(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105102484 B
(45)授权公告日 2020.03.10

(21)申请号 201480019153.9

(22)申请日 2014.01.30

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105102484 A

(43)申请公布日 2015.11.25

(30)优先权数据
61/758,680 2013.01.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.09.29

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/013942 2014.01.30

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/120974 EN 2014.08.07

(73)专利权人 艾维拉斯生物科学公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 吉瑟斯·冈萨雷斯 刘俊杰

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 郑霞

(51)Int.Cl.
C07K 19/00(2006.01)
A61K 47/12(2006.01)
A61K 49/14(2006.01)

(56)对比文件
US 2001021763 A1,2001.09.13,
CN 102159189 A,2011.08.17,
US 2005107583 A1,2005.05.19,
CN 102438659 A,2012.05.02,
Seulki Lee等.Activatable molecular probes for cancer imaging..《Current topics in medicinal chemistry》.2010,第10卷(第11期),
Randy L Scherer等.Optical imaging of matrix metalloproteinase-7 activity in vivo using a proteolytic nanobeacon.《Molecular Imaging》.2008,第7卷(第3期),
Drake Christopher R等.Activatable optical probes for the detection of enzymes.《Current organic synthesis》.2011,第8卷(第4期),
Tao Jiang等.Tumor imaging by meas of proteolytic activation of cell-penetrating peptides.《PNAS》.2004,第101卷(第51期),
Lohela m等.Intravital imaging of stromal cell dynamics in tumors.《Current opinion in genetics & development》.2010,第20卷(第1期),
Lilian E.van vlerken等.Poly(ethylene glycol)-modified Nanocarriers for tumor-targeted and intracellular delivery..《Pharmaceutical research》.2007,第24卷(第8期),

审查员 黎舒婷

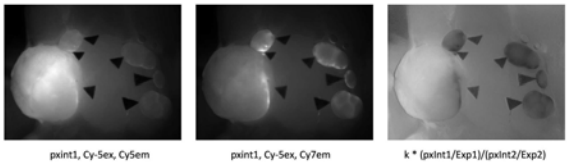
权利要求书1页 说明书56页 附图4页

(54)发明名称

选择性递送分子及使用方法

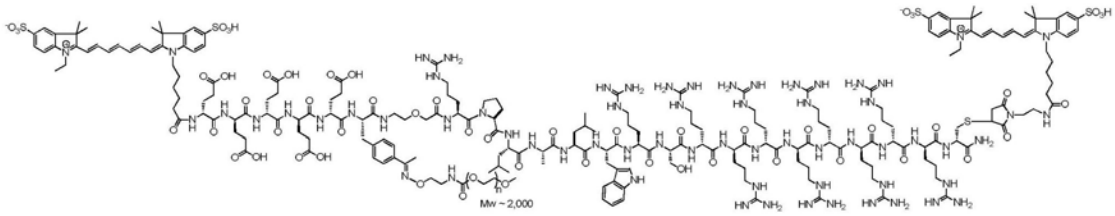
(57)摘要

本文公开了一种选择性递送分子,其包含:(a)有效抑制或防止向细胞内的摄取或组织保留的酸性序列(部分A),(b)分子转运或组织保留序列(部分B),和(c)部分A与部分B之间的连接体,和(d)负荷物部分(部分D_A和D_B)。



CN 105102484 B

1.根据SDM-41的选择性递送分子



SDM-41。

2.一种包含如权利要求1所述的分子的组织样品。

3.如权利要求2所述的组织样品,其中所述组织样品是病理学玻片或切片。

4.如权利要求2所述的组织样品,其中所述组织样品是癌性的。

5.如权利要求4所述的组织样品,其中所述癌性组织为:乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织、癌性淋巴结组织、宫颈癌组织、肺癌组织、胰腺癌组织、头颈癌组织、或食管癌组织。

6.如权利要求1所述的选择递送分子在制备用于将一对显像剂递送至目的组织的药物中的应用。

7.如权利要求1所述的选择递送分子在制备用于对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法的药物中的应用,所述方法包括:

(a)向个体施用能定位至该个体内目的组织的选择递送分子;以及

(b)使至少一种所述SDM-41的显像剂可视化。

8.如权利要求6或7所述的应用,其中所述目的组织是癌性的。

9.如权利要求8所述的应用,其中所述癌性组织为:乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织、癌性淋巴结组织、宫颈癌组织、肺癌组织、胰腺癌组织、头颈癌组织、或食管癌组织。

10.如权利要求7所述的应用,其进一步包括对所述目的组织进行分期。

11.如权利要求7所述的应用,其进一步包括通过比率计量读数法来可视化所述显像剂。

12.如权利要求7所述的应用,其中用照相机系统检测所述显像剂。

13.如权利要求6或7所述的应用,其中所述分子静脉内给予。

14.如权利要求7所述的应用,其中基于所述显像剂的可视化定位目的组织。

选择性递送分子及使用方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2013年1月30日提交的美国临时申请系列号61/758,680的权益;该美国临时申请通过引用以其整体并入。

发明内容

[0003] 在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-41的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-42的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-43的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-44的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-45的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-46的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-47的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-48的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-49的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-50的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-51的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-52的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-53的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-54的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-55的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-56的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-57的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-58的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-59的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-60的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-61的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-62的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-63的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-64的选择性递送分子。在某些实施方案中,本文公开了根据SDM-65的选择性递送分子。

[0004] 在某些实施方案中,本文公开了包含选自以下的分子的组织样品:SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中,所述分子为SDM-41。在一些实施方案中,所述组织样品是病理学玻片或切片。在一些实施方案中,所述组织样品是癌性的。在一些实施方案中,该癌性组织为:乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中,该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中,该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为皮肤癌组织。

[0005] 在某些实施方案中,本文公开了将一对显像剂递送至目的组织的方法,其包括使目的组织接触选自以下的分子:SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、

SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。在一些实施方案中，所述目的组织是癌性的。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为皮肤癌组织。

[0006] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，其包括：(a)向该个体施用选自以下的分子：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65；和(b)使至少一种显像剂可视化。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。在一些实施方案中，所述组织是癌性的。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为皮肤癌组织。在一些实施方案中，该方法进一步包括将目的组织从个体中手术移除。在一些实施方案中，围绕目的组织的手术切缘减少。在一些实施方案中，该方法进一步包括由移除的目的细胞或组织制备组织样品。在一些实施方案中，该方法进一步包括对癌性组织进行分期。在一些实施方案中，该方法进一步包括使在荧光部分与分子的荧光猝灭部分之间的Försters/荧光共振能量转移可视化。

[0007] 在某些实施方案中，本文公开了包含式I的分子的组织样品：

[0008] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0009] 式I

[0010] 其中，

[0011] X为可裂解的连接体；

[0012] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0013] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0014] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0015] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0016] D_A和D_B各自独立地为显像剂；

[0017] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸；且

[0018] 其中式I的分子选自：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。

[0019] 在一些实施方案中，所述组织样品是病理学玻片或切片。在一些实施方案中，所述组织样品是癌性的。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细

胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为皮肤癌组织。

[0020] 在某些实施方案中，本文公开了将一对显像剂递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触式I的分子：

[0021] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0022] 式I

[0023] 其中，

[0024] X为可裂解的连接体；

[0025] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0026] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0027] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0028] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0029] D_A和D_B各自独立地为显像剂；

[0030] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸；且

[0031] 其中式I的分子选自：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。

[0032] 在一些实施方案中，所述目的组织是癌性的。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为皮肤癌组织。

[0033] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，其包括：(a)向个体施用能定位至该个体内目的组织的式I的分子，

[0034] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0035] 式I

[0036] 其中，

[0037] X为可裂解的连接体；

[0038] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0039] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0040] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0041] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0042] D_A和D_B各自独立地为显像剂；且

[0043] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸；

[0044] 其中式I的分子选自:SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65;以及

[0045] (b)使至少一种显像剂可视化;

[0046] 在一些实施方案中,所述目的组织是癌性的。在一些实施方案中,该癌性组织为:乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中,该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中,该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中,该癌性组织为皮肤癌组织。在一些实施方案中,该方法进一步包括将目的组织从个体中手术移除。在一些实施方案中,围绕目的组织的手术切缘减少。在一些实施方案中,该方法进一步包括由移除的目的组织制备组织样品。在一些实施方案中,该方法进一步包括对癌性组织进行分期。

[0047] 在某些实施方案中,本文公开了根据肽P-16的肽。

附图说明

[0048] 图1显示SDM-41的MMP-7裂解的速度随SDM-41浓度的提高而提高,这与米-曼氏动力学一致(实施例2a)。

[0049] 图2显示SDM-41的供体(左)、接受体(中)和荧光发射比(右)图像(实施例6a)。

[0050] 图3显示在小鼠转移性淋巴结模型中使用SDM-41的阳性和阴性结节的发射比数据的散点图(实施例6b)。

[0051] 图4显示通过改变用来指定阳性或阴性转移预测的阈值,由在转移性淋巴结模型中使用SDM-41获得的发射比数据产生的ROC曲线(实施例6b)。

[0052] 图5显示来自乳腺癌患者的匀浆化癌组织(M1120909A2、M1121603A2、M1121797A6)和健康组织(M1120909B2、M1121797B6、M1121603B2)中的SDM-41荧光比的变化,单独的动力学迹线(实施例8)。癌组织(M112090A2、M1121603A2和M1121797A6)比正常组织(M112090B2、M1121603B2和M1121797B6)更快地裂解SDM-41。

[0053] 图6例示了匀浆化癌性人乳腺组织相比于来自同一患者的相邻健康组织以更大的程度(约3倍)裂解SDM-41(实施例8)。

具体实施方式

[0054] 选择性递送分子(SDM)允许将治疗剂和/或显像剂靶向递送至特定细胞和/或组织。在一些实施方案中,选择性递送分子包含(a)分子转运或组织保留序列(部分B),(b)结合至部分A、B或X的负荷物(cargo)部分(部分D_A和D_B),(c)X连接体,和(d)大分子载体,以及(e)有效抑制或防止向细胞内的摄取或组织保留的酸性序列(部分A)。在一些实施方案中,使部分A与部分B分离的X连接体的裂解能有效地允许部分B及附接的负荷物向细胞和组织内的摄取或保留。然而,选择性递送分子可能经历快速的药代动力学清除,具有很短的血浆半衰期、广泛的分布以及从多个具有非特异性摄取的非靶组织中缓慢洗出。因此,对具有增加的体内循环、相对于非靶组织在靶组织中的积累、受调节的外渗选择性以及受调节的生

物分布的选择性递送分子存在需求。对于显像剂而言，需要在靶组织中相对于背景组织的对比度增加。

[0055] 某些定义

[0056] 除非另有说明，否则在此使用的以下术语具有规定的含义。

[0057] 在此使用的术语“靶向分子”是指与目的靶标相关联(例如，结合)的任何试剂(例如，肽、蛋白质、核酸聚合物、适体或小分子)。目的靶标可以是组织、细胞、细胞结构(例如，细胞器)、蛋白质、肽、多糖或核酸聚合物。在一些实施方案中，靶向分子是与受试者的一个或多个癌细胞相关联(例如，结合)的任何试剂。

[0058] 术语PEG意指聚乙二醇聚合物。在一些实施方案中，PEG为多分散的。在一些实施方案中，PEG为离散的。

[0059] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在此可互换使用，是指氨基酸残基的聚合物。这些术语适用于天然存在的氨基酸聚合物以及其中一个或多个氨基酸残基为非天然存在的氨基酸(例如，氨基酸类似物)的氨基酸聚合物。这些术语涵盖了任意长度的氨基酸链，包括全长蛋白质(即，抗原)，其中氨基酸残基通过共价肽键连接。在此使用的术语“肽”是指氨基酸残基的聚合物，一般长度为2个到约50个残基。在某些实施方案中，肽的长度为约2、3、4、5、7、9、10或11个残基到约50、45、40、45、30、25、20或15个残基。在某些实施方案中，肽的长度为约8、9、10、11或12个残基到约15、20或25个残基。当在此提供了氨基酸序列时，也考虑到该序列的L-、D-或β氨基酸形式，以及其逆序、反转和逆-反转亚型。肽还包括其中一个或多个氨基酸残基为对应的天然存在的氨基酸的人造化学类似物的氨基酸聚合物以及天然存在的氨基酸聚合物。此外，该术语适用于通过肽键或通过其他修饰的连接所连接的氨基酸(例如，其中肽键被替换为α-酯、β-酯、硫代酰胺、磷酰胺、氨基甲酸酯、羟基化物等等(参见，例如，Spatola,(1983)Chem.Biochem.Amino Acids and Proteins 7:267-357)，其中酰胺被替换为饱和胺(参见，例如，Skiles等人，美国专利号4,496,542，其通过引用并入本文，和Kaltenbronn等人(1990)Proc.11th American Peptide Symposium,ESCOM Science Publishers中的Pp.969-970,The Netherlands,等等))。

[0060] 术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及以与天然存在的氨基酸相似的方式发挥功能的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是那些由遗传密码编码的氨基酸以及后来修饰的氨基酸，例如，羟脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即，结合至氢、羧基、氨基和R基团的α碳)的化合物，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜。这样的类似物具有修饰的R基团(例如，正亮氨酸)或修饰的肽骨架，但是保留了与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有不同于氨基酸的一般化学结构，但以与天然存在的氨基酸相似的方式发挥功能的化学化合物。氨基酸为D氨基酸或L氨基酸。

[0061] 在此，氨基酸可以由其通常已知的三字母符号或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会(IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission)推荐的单字母符号来表示。同样，核苷酸也可以由其公认的单字母代码来表示。

[0062] 技术人员将会认识到，对肽、多肽或蛋白质序列进行个别的置换、缺失或添加，以改变、添加或删除编码序列中的一个氨基酸或一小部分氨基酸，是一种“保守修饰的变体”，其中该改变导致氨基酸被化学上相似的氨基酸所置换。提供功能上相似的氨基酸的保守置

换表格是本领域公知的。这些保守修饰的变体不排除本发明的多态性变体、种间同系物和等位基因，而是除它们之外也包含在内的。

[0063] 在此使用的术语“标记”是指便于对在此公开的靶向分子进行可视化和/或检测的分子。在一些实施方案中，标记是荧光部分。

[0064] 在涉及在此公开的靶向分子与靶标(例如，纯化的蛋白质、癌细胞或癌性组织、肿瘤或转移性病变、转移或淋巴结或转移的淋巴结)之间的相互作用时，短语“特异性结合”是指该靶向分子与靶标之间高亲和键的形成。另外，该术语意指靶向分子对于非靶标具有低亲和力。

[0065] “选择性结合”、“选择性”等是指试剂与一种分子相互作用较之与另一种分子相互作用的偏好。优选地，在此公开的靶向分子与靶标之间的相互作用既是特异性的又是选择性的。注意在一些实施方案中，将试剂设计为“特异性结合”和“选择性结合”两种不同的、但相似的靶标，而不结合其它不期望的靶标。

[0066] 术语“个体”、“患者”或“受试者”可互换使用。在此使用时，它们意指任何哺乳动物(即，在分类学中的动物界：脊索动物门：脊椎动物亚门：哺乳纲中的任意目、科和属的物种)。在一些实施方案中，哺乳动物为人。这些术语都不需要或限于以卫生保健工作者(例如，医生、注册护士、从业护士、医师助理、护理员或临终关怀医院工作人员)的监护(例如，长期性或间歇性)为特征的情形。

[0067] 在此使用的术语“施用”、“给予”、“给药”等是指可用于将药剂或组合物递送至期望的生物作用部位的方法。这些方法包括但不限于肠胃外注射(例如，静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内、血管内、鞘内、玻璃体内、输注或局部)。任选地用于本文描述的药剂和方法的给药技术包括，例如，在Goodman和Gilman,The Pharmacological Basis of Therapeutics，当前版;Pergamon;和Remington's,Pharmaceutical Sciences(当前版),Mack Publishing Co.,Easton,Pa.中所讨论的那些技术。

[0068] 在此使用的术语“药学上可接受的”是指不会消除本文描述的药剂的生物活性或性质且相对无毒(即，材料的毒性显著胜于材料的益处)的材料。在一些情况下，药学上可接受的材料可以被施用至个体而不会产生显著的不良生物学效应，或者不会以有害的方式与包含该材料的组合物中的任何成分发生显著的相互作用。

[0069] 在此使用的术语“手术”是指可用来通过物理干预在组织中考察、操作、改变或产生效果的任何方法。这些方法包括但不限于开放手术、内窥镜手术、腹腔镜手术、微创手术、机器人手术以及任何可以影响癌组织的操作，例如肿瘤切除、癌组织消融、癌症分期、癌症诊断、淋巴结分期、前哨淋巴结检测或癌症治疗。

[0070] 在此使用的术语“引导手术”是指外科医生使用显像剂来引导手术的任何手术操作。

[0071] 在此使用的术语“癌症”是指涉及人体内细胞的不受控生长或增殖的任何疾病。癌症的特征可以进一步在于细胞从原始部位迁移并扩散至远处部位(即转移)的能力。癌症可以是肉瘤、癌、淋巴瘤、白血病、胚细胞瘤或生殖细胞瘤。癌症可能发生在多种组织中，包括但不限于肺、乳腺、卵巢、结肠、食道、直肠、骨、前列腺、脑、胰、膀胱、肾、肝、血细胞、淋巴结、甲状腺、皮肤和胃。

[0072] 选择性递送分子

[0073] 在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-41的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-42的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-43的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-44的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-45的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-46的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-47的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-48的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-49的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-50的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-51的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-52的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-53的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-54的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-55的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-56的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-57的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-58的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-59的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-60的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-61的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-62的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-63的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-64的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-65的选择性递送分子。

[0074] 在某些实施方案中，本文公开了式I的选择性递送分子，其具有以下结构：

[0075] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0076] 式I

[0077] 其中，

[0078] X为可裂解的连接体；

[0079] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0080] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0081] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0082] M为大分子载体；且

[0083] D_A和D_B各自独立地选自显像剂和治疗剂；且

[0084] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸。在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中，B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有游离氨基(例如，N末端胺基)的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些

实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，M选自蛋白质、天然聚合物、合成聚合物或树枝状聚合物。在一些实施方案中，M选自葡聚糖、PEG聚合物、白蛋白或其组合。在一些实施方案中，M为PEG聚合物。在一些实施方案中，M为具有约0.5KDa(PEG0.5KDa)、2kDa(PEG 2KDa)、5kDa(PEG 5KDa)、12kDa(PEG 12kDa)、20kDa(PEG 20kDa)、30kDa(PEG 30kDa)和40kDa(PEG 40kDa)的平均分子量的PEG聚合物。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对供体和接受体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中，式I的分子为：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，式I的分子为SDM-41。

[0085] 在某些实施方案中，本文公开了式I的选择性递送分子，其具有以下结构：

[0086] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0087] 式I

[0088] 其中，

[0089] X为可裂解的连接体；

[0090] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0091] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0092] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0093] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0094] D_A和D_B各自独立地为显像剂；且

[0095] 其中$[c_M\text{-}M]$结合至A或X上的任意位置，[DA-cA]结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸。

[0096] 在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中，B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为

包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中，式I的分子为：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，式I的分子为SDM-41。

[0097] 部分A

[0098] 在一些实施方案中，A是具有包含2到20个酸性氨基酸的序列的肽。在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个酸性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个酸性氨基酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含7个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个酸性氨基酸的序列。

[0099] 在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个连续酸性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个连续酸性氨基酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个连续酸性氨基酸的序列。在一些

实施方案中，A具有包含7个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个连续酸性氨基酸的序列。

[0100] 在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含7个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个选自天冬氨酸和谷氨酸的酸性氨基酸的序列。

[0101] 在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含7个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个选自天冬氨酸和谷氨酸的连续酸性氨基酸的序列。

[0102] 在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个谷氨酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个谷氨酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含7个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个谷氨酸的序列。

[0103] 在一些实施方案中，肽部分A包含约2到约20个连续的谷氨酸。在一些实施方案中，肽部分A包含约5到约20个连续的谷氨酸。在一些实施方案中，A具有包含5到9个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到8个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5到7个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含5个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含6个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含7个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含8个连续的谷氨酸的序列。在一些实施方案中，A具有包含9个连续的谷氨酸的序列。

[0104] 在一些实施方案中，部分A包含5个连续的谷氨酸(即，EEEEE或eeeee)。在一些实施方案中，部分A包含9个连续的谷氨酸(即，EEEEEEEEE或eeeeeeeee)。

[0105] 酸性部分A可以包括非酸性的氨基酸。酸性部分A可包含其他部分，例如带负电荷的部分。在此处公开的选择性递送分子的实施方案中，酸性部分A可以是不包括氨基酸的带

负电荷的部分，优选地在生理pH下具有约2到约20个负电荷。

[0106] 在一些实施方案中，部分A中的负电荷的量与部分B中的正电荷的量大致相同。在一些实施方案中，部分A中的负电荷的量与部分B中的正电荷的量不同。在一些实施方案中，对于其中部分A中负电荷的量与部分B中正电荷的量不同的选择性递送分子，看到了改善的组织摄取。在一些实施方案中，对于其中部分A中负电荷的量与部分B中正电荷的量不同的选择性递送分子，观察到改善的溶解性。在一些实施方案中，对于其中部分A中负电荷的量与部分B中正电荷的量不同的选择性递送分子，看到了更快的组织摄取。在一些实施方案中，对于其中部分A中负电荷的量与部分B中正电荷的量不同的选择性递送分子，看到了更多的组织摄取。

[0107] 部分A为L-氨基酸或D-氨基酸。在本发明的实施方案中，为了使得免疫原性和由背景肽酶或蛋白酶导致的非特异性裂解最小化，D-氨基酸是优选的。已知寡-D-精氨酸序列的细胞摄取比寡-L-精氨酸的细胞摄取更好或与之一样好。

[0108] 应当理解，部分A可以包括非标准氨基酸，例如，羟赖氨酸、锁链素、异锁链素或其他非标准氨基酸。部分A可以包括修饰的氨基酸，包括翻译后修饰的氨基酸，例如，甲基化的氨基酸(例如，甲基组氨酸、赖氨酸的甲基化形式，等等)、乙酰化的氨基酸、酰胺化的氨基酸、甲酰化的氨基酸、羟基化的氨基酸、磷酸化的氨基酸或其他修饰的氨基酸。部分A还可包括肽模拟部分，包括通过非肽键连接的部分和通过非氨基酸部分连接或连接至非氨基酸部分的氨基酸。

[0109] 当A位于氨基末端或A位于羧基末端时，在此公开的选择性递送分子都是有效的，即，肽键的任一取向都是允许的。

[0110] 部分B

[0111] 在一些实施方案中，B为具有包含5到15个碱性氨基酸的序列的肽。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个碱性氨基酸。

[0112] 在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个连续的碱性氨基酸。

[0113] 在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的碱性氨基酸。

[0114] 在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸的连续的碱性氨基酸。

[0115] 在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个精氨酸。

[0116] 在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约20个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约5到约12个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约9个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含约7到约8个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含9个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含8个连续的精氨酸。在一些实施方案中，肽部分B包含7个连续的精氨酸。

[0117] 碱性部分B可以包括非碱性的氨基酸。碱性部分B可包含其他部分，例如带正电荷的部分。在实施方案中，碱性部分B可以为不包括氨基酸的带正电荷的部分，优选地在生理pH下具有约5至约20个正电荷。在一些实施方案中，部分A中的负电荷的量与部分B中的正电荷的量大致相同。在一些实施方案中，部分A中的负电荷的量与部分B中的正电荷的量不同。

[0118] 部分B为L-氨基酸或D-氨基酸。在本发明的实施方案中，为了使得免疫原性和由背景肽酶或蛋白酶导致的非特异性裂解最小化，D-氨基酸是优选的。已知寡-D-精氨酸序列的细胞摄取比寡-L-精氨酸的细胞摄取更好或与之一样好。

[0119] 应当理解，部分B可以包括非标准氨基酸，例如，羟赖氨酸、锁链素、异锁链素或其他非标准氨基酸。部分B可以包括修饰的氨基酸，包括翻译后修饰的氨基酸，例如，甲基化的氨基酸(例如，甲基组氨酸、赖氨酸的甲基化形式，等等)、乙酰化的氨基酸、酰胺化的氨基酸、甲酰化的氨基酸、羟基化的氨基酸、磷酸化的氨基酸或其他修饰的氨基酸。部分B还可包括肽模拟部分，包括通过非肽键连接的部分和通过非氨基酸部分连接或连接至非氨基酸部分的氨基酸。

[0120] 在X为能被蛋白酶裂解的肽的实施方案中，可能优选的是将X的C末端连接至B的N末端，从而由X裂解所产生的新的氨基末端能贡献额外的正电荷，该正电荷添加到B中已经存在的正电荷中。

[0121] 偶联基团(c)

[0122] 在一些实施方案中，负荷物(例如，D_A和D_B)和大分子载体(M)间接附接到A-X-B。

[0123] 在一些实施方案中，负荷物(例如，D_A和D_B)和大分子载体(M)通过偶联基团(c_A、c_B和c_M)间接附接到A-X-B。在一些实施方案中，负荷物(例如，D_A和D_B)和大分子载体(M)通过反应性偶联基团(c_A、c_B和c_M)间接附接到A-X-B。在一些实施方案中，负荷物(例如，D_A和D_B)和大分子载体(M)通过正交反应性偶联基团(c_A、c_B和c_M)间接附接到A-X-B。在一些实施方案中，

c_A、c_B和c_M独立地为氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为0-10个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为2个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为3个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为4个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为5个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为6个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为7个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为8个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为9个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为10个氨基酸。

[0124] 在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M独立地为衍生的氨基酸。在一些实施方案中，多重负荷物(D)附接到衍生的氨基酸偶联基团。

[0125] 在一些实施方案中，偶联基团包含受体配体。

[0126] 在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地包含天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地包含D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地包含具有游离巯基的任意氨基酸，含有游离胺基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地包含D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B包含具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B包含D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A包含具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A包含D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A包含赖氨酸。在一些实施方案中，c_M包含具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M包含对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。

[0127] 在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸和γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为具有游离巯基的任意氨基酸，含有游离胺基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自：D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。

[0128] 负荷物(D)

[0129] 显像剂

[0130] 在一些实施方案中，显像剂是染料。在一些实施方案中，显像剂是荧光部分。在一些实施方案中，荧光部分选自：荧光蛋白、荧光肽、荧光染料、荧光材料或其组合。

[0131] 所有的荧光部分都涵盖在术语“荧光部分”中。在此给出的荧光部分的具体实例是说明性的，并非意在限定与在此公开的靶向分子一起使用的荧光部分。

[0132] 荧光染料的实例包括但不限于呫吨类(例如，罗丹明、对甲氨基酚和荧光素，以及它们的衍生物)；二甲基吡唑并[1,2-a]吡唑-1,7-二酮类(bimanes)；香豆素类和它们的衍生物(例如，伞形酮和氨基甲基香豆素)；芳族胺(例如，丹酰；方酸染料)；苯并呋喃；荧光花

青;吲哚羰花青;咔唑类;二氰基亚甲基吡喃;聚甲炔;氧杂苯并蒽;呫吨;吡喃鎓;喹诺酮(carbostyl);芘;吖啶酮;喹吖啶酮;红荧烯;蒽;蔻;酚蒽;苝;丁二烯;芪;卟啉;酞菁;镧系金属螯合物;稀土金属螯合物;以及这些染料的衍生物。

[0133] 荧光素染料的实例包括但不限于5-羧基荧光素、荧光素-5-异硫氰酸酯、荧光素-6-异硫氰酸酯和6-羧基荧光素。

[0134] 罗丹明染料的实例包括但不限于四甲基罗丹明-6-异硫氰酸酯、5-羧基四甲基罗丹明、5-羧基对甲氨基酚衍生物、四甲基罗丹明和四乙基罗丹明、二苯基二甲基罗丹明和二苯基二乙基罗丹明、二萘基罗丹明、罗丹明101磺酰氯(以商品名TEXAS RED®出售)。

[0135] 花青染料的实例包括但不限于Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、IRDYE680、Alexa Fluor 750、IRDye800CW、ICG。

[0136] 荧光肽的实例包括GFP(绿色荧光蛋白)或GFP的衍生物(例如,EBFP、EBFP2、Azurite、mKalama1、ECFP、Cerulean、CyPet、YFP、Citrine、Venus、YPet)。

[0137] 通过任何合适的方法来检测荧光标记。例如,可通过用合适的光波长激发荧光染料并检测得到的荧光(例如,通过显微镜检查、目视观察、通过胶片、通过使用电子检测器例如电荷耦合器件(CCD)、光电倍增管等)来检测荧光标记。

[0138] 在一些实施方案中,显像剂用发射正电子的同位素(例如,^{18}F)进行标记以用于正电子发射断层摄影术(PET),用γ射线同位素(例如,^{99m}Tc)进行标记以用于单光子发射计算机断层摄影术(SPECT),或用顺磁分子或纳米颗粒(例如,Gd^{3+}螯合物或包被的磁性纳米颗粒)进行标记以用于磁共振成像(MRI)。

[0139] 在一些实施方案中,显像剂用以下试剂进行标记:钆螯合物、氧化铁粒子、超顺磁性氧化铁粒子、超小型顺磁性粒子、锰螯合物或含镓剂。

[0140] 钆螯合物的实例包括但不限于二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)和1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N′,N″-三乙酸(NOTA)。

[0141] 在一些实施方案中,显像剂为用于近红外(近IR)成像的近红外荧光团,用于生物发光成像的萤光素酶(萤火虫、细菌或腔肠动物的)或其它发光分子,或用于超声的全氟化碳填充囊泡。

[0142] 在一些实施方案中,显像剂为核探针。在一些实施方案中,显像剂为SPECT或PET放射性核素探针。在一些实施方案中,该放射性核素探针选自:锝螯合物、铜螯合物、放射性氟、放射性碘、铟螯合物。

[0143] Tc螯合物的实例包括但不限于HYNIC、DTPA和DOTA。

[0144] 在一些实施方案中,显像剂含有放射性部分,例如放射性同位素,如^{211}At、^{131}I、^{125}I、^{90}Y、^{186}Re、^{188}Re、^{153}Sm、^{212}Bi、^{32}P、^{64}Cu、Lu的放射性同位素,以及其它。

[0145] 在一些实施方案中,包含显像剂的根据式I的选择性递送分子在引导手术中使用。在一些实施方案中,选择性递送分子优先定位至癌性或其它不良组织(即,坏死组织)。在一些实施方案中,包含显像剂的根据式I的选择性递送分子在引导手术中使用以去除结直肠癌。在一些实施方案中,应用选择性递送分子的引导手术允许外科医生切除尽可能少的健康(即非癌性)组织。在一些实施方案中,应用选择性递送分子的引导手术使外科医生可视化并切除的癌性组织比在不存在选择性递送分子的情况下外科医生所能够切除的癌性组织更多。在一些实施方案中,该手术是荧光引导的手术。

[0146] 大分子载体(M)

[0147] 术语“载体”是指调节血浆半衰期、溶解度或生物分布的惰性分子。在一些实施方案中,载体调节在此公开的选择性递送分子的血浆半衰期。在一些实施方案中,载体调节在此公开的选择性递送分子的溶解度。在一些实施方案中,载体调节在此公开的选择性递送分子的生物分布。

[0148] 在一些实施方案中,载体降低非靶细胞或组织对选择性递送分子的摄取。在一些实施方案中,载体降低选择性递送分子向软骨内的摄取。在一些实施方案中,相对于向靶组织内的摄取,载体降低选择性递送分子向关节内的摄取。

[0149] 在一些实施方案中,载体提高靶细胞或组织对选择性递送分子的摄取。在一些实施方案中,相对于向靶组织内的摄取,载体降低选择性递送分子向肝脏内的摄取。在一些实施方案中,载体降低选择性递送分子向肾脏内的摄取。在一些实施方案中,载体提高向癌组织内的摄取。在一些实施方案中,载体提高向淋巴道和/或淋巴结内的摄取。

[0150] 在一些实施方案中,载体通过降低肾小球过滤来提高血浆半衰期。在一些实施方案中,载体通过增加或降低代谢或蛋白酶降解来调节血浆半衰期。在一些实施方案中,由于肿瘤血管系统的增加的通透性和保留(EPR),载体提高了肿瘤摄取。在一些实施方案中,载体提高选择性递送分子的水溶性。

[0151] 在一些实施方案中,任意M独立地直接或间接(例如,通过c_M)结合至A、B或X。在一些实施方案中,任意M独立地在N端聚谷氨酸处结合至A。在一些实施方案中,任意M独立地通过共价键结合至A(或者,N端聚谷氨酸)。在一些实施方案中,任意M独立地在C端聚精氨酸处结合至B。在一些实施方案中,任意M独立地通过共价键结合至B(或者,C端聚精氨酸)。在一些实施方案中,任意M独立地直接或间接结合至X与A、X与B、B与C/N末端以及A与C/N末端之间的连接体。在一些实施方案中,该共价键包括醚键、硫醚键、胺键、酰胺键、肟键、碳-碳键、碳-氮键、碳-氧键或碳-硫键。

[0152] 在一些实施方案中,M选自蛋白质、合成或天然聚合物或树枝状聚合物。在一些实施方案中,M选自葡聚糖、PEG聚合物(例如,PEG0.5kDa、PEG 2kDa、PEG 5kDa、PEG 12kDa、PEG 20kDa、PEG 30kDa和PEG40kDa)、白蛋白或其组合。在一些实施方案中,M为PEG聚合物。

[0153] 在一些实施方案中,M的大小为50-70kD。

[0154] 在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至白蛋白。在某些情况下,白蛋白在正常生理条件下被排除在肾小球滤液之外。在一些实施方案中,选择性递送分子包含能够与白蛋白形成共价偶联物的反应性基团,例如马来酰亚胺。包含白蛋白的选择性递送分子导致裂解的选择性递送分子以依赖于裂解的方式在肿瘤中发生增多的积累。在一些实施方案中,白蛋白偶联物具有良好的药代动力学性质。

[0155] 在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至PEG聚合物。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为0.5kDa的PEG聚合物(PEG 0.5kDa)。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为1kDa的PEG聚合物(PEG 1kDa)。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为2kDa的PEG聚合物(PEG 2kDa)。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为5kDa的PEG聚合物(PEG 5kDa)。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为10kDa的PEG聚合物(PEG 10kDa)。在一些实施方案中,选择性递送分子偶联至平均分子量约为12kDa的PEG聚合物(PEG 12kDa)。在一些实施方

案中，选择性递送分子偶联至平均分子量约为20kDa的PEG聚合物(PEG 20kDa)。在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至平均分子量约为30kDa的PEG聚合物(PEG 30kDa)。在一些实施方案中，偶联至PEG30kDa的选择性递送分子与游离肽相比具有更长的半衰期。在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至平均分子量为约20至约40kDa、具有肝和肾清除的PEG聚合物。

[0156] 在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至葡聚糖。在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至70kDa葡聚糖。在一些实施方案中，葡聚糖偶联物，作为分子量的混合物，难以可再现地合成及纯化。

[0157] 在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至链霉亲和素。

[0158] 在一些实施方案中，选择性递送分子偶联至第五代PAMAM树枝状聚合物。

[0159] 在一些实施方案中，对载体加帽。在一些实施方案中，对载体加帽改善了药代动力学，并通过增加亲水性降低了载体的细胞毒性。在一些实施方案中，所述帽选自：乙酰基、琥珀酰基、3-羟基丙酰基、2-磺基苯甲酰基、缩水甘油基、PEG-2kDa、PEG-4kDa、PEG-8kDa和PEG-12kDa。

[0160] 部分X(连接体)

[0161] 在一些实施方案中，由一个或多个氨基酸组成的连接体用于连接肽序列A(即，设计为抑制肽B的递送活动的序列)和肽序列B。通常，肽连接体除了连接这些分子或在它们之间保持一定的最小距离或其它空间关系外，将不具有特定的生物活性。然而，可以对连接体的组成氨基酸进行选择，以影响分子的一些性质，例如折叠、净电荷或疏水性。

[0162] 在活细胞中，由于部分A的存在，在此公开的完整的选择性递送分子可能无法进入细胞。从而，由于阻止细胞摄取的部分A不能有效地在健康细胞中被胞内酶裂解(因为其无法被吸收，而将无法被此类胞内酶接近)，因此裂解X的严格的胞内过程将不能在健康细胞中有效裂解X。然而，当细胞受损伤或病变(例如，癌性细胞、缺氧细胞、缺血细胞、凋亡细胞、坏死细胞)时，此类胞内酶从细胞中漏出，将会发生A的裂解，从而允许部分B和/或负荷物进入细胞，从而实现部分B和/或负荷物D向相邻细胞的靶向递送。在一些实施方案中，X在胞外间隙中裂解。

[0163] 在某些情况下，毛细血管在肿瘤和其他创伤部位周围渗漏。在一些实施方案中，渗漏毛细血管增强了高分子量(例如，约30kDa或更大的分子量)的分子到达间质区室的能力。在一些实施方案中，X连接体与癌组织相邻地被裂解。在一些实施方案中，不表达相关蛋白酶但紧邻表达相关蛋白酶的细胞的细胞从选择性递送分子中拾取负荷物，因为X连接体的连接一般是胞外的。在一些实施方案中，由于细胞表型的异质性和消除尽可能高百分比的可疑细胞的愿望，这种旁观者(bystander)靶向在肿瘤治疗中是有益的。

[0164] 在一些实施方案中，X为可裂解的连接体。

[0165] 在一些实施方案中，连接体为柔性的。在一些实施方案中，连接体为刚性的。

[0166] 在一些实施方案中，连接体包含线性结构。在一些实施方案中，连接体包含非线性结构。在一些实施方案中，连接体包含分支结构。在一些实施方案中，连接体包含环状结构。

[0167] 在一些实施方案中，X为约5到约30个原子的长度。在一些实施方案中，X为约6个原子的长度。在一些实施方案中，X为约8个原子的长度。在一些实施方案中，X为约10个原子的长度。在一些实施方案中，X为约12个原子的长度。在一些实施方案中，X为约14个原子的长

度。在一些实施方案中,X为约16个原子的长度。在一些实施方案中,X为约18个原子的长度。在一些实施方案中,X为约20个原子的长度。在一些实施方案中,X为约25个原子的长度。在一些实施方案中,X为约30个原子的长度。

[0168] 在一些实施方案中,连接体通过共价键将肽部分A(即,阻止细胞摄取的肽序列)结合至肽部分B(即,递送序列)。在一些实施方案中,该共价键包括醚键、硫醚键、胺键、酰胺键、肼键、腙键、碳-碳键、碳-氮键、碳-氧键或碳-硫键。

[0169] 在一些实施方案中,X包含肽键。该肽键包含L-氨基酸和/或D-氨基酸。在本发明的实施方案中,为了使得免疫原性和由背景肽酶或蛋白酶导致的非特异性裂解最小化,D-氨基酸是优选的。已知寡-D-精氨酸序列的细胞摄取比寡-L-精氨酸的细胞摄取更好或与之一样好。

[0170] 在一些实施方案中,X连接体被设计为在特定条件的存在下或在特定环境下裂解。在优选的实施方案中,X连接体可在生理条件下裂解。这样的X连接体的裂解可以例如被与需要递送负荷物的细胞相关的特定病理信号或特定环境所增强或影响。X连接体针对被特定条件例如被特定酶裂解的设计允许将细胞摄取靶向至获得此类条件的特定位置。因此,选择性递送分子提供将细胞摄取特异性靶向至期望的细胞、组织或区域的一种重要方式是通过将连接体部分X设计为能够被此类靶向细胞、组织或区域附近的条件所裂解。

[0171] 在一些实施方案中,X为pH-敏感的连接体。在一些实施方案中,X在碱性pH条件下裂解。在一些实施方案中,X在酸性pH条件下裂解。在一些实施方案中,X被蛋白酶、基质金属蛋白酶或其组合裂解。在一些实施方案中,X被还原剂裂解。在一些实施方案中,X被氧化剂裂解。

[0172] 在一些实施方案中,X被MMP裂解。基质金属蛋白酶(MMP)的水解活性已与转移性肿瘤细胞的侵袭性迁移相关联。在某些情况下,MMP可见于炎症部位附近。在某些情况下,MMP可见于中风部位附近(即,以血流量减少后脑损伤为特征的疾病)。因此,对具有本发明特征的分子的摄取能够引导负荷物(至少一个D部分)向在胞外环境中具有活性MMP的特定细胞、组织或区域的细胞摄取。在一些实施方案中,X包含选自以下的氨基酸序列:PLG-C(Me)-AG(SEQ ID NO:1)、PLGLAG(SEQ ID NO:2)或RPLALWRS(SEQ ID NO:3)。在一些实施方案中,X被选自MMP-2、MMP-9或MMP-7(与癌症和炎症有关的MMP)的金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中,连接体被MMP-2裂解。在一些实施方案中,连接体被MMP-9裂解。在一些实施方案中,连接体被MMP-7裂解。

[0173] 在一些实施方案中,X被可见于癌细胞附近的蛋白水解酶或还原性环境所裂解。这样的环境或这样的酶通常在正常细胞附近不可见。

[0174] 在一些实施方案中,X被包括但不限于凝血酶和组织蛋白酶的丝氨酸蛋白酶裂解。在一些实施方案中,X被组织蛋白酶K、组织蛋白酶S、组织蛋白酶D、组织蛋白酶E、组织蛋白酶W、组织蛋白酶F、组织蛋白酶A、组织蛋白酶C、组织蛋白酶H、组织蛋白酶Z或其任意组合所裂解。在一些实施方案中,X被组织蛋白酶K和/或组织蛋白酶S裂解。

[0175] 在一些实施方案中,X在经历低氧的组织中或其附近被裂解。在一些实施方案中,在低氧组织中或其附近的裂解能够允许癌细胞和癌组织、梗塞区域及其他低氧区域的靶向。在一些实施方案中,X包含二硫键。在一些实施方案中,包含二硫键的连接体优先在低氧区域裂解,从而将负荷物递送靶向至该区域中的细胞。低氧被认为能导致癌细胞变得更耐

受放疗和化疗，并且还可以启动血管发生。在低氧环境中，例如在存在渗漏或坏死细胞时，游离硫醇和其它还原剂在胞外可获得，而通常使胞外环境保持氧化的O_2明显被消耗。在一些实施方案中，该氧化还原平衡的变化促进了X连接体中二硫键的还原和裂解。除了利用硫醇-二硫化物平衡的二硫键外，在设计为在低氧环境中裂解的X连接体中还可以使用包括当还原成氢醌时会裂解的醌的键。

[0176] 在一些实施方案中，X在坏死环境中裂解。坏死通常导致酶或其他细胞内容物的释放，该酶或细胞内容物可用于引发X连接体的裂解。在一些实施方案中，坏死酶(例如，钙蛋白酶)对X的裂解使负荷物被病变细胞和尚未完全渗漏的邻近细胞吸收。

[0177] 在一些实施方案中，X为酸不稳定的连接体。在一些实施方案中，X包含乙缩醛或乙烯醚键。由于从氧化磷酸化到无氧糖酵解和乳酸产生的Warburg转移，在受损部位或低氧组织中观察到酸中毒。在一些实施方案中，通过将B中的一些精氨酸替换为只在低于pH 7时才变为阳离子的组氨酸，而将酸中毒用作负荷物摄取的引发物。

[0178] 应当理解，在此公开的连接体可以包括非标准氨基酸，例如，羟赖氨酸、锁链素、异锁链素或其他非标准氨基酸。在此公开的连接体可以包括修饰的氨基酸，包括翻译后修饰的氨基酸，例如，甲基化的氨基酸(例如，甲基组氨酸、赖氨酸的甲基化形式，等等)、乙酰化的氨基酸、酰胺化的氨基酸、甲酰化的氨基酸、羟基化的氨基酸、磷酸化的氨基酸或其他修饰的氨基酸。在此公开的连接体还可包括肽模拟部分，包括通过非肽键连接的部分和通过非氨基酸部分连接或连接至非氨基酸部分的氨基酸。

[0179] 在一些实施方案中，连接体X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列PLGxAG，其中x为任意氨基酸(天然存在的或非天然存在的)。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列ESPAYYTA。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，连接体X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。

[0180] 在一些实施方案中，连接体X包含选自以下的肽：PR(S/T)(L/I)(S/T)(其中括号中的字母表示所指的氨基酸中的任何一种可以位于该序列中的该位置处)；GGAANLVRGG；SGRIGFLRTA；SGRSA；GFLG；ALAL；FK；PIC(Et)F-F(其中C(Et)表示S-乙基半胱氨酸(巯基上连接有乙基的半胱氨酸)，“-”表示该序列及之后的序列中典型的裂解位点)；GGPRGLPG；HSSKLQ；LVLA-SSSFGY；GVSQNY-PIVG；GVVQA-SCRLA；f(Pip)R-S(其中“f”表示D-苯丙氨酸，“Pip”表示哌啶-2-羧酸(六氢吡啶羧酸，一种具有六元环的脯氨酸类似物)；DEVD；GWEHDG；RPLALWRS，或其组合。

[0181] 在一些实施方案中，X在低氧条件下被裂解。在一些实施方案中，X包含二硫键。在一些实施方案中，X包含奎宁。

[0182] 在一些实施方案中，X在坏死条件下被裂解。在一些实施方案中，X包含能被钙蛋白酶裂解的分子。

[0183] 在一些实施方案中，X包含6-氨基己酰基、5-(氨基)-3-氧杂戊酰基，或其组合。在一些实施方案中，X包含二硫键。

[0184] 在一些实施方案中，连接体为亚烷基。在一些实施方案中，连接体为亚烯基。在一些实施方案中，连接体为亚炔基。在一些实施方案中，连接体为亚杂烷基。

[0185] “亚烷基”基团是指脂肪烃基团。亚烷基部分是双基并且可以是饱和的亚烷基或不饱和的亚烷基。

[0186] “亚烷基”部分可以具有1-10个碳原子(无论何时在本文中出现，数字范围例如“1-10”表示给定范围内的每个整数；例如，“1-10个碳原子”意指烷基基团可由1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子等直至并包括10个碳原子组成，尽管本定义也涵盖未指定数值范围的术语“亚烷基”的存在)。亚烷基基团也可以是具有1-6个碳原子的“低级亚烷基”。本文描述的化合物的亚烷基基团可被指定为“C1-C4亚烷基”或类似的指定。仅举例来说，“C1-C4亚烷基”表示在亚烷基链中有1-4个碳原子，即，该亚烷基链选自：亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基和亚叔丁基。典型的亚烷基基团包括但绝不不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚异丙基、亚丁基、亚异丁基、亚叔丁基、亚戊基、亚己基、亚乙烯基、亚丙烯基、亚丁烯基等。

[0187] 在一些实施方案中，连接体包含双基环结构(例如，亚芳基)。在此使用的术语“环”是指任何共价闭合的结构。环包括，例如，碳环(例如，亚芳基和亚环烷基)、亚杂环(例如，亚杂芳基和非芳香亚杂环)、芳香基(例如亚芳基和亚杂芳基)和非芳香基(例如，亚环烷基和非芳香亚杂环)。环可以任选地被取代。环可以是单环或多环。

[0188] 在此使用的术语“亚芳基”是指芳香环双基，其中每个成环的原子都是碳原子。亚芳基环可以由5、6、7、8、9个或多于9个碳原子形成。亚芳基基团可以任选地被取代。亚芳基基团的实例包括但不限于亚苯基、亚萘基、亚菲基、亚蒽基、亚芴基和亚茚基。

[0189] 术语“亚环烷基”是指单环或多环非芳香双基，其中每个成环的原子(即骨架原子)都是碳原子。亚环烷基可以为饱和的或部分不饱和的。亚环烷基基团包括具有3-10个环原子的基团。亚环烷基包括但不限于亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基、亚环己基、亚环庚基和亚环辛基。

[0190] 在一些实施方案中，所述环为环烷。在一些实施方案中，所述环为环烯。

[0191] 在一些实施方案中，所述环为芳香环。术语“芳香的”是指具有包含4n+2π电子的离域π-电子体系的平面环，其中n为整数。芳香环可以由5、6、7、8、9个或多于9个碳原子形成。芳香基可以任选地被取代。术语“芳香基”包括碳环亚芳基(例如，亚苯基)和杂环亚芳基(或“亚杂芳基”或“杂芳香基”)基团(例如，亚吡啶)。该术语包括单环或稠环的多环(即，共享相邻的碳原子对的环)基团。

[0192] 在一些实施方案中，所述环为亚杂环。术语“亚杂环”是指含有1-4个各自选自O、S和N的杂原子的双基杂芳香和杂脂环基团，其中各杂环基团在其环系中具有4-10个原子，且条件为所述基团的环不含有两个邻近的O或S原子。非芳香杂环基团包括在其环系中只具有3个原子的基团，但是芳香杂环基团在其环系中必须具有至少5个原子。杂环基团包括苯并稠合的环系。3元杂环基团的一个实例是亚氮杂环丙烷基。4元杂环基团的一个实例是亚氮杂环丁烷基(衍生自氮杂环丁烷)。5元杂环基团的一个实例是亚噻唑基。6元杂环基团的一个实例是亚吡啶基，而10元杂环基团的一个实例是亚喹啉基。非芳香杂环基团的实例是亚吡咯烷基、亚四氢呋喃基、亚二氢呋喃基、亚四氢噻吩基、亚四氢吡喃基、亚二氢吡喃基、亚四氢噻喃基、亚哌啶子基、亚吗啉基、亚硫代吗啉基、亚噻噁烷基、亚哌嗪基、亚氮杂环丁基、

亚氧杂环丁基、亚硫杂环丁基、亚高哌啶基、亚氧杂环庚基、亚硫杂环庚基、亚氧氮杂䓬基、二氮杂䓬基、硫氮杂䓬基、1,2,3,6-四氢吡啶亚基、2-吡咯啉亚基、3-吡咯啉亚基、亚吲哚啉基、2H-吡喃亚基、4H-吡喃亚基、亚二氧杂环己烷基、1,3-二氧杂环戊烷基、亚吡唑啉基、亚二噻烷基、亚二硫戊环基、亚二氢吡喃基、亚二氢噻吩基、亚二氢呋喃基、亚吡唑烷基、亚咪唑啉基、亚咪唑烷基、3-氮杂双环[3.1.0]己烷亚基、3-氮杂双环[4.1.0]庚烷亚基、3H-亚吲哚基和亚喹嗪基。芳香杂环基团的实例是亚吡啶基、亚咪唑基、亚嘧啶基、亚吡唑基、亚三唑基、亚吡嗪基、亚四唑基、亚呋喃基、亚噻吩基、亚异噁唑基、亚噻唑基、亚噁唑基、亚异噻唑基、亚吡咯基、亚喹啉基、亚异喹啉基、亚吲哚基、亚苯并咪唑基、亚苯并呋喃基、亚噌啉基、亚吲唑基、亚吲嗪基、亚酞嗪基、亚哒嗪基、亚三嗪基、亚异吲哚基、亚蝶啶基、亚嘌呤基、亚噁二唑基、亚噻二唑基、亚呋咱基、亚苯并呋咱基、亚苯并噻吩基、亚苯并噻唑基、亚苯并噁唑基、亚喹唑啉基、亚喹喔啉基、亚萘啶基和亚呋喃并吡啶基。前述基团可以是C连接的和/或N连接的(如果这是可能的话)。杂环基团包括苯并稠合的环系和用一个或两个氧代(=O)部分取代的环系,例如吡咯烷-2-酮。

[0193] 在一些实施方案中,所述环是稠合的。术语“稠合的”是指其中两个或多个环共享一个或多个键的结构。在一些实施方案中,所述环为二聚体。在一些实施方案中,所述环为三聚体。在一些实施方案中,所述环为取代的。

[0194] 术语“碳环的”或“亚碳环”是指其中每个成环原子均为碳原子的双基环。亚碳环包括亚芳基和亚环烷基。该术语因此将亚碳环与环骨架含有至少一个不同于碳的原子(即杂原子)的亚杂环(“杂环的”)区分开。亚杂环包括亚杂芳基和亚杂环烷基。亚碳环和亚杂环可以任选地被取代。

[0195] 在一些实施方案中,连接体为取代的。术语“任选地取代的”或“取代的”意指所提到的基团可被一个或多个另外的基团取代,所述另外的基团单独且独立地选自C_1-C_6烷基、C_3-C_8环烷基、芳基、杂芳基、C_2-C_6杂脂环、羟基、C_1-C_6烷氧基、芳氧基、C_1-C_6烷硫基、芳硫基、C_1-C_6烷基亚砜、芳基亚砜、C_1-C_6烷基砜、芳基砜、氰基、卤素、C_2-C_8酰基、C_2-C_8酰氧基、硝基、C_1-C_6卤代烷基、C_1-C_6氟代烷基和氨基,包括C_1-C_6烷基氨基,及其经保护的衍生物。举例来说,任选的取代基可以是LsRs,其中每个Ls独立地选自键、-O-、-C(=O)-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)$_2$-、-NH-、-NHC(=O)-、-C(=O)NH-、S(=O)$_2$NH-、-NHS(=O)2-、-OC(=O)NH-、-NHC(=O)O-、-(C$_1$-C$_6$烷基)-或-(C$_2$-C$_6$烯基)-;且每个Rs独立地选自H、(C$_1$-C$_4$烷基)、(C$_3$-C$_8$环烷基)、杂芳基、芳基和C$_1$-C$_6$杂烷基。任选地取代的非芳香基团可以被一个或多个氧代基团(=O)取代。可形成上述取代基的保护性衍生物的保护基团是本领域技术人员已知的。

[0196] 在一些实施方案中,在此公开的选择性递送分子包含单个连接体。使用单一机理来介导成像和治疗性负荷物的摄取是特别有价值的,因为可以用无害的示踪剂量进行成像来检测后续的治疗剂量是否可能正确地集中于靶组织中。

[0197] 在一些实施方案中,在此公开的选择性递送分子包含多个连接体。当在此公开的选择性递送分子包括多个X键时,部分A与分子的其它部分的分离需要裂解所有的X键。多个X连接体的裂解可以是同时或相继的。多个X键可以包括具有不同特异性的X键,从而部分A与分子的其它部分的分离需要该分子遇到多于一个条件或环境(“胞外信号”)。因此多个XX连接体的裂解可以用作此类胞外信号的组合的检测器。例如,选择性递送分子可以包括连

接碱性部分B与酸性部分A的两个连接体部分Xa和Xb。Xa和Xb连接体都必须在酸性部分A与碱性部分B分离前进行裂解，从而允许部分B和负荷物部分C(如果有的话)进入细胞。应当理解，连接体区可独立于可能存在的另一个连接体而连接至碱性部分B或负荷物部分C，并且在需要的时候，可以包含多于两个连接体区X。

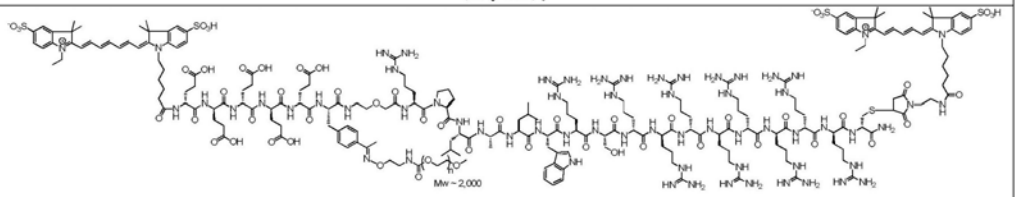
[0198] 可以使用两个或更多个连接体的组合来进一步调节分子的靶向和向期望的细胞、组织或区域的递送。如果需要的话，使用胞外信号的组合来使得X连接体的裂解特异性变宽或变窄。当多个X连接体平行连接时，裂解特异性变窄，因为每个X连接体都必须在部分A可以与分子的其它部分分离之前进行裂解。当多个X连接体顺序连接时，裂解特异性变宽，因为任一X连接体上的裂解都允许部分A与分子的其它部分分离。例如，为了检测蛋白酶或低氧(即，在蛋白酶或低氧的存在下裂解X)，将X连接体设计为串联地放置蛋白酶敏感性和还原敏感性位点，从而使得任何一个的裂解将足以允许酸性部分A的分离。或者，为了检测蛋白酶和低氧两者的存在(即，在蛋白酶和低氧两者同时存在、而不是只有一者存在的情况下裂解X)，将X连接体设计为在至少一对彼此用二硫键键合的半胱氨酸之间放置蛋白酶敏感性位点。在这种情况下，为了允许部分A的分离，既需要蛋白酶裂解又需要二硫键还原。

[0199] 示例性的选择性递送分子

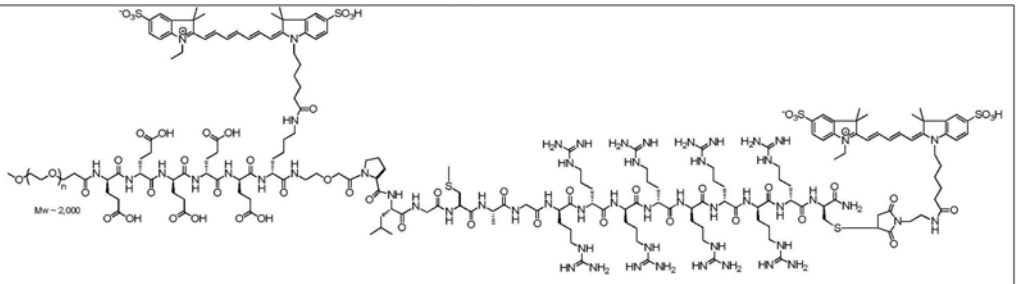
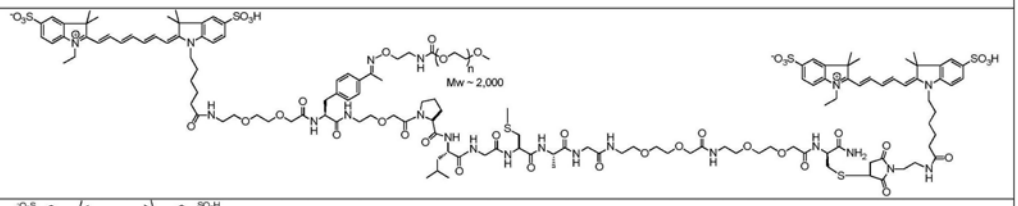
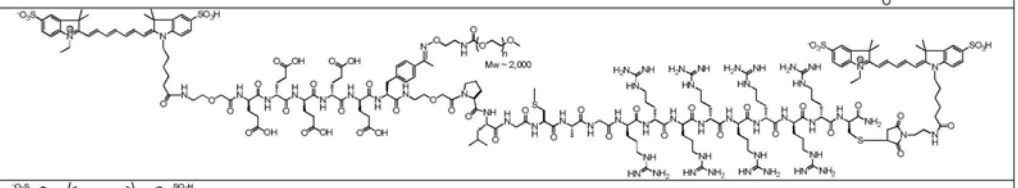
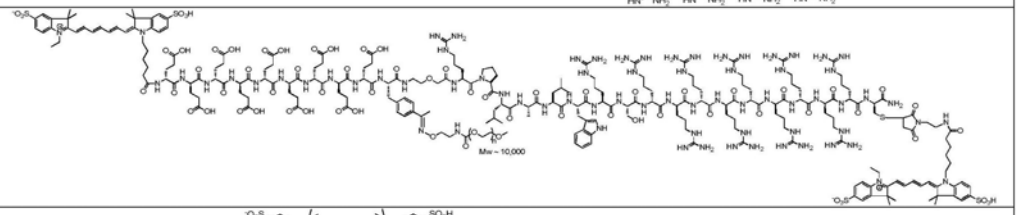
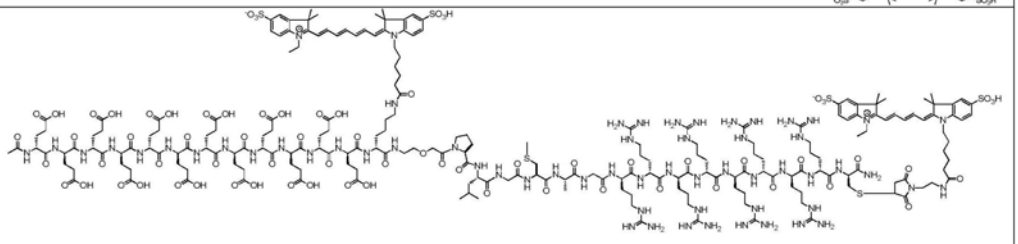
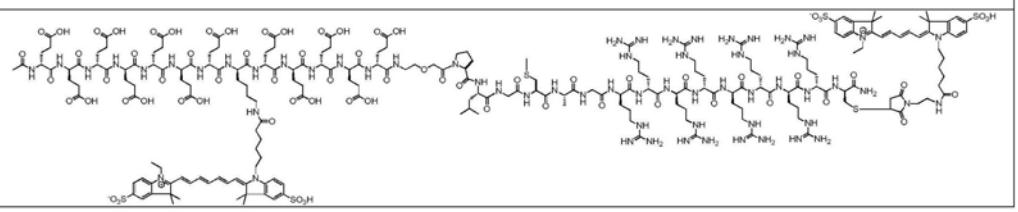
[0200] 在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-41的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-42的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-43的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-44的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-45的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-46的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-47的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-48的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-49的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-50的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-51的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-52的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-53的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-54的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-55的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-56的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-57的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-58的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-59的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-60的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-61的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-62的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-63的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-64的选择性递送分子。在某些实施方案中，本文公开了根据SDM-65的选择性递送分子。

[0201] 选择性递送分子SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64和SDM-65的结构在以下示出。

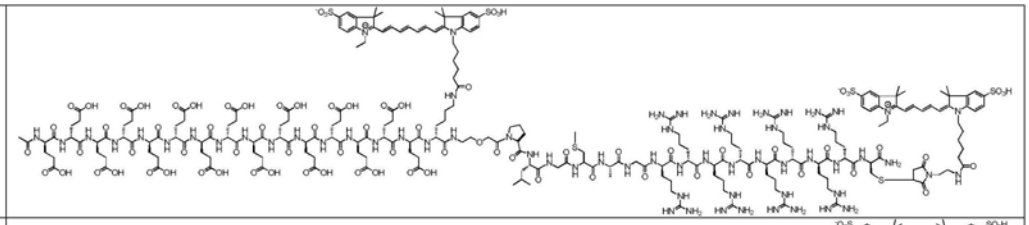
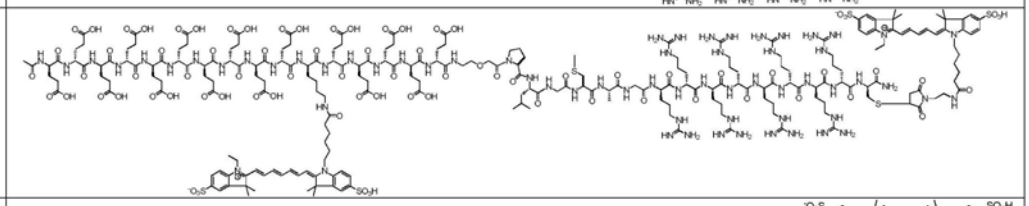
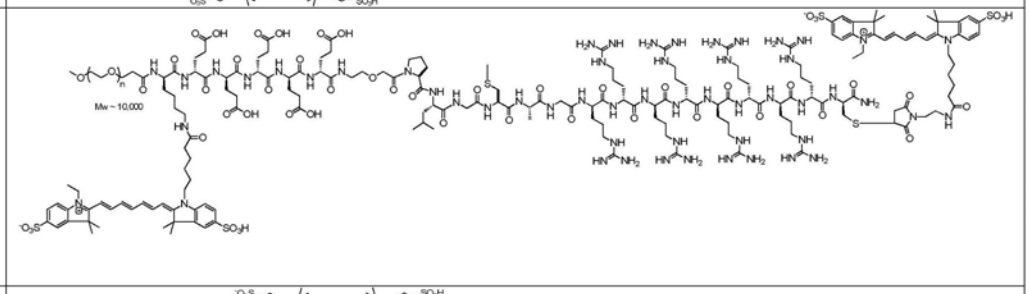
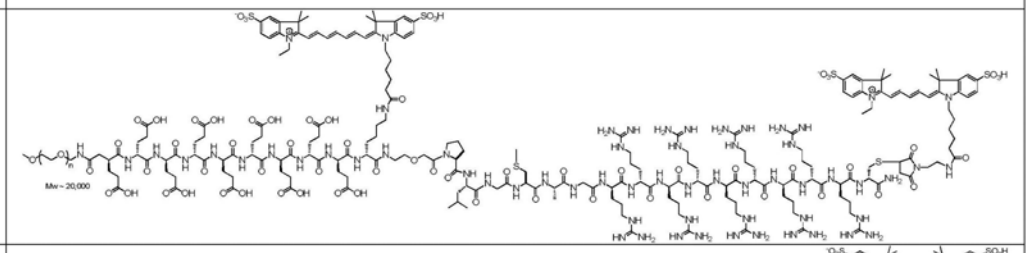
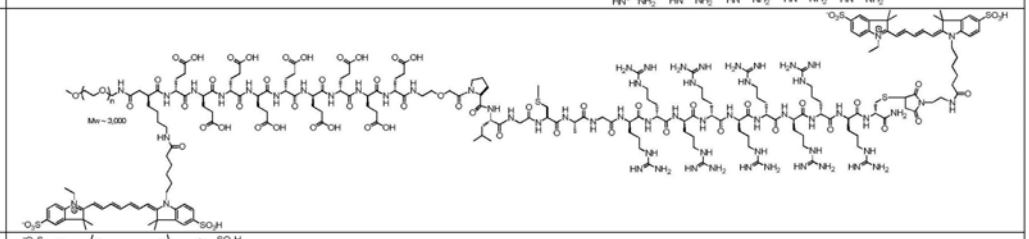
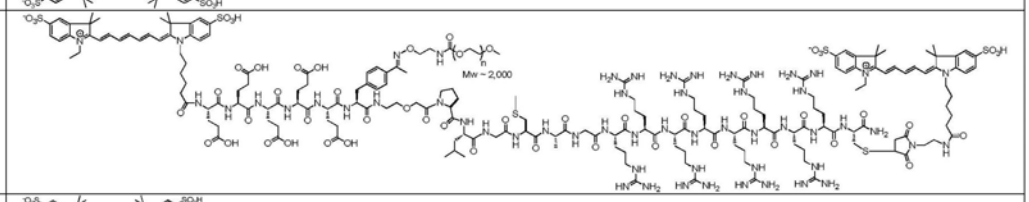
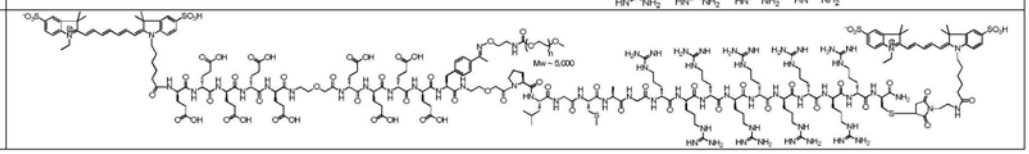
[0202]

	化学结构
SDM-41	

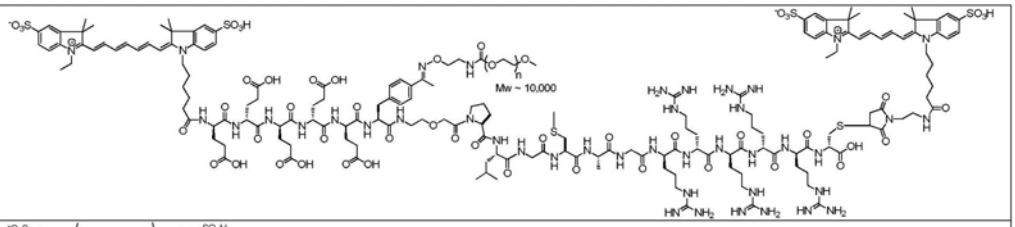
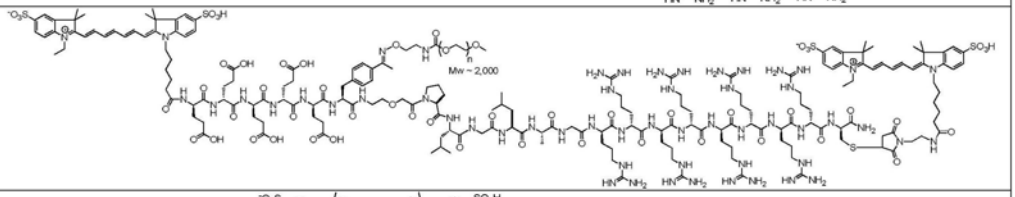
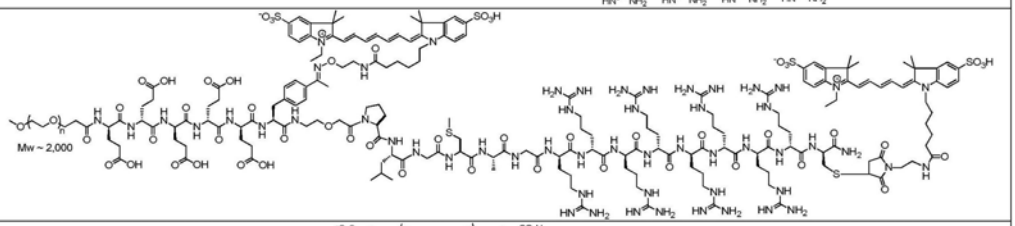
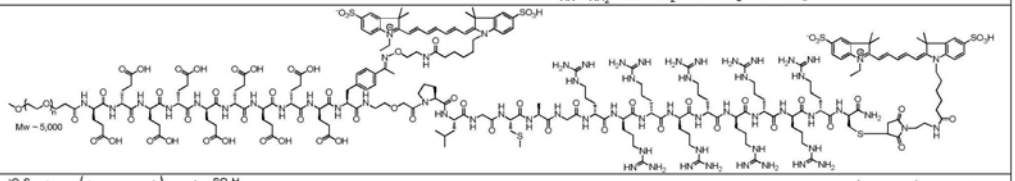
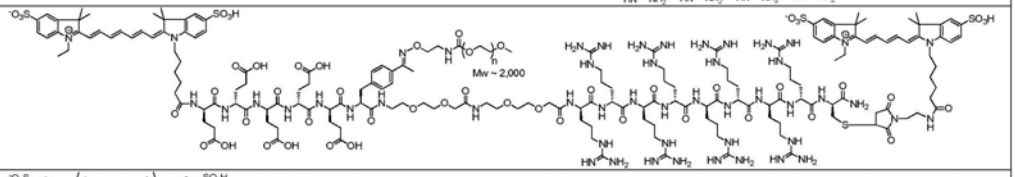
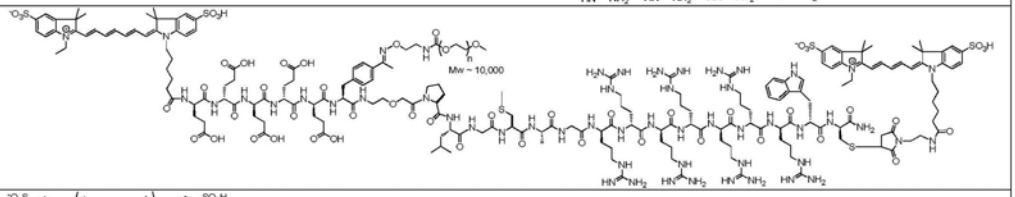
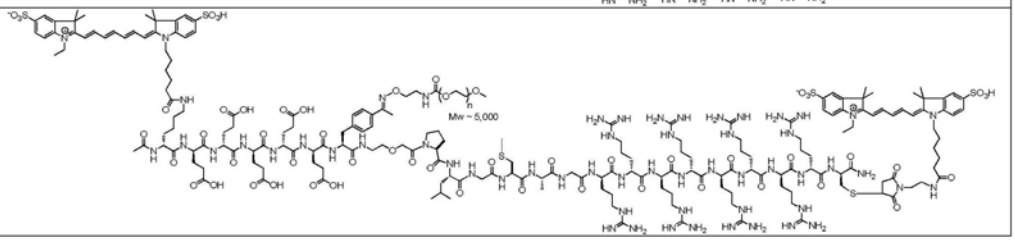
[0203]

SDM-42	
SDM-43	
SDM-44	
SDM-45	
SDM-46	
SDM-47	

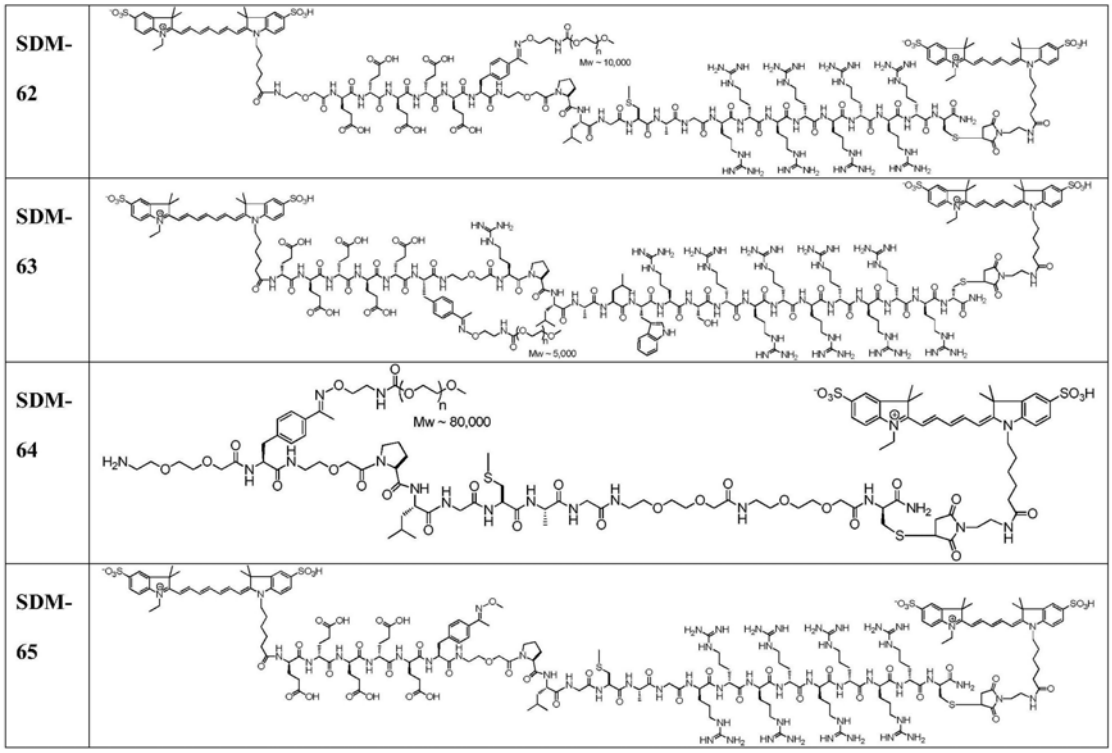
[0204]

SDM-48	
SDM-49	
SDM-50	
SDM-51	
SDM-52	
SDM-53	
SDM-54	

[0205]

SDM-55	
SDM-56	
SDM-57	
SDM-58	
SDM-59	
SDM-60	
SDM-61	

[0206]



[0207] 进一步的修饰

[0208] 在一些实施方案中，本发明的靶向分子任选地偶联至增加标记的多价性和亲合力的高分子量分子。在一些实施方案中，该高分子量分子为水溶性聚合物。合适的水溶性聚合物的实例包括但不限于肽、糖、聚(乙烯)、聚(醚)、聚(胺)、聚(羧酸)等。在一些实施方案中，水溶性聚合物为葡聚糖、聚乙二醇(PEG)、聚氧化烯、聚唾液酸、淀粉或羟乙基淀粉。使用任何合适的方法将肽偶联至水溶性聚合物(参见Hermanson G.,Bioconjugate Techniques第二版,Academic Press,Inc.2008)。

[0209] 药物组合物

[0210] 在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-41的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-42的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-43的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-44的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-45的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-46的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-47的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-48的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-49的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-50的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-51的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-52的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-53的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-54的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-55的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-56的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案

中，本文公开了包含根据SDM-57的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-58的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-59的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-60的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-61的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-62的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-63的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-64的选择性递送分子的药物组合物。在某些实施方案中，本文公开了包含根据SDM-65的选择性递送分子的药物组合物。

[0211] 在某些实施方案中，本文公开了包含式I的选择性递送分子的药物组合物，该分子具有以下结构：

[0212] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0213] 式I

[0214] 其中，

[0215] X为可裂解的连接体；

[0216] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0217] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0218] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0219] M为大分子载体；且

[0220] D_A和D_B各自独立地选自显像剂和治疗剂；且

[0221] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸；

[0222] 在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中，B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自

以下的氨基酸序列:PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中,M选自蛋白质、天然聚合物、合成聚合物或树枝状聚合物。在一些实施方案中,M选自葡聚糖、PEG聚合物、白蛋白或其组合。在一些实施方案中,M为PEG聚合物。在一些实施方案中,M选自平均分子量约为0.5kDa的PEG聚合物(PEG 0.5kDa)、平均分子量约为2kDa的PEG聚合物(PEG 2kDa)、平均分子量约为5kDa的PEG聚合物(PEG 5kDa)、平均分子量约为12kDa的PEG聚合物(PEG 12kDa)、平均分子量约为20kDa的PEG聚合物(PEG 20kDa)、平均分子量约为30kDa的PEG聚合物(PEG30kDa)和平均分子量约为40kDa的PEG聚合物(PEG 40kDa)。在一些实施方案中,D_A和D_B为一对接受体和供体荧光部分,它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中,D_A和D_B为吲哚碳花青染料。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中,D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中,式I的分子为:SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中,所述分子为SDM-41。在一些实施方案中,式I的分子为SDM-42。

[0223] 在某些实施方案中,本文公开了包含式I的选择性递送分子的药物组合物,该分子具有以下结构:

[0224] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0225] 式I

[0226] 其中,

[0227] X为可裂解的连接体;

[0228] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽;

[0229] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽;

[0230] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸;

[0231] M为聚乙二醇(PEG)聚合物;且

[0232] D_A和D_B各自独立地为显像剂;且

[0233] 其中[c_M-M]结合至A或X上的任意位置,[DA-cA]结合至A或X上的任意氨基酸,且[c_B-D_B]结合至B上的任意氨基酸。

[0234] 在一些实施方案中,A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中,B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中,A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中,B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-

氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中，式I的分子为：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。在一些实施方案中，式I的分子为SDM-42。

[0235] 使用一种或多种生理学上可接受的载体配制此处的药物组合物，该载体包括有助于将活性试剂加工成药学上使用的制剂的赋形剂和辅料。合适的制剂取决于选定的给药途径。药物组合物的概述见于，例如，Remington:The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover,John E., Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania 1975;Liberman,H.A.和Lachman,L.,Eds.,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;和Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第7版.(Lippincott Williams&Wilkins,1999)。

[0236] 在某些实施方案中，在此公开的药物组合物进一步包含药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。在一些实施方案中，药物组合物包括其他药物或药剂、载体、佐剂(例如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂)、助溶剂、调节渗透压的盐和/或缓冲液。此外，药物组合物还含有其它在治疗上有价值的物质。

[0237] 在某些实施方案中，通过任何合适的给药途径向受试者施用本文公开的药物组合物，该给药途径包括但不限于肠胃外(静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内、血管内、鞘内、玻璃体内、输注或局部)给药。

[0238] 适于肌肉内、皮下、瘤周或静脉内注射的制剂包括生理学上可接受的无菌水或非

水溶液、分散液、悬浮液或乳液，以及用于重新配制成无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。合适的水性和非水性载体、稀释剂、溶剂或赋形剂的实例包括水、乙醇、多元醇(丙二醇、聚乙二醇、甘油、克列莫佛(cremophor)等)、其合适的混合物、植物油(如橄榄油)和可注射的有机酯如油酸乙酯。例如，通过使用诸如卵磷脂的包衣，通过在分散液的情况下保持所要求的粒径，以及通过使用表面活性剂，来保持适当的流动性。适合皮下注射的制剂还包含任选的添加剂，如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。

[0239] 对于静脉内注射，活性剂可任选地配制于水溶液中，优选地在生理相容性缓冲液中，例如汉克斯(Hank)溶液、林格氏(Ringer)溶液或生理盐水缓冲液。

[0240] 肠胃外注射任选地包括团注或连续输注。用于注射的制剂任选地呈现为单位剂量形式，例如，在安瓿或多剂量容器中，其中加有防腐剂。在一些实施方案中，本文所述的药物组合物是适合于肠胃外注射的无菌悬浮液、溶液或在油性或水性载体中的乳液的形式，并含有配制剂如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于肠胃外给药的药物制剂包括水溶性形式的活性剂的水溶液。此外，悬浮液任选地制备为适当的油性注射悬浮液。

[0241] 在一些实施方案中，本文描述的药物组合物为适于精确剂量的单次给药的单位剂量形式。在单位剂量形式中，制剂被分成含有适量的本文公开的活性剂的单位剂量。在一些实施方案中，单位剂量是含有离散量的制剂的包装的形式。非限制性实例是在小瓶或安瓿中包装的片剂或胶囊剂和粉剂。在一些实施方案中，水性悬浮液组合物包装在不可再封闭的单剂量容器中。或者，使用可再封闭的多剂量容器，在这种情况下，在组合物中一般含有防腐剂。仅举例来说，用于肠胃外注射的制剂以单位剂量形式呈现，其包括但不限于安瓿，或在多剂量容器中，其中加有防腐剂。

[0242] 使用方法

[0243] 选择性递送分子SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65允许负荷物向特定细胞和/或组织的靶向递送。

[0244] 在某些实施方案中，本文公开了向目的组织递送负荷物的方法，其包括使目的组织与选自SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65的分子接触。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。

[0245] 在某些实施方案中，本文公开了将负荷物递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触式I的分子：

[0246] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0247] 式I

[0248] 其中，

[0249] X为可裂解的连接体；

[0250] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0251] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0252] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0253] M为大分子载体；且

[0254] D_A和D_B各自独立地选自显像剂和治疗剂;且

[0255] 其中[c_M-M]结合在A、X和B之上或之间的任意位置,[D_A-c_A]结合至A或X上的任意氨基酸,且[c_B-D_B]结合至B上的任意氨基酸。在一些实施方案中,A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中,B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中,A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中,B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸,具有N末端胺基的任意氨基酸,以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中,c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中,c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中,c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中,c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中,c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中,c_A为赖氨酸。在一些实施方案中,c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中,c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中,X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中,X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中,X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中,X包含肽键。在一些实施方案中,X包含选自以下的氨基酸序列:PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中,X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中,M选自蛋白质、天然聚合物、合成聚合物或树枝状聚合物。在一些实施方案中,M选自葡聚糖、PEG聚合物、白蛋白或其组合。在一些实施方案中,M为PEG聚合物。在一些实施方案中,M选自平均分子量约为0.5kDa的PEG聚合物(PEG 0.5kDa)、平均分子量约为2kDa的PEG聚合物(PEG 2kDa)、平均分子量约为5kDa的PEG聚合物(PEG 5kDa)、平均分子量约为12kDa的PEG聚合物(PEG 12kDa)、平均分子量约为20kDa的PEG聚合物(PEG20kDa)、平均分子量约为30kDa的PEG聚合物(PEG 30kDa)和平均分子量约为40kDa的PEG聚合物(PEG 40kDa)。在一些实施方案中,D_A和D_B是一对供体和接受体荧光部分,它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中,D_A和D_B为吲哚碳花青染料。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中,D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中,D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中,式I的分子为:SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中,所述分子为SDM-41。在一些实施方案中,式I的分子为SDM-42。

[0256] 目的组织

[0257] 在一些实施方案中，目的组织是癌性组织(或癌症)。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、卵巢癌组织、癌性淋巴结组织或甲状腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为皮肤癌组织。

[0258] 在一些实施方案中，所述癌症为AIDS相关的癌症(例如，AIDS相关的淋巴瘤)、肛门癌、基底细胞癌、胆道癌(例如，肝外)、膀胱癌、骨癌(骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤)、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌(例如，子宫癌)、室管膜瘤、食管癌、眼癌(例如，眼内黑素瘤和视网膜母细胞瘤)、胃癌、生殖细胞瘤(例如，颅外、性腺外、卵巢)、头颈癌、白血病、唇和口腔癌、肝癌、肺癌(例如小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌)、卵巢癌、胰腺癌、垂体瘤、前列腺癌、肾癌、皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、睾丸癌、喉癌、甲状腺癌、尿道癌和移植后淋巴增生障碍(PTLD)。

[0259] 在一些实施方案中，所述癌症为淋巴癌(例如，淋巴瘤)。

[0260] 在一些实施方案中，所述癌症为B细胞癌。在一些实施方案中，所述癌症为前体B细胞癌(例如，前体B-淋巴母细胞性白血病/淋巴瘤)和外周B细胞癌(例如，B-细胞慢性淋巴细胞白血病/幼淋巴细胞白血病/小淋巴细胞性淋巴瘤(小淋巴细胞(SL)NHL)、淋巴浆细胞样淋巴瘤/免疫细胞瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡中心淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(例如，细胞学等级：I(小细胞)、II(混合的小细胞和大细胞)、Ⅲ(大细胞)和/或亚型：弥漫性和主要小细胞型)、低度/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL)、中度/滤泡性NHL、边缘区B细胞淋巴瘤(例如，结节外(例如，MALT型+/-单核细胞样B细胞)和/或结节(例如，+/-单核细胞样B细胞))、脾边缘区淋巴瘤(例如，+/-绒毛状淋巴细胞)、毛细胞白血病、浆细胞瘤/浆细胞骨髓瘤(如骨髓瘤和多发性骨髓瘤)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(例如，主纵隔(胸腺)B细胞淋巴瘤)、中度弥漫性NHL、伯基特淋巴瘤、高度B细胞淋巴瘤、伯基特样、高度免疫母细胞NHL、高度淋巴母细胞NHL、高度小无裂细胞NHL、大病变NHL、AIDS相关淋巴瘤和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症)。

[0261] 在一些实施方案中，所述癌症为T细胞和/或推定的NK细胞癌。在一些实施方案中，所述癌症为前体T细胞癌(前体T淋巴母细胞淋巴瘤/白血病)和外周T细胞和NK细胞癌(例如，T-细胞慢性淋巴细胞白血病/幼淋巴细胞白血病和大颗粒淋巴细胞白血病(LGL)(例如，T型细胞类型和/或NK细胞型)、皮肤T-细胞淋巴瘤(例如，蕈样真菌病/塞泽里综合征)、未指明的原发性T细胞淋巴瘤(例如，细胞学分类(例如，中等大小细胞、混合的中等和大细胞)、大细胞、淋巴上皮细胞、亚型肝脾γδT细胞淋巴瘤和皮下脂膜炎T-细胞淋巴瘤)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AILD)、血管中心性淋巴瘤、肠T-细胞淋巴瘤(例如，+/-肠病相关的)、成人T细胞淋巴瘤/白血病(ATL)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)(例如，CD30+、T细胞和裸细胞类型)、间变性大细胞淋巴瘤和霍奇金病等)。

[0262] 在一些实施方案中，所述癌症为霍奇金病。

[0263] 在一些实施方案中，所述癌症为白血病。在一些实施方案中，所述癌症为慢性髓细胞I(粒细胞)白血病、慢性髓性和慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性髓样白血病、急性淋巴细胞白血病和急性粒细胞白血病(例如，成髓细胞、前髓细胞、髓单核细胞、单核细胞和红白血病)。

[0264] 在一些实施方案中，所述癌症为液体瘤或浆细胞瘤。在一些实施方案中，所述癌症为髓外浆细胞瘤、单发性骨髓瘤和多发性骨髓瘤。在一些实施方案中，该浆细胞瘤为多发性骨髓瘤。

[0265] 在一些实施方案中，所述癌症为肺癌。

[0266] 在一些实施方案中，所述癌症为前列腺癌。在一些实施方案中，该前列腺癌为腺癌。在一些实施方案中，所述前列腺癌为肉瘤、神经内分泌肿瘤、小细胞癌、导管癌或淋巴瘤。在一些实施方案中，该前列腺癌为A期前列腺癌(在直肠检查期间无法感觉到癌症)。在一些实施方案中，该前列腺癌为B期前列腺癌(即，肿瘤累及前列腺内的更多的组织，其可以在直肠检查期间感觉到，或由于高PSA水平而在进行活组织检查时发现)。在一些实施方案中，该前列腺癌为C期前列腺癌(即，癌已经扩散到前列腺外的邻近组织)。在一些实施方案中，该前列腺癌为D期前列腺癌。在一些实施方案中，该前列腺癌为非雄激素依赖性前列腺癌(AIPC)。在一些实施方案中，该前列腺癌为雄激素依赖性前列腺癌。在一些实施方案中，该前列腺癌对于激素疗法是难治性的。在一些实施方案中，该前列腺癌对于激素疗法基本上是难治性的。在一些实施方案中，该前列腺癌对于化疗是难治性的。在一些实施方案中，该前列腺癌为转移性前列腺癌。在一些实施方案中，个体是具有与前列腺癌相关的基因、基因突变或多态性(例如，RNASEL/HPC1、ELAC2/HPC2、SR-A/MSR1、CHEK2、BRCA2、PON1、OGG1、MIC-1、TLR4和PTEN)或具有一个或多个与前列腺癌相关的基因的额外拷贝的人。在一些实施方案中，该前列腺癌为HER2阳性的。在一些实施方案中，该前列腺癌为HER2阴性的。

[0267] 在一些实施方案中，所述癌症已经转移并以循环肿瘤细胞为特征。

[0268] 成像应用

[0269] 选择性递送分子SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64和SDM-65允许显像剂向特定细胞和/或组织(例如癌性组织)的靶向递送。在一些实施方案中，选择性递送分子能够将一个或多个显像剂靶向递送至细胞或组织。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能对特定组织进行可视化/成像。

[0270] 在某些实施方案中，本文公开了将显像剂递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触选自下组的分子：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64和SDM-65。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。

[0271] 在某些实施方案中，本文公开了将显像剂递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触式I的分子：

[0272] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0273] 式I

[0274] 其中，

[0275] X为可被基质金属蛋白酶裂解的肽连接体；

[0276] A为具有包含5或9个连续谷氨酸的序列的肽；

[0277] B为具有包含8或9个连续精氨酸的序列的肽；

[0278] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0279] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0280] D_A和D_B各自独立地为显像剂；且

[0281] 其中[c_M-M]结合至A或X上的任意位置，[DA-cA]结合至A或X上的任意氨基酸，且[c_B-D_B]结合至B上的任意氨基酸。

[0282] 在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为吲哚碳花青染料。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。

[0283] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触式I的分子：

[0284] [c_M-M]-[[D_A-c_A]-(A-X-B)-[c_B-D_B]]

[0285] 式I

[0286] 其中，

[0287] X为可裂解的连接体；

[0288] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0289] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0290] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0291] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0292] D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移；且

[0293] 其中[c_M-M]结合至A或X上的任意位置，[DA-cA]结合至A或X上的任意氨基酸，且[c_B-D_B]结合至B上的任意氨基酸。

[0294] 在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中，B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，

A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中，式I的分子为：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。在一些实施方案中，式I的分子为SDM-42。

[0295] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-41。

[0296] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-42。

[0297] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-43。

[0298] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-44。

[0299] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-45。

[0300] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的

一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-46。

[0301] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-47。

[0302] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-48。

[0303] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-49。

[0304] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-50。

[0305] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-51。

[0306] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-52。

[0307] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-53。

[0308] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-54。

[0309] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-55。

[0310] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-56。

[0311] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-57。

[0312] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-58。

[0313] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-59。

[0314] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-60。

[0315] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-61。

[0316] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-62。

[0317] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-63。

[0318] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对供体和接受体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-64。

[0319] 在某些实施方案中，本文公开了将能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移的一对接受体和供体荧光部分递送至目的组织的方法，其包括使目的组织接触SDM-65。

[0320] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，其包括：(a)向该个体施用选自SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65的分子；和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0321] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，其包括：

[0322] (a)向该个体施用能定位至该个体内目的组织的式I的分子，

[0323] $[c_M\text{-}M]\text{-}[[D_A\text{-}c_A]\text{-}(A\text{-}X\text{-}B)\text{-}[c_B\text{-}D_B]]$

[0324] 式I

[0325] 其中，

[0326] X为可裂解的连接体；

[0327] A为具有包含5-9个酸性氨基酸的序列的肽；

[0328] B为具有包含7-9个碱性氨基酸的序列的肽；

[0329] c_A、c_B和c_M独立地为0-1个氨基酸；

[0330] M为聚乙二醇(PEG)聚合物；且

[0331] D_A和D_B各自独立地为显像剂；且

[0332] 其中$[c_M\text{-}M]$结合在A、X和B之上或之间的任意位置，$[D_A\text{-}c_A]$结合至A或X上的任意氨基酸，且$[c_B\text{-}D_B]$结合至B上的任意氨基酸；且

[0333] (b)使至少一种显像剂可视化。

[0334] 在一些实施方案中，所述组织是癌性的。在一些实施方案中，该癌性组织为：乳腺癌组织、结直肠癌组织、鳞状细胞癌组织、皮肤癌组织、前列腺癌组织、黑素瘤组织、甲状腺癌组织、卵巢癌组织或癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为乳腺癌组织。在一些实施方案中，该癌性细胞或组织为结直肠癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为癌性淋巴结组织。在一些实施方案中，该癌性组织为鳞状细胞癌组织。在一些实施方案中，该癌性组织为皮肤癌组织。在一些实施方案中，该方法进一步包括将目的组织从个体中手术移除。在一些实施方案中，围绕目的组织的手术切缘减少。在一些实施方案中，该方法进一步包括由移除的目的细胞或组织制备组织样品。在一些实施方案中，该方法进一步包括对癌性组织进行分期。在一些实施方案中，A和B不具有相等数目的酸性和碱性氨基酸。在一些实施方案中，B中碱性氨基酸的数目大于A中酸性氨基酸的数目。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽。在一些实施方案中，B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5或9个连续谷氨酸的肽且B为包含8或9个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，A为包含5个连续谷氨酸的肽且B为包含8个连续精氨酸的肽。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地为0-1个氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨

基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，X能被蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X能被基质金属蛋白酶裂解。在一些实施方案中，X包含能被MMP2、MMP7、MMP9或MMP14裂解的氨基酸序列。在一些实施方案中，X包含肽键。在一些实施方案中，X包含选自以下的氨基酸序列：PLGLAG、PLG-C(me)-AG、RPLALWRS、ESPAYYTA、DPRSFL、PPRSFL、RLQLKL和RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLGLAG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PLG-C(me)-AG。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RPLALWRS。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列DPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列PPRSFL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLKL。在一些实施方案中，X包含氨基酸序列RLQLK(Ac)。在一些实施方案中，D_A和D_B是一对接受体和供体荧光部分，它们能够彼此经历Försters/荧光共振能量转移。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和Cy7。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye750。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和IRDye800。在一些实施方案中，D_A和D_B为Cy5和ICG。在一些实施方案中，该方法进一步包括对D_A和D_B之间的Försters/荧光共振能量转移进行可视化。在一些实施方案中，D_A和D_B为荧光部分和荧光猝灭部分。在一些实施方案中，式I的分子为：SDM-41、SDM-42、SDM-43、SDM-44、SDM-45、SDM-46、SDM-47、SDM-48、SDM-49、SDM-50、SDM-51、SDM-52、SDM-53、SDM-54、SDM-55、SDM-56、SDM-57、SDM-58、SDM-59、SDM-60、SDM-61、SDM-62、SDM-63、SDM-64或SDM-65。在一些实施方案中，所述分子为SDM-41。在一些实施方案中，式I的分子为SDM-42。

[0335] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-41，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0336] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-42，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0337] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-43，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0338] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-44，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0339] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-45，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0340] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-46，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0341] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-47，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0342] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-48，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0343] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-49，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0344] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-50，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0345] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-51，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0346] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-52，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0347] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-53，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0348] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-54，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0349] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-55，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0350] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-56，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0351] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-57，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0352] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-58，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0353] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-59，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0354] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-60，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0355] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-61，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0356] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-62，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0357] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-63，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0358] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-64，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0359] 在某些实施方案中，本文公开了对有需要的个体内的目的组织进行可视化的方法，包括(a)向个体施用SDM-65，和(b)使至少一种显像剂可视化。

[0360] 在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能对特定组织(例如，癌性组织)进行可视化/成像。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能去除(或手术切除)目的组织(例如，癌性组织)。在一些实施方案

中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能去除(或手术切除)目的组织(例如，癌性组织)而手术切缘减小。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能去除(或手术切除)肿瘤/癌性组织并减少一些肿瘤/癌性组织不能被去除的机会。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能最大化地压实(debulk)肿瘤/癌性组织。在一些实施方案中，显像剂向癌性乳腺组织的靶向递送减少了不必要的手术和再次手术的机会。

[0361] 在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能够对目的组织(例如，癌性组织)进行更精确地采样(例如，活检(例如，切除活检、切开活检、针吸活检或穿刺活检))。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能在含有健康组织的切除组织中对特定组织(例如，癌性组织)进行可视化/成像。能够鉴定靶组织(例如，癌性组织)可以引导病理学家对切片进行病理学评价并减少病理学家错过不健康组织(例如，癌性组织)和对可能产生假阴性结果的健康组织进行采样的机会。在一些实施方案中，在使用式I化合物之后移除的组织(例如，癌性组织)用于制备病理切片或玻片。在一些实施方案中，在使用式I化合物之后移除的癌性组织用于制备病理切片或玻片，该病理切片或玻片用来诊断该组织是恶性的还是良性的。

[0362] 在一些实施方案中，显像剂向癌性乳腺组织的靶向递送使得医学专业人士能对癌症精确地分期，从而能够作出医疗决定。在一些实施方案中，显像剂向癌性组织的靶向递送使得医学专业人士能观察肿瘤(癌性组织)的大小或癌性组织的扩散(例如，转移病灶)。在一些实施方案中，显像剂向细胞或组织的靶向递送使得医学专业人士能设计有效的治疗方案。

[0363] 在一些实施方案中，包含显像剂的根据式I的选择性递送分子在引导手术中使用。在一些实施方案中，选择性递送分子优先定位至癌性组织或其它具有上调的蛋白酶活性的病理组织(例如，正在经历炎症应答的组织)。在一些实施方案中，包含显像剂的根据式I的选择性递送分子在引导手术中使用以去除结直肠癌。在一些实施方案中，应用选择性递送分子的引导手术允许外科医生切除尽可能少的健康(即非癌性)组织。在一些实施方案中，应用选择性递送分子的引导手术使外科医生可视化并切除的癌性组织比在不存在选择性递送分子的情况下外科医生所能够切除的癌性组织更多。在一些实施方案中，该手术是荧光引导的手术。

[0364] 显像剂

[0365] 在一些实施方案中，显像剂是染料。在一些实施方案中，显像剂是荧光部分。在一些实施方案中，该荧光部分选自：荧光蛋白、荧光肽、荧光染料、荧光材料或其组合。

[0366] 所有的荧光部分都涵盖在术语“荧光部分”中。本文给出的荧光基团的具体实例是说明性的，并非意在限定在此公开的靶向分子所使用的荧光部分。

[0367] 荧光染料的实例包括但不限于呫吨类(例如，罗丹明、对甲氨基酚和荧光素，以及它们的衍生物)；二甲基吡唑并[1,2-a]吡唑-1,7-二酮类(bimanes)；香豆素类和它们的衍生物(例如，伞形酮和氨基甲基香豆素)；芳族胺(例如，丹酰；方酸染料)；苯并呋喃；荧光花青；吲哚羰花青；咔唑类；二氰基亚甲基吡喃；聚甲炔；氧杂苯并蒽；呫吨；吡喃鎓；喹诺酮(carbostyl)；芘；吖啶酮；喹吖啶酮；红荧烯；蒽；蔻；酚蒽；芘；丁二烯；芪；卟啉；酞菁；镧系金属螯合物；稀土金属螯合物；以及这些染料的衍生物。

[0368] 荧光素染料的实例包括但不限于5-羧基荧光素、荧光素-5-异硫氰酸酯、荧光素-6-异硫氰酸酯和6-羧基荧光素。

[0369] 罗丹明染料的实例包括但不限于四甲基罗丹明-6-异硫氰酸酯、5-羧基四甲基罗丹明、5-羧基对甲氨基酚衍生物、四甲基罗丹明和四乙基罗丹明、二苯基二甲基罗丹明和二苯基二乙基罗丹明、二萘基罗丹明、罗丹明101磺酰氯(以商品名TEXAS RED® 出售)。

[0370] 花菁染料的实例包括但不限于Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、IRDYE680、Alexa Fluor 750、IRDye800CW、ICG。

[0371] 荧光肽的实例包括GFP(绿色荧光蛋白)或GFP的衍生物(例如,EBFP、EBFP2、Azurite、mKalama1、ECFP、Cerulean、CyPet、YFP、Citrine、Venus、YPet)。

[0372] 通过任何合适的方法来检测荧光标记。例如,可通过用合适的光波长激发荧光染料并检测得到的荧光(例如,通过显微镜检查、目视观察、通过胶片、通过使用电子检测器例如电荷耦合器件(CCD)、光电倍增管等)来检测荧光标记。

[0373] 在一些实施方案中,显像剂用发射正电子的同位素(例如,^{18}F)进行标记以用于正电子发射断层摄影术(PET),用γ射线同位素(例如,^{99m}Tc)进行标记以用于单光子发射计算机断层摄影术(SPECT),或用顺磁分子或纳米颗粒(例如,Gd^{3+}螯合物或包被的磁性纳米颗粒)进行标记以用于磁共振成像(MRI)。

[0374] 在一些实施方案中,显像剂用以下试剂进行标记:钆螯合物、氧化铁粒子、超顺磁性氧化铁粒子、超小型顺磁性粒子、锰螯合物或含镓剂。

[0375] 钆螯合物的实例包括但不限于二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)和1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N′,N″-三乙酸(NOTA)。

[0376] 在一些实施方案中,显像剂为用于近红外(近IR)成像的近红外荧光团,用于生物发光成像的萤光素酶(萤火虫、细菌或腔肠动物的)或其它发光分子,或用于超声的全氟化碳填充囊泡。

[0377] 在一些实施方案中,显像剂为核探针。在一些实施方案中,显像剂为SPECT或PET放射性核素探针。在一些实施方案中,该放射性核素探针选自:锝螯合物、铜螯合物、放射性氟、放射性碘、铟螯合物。

[0378] Tc螯合物的实例包括但不限于HYNIC、DTPA和DOTA。

[0379] 在一些实施方案中,显像剂含有放射性部分,例如放射性同位素,如211At、^{131}I、^{125}I、^{90}Y、^{186}Re、^{188}Re、^{153}Sm、^{212}Bi、^{32}P、^{64}Cu、Lu的放射性同位素,以及其它。

[0380] 起始材料

[0381] 在某些实施方案中,本文公开了式II的分子,其具有以下结构:

[0382] A_1-X_1-B_1;

[0383] 式II

[0384] 其中,

[0385] X_1为可裂解的连接体;

[0386] A_1为具有包含5-9个酸性氨基酸且具有第一反应性氨基酸部分c_A的序列的肽;

[0387] B_1为具有包含7-9个碱性氨基酸且具有第二反应性氨基酸部分c_B的序列的肽;且

[0388] A_1-X_1-B_1在A_1或X_1上具有第三反应性氨基酸部分c_M;且

[0389] 其中c_A能够与包含D_A的第一负荷物部分反应,c_B能够与包含D_B的第二负荷物部分

反应，且c_M能够与包含M的大分子载体反应以形成式I的分子。

[0390] 在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M具有正交反应性的官能团。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D氨基酸、L氨基酸、α-氨基酸、β-氨基酸或γ-氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自具有游离巯基的任意氨基酸，具有N末端胺基的任意氨基酸，以及具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A、c_B和c_M各自独立地选自D-半胱氨酸、D-谷氨酸、赖氨酸和对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。在一些实施方案中，c_B为具有游离巯基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_B为D-半胱氨酸。在一些实施方案中，c_A为具有N末端胺基的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_A为D-谷氨酸。在一些实施方案中，c_A为赖氨酸。在一些实施方案中，c_M为具有能够在与羟胺或肼基反应时形成肟或腙键的侧链的任意氨基酸。在一些实施方案中，c_M为对-4-乙酰基L-苯丙氨酸。

[0391] 如在此使用的，“正交反应性的”是指多个基团可以通过不交叉反应的一系列反应连接到分子上，从而能够在其它基团的存在下特异性连接各基团。在一些实施方案中，三个基团(D_A、D_B和D_M)能够使用3个不交叉反应的一系列独立反应通过c_A、c_B和c_M连接至A_1-X_1-B_1，以使得每个基团只连接到A_1-X_1-B_1上的一个位点。

[0392] 在某些实施方案中，本文公开了具有以下氨基酸序列的分子：

[0393] (D-Glu)$_5$-F(4-Ac)-o-Pro-Leu-Gly-Cys($_{Me}$)-Ala-Gly-(D-Arg)$_8$-(D-Cys)

[0394] 其中o代表5-(氨基-3-氧杂戊酰基)；F$_{(4-Ac)}$代表对-乙酰基-(L)-苯丙氨酸；且C($_{Me}$)代表S-甲基-(L)-半胱氨酸。

[0395] 在一些实施方案中，该分子进一步包含聚乙二醇(PEG)聚合物。在一些实施方案中，该PEG聚合物在F(4-Ac)亚基处共价连接至该分子。在一些实施方案中，该分子包含可正交反应的基团。在一些实施方案中，可正交反应的基团选自：胺、巯基和乙酰基苯丙氨酸。在一些实施方案中，该分子包含胺、巯基和乙酰基苯丙氨酸。

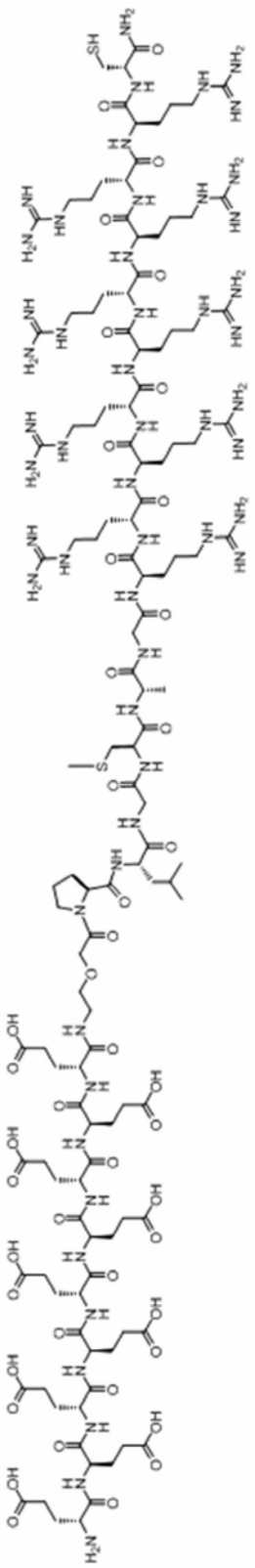
[0396] 在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约0.5kDa的平均分子量。在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约2kDa的平均分子量。在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约5kDa的平均分子量。在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约10kDa的平均分子量。在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约20kDa的平均分子量。在一些实施方案中，该PEG聚合物具有大约40kDa的平均分子量。在某些实施方案中，本文公开了该分子在合成根据式I的分子中的用途。

[0397] 在某些实施方案中，本文公开了具有以下氨基酸序列的分子：

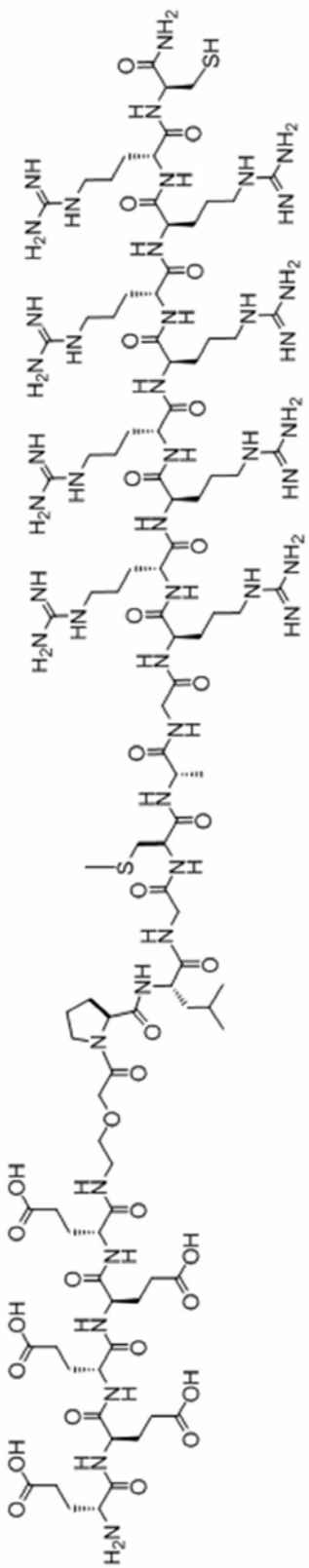
[0398] (D-Glu)$_5$-o-Pro-Leu-Glys-Cys($_{me}$)-Ala-Gly-(D-Arg)$_8$-(D-Cys)-[PEG$_{(2k)}$]其中所有的谷氨酸和精氨酸都是D-氨基酸；o代表5-(氨基-3-氧杂戊酰基)；Cys(me)代表S-甲基-(L)-半胱氨酸；且PEG$_{(2k)}$代表平均分子量大约为2kDa的α-氨基-ω-酰胺聚(乙二醇)。在一些实施方案中，该分子进一步包含荧光部分。在某些实施方案中，本文公开了该分子在合成根据式I的分子中的用途。

[0399]

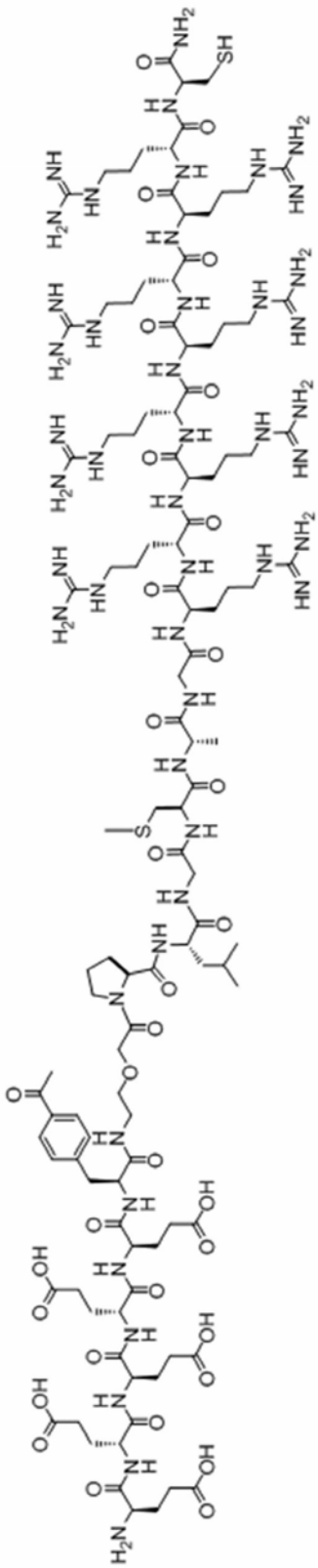
肽 P-1



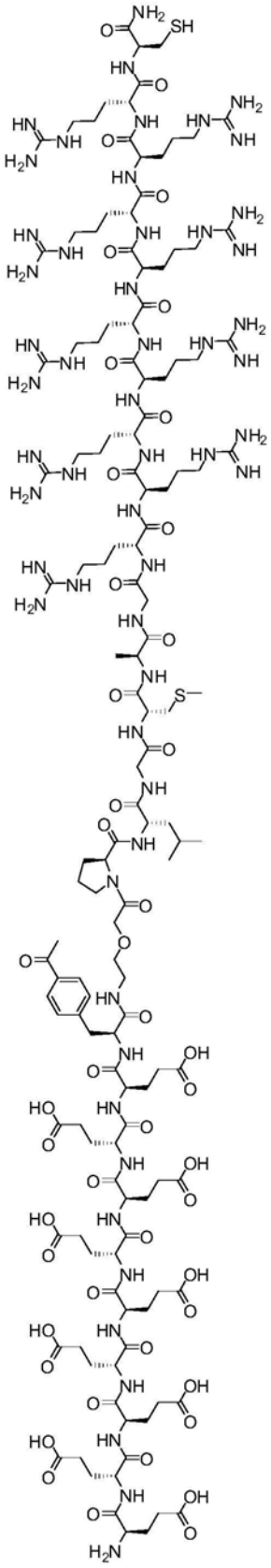
肽 P-2



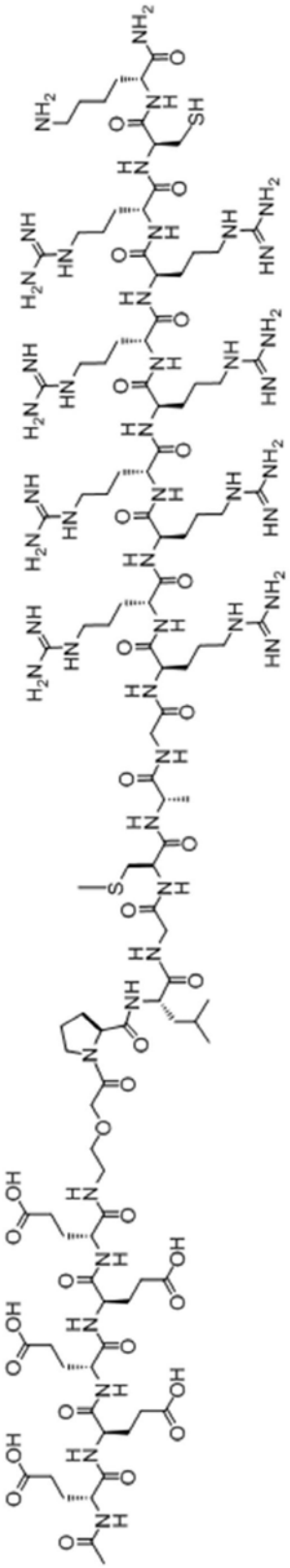
肽 P-3



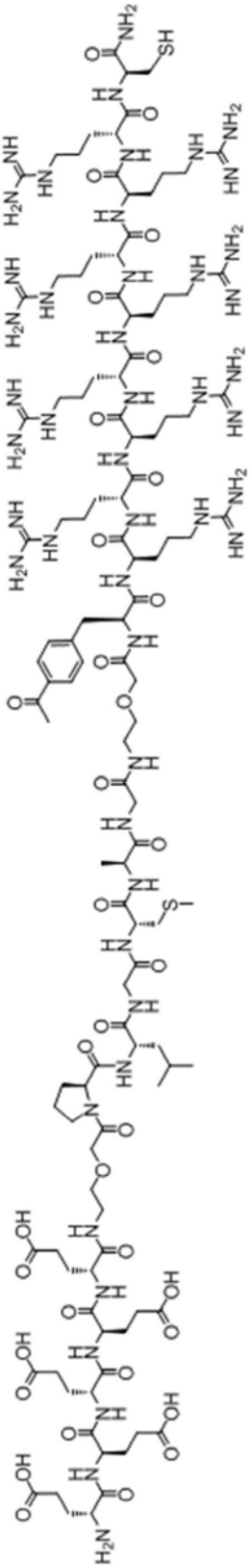
肽 P-4



肽 P-5



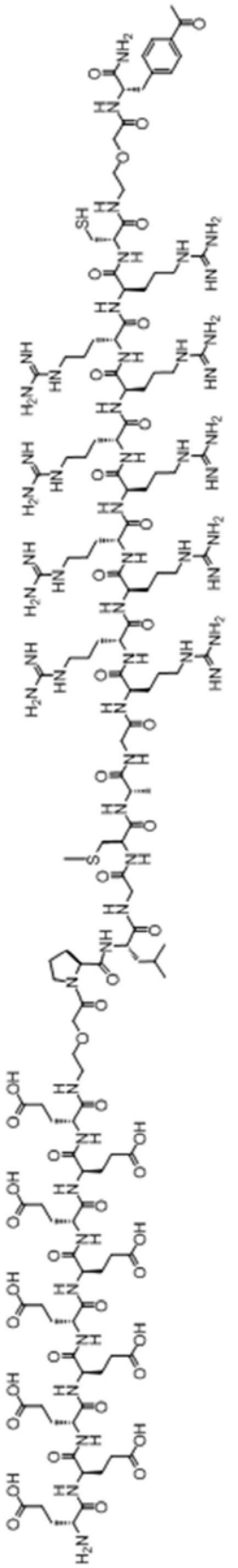
肽 P-6



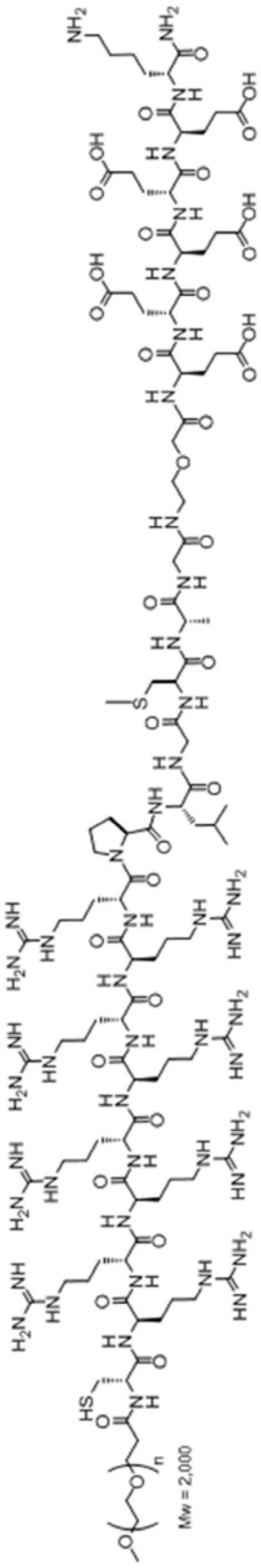
[0400]

[0401]

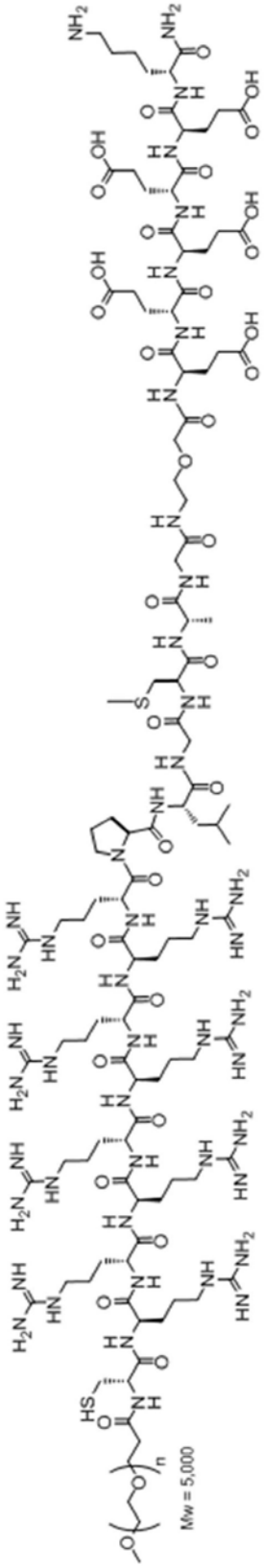
肽 P-7



肽 P-8

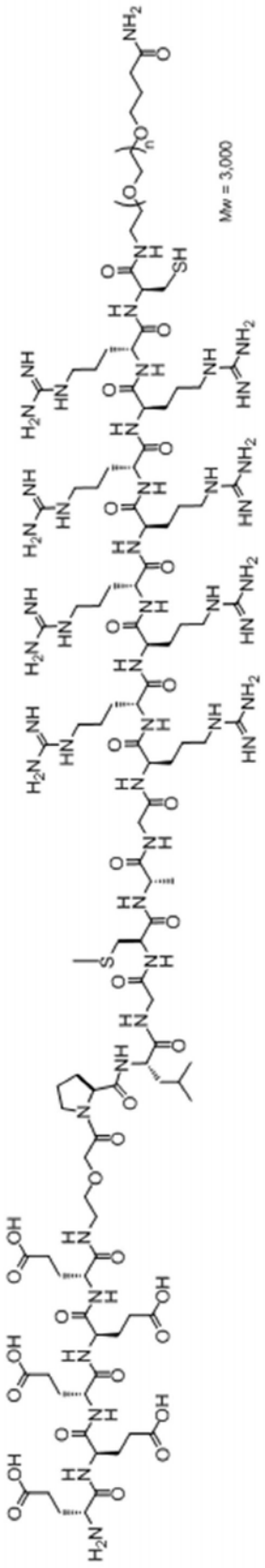


肽 P-9

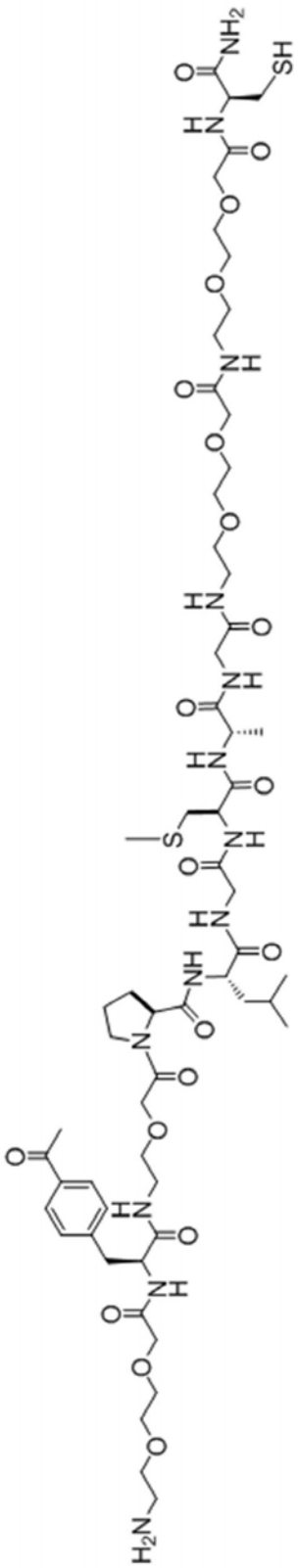


[0402]

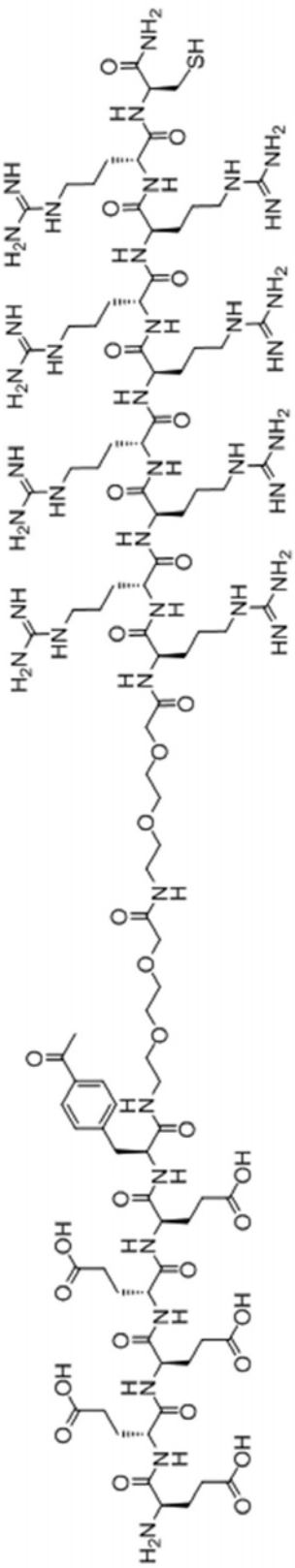
肽 P-10



肽 P-11

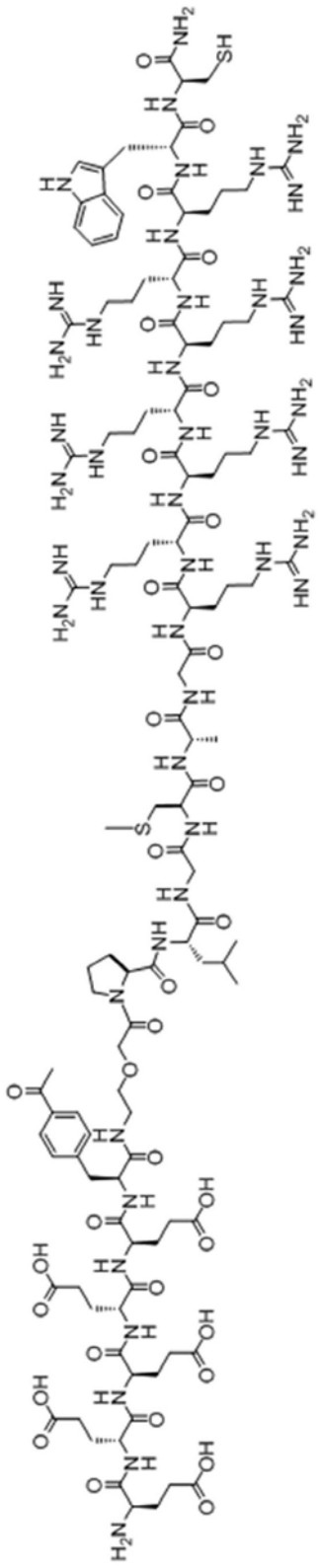


肽 P-12

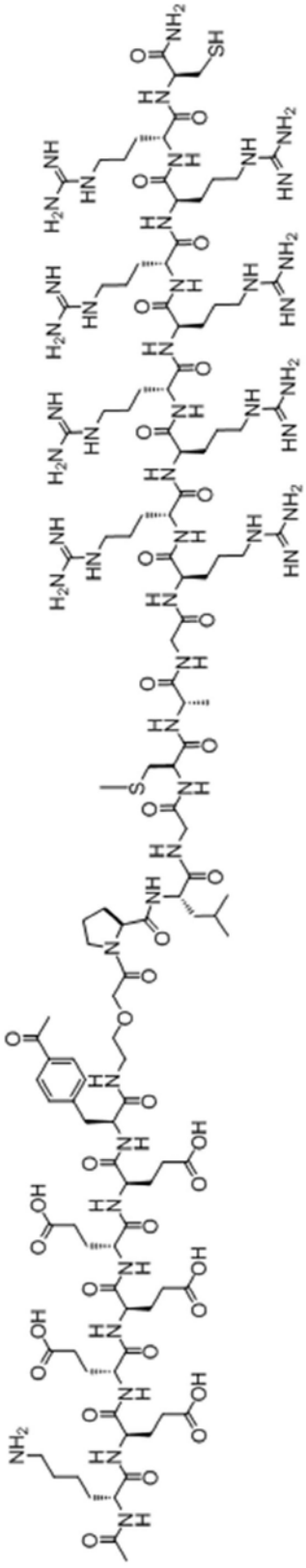


[0403]

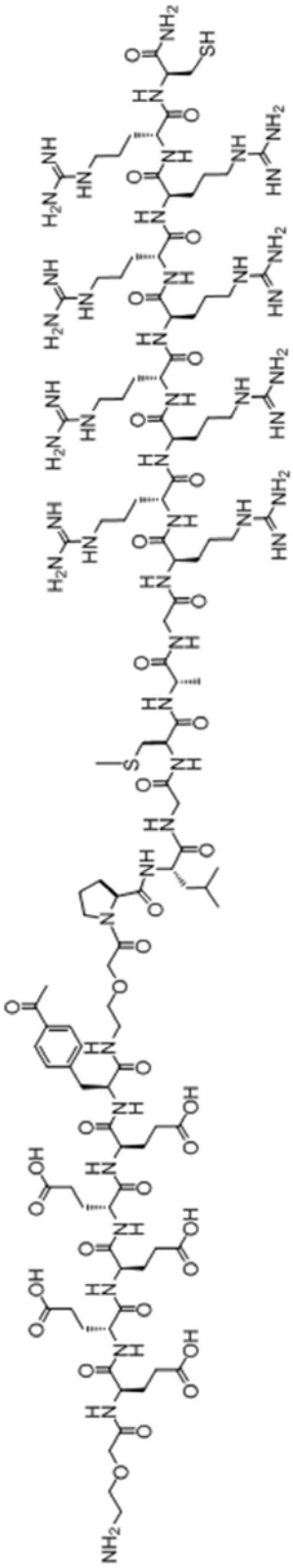
肽 P-13



肽 P-14



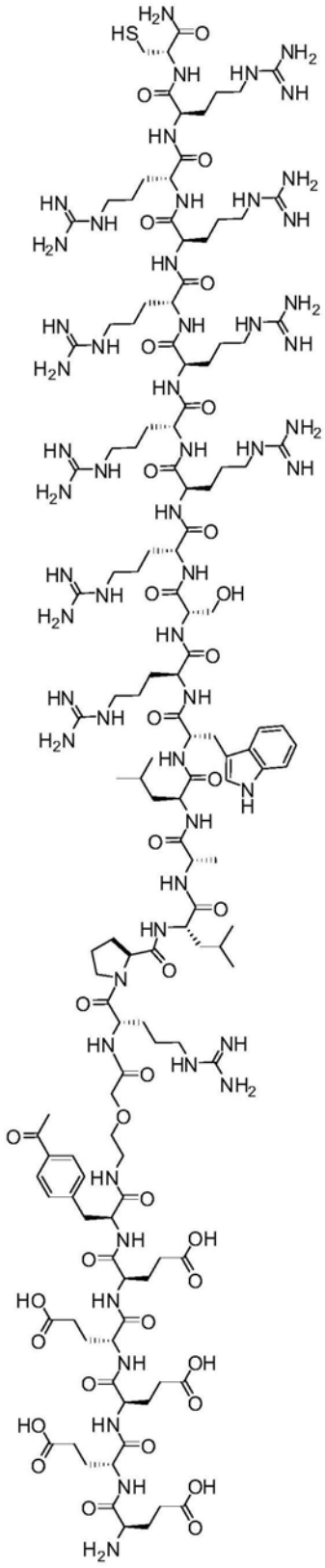
肽 P-15

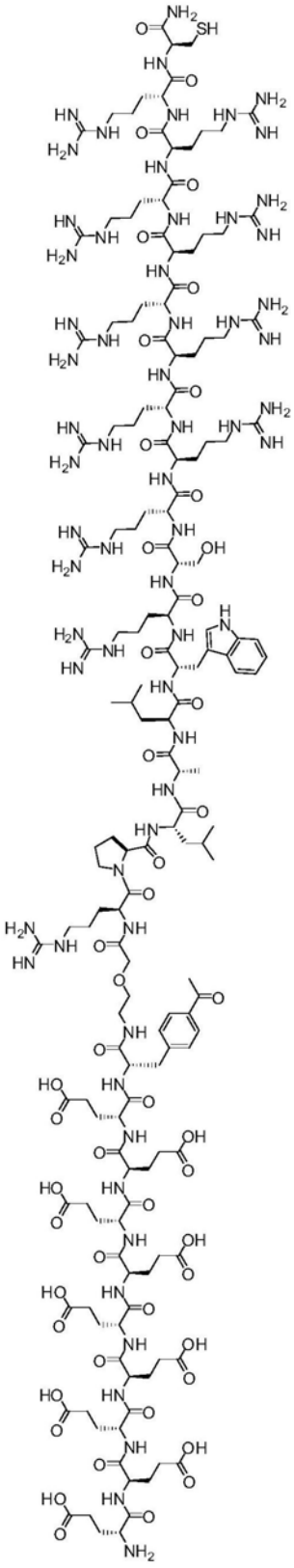


肽 P-16

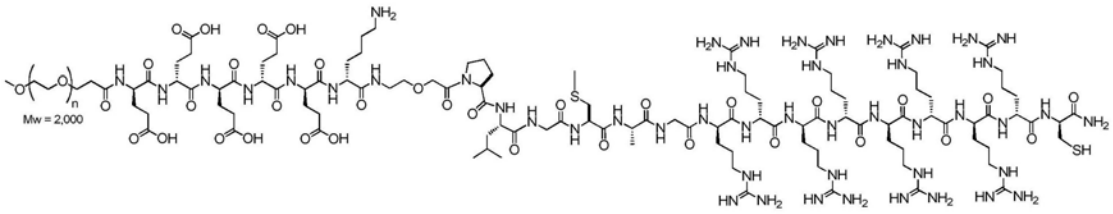
肽 P-17

[0404]





[0405] 肽 P-18



[0406] 实施例

[0407] 材料与方法

[0408] HPLC-级乙腈、甘氨酸、乙酰苯和苯胺购自Thermo Fisher Scientific(Waltham,MA)。纯化水通过Milli-Q水纯化系统(Millipore,Bedford,MA)收集。3-马来酰亚胺基丙酸-Pfp酯购自Molecular Biosciences(Boulder,CO)。PBS-EDTA缓冲液购自Teknova(Hollister,CA)。PBS缓冲液(pH 8.5,0.5M)购自Boston Bioproducts(Ashland,MA)。三氟乙酸(TFA)购自Alfa Aesar(Ward Hill,MA)。二甲基甲酰胺(DMF)和N-甲基吗啉(NMM)由Sigma-Aldrich公司(Milwaukee,WI)提供。α-巯基乙基-ω-甲氧基聚氧乙烯(Mw～2000、～5000、～20000和～40000)[mPEG(2K)-SH、mPEG(5K)-SH、mPEG(20K)-SH、mPEG(40K)-SH]和α-氨氧基-ω-甲氧基聚氧乙烯(Mw～2,000、～5,000、～10,000、～20,000和～40,000)[mPEG(2K)-ONH_2、mPEG(5K)-ONH_2、mPEG(10K)-ONH_2、mPEG(20K)-ONH_2、mPEG(40K)-ONH_2]购自NOF America Corporation(Irvine,CA)。mPEG(1K)-$NHNH_2$(Mw～1,000)购自Nanocs(New York)。IRDye 800CW马来酰亚胺(MAL-IRDye)和IRDye 750琥珀酰亚胺酯由LI-COR Biosciences(Lincoln,NE)提供。冻干的肽P-1至P-18由PolyPeptide Group(San Diego,CA)供应。

[0409] LC-MS分析在与AB SCIEX API 3200配合的Agilent 1200SL系列上进行,其配备有在4℃运行的CTC PAL自动进样器、真空脱气器、二元泵、UV-VIS检测器、相关的Analyst 1.5分析软件和Phenomenex柱(Kinetex2.6μC18 100A,100×2.1mm),或配备有Waters 2487双λ吸光度检测器的Waters 2695分离模块配合Finnigan LCQ Deca XP质谱仪。该装置与Xcalibur分析软件和Peeke Scientific柱(Titan 200 5μm,C18-MC,50/100×2.1mm)相关联。

[0410] 制备型HPLC在Agilent系统(Agilent 1200系列)和Thermo Scientific柱(Hypersil Gold C18,5μ,250×10mm)上,或在Waters Delta Prep制备型HPLC系统和Varian柱(F75L,C18,15μ,1200g)上,或在配备有Waters2487双λ吸光度检测器、级分收集器III、Masslynx软件和Thermo Scientific柱(Hypersil Gold C18,5μ,250×10mm)或Phenomenex柱(luna,C18(2),5μ,100A AX 150×30mm)的Waters PrepLC系统上进行。流动相由水(0.05%TFA)(溶剂A)/乙腈(0.05%TFA)(溶剂B)梯度组成。

[0411] 在4℃下用Eppendorf 5810R离心机或Beckman Microfuge® 18进行离心。

[0412] 用于合成在此公开的选择性递送分子的示例性材料包括但不限于肽P-1、P-2、P-3、P-4、P-5、P-6、P-7、P-8、P-9、P-10、P-11、P12、P-13、P-14、P-15、P-16、P-17和P-18中的任何肽。

[0413] 上述起始材料概述如下:

[0414]

	肽序列
肽 **P-1**	eeeeeeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrrc
肽 **P-2**	eeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc
肽 **P-3**	eeeeeF$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc
肽 **P-4**	eeeeeeeeeF$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrrc
肽 **P-5**	(Ac)eeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrck
肽 **P-6**	eeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGoF$_{(4-Ac)}$rrrrrrrrc
肽 **P-7**	eeeeeeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrrcoF$_{(4-Ac)}$
肽 **P-8**	[mPEG$_{(2K)}$]crrrrrrrrPLGC$_{(Me)}$AGoeeeeek
肽 **P-9**	[mPEG$_{(5K)}$]crrrrrrrrPLGC$_{(Me)}$AGoeeeeek
肽 **P-10**	eeeeeoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc[PEG$_{(3K)}$]
肽 **P-11**	(Aeo)F$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AG(Aeo)(Aeo)c
肽 **P-12**	eeeee F$_{(4-Ac)}$(Aeo)(Aeo)rrrrrrrrc
肽 **P-13**	eeeeeF$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrwc
肽 **P-14**	(Ac)keeeeeF$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc
肽 **P-15**	oeeeeeF$_{(4-Ac)}$oPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc
肽 **P-16**	eeeeeF$_{(4-Ac)}$oRPLALWRSrrrrrrrrc
肽 **P-17**	eeeeeeeeeF$_{(4-Ac)}$oRPLALWRSrrrrrrrrrc
肽 **P-18**	[mPEG$_{(2K)}$]eeeeekoPLGC$_{(Me)}$AGrrrrrrrrc

[0415]

缩写：

在所有序列中都使用标准单字母氨基酸缩写。小写字母表示 D-氨基酸。所有肽都在 C 末端酰胺化。

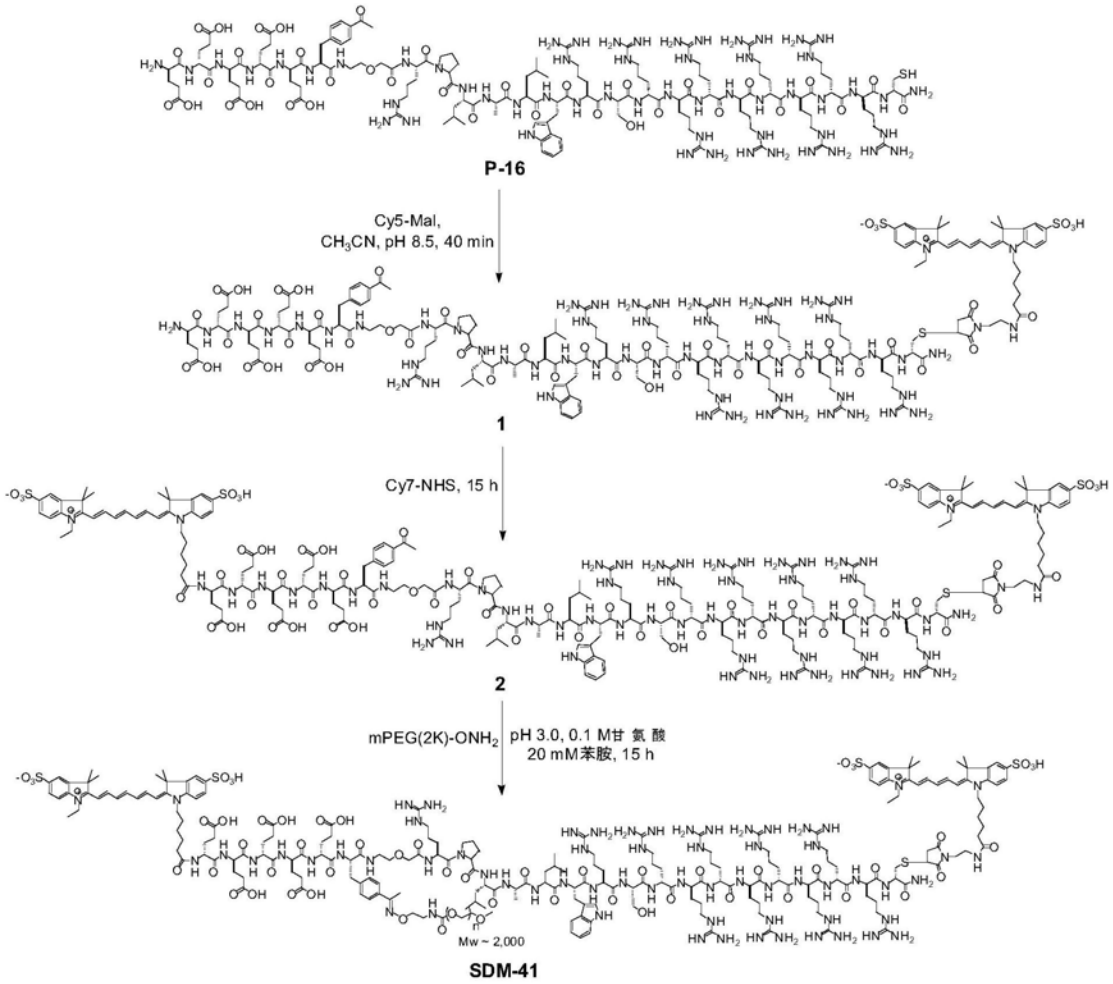
o：5-(氨基-3-氧杂戊酰基)；F$_{(4-Ac)}$：对-乙酰基-(L)-苯丙氨酸；C$_{(Me)}$：S-甲基-(L)-半胱氨酸。

PEG(3k)：平均分子量为三千道尔顿的α-氨基-ω-酰胺聚(乙二醇)；mPEG(2k)：平均分子量为两千道尔顿的α-羧基-ω-甲氧基聚(乙二醇)；mPEG(5k)：平均分子量为五千道尔顿的α-羧基-ω-甲氧基聚(乙二醇)。

Ac：乙酰基。

(Aeo)：2-(2-2(氨基乙氧基)乙氧基)乙酰基

[0416] 实施例1：由肽P-16合成SDM-41

[0417] 

[0418] 中间体2的合成

[0419] 在搅拌下向处于室温和暗处的肽P-16(10mg,2.0μmol)在乙腈(0.5mL)和PBS缓冲液(0.5mL,pH 8.5,0.5M)中的溶液中加入Cy5马来酰亚胺(2.3mg,2.7μmol)。反应后接着进行LC-MS并在40min内完成。向反应混合物中加入Cy7-NHS,接着加入PBS缓冲液(1.0mL,pH 8.5,0.5M)。在搅拌15h小时后,通过HPLC纯化该混合物以得到中间体2(3.8mg,32%)。计算值:$[M+3H]^{3+}$($C_{211}H_{319}N_{62}O_{53}S_5$)m/z=1577;实测ESI:$[M+3H]^{3+}$($C_{211}H_{319}N_{62}O_{53}S_5$)m/z=1577。

[0420] 选择性递送分子SDM-41的合成

[0421] 将中间体2(3.8mg,0.65μmol)和mPEG(2K)-ONH_2(2.5mg,1.1μmol)在甘氨酸缓冲液(1.0mL,0.1M,20mM苯胺,pH 3.0)和乙腈(0.5mL)中的混合物在室温下于暗处搅拌15h。反应完成后加入苯乙酮(7μL,60μmol)。混合物在室温下搅拌2h。通过RP-HPLC纯化得到选择性递送分子SDM-41(2.1mg,40%)。

[0422] 实施例2a:酶依赖性荧光增强和颜色变化

[0423] 选择性递送分子41在室温下溶解在TCNB缓冲液(pH 7.5)中。SDM-41的浓度为0.156至5μM。在Molecular Devices Spectromax M2分光光度计上测量荧光强度。样品在620nm处激发,并在670nm处(Cy5)测量发射。

[0424] 添加终浓度为1nM的MMP-7引发肽裂解。裂解速率测量为每分钟Cy5的相对荧光强度的变化,随后用标准曲线将其转换为Cy5-肽的浓度,以便计算MMP-7裂解SDM-41的k_{cat}和K_m。数据显示,SDM-41是MMP-7的底物,并且在酶裂解时产生发荧光的FRET信号。

[0425] 实施例2b:酶依赖性荧光增强和颜色变化

[0426] 在室温下将选择性递送分子42以1μM溶于TCNB缓冲液(pH 7.5)。在F-2500荧光光谱仪上记录荧光谱。在625nm处激发Cy5荧光供体的激发,并在669nm处测量发射。

[0427] 添加终浓度为1nM的MMP-2引发肽裂解。裂解反应在2小时内完成。

[0428] 实施例3:来自肿瘤匀浆物的荧光响应

[0429] HT1080细胞(目录号CCL-121;美国模式培养物保藏中心,VA,USA)在37℃、含5%CO_2的空气的潮湿气氛中,在指数生长条件下生长,直至达到80-100%汇合度,之后收获用于小鼠移植。每只裸鼠用手限制并用25-G针向乳房脂肪垫内注射2×10^6个HT-1080细胞。当HT-1080肿瘤达到100-200mm^3大小时将其收获(一般在肿瘤细胞移植后1-2周)。

[0430] 使用超声破碎将HT-1080肿瘤匀浆化。在37℃下将1nM MMP-7或10μL肿瘤组织匀浆物(TH2和TH3)与1μM SDM-42在100μL缓冲液中混合24h。将样品上样至聚丙烯酰胺凝胶上并使用电泳来分离。在与HT-1080肿瘤匀浆物一起温育后,SDM-42被裂解并变为高度荧光性的。

[0431] 实施例4:肿瘤对比度的体内成像分析

[0432] HT-1080异种移植模型如实施例3所述生成,并用于评价分子提供与周围组织相比的体内肿瘤荧光对比度的能力。在HT-1080荷瘤小鼠内,一旦肿瘤达到100-200mm^3大小(一般在肿瘤细胞移植后1-2周)即检测荧光偶联物。将有意识的HT-1080荷瘤小鼠用旋转尾注射器(目录号RTI;Braintree Scientific,MA,USA)限制,并以0.1-5纳摩尔/小鼠的量静脉内(尾静脉)给予在100uL盐水溶液中的SDM-43、SDM-44、SDM-45或SDM-46。在成像准备中,对小鼠腹膜内给予氯胺酮/甲苯噻嗪混合物(目录号K-113;Sigma,Aldrich,MO,USA)(1μL/克体重),将其轻微麻醉,以使其运动最小化。

[0433] 使用全动物荧光可视化成像系统或Olympus立体荧光显微镜进行连续全身(包括肿瘤)成像。使小鼠取平躺位,从上方进行成像以对动物腹侧进行成像。基于所用荧光染料选择激发和发射波长。使用下述方程计算对比度:

[0434] 对比度=(肿瘤荧光强度-对侧胸组织荧光强度)/对侧胸组织强度)。

[0435] 整个动物中高于0.4的对比度在全动物图像中容易用肉眼检测到,并且是良好的对比度。对比度>0.7是高对比度。

[0436] 在注射后1-24小时对小鼠进行数次成像。

[0437] 实施例5:体内分布和具有改善的组织积累的化合物

[0438] 为了测定各器官中的总染料积累,在通过尾静脉经静脉内施用化合物6小时后处死HT-1080异种转移小鼠,并从血液、肝脏、肾脏和肿瘤收集组织样品。每个数据点使用3-4只小鼠。将血样在4℃下保存过夜,然后以15,000rpm离心从而分离出血清。将器官在ProK缓冲液(0.25mg/ml Prok,0.1mg/ml DNA酶,150mM NaCl,10mM Tris pH8.0,0.2%SDS)中以10μL/mg组织来混合,并用剪刀剪成小块。然后以67%的占空比超声处理组织/消化溶液1分钟,并在37℃下消化过夜。消化后,以15,000rpm离心样品,抽出组织匀浆物并在4℃保存。

[0439] 通过向来自不注射化合物的对照动物的血清和组织匀浆物(以不同的稀释度)掺加已知浓度的所施用的化合物来生成荧光标准曲线,由该荧光标准曲线确定荧光化合物的组织浓度。对每个组织确定每种化合物的线性范围。在荧光读板仪或荧光光谱仪上进行荧光测量。

[0440] 实施例6a:用FRET SDM对癌症淋巴结转移的体内检测

[0441] 在荷瘤小鼠中静脉内和瘤周施用荧光SDM后,转移性颈淋巴结的荧光标记

[0442] 以下模型和分析用于确定荧光SDM在荷有同源耳部肿瘤的免疫活性BALB/c小鼠(Charles River,Wilmington,MA 01887)中检测癌症淋巴结转移的能力。

[0443] 小鼠模型。将小鼠4只一组单独关入通风的IVC一次性笼子(Innovive,Inc.,San Diego,CA 92121)内,并能自由获取标准实验室食物(目录号2018,Harlan Laboratories,Inc.Indianapolis,IN 46250)和饮水。在肿瘤细胞移植前将动物保持在控制的环境条件(12-h/12-h光/暗循环)下至少5天。所有的实验程序都根据得到批准的IACUC方案#EB11-002-009A来进行。使用标准细胞培养技术使分别来自美国模式培养物保藏中心(ATCC,Manassas,VA 20108)和加利福尼亚州圣地亚哥大学(University of San Diego,California)(UCSD,La Jolla,CA 92093)的鼠4T1肿瘤(ATCC®编号:CRL-2539™)和乳腺癌(Polyoma Middle T 8119亚克隆"PyMT 8119")细胞单独生长。将肿瘤细胞($4x10^5$个肿瘤细胞/50μL/小鼠)悬浮于DPBS/Matrigel™(1:1体积比)中,并在小鼠耳软骨上方的耳廓上皮下注射以进行原发肿瘤诱导。在用作转移性乳腺癌替代鼠模型的耳部荷瘤小鼠中的转移性颈淋巴结的体内成像在肿瘤细胞移植后17-20天进行。

[0444] 化合物施用。对于SDM的静脉内施用(尾静脉注射),将小鼠限制在旋转尾注射器(目录号RTI,Braintree Scientific,Inc.,Braintree,MA02185)中,并使用$28G^{1/2}$胰岛素注射器(目录号14-826-79,Becton Dickinson and Company,Franklin Lakes,NJ 07417)向小鼠中注射测试物品(5-120μM;100μL/小鼠)。为了进行SDM的瘤周注射,用腹膜内施用的氯胺酮/甲苯噻嗪(Ketaject®和Xyla-ject®,Phoenix Pharmaceuticals,St.Joseph,MO 64506)混合物镇静每只所涉及的小鼠,并用30G PrecisionGlide™针(目录号305106,Becton Dickinson and Company,Franklin Lakes,NJ 07417)在原发肿瘤周围和对侧耳廓皮下注射测试物品(5-120μM;30-60μL/耳)。给药后,每只小鼠返回指定的笼子,并保持在受控环境条件下,之后在1-24小时后检查颈淋巴结的荧光成像。

[0445] 荧光成像。为了对颈淋巴结进行成像,利用腹膜内施用的氯胺酮/甲苯噻嗪的混合物对每只小鼠进行深度麻醉。将深度麻醉的小鼠转移至一块黑色软木上(4x 4英寸,Quartet®,ACCO Brands,Lincolnshire,IL60069,USA)用于钝器剥离,并用配备有适用于单一强度和两个荧光团荧光比检测的荧光滤片的计算机化荧光立体显微镜(SZX10,Olympus Optical,CO,LTD,Japan)进行颈淋巴结成像。例如,将Cy5和Cy7滤光片用于具有Cy5和Cy7的基于FRET的SDM。体内荧光成像(参见下述比率成像方法)后,手术切除颈淋巴结,在10%缓冲福尔马林中固定,并针对组织学进行处理(苏木精和曙红染色)来评价荧光/癌症的相关性并确定SDM的诊断性能。

[0446] 发射比成像方法。使用Olympus SZX10研究立体显微镜(Olympus America,Center Valley,PA)获得荧光图像。对于基于Cy5和Cy7FRET的SDM,使用以620nm为中心的激发滤光片(Chroma ET620/60x,Chroma Technology Corp.Bellows Falls,VT)和以700nm和810nm为中心的发射滤光片(Chroma滤光片ET700/75m和ET810/90m)产生不同发射波长的两个图像。用连接至基于Windows的电脑的Orca-R2照相机(Hamamatsu,Bridgewater,NJ)获得图像。使用两种方法确定淋巴结的发射比。对于一种方法,在画出的包括部分或全部目的淋巴

结的目的区域(ROI)上对强度进行平均。然后由每个目的区域的强度数据计算得到发射比。

[0447] Roi发射比＝(roiInt1/Exp1)/(Int2/Exp2)(方程1)

[0448] 其中：

[0449] roiInt1＝使用ET700/75m滤片的发射波长1的ROI平均强度

[0450] Exp1＝用于Int1的曝光时间

[0451] roiInt 2＝使用ET810/90m滤片的发射波长2的ROI平均强度

[0452] Exp 2＝用于Int2的曝光时间

[0453] 用于确定发射比的第二种方法基于将画出的包括部分或全部取自发射比图像的目的淋巴结的目的区域(ROI)的发射比进行平均。通过使用修饰形式的包含换算系数的方程1产生发射比图像，从而8位图像的像素值将落入0至255。

[0454] Px发射比＝k*(pxInt1/Exp1)/(pxInt2/Exp2)(方程2)

[0455] 其中：

[0456] k＝换算系数

[0457] pxInt1＝使用ET700/75m滤片的发射波长1的像素强度

[0458] Exp1＝用于Int1的曝光时间

[0459] pxInt 2＝使用ET810/90m滤片的发射波长2的像素强度

[0460] Exp 2＝用于Int2的曝光时间

[0461] 使用方程2(其中对于SDM-41，Exp1＝0.7sec，Exp2＝2.5sec且k＝24)生成的发射比图像的一个例子示于图2中，图2显示了SDM-41的供体(左)、接受体(中)和荧光发射比(右)图像。

[0462] 使用任一方法，淋巴结的发射比获得了在量上相似的结果。

[0463] 病理学家基于H&E染色将淋巴结鉴定为转移性的或非转移性的。然后通过用转移性淋巴结的平均发射比除以非转移性淋巴结的平均发射并减1来量化每个SDM(选择性递送分子)的发射比对比度，如方程3所示：

[0464] ERC＝MetAV/ConAV-1(方程3)

[0465] 其中：

[0466] ERC＝发射比对比度

[0467] MetAV＝平均转移性淋巴结发射比

[0468] ConAV＝平均非转移性对侧淋巴结发射比

[0469] 尽管可用于检测癌性淋巴结，但20-50％的对比度被视为较低，50-100％的增加被认为良好，而大于100％的增加则被认为是优异的。

[0470] 实施例6b:SDM在转移性淋巴结模型中的高诊断灵敏度和特异性

[0471] 诊断剂的主要性能指标是灵敏度和特异性。灵敏度涉及正确地诊断出试验阳性的能力。而特异性涉及正确地诊断出试验阴性的能力。

[0472] 使用以下模型和分析来确定荧光SDM在荷有同源耳部肿瘤的免疫活性BALB/c小鼠(Charles River,Wilmington,MA 01887)中检测癌症淋巴结转移的能力。

[0473] 作为FRET SDM的高诊断性能的一个实例，使用了在4T1小鼠转移性淋巴模型中由SDM-41产生的数据。SDM-41通过静脉内尾静脉注射施用。3-6小时后，使用前述荧光比成像对小鼠淋巴结进行成像，以确定淋巴结是否具有高比率(诊断的癌症阳性)或低比率(诊断

的癌症阴性)。使用受试者工作特征(ROC)或ROC曲线确定灵敏度和特异性。对于ROC曲线分析,基于发射比的阈值将数据分为阳性和阴性的二元分类。ROC曲线将阳性的真阳性分数(真阳性率)相对于阴性的假阳性分数(假阳性率)作图。

[0474] 通过将基于荧光发射比数据和阈值作出的预测与病理学家使用H&E染色所作出的阳性或阴性分配进行比较,确定真阳性、假阳性、真阴性和假阴性。癌症阳性和阴性的发射比值(由有资格的病理学家通过H&E染色而确定的)在图3中示出。两个群体完全分离,从而证明了在这个转移性乳腺癌淋巴结模型中有100%的诊断灵敏度和特异性。由低到高逐渐调整阈值,以获得从(1,1)或全阳性到(0,0)或全阴性的完整的ROC曲线。一条ROC曲线在图4中示出。使用来自约32个淋巴结的数据生成该曲线。注意可以确定ROC曲线上的每个点的灵敏度和特异性。该数据说明了将癌性淋巴结与没有癌的淋巴结分离有100%的诊断灵敏度和特异性。灵敏度为真阳性率,而特异性为1减去假阳性率。用于生成ROC曲线的方程如下所示。

[0475] TPR=TP/(TP+FN)

[0476] FPR=FP/(FP+TN)

[0477] 其中:

[0478] TPR=真阳性率

[0479] FPR=假阳性率

[0480] TP=真阳性的数目

[0481] TN=真阴性的数目

[0482] FP=假阳性的数目

[0483] FN=假阴性的数目

[0484] 本实施例中,对于在约4.3与约5之间的所有阈值,灵敏度和特异性均为100%。这意味着当与金标准组织病理学相比时,所有淋巴结均利用FRET发射比方法正确地鉴别出来。通常,灵敏度和特异性值>90%被认为是非常高的。

[0485] 实施例7:离体小鼠PyMT 8119肿瘤活性分析:与非癌性组织相比在小鼠癌组织中的SDM裂解和FRET发射比响应

[0486] 从PyMT 8119肿瘤荷瘤小鼠收集肿瘤和肌肉组织样品并将其冷冻于-80℃。将组织解冻,并使用超声破碎(VCX500,Sonics&Materials Inc,Newtown,CT)以100mg/200μL在冷TCNB缓冲液(pH 7.5,50mM Tris-HCl、10mM $CaCl_2$、150mM NaCl和0.05%Brij35)中进行匀浆化。在4℃下将匀浆物以15,000g离心20min后,收集上清液。将APMA(对氨基苯基乙酸汞,90μL,2mM,在TCNB缓冲液中)加至上清液(90μL)。得到的混合物在使用前在37℃下温育1h。使用500nM的SDM-42裂解45μL的活化组织上清液(终体积:50μL)。用带有SoftMax Pro v4.5软件的SpectraMax M2光谱仪进行分析。在室温下随时间的变化测量(λex,620nm,λem,670nm)、(λex,620nm,λem,773nm)和(λex,720nm;λem,773nm)的荧光信号,其中λex和λem分别代表激发和发射波长。样品一式三份测量。

[0487] 实施例8:人离体组织分析:与非癌性组织相比在人癌组织中的SDM裂解和FRET发射比响应

[0488] 使用超声破碎(VCX500,Sonics&Materials Inc,Newtown,CT)将人乳腺癌组织样品和正常人乳腺组织(由Cancer Human Tissue Network提供)以100mg/200μL在冷TCNB缓

冲液(pH 7.5,50mM Tris-HCl、10mM $CaCl_2$、150mM NaCl和0.05%Brij35)中进行匀浆化。在4℃下将匀浆物以15,000g离心20min后,收集上清液。除非另有说明,否则在分析中使用500nM的SDM-41裂解45μL的组织上清液(终体积:50L)。用带有SoftMax Pro v4.5软件的SpectraMax M2光谱仪进行分析。在室温下随时间的变化测量(λex,620nm,λem,670nm)、(λex,620nm,λem,773nm)和(λex,720nm;λem,773nm)的荧光信号,其中λex和λem分别代表激发和发射波长。样品一式三份测量。表1显示用于SDM-41诊断荧光离体分析的人乳腺癌患者组织。图5显示来自乳腺癌患者的匀浆化癌性和健康组织中SDM-41荧光比的变化。癌性组织(M112090A2、M1121603A2和M1121797A6)比正常组织(M112090B2、M1121603B2和M1121797B6)更快地裂解SDM-41,并且使得癌性乳腺癌组织的诊断读出成为能够。图6显示来自相同乳腺癌患者的匀浆化癌性和健康组织中SDM-41荧光比的变化。癌性组织更快地裂解SDM-41并且使癌性乳腺癌组织的诊断读出成为能够。

[0489] 表1

[0490]

	年龄/性别/种族	诊断	样品 ID
患者 1	63/女性/白种人	多形性小叶癌	肿瘤: M1120909A2
			正常: M1120909B2
患者 2	69/女性/白种人	侵袭性导管癌	肿瘤: M1121797A6
			正常: M1121797B6
患者 3	69/女性/白种人	侵袭性导管癌	肿瘤: M1121603A2
			正常: M1121603B2

[0491] 实施例9:SDM对乳腺癌患者中的癌症进行可视化的用途

[0492] 将SDM-52静脉内递送至乳腺癌患者。SDM-52上的荧光部分在连接体裂解后被癌性细胞和/或组织吸收。用光源照射靶组织。荧光部分发射出可被照相机或检测器检测到的光。对照相机或检测器获得的数据进行处理,以产生允许外科医生对癌性细胞或组织进行可视化的图像。外科医生切除所述组织用于活检。

[0493] 实施例10:SDM对前列腺癌患者中的癌症进行可视化的用途

[0494] 将SDM-42静脉内递送至前列腺癌患者。SDM-42上的荧光部分在连接体裂解后被癌性细胞和/或组织吸收。用光源照射靶组织。荧光部分发射出可被照相机或检测器检测到的光。对照相机或检测器获得的数据进行处理,以产生允许外科医生对癌性细胞或组织进行可视化的图像。外科医生切除所述组织用于活检。

[0495] 实施例11:SDM对头颈(鳞状)癌患者中的癌症进行可视化的用途

[0496] 将SDM-48静脉内递送至头颈癌患者。SDM-48上的荧光部分在连接体裂解后被癌性细胞和/或组织吸收。用光源照射靶组织。荧光部分发射出可被照相机或检测器检测到的光。对照相机或检测器获得的数据进行处理,以产生允许外科医生对癌性细胞或组织进行可视化的图像。外科医生切除所述组织用于活检。

[0497] 实施例12:SDM对黑素瘤患者中的癌症进行可视化的用途

[0498] 将SDM-60静脉内递送至黑素瘤患者。SDM-60上的荧光部分在连接体裂解后被癌性细胞和/或组织吸收。用光源照射靶组织。荧光部分发射出可被照相机或检测器检测到的光。对照相机或检测器获得的数据进行处理,以产生允许外科医生对癌性细胞或组织进行可视化的图像。外科医生切除所述组织用于活检。

[0499] 实施例13:SDM对甲状腺癌患者中的癌症进行可视化的用途

[0500] 将SDM-62静脉内递送至甲状腺癌患者。SDM-62上的荧光部分在连接体裂解后被癌性细胞和/或组织吸收。用光源照射靶组织。荧光部分发射出可被照相机或检测器检测到的光。对照相机或检测器获得的数据进行处理,以产生允许外科医生对癌性细胞或组织进行可视化的图像。外科医生切除所述组织用于活检。

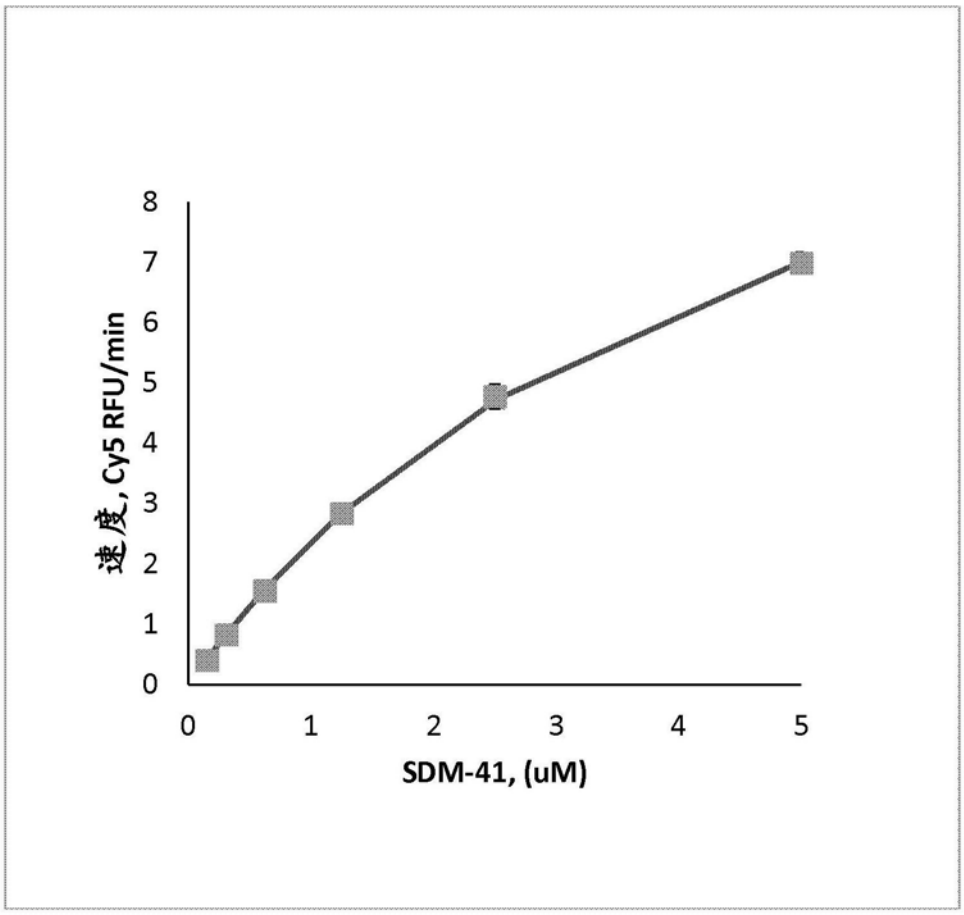

速度, Cy5 RFU/min
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0
1
2
3
4
5
SDM-41, (uM)

图1

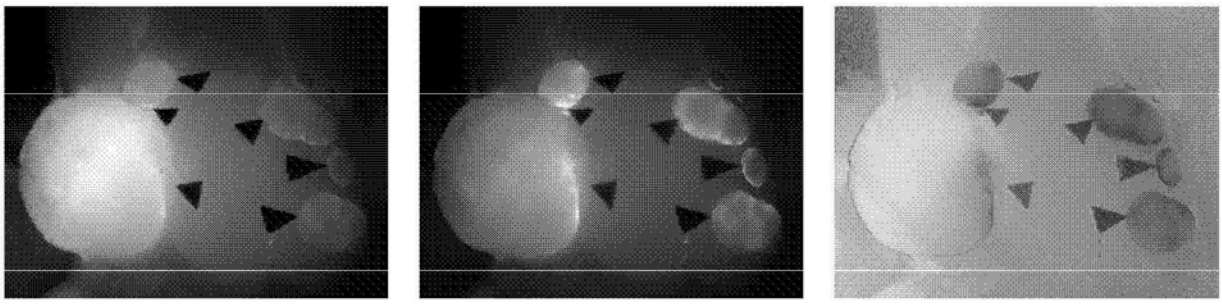

pxint1, Cy-5ex, Cy5em
pxint1, Cy-5ex, Cy7em
k * (pxInt1/Exp1)/(pxInt2/Exp2)

图2

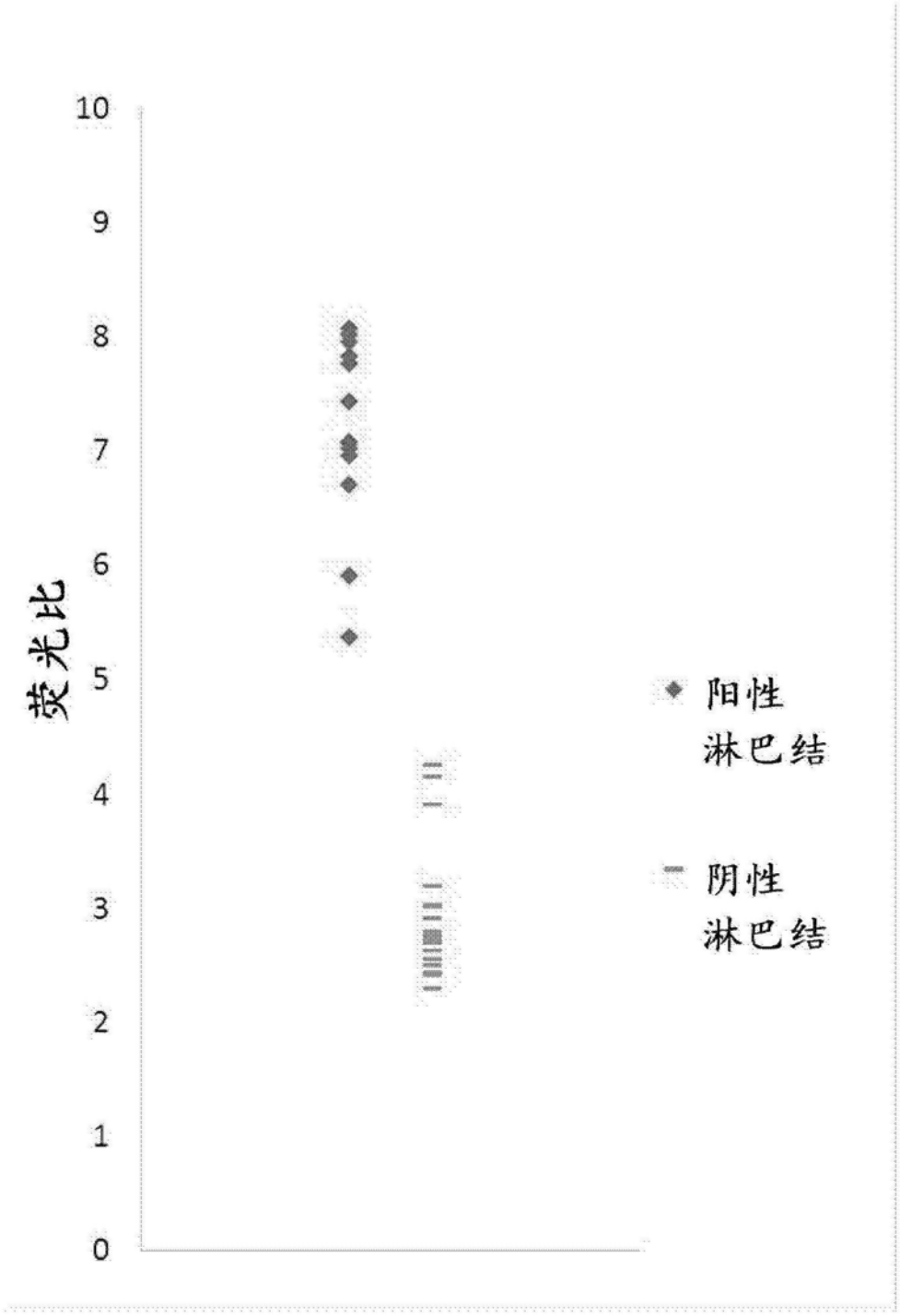


图3

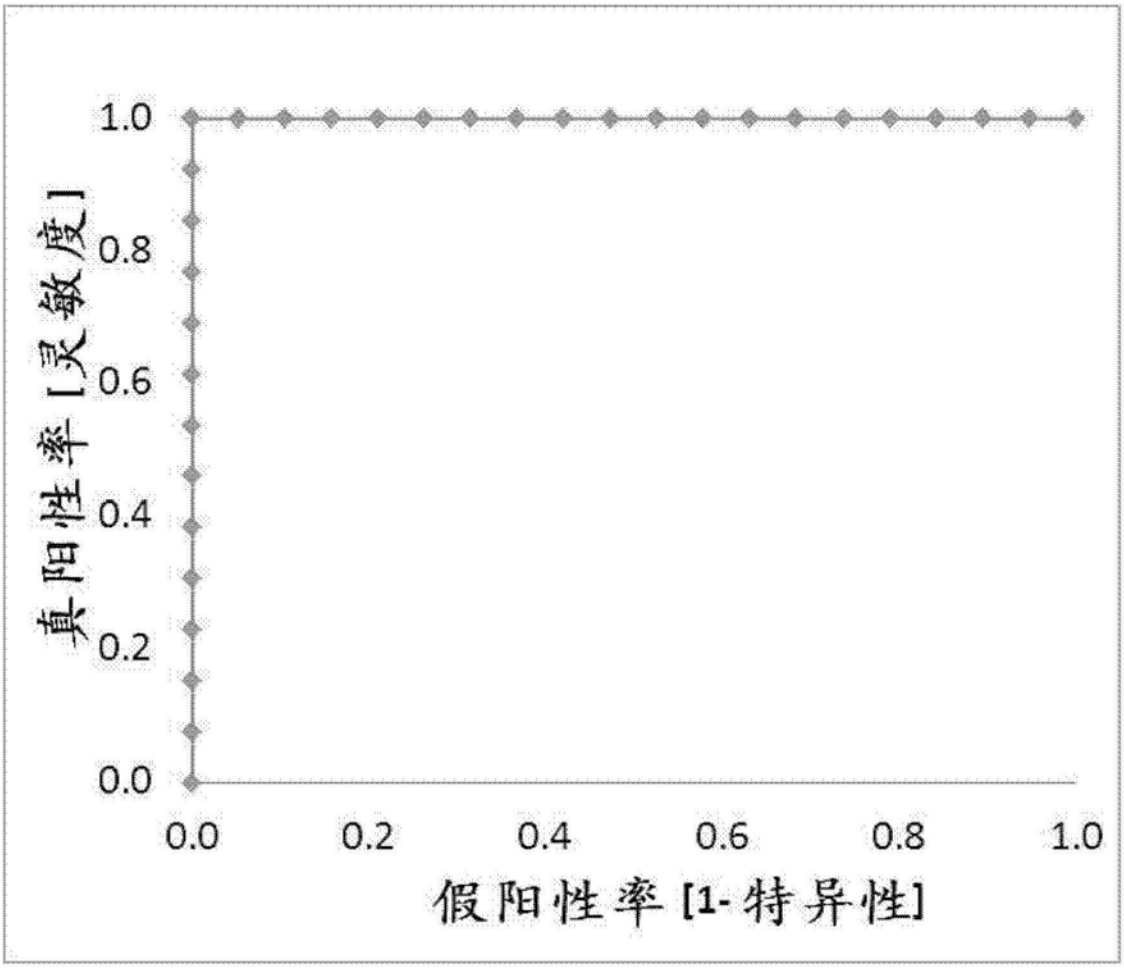


图4

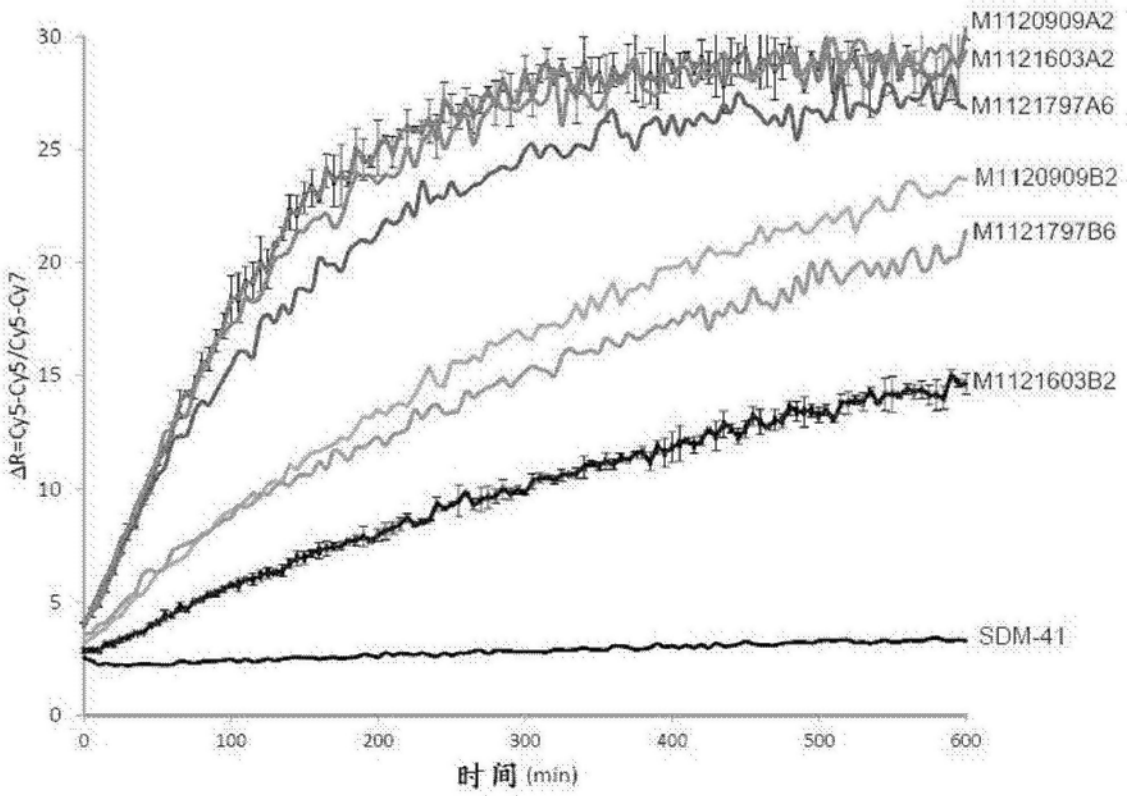

M1120909A2
M1121603A2
M1121797A6
M1120909B2
M1121797B6
M1121603B2
SDM-41
ΔR=Cy5-Cy5/Cy5-Cy7
时间 (min)
0
5
10
15
20
25
30
0
100
200
300
400
500
600

图5

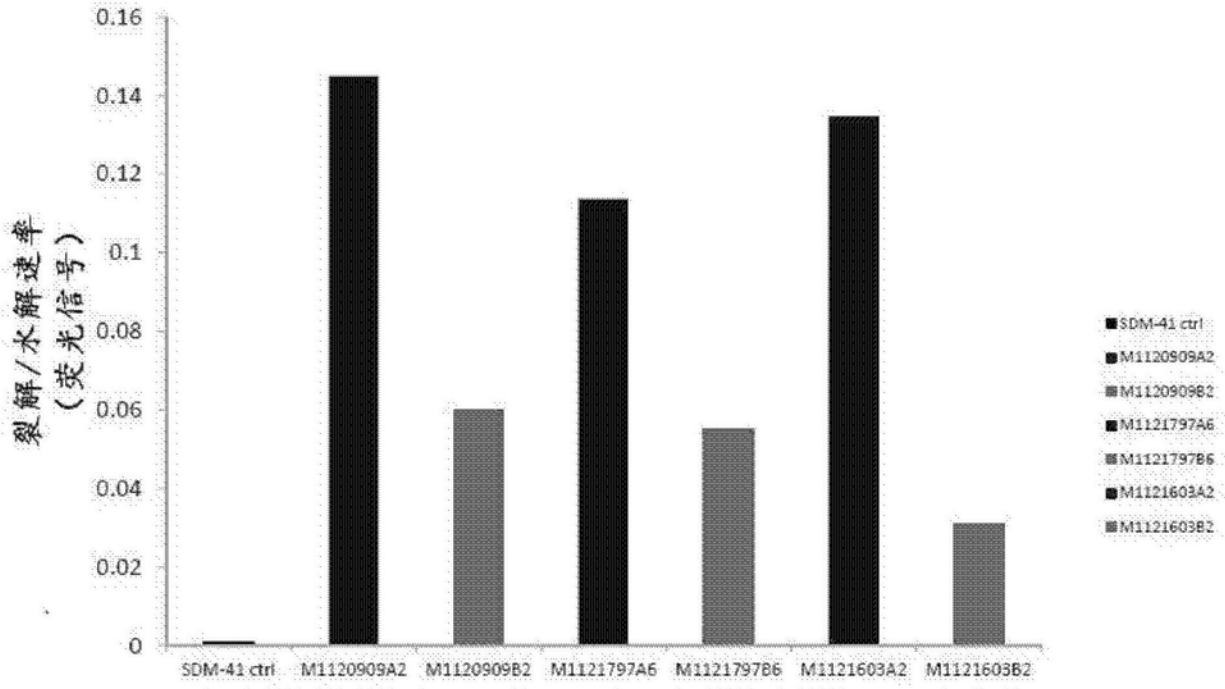

裂解/水解速率
（荧光信号）
0
0.02
0.04
0.06
0.08
0.1
0.12
0.14
0.16
SDM-41 ctrl
M1120909A2
M1120909B2
M1121797A6
M1121797B6
M1121603A2
M1121603B2

图6