



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102186505 A

(43) 申请公布日 2011. 09. 14

(21) 申请号 200980142389. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 10. 20

A61K 51/04 (2006. 01)

(30) 优先权数据

0819280. 9 2008. 10. 21 GB

61/107001 2008. 10. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 04. 20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/061271 2009. 10. 20

(87) PCT申请的公布数据

W02010/048144 EN 2010. 04. 29

(71) 申请人 通用电气健康护理有限公司

地址 英国白金汉郡

申请人 通用电气公司

(72) 发明人 A·卡斯伯特森 P·B·艾弗森

R·巴拉 V·R·库尼伊尔 库兰加拉

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 徐晶 林毅斌

权利要求书 13 页 说明书 37 页

(54) 发明名称

成像和放射治疗方法

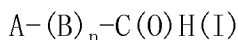
(57) 摘要

本发明涉及体内成像和放射治疗的方法及靶向醛脱氢酶(ALDH)并适于肿瘤的体内成像和癌症治疗的药物。

1. 检测受试者体内肿瘤干细胞的方法,其包括:

- (i) 给予所述受试者 ALDH 的可检测标记底物;
- (ii) 通过体内成像检测所述 ALDH 的可检测标记底物的摄取。

2. 权利要求 1 的方法,其中所述 ALDH 的可检测标记底物为式 (I) 化合物:



或其盐或溶剂合物,其中:

n 为 0 或 1 的整数;

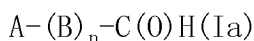
A 为放射成像部分或光学成像部分;

B 为载体部分;且

所述式 (I) 化合物的分子量低于 800 道尔顿。

3. 权利要求 1 或 2 的方法,其包括:

- (i) 给予所述受试者式 (Ia) 化合物:



或其盐或溶剂合物,其中:

n 为 0 或 1 的整数;

A 为放射成像部分,其包括 (a) 适合用 PET 或 SPECT 成像的非金属放射性标记,诸如 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{122}I 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{13}N 、 ^{11}C 或 ^{18}F 或 (b) 螯合的放射成像金属,诸如 ^{64}Cu 、 ^{48}V 、 ^{52}Fe 、 ^{55}Co 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{68}Gd 、 ^{68}Ga 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{67}Gd 或 ^{67}Ga ;

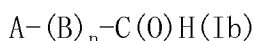
B 为载体部分;且

所述式 (Ia) 化合物的分子量低于 800 道尔顿;

- (ii) 通过体内放射成像检测所述式 (Ia) 化合物的摄取。

4. 权利要求 1 或 2 的方法,其包括:

- (i) 给予所述受试者式 (Ib) 化合物:



或其盐或溶剂合物,其中:

n 为 0 或 1 的整数;

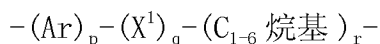
A 为光学成像部分,其包括能够在光学成像方法中使用绿色到近红外波长的光直接或间接检测的荧光染料或发色团;

B 为载体部分;且

所述式 (Ib) 化合物的分子量低于 800 道尔顿;

- (ii) 通过体内光学成像检测所述式 (Ib) 化合物的摄取。

5. 权利要求 2-4 中任一项的方法,其中在所述式 (I)、(Ia) 或 (Ib) 化合物中,所述载体部分 B 具有式:



其中:

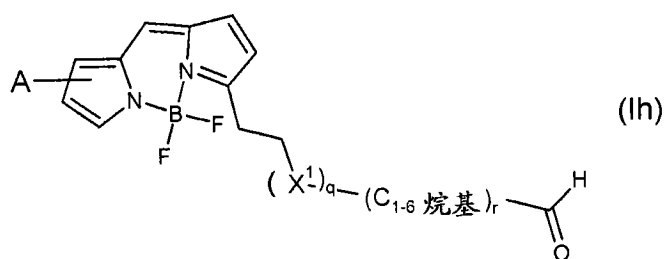
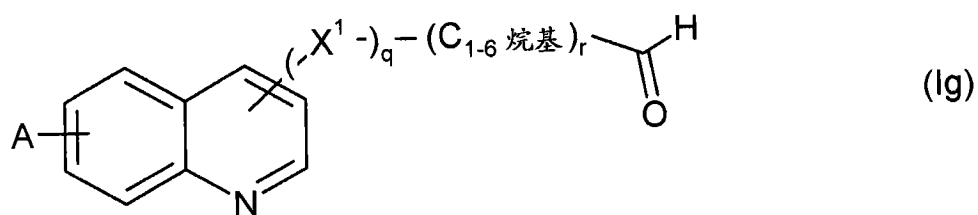
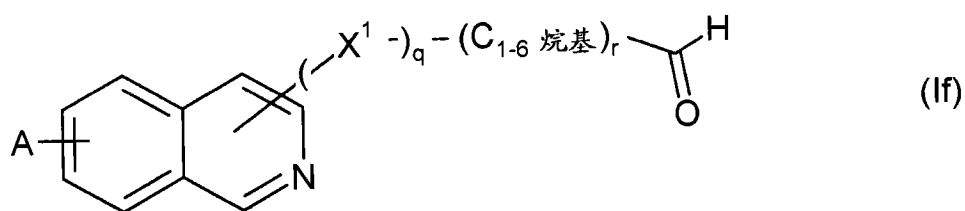
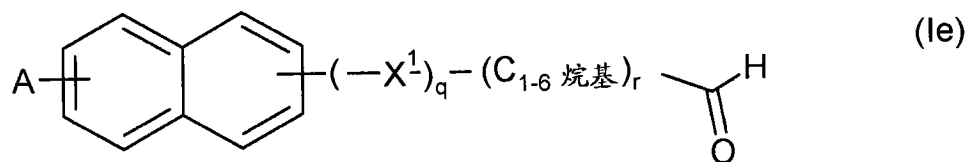
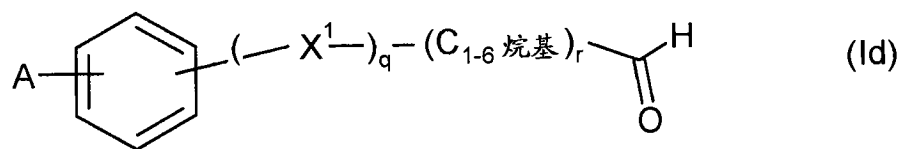
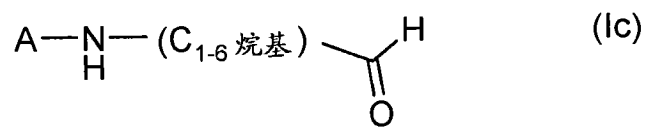
p、q 和 r 各自为独立地选自 0 和 1 的整数,条件是 p、q 和 r 中的至少一者为 1;

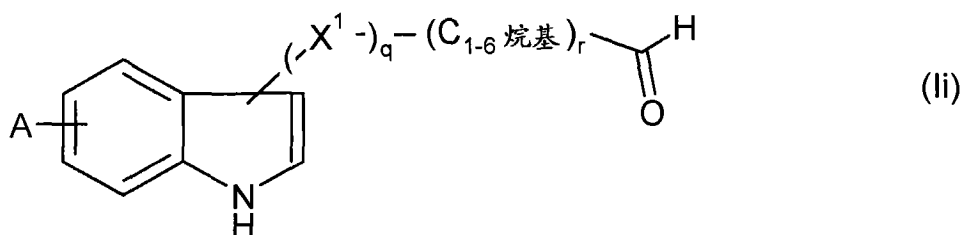
Ar 为稠合或非稠合的 1,2 或 3 元芳环体系,且任选包含 1-3 个选自氮、氧、硫和硼的杂原子且任选具有 1-5 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基,其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6}

卤代烷基；且

X^1 选自 $-\text{CR}_2-$ 、 $-\text{CR}=\text{CR}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{CR}_2\text{CO}_2-$ 、 $-\text{CO}_2\text{CR}_2-$ 、 $-\text{NRCO}-$ 、 $-\text{CONR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{S})\text{NR}-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}-$ 、 $-\text{NRSO}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{OCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{SCR}_2-$ 和 $-\text{CR}_2\text{NR}_2\text{CR}_2-$ ，其中 R 各自独立地选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基烷基和 C_{1-6} 羟基烷基。

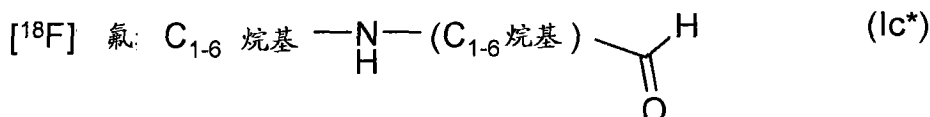
6. 权利要求 2-5 中任一项的方法，其中所述式 (I)、(Ia) 或 (Ib) 化合物选自式 (Ic)-(Ii)：



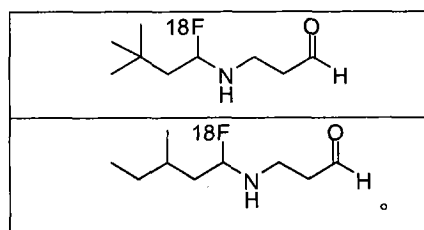


其中 A 如权利要求 2-4 中任一项定义, X^1 、 q 和 r 如权利要求 5 中定义, 且各芳基任选具有 1-5 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-NR^1R^2$ 的取代基, 其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

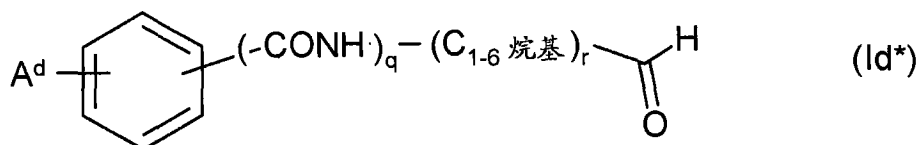
7. 权利要求 6 的方法, 其中所述式 (Ic) 化合物具有式 (Ic*) :



8. 权利要求 6 或 7 的方法, 其中所述式 (Ic) 或 (Ic*) 化合物选自 :



9. 权利要求 6 的方法, 其中所述式 (Id) 化合物具有式 (Id*) :

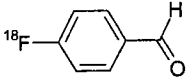
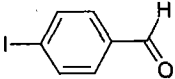
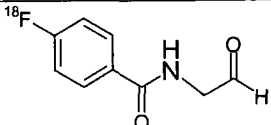
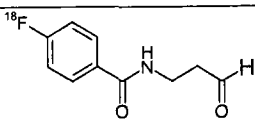
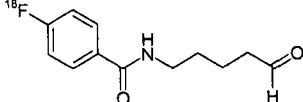
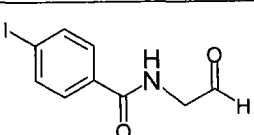
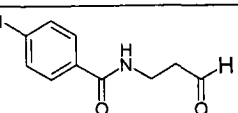
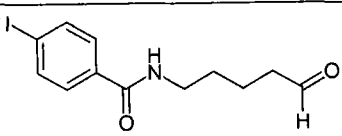
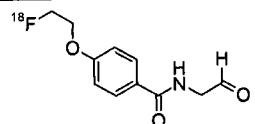
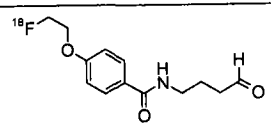
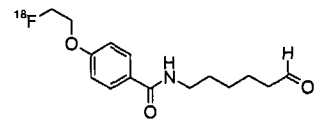


其中

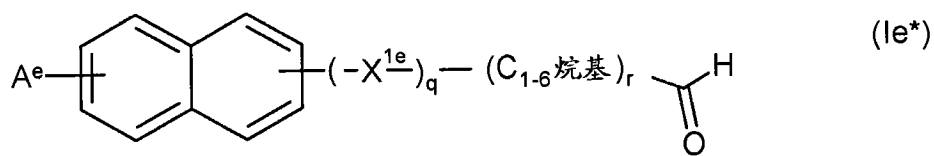
A^d 选自 $[^{18}F]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122,123,124}I]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}F]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122,123,124}I]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}F]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $NH-$ 、 $[^{122,123,124}I]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $NH-$ 、 $[^{18}F]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $N(C_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{122,123,124}I]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $N(C_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{18}F]$ 氟和 $[^{122,123,124}I]$ 碘 ;

q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数, 条件是如果 r 为 0, 则 q 也为 0。

10. 权利要求 6 或 9 的方法, 其中所述式 (Id) 或 (Id*) 化合物选自 :


122, 123, 124 



122, 123, 124 
122, 123, 124 
122, 123, 124 



4-[(2-[¹⁸ F]氟乙基)-丙基-氨基]苯甲醛。

11. 权利要求 6 的方法,其中所述式 (Ie) 化合物具有式 (Ie*) :



其中：

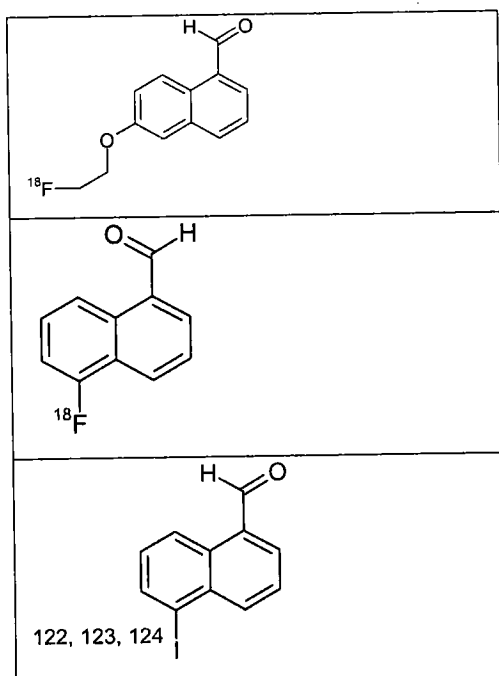
A^e 选自 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷基、 $^{122,123,124}\text{I}$ 碘 C_{1-6} 烷基、 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $^{122,123,124}\text{I}$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $^{122,123,124}\text{I}$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})-$ 、 $^{122,123,124}\text{I}$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})-$ 、 ^{18}F 氟和 $^{122,123,124}\text{I}$ 碘；

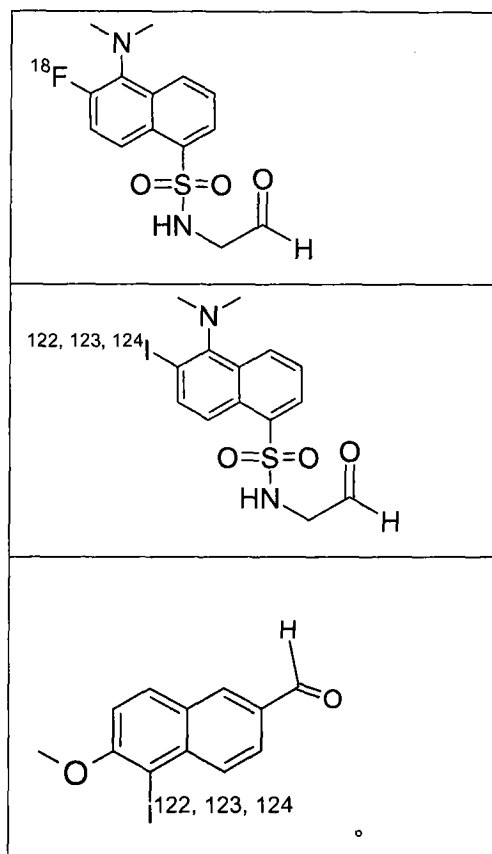
X^{1e} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$ ；

q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数，条件是如果 r 为 0，则 q 也为 0；

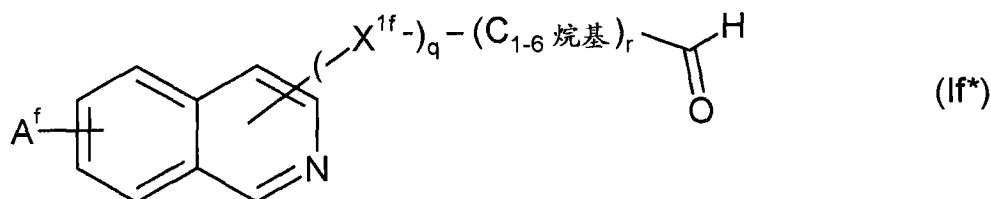
且所述萘基环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代，其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

12. 权利要求 6 或 11 的方法，其中所述式 (Ie) 或 (Ie*) 化合物选自：





13. 权利要求 6 的方法,其中所述式 (If) 化合物具有式 (If*) :



其中:

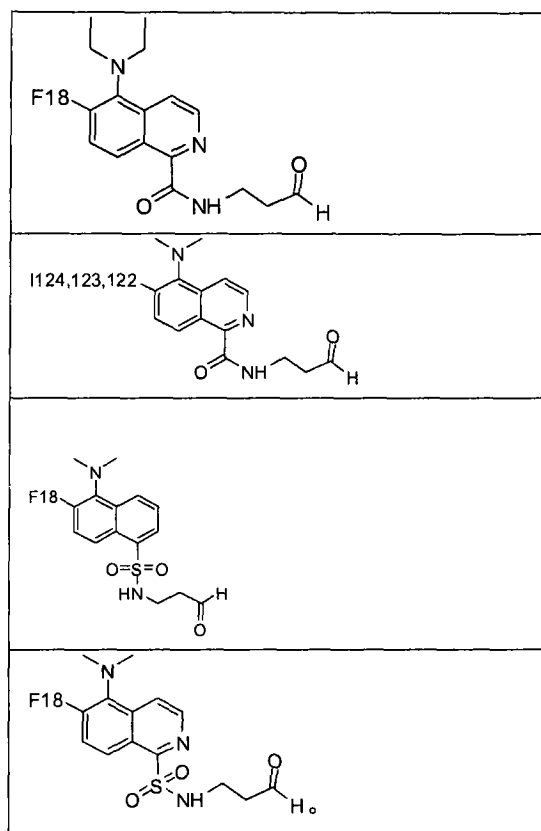
A^f 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $-$ 、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基) $-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘;

X^{1f} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

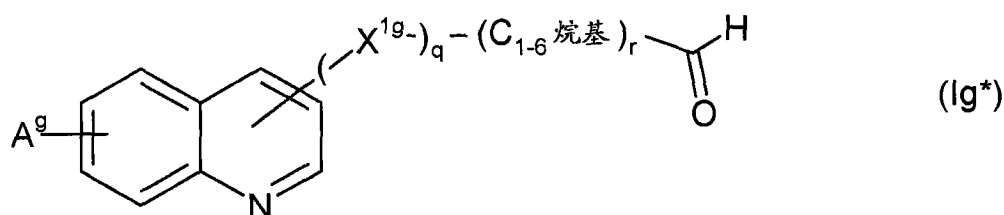
q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数,条件是如果 r 为 0,则 q 也为 0;

且所述异喹啉环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代,其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

14. 权利要求 6 或 13 的方法,其中所述式 (If) 或 (If*) 化合物选自:



15. 权利要求 6 的方法,其中所述式 (Ig) 化合物具有式 (Ig*) :



其中 :

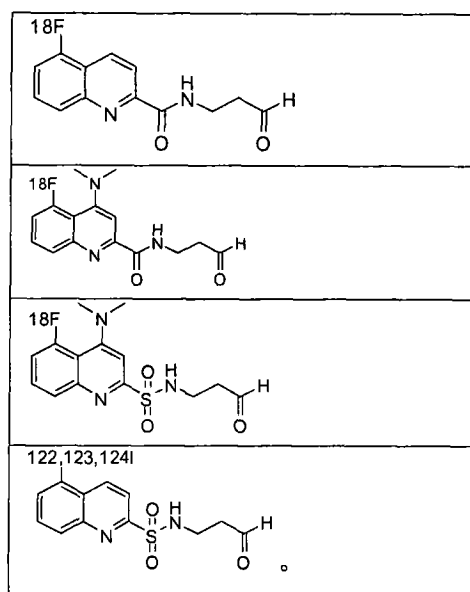
A^g 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 ;

X^{1g} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

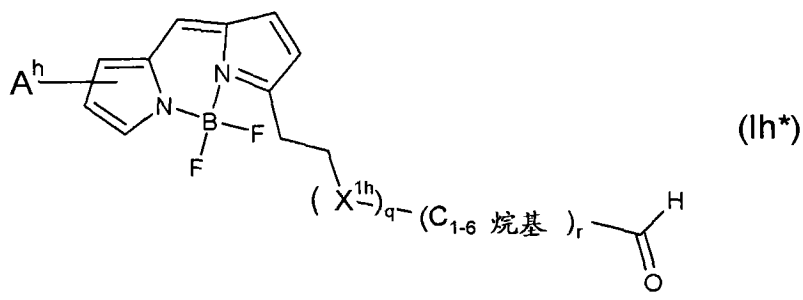
q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数,条件是如果 r 为 0,则 q 也为 0 ;

且所述喹啉环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代,其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

16. 权利要求 6 或 15 的方法,其中所述式 (Ig) 或 (Ig*) 化合物选自 :



17. 权利要求 6 的方法,其中所述式 (Ih) 化合物具有式 (Ih*) :



其中 :

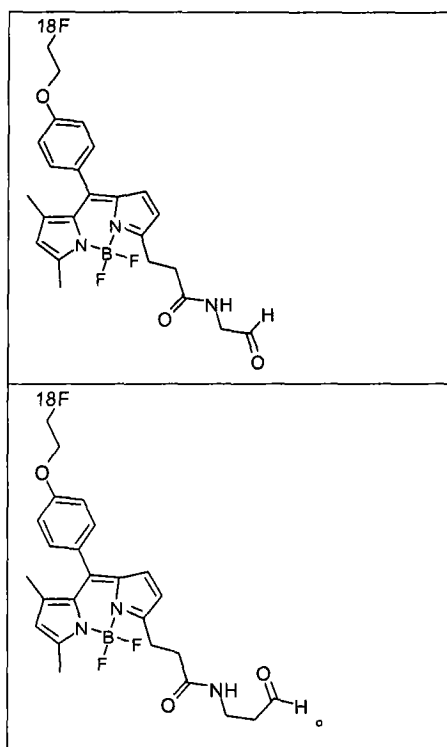
A^h 不存在或选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122}, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122}, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122}, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6} \text{ 烷基})-$ 、 $[^{122}, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6} \text{ 烷基})-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122}, 123, 124}\text{I}]$ 碘 ;

X^{Ih} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

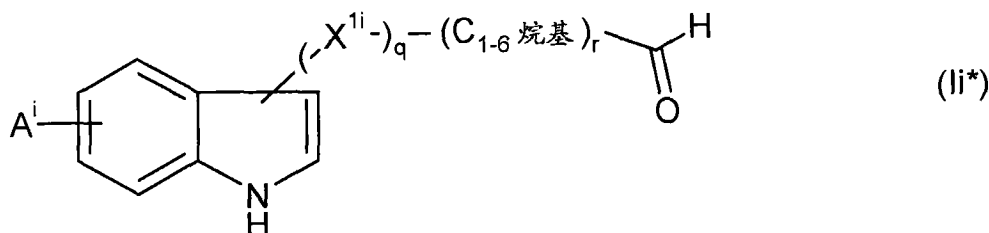
q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数,条件是如果 r 为 0,则 q 也为 0 ;

且所述芳环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代,其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

18. 权利要求 6 或 17 的方法,其中所述式 (Ih) 或 (Ih*) 化合物选自 :



19. 权利要求 6 的方法, 其中所述式 (Ii) 化合物具有式 (Ii*) :



其中 :

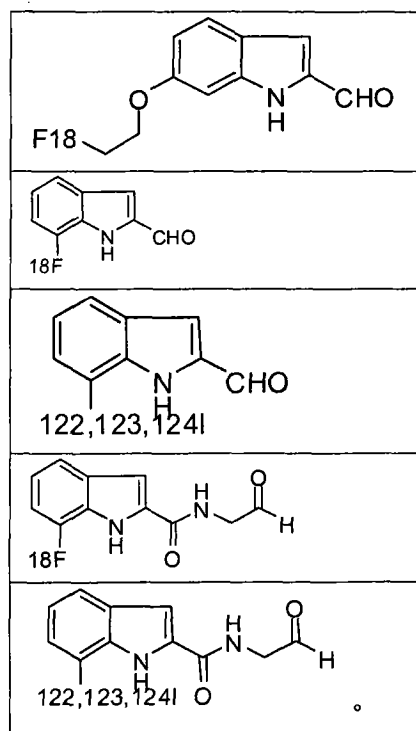
A^i 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122, 123, 124}\text{I}]$ 碘 ;

X^{1i} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数, 条件是如果 r 为 0, 则 q 也为 0 ;

且所述吲哚环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代, 其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

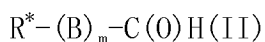
20. 权利要求 6 或 19 的方法, 其中所述式 (Ii) 或 (Ii*) 化合物选自 :



21. 监测受试者体内肿瘤的治疗效果的方法,所述方法包括根据权利要求 1-20 中任一项的步骤 (i) 和 (ii),任选但优选例如在治疗之前、治疗期间和治疗之后重复进行。

22. 放射治疗癌症患者的方法,其包括给予所述癌症患者有效量的 ALDH 的放射疗法标记底物,

其中所述 ALDH 的放射疗法标记底物为式 (II) 化合物:



或其盐或溶剂合物,其中:

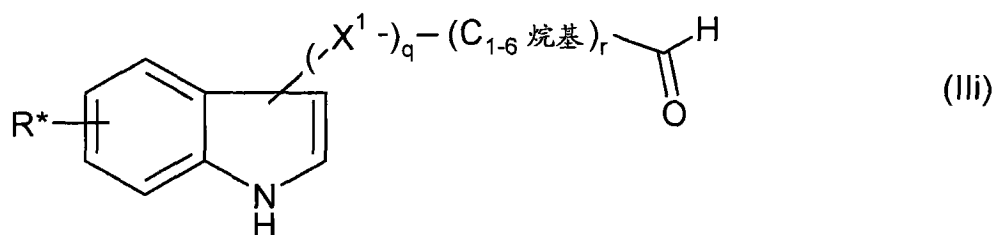
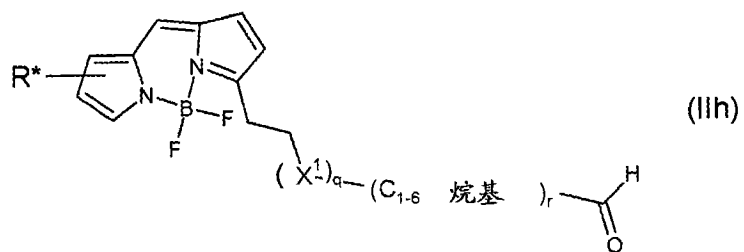
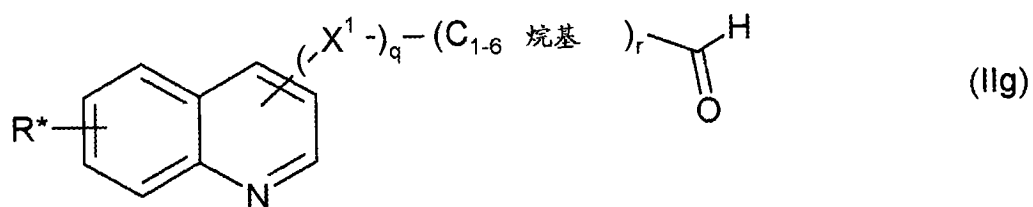
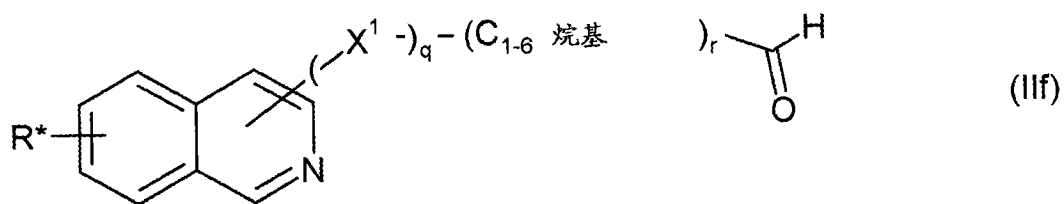
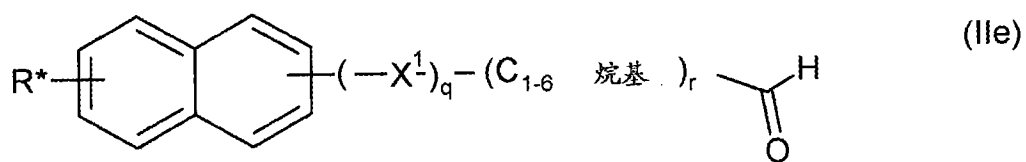
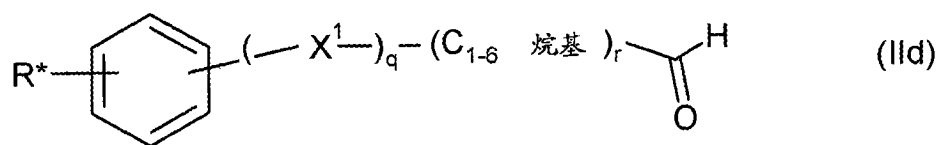
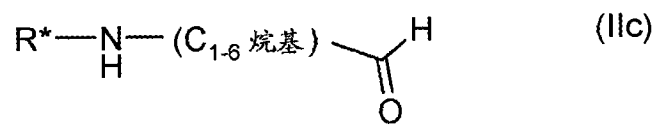
m 为 0 或 1 的整数;

R^* 为放射治疗部分,其包括选自 ^{131}I 、 ^{33}P 、 ^{169}Er 、 ^{177}Lu 、 ^{67}Cu 、 ^{153}Sm 、 ^{198}Au 、 ^{109}Pd 、 ^{186}Re 、 ^{165}Dy 、 ^{89}Sr 、 ^{32}P 、 ^{188}Re 、 ^{90}Y 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{75}Se 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{99m}Tc 和 ^{201}Tl 的治疗用放射性核素;且

B 为如权利要求 2 或 5 中定义的载体部分;且

所述式 (II) 化合物的分子量低于 800 道尔顿。

23. 权利要求 22 的方法,其中所述式 (II) 化合物为选自式 (IIc)-(IIi) 的化合物:



其中 R^* 如权利要求 22 中定义, 且 X^1 、 q 和 r 如权利要求 5 中定义且各芳基任选具有 1-5 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-NR^1R^2$ 的取代基, 其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

24. 药物制剂, 其包含如权利要求 2-20 中定义的式 (I)、(Ia)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 化合物或如权利要求 22 或 23 中定义的式 (II)、(IIc)-(IIi) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物和药学上可接受的赋形剂。

25. 用于药物中的如权利要求 2-20 中定义的式 (I)、(Ia)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 化合物或如权利要求 22 或 23 中定义的式 (II)、(IIc)-(IIi) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

26. 用于权利要求 1-21 中任一项的方法中的如权利要求 2-20 中定义的式 (I)、(Ia)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

27. 用于权利要求 22 或 23 的方法中的如权利要求 22 或 23 中定义的式 (II) 或 (IIc)-(IIi) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

28. 如权利要求 6-20 中任一项定义的式 (Ic)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

29. 如权利要求 23 中定义的式 (IIc)-(IIi) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

成像和放射治疗方法

[0001] 本发明涉及体内成像和放射治疗的方法及适于肿瘤的体内成像和癌症治疗的药物。其还涉及靶向醛脱氢酶 (ALDH) 的方法和药物。所述药物具有通过正电子发射断层摄影 (PET)、单光子发射计算机断层摄影 (SPECT) 成像、光学成像 (OI) 和放射疗法 (RT) 用于体内成像的实用性。

[0002] 基于肿瘤中存在不同于大部分肿瘤细胞的引发肿瘤的细胞亚群这一原理,近来出现了癌症的干细胞模型。该模型预示着,如果在治疗后留下癌症干细胞,则通过化学疗法或放射疗法根除大部分肿瘤细胞最好也只不过是临时缓解。还已知这些干细胞样群体对标准化学治疗方案中使用的许多烷基化药物更具抵抗性 [Gordon, M. Y. 等, Leuk. Res. 9, 1017, 1985]。例如,临床研究已经表明,在除去定向祖细胞但让干细胞群基本完整的自体骨髓移植 (ABMT) 之前用 4- 过氧基环磷酰胺 (4-HC) 冲洗样品的益处 [Kaizer, H. 等, Blood, 65, 1504-1510, 1985]。另外,乳腺癌研究表明肿瘤组织中 ALDH 表达和不良临床结果之间的相关性且还提出了 ALDH 为恶性乳房干细胞的标志 [Ginestier, C. 等, Cell Stem Cell, 1, 555, 2007]。

[0003] 令人感兴趣的是,已经表明干细胞对 4-HC 的差别敏感性与醛脱氢酶的细胞内活性有关 [Sahovic, E. A. 等, Cancer Research, 48, 1223-1226, 1988]。诸如醛脱氢酶 (ALDH) 的酶体系是理想的标靶。癌症干细胞的数量相对于总肿瘤组成较小,因此使用 1 : 1 受体靶向的更传统方法在分子成像和 RT 应用中具有有限的价值。然而,如果试剂特异性地积聚在干细胞内,则可在干细胞群内获得成像或治疗剂量。该信号放大效应可通过使用自由扩散通过肿瘤块、由细胞内部的酶有效地将其从醛转化为极性羧酸的 ALDH 的底物来实现,所述羧酸产物优选截留在干细胞内。已知 ALDH 的荧光底物且通常将其用于从复杂细胞混合物中体内分离干细胞群。W096/36344 提供了丹磺酰基氨基乙醛衍生物的实例且 W02008/036419 指出了使用 BODIPY 染料底物 ALDEFLUOR 检测癌症组织样品中 ALDH 活性的方法。在两种情况下,染料被干细胞摄取且由 ALDH 加工以得到细胞内积聚在干细胞中的带负电荷染料。所述细胞随后通过流式细胞仪分选。

[0004] 然而,肿瘤学中仍然存在对于能够辨别癌症干细胞群以提供有价值的预后、诊断和治疗监测信息的体内成像方法的需要。另外,带有诸如碘 -131 的治疗用放射性核素的癌症干细胞靶向剂可将治疗有效负载直接传送到干细胞,因此增强治疗益处。

[0005] 因此,根据本发明的第一方面,提供检测受试者体内肿瘤干细胞的方法,其包括:

[0006] (i) 给予所述受试者 ALDH 的可检测标记底物;

[0007] (ii) 通过体内成像检测所述 ALDH 的可检测标记底物的摄取。

[0008] “ALDH 的可检测标记底物”为优选没有其他已知生物活性的 ALDH 的底物,且其合适地为式 (I) 化合物:

[0009] $A-(B)_n-C(O)H(I)$

[0010] 或其盐或溶剂合物,其中:

[0011] n 为 0 或 1 的整数;

[0012] A 为放射成像部分或光学成像部分;

[0013] B 为载体部分 ;且

[0014] 式 (I) 化合物的分子量低于 800 道尔顿。

[0015] 术语“放射成像部分”是指包含 (a) 适合用 PET 或 SPECT 成像的非金属放射性标记,诸如 $^{123,124,122}\text{I}$ 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{13}N 、 ^{11}C 或 ^{18}F 或 (b) 螯合的放射成像金属的基团。本发明的一方面,所述放射成像部分包含适合用 PET 或 SPECT 成像的非金属放射性标记,合适地选自 $^{123,124,122}\text{I}$ 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 、 ^{13}N 、 ^{11}C 和 ^{18}F ,更合适地为 $^{123,124,122}\text{I}$ 或 ^{18}F 且优选为 ^{18}F 。

[0016] 本领域中已知包含非金属放射性标记的合适放射成像部分,且其通常包含任选还含有 1-10 个选自氮、氧和硫的杂原子且具有与其共价连接或结合在其中的非金属放射性标记的 C_{1-30} 烃基连接基团,或者,在放射性卤素 $^{123,124,122}\text{I}$ 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{77}Br 或 ^{18}F 的情况下,这种放射性标记可直接键合到式 (I) 化合物的其余部分。放射性卤素放射性标记通常作为诸如 ^{18}F 氟乙基或 ^{18}F 氟丙基的放射性卤代 C_{1-6} 烷基或诸如 ^{18}F 氟乙氧基或 ^{18}F 氟甲氧基的放射性卤代 C_{1-6} 烷氧基结合。 ^{11}C 碳放射性标记通常作为诸如 ^{11}C 甲基或 ^{11}C 乙基的 ^{11}C C_{1-6} 烷基或作为 ^{11}C 羰基结合。

[0017] 某些试剂通常用于引入 ^{18}F 放射性标记,其包括 N-琥珀酰亚氨基-4- ^{18}F 氟苯甲酸酯、间顺丁烯二酰亚氨基-N-(对- ^{18}F 氟苄基)苯甲酰胺、N-(对- ^{18}F 氟苄基)顺丁烯二酰亚胺和 4- ^{18}F 氟苯甲酰甲基溴且例如在 Okarvi, European Journal of Nuclear Medicine 28, (7), 2001 中评述。辅基和将其结合到配体中的方法的进一步描述可在公开的国际专利申请 W003/080544、W02004/080492 和 W02006/067376 中见到。

[0018] 当放射成像部分 A 包含螯合的放射成像金属时,其包含如下定义的螯合基团和放射成像金属。所述螯合基团可直接键合到式 (I) 化合物的其余部分或可通过任选还含有 1-10 个选自氮、氧和硫的杂原子的 C_{1-30} 烃基连接基团连接,所述连接基团用来空间上间隔螯合物与所述化合物的其余部分。如本文所用,术语“放射成像金属”是指正电子发射体,诸如 ^{64}Cu 、 ^{48}V 、 ^{52}Fe 、 ^{55}Co 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{68}Gd 或 ^{68}Ga ;或 γ 发射体,诸如 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{67}Gd 或 ^{67}Ga 。优选的放射成像金属选自 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 和 ^{111}In 。一方面,所述放射成像金属为 γ 发射体,特别是 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。在所有情况下,所述放射成像金属与如下定义的螯合基团螯合。

[0019] 术语“光学成像部分”是指能够在光学成像方法中使用绿色到近红外波长 (500-1200nm、优选 600-1000nm) 的光直接或间接检测且直接键合到式 (I) 化合物的其余部分或通过任选还含有 1-10 个选自氮、氧和硫的杂原子的 C_{1-30} 烃基连接基团连接的荧光染料或发色团。优选所述光学成像部分具有荧光性质且更优选为荧光染料。因为光学成像部分必须适合在哺乳动物体内成像,所以其还必须是生物相容的。术语“生物相容的”是指无毒,因此适合在给予后没有不良反应或者疼痛或不适的情况下给予哺乳动物体、特别是人体。

[0020] 合适的光学成像部分包括具有广泛不定域电子体系的基团,例如花青、部花青、吲哚菁、酞菁、蔡菁、三苯基甲川 (triphenylmethine)、卟啉、吡啶鎓 (pyrilium) 染料、硫杂吡啶鎓 (thiapyriliup) 染料、方酸鎓 (squarylium) 染料、克酮酸鎓 (croconium) 染料、莫鎓 (azulenium) 染料、靛苯胺 (indoaniline)、苯并吩噻嗪鎓 (benzophenoxazinium) 染料、苯并噻吩并噻嗪鎓 (benzothiaphenothiazineium) 染料、葱醌、蔡醌、阴丹士林 (indathrene)、邻苯二甲酰吡啶酮、三苯酚并醌 (triphenoquinone)、偶氮染料、分子内和分子间电荷转移染料和染料络合物、2,4,6-环庚三烯-1-酮、四嗪、双(二硫纶) (bis(dithiolene)) 络合物、双(苯-二硫醇根)络合物、碘苯胺染料、双(S, O-二硫纶)络

合物。还可以使用荧光蛋白,诸如绿色荧光蛋白 (GFP) 和具有不同吸收 / 发射性质的 GFP 的变体。在某些环境下,正如荧光纳米晶体 (量子点),使用某些稀土金属 (例如铕、钐、铽或镱) 的络合物。优选本发明的光学成像部分不含金属络合物,且优选为合成有机染料。

[0021] 可使用的光学成像部分的特定实例包括:荧光素、磺基罗丹明 101 (Texas Red)、罗丹明 B、罗丹明 6G、罗丹明 19、吖啶菁绿、花青染料 Cy2、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Marina Blue、Pacific Blue、Oregon Green 88、Oregon Green 514、四甲基罗丹明及 Alexa Fluor® 532、Alexa Fluor® 546、Alexa Fluor® 555、Alexa Fluor® 568、Alexa Fluor® 594、Alexa Fluor® 633、Alexa Fluor® 647、Alexa Fluor® 660、Alexa Fluor® 680、Alexa Fluor® 700 和 Alexa Fluor® 750。

[0022] 根据本发明的合适盐包括 (i) 生理学上可接受的酸加成盐,诸如衍生自例如盐酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸的无机酸的酸加成盐以及衍生自例如酒石酸、三氟乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、反丁烯二酸、苯甲酸、乙醇酸、葡糖酸、琥珀酸、甲磺酸和对甲苯磺酸的有机酸的酸加成盐;和 (ii) 生理学上可接受的碱加成盐,诸如铵盐、碱金属盐 (例如钠和钾的盐)、碱土金属盐 (例如钙和镁的盐)、与诸如三乙醇胺、N-甲基-D-葡糖胺、哌啶、吡啶、哌嗪和吗啉的有机碱的盐和与诸如精氨酸和赖氨酸的氨基酸的盐。

[0023] 根据本发明的合适溶剂合物包括与乙醇、水、盐水、生理学缓冲剂和二醇形成的溶剂合物。

[0024] 术语“受试者”是指例如在乳房、结肠、前列腺、骨骼、膀胱、卵巢、胰脏、肠、肺、肾、肾上腺、肝或皮肤中有肿瘤或怀疑有肿瘤、特别是实体肿瘤的哺乳动物,优选人类。实体肿瘤的实例包括肉瘤和癌,诸如纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤 (lymphangioendotheliosarcoma)、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏肿瘤 (Ewing's tumour)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、威尔姆斯氏肿瘤 (Wilms' tumour)、子宫颈癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤 (ependymoma)、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突胶质细胞瘤、脑膜瘤、黑素瘤、成神经细胞瘤和成视网膜细胞瘤。

[0025] 这种受试者可能已经呈现表现癌症的一种或多种症状,诸如肿块或块,或者可针对癌症被常规筛选,或者由于存在一个或多个风险系数而针对癌症被筛选,可能已经被确定患有癌症,或者从前已经患有癌症但被筛选为症状缓解。

[0026] 术语“癌症患者”是指正被针对诸如如上定义的实体肿瘤的原发或转移性癌症或血液学恶性肿瘤 (例如急性或慢性骨髓白血病) 治疗的哺乳动物,优选人类。这类癌症的实例包括癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病。

[0027] 如本文所用,单独或作为另一术语的一部分的术语“卤素”是指碘、溴、氯或氟。

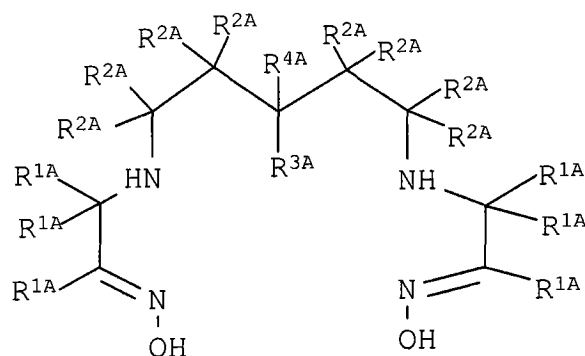
[0028] 如本文所用,单独或作为另一术语的一部分的术语“烷基”是指直链、支链或环状烷基。

[0029] 如本文所用,单独或作为另一术语的一部分的术语“芳基”是指碳环芳族体系,合适实例有苯基或萘基,更合适地为苯基。

[0030] 如本文所用,术语“烃基”是指由碳和氢组成的有机取代基,这类基团可包括饱和、不饱和或芳族部分。

[0031] 基团 A 中的合适“螯合基团”包括式 Z 的螯合基团,

[0032]



(Z)

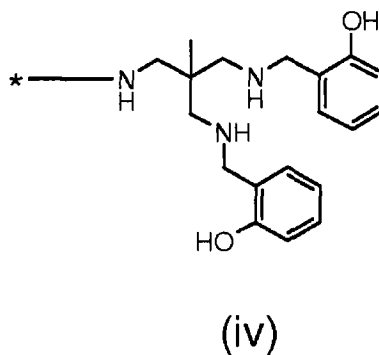
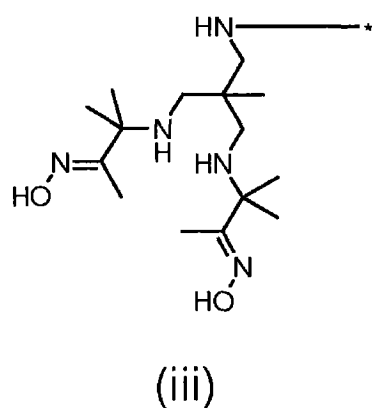
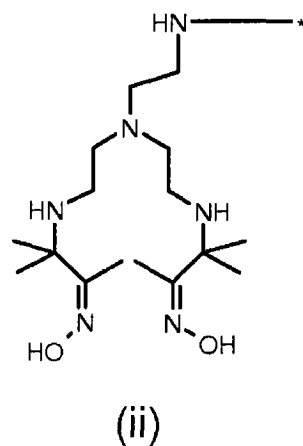
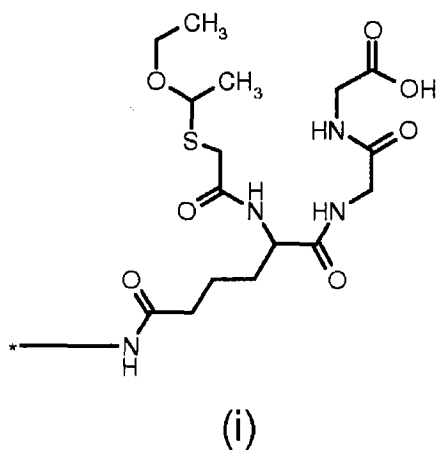
[0033] 其中：

[0034] R^{1A} 、 R^{2A} 、 R^{3A} 和 R^{4A} 各自独立地为 R^A 基团；

[0035] R^A 基团各自独立地为 H 或 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 烷基芳基、 C_{2-10} 烷氧基烷基、 C_{1-10} 羟基烷基、 C_{1-10} 烷基胺、 C_{1-10} 氟烷基,或 2 个或更多个 R^A 基团与其所连接的原子一起形成碳环、杂环、饱和或不饱和环,

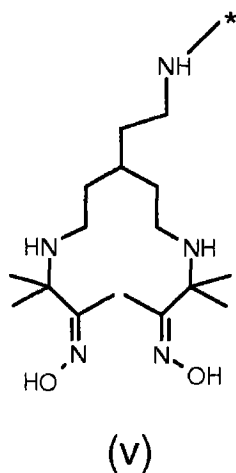
[0036] 或 A 可包含由式 (i)、(ii)、(iii) 或 (iv) 给出的螯合基团：

[0037]



[0038] 整合基团的优选实例由式 (v) 表示：

[0039]



[0040] 包含式 Z 的整合基团的式 (I) 化合物可被放射性标记以在室温下在水性条件下在近中性 pH 下得到优良放射化学纯度 (RCP)。

[0041] 其他合适的整合基团包括：

[0042] (i) 具有诸如 MAG₃ (巯基乙酰基三甘氨酸) 的硫醇三酰胺供体组的 N₃S 整合基团和相关整合基团；或具有诸如 2-吡啶甲酰胺 (picolinomide) (Pica) 的二酰胺吡啶硫醇供体组的 N₃S 整合基团；

[0043] (ii) 具有诸如双氨基硫醇 (BAT) 或半胱氨酸乙酯二聚体 (ECD) 的二胺二硫醇供体组或诸如单胺-单酰胺 (MAMA) 的酰胺胺二硫醇供体组的 N_2S_2 螯合基团；

[0044] (iii) N_4 螯合基团, 其为具有诸如环拉胺 (cyclam)、单氧环拉胺或二氧代环拉胺的四胺、酰胺三胺或二酰胺二胺供体组的开链或大环配体；或

[0045] (iv) 具有二胺二酚供体组的 N_2O_2 螯合基团；或

[0046] (v) 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸 (DOTA)、1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N',N''-三乙酸 (NOTA) 及 DOTA 和 NOTA 的衍生物, 例如如 W089/001475 中所述。

[0047] 上述螯合基团 (i)-(iv) 特别适合络合镓, 例如 ^{94m}Tc 或 ^{99m}Tc 且由 Jurisson 等 [Chem. Rev., 99, 2205-2218 (1999)] 更透彻地描述。上述螯合基团也可用于其他金属, 诸如铜 (^{64}Cu 或 ^{67}Cu)、钒 (例如 ^{48}V)、铁 (例如 ^{52}Fe) 或钴 (例如 ^{55}Co)。螯合基团 (v) 特别适合络合镓 (例如 ^{67}Ga 或 ^{68}Ga)。其他合适的配体在 Sandoz 的 WO 91/01144 中描述, 其包括特别适合铟、钷和钆的配体, 特别是大环氨基酸酯和氨基磷酸配体。已知形成钆的非离子 (即中性) 金属络合物的配体且描述在 US 4885363 中。当放射性金属离子为镓时, 所述螯合基团优选为四齿配体。用于镓的优选螯合基团为二胺二酚, 或具有如上所述的 N_2S_2 或 N_3S 供体组的那些, 其中在需要透过血脑屏障的情况下优选 N_2S_2 螯合基团。

[0048] A 中的合适螯合基团的其他实例公开在 US-A-4647447、W089/00557、US-A-5367080、US-A-5364613 中。

[0049] 使式 (I) 化合物中存在的任何螯合基团金属化的方法在本领域的技术水平内。金属可通过以下三种通用方法中的任一种结合到螯合基团中: 直接结合、模板合成和 / 或金属交换。优选直接结合。

[0050] 因此, 需要金属离子例如通过仅仅暴露或混合含螯合基团的部分的水溶液与优选具有在约 4- 约 11 范围内的 pH 的水溶液中的金属盐而容易地络合到螯合基团。所述盐可为任何盐, 但优选所述盐为金属的水溶性盐诸如卤盐, 更优选选择这类盐以免妨碍金属离子与螯合基团 (chelating chelating group) 的结合。含螯合基团的部分优选在 pH 为约 5- 约 9、更优选 pH 为约 6- 约 8 的水溶液中。可将含螯合基团的部分与诸如柠檬酸盐、碳酸盐、乙酸盐、磷酸盐和硼酸盐的缓冲盐混合以产生最适宜的 pH。优选选择缓冲盐以免妨碍金属离子与螯合基团随后结合。

[0051] 如上所提及, ALDH 的底物也可用于放射疗法, 使得在癌症干细胞中放射治疗的积累使治疗响应有效局部化。癌症干细胞常常表现出对标准癌症治疗方法的抵抗性。使用靶向 ALDH 的放射治疗靶向破坏这些细胞可基于其本身或与其他癌症治疗方法组合提供更有效的方法。常规使用的癌症治疗方法包括诸如用烷基化剂 (例如包括 4- 过氧基环磷酰胺的环磷酰胺衍生物和 mafosphamide) 的化学疗法、激素疗法 (例如用芳香酶抑制剂、抗雄激素或他莫昔芬 (tamoxifen) 进行) 和放射疗法。

[0052] 根据本发明的另一方面, 提供用于放射治疗癌症患者的方法, 其包括给予所述癌症患者有效量的 ALDH 的放射疗法标记底物。

[0053] “ALDH 的放射疗法标记底物” 为式 (II) 化合物:

[0054] $R^*-(B)_m-C(O)H$ (II)

[0055] 或其盐或溶剂合物, 其中:

[0056] m 为 0 或 1 的整数;

[0057] R* 为放射治疗部分 ; 且

[0058] B 为载体部分 ; 且

[0059] 式 (II) 化合物的分子量低于 800 道尔顿。

[0060] 术语“放射治疗部分”是指包含选自以下各物的治疗用放射性核素的基团： β 发射体 ^{131}I 、 ^{33}P 、 ^{169}Er 、 ^{177}Lu 、 ^{67}Cu 、 ^{153}Sm 、 ^{198}Au 、 ^{109}Pd 、 ^{186}Re 、 ^{165}Dy 、 ^{89}Sr 、 ^{32}P 、 ^{188}Re 和 ^{90}Y ； α 发射体 ^{211}At 、 ^{212}Bi 和 ^{213}Bi ；和 Auger 发射体 ^{51}Cr 、 ^{67}Ga 、 ^{75}Se 、 ^{77}Br 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和 ^{201}Tl 。当放射治疗部分包含放射性金属时，所述金属整合到如上定义的整合基团。所述整合基团可直接键合到式 (II) 化合物的其余部分或可通过任选还含有 1-10 个选自氮、氧和硫的杂原子的 C_{1-30} 烃基连接基团连接，所述连接基团用来在空间上间隔螯合物与所述化合物的其余部分。包含非金属放射性标记的合适放射治疗部分为本领域所公知，且通常包含任选还含有 1-10 个选自氮、氧和硫的杂原子且具有与其共价连接或结合在其中的非金属放射性标记的 C_{1-30} 烃基连接基团，或者，在放射性卤素 ^{131}I 或 ^{77}Br 的情况下，这种放射性标记可直接键合到式 (II) 化合物的其余部分。

[0061] 在本发明的另一方面，提供用于检测受试者体内肿瘤干细胞的方法，其包括：

[0062] (i) 给予所述受试者式 (Ia) 化合物：

[0063] $\text{A}-(\text{B})_n-\text{C}(\text{O})\text{H}(\text{Ia})$

[0064] 或其盐或溶剂合物，其中：

[0065] n 为 0 或 1 的整数；

[0066] A 为放射成像部分；

[0067] B 为载体部分；且

[0068] 式 (Ia) 化合物的分子量低于 800 道尔顿；

[0069] (ii) 通过体内放射成像检测所述式 (Ia) 化合物的摄取。

[0070] 体内放射成像的优选方法为 PET 和 SPECT。这些成像方法在本领域中熟知且在有或怀疑有肿瘤的受试者的管理中用于提供有用信息。式 (I) 或 (Ia) 化合物的性质允许在成像期间 ALDH 表达的选择性成像，即识别或定量评定在还含有非 ALDH 表达细胞的肿瘤内的 ALDH 表达细胞。例如通过比较来自 ALDH 表达区域的数据与来自邻近或本底区域的数据分析成像数据将允许估计 ALDH 表达水平。

[0071] 从本发明的成像方法中得到的数据和图像可对改善临床患者管理作出贡献，例如它们可提供有价值的预后信息，帮助受试者选择最合适的疗法或提供疗法功效的量度。

[0072] 根据本发明的另一方面，本发明提供监视受试者体内肿瘤治疗的效果（例如用细胞毒素剂或放射疗法治疗）的方法，所述方法包括：

[0073] (i) 给予所述受试者式 (I) 化合物：

[0074] $\text{A}-(\text{B})_n-\text{C}(\text{O})\text{H}(\text{I})$

[0075] 或其盐或溶剂合物，其中：

[0076] n 为 0 或 1 的整数；

[0077] A 为放射成像部分或光学成像部分；

[0078] B 为载体部分；且

[0079] 式 (I) 化合物的分子量低于 800 道尔顿；

[0080] (ii) 通过体内成像检测所述式 (I) 化合物的摄取，

[0081] 所述给予和检测步骤 (i) 和 (ii) 任选但优选例如在治疗之前、治疗期间和治疗之后重复进行。

[0082] 在本发明的另一方面,提供用于检测受试者体内肿瘤干细胞的方法,其包括:

[0083] (i) 给予所述受试者式 (Ib) 化合物:

[0084] $A-(B)_n-C(O)H(Ib)$

[0085] 或其盐或溶剂合物,其中:

[0086] n 为 0 或 1 的整数;

[0087] A 为光学成像部分;

[0088] B 为载体部分;且

[0089] 式 (Ib) 化合物的分子量低于 800 道尔顿;

[0090] (ii) 通过体内光学成像检测所述式 (Ib) 化合物的摄取。

[0091] 光学成像技术包括发光成像;内窥镜检查;荧光内窥镜检查;光学相干断层摄影;透射成像;时间分辨透射成像;共焦成像;非线性显微镜检查、光声成像;声光成像;光谱法;反射光谱法;干涉测量法;相干干扰测量法;扩散光学断层摄影和荧光介导的扩散光学断层摄影(连续波,时域和频域体系)和光散射、吸收、极化、发光、荧光寿命、量子产量和猝灭的测量。这些技术的更多细节由(Tuan Vo-Dinh(编者):“Biomedical Photonics Handbook(生物医学光子学手册)”(2003),CRC Press LCC;Mycek & Pogue(编者):“Handbook of Biomedical Fluorescence(生物医学荧光手册)”(2003),Marcel Dekker, Inc.;Splinter & Hopper:“An Introduction to Biomedical Optics(生物医学光学入门)”(2007),CRC Press LCC 提供。

[0092] 本发明的光学成像方法可用于检测各种靶组织和病症中的癌症干细胞,包括但不限于食管上皮(鳞状或柱状)、食管癌、巴雷特氏食管(Barrett's oesophagus)、结肠直肠癌、皮肤癌(例如黑素瘤)、子宫颈癌、口腔癌。这些成像方法可提供将可用于已诊断有上述病症或怀疑有上述病症的患者的管理的信息。这些方法也可在外科手术期间用于指引外科医师且便于更准确地识别或除去癌细胞。

[0093] 式 (I)、(Ia)、(Ib) 和 (II) 化合物为具有醛官能团的 ALDH 的底物,该醛官能团在体内转化为羧酸,且最优选选择性地通过肿瘤的癌症干细胞群中高度表达的细胞内酶水平来转化为羧酸。酶致转化的带负电荷的产物截留在细胞内,信号随时间而在体内积聚。

[0094] 任选的载体部分 B 设计用来修饰式 (I) 或 (II) 化合物的疏水性以最适宜于细胞,且合适地具有式:

[0095] $-(Ar)_p-(X^1)_q-(C_{1-6} \text{ 烷基})_r-$

[0096] 其中:

[0097] p、q 和 r 各自为独立地选自 0 和 1 的整数,条件是 p、q 和 r 中的至少一者为 1;

[0098] Ar 为稠合或非稠合的 1、2 或 3 元芳环体系,且任选包含 1-3 个选自氮、氧、硫和硼的杂原子且任选具有 1-5 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 $-NR^1R^2$ 的取代基,其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

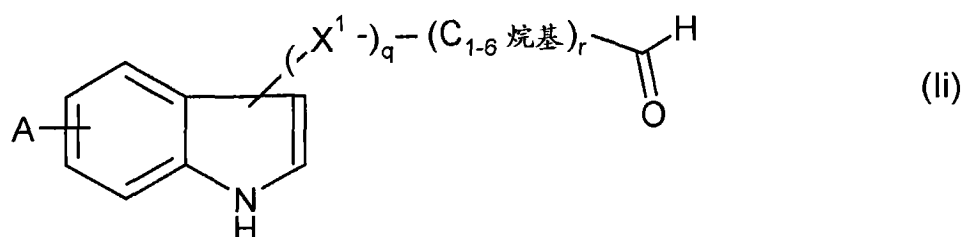
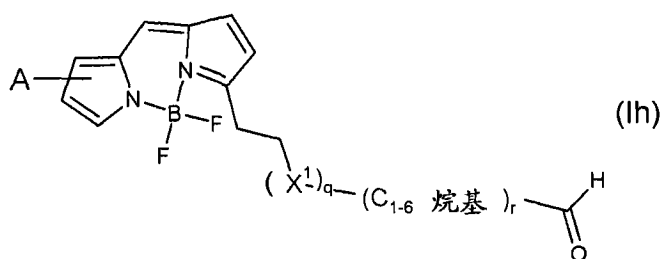
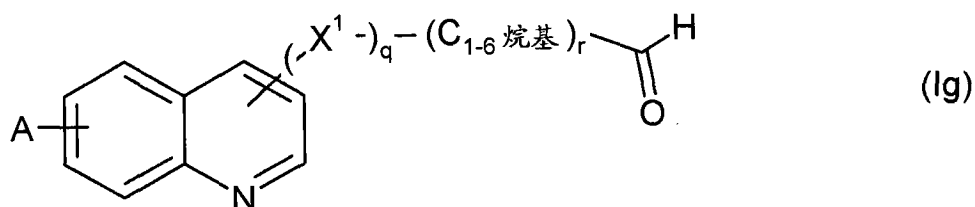
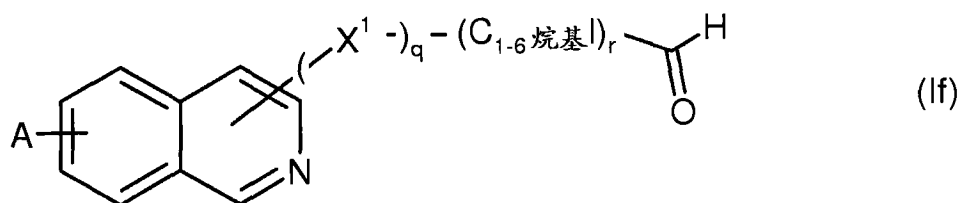
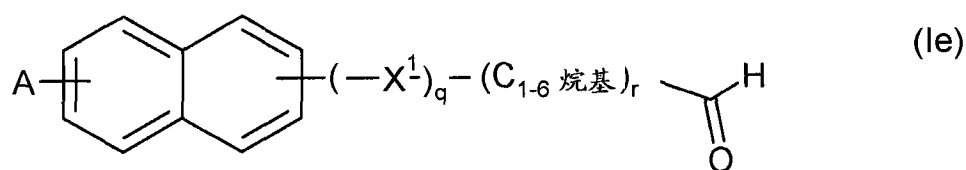
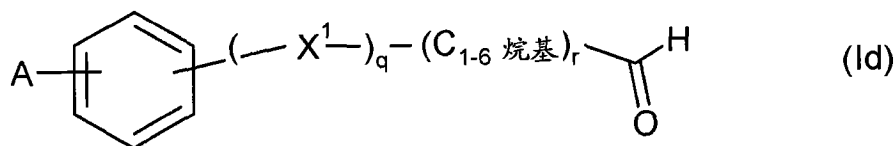
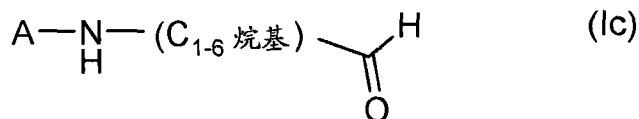
[0099] X^1 选自 $-CR_2-$ 、 $-CR=CR-$ 、 $-C\equiv C-$ 、 $-CR_2CO_2-$ 、 $-CO_2CR_2-$ 、 $-NRCO-$ 、 $-CONR-$ 、 $-NR(C=O)NR-$ 、 $-NR(C=S)NR-$ 、 $-SO_2NR-$ 、 $-NRSO_2-$ 、 $-CR_2OCR_2-$ 、 $-CR_2SCR_2-$ 和 $-CR_2NRCR_2-$, 其中 R 各自

独立地选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₁₋₆ 烷氧基烷基和 C₁₋₆ 羟基烷基。

[0100] 优选的基团 Ar 包括苯基、萘基、联苯基、喹啉、异喹啉和吲哚。

[0101] 一方面,如本发明的成像方法中使用的式 (I) 化合物为选自式 (Ic)-(Ii) 的化合物:

[0102]



[0103] 其中 A、X¹、q 和 r 如上定义且各芳基任选具有 1-5 个选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C₁₋₆ 烷基和 -NR¹R² 的取代基,其中 R¹ 和 R² 独立地选自氢、C₁₋₆ 烷基和 C₁₋₆ 卤代烷基。

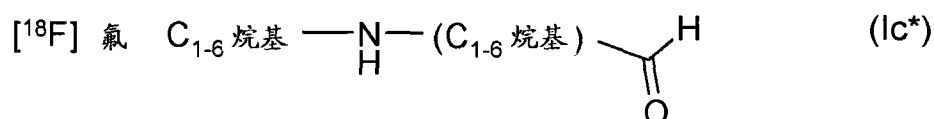
[0104] 在式 (Ic)–(Ii) 中, 基团 A 如上文对于式 (I)、(Ia) 或 (Ib) 的定义。本发明的一方面, 基团 A 选自 C_{1-6} 放射性卤代烷基, 诸如 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基或 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基; C_{1-6} 放射性卤代烷氧基, 诸如 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基或 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基; C_{1-6} 放射性卤代烷基氨基, 诸如 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6}\text{烷基})-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6}\text{烷基})-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘。

[0105] 在式 (Id)–(Ii) 中, q 为 0 或 1 的整数且优选为 1, 且 X^1 如上定义, 本发明的一方面, X^1 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$ 。

[0106] 在式 (Id)–(Ii) 中, r 为 0 或 1 的整数且优选为 1。

[0107] 一方面, 式 (Ic) 化合物具有式 (Ic*):

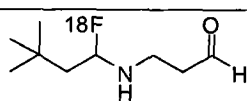
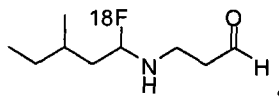
[0108]



[0109] 或其盐或溶剂合物。

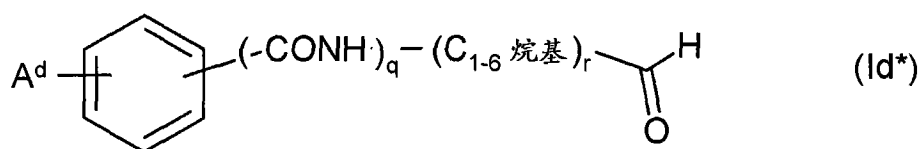
[0110] 式 (Ic*) 的具体化合物包括:

[0111]

化合物编号	结构
1	
2	

[0112] 一方面, 式 (Id) 化合物具有式 (Id*):

[0113]



[0114] 或其盐或溶剂合物, 其中:

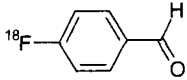
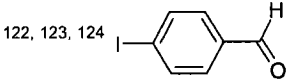
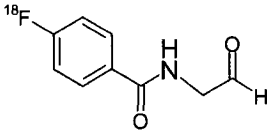
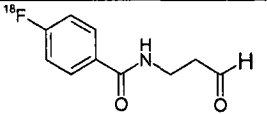
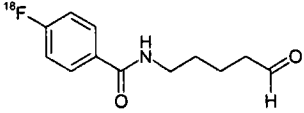
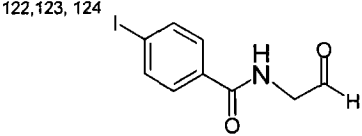
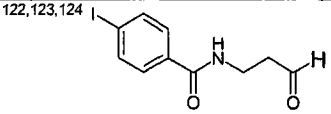
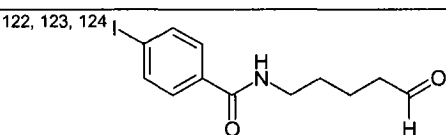
[0115] A^d 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6}\text{烷基})-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(C_{1-6}\text{烷基})-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘;

[0116] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数, 条件是如果 r 为 0, 则 q 也为 0。

[0117] 在式 (Id*) 化合物中, A^d 合适地选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘且 q 合适地为 1。

[0118] 式 (Id*) 的具体化合物包括:

[0119]

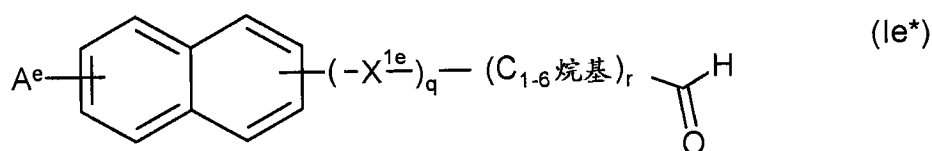
化合物编号	结构
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

[0120]

11	
12	
13	
14	4-[(2-[¹⁸ F] 氟乙基)-丙基-氨基]苯甲醛。

[0121] 一方面,式 (Ie) 化合物具有式 (Ie*) :

[0122]



[0123] 或其盐或溶剂合物,其中:

[0124] A^e 选自 [¹⁸F] 氟 C_{1-6} 烷基、[^{122,123,124}I] 碘 C_{1-6} 烷基、[¹⁸F] 氟 C_{1-6} 烷氧基、[^{122,123,124}I] 碘 C_{1-6} 烷氧基、[¹⁸F] 氟 C_{1-6} 烷基 NH-、[^{122,123,124}I] 碘 C_{1-6} 烷基 NH-、[¹⁸F] 氟 C_{1-6} 烷基 N(C_{1-6} 烷基)-、[^{122,123,124}I] 碘 C_{1-6} 烷基 N(C_{1-6} 烷基)-、[¹⁸F] 氟和 [^{122,123,124}I] 碘;

[0125] X^{1e} 为 -CONH- 或 -SO₂NH-;[0126] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数,条件是如果 r 为 0,则 q 也为 0;

[0127] 且所述萘基环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 -NR¹R² 的取代基进一步取代,其中 R¹ 和 R² 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0128] 在式 (Ie*) 化合物中, A^e 优选选自 [¹⁸F] 氟和 [^{122,123,124}I] 碘,且萘基环被基团 -NR¹R² 合适地取代,其中 R¹ 和 R² 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

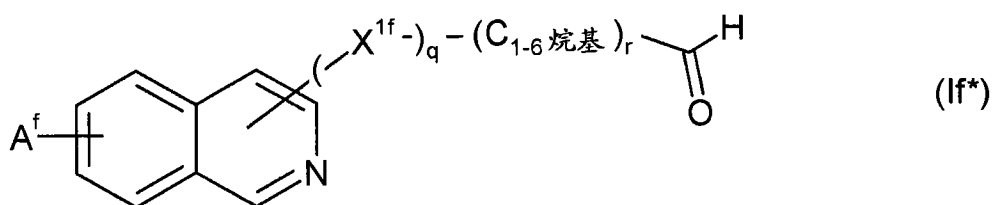
[0129] 式 (Ie*) 的具体化合物包括:

[0130]

化合物编号	结构
15	
16	
17	
18	
19	
20	

[0131] 一方面,式(If)化合物具有式(If*):

[0132]



[0133] 或其盐或溶剂合物, 其中:

[0134] A^f 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{烷基})-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘;

[0135] X^{1f} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

[0136] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数, 条件是如果 r 为 0, 则 q 也为 0;

[0137] 且所述异喹啉环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代, 其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0138] 式 (If*) 的具体化合物包括:

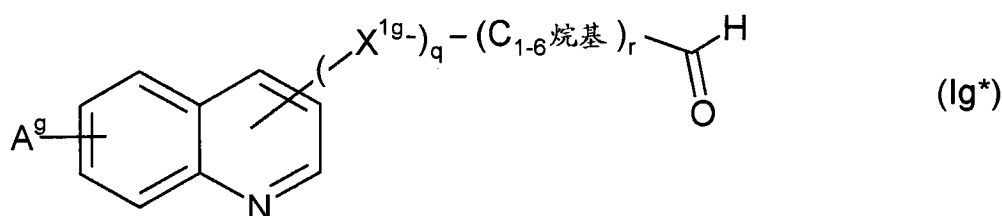
[0139]

化合物编号	结构
21	
22	
23	
24	

[0140]

[0141] 一方面, 式 (Ig) 化合物具有式 (Ig*):

[0142]



[0143] 或其盐或溶剂合物, 其中:

[0144] A^g 选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷氧基、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $[^{18}\text{F}]$ 氟 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘 C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{C}_{1-6}$ 烷基)-、 $[^{18}\text{F}]$ 氟和 $[^{122,123,124}\text{I}]$ 碘;

[0145] X^{1g} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

[0146] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数, 条件是如果 r 为 0, 则 q 也为 0;

[0147] 且所述喹啉环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 的取代基进一步取代, 其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

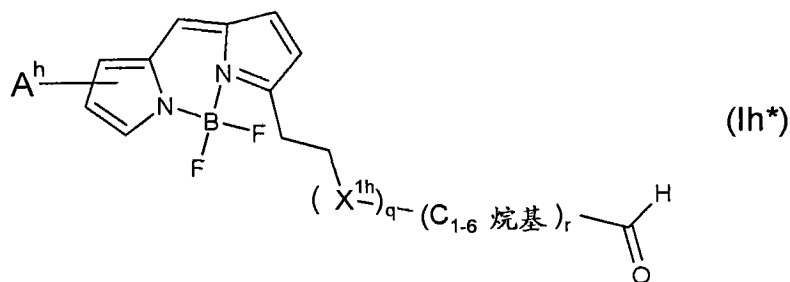
[0148] 式 (Ig*) 的具体化合物包括:

化合物编号	结构
25	
26	
27	
28	

[0150]

[0151] 一方面, 式 (Ih) 化合物具有式 (Ih*):

[0152]



[0153] 或其盐或溶剂合物, 其中:

[0154] A^h 不存在或选自 [¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷基、[^{122, 123, 124}I] 碘 C₁₋₆ 烷基、[¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷氧基、[^{122, 123, 124}I] 碘 C₁₋₆ 烷氧基、[¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷基 NH-、[^{122, 123, 124}I] 碘 C₁₋₆ 烷基 NH-、[¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷基 N(C₁₋₆ 烷基)-、[^{122, 123, 124}I] 碘 C₁₋₆ 烷基 N(C₁₋₆ 烷基)-、[¹⁸F] 氟和 [^{122, 123, 124}I] 碘；

[0155] X^{1h} 为 $-\text{CONH}-$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

[0156] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数,条件是如果 r 为 0,则 q 也为 0;

[157] 且所述芳环任选被 1-3 个选自 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C₁₋₆ 烷基和 -NR¹R² 的取代基进一步取代, 其中 R¹ 和 R² 独立地选自氢、C₁₋₆ 烷基和 C₁₋₆ 卤代烷基。

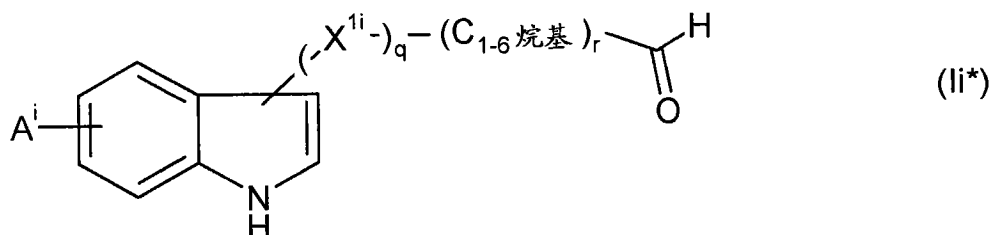
[0158] 其中不存在基团 A^h 的式 (In*) 化合物形成本发明的单独方面, 其中所述芳基环为光学成像部分。

[0159] 式 (Ih*) 的具体化合物包括：

化合物编号	结构
29	
30	

[0161] 一方面,式(Ii)化合物具有式(Ii*):

[0162]



[0163] 或其盐或溶剂合物, 其中:

[0164] Aⁱ 选自 [¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷基、[^{122,123,124}I] 碘 C₁₋₆ 烷基、[¹⁸F] 氟 C₁₋₆ 烷氧基、[^{122,123,124}I]

碘 C_{1-6} 烷氧基、 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷基 NH-、 $^{122,123,124}I$ 碘 C_{1-6} 烷基 NH-、 ^{18}F 氟 C_{1-6} 烷基 N(C_{1-6} 烷基)-、 $^{122,123,124}I$ 碘 C_{1-6} 烷基 N(C_{1-6} 烷基)-、 ^{18}F 氟和 $^{122,123,124}I$ 碘；

[0165] X^{11} 为 $-CONH-$ 或 $-SO_2NH-$ ；

[0166] q 和 r 各自独立地为 0 或 1 的整数，条件是如果 r 为 0，则 q 也为 0；

[0167] 且所述吲哚环任选被 1-3 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基和 $-NR^1R^2$ 的取代基进一步取代，其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

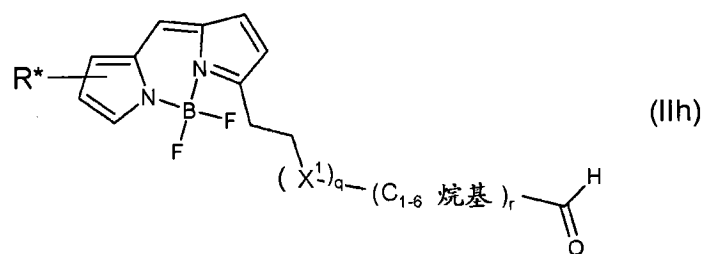
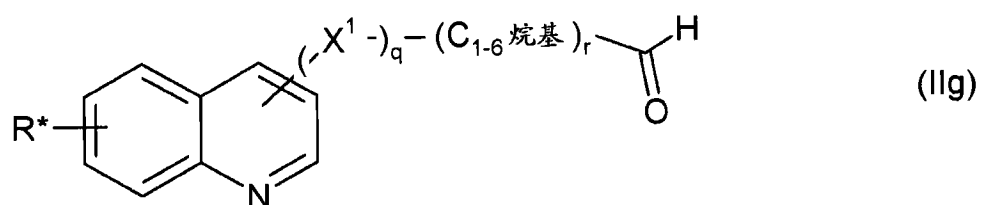
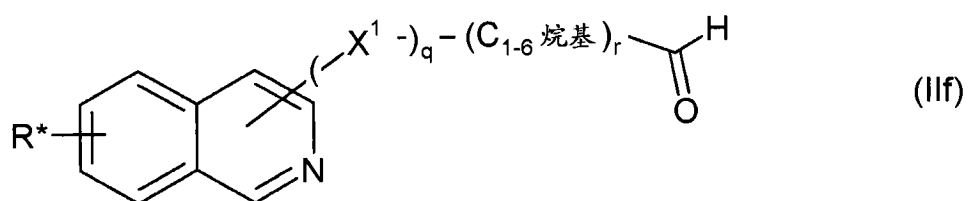
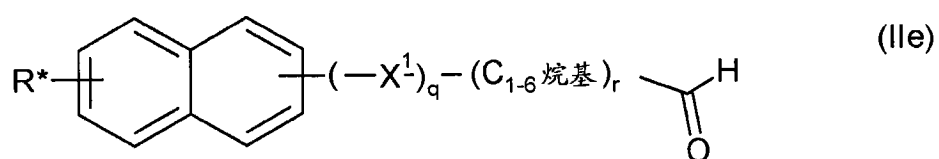
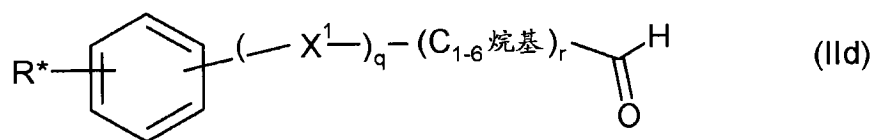
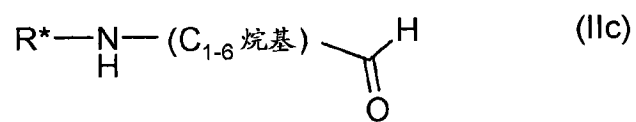
[0168] 式 (II*) 的具体化合物包括：

[0169]

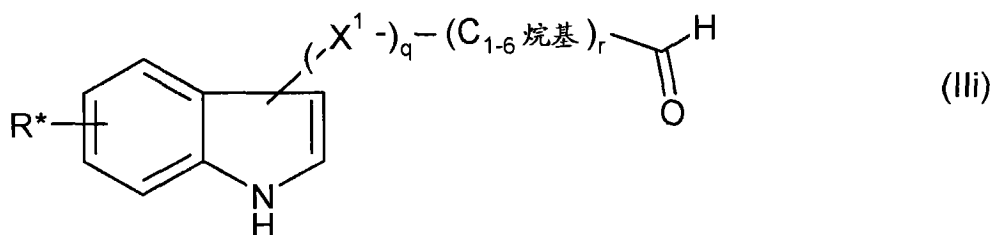
化合物编号	结构
31	
32	
33	
34	
35	

[0170] 一方面，如本发明的放射疗法中使用的式 (II) 化合物为选自式 (IIc)-(IIi) 的化合物：

[0171]



[0172]



[0173] 其中 R^* 、 X^1 、 q 和 r 如上定义且各芳基任选具有 1-5 个选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷氧基、卤素、氰基、硝基、羟基、羧基 C_{1-6} 烷基和 $-NR^1R^2$ 的取代基，其中 R^1 和 R^2 独立地选自氢、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基。

[0174] 式 (Ic)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 和 (IIc)-(Iii) 的某些化合物为新化合物，因此形成本发明的另一方面。

[0175] 式 (I) 和 (II) 化合物以及其更具体的方面可通过例如在下文和实施例中所述的常规方法制备。将放射成像部分或光学成像部分结合到式 (I) 化合物或将放射治疗部分结合到式 (II) 化合物尽可能接近合成的末尾合适地进行，以避免不必要的衰减或其损失。

[0176] ^{11}C 标记可通过 ^{11}C 标记剂（即，能够与本发明化合物前体中的官能团反应的反应性小分子）结合到本发明化合物中。这类标记剂的实例包括 $[^{11}\text{C}]$ 二氧化碳、 $[^{11}\text{C}]$ 一氧化碳、 $[^{11}\text{C}]$ 甲烷、 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷、 $[^{11}\text{C}]$ 光气、 $[^{11}\text{C}]$ 氰化物、 $[^{11}\text{C}]$ 氨基氰和 $[^{11}\text{C}]$ 胍。其中，最常用的是 $[^{11}\text{C}]$ 二氧化碳和 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷。这类 ^{11}C -标记技术的透彻评述可在 Antoni 等，“Aspects on the the Synthesis of ^{11}C -Labelled Compounds（合成 ^{11}C 标记的化合物的各方面）”，Handbook of Radiopharmaceuticals（放射性药物手册），M. J. Welch 和 C. S. Redvanly 编（2003, John Wiley and Sons）中见到。

[0177] ^{11}C 通过 $^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$ 核反应由分别具有微量 O_2 或 H_2 的 N_2 靶标气体以 $^{11}\text{CO}_2$ 或 $^{11}\text{CH}_4$ 形式产生 (Bida 等, Radiochim. Acta., 27 91979) 181)。 $^{11}\text{CO}_2$ 或 $^{11}\text{CH}_4$ 可转化为诸如 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷的有用 ^{11}C -标记剂。

[0178] $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷通常用于进行碳、氮、氧或硫亲核试剂（例如胺或羟基）的 $[^{11}\text{C}]$ 甲基化。 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷中亲电子碳的反应性可通过转化为例如 $[^{11}\text{C}]$ 三氟甲磺酸甲酯而增加 (Holschbach 和 Schuller, Appl. Radiat. Isot., 44(1993), 897)。或者， $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷可转化为亲核的 $[^{11}\text{C}]$ 甲基锂或 $[^{11}\text{C}]$ 甲基（2-噻吩基）铜酸锂，其扩大了可通过 $[^{11}\text{C}]$ 甲基化标记的官能团的范围。 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷也可转化为其他标记剂，诸如 $[^{11}\text{C}]$ 次氟酸甲酯 (methylhypofluorite)、亚甲基三苯基砷 $[^{11}\text{C}]$ 或 $[^{11}\text{C}]$ 碘化甲基镁。 $[^{11}\text{C}]$ 甲基化可在溶液相中进行，在例如碳酸钾、氢氧化钠或氢化钠的碱存在下将适当前体溶解于诸如二甲亚砜、二甲基甲酰胺、乙腈或丙酮的溶剂中。或者， $[^{11}\text{C}]$ 甲基化可使用诸如 HPLC 回路或固相萃取柱的固体载体以在通过 $[^{11}\text{C}]$ 甲基化剂之前首先使前体固定来进行。

[0179] 诸如 $[^{11}\text{C}]$ 碘乙烷或卤化甲苯的高级 $[^{11}\text{C}]$ 卤化烃可由 $[^{11}\text{C}]$ 二氧化碳通过与格利雅试剂 (Grignard reagent) 反应、接着用氢化铝锂还原并卤化，例如用氢碘酸碘化来制备。这些卤化物以与 $[^{11}\text{C}]$ 碘甲烷相似的方式用于碳、氮、氧或硫亲核试剂的烷基化。

[0180] 诸如乙酰氯、环己烷甲酰氯和呋喃甲酰氯的 $[^{11}\text{C}]$ 酰基氯可用于标记羰基位置，例如在 McCarron 等, J. Labelled Compd. Radiopharm, 38, 941-953 中所述。羰基位置也可使用 $[^{11}\text{C}]$ 光气或 $[^{11}\text{C}]$ 一氧化碳标记。

[0181] $[^{11}\text{C}]$ 溴化氰可用于非特异性标记大分子及通过分别与胺、醇和硫醇反应而用于化

学选择性标记氨基氰、氰酸酯和硫氰酸酯。

[0182] 在芳环中结合 [^{11}C] 标记可通过 Mäding 等 (2000) J. Labelled Compd. Radiopharm. 39, 585-600 中所述的方法实现, 且在杂环中结合 [^{11}C] 标记可通过 Thorell 等 (1998), J. Labelled Compd. Radiopharm. 41, 345-353 的方法实现。

[0183] ^{18}F 可通过亲核氟化方法或亲电氟化方法结合到本发明的化合物中。氟例如可通过用 [^{18}F] 氟化物亲核置换离去基团而直接结合, 或者通过所制备且随后通过诸如烷基化的第二反应连接到靶标分子的 ^{18}F - 氟化标记剂结合。

[0184] [^{18}F] 氟化物使用 (p, n)- 核反应由富含 ^{18}O 的水方便地制备 (Guillaume 等, Appl. Radiat. Isot. 42(1991)749-762) 且通常作为已被干燥并用诸如四烷基铵盐或氨基聚醚 (例如 Kryptofix 2.2.2) 的相转移剂溶解的钾盐而分离。离去基团 (常常是磺酸酯, 诸如对甲苯磺酸酯、三氟甲磺酸酯或甲磺酸酯; 硝基; 三 C_{1-4} 烷基铵基; 或卤素基团, 诸如碘或溴) 的亲核置换通常可在诸如乙腈、二甲亚砜或二甲基甲酰胺的非质子溶剂中通过高温、例如 80-160°C、合适地 60-120°C 下加热 10-30 分钟或者通过微波加热来进行。

[0185] 有用的 [^{18}F] 标记剂包括 [^{18}F] 氟烷基卤化物, 诸如 [^{18}F] 氟丙基溴化物。这些通常通过在偶合到合适前体之前由 [^{18}F] 氟化物亲核置换合适的离去基团来制备。亲电 [^{18}F] 氟化可使用 $^{18}\text{F}_2$ 进行, 或者可将 $^{18}\text{F}_2$ 转化为 [^{18}F] 乙酰基次氟酸酯 (Lerman 等, Appl. Radiat. Isot. 49(1984), 806-813) 或转化为 N-[^{18}F] 氟吡啶鎓盐 (Oberdorfer 等, Appl. Radiat. Isot. 39(1988), 806-813)。这些亲电试剂可用以通过进行双键加成、芳族取代反应 (例如取代三烷基锡或汞基团) 或碳负离子的氟化来结合 ^{18}F 。

[0186] ^{76}Br 通常通过反应 $^{76}\text{Se}[\text{p}, \text{n}]^{76}\text{Br}$ 生成 (Friedman 等, J Label Compd Radiopharm, 1982, 19, 1427-8) 并作为诸如溴化铵或溴化钠的溴化物盐使用。 ^{124}I 通常通过反应 $^{124}\text{Te}(\text{p}, \text{n})^{124}\text{I}$ 得到且作为诸如碘化钠的碘化物盐使用。溴和碘的其他同位素可类似地制备。放射性溴和放射性碘通常通过在诸如过氧乙酸、N- 氯琥珀酰亚胺和 N- 氯甲基苯基磺酰胺 (例如氯胺-T 或 Iodogen) 的氧化剂存在下亲电溴化或碘化诸如三丁基锡烷基化化合物的三烷基锡前体, 或通过诸如在非极端温度下且在诸如水性缓冲液的合适溶剂中使用 Bolton Hunter 试剂的间接方法来引入有机分子中。放射性卤化方法在 Bolton, J Label. Compd Radiopharm 2002, 45, 485-528 中详细评述。

[0187] 可将放射性金属结合到如上所述的螯合基团。

[0188] 光学成像部分可通过常规方法与适当前体缀合以形成本发明的化合物, 例如参见 Achilefu, Technol. Cancer. Res. Treat., 3, 393-409 (2004); Li 等, Org. Lett., 8(17), 3623-26 (2006); 和 Bullock 等, J. Med. Chem., 48, 5404-5407 (2005)。缀合花青染料的一般方法由 Licha 等, Topics Curr. Chem., 222, 1-29 (2002); Adv. Drug Deliv. Rev., 57, 1087-1108 (2005) 描述。对于使用荧光染料标记剂进行标记的评述和实例, 参见“Non-Radioactive Labelling, a Practical Introduction (非放射性标记, 实用性入门)”, Garman, A. J. Academic Press, 1997; “Bioconjugation-Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences (生物医学科学的生物缀合蛋白质偶合技术)”, Aslam, M. and Dent, A., Macmillan Reference Ltd, (1998)。

[0189] 适于将光学成像部分结合到本发明化合物的试剂可从 GE Healthcare Limited、Atto-Tec、Dyomics、Molecular Probes 等购得。大多数这类染料可作为 NHS (N- 羟基琥珀

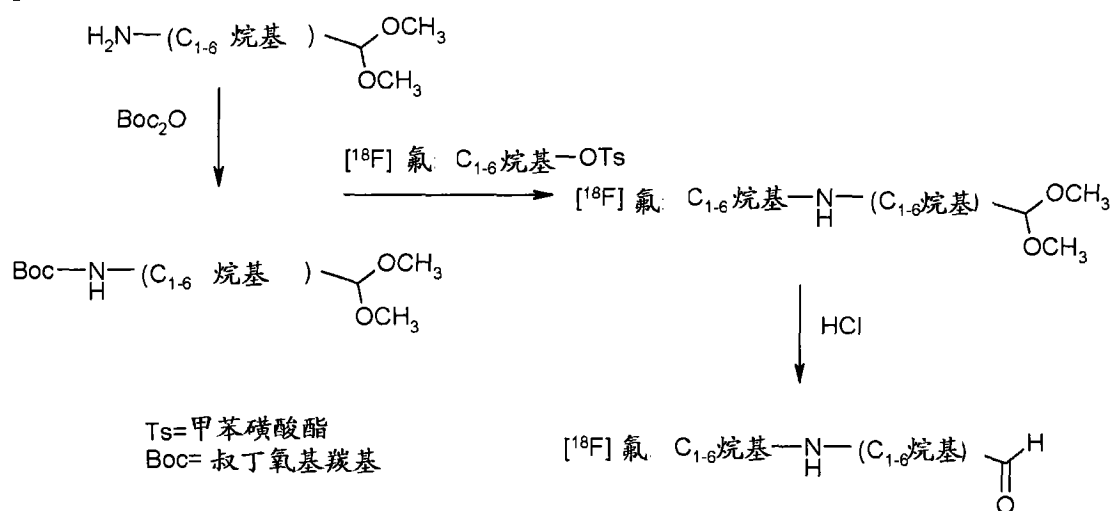
酰亚胺)活化酯得到。

[0190] 在将放射成像部分或光学成像部分结合到式 (I) 化合物或将放射治疗部分结合到式 (II) 化合物期间,醛官能团任选被封端为保护基团以避免不必要的副反应。用于此目的合适保护基团包括缩醛,诸如 $-\text{CH}(-\text{O}-\text{C}_{1-4}\text{烷基}-\text{O}-)$ (例如 $-\text{CH}(-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-)$; 或 $-\text{CH}(\text{OC}_{1-4}\text{烷基})_2$ (例如 $-\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$)。随后去保护以形成游离醛可使用标准方法、诸如用酸处理来进行。在一个实施方案中,在将放射成像部分或光学成像部分结合到式 (I) 化合物或将放射治疗部分结合到式 (II) 化合物期间,醛以不受保护的游离形式存在。

[0191] 式 (Ic*) 化合物可根据方案 1 或通过与类似的方法制备。类似化学的其他细节可在 W01996/036344; Zhurnal Obshchei Khimii; 19; 1949, 110; Chem. Abstr. 1949; 6164 和 W02004/9528 A1 中见到。原料胺可以购得。

[0192] 方案 1

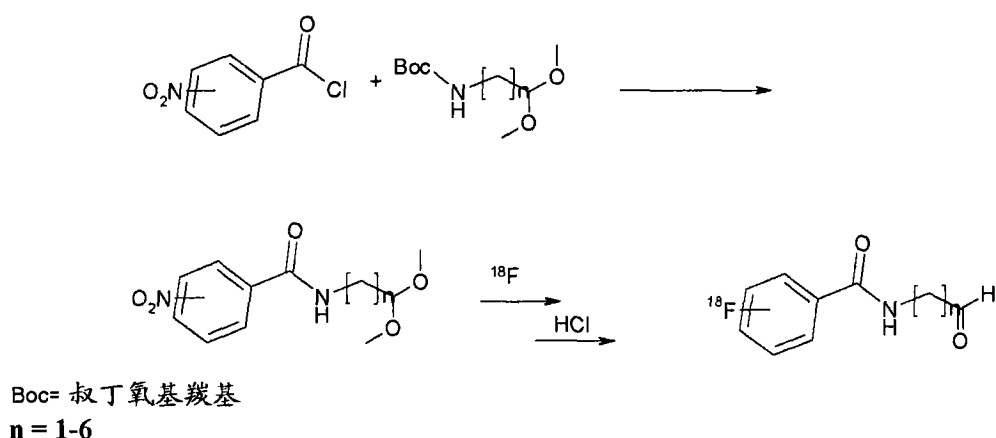
[0193]



[0194] 式 (Id*) 化合物可根据方案 2 或 3 或通过与类似的方法制备。

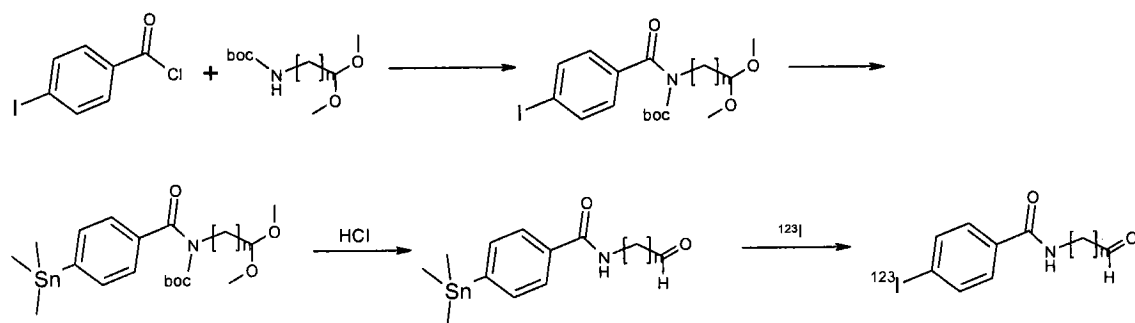
[0195] 方案 2

[0196]



[0197] 方案 3

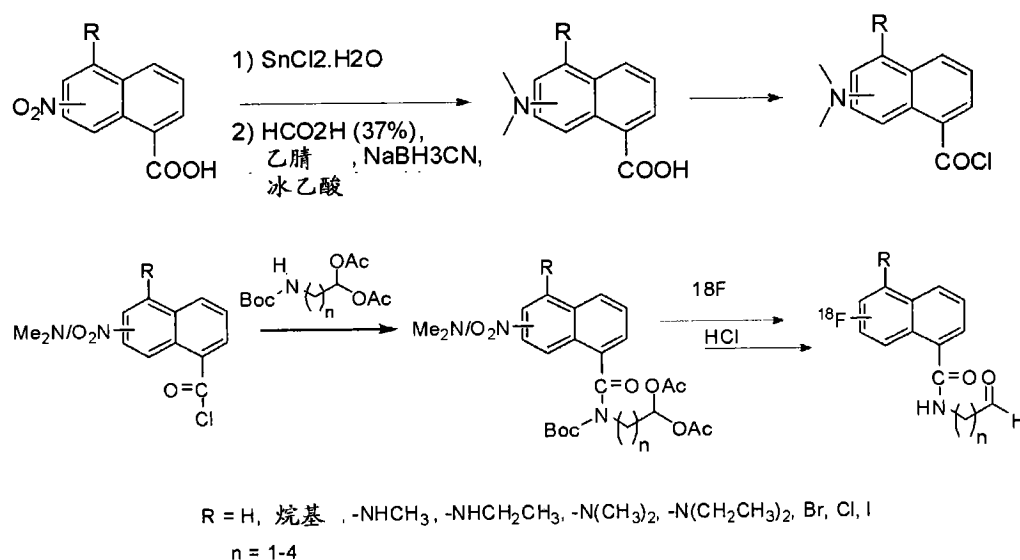
[0198]



[0199] 式 (Ie*) 化合物可根据方案 4-7 或通过与其类似的方法制备。类似化学的其他细节可在 W0 2005/021553 A1; Tetrahedron Letters 44(2003) 2691-2693; 和 W01996/036344 中见到。

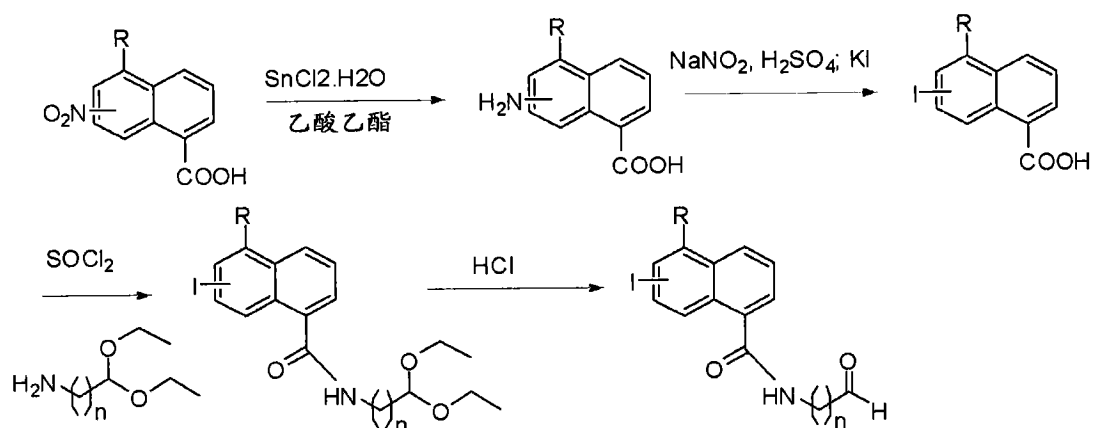
[0200] 方案 4

[0201]

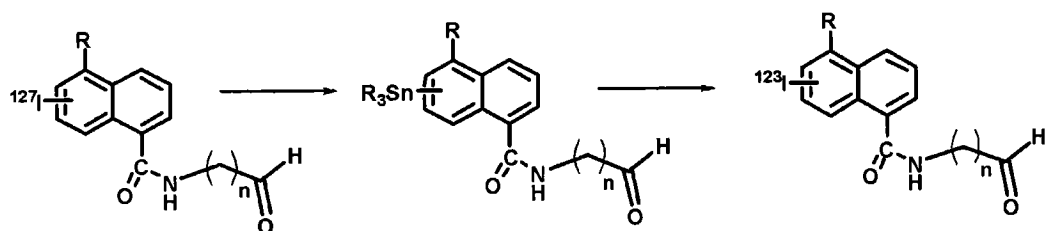


[0202] 方案 5

[0203]



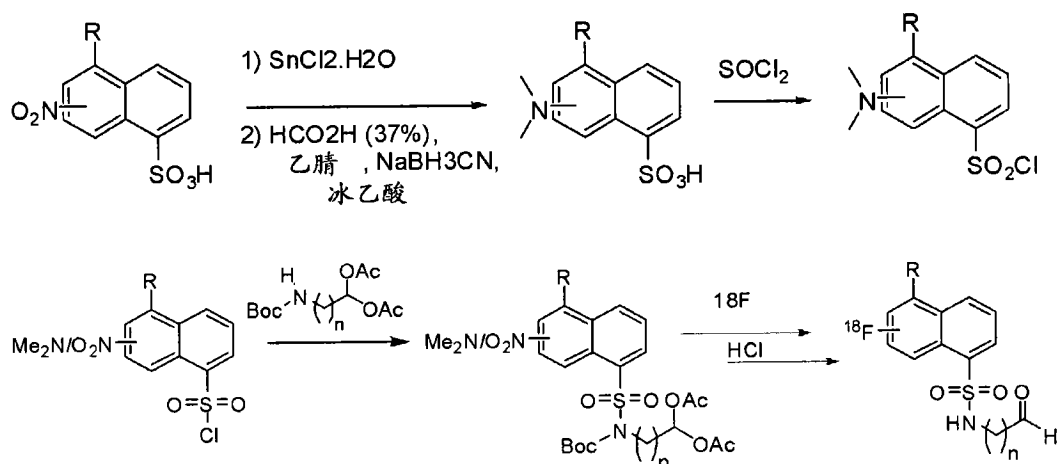
[0204]



R = H, 烷基, -NHCH₃, -NHCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₃)₂, Br, Cl, I
n = 1-4

[0205] 方案 6

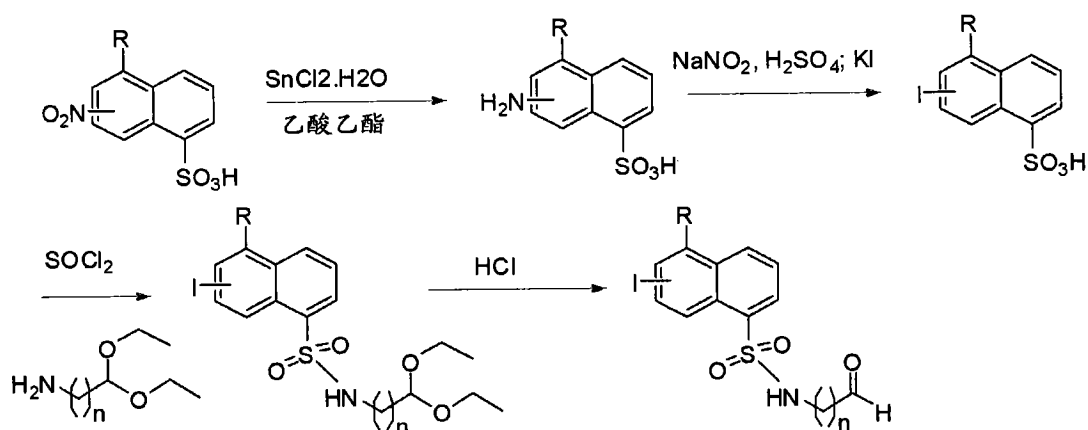
[0206]



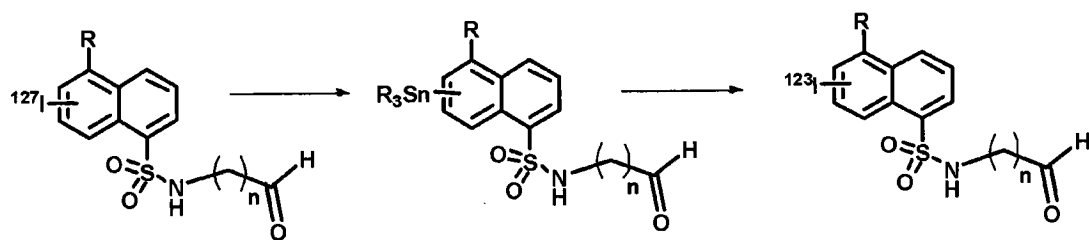
R = H, 烷基, -NHCH₃, -NHCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₃)₂, Br, Cl, I
n = 1-4

[0207] 方案 7

[0208]



[0209]



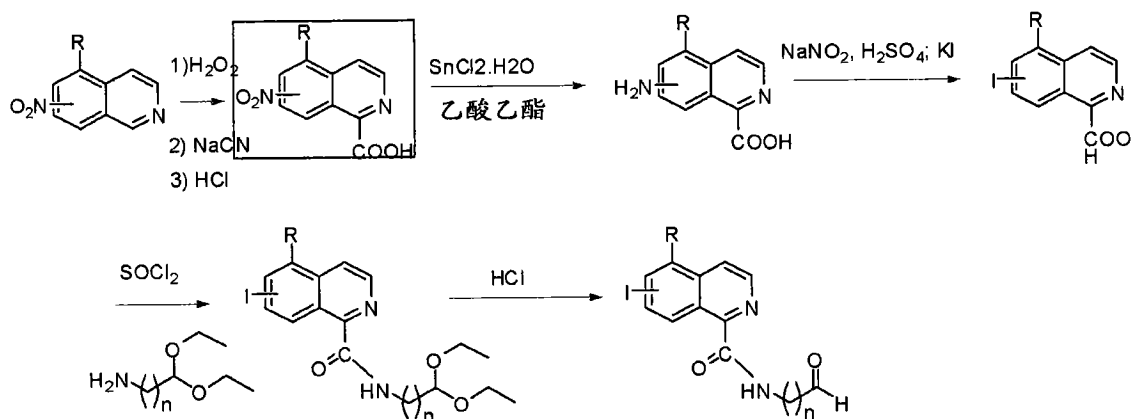
R = H, 烷基, -NHCH₃, -NHCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₃)₂, Br, Cl, I

n = 1-4

[0210] 式 (If*) 化合物可根据方案 8 或 9 或通过与其类似的方法制备。类似化学的其他细节可在 JOC, 12 月, 4571-79, 1962; Tetrahedron Letters 44 (2003) 2691-2693; 和 W01996/036344 中见到。

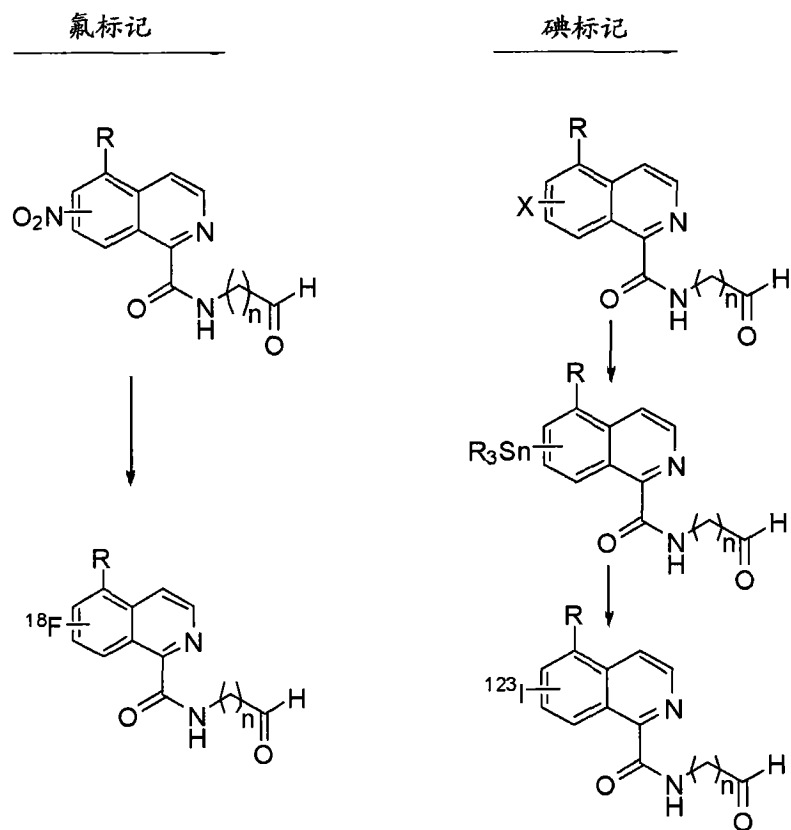
[0211] 方案 8

[0212]



[0213] 方案 8 (续)

[0214]

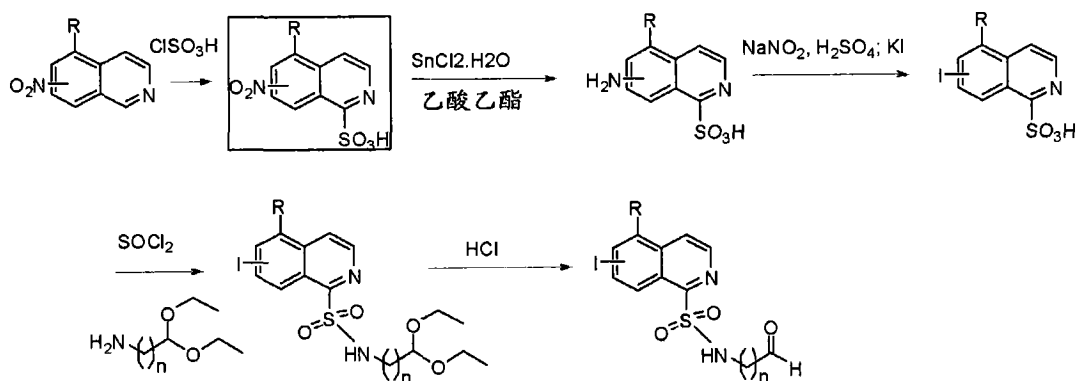


$R' = \text{H, 烷基, NHCH}_3, \text{NHCH}_2\text{CH}_3, -\text{N}(\text{CH}_3)_2, -\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2, \text{Br, Cl, I}$
 $n = 1-4$

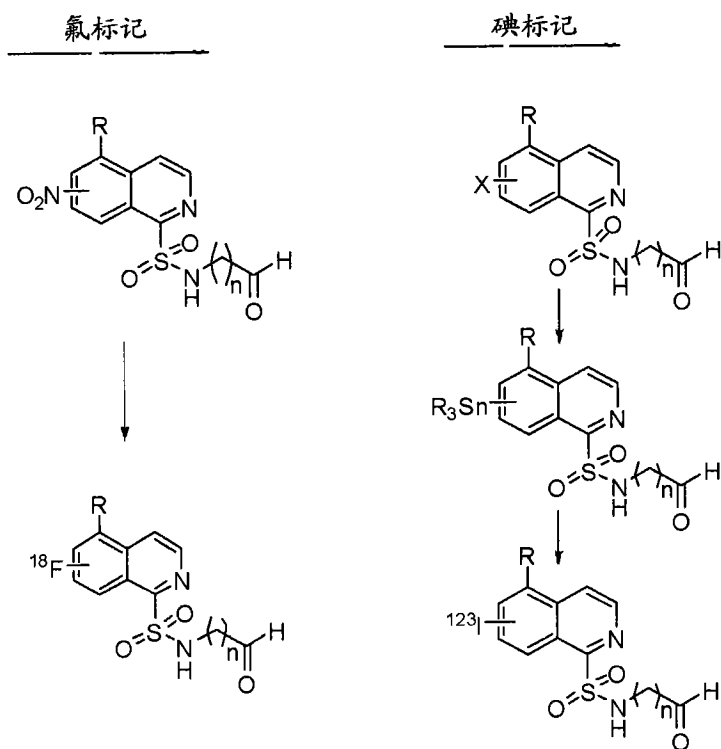
[0215] 方案 9

[0216] 类似化学的其他细节可在 J. Chem. Soc. (C), 1968, 1265-1267; Chem Ber, 53, 1920, 1021; Tet Lett, 42, 2001, 101701020; Tetrahedron Letters 45 (2004) 6607-6609; J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1985, 659; JOC, December, 4571-79, 1962; Tetrahedron Letters 44 (2003) 2691-2693; WO1996/036344; 和 Nucl. Med. Biol. 20 卷, 1 期, 13-22 页, 1993 中见到。

[0217]



[0218]

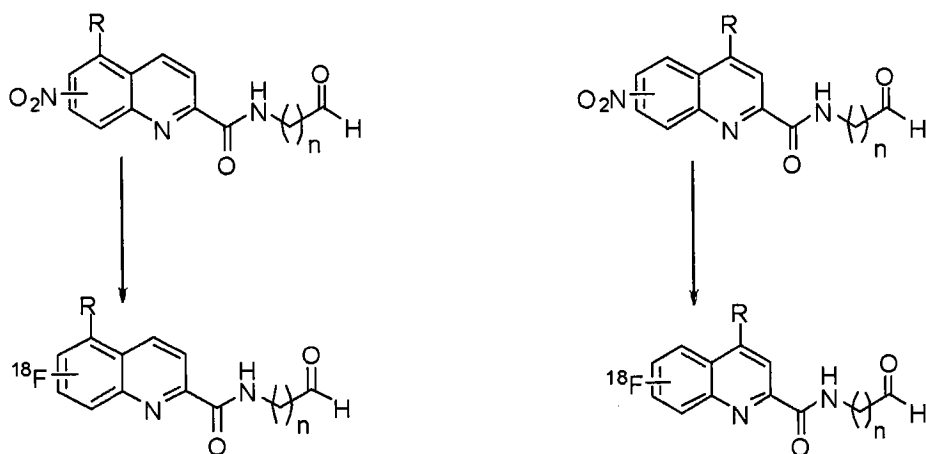


$R' = \text{H, 烷基, NHCH}_3, \text{NHCH}_2\text{CH}_3, -\text{N}(\text{CH}_3)_2, -\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2, \text{Br, Cl, I}$
 $n = 1-4$

[0219] 式 (If*) 化合物可根据方案 10-12 或通过与其类似的方法制备。原料可通过类似于上述化学的方式由可购得的相应硝基-喹啉-2-羧酸得到。类似化学的其他细节可在 Tetrahedron Letters 44(2003)2691-2693 ;W01996036344 ;Nucl.Med.Biol. 20 卷, I 期, 13-22 页, 1993 中见到。

[0220] 方案 10

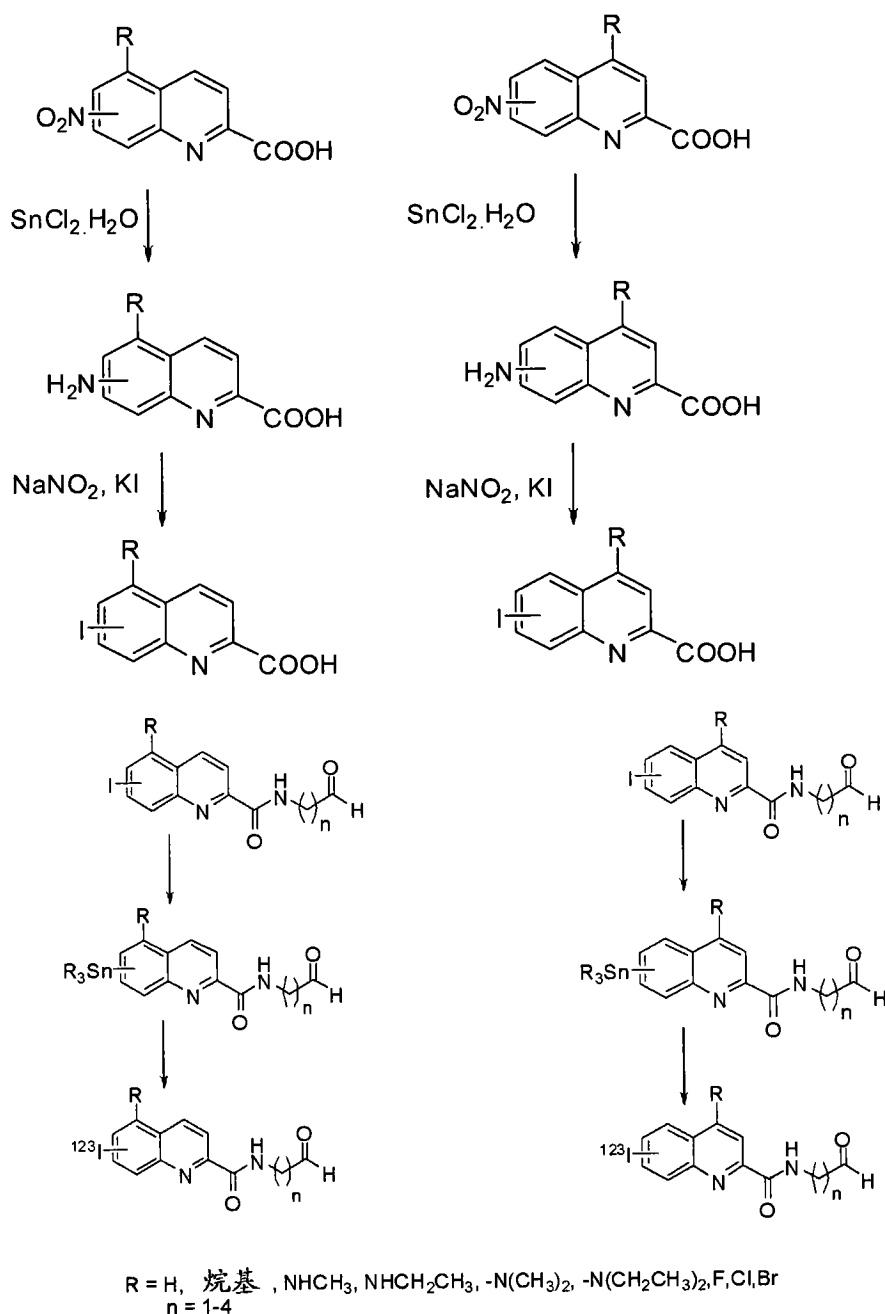
[0221]



$R = \text{H, 烷基, NHCH}_3, \text{NHCH}_2\text{CH}_3, -\text{N}(\text{CH}_3)_2, -\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2, \text{I, Br, Cl}$
 $n = 1-4$

[0222] 方案 11

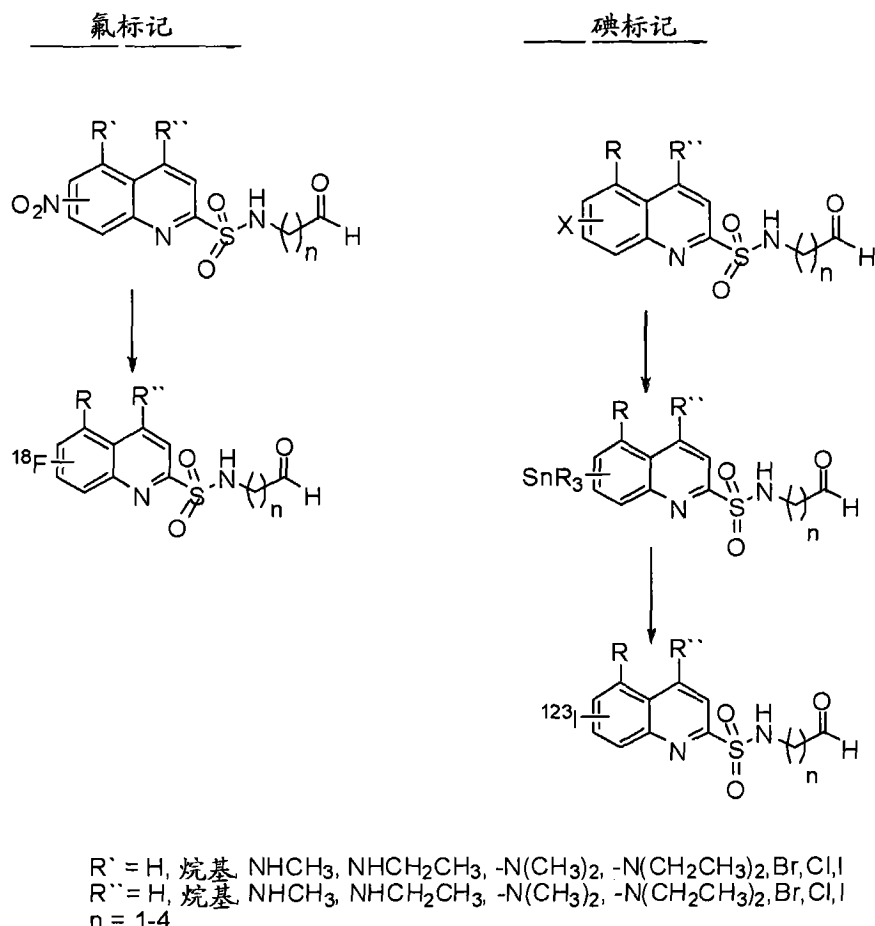
[0223]



[0224] 方案 12

[0225] 原料可由可购得的硝基-喹啉-2-磺酸通过转化为相应磺酰氯、随后与氨基烷基醛二乙醇缩乙醛反应、随后水解来制备。

[0226]



[0227] 式 (I)、(Ia)–(Ii)、(Ic*)–(Ii*)、(II)、(IIc)–(IIi) 化合物或其盐或溶剂合物优选以包含本发明化合物和药学上可接受的赋形剂的药物制剂形式给予以供体内使用, 这类制剂因此形成本发明的另一方面。“药物制剂”在本发明中定义为以适于给予哺乳动物、合适地为人类的形式的包含有效量的式 (I)、(Ia)–(Ii)、(Ic*)–(Ii*)、(II)、(IIc)–(IIi) 化合物或其盐或溶剂合物的制剂。“药学上可接受的赋形剂”为流体, 特别为液体, 本发明的化合物可悬浮或溶解于其中, 使得制剂可为生理学上可耐受的, 即可在没有毒性或过度不适的情况下给予哺乳动物体。所述药学上可接受的赋形剂合适地为可注射的载液, 诸如无菌、无热原的注射用水; 水溶液, 诸如盐水 (可使其有利地平衡, 使得注射用最终制剂为等渗的); 一种或多种张力调节物质 (例如等离子体阳离子与生物相容性反荷离子的盐)、糖 (例如葡萄糖或蔗糖)、糖醇 (例如山梨糖醇或甘露糖醇)、二醇 (例如甘油) 或其他非离子多元醇物质 (例如聚乙二醇、丙二醇等) 的水溶液。优选所述药学上可接受的赋形剂为无热原的注射用水或等渗盐水。

[0228] 所述药物制剂任选可含有其他赋形剂, 诸如抗微生物防腐剂、pH 调整剂、填料、稳定剂或渗透压浓度调整剂。术语“抗微生物防腐剂”是指抑制诸如细菌、酵母菌或霉菌的潜在有害微生物生长的药剂。根据所用剂量, 抗微生物防腐剂还可显示出一些杀菌性质。本发明的抗微生物防腐剂的主要作用是抑制任何这类微生物在药物制剂中的生长。然而, 抗微生物防腐剂任选可用于在给药之前抑制用以制备所述药物制剂的药盒的一个或多个组分中潜在有害微生物的生长。合适的抗微生物防腐剂包括: 对羟基苯甲酸酯, 即对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯或对羟基苯甲酸丁酯或其混合物; 苯甲醇;

苯酚；甲酚；西曲溴铵 (cetrimide) 和硫柳汞 (thiomersal)。优选的抗微生物防腐剂为对羟基苯甲酸酯。

[0229] 术语“pH 调整剂”是指可用以保证药物制剂的 pH 在对于人类或哺乳动物给药可接受的极限（约 pH 4.0-10.5）内的化合物或化合物的混合物。合适的这类 pH 调整剂包括药学上可接受的缓冲剂，诸如三羟甲基氨基甲烷、磷酸盐或 TRIS[即三（羟甲基）氨基甲烷]；和药学上可接受的碱，诸如碳酸钠、碳酸氢钠或其混合物。当药物制剂以药盒形式使用时，pH 调整剂任选可提供在单独小瓶或容器中，使得药盒的使用者可作为多步方法的一部分而调整 pH。

[0230] 术语“填料”是指可便于在生产和冷冻干燥期间物料处理的药学上可接受的填充剂。合适的填料包括无机盐，诸如氯化钠；和水溶性糖或糖醇，诸如蔗糖、麦芽糖、甘露糖醇或海藻糖。

[0231] 放射成像或放射治疗方法的施用优选通过注射作为水溶液的药物制剂来进行。这类制剂任选可含有如上所述的其他赋形剂，更通常包括一种或多种赋形剂，诸如缓冲剂；药学上可接受的溶解剂（例如环糊精或表面活性剂，诸如普卢兰尼克 (Pluronic)、吐温 (Tween) 或磷脂）；药学上可接受的稳定剂或抗氧化剂（诸如抗坏血酸、龙胆酸或对氨基苯甲酸）。对于光学成像方法，可局部施用本发明的药物制剂。

[0232] 本发明的药物制剂通常供应在合适的小瓶或容器中，所述小瓶或容器包括密封容器，其容许保持无菌完整性和/或放射安全性，另外任选具有惰性顶隙气体（例如氮气或氩气），同时容许通过注射器或套管添加和取出溶液。优选的这类容器为隔封小瓶，其中气密闭合件与外密封件（通常由铝制成）一起卷曲。所述闭合件适合在保持无菌完整性的情况下用皮下注射针头单次或多次刺穿（例如卷曲隔封闭合件）。这类容器具有另外的优势：如果需要，则闭合件可经受住真空（例如以改变顶隙气体或使溶液脱气）且经受住压力改变，诸如压力降低，而不容许诸如氧气或水蒸气的外部大气气体进入。

[0233] 优选的多剂量容器包括单体积小瓶（例如 10-30cm³ 体积），所述单体积小瓶含有多个患者剂量，其中单一患者剂量因此可在制剂的有效期期间在各时间间隔取到临床级注射器中以适合临床情形。预填充的注射器设计用来装有单人剂量或“单位剂量”，因此优选为适于临床用途的一次性或其他注射器。本发明的药物制剂优选具有适合单一患者的剂量且提供在如上所述的合适注射器或容器中。

[0234] 本发明的药物制剂可在无菌制造（即清洁室）条件下制备以得到所要的无菌无热原产物。优选关键组分、特别是赋形剂加与药物制剂接触的设备的部件（例如小瓶）为无菌的。所述药物制剂的组分可通过本领域已知的方法灭菌，所述方法包括：无菌过滤、使用例如 γ 照射、高压釜、干热或化学处理（例如用环氧乙烷）终期灭菌。优选提前使一些组分灭菌，以使得需要进行最低数量的操作。然而，作为预防措施，优选包括至少一个无菌过滤步骤作为药物制剂制备中的最后步骤。

[0235] 式 (I)、(Ia)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 或 (II)、(IIc)-(IIi) 化合物或其盐或溶剂合物的“有效量”是指对于在体内成像 (PET、SPECT 或光学) 使用或对于在放射疗法中使用有效的量，且将根据所施用的确切化合物、受试者或患者的体重和本领域的医师显而易见的其他变量而改变。本发明的放射性标记的化合物可以足以产生所要信号的量施用到受试者用于 PET 或 SPECT 成像，0.01-100mCi、优选 0.1-50mCi 的典型放射性核素用量对于 70kg 体重

来说通常足够。同样,对于放射疗法,使用不超过骨髓的最大耐受量(通常 200-300cGy)的可接受剂量。

[0236] 在本发明的另一方面,提供用于药物中、具体地说用于根据权利要求 1-23 中任一项的方法中的式 (I)、(Ia)-(Ii)、(Ic*)-(Ii*) 或 (II)、(IIc)-(IIi) 化合物或其任何者的盐或溶剂合物。

实施例:

[0237] 通过实施例来说明本发明,其中使用以下缩写:

[0238] DMF :N, N' - 二甲基甲酰胺;

[0239] TFA :三氟乙酸;

[0240] min :分钟;

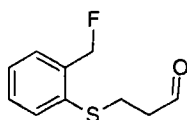
[0241] HPLC :高效液相色谱;

[0242] THF :四氢呋喃;

[0243] NMR :核磁共振

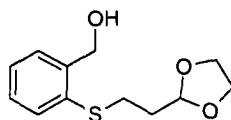
[0244] 实施例 1. 制备 2-[2-(2- 氟甲基 - 苯基硫基) - 乙基] - 醛

[0245]



[0246] 1a) 合成 2-(2-[1,3] 二氧杂环戊烷 -2- 基乙基硫基) 苯基] 甲醇

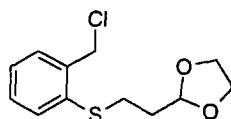
[0247]



[0248] 将 2-(2- 溴甲基) -1,3- 二氧杂环戊烷 (223 μ l, 1.86mmol) 加到在 DMF 中的 2- 巯基苄醇 (52.3mg, 0.37mmol) 和碳酸钾 (102.3mg, 0.74mmol) 中。将混合物在室温下搅拌过夜,之后在减压下蒸发 DMF 且粗产物通过反相制备色谱 (Vydac 218TP1022 管柱;溶剂 A = 水 /0.1% TFA 且 B = CH₃CN/0.1% TFA;梯度 10-50% B,经 40 分钟;流速 10mL/min;在 214nm 下检测) 纯化。得到产量为 65.1mg 的纯化物质 (分析 HPLC :Vydac 218TP54 管柱;溶剂 :A = 水 /0.1% TFA 且 B = CH₃CN/0.1% TFA;梯度 10-50% B,经 20 分钟;流速 1.0ml/min;在 214 和 254nm 下检测到的停留时间 :15.017 分钟)。

[0249] 1b) 合成 2-[2-(2- 氯甲基 - 苯基硫基) - 乙基] - [1,3] 二氧杂环戊烷

[0250]

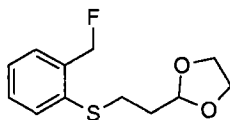


[0251] 将甲磺酰氯 (65 μ l, 0.83mmol) 加到 [2-(2-[1,3] 二氧杂环戊烷 -2- 基 - 乙基硫基) - 苯基] - 甲醇 (40mg, 0.17mmol) 和三乙胺 (116 μ l, 0.83mmol) 在 THF 中的溶液中。5 天后,滤出沉淀物并在减压下蒸发 THF 且粗产物通过反相制备色谱 (Vydac 218TP1022 管柱;溶剂 A = 水 /0.1% TFA 且 B = CH₃CN/0.1% TFA;梯度 40-80% B,经 40 分钟;流速 10mL/min;

在 254nm 下检测) 纯化。使流分留在冷冻器中过夜, 向乙腈相中加入乙醚, 干燥 (Na_2SO_4) 并在减压下蒸发。得到产量为 24.5mg 的纯化物质 (分析 HPLC: Vydac 218TP54 管柱; 溶剂: A = 水 / 0.1% TFA 且 B = CH_3CN / 0.1% TFA; 梯度 40-80% B, 经 20 分钟; 流速 1.0ml/min; 在 214 和 254nm 下检测到的停留时间: 10.4 分钟)。结构通过 NMR 证实。

[0252] 1c) 合成 2-[2-(2-氟甲基-苯基硫基)-乙基]-[1,3] 二氧杂环戊烷

[0253]

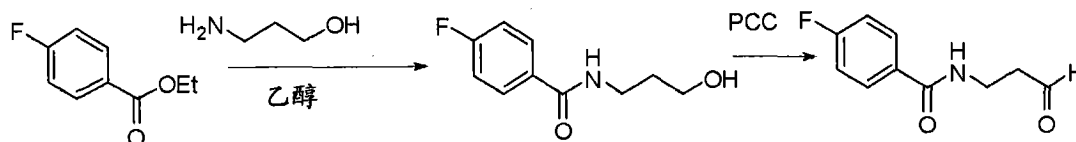


[0254] 将氟化钾 (3.5mg, 0.060mmol) 和 kryptofix 222 (22.5mg, 0.060mmol) 溶解于乙腈 (1ml) 并将其加到在乙腈 (1ml) 中的 2-[2-(2-氯甲基-苯基硫基)-乙基]-[1,3] 二氧杂环戊烷 (7.7mg, 0.030mmol) 中。将反应混合物加热到 70 度历时 30 分钟。粗产物通过反相制备色谱 (Vydac 218TP1022 管柱; 溶剂 A = 水 / 0.1% TFA 且 B = CH_3CN / 0.1% TFA; 梯度 40-80% B, 经 40 分钟; 流速 10mL/min; 在 254nm 下检测) 纯化。使流分留在冷冻器中过夜, 向乙腈相中加入乙醚, 干燥 (Na_2SO_4) 并在减压下蒸发。(分析 HPLC: Vydac 218TP54 管柱; 溶剂: A = 水 / 0.1% TFA 且 B = CH_3CN / 0.1% TFA; 梯度 40-80% B, 经 20 分钟; 流速 1.0ml/min; 在 214 和 254nm 下检测到的停留时间: 9.200 分钟)。结构通过 NMR 证实。

[0255] 3-(2-氟甲基-苯基硫基)-丙醛 (0.81mg, 0.0034mmol) 上的保护基团使用在乙腈中的 1N HCl (1 : 1) 0.1ml 历时 30 分钟而除去。

[0256] 实施例 2. 合成 (1-甲酰基乙基)-4-氟苯甲酰胺

[0257]



[0258] 2a. 制备 (1-羟基丙基)-4-氟苯甲酰胺

[0259] 向提供有氮气的干燥的 100ml 3 颈圆底烧瓶 (RBF) 中加入在 100ml 干燥乙酸乙酯中的 5.68g (0.07562 摩尔) 3-氨基-1-丙醇、12.68g TEA 并将其冷却到 0-5°C。随后经 30 分钟的时间逐滴加入在乙酸乙酯中的 4-氟苯甲酰氯 (10g, 0.0630mol) 并允许将其搅拌过夜。反应的进程通过薄层色谱 (TLC) 监测。反应完成后, 完全蒸馏出乙酸乙酯, 将残余物再次用乙酸乙酯萃取、用水稀释的碳酸氢钠溶液洗涤并干燥。随后蒸馏乙酸乙酯层, 残余物通过二氧化硅管柱使用甲醇二氯甲烷 (5-20%) 作为洗脱剂纯化。产量: 5.86g (50%); 纯度: 93.9%; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3.6 (d, 2H, CH_2), 3.8 (d, 2H, CH_2), 7.01 (s, 1H, NH), 7.1 (d, 2H, ArH), 7.8 (d, 2H, ArH); MS: 198 (M+1)。

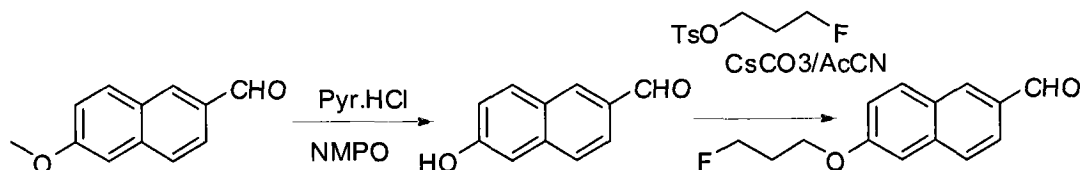
[0260] 2b. 制备 (1-甲酰基乙基)-4-氟苯甲酰胺

[0261] 向提供有氮气的干燥的 50ml 3 颈圆底烧瓶中加入 3.2g PCC (0.0148mol) 和在 32ml 干燥二氯甲烷中的 2.0g 硅胶并将其冷却到 -5 至 -10°C。随后在 30 分钟的时间内逐滴加入在二氯甲烷中的 2.0g (0.01014 摩尔) (1-羟基丙基)-4-氟苯甲酰胺并允许在室温下搅拌过夜。反应的进程通过 TLC 监测。反应完成后, 完全蒸馏出二氯甲烷且残余物通过共闪蒸 (combiflash) 使用二氧化硅管柱纯化两次。所用的洗脱剂为在二氯甲烷中的 0-10% 甲

醇。产量:0.2g(10%);纯度:89%; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$:2.8(d,2H, CH_2),3.8(d,2H, CH_2),6.8(s,1H,NH),7.1(d,2H,ArH),7.8(d,2H,ArH);10.0(s,1H,CHO)MS:314(M+1)。

[0262] 实施例 3. 合成 6-(1-氟丙氧基)-2-萘甲醛

[0263]



[0264] 3a. 制备 6-羟基-2-萘甲醛

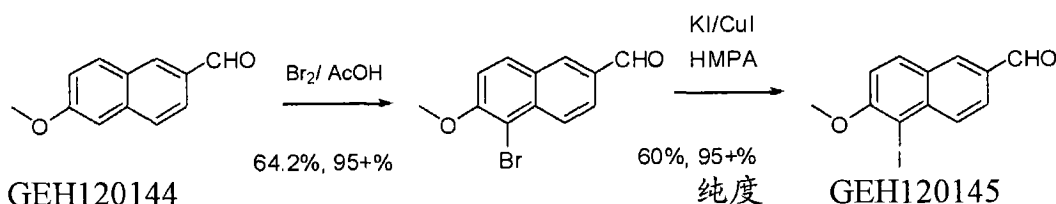
[0265] 在 25ml 单颈圆底烧瓶中在 110℃ 下将在 5ml NMP0 中的 6-甲氧基-2-萘甲醛 (0.5g, 0.00268mol)、盐酸吡啶 (1.24g, 0.0107mol) 加热 24 小时。反应的进程通过 TLC 监测。随后冷却反应混合物并用水稀释。将产物萃取到乙酸乙酯中,经无水硫酸钠干燥并蒸馏。粗产物随后通过硅胶管柱使用二氯甲烷和甲醇 (1-5%) 作为洗脱剂来纯化。产量:0.23g;纯度:99.8%; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$:7.25(dd,2H,ArH),7.7(d,1H,ArH),7.8(dd,2H,ArH),8.3(d,1H,ArH),10.1(s,1H,CHO);MS:173(M+1)。

[0266] 3b. 制备 6-(1-氟丙氧基)-2-萘甲醛

[0267] 在 25ml 两颈圆底烧瓶中将 6-羟基-2-萘甲醛 (0.1g, 0.00058mol)、在 5ml 乙腈中的碳酸铯 (0.22g, 0.0012mol) 与甲苯磺酸氟丙酯 (0.140g, 0.00060mol) 加在一起并回流 10 小时。反应的进程通过 TLC 监测。反应完成后,蒸馏出乙腈且将产物萃取到乙酸乙酯中,经无水硫酸钠干燥并蒸馏。粗产物随后通过硅胶管柱使用二氯甲烷和甲醇 (1-5%) 作为洗脱剂来纯化,产量:0.1g;HPLC 纯度:98.2%; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$:4.2-4.8(m,6H,3x CH_2),7.7(d,1H,ArH),7.8(dd,2H,ArH),8.3(d,1H,ArH),10.1(s,1H,CHO);MS:233(M+1)。

[0268] 实施例 4. 合成 5-碘-6-甲氧基-萘-2-甲醛

[0269]



[0270] 4a. 制备 5-溴-6-甲氧基-萘-2-甲醛

[0271] 在氮气下在室温下经 1 小时将在 10ml 冰乙酸中的溴 (556 μL , 10.8mmol) 逐滴加到 6-甲氧基-萘-2-甲醛 (2.01g, 10.8mmol) 在 25ml 冰乙酸中的溶液中。加入之后,在室温下搅拌反应物 2 小时。固体通过过滤收集,用冰乙酸漂洗并在减压下干燥以得到作为淡粉红色固体的 5-溴-6-甲氧基-萘-2-甲醛 (2.27g, 79%),HPLC 纯度:99.5%; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$:4.2(s,3H, OCH_3),7.8(d,1H,ArH),8.0(dd,2H,ArH),8.3(dd,2H,ArH),10.1(s,1H,CHO);MS:265.1(M+1)。

[0272] 4b. 制备 5-碘-6-甲氧基-萘-2-甲醛

[0273] 向在 6.25ml HMPA 中的 5-溴-6-甲氧基-萘-2-甲醛 (0.5g, 0.00188mol) 中加入碘化亚铜 (1.79g, 0.0094mol) 和碘化钾 (0.0188mol) 并将其加热到 160℃。将反应混合物保持约 20 小时,随后通过加入稀 HCl 而猝灭。将所得到的固体过滤并通过硅胶管柱用己烷

/ 乙酸乙酯作为洗脱剂来纯化。产量 :0.1g ;HPLC 纯度 :92.1% ;¹H-NMR(CDC1₃) :4.2(s, 3H, OCH₃), 7.8(d, 1H, ArH), 8.0(dd, 2H, ArH), 8.3(dd, 2H, ArH), 10.1(s, 1H, CHO) ;MS :313(M+1)。

[0274] 5. 羧酸内标物的通用制备

[0275] 诸如羧酸的内标物使用过硫酸氢钾制剂 (Oxone) 合成。

[0276] 5a. 通用方法:将醛 (0.002mol) 放入二甲基甲酰胺 (DMF) 中,向其中加入过硫酸氢钾制剂 (0.24mol),且将反应混合物搅拌过夜。反应的进程使用 TLC 监测。随后加入蒸馏水并过滤得到的固体。

[0277] 5b. 纯化:随后固体通过首先溶解于碳酸氢盐中,萃取出有机杂质,随后用 pH 2.0-3.0 的稀盐酸再次沉淀来纯化。分离出所有化合物,通过 HPLC 分析,纯度为 95% 以上。

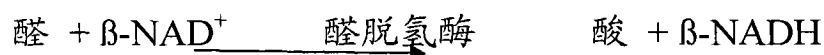
[0278] 6. 对 ALDH 活性进行筛选

[0279] 6a. ALDH 测定

[0280] 醛脱氢酶为将醛作为底物且将醛转化为酸 (产物) 的酶。

[0281] 原理:

[0282]



[0283] 所用的缩写:

[0284] $\beta\text{-NAD}^+$ = β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,氧化形式

[0285] $\beta\text{-NADH}$ = β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,还原形式

[0286] ● ALDH 测定的设计和标准化:在将 NAD^+ 转化为 NADH 之后,通常进行 ALDH 测定。

[0287]



[0288] NADH 的形成通过测量在 340nm 下的吸光度来监测。然而,在使用该方法之前,针对其光谱性质筛选化合物,特别是避免对底物或产物对吸光度有任何干扰。

[0289] ● 化合物的光谱研究:

[0290] ○ 吸光光谱:最初针对 200nm-800nm 下的吸光度筛选化合物。

[0291] ○ 荧光光谱:在一些情况下,研究表明化合物 (底物或产物) 在 340nm 下有干扰吸光度。通过记录激发 / 发射波长针对荧光性质进一步筛选这类化合物。

[0292] ● 通过光谱法的 ALDH 测定:ALDH 测定设计用来通过在其独特波长下测量 (吸光度或荧光) 来测量底物的利用或产物的形成。

[0293] 6b. 光谱研究

[0294] 化合物的所有光谱研究都是在 0.1M Tris HCl pH 8.0 缓冲液中进行。将 CSCT 化合物最初溶解于甲醇 (约 2.0mg/mL) 中。将化合物在 0.1M Tris HCl pH 8.0 缓冲液中进一步稀释 (浓度为约 20-50 μ g/mL)。使用 Spectramax M5 记录光谱。

[0295] ALDH 活性可通过监测 $\beta\text{-NAD}^+$ 到 $\beta\text{-NADH}$ 的转化率或通过直接监测产物 / 底物来跟踪。 $\beta\text{-NAD}^+$ 到 $\beta\text{-NADH}$ 的转化使得 340nm 下的吸光度增加。如果底物 / 产物任一者在该波长下具有任何光谱干扰,则使用产物 / 底物中任一者的独特吸光 / 荧光波长。测量采用 Spectromax M5。

[0296] 6c. ALDH 测定试剂

[0297] 1. 试剂 1:1M Tris HCl 缓冲液, pH 8.0, 在 25°C 下 (在去离子水中使用 Trizma

Base, Sigma Prod. No. T-1503 制备 50ml。在 25℃下用 1M HCl 调整 pH 为 8.0。)

[0298] 2. 试剂 2:20mM β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,氧化形式,溶液 (β -NAD⁺) ((在去离子水中使用新鲜制备的 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸制备 1ml)。

[0299] 3. 试剂 3:3M 氯化钾溶液 (KCl) (在去离子水中使用氯化钾制备 1ml)。

[0300] 4. 试剂 4:1M 2-巯基乙醇溶液 (2-ME) (在去离子水中使用 2-巯基乙醇制备 1ml,新鲜制备)。

[0301] 5. 试剂 5:具有 0.02% (w/v) 牛血清蛋白的 100mM Tris HCl 缓冲液, pH 8.0, 在 25℃下 (用于酶稀释)。

[0302] 6. 试剂 6:醛脱氢酶溶液 (酵母菌 ALDH)。在使用前一刻制备在冷试剂 5 中的含有 0.5-1 单位 / 毫升醛脱氢酶的溶液)。

[0303] 6d. ALDH 测定方法

[0304] 将以下试剂移液 (毫升) 到小瓶中:

[0305]

	<u>测试</u>	<u>空白</u>
去离子水	2.32	2.32
试剂 1(缓冲液)	0.30	0.30
试剂 2(β -NAD)	0.10	0.10
试剂 3(KCl)	0.10	0.10
试剂 7(底物)	0.05	0.05
试剂 4(2-ME)	0.03	0.03
通过倒置混合并平衡到 25℃		
试剂 5(Enz Dil)	-----	0.10
试剂 6(酶溶液)	0.10	-----

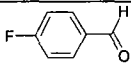
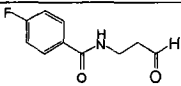
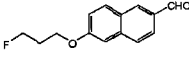
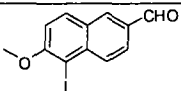
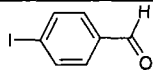
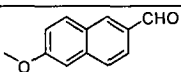
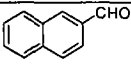
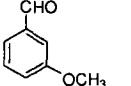
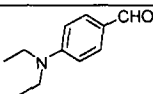
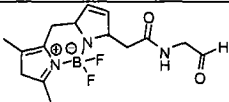
[0306] ** 试剂 7 (底物):在 0.1M TrisHCl pH 8.0 缓冲液中的 50 μ M 浓度的底物 1。

[0307] 6e. 最终测定浓度:

[0308] 在 3.00ml 反应混合物中,最终浓度为 103mM Tris HCl 缓冲液 (试剂 1)、0.67mM β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (试剂 2)、100mM 氯化钾 (试剂 3)、10mM 2-巯基乙醇 (试剂 4)、0.0007% (w/v) 牛血清蛋白 (试剂 5) 且 0.05-0.1 单位醛脱氢酶 (试剂 6)。

[0309] 表 1:针对 ALDH 测定选择的底物

[0310]

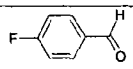
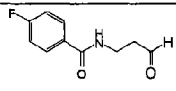
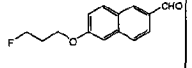
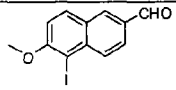
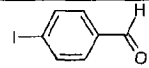
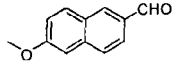
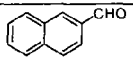
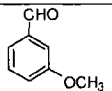
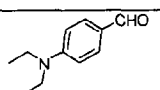
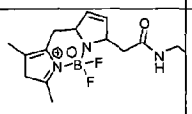
化合物编码	结构	市售/合成	Log P (clog P)
4-氟苯甲醛		市售	1.8
实施例 2		合成	0.63
实施例 3		合成	2.95
实施例 4		合成	4.01
4-碘苯甲醛		市售	3.14
6-甲氧基-2-萘甲醛		市售	2.65
2-萘甲醛		市售	2.78
3-甲氧基苯甲醛		市售	1.65
4-(N,N-二乙氨基)苯 甲醛		市售	2.74
ALDEFLUOR®		干细胞技术	NA

[0311] 6. 结果

[0312] ALDH 测定的结果汇总于表 2 中。

[0313] 表 2: 筛选结果:

[0314]

化合物	结构	市售/合成	Log P (clogP)	备注
4-氟苯甲醛		市售	1.8	活性
实施例 2		合成	0.63	无活性
实施例 3		合成	2.95	活性
实施例 4		合成	4.01	由于光谱干扰, ALDH 测定不能通过光谱法设计, 推荐 HPLC 法。
4-碘苯甲醛		市售	3.14	活性
6-甲氧基-2-萘甲醛		市售	2.65	活性
2-萘甲醛		市售	2.78	活性
3-甲氧基苯甲醛		市售	1.65	活性
4-(N,N-二乙基氨基)苯甲醛		市售	2.74	由于光谱干扰, ALDH 测定不能通过光谱法设计, 推荐 HPLC 法。
ALDEFLUOR [®]		干细胞技术	NA	活性

[0315] 活性:通过作为时间的函数改变吸光度或荧光来光谱法观察到化合物具有酶活性

[0316] 无活性:通过作为时间的函数改变吸光度或荧光来光谱法观察到化合物没有酶活性。

[0317] 7. 制备 ¹⁸F 化合物的通用放射合成方法。

[0318] 通过在 N₂ 下加热到 125 °C 使 ¹⁸F⁻ 氟化物 (多达 370MBq) 在 Kryptofix 222 (12-14mg, 在 0.5ml MeCN 中) 和碳酸钾 (100 μl, 0.1M 水溶液) 存在下共沸干燥 15 分钟。在此期间, 加入 2×1ml MeCN 并蒸发, 冷却到 < 40 °C 之后, 加入诸如苯甲醛三氟甲磺酸三甲基铵 (3-7mg, 在 0.7ml DMSO 中) 的前体化合物的溶液。将反应容器密封并加热到 120 °C 历时 15 分钟以进行标记。将粗反应混合物冷却到室温并通过加入 10ml 水来稀释。使混合物依次通过 Sep-pak CM-plus 柱 (用 10ml 水调节) 和 SepPak C18-plus 滤心 (用 20ml EtOH

和 20ml H₂O 调节)。将柱用水 (10ml) 冲洗, 且用甲醇 (1ml) 将诸如 ¹⁸F- 氟苯甲醛的产物从 SepPak C18-plus 柱中洗脱出来。