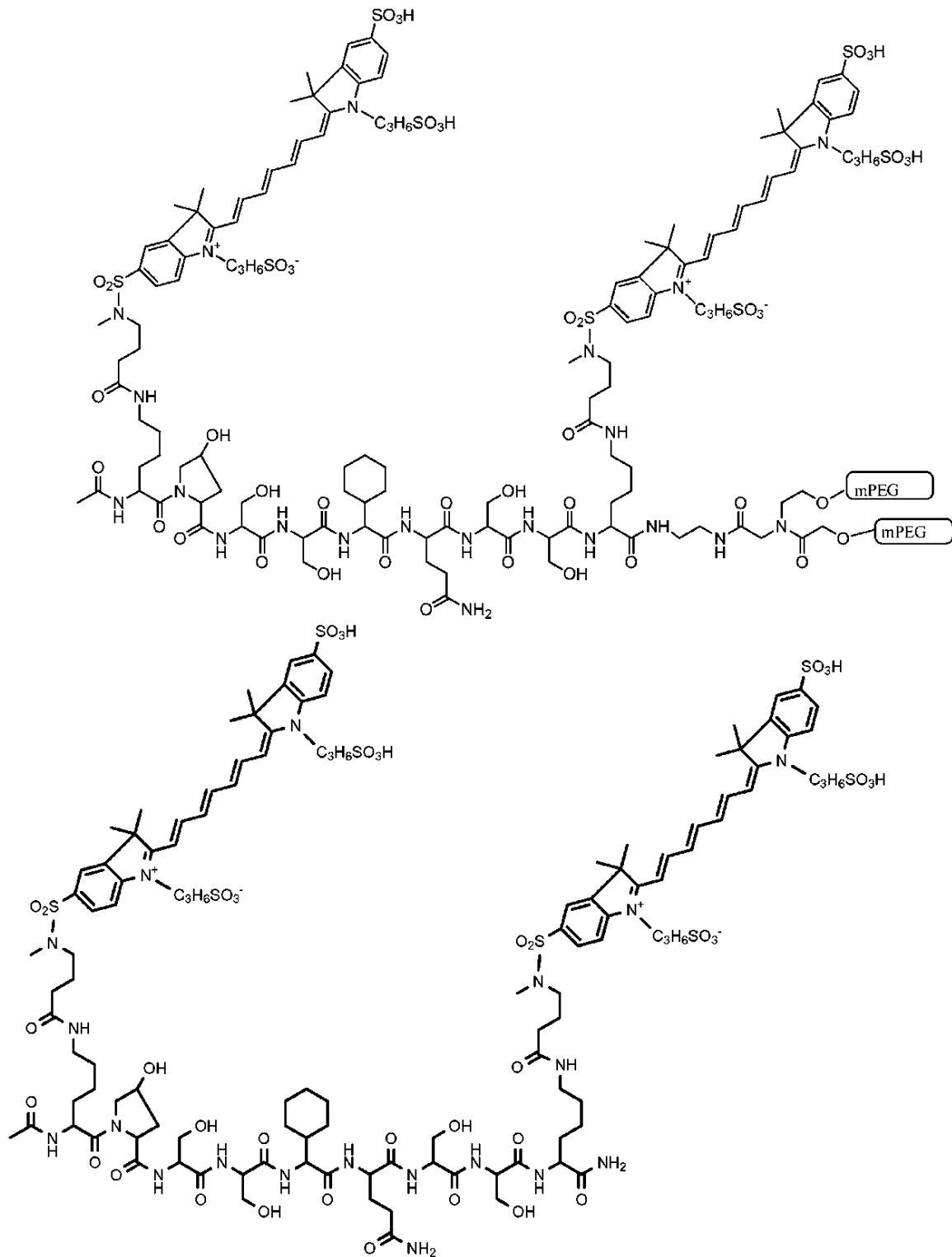
【化 2 3 - 2】



30

40

【化 2 3 - 3】



【0130】

本明細書において開示されているイメージング剤は、被験体、例えば動物および/またはヒトへの投与に適切な医薬組成物中に製剤化することができる。医薬組成物は、生理的に関連のある担体中に1種または複数のイメージング剤および1種または複数の賦形剤、例えば安定剤を含むことができる。

【0131】

in vivo 使用のため、本発明の組成物は、被験体、例えば動物またはヒトへの投

10

20

30

40

50

与に適当な製剤中に提供することができる。したがって、製剤は、投与の所望の形態および/または用量に適当な生理的に関連のある担体と一緒に薬剤を含む。「生理的に関連のある担体」という用語は、薬剤が分散、溶解、懸濁、添加混合されるとともに生理学的に忍容性のある、すなわち、過度の不快感、または刺激、または毒性なく被験体の身体へ、その中にまたは上に投与することができる担体を意味すると理解される。好ましい担体は、流体、好ましくは液体、より好ましくは水溶液であるが、しかしながら、固体製剤、局所製剤、吸入製剤、点眼用製剤および経皮製剤のための担体も、本発明の範囲内であると企図される。

【0132】

薬剤は、経口的または非経口的に投与することができることが企図されている。非経口投与のため、薬剤は、静脈内、筋肉内、皮膚、経皮、皮下、直腸的、経鼻的、経膈的および眼球に投与することができる。したがって、組成物は、例えば、固体錠剤、カプセル、ピル、凍結乾燥粉末を含む散剤、コロイド懸濁液、微小球、リポソーム顆粒状体、懸濁液、エマルジョン、溶液、ヒドロゲルを含むゲル、ペースト、軟膏、クリーム、硬膏剤、灌注溶液、水薬、浸透圧送達装置、坐剤、浣腸、注入剤、移植片、スプレーまたはエアロゾルの形態であってよい。医薬組成物は、従来の医学診療に従って製剤化することができる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第20版、2000年、編集者A. R. Gernaro、Lippincott Williams & Wilkins、Philadelphia、およびEncyclopedia of Pharmaceutical Technology、編集者J. SwarbrickおよびJ. C. Boylan、1988~1999年、Marcel Dekker、New Yorkを参照されたい）。

【0133】

薬剤の製剤、投与のモードの選択、被験体に投与される薬剤の投与量、ならびに薬剤の投与とイメージングとの間のタイミングは、当技術分野における技能のレベル内であることが理解される。

II. 適用

【0134】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、様々なイメージング用途および治療的用途において使用することができることが理解される。

A. 一般のイメージング方法

【0135】

本発明は、本明細書において開示されているイメージング剤を使用するin vitroおよびin vivoイメージングのための方法を提供する。光学イメージング技法の概説については、例えば、Alfanoら、Ann. NY Acad. Sci. 820巻: 248~270頁(1997年); Weissleder、Nature Biotechnology 19巻、316~317頁(2001年); Ntziachristosら、Eur. Radiol. 13巻: 195~208頁(2003年); Gravesら、Curr. Mol. Med. 4巻: 419~430頁(2004年); Citrinら、Expert Rev. Anticancer Ther. 4巻: 857~864頁(2004年); Ntziachristos、Ann. Rev. Biomed. Eng. 8巻: 1~33頁(2006年); Kooら、Cell Oncol. 28巻: 127~139頁(2006年); およびRaoら、Curr. Opin. Biotechnol. 18巻: 17~25頁(2007年)を参照されたい。

【0136】

光学イメージングとしては、任意の装置の使用ならびに様々なスコープ、カテーテルおよび光学イメージング装置などの装置、例えば断層撮影表示のためのコンピューターベースのハードウェアの使用がない直接可視化からの全ての方法が挙げられる。イメージング剤は、限定されないが以下を含む光学イメージングモダリティおよび測定技法に有用である: 内視鏡検査; 蛍光内視鏡検査; 発光イメージング; 時間分割透過イメージング; 透過

10

20

30

40

50

イメージング；非線形顕微鏡法；共焦点イメージング；音響 - 光学イメージング；光音響イメージング；反射率分光法；分光法；コヒーレンス干渉法；干渉法；光学コヒーレンス断層撮影；拡散光学断層撮影および蛍光媒介分子断層撮影（連続波、時間ドメイン周波数ドメインシステムおよび初期光子）、ならびに光散乱、吸収、偏光、発光、蛍光寿命、量子収率およびクエンチングの測定。

【0137】

本発明の実施において有用なイメージングシステムは、典型的に、以下の3つの基礎的構成要素を含む：（1）イメージング剤の励起を誘発するための適切な光供給源、（2）蛍光団励起のために使用される光からの放出物を分離または区別するためのシステム、および（3）検出システム。検出システムは、携帯用であるか、または術中顕微鏡などの他の有用なイメージング装置に組み込むことができる。例示的な検出システムとしては、内視鏡機器、カテーテル、断層撮影システム、携帯用イメージングシステム、または術中顕微鏡が挙げられる。

10

【0138】

好ましくは、光供給源は、単色の（または実質的に単色の）光を提供する。光供給源は、適当にフィルタリングされた白色光、すなわち広帯域供給源からの帯域通過光であってよい。例えば、150ワットのハロゲンランプからの光は、Omega Optical（Brattleboro、VT）から市販されている適当な帯域通過フィルターの中を通過させることができる。システムに依存して、光供給源はレーザーであってよい。例えば、Boasら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、91巻：4887～4891頁、1994年；Ntziachristosら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、97巻：2767～2772頁、2000年；およびAlexander、J. Clin. Laser Med. Surg.、9巻：416～418頁、1991年を参照されたい。イメージング用レーザーについての情報は、例えば、Imaging Diagnostic Systems、Inc.、Plantation、FLおよび様々な他の供給源で見出すことができる。高通過または帯域通過フィルターが使用されることで、励起光からの光学発光を分離することができる。適当な高通過または帯域通過フィルターは、Omega Optical、Burlington、VTから市販されている。

20

【0139】

一般に、光検出システムは、集光／画像形成構成要素および光／シグナル検出／画像記録構成要素を含むと見なすことができる。光検出システムは両構成要素を組み込む単一集積装置であってよいが、集光／画像形成構成要素および光検出／画像記録構成要素は別々に考察される。

30

【0140】

特に有用な集光／画像形成構成要素は、内視鏡機器である。腹膜（Gahlenら、J. Photochem. Photobiol. B52巻：131～135頁、1999年）、卵巣がん（Majorら、Gynecol. Oncol. 66巻：122～132頁、1997年）、結腸および直腸（Mycekら、Gastrointest. Endosc. 48巻：390～394頁、1998年；およびSteppら、Endoscopy 30巻：379～386頁、1998年）、胆管（Izuishira、Hepatogastroenterology 46巻：804～807頁、1999年）、胃（Abeら、Endoscopy 32巻：281～286頁、2000年）、膀胱（Kriegmaierら、Urol. Int. 63巻：27～31頁、1999年；およびRiedlら、J. Endourol. 13巻：755～759頁、1999年）、肺（Hirschら、Clin Cancer Res 7巻：5～220頁、2001年）、脳（Ward、J. Laser Appl. 10巻：224～228頁、1998年）、食道、および頭頸部領域を含めて、多数の組織および器官のin vivo光学イメージングのために使用されてきた内視鏡装置および技法が、本発明の実施において用いることができる。

40

50

【0141】

集光構成要素の他の型は、光ファイバー装置を含めて、カテーテルベースの装置である。こうした装置は、血管内イメージングに特に適当である。例えば、Tearneyら、Science 276巻：2037～2039頁、1997年；および Circulation 94巻：3013頁、1996年を参照されたい。

【0142】

フェーズドアレイ技術(Boasら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91巻：4887～4891頁、1994年；Chance、Ann. NY Acad. Sci. 838巻：29～45頁、1998年)、光学断層撮影(Chengら、Optics Express 3巻：118～123頁、1998年；およびSiegelら、Optics Express 4巻：287～298頁、1999年)、生体内顕微鏡法(Dellianら、Br. J. Cancer 82巻：1513～1518頁、2000年；Monskyら、Cancer Res. 59巻：4129～4135頁、1999年；およびFukumuraら、Cell 94巻：715～725頁、1998年)、共焦点イメージング(Korlachら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96巻：8461～8466頁、1999年；Rajadhyakshara、J. Invest. Dermatol. 104巻：946～952頁、1995年；およびGonzalezら、J. Med. 30巻：337～356頁、1999年)および蛍光分子断層撮影(FMT)(Nziachristosら、Nature Medicine 8巻：757～760頁、2002年；米国特許第6,615,063号、PCTWO03/102558、およびPCTWO03/079015)を含めて、また他のイメージング技術が、本発明のイメージング剤とともに使用することができる。同様に、イメージング剤は、様々なイメージングシステム、例えば、(1)IVIS(登録商標)Imaging Systems:100 Series、200 Series(Xenogen、Alameda、CA)、(2)SPECTRUMおよびLUMINA(Xenogen、Alameda、CA)、(3)SoftScan(登録商標)またはExplore Optix(商標)(GE Healthcare、United Kingdom)、(4)Maestro(商標)およびNuance(商標)-2 Systems(CRI、Woburn、MA)、(5)Carestream Molecular Imaging、Rochester、NYからのImage Station In-Vivo FX(以前のKodak Molecular Imaging Systems)、(6)OV100、IV100(Olympus Corporation、Japan)、(7)Cellvizio Mauna Kea Technologies、France)、(8)JNanoSPECT/CTまたはHiSPECT(Bioscan、Washington、DC)、(9)CTLM(登録商標)またはLILA(商標)(Imaging Diagnostic Systems、Plantation、FL)、(10)DYNOT(商標)(NIRx Medical Technologies、Glen Head、NY)、および(11)Berthold Technologies、GermanyによるNightOWL Imaging Systemsにおいて使用することができる。

【0143】

様々な光検出/画像記録構成要素、例えば、電荷結合素子(CCD)システムまたは写真フィルムが、こうしたシステムにおいて使用することができる。光検出/画像記録の選択は、使用されている集光/画像形成構成要素の型を含む因子に依存する。しかしながら、適当な構成要素、それらを光学イメージングシステムに構築すること、およびシステムを操作することの選択は、当技術分野における通常技能内であることが理解される。

【0144】

磁気特性を有する薬剤のため、当技術分野において周知のMRIイメージングも、本発明の実施において適用することができる。MRI技法の概説について、Westbroo

10

20

30

40

50

k、Handbook of MRI Technique、第2版、1999年、Blackwell Scienceを参照されたい。例えば光学イメージングおよび磁気共鳴画像法によって得られる画像は、互いに共同登録または融合され得ることで、イメージングされている物について追加の情報を提供することが可能である。さらに、マルチモダリティイメージングシステム（すなわち、組み合わせた光学およびMRイメージングシステム）が使用されることで、組み合わせた光学MR画像を創出することができる。

【0145】

加えて、本発明の組成物および方法は、他のイメージング組成物および方法のために使用することができる。

【0146】

加えて、本発明の組成物および方法は、他のイメージング組成物および方法との組合せで使用することができる。例えば、本発明の薬剤は、光学イメージングプロトコル単独、またはX線、コンピューター断層撮影（CT）、MRイメージング、超音波、ポジトロン放出断層撮影法（PET）および単一光子コンピューター断層撮影（SPECT）などの他の伝統的なイメージングモダリティとの組合せのいずれかによって、イメージングすることができる。例えば、本発明の組成物および方法は、CTまたはMRIとの組合せで使用されることで、例えば別のイメージングモダリティによって生じた画像との同時登録によって、解剖学的および分子の情報の両方を同時に得ることができる。本発明の組成物および方法は、X線、CT、PET、超音波、SPECTならびに他の光学およびMRコントラスト剤との組合せにおいても使用することができ、または代替として、本発明の薬剤は、CT、PET、SPECTおよびMRイメージングモダリティを光学イメージングとの組合せで使用して検出することができるヨウ素、ガドリニウム原子および放射性同位元素などのイメージング剤も含むことができる。イメージング剤は、薬剤に連結または組み込むことができる。

（i）in vivoイメージング方法

【0147】

光学in vivoイメージングに関して、こうした方法は、（a）本明細書に記載されている前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数を被験体に投与すること、（b）薬剤が被験体内に分布するのを可能にする十分な時間を可能にすること、および（c）前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む。薬剤によって放出されるシグナルは、画像、例えば断層撮影画像を構築するために使用することができる。前述のステップは、所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の放出シグナルの評価を可能にすることができる。

【0148】

別のin vivoイメージング方法において、方法は、（a）蛍光色素を含有する、本明細書に記載されている前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数を被験体に投与すること；（b）前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が被験体内に分布するのを可能にするのに十分な時間を可能にすること；（c）蛍光色素によって吸収可能な波長の光に被験体を曝露すること、および（d）前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む。前述のステップは、所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の放出シグナルの評価を可能にすることができる。照射ステップおよび/または検出ステップ（それぞれ、ステップ（c）および（d））は、内視鏡機器、カテーテル、断層撮影システム、平面システム、携帯用イメージングシステム、ゴーグル、または術中顕微鏡を使用して行うことができる。

【0149】

これらのステップ前またはステップ中、検出システムは、被験体（例えば、動物またはヒト）の周辺または近傍に位置されて、被験体から放出されるシグナルを検出することができる。放出シグナルは、画像、例えば断層撮影画像を構築するように加工することがで

きる。加えて、加工されたシグナルは、いずれか単独での画像または融合された（組み合わせた）画像として表示することができる。

【0150】

加えて、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を同時に含む1つ、2つまたはそれより多くの分子イメージングプローブを選択的に検出およびイメージングする *in vivo* イメージング方法を実施することが可能である。こうした手法において、例えば上に注記されているステップ（a）において、シグナル特性が互いに区別可能である2つまたは2つより多くのイメージングプローブが、同時または順次のいずれかで被験体に投与され、ここで、分子イメージングプローブの少なくとも1つは、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤である。複数のプローブの使用は、複数の生物学的プロセス、機能または標的の記録を可能にする。

10

【0151】

被験体は、脊椎動物、例えば哺乳動物、例えばヒトであってよい。被験体は、実験室研究調査において使用される非脊椎動物（例えば、*C. elegans*、ショウジョウバエ、または別のモデル研究調査生物体など）であってもよい。

【0152】

こうした *in vivo* イメージング手法によって提供される情報、例えば放出シグナルの存在、非存在またはレベルは、被験体における疾患を検出および/またはモニタリングするために使用することができる。例示的な疾患としては、限定せずにがんが挙げられる。加えて、*in vivo* イメージングは、イメージング剤を使用することによって化合物または治療の効果を判定するために使用することができ、ここで、被験体は、化合物または治療を用いる処置の前後にイメージングされ、対応するシグナル/画像が比較される。

20

【0153】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤で標識された細胞がレシビエントに投与される *in vivo* イメージング方法においても使用することができる。細胞は、*in vivo* または *ex vivo* のいずれかにおいて前立腺特異的抗原活性化可能薬剤で標識することができる。*ex vivo* 手法において、細胞は、被験体からまたは別の供給源から（例えば、別の被験体、細胞培養などから）直接誘導することができる。前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、細胞と混合されることで、細胞に有効に標識することができ、結果として得られた標識細胞は、ステップ（a）において被験体に投与される。ステップ（b）～（d）が次いで、上に記載されている通りに続く。この方法は、T細胞、腫瘍細胞、免疫細胞および幹細胞を含めて、ある特定の細胞型、ならびに他の細胞型の輸送および局在化をモニタリングするために使用することができる。特に、この方法は、細胞ベースの治療をモニタリングするために使用され得る。

30

【0154】

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の製剤、投与のモードの選択、被験体に投与される前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の投与量、および前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の投与とイメージングとの間のタイミングは、当技術分野における技能のレベル内であることが理解される。

40

【0155】

前述の方法は、経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の局在化を追跡すること、または経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の代謝および/または排出における変化または変更を判定することを含めて、多数の徴候を決定するために使用することができる。方法は、以下に限定されないが、効力、最適なタイミング、最適な投薬レベル（個々の患者または試験被験体に対するものも含めて）、および治療の組合せの相乗効果を決定することを含めて、分子事象をイメージングすることによるこうした疾患のための治療、およびこうした治療によってモジュレートされる生物学的経路をたどるために使用することもできる。

【0156】

50

本発明の方法および組成物が使用されることで、医師または外科医が、異形成およびがんなどの疾患の部域を同定および特徴付けすること、正常組織から罹患組織を区別すること、例えば通常のイメージング技術を使用して検出するのが困難である器官内または他の組織内の前立腺がんの特異的領域を検出すること、ならびに特別な処置レジメンのための候補として前記組織をさらに判定するか、または敗血症の可能性など生命予後を計測することを助けることができる。

【0157】

本発明の方法および組成物は、初期疾患を含めて疾患の局在化の検出、特徴付けおよび/もしくは決定、疾患もしくは疾患関連状態の重症度、疾患の段階分け、ならびに/または疾患のモニタリングにおいて使用することもできる。放出シグナルの存在、非存在またはレベルは、疾患状態を示すことができる。

10

【0158】

本発明の方法および組成物は、外科手技、および細胞ベースの治療を含めて薬物治療をモニタリングすることなど、様々な治療的介入をモニタリングおよび/または誘導するためにも使用することができる。本明細書に記載されている方法は、以下に限定されないが、腫瘍のアシドーシスおよび転移、または様々な放射線治療を低減するように設計されているものを含めて、様々な処置レジメンの治療の有効性を判定するために使用することもできる。本発明の方法は、疾患または疾患状態の生命予後において使用することもできる。

【0159】

20

本明細書に記載されている方法および組成物は、そのため、ヒトを含めて被験体における、例えばがん性細胞または組織における上昇した前立腺特異的抗原の存在および/または局在化を検出および/または定量化するため、ならびに器官内の異形成部域の存在を含めて、前立腺特異的抗原の存在および/または局在化を検出および/または定量化するために使用することができる。本明細書に記載されている方法および組成物は、以下に限定されないが、冠動脈および末梢動脈における急性閉塞（すなわち、脆弱性プラーク）のリスクがある部域、膨張する動脈瘤の領域、頸動脈における不安定なプラーク、および虚血性部域を含む新生物発生前疾患/新生物性疾患を含めて、疾患、障害および状態に関連する前立腺特異的抗原を検出および/または定量化するために使用することもできる。本発明の方法および組成物は、新形成、異形成および前立腺がんなどのがんの同定および評価において使用することもできる。方法および組成物は、薬物または薬物様分子が蛍光プローブに化学的に結合している場合に殊に、薬物送達のためおよび薬物送達をモニタリングするために使用することもできる。例示的な薬物分子としては、化学療法剤および細胞分裂阻害剤、ならびに以下に限定されないが、フォトリニ、Lutrin、Antrin、アミノレプリン酸、ヒペリシン、ベンゾポルフィリン誘導体およびポルフィリンを含めて光力学的薬剤が挙げられる。

30

【0160】

加えて、本明細書に記載されている方法および組成物は、被験体における酵素的に活性な前立腺特異的抗原レベルをイメージングするために使用することができる。方法は、本明細書に記載されている前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数の、前立腺特異的抗原イメージングを容易にするのに十分な量を被験体（例えば、ヒトまたは動物）に投与することを含む。薬剤が動物内に分布するかまたはイメージングされるべき部域内に分布するのを可能にするのに十分な時間の後で、薬剤の存在および/または量が決定される。薬剤の存在および/または量が次いで使用されることで、被験体の組織内の上昇した陽性荷電細胞表面の代表的な画像、例えば断層撮影画像を創出することができる。

40

(ii) *in vitro* イメージング方法

【0161】

in vitro イメージングに関して、イメージング剤は、様々な *in vitro* アッセイにおいて使用することができる。例えば、例示的な *in vitro* イメージング方法は、(a) 試料、例えば生物学的試料と、本明細書に記載されている前立腺特異的

50

抗原活性化可能薬剤の1つまたは複数とを接触させること；(b)薬剤(単数または複数)が試料中の生物学的標的と相互作用するのを可能にすること；(c)任意選択により、非結合薬剤を除去すること；および(d)薬剤から放出されるシグナルを検出し、それによって、薬剤が生物学的標的によって活性化されたか、またはそれに結合されたかどうかを決定することを含む。前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が、蛍光色素を含む場合、ステップ(d)は、蛍光色素によって吸収可能な波長の光を試料に照射することで放出シグナルを生成することをさらに含む。

【0162】

薬剤が設計され、合成され、任意選択により製剤化された後、それは、その生物学的特徴および性能特徴を判定するために当業者によって*in vitro*で試験することができる。例えば、培養中で成長させた細胞の異なる型が使用されることで、薬剤の生物学的特徴および性能特徴を判定することができる。薬剤の細胞取込み、結合または細胞局在化は、例えば、蛍光顕微鏡法、FACS分析、免疫組織化学的検査、免疫沈降法、インサイチュハイブリダイゼーション、およびForster共鳴エネルギー伝達(FRET)または蛍光共鳴エネルギー移動を含めて、当技術分野において公知の技法を使用して判定することができる。例として、薬剤は、時間期間の間試料と接触させ、次いで洗浄することで、任意の遊離薬剤を除去することができる。試料は次いで、蛍光薬剤の光学的性質に適合した適切なフィルターが備えられている蛍光顕微鏡など、適切な検出装置を使用して見ることができる。培養またはシンチレーションカウンティングにおける細胞の蛍光顕微鏡は、その上、取込みおよび結合が生じたかどうかを決定するための好都合な手段である。サイトスピン試料などの試料の組織、組織セクションおよび他の型も、薬剤の生物学的特徴および性能特徴を判定するための同様の方式で使用する事ができる。以下に限定されないが、フローサイトメトリー、イムノアッセイ、ハイブリダイゼーションアッセイおよびマイクロアレイ分析を含めて、他の検出方法も使用することもできる。

B. 例示的なイメージング方法

【0163】

本発明の一態様は、(a)前立腺特異的抗原イメージング剤を被験体に投与すること；(b)薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；および(c)前立腺特異的抗原イメージング剤によって放出されるシグナルを検出することを含む*in vivo*イメージングの方法を提供する。

【0164】

本発明の別の態様は、(a)蛍光色素を含む前立腺特異的抗原イメージング剤を被験体に投与すること；(b)薬剤が被験体内に分布するのを可能にすること；(c)蛍光色素によって吸収可能な波長の光に被験体を曝露すること；および(d)薬剤によって放出されるシグナルを検出することを含む*in vivo*光学イメージングの方法を提供する。

【0165】

本発明の別の態様は、薬剤によって放出されるシグナルが、画像を構築するために使用される、*in vivo*イメージングの方法を提供する。他の実施形態において、画像は、断層撮影画像である。ある特定の実施形態において、本発明は、ステップ(a)~(c)が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の放出シグナルの評価を可能にする、*in vivo*光学イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、本発明は、ステップ(a)~(d)が所定の時間間隔で反復され、それによって、経時的に被験体における前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の放出シグナルの評価を可能にする、*in vivo*イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、本発明は、被験体が動物またはヒトである、*in vivo*イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、本発明は、ステップ(a)において、シグナル特性が互いに区別可能である2つまたは2つより多くのイメージングプローブが被験体に投与され、イメージングプローブの少なくとも1つは、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤である、*in vivo*イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、本発明は、照射ステップおよび検出ステップが、内視鏡機器、カテーテ

ル、断層撮影システム、携帯用光学イメージングシステム、または術中顕微鏡を使用して行われる、*in vivo* 光学イメージングの方法である。

【0166】

本発明の別の態様は、放出シグナルの存在、非存在またはレベルが疾患状態を示す、*in vivo* イメージングの方法を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、疾患を検出および/またはモニタリングするために使用される *in vivo* イメージングの方法である。ある特定の実施形態において、疾患は、異形成、新形成、前立腺がんおよびがんからなる群から選択される。本明細書に記載されている薬剤は、前立腺がんを検出するための手段として活性 PSA の部位をイメージングするために使用される。

【0167】

本発明の別の態様は、ステップ (a) において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤で標識された細胞が被験体に投与される、*in vivo* イメージングの方法を提供する。他の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤によって放出されるシグナルは、細胞の輸送および局在化をモニタリングするために使用される。

【0168】

本発明の別の態様は、被験体における酵素的に活性な前立腺特異的抗原レベルをイメージングする方法であって、(a) 薬剤を被験体に投与するステップ；および (b) 薬剤の存在を検出し、それによって、酵素的に活性な前立腺特異的抗原濃度の代表的な画像を生成するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、薬剤を全身的または局所的のいずれかで被験体に投与することを含む、被験体における疾患を処置する方法であって、薬剤が、疾患領域に局所化するとともに有効量の放射線を送達する放射標識を含む方法である。

【0169】

本発明の別の態様は、(a) 試料と薬剤とを接触させること；(b) 薬剤が生物学的標的に結合するのを可能にすること；(c) 任意選択により、非結合薬剤を除去すること；および (d) 薬剤から放出されるシグナルを検出し、それによって、薬剤が生物学的標的に活性化されたか、またはそれに結合されたかを決定することを含む *in vitro* イメージング方法を提供する。他の実施形態において、試料は生物学的試料である。

【0170】

ある特定の実施形態において、化学修飾性基は、薬物または放射線治療部分などの生物活性分子を含む。ある特定の実施形態において、生物活性分子は、以下に限定されないが、酵素的開裂、熱的開裂、酸触媒開裂または光化学的開裂を含めて、生物学的または物理的機序を介して開裂可能であるリンカーを介して薬剤に連結されている。

【0171】

ある特定の好ましい実施形態において、Q は、(i) 置換または非置換のアリール、(ii) 官能化されている置換または非置換のヘテロアリール、(iii) 官能化されている置換または非置換の $C_1 \sim C_{18}$ のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基またはチオアルキル基からなる群から選択することができる。他の実施形態において、Q は存在しない。

【0172】

ある特定の実施形態において、化学修飾性部分、M は、他のタンパク質上の酵素的に活性な前立腺特異的抗原に対する前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の結合選択性を増強する。

【0173】

ある特定の実施形態において、化学修飾性部分、M は、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の非特異的酵素的開裂を低減する。さらに、他の実施形態において、化学修飾性部分、M は、生きた動物に投与される場合に前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の非特異的組織蓄積を低減する。

【0174】

本発明の一態様において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、活性化されると、遠赤

10

20

30

40

50

外または近赤外のスペクトル範囲において蛍光性である。

【 0 1 7 5 】

ある特定の実施形態において、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤は、前立腺特異的抗原ターゲティング部分、L、および/もしくはFまたはそれらの任意の組合せに独立して化学的に連結されている1つまたは複数の化学改質剤をさらに含む。

C . 治療的用途

【 0 1 7 6 】

本明細書に記載されているある特定の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤、例えば、放射標識および薬物分子を含有する薬剤は、特別な疾患または障害の症状を寛解させるかまたは特別な疾患または障害を処置するために使用することができる。方法は、(a) 被験体において治療効果を付与するのに十分な、本明細書に記載されている薬剤の1つまたは複数の量を投与すること；および(b) 薬剤が被験体内に分布するか、またはそうでなければ、処置されるべき被験体の領域に局所化するのに十分な時間を可能にすること、および次いで、(c) 治療剤に依存して、任意選択により、治療効果を付与するための薬剤を活性化することを含む。例えば、治療剤が放射標識される場合、後続の活性化は必要とされない。しかしながら、治療剤が光反応性薬剤、例えば光力学治療に使用される染料である場合、薬剤は、薬剤を活性化する波長を有する光に薬剤を曝露することによって活性化することができる。結果として、薬剤は、目的の状態、例えばがん、免疫障害、炎症性障害および血管障害などを処置するために使用することができる。さらに、薬剤は、被験体における目的の器官または他の領域における異形成を阻害するかまたは被験体内のがん性細胞増殖を低減するために使用することができる。

【 0 1 7 7 】

ここで、例示の目的のためだけに、および本発明の範囲を限定する意図なく示される以下の実施例の手段によって、本発明を例示する。

III . 医薬組成物

【 0 1 7 8 】

本明細書に記載されている薬剤は、1種または複数の薬学的に許容される担体(添加剤)および/または希釈剤とともに製剤化されることで、医薬組成物を提供する。例示的な医薬組成物は、1種または複数の薬剤および1種または複数の薬学的に許容される担体を含む。下記で詳細に記載されている通り、医薬組成物は、特に、以下のために適応されたものを含めて、固体または液状の形態における投与のために製剤化することができる：(1) 経口投与、例えば、水薬(水性もしくは非水性の溶液または懸濁液)、錠剤、例えば、頬側、舌下および全身的吸収を目的とするもの、ポーラス、散剤、顆粒、舌への適用のためのペースト；(2) 非経口投与、例えば、皮下、筋肉内、静脈内または硬膜外の注入によって、例えば、滅菌溶液もしくは懸濁液、または徐放性製剤として；(3) 局所適用、例えば、クリーム、軟膏、または皮膚に適用される制御放出パッチもしくはスプレーとして；(4) 腔内または直腸内、例えば、ペッサリー、クリームまたはフォームとして；(5) 舌下；(6) 眼球；(7) 経皮的；または(8) 経鼻的。

【 0 1 7 9 】

「薬学的に許容される」という成句は、本明細書において、健全な医学的判断の範囲内で、妥当な利益/リスク比に相応して、過度の毒性、過敏、アレルギー応答または他の問題または複雑さがなく、ヒトおよび動物の組織との接触における使用に適當であるような化合物、材料、組成物および/または剤形を指すために用いられる。

【 0 1 8 0 】

薬学的に許容される担体としては、液体もしくは固体充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤(例えば、潤滑剤、タルクマグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン(steric)酸)、または1つの器官もしくは身体の一部から別の器官もしくは身体の一部へ被験体化合物を担持もしくは輸送に関わる溶媒カプセル化材料が挙げられる。各担体は、製剤の他の成分と適合性があるととも患者に障害性がないという意味で「許容され」なければならない。薬学的に許容される担体として

働くことができる材料の一部の例としては、以下が挙げられる：（１）糖類、例えばラクトース、グルコースおよびスクロース；（２）デンプン、例えばコーンスターチおよびバレイショデンプン；（３）セルロースおよびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース；（４）粉末トラガカント；（５）麦芽；（６）ゼラチン；（７）タルク；（８）賦形剤、例えばカカオ脂および坐剤ワックス；（９）油、例えば落花生油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油および大豆油；（１０）グリコール、例えばプロピレングリコール；（１１）ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコール；（１２）エステル、例えばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；（１３）寒天；（１４）緩衝剤、例えば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム；（１５）アルギン酸；（１６）ピロゲンフリー水；（１７）等張生理食塩水；（１８）リンゲル液；（１９）エチルアルコール；（２０）pH緩衝溶液；（２１）ポリエステル、ポリカーボネートおよび／またはポリ酸無水物；ならびに（２２）医薬製剤において用いられる他の非毒性の適合性物質。

10

【０１８１】

湿潤剤、乳化剤および潤滑剤、例えばラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム、ならびに着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤および香剤、保存料および抗酸化剤も、組成物中に存在することができる。

【０１８２】

非経口投与に適当なこの発明の医薬組成物は、糖類、アルコール、抗酸化剤、緩衝剤、静菌薬、製剤を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質または懸濁剤もしくは増粘化剤を含有することができる、１つまたは複数の薬学的に許容される滅菌等張の水溶液もしくは非水溶液、分散液、懸濁液またはエマルジョン、または使用直前に滅菌注入可能な溶液または分散液に再構成することができる滅菌粉末との組合せで、本発明の１つまたは複数の薬剤を含む。

20

【０１８３】

ある特定の実施形態において、本発明は、前立腺特異的抗原イメージング剤および薬学的に許容される賦形剤を含む、被験体への投与に適当な薬学的に許容される組成物を提供する。

ＩＶ．定義

30

【０１８４】

本発明の理解を容易にするため、多数の用語および成句を下記で定義する。

【０１８５】

「a」「an」および「the」という用語は、本明細書で使用される場合、「１つまたは複数」を意味し、文脈が不適切でない限り複数を含む。

【０１８６】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分な化合物の量を指す。別段に明記されていない限り、有効量は、１回または複数の投与、適用または投与量で投与することができ、特別な製剤または投与経路に限定されると意図されない。本明細書で使用される場合、「処置する」という用語は、状態、疾患および障害などの改善、またはその症状を寛解させることをもたらす任意の効果、例えば、和らげる、低減すること、モジュレートすること、寛解させること、または排除することを含む。

40

【０１８７】

本明細書で使用される場合、「患者」および「被験体」という用語は、本発明の方法によって処置されるべき生物体を指す。こうした生物体としては、好ましくは、以下に限定されないが、哺乳動物（例えば、ネズミ科動物、サル科動物、ウマ科動物、ウシ科動物、ブタ科動物、イヌ科動物およびネコ科動物など）が挙げられ、最も好ましくはヒトが挙げられる。

【０１８８】

50

本明細書に記載されているある特定の化合物は、特に幾何学的形態または立体異性体形態で存在することができる。本発明は、本発明の範囲内になるような、シスおよびトランス異性体、R - および S - エナンチオマー、ジアステレオマー、(D) - 異性体、(L) - 異性体、そのラセミ混合物、およびその他の混合物を含めて、全てのこうした化合物を企図する。追加の不斉炭素原子が、アルキル基などの置換基に存在することができる。全てのこうした異性体、ならびにその混合物は、この発明に含まれると意図される。

【0189】

「親和性」という用語は、本明細書で使用される場合、前立腺特異的抗原に結合するおよび/またはそれによって保持されるという前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の能力を指す。

10

【0190】

本明細書で使用される場合、「官能性」という用語は、別の分子でさらに修飾または誘導体化することができる反応性官能基を意味すると理解される。一態様において、反応性官能基は、アミン、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、ヒドラジン、ヒドロキシルアミン、ニトリル、イソニトリル、イソシアネート、イソチオシアネート、チオール、マレイミド、アジド、アルキン、テトラゾリル、ホスホネート、アルケン、ニトロおよびニトロソである。

【0191】

「アルキル」という用語は、技術認識されており、直鎖アルキル基および分岐鎖アルキル基を含めて、飽和脂肪族基が挙げられる。さらに、「アルキル」(または「低級アルキル」という用語は、炭化水素骨格の1個または複数の炭素上で水素に置き換わる置換基を有するアルキル部分を指す「置換アルキル」を含む。こうした置換基としては、例えば、ヒドロキシル、カルボニル(カルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミルまたはアシルなど)、チオカルボニル(チオエステル、チオアセテートまたはチオホルメートなど)、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、サルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル、または芳香族もしくは複素芳香族の部分が挙げられ得る。炭化水素鎖上で置換されている部分は、適切な場合にそれら自体が置換されていてよいことが、当業者によって理解される。例えば、置換アルキルの置換基としては、アミノ基、アジド基、イミノ基、アミド基、ホスホリル基(ホスホネートおよびホスフィネートを含めて)、スルホニル基(サルフェート、スルホンアミド、スルファモイルおよびスルホネートを含めて)およびシリル基、ならびにエーテル、アルキルチオ、カルボニル(ケトン、アルデヒド、カルボキシレートおよびエステルを含めて)、および-CNなどの、置換および非置換の形態が挙げられ得る。ある特定の実施形態において、アルキルは非置換である。

20

30

【0192】

「アルキレン」という用語は、アルキル基のジラジカルを指す。例示的なアルキレン基としては、 $-CH_2-$ および $-CH_2CH_2-$ が挙げられる。

【0193】

「ヘテロアルキル」という用語は、技術認識されており、骨格炭素原子の1個がO、SまたはNなどのヘテロ原子と置き換えられた直鎖アルキル基および分岐鎖アルキル基を含めて、飽和脂肪族基を指す。例示的なヘテロアルキル基としては、 $-CH_2-O-CH_3$ および $-CH_2CH_2-O-CH_3$ が挙げられる。

40

【0194】

「ヘテロアルキレン」という用語は、ヘテロアルキル基のジラジカルを指す。例示的なヘテロアルキレン基としては、 $-CH_2-O-CH_2-$ および $-CH_2CH_2-O-CH_2-$ が挙げられる。

【0195】

「アリール」という用語は、技術認識されており、ゼロから4個のヘテロ原子を含むことができる5員、6員および7員の単環芳香族基、例えば、ベンゼン、ピロール、フラン

50

、チオフエン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジンおよびピリミジンなどを指す。環構造にヘテロ原子を有するようなアリール基は、「ヘテロアリール」または「複素芳香族」と称することもできる。芳香族環は、1つまたは複数の環位置にて、上に記載されているような置換基、例えば、ハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族または複素芳香族の部分、 $-CF_3$ 、または $-CN$ などで置換されていてよい。

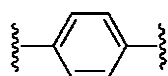
「アリール」という用語は、2個または2個より多くの炭素が2つの隣接している環に共通する2つまたは2つより多くの環式環（環は「縮合環」である）を有する多環式環系も含み、ここで、環の少なくとも1つは芳香族であり、例えば、他の環式環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリールおよび/またはヘテロシクリルであってよい。

10

【0196】

「アリーレン」という用語は、本明細書で使用される場合、芳香族基の二価ラジカルを指す。アリーレンは、アリールについて記載されている通り、または別段に表示されている通り、任意選択により置換されていてよい。例示的なアリーレン基は、

【化24】



20

である。

【0197】

本明細書で使用される場合、「複素環式」および「ヘテロシクリル」という用語は、1個または複数のヘテロ原子を含有する芳香族環または非芳香族環を指す。ヘテロ原子は、同じであっても互いに異なってもよい。ヘテロ原子の例としては、以下に限定されないが、窒素、酸素および硫黄が挙げられる。芳香族および非芳香族の複素環式環は、当技術分野において周知である。芳香族複素環式環の一部の非限定的な例としては、ピリジン、ピリミジン、インドール、プリン、キノリンおよびイソキノリンが挙げられる。非芳香族複素環式化合物の非限定的な例としては、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ピロリジンおよびピラゾリジンが挙げられる。酸素含有複素環式環の例としては、以下に限定されないが、フラン、オキシラン、2H-ピラン、4H-ピラン、2H-クロメン、およびベンゾフランが挙げられる。硫黄含有複素環式環の例としては、以下に限定されないが、チオフエン、ベンゾチオフエンおよびパラチアジンが挙げられる。窒素含有環の例としては、以下に限定されないが、ピロール、ピロリジン、ピラゾール、ピラゾリジン、イミダゾール、イミダゾリン、イミダゾリジン、ピリジン、ピペリジン、ピラジン、ピペラジン、ピリミジン、インドール、プリン、ベンズイミダゾール、キノリン、イソキノリン、トリアゾールおよびトリアジンが挙げられる。2つの異なるヘテロ原子を含有する複素環式環の例としては、以下に限定されないが、フェノチアジン、モルホリン、パラチアジン、オキサジン、オキサゾール、チアジンおよびチアゾールが挙げられる。複素環式（またはヘテロシクリル）環は、1つまたは複数の環位置にて、例えば、ハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、カルボン酸、 $-C(O)$ アルキル、 $-CO_2$ アルキル、カルボニル、カルボキシル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、アリールもしくはヘテロアリール部分、 $-CF_3$ 、または $-CN$ などで、任意選択によりさらに置換されている。

30

40

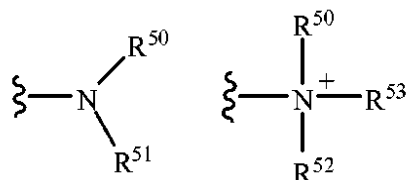
【0198】

「アミン」および「アミノ」という用語は、技術認識されており、非置換および置換ア

50

ミンの両方、例えば、以下の一般式によって表すことができる部分を指し：

【化 2 5】



式中、 R^{50} 、 R^{51} 、 R^{52} および R^{53} は、各々独立して、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R^{61}$ を表すか、または R^{50} および R^{51} は、それらが結合している N 原子と一緒にあって、環構造に 4 個から 8 個の原子を有するヘテロ環を完成し； R^{61} は、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロ環またはポリ環を表し； m はゼロ、または 1 から 8 の範囲の整数である。ある特定の実施形態において、 R^{50} または R^{51} の 1 つだけがカルボニルであってよく、例えば、 R^{50} 、 R^{51} および窒素は一緒にイミドを形成しない。他の実施形態において、 R^{50} および R^{51} （および任意選択により R^{52} ）は、各々独立して、水素、アルキル、アルケニル、または $-(CH_2)_m-R^{61}$ を表す。

「アルコキシル」または「アルコキシ」という用語は、技術認識されており、上記で定義されている通り、そこに結合している酸素ラジカルを有するアルキル基を指す。代表的なアルコキシル基としては、メトキシ、エトキシ、プロピロキシおよび *tert*-ブトキシなどが挙げられる。「エーテル」は、酸素によって共有結合によって連結されている 2 つの炭化水素である。したがって、そのアルキルをエーテルにするアルキルの置換基は、 $-O-$ アルキル、 $-O-$ アルケニル、 $-O-$ アルキニル、 $-O-(CH_2)_m-R^{61}$ の 1 つによって表され得るようなアルコキシルであるか、またはそれに似ており、ここで、 m および R^{61} は上に記載されている。

【0199】

「置換されている」という用語は、1 個または複数の水素原子が独立して、同じまたは異なる置換基（単数または複数）で置き換えられている基を指す。例示的な置換基としては、以下に限定されないが、ハロゲン、アルキル、ハロアルキル、オキシ、アルコキシル、チオール、チオエーテル、シアノ、エステル、ケトン、アミド、スルホンアミド、カルボキシレート、カルボン酸、アリール、アラルキル、アルケニル、アルキニル、アルキレン-アミドなどが挙げられる。

【0200】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、被験体への投与時に、この発明の化合物またはその活性代謝物もしくは残基を提供できる、本発明の化合物の任意の薬学的に許容される塩（例えば、酸または塩基）を指す。当業者に公知の通り、本発明の化合物の「塩」は、無機酸もしくは有機酸および塩基から誘導することができる。酸の例としては、以下に限定されないが、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸、グリコール酸、乳酸、サリチル酸、コハク酸、トルエン-*p*-スルホン酸、酒石酸、酢酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ギ酸、安息香酸、マロン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、およびベンゼンスルホン酸などが挙げられる。シュウ酸などの他の酸は、それら自体は薬学的に許容されないが、本発明の化合物およびそれらの薬学的に許容される酸付加塩を得る際に中間体として有用な塩の調製において用いることができる。

【0201】

塩基の例としては、以下に限定されないが、アルカリ金属（例えば、ナトリウム）水酸化物、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム）、水酸化物、アンモニア、および式 NW_4^+ の化合物が挙げられ、式中、 W は C_{1-4} アルキルなどである。

【0202】

塩の例としては、以下に限定されないが：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アス

パラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、樟脳、樟脳スルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ニグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩 (glucoheptanoate)、グリセロリン酸塩、半硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホネート、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホネート、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、パルモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トシル酸塩およびウンデカン酸塩などが挙げられる。塩の他の例としては、 Na^+ 、 NH_4^+ 、および NW_4^+ (式中、Wは $\text{C}_1 \sim 4$ アルキル基である) などの適当なカチオンが配合されている本発明の化合物のアニオンが挙げられる。

10

【0203】

治療的使用のため、本発明の化合物の塩は、薬学的に許容されると企図される。しかしながら、非薬学的に許容される酸および塩基の塩は、薬学的に許容される化合物の調製または精製における使用も見出すことができる。

【0204】

組成物およびキットが特定の構成成分を有する、含めるまたは含むと記載されている記載、またはプロセスおよび方法が特定のステップを有する、含めるまたは含むと記載されている記載の全体にわたって、追加として、列挙されている構成成分から本質的になるまたはそれらからなる本発明の組成物およびキットがあること、ならびに列挙されている加工ステップから本質的になるまたはそれらからなる本発明によるプロセスおよび方法があることが企図される。

20

【実施例】

【0205】

V. 実施例

ここで、一般的に記載されている本発明は、単に本発明のある特定の態様および実施形態の例示の目的で挙げられるとともに本発明を限定すると意図されない以下の実施例を参照することによって、より容易に理解される。

(実施例1)

PSA活性化可能薬剤の例示的な合成

30

【0206】

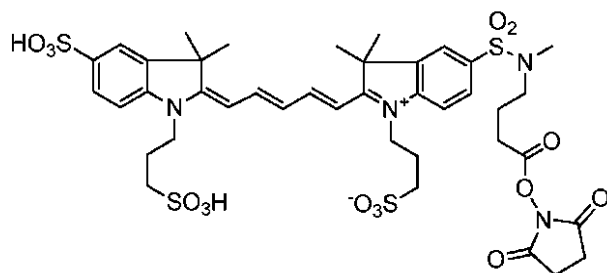
本発明の化合物は、標準的方法および手順に従って、容易に利用可能な出発材料から合成することができる。以下の非限定的な例は、例示的な蛍光性の前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の合成を実証する。本発明の材料を調製する際に使用することができる代表的な材料および方法は、下記でさらに記載されている。別段に明記されていない限り、全ての化学薬品および溶媒(試薬グレード)は、さらなる精製をせずに、商業的に得られる通りに使用される。合成化合物はHPLCまたはイオン交換カラムクロマトグラフィーによって特徴付けおよび精製される。

【0207】

表3からの蛍光団のN-ヒドロキシスクシンイミドエステル(すなわち、NHSエステル)は、蛍光団のカルボン酸基がN-ヒドロキシスクシンイミドエステルと置き換えられた化合物を指す。例えば、蛍光団F2のN-ヒドロキシスクシンイミドエステルは、以下の化学構造を有する:

40

【化 2 6】

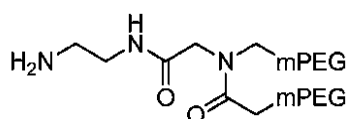


【 0 2 0 8】

10

「EDC」という略語は、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミドを指す。「HOBt」という略語は、ヒドロキシベンゾトリアゾールを指す。Y - mPEGアミンという略語は、以下の化合物を指す：

【化 2 7】



パート I：一般的手順：

20

【 0 2 0 9】

ペプチドコンジュゲーションのための一般的方法 A。ジメチルホルムアミド (d i m e t h y l f o r m a i d e) (D M F) 中の蛍光団 - N H S エステル (約 3 μ m o l) の溶液を、DMF (1 m L) 中のオリゴペプチド (1 μ m o l) の溶液に添加した。HPLC によって判断された通りに反応が完了した後、溶液を重炭酸ナトリウム水溶液で希釈することで、過剰な蛍光団 - N H S エステルを加水分解した。所望の生成物を次いで分取 HPLC によって単離した。

【 0 2 1 0】

mPEGアミンカップリングのための一般的方法 B。DMF 中の蛍光団標識ペプチドおよび mPEGアミン (1 . 5 当量) の溶液に、HOBt (1 当量)、N - メチルモルホリン (2 当量)、および EDC (1 . 5 当量) を添加した。反応が完了した後、反応混合物を水で希釈し、所望の生成物をイオン交換 (i o n - e x c h a n g e) カラムクロマトグラフィーによって単離した。

30

パート II：PSA 活性化可能薬剤 A 1 の合成

【 0 2 1 1】

一般的方法 A を使用して、上記の表 1 からのオリゴペプチド、配列 1 を蛍光団 F 2 の N - ヒドロキシスクシンイミドエステルとコンジュゲートした。結果として得られた粗製生成物を分取 HPLC によって精製した。

パート III：PSA 活性化可能薬剤 A 3 の合成

【 0 2 1 2】

40

一般的方法 A を使用して、上記の表 1 からのオリゴペプチド、配列 3 を、F 2 の N H S エステルとコンジュゲートした。分取 HPLC による精製の後、一般的方法 B を使用して、コンジュゲートを mPEGアミン、約 20 k D a とカップリングした。イオン交換カラムクロマトグラフィーを介して、結果として得られた生成物を精製した。

(実施例 2)

PSA 活性化可能薬剤 A 5 の合成

【 0 2 1 3】

実施例 1 からの一般的方法 A を使用して、上記の表 1 からのオリゴペプチド、配列 4 を、F 8 の N H S エステルとコンジュゲートした。分取 HPLC による精製の後、実施例 1 からの一般的方法 B を使用して、コンジュゲートを mPEGアミン、約 10 k D a とカッ

50

プリングした。イオン交換カラムクロマトグラフィーを介して、結果として得られた生成物を精製した。

(実施例 3)

P S A 活性化可能薬剤 A 1 0 の合成

【0214】

実施例 1 からの一般的方法 A を使用して、上記の表 1 からのオリゴペプチド、配列 5 を、F 8 の N H S エステルとコンジュゲートした。分取 H P L C による精製の後、実施例 1 からの一般的方法 B を使用して、コンジュゲートを Y - m P E G アミン、約 4 0 k D a とカップリングした。イオン交換カラムクロマトグラフィーを介して、結果として得られた生成物を精製した。

10

(実施例 4)

P S A 活性化可能薬剤 A 1 2 の合成

【0215】

実施例 1 からの一般的方法 A を使用して、上記の表 1 からのオリゴペプチド、配列 1 3 を、F 2 の N H S エステルとコンジュゲートした。分取 H P L C による精製の後、実施例 1 からの一般的方法 B を使用して、コンジュゲートを Y - m P E G アミン、約 4 0 k D a とカップリングした。イオン交換カラムクロマトグラフィーを介して、結果として得られた生成物を精製した。

(実施例 5)

i n v i t r o で酵素的に活性な P S A によって前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を開裂する

20

【0216】

この例は、本明細書に記載されている前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が、i n v i t r o で酵素的に活性な前立腺特異的抗原によって開裂されることを実証する。各酵素について最適化された緩衝剤 (T C N B または 5 0 n M の T r i s 、 1 0 m M の C a C l ₂ 、 1 5 0 m M の N a C l 、 0 . 0 5 % の B r i j - 3 5 、 p H 7 . 5) 中にて、活性 P S A (活性化酵素の最終濃度 0 . 1 μ M) の存在下であるが複合体化 P S A の非存在下で、試験薬剤 (化合物 A 1 0 - 薬剤の最終濃度 0 . 5 μ M) を活性化した。酵素を添加した後で異なる時間に G e m i n i 蛍光プレートリーダーにおいて、動態学的蛍光読取りを行った。

30

【0217】

この実験において、蛍光は、本明細書に記載されている活性 P S A の存在下における試験薬剤 (化合物 A 1 0) とだけ関連している。図 1 に示されている結果は、活性 P S A の存在下における化合物 A 1 0 などの、前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の i n v i t r o 活性化を実証している。

(実施例 6)

前立腺特異的抗原活性化可能薬剤を使用する、前立腺がんの i n v i v o イメージング

【0218】

図 2 A に描写されている通り、ヒト前立腺 P S A ⁺ L N C a P 腫瘍保有雄性 N u / N u マウスにおいて、イメージング研究を行った。マウスの静脈内に 2 ナノモルの試験薬剤 (化合物 A 1 0) を注入し、6 時間後に F M T 2 5 0 0 (P e r k i n E l m e r I n c . 、 W a l t h a m 、 M A) (落射蛍光顕微鏡には F M T 2 D 、 断層撮影には F M T 3 D) 上にて反射モードおよび断層撮影モードで、および I V I S スペクトル (P e r k i n E l m e r I n c . 、 W a l t h a m 、 M A) 上にてイメージングした。反射イメージングおよび断層撮影イメージングの両方について同じ位置で、活性 P S A の部位を検出し、それによって、i n v i v o で酵素的に活性な P S A を検出するという薬剤の能力を実証した。

40

(実施例 7)

i n v i v o での前立腺特異的抗原活性化可能薬剤の特異性

【0219】

50

LNCaP腫瘍（PSA+）およびPC3（PSA-）腫瘍の腫瘍保有雄性Nu/Nuマウスにおいて、イメージング研究を行った。マウスの静脈内に2ナノモルの化合物A10を注入し、24時間後にFMT2500（PerkinElmer Inc.、Waltham、MA）上でイメージングした。陽性マウスおよび対照マウスからの腫瘍蛍光を定量化し、プロットした。図2Bは、*in vivo*でPSA陰性腫瘍を超える、酵素的に活性なPSAを含有する腫瘍に対して前立腺特異的抗原活性化可能薬剤が有する特異性を実証している。

参照による組込み

【0220】

本明細書において引用されている全ての公報、特許および特許出願は、参照により、それら全体をおよび全ての目的で、各々がそのように個々に示されるかのように同じ程度まで、本明細書によって明らかに組み込まれる。

10

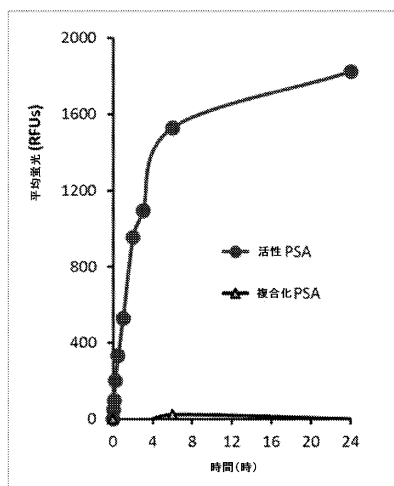
均等物

【0221】

本発明は、その趣旨または本質的特徴から逸脱することなく、他の特定の形態において具体化され得る。前述の実施形態は、そのため、全ての点において、本明細書に記載されている本発明を限定するよりむしろ例示的だと考えられるべきである。本発明の範囲は、したがって、前述の説明よりむしろ添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の均等性の意味および範囲内に入る全ての変化は、そこに包含されると意図される。

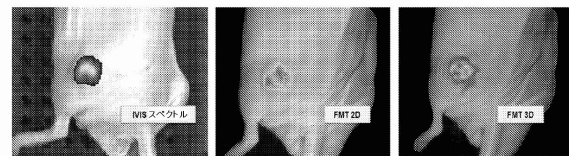
【図1】

FIGURE 1



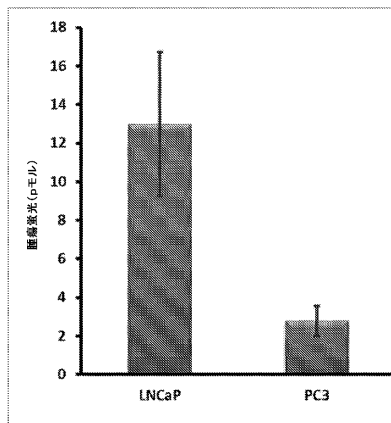
【図2A】

FIGURE 2A



【図 2 B】

FIGURE 2B



【配列表】

0006370785000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 0 7 K	7/00	(2006.01)	C 0 7 K	7/00	
G 0 1 N	33/58	(2006.01)	G 0 1 N	33/58	Z
A 6 1 B	10/00	(2006.01)	A 6 1 B	10/00	E
G 0 1 N	21/64	(2006.01)	G 0 1 N	21/64	F
C 0 7 K	1/13	(2006.01)	C 0 7 K	1/13	

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ホー, グオジエ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 7 6 , サドバリー, グリンドストーン レーン
3 3

審査官 岩下 直人

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 9 / 0 9 2 0 6 2 (WO , A 1)

Williams SA, et al. , Enzymatically active prostate-specific antigen promotes growth of human prostate cancers , The Prostate , 2 0 1 1 年 , Vol.71, No.15 , p.1595-1607

Brady SF, et al. , Design and synthesis of a pro-drug of vinblastine targeted at treatment of prostate cancer with enhanced efficacy and reduced systemic toxicity , Journal of Medicinal Chemistry , 2 0 0 2 年 , Vol.45, No.21 , p.4706-4715

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 4 9 / 0 0
A 6 1 B 1 0 / 0 0
A 6 1 K 4 7 / 3 4
A 6 1 K 4 7 / 4 2
A 6 1 K 4 7 / 5 0
A 6 1 P 1 3 / 0 8
A 6 1 P 3 5 / 0 0
C 0 7 K 7 / 0 0
G 0 1 N 2 1 / 6 4
G 0 1 N 3 3 / 5 8
C 0 7 K 1 / 1 3
P u b M e d