

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 49/14 (2006.01)

A61K 51/08 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680046191.9

[43] 公开日 2008年12月17日

[11] 公开号 CN 101325978A

[22] 申请日 2006.12.7

[21] 申请号 200680046191.9

[30] 优先权

[32] 2005.12.8 [33] GB [31] 0524987.5

[86] 国际申请 PCT/GB2006/004575 2006.12.7

[87] 国际公布 WO2007/066115 英 2007.6.14

[85] 进入国家阶段日期 2008.6.6

[71] 申请人 通用电气健康护理有限公司

地址 英国白金汉郡

[72] 发明人 S·切蒂比 B·纽顿 B·吉尔贝

H·托尔斯豪格 M·索尔贝肯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 权陆军 黄可峻

权利要求书5页 说明书44页 序列表8页
按照条约第19条的修改5页

[54] 发明名称

用于纤维化的新显像剂

[57] 摘要

本发明提供了适合于纤维化的非侵入性显影的新显像剂，其靶向甘露糖-6-磷酸(M6P)。本发明还提供了用于制备显像剂的方法，以及用于在所述方法中使用的前体。本发明还提供了包含显像剂的药物组合物和用于制备药物组合物的试剂盒。在进一步的方面，提供了显像剂用于其中甘露糖-6-磷酸受体上调的状况的体内成像的用途和制备用于诊断其中甘露糖-6-磷酸受体上调的状况的药物中的用途。

1. 一种显像剂，其包含：

- (i) 对于甘露糖-6-磷酸 (M6P) 受体具有亲和力的载体；和
- (ii) 成像部分

其中所述成像部分作为所述载体的整合部分存在或所述成像部分经由合适的化学基团与所述载体缀合。

2. 权利要求 1 的显像剂，其中所述载体包含下述中的至少一种：

- (i) 67 氨基酸的 IGF-II 序列，或其片段或类似物；
- (ii) 甘露糖-6-磷酸 (M6P)；
- (iii) 二磷酸化糖肽；或
- (iv) 视黄酸或其衍生物。

3. 权利要求 2 的显像剂，其中所述载体是 67 氨基酸的 IGF-II 序列，或是选自下述的其 8 - 60 氨基酸片段或肽类似物：

- (i) 包含氨基酸残基 48 - 55 (SEQ ID NO 2) 的肽或其肽类似物；
 - (ii) 包含直接连接或由式 $-(L^3)_p$ - 的接头隔开的氨基酸残基 8 - 28 (SEQ ID NO. 3) 和 41 - 61 (SEQ ID NO. 4) 的肽或其肽类似物；
 - (iii) 包含氨基酸残基 8 - 67 (SEQ ID NO. 5) 的肽或其肽类似物；
- 和

(iv) 如下的各种氨基酸残基置换：Phe26Ser (SEQ ID NO. 6)；Phe19Ser (SEQ ID NO. 7)；Glu12Lys (SEQ ID NO. 8)；Tyr27Leu (SEQ ID NO. 9)

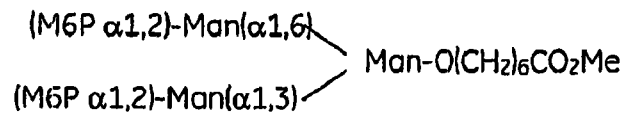
其中对于 $-(L^3)_p$ -，每个 L^3 独立地是 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CR}_2-$ 、 $-\text{CR}=\text{CR}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{CR}_2\text{CO}_2-$ 、 $-\text{CO}_2\text{CR}_2-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}\text{CO}-$ 、 $-\text{CONR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{S})\text{NR}-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}-$ 、 $-\text{NRSO}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{OCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{SCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{NR}\text{CR}_2-$ 、 C_{4-8} 亚环杂烷基、 C_{4-8} 亚环烷基、 C_{5-12} 亚芳基、 C_{3-12} 杂亚芳基、氨基酸残基、聚(亚烷基)二醇、聚乳酸或聚乙醇酸部分；

p 是值 0 - 30 的整数；

每个 R 基团独立地是 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} 羟烷基、 C_{1-10} 氟烷基，或 2 个或更多 R 基团，连同它们与之附着的原子一起形成碳环、杂环、饱和或不饱和的环。

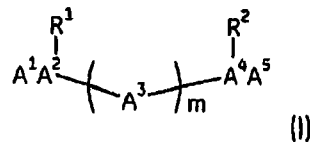
4. 权利要求 2 的显像剂，其中所述载体包含 M6P 且选自：

- (i) M6P (α 1,2) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α 1,2 连接的二甘露糖苷)
- (ii) M6P (α 1,3) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α 1,3 连接的二甘露糖苷)
- (iii) M6P (α 1,6) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α 1,6 连接的二甘露糖苷)
- (iv) M6P (α 1,2) -Man (α 1,2) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α 1,2 连接的三甘露糖苷)
- (v) 双触角的寡甘露糖苷:



其中 Man 是甘露糖。

5. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是二磷酸化糖肽且具有式 I:



其中

R¹ 和 R² 独立地选自:

(i) 选自下述的天然 L-或 D-单糖: 葡萄糖、甘露糖、半乳糖、岩藻糖、rhammanose、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺、果糖和 N-乙酰神经氨酸、或其磷酸化或硫酸化形式; 或,

(ii) 由选自 (i) 的单糖组成的寡糖;

A¹ 和 A⁵ 独立地选自 -H、-OH、-NH₂、-乙酰基、D-或 L-氨基酸、肽、糖肽、肽模拟物和寡核苷酸,

A² 和 A⁴ 独立地选自 D-或 L-羟基氨基酸, 例如 Ser、Thr、Hyl、Hyp、Tyr, 或 D-或 L-酰胺氨基酸, 例如 Asn 和 Gln, 且

A³ 选自以其 D-或 L-形式的遗传编码或非编码的氨基酸或肽模拟物或核苷酸,

且其中 m 是 1 - 30 的整数;

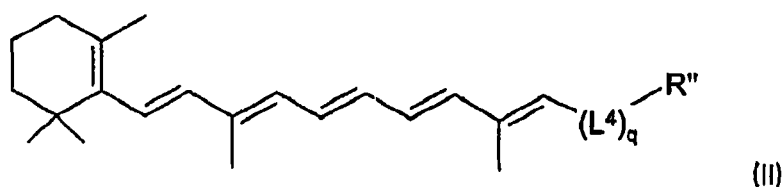
且其中所述线性序列 $A^1 - A^5$ 中的任何残基可以进行共价连接以形成环状化合物。

6. 权利要求 5 的显像剂, 其中所述二磷酸化糖肽是

(i) Ac-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-Lys(氨基苯甲酰胺)-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-NH₂

(ii) Ac-Thr[α -D-M6P]-Gly-Lys-Gly-Thr[α -D-M6P]-NH₂。

7. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是视黄酸, 或具有式 II 的其类似物:



其中 L^4 、 q 和 R'' 分别如权利要求 3 中对于 L^3 、 p 和 R 定义的。

8. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是使 2 种或更多种权利要求 2 - 7 的载体组合的多价靶向载体。

9. 权利要求 1 - 8 中任一项的显像剂, 其中所述成像部分选自:

- (i) 放射性金属离子;
- (ii) 顺磁性金属离子;
- (iii) γ -射线发射放射性卤素;
- (iv) 正电子发射放射性非金属;
- (v) 超极化 NMR 活性核;
- (vi) 适合于体内光学成像的报道分子; 和
- (vii) 适合于血管内检测的 β -射线发射体。

10. 权利要求 9 的显像剂, 其中所述成像部分是放射性金属离子。

11. 权利要求 10 的显像剂, 其中所述放射性金属离子是 ^{99m}Tc 。

12. 权利要求 9 的显像剂, 其中所述成像部分是 γ -射线发射放射性卤素。

13. 权利要求 12 的显像剂, 其中所述 γ -射线发射放射性卤素选自 ^{123}I 或 ^{131}I 。

14. 权利要求 9 的显像剂，其中所述成像部分是正电子发射放射性非金属。

15. 权利要求 14 的显像剂，其中所述正电子发射放射性非金属是 ^{18}F 。

16. 一种用于制备权利要求 1-15 中任一项的显像剂的方法，其包括使前体与合适来源的成像部分反应，其中所述前体包含：

- (i) 如权利要求 1-7 中定义的对于 M6P 受体具有亲和力的载体；和
- (ii) 能够与所述成像部分来源反应的化学基团，从而使得所述成像部分变得与所述化合物附着，以致产生所述显像剂；其中所述化学基团是所述载体的整合部分或与所述载体缀合。

17. 根据权利要求 16 的方法，其中所述化学基团：

- (i) 包含能够使金属成像部分络合的螯合剂；
- (ii) 包含有机金属衍生物，例如三烷基锡烷或三烷基硅烷；
- (iii) 包含含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物；
- (iv) 包含含有朝向亲核或亲电子取代活化的芳环的衍生物；
- (v) 包含含有经历易实现的烷化的官能团的衍生物；
- (vi) 包含使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物；或

18. 权利要求 16 或 17 任一项的方法，其中所述前体是无菌、无热原形式的。

19. 根据权利要求 16-18 中任一项的方法，其中所述前体与固相结合。

20. 如权利要求 16-19 中任一项的方法中定义的前体，其中所述化学基团：

- (i) 包含能够使金属成像部分络合的螯合剂；
- (ii) 包含有机金属衍生物，例如三烷基锡烷或三烷基硅烷；
- (iii) 包含含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物；
- (iv) 包含使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物。

21. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-15 中任一项的显像剂连同生物相容性载体，为适合于哺乳动物施用形式的。

22. 权利要求 21 的药物组合物, 其中所述显像剂包含放射性成像部分。

23. 权利要求 22 的药物组合物, 其具有适合于单个患者的放射性剂量且在合适的注射器或容器中提供。

24. 一种试剂盒, 其用于制备权利要求 21 - 23 中任一项的药物组合物。

25. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂, 其用于在体内诊断或成像法中。

26. 权利要求 25 的显像剂, 其中所述方法涉及其中 M6P 受体上调的状况的体内成像。

27. 权利要求 26 的显像剂, 其中 M6P 受体上调的所述状况是与纤维化相关的状况。

28. 权利要求 27 的显像剂, 其中与纤维化相关的所述状况是肝纤维化、充血性心力衰竭、肾小球硬化症或呼吸衰竭。

29. 权利要求 28 的显像剂, 其中与纤维化相关的所述状况是肝纤维化。

30. 权利要求 29 的显像剂, 其中所述 M6P 受体在肝实质细胞上是上调的。

31. 一种用于受试者中其中 M6P 受体上调的状况的体内诊断或成像的方法, 其包括施用权利要求 21 - 23 的药物组合物。

32. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂用于受试者中其中 M6P 受体上调的状况的体内成像的用途, 其中所述受试者先前施用权利要求 21 - 23 的药物组合物。

33. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂在制备用于其中 M6P 受体上调的状况体内成像的药物中的用途。

34. 一种监控用药物治疗人或动物身体以对抗其中 M6P 受体上调的状况的作用的方法, 所述方法包括给所述身体施用权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂且检测所述显像剂的摄取。

用于纤维化的新显像剂

发明的技术领域

本发明涉及诊断显像且具体涉及纤维化的诊断显像。描述了适合于这个目的，特别是用于肝、心脏、肾和肺中的纤维化诊断显像的诊断显像剂。

相关领域的描述

纤维化是特征在于细胞外基质组分过量分泌的过程。这由基质蛋白最显著地胶原 I 和 III 型增加的合成和减少的降解引起，并且作为针对由炎症、感染或损伤引起的组织损害的应答而触发。简言之，纤维化是瘢痕组织且形成组织中的所有“修复”过程的部分。然而，因为正在进行的炎症、感染和反复损伤，纤维化瘢痕组织建立且不替代“功能”细胞，从而导致异常的器官功能和最终地器官衰竭。

纤维化是医学中的主要、经典病理过程之一。它是影响全世界数百万人的多种疾病的关键组分，所述疾病包括：

- a) 肺病，例如特发性肺纤维化（起源不明的肺纤维化）、哮喘和慢性阻塞性肺病
- b) 硬皮病：特征在于过量的细胞外基质沉积在身体（即，皮肤和内脏器官）的结缔组织内的异质和威胁生命的疾病
- c) 移植后的外科手术后的瘢痕形成
- d) 糖尿病性视网膜病和年龄相关性黄斑变性（眼睛的纤维化疾病和失明的主因）
- e) 心血管疾病，包括动脉粥样硬化和易损斑块。
- f) 与糖尿病相关的肾纤维化 - 糖尿病肾病和肾小球硬化症
- g) IgA 肾病（肾衰竭的起因以及关于透析和再移植（retransplant）的需要）
- h) 肝硬化和胆管闭锁（肝纤维化和衰竭的主因）
- i) 类风湿性关节炎
- j) 自身免疫疾病，例如皮炎
- k) 充血性心力衰竭

纤维化的临床表现广泛多样。以肝硬化为例，临床表现从完全无症状到肝衰竭而变化，并且通过潜在的肝病的性质和严重性以及肝纤维化的程度来确定。最高达 40% 的患有肝硬化的患者是无症状的，并且可能保持这样超过 10 年，但一旦并发症发展，进行性恶化就是不可避免的，所述并发症包括腹水、静脉曲张性出血或脑病。纤维化和肝硬化因此代表针对来自多种原因的慢性肝损伤的持续伤口愈合应答的后果，所述原因包括病毒、自身免疫、药物诱导的、胆汁郁积和代谢疾病。肝纤维化和肝硬化的常见原因包括免疫介导的损害、遗传异常和非酒精性脂肪性肝炎 (steatohepatitis) (NASH)，所述 NASH 特别与糖尿病和代谢综合征 (MS) 有关。在西方人群中存在 MS 的高发病率。这种综合征一般在肥胖、具有高脂血症和高血压的个体中发生，且通常导致 II 型糖尿病的发展。代谢综合征的肝表现为非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)，在美国的估计流行率为人口总数的 24%。脂肪肝代表一系列 NAFLD 的较不严重的结果，所述一系列 NAFLD 可以进展至 NASH 且最终至肝硬化。纤维化的发展显示了此类进展的危险，且目前借助于肝活组织检查进行评估。然而，肝活组织检查引起明显不适，并非没有危险且昂贵。此外，对于肝纤维化可用的血液测试在 NAFLD 方面不可靠。

WO 00/23113 公开了包含肽和载体分子的化合物，其中肽靶向肝星状细胞 (HSC)。呈现的靶受体例子是对于 HSC 特异或在疾病 (包括纤维化疾病) 期间在 HSC 上调的那些，例如血小板衍生生长因子受体、胶原 VI 受体、转化生长因子 β 受体、白细胞介素- 1β 受体和肿瘤坏死因子 α 受体。在呈现的另一个方面，靶受体是阳离子非依赖性甘露糖-6-磷酸 (M6P) 受体，所述 M6P 受体已报道在肝纤维化中超表达。合适载体的例子是人血清清蛋白、蛋白质、聚合载体和脂质体。公开的化合物主要是可以用于靶向所有种类的治疗剂的药物载体。阐述了该载体适当地大于 5000 Da。还提及它们可以应用于 HSC 显影用于诊断目的，从而阐述该化合物可以进一步包含诊断标记。然而，没有诊断标记如何可以与公开的化合物附着的描述。

EP 1495769 A1 公开了用于在反义策略，特别是体内反义策略中使用的糖苷-化合物缀合物。该缀合物包含与化合物连接的糖苷，其中糖苷是能够与肌细胞的甘露糖-6-磷酸受体结合的配体。提及了用于体内或体外诊断的被“标记”以包括荧光、放射性、酶促或分子标记的缀合物，但

没有如何获得此种标记的化合物的描述。

因此需要用于检测纤维化且特别是肝纤维化的可替代的非侵入性测试。

发明概述

本发明提供了适合于纤维化的非侵入性显影的新显像剂。本发明还提供了用于制备显像剂的方法，以及用于在所述方法中使用的前体。本发明还提供了包含显像剂的药物组合物和用于制备药物组合物的试剂盒。在进一步的方面，提供了显像剂用于其中甘露糖-6-磷酸受体上调的状况的体内成像的用途和制备用于诊断其中甘露糖-6-磷酸受体上调的状况的药物中的用途。

发明详述

在一个方面，本发明提供了显像剂，其包含：

- (i) 对于甘露糖-6-磷酸 (M6P) 受体具有亲和力的载体；和
- (ii) 成像部分

其中成像部分作为载体的整合部分存在或成像部分经由合适的化学基团与载体缀合。

在本发明的背景中，术语“M6P 受体”具体涉及阳离子非依赖性 M6P 受体的胞外域。

术语“显像剂”意指设计为靶向哺乳动物中的特定生理学或病理生理学，且在其给哺乳动物身体体内施用后可以被检测的化合物。

如上所述，在本发明的显像剂中，成像部分可以作为载体的整合部分存在，例如载体的原子之一可以是 ^{11}C 而不是 ^{12}C 。可替代地，成像部分可以经由合适的化学基团与载体缀合，例如可以络合是金属离子的成像部分的金属螯合物。还可以存在使载体与合适的化学基团或直接与成像部分自身连接的接头。本发明的合适接头具有式 $-(\text{L}^1)_n-$ ，其中：

每个 L^1 独立地是 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CR}_2-$ 、 $-\text{CR}=\text{CR}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{CR}_2\text{CO}_2-$ 、 $-\text{CO}_2\text{CR}_2-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NRCO}-$ 、 $-\text{CONR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{S})\text{NR}-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}-$ 、 $-\text{NRSO}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{OCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{SCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{NRCR}_2-$ 、 C_{4-8} 亚环杂烷基 (cycloheteroalkylene)、 C_{4-8} 亚环烷基 (cycloalkylene)、 C_{5-12} 亚芳基、 C_{3-12} 杂亚芳基、氨基酸残基、聚(亚烷基)二醇、聚乳酸或聚乙醇酸部

分;

n 是值 0 - 20 的整数;

每个 R 基团独立地是 H 或 C₁₋₁₀ 烷基、C₃₋₁₀ 烷基芳基、C₂₋₁₀ 烷氧基烷基、C₁₋₁₀ 羟烷基、C₁₋₁₀ 氟烷基, 或 2 个或更多 R 基团, 连同它们与之附着的原子一起形成碳环、杂环、饱和或不饱和的环。

设想分支接头基团也是可能的, 即由进一步的接头-(L²)_o-R'取代的接头基团-(L¹)_n-, 其中 L²、o 和 R'分别如上文对于 L¹、n 和 R 定义的。

此种接头在处理显像剂的生物分布和/或排泄概况的背景中特别有用。例如, 包含聚乙二醇基团或乙酰基的接头的包括可以改善显像剂的血液滞留期。

术语“氨基酸”意指 L-或 D-氨基酸、氨基酸类似物(例如, 萘基丙氨酸(naphthylalanine)或氨基酸模拟物(mimetic), 其可以是天然存在的或具有纯地合成起源, 且可以是光学上纯的, 即单对映体和因此手性的, 或是对映体混合物。优选地本发明的氨基酸是光学上纯的。

此种接头还具有与如下所述的本发明的其他部分相关的应用。对于本申请, 优选的 L¹ 和 L² 基团是-CO-、-CH₂-、-NH-、-NHCO-、-CONH-、-CH₂OCH₂-和氨基酸残基。

本发明背景中的术语“亲和力”用于意指在体外与 M6P 受体结合的 K_d 值小于 100nM, 优选地小于 50nM 且最优选地小于 10nM。可替代地, 亲和力可以被定义为抑制 β-半乳糖苷酶在体外与 M6P 受体结合的能力[由 Distler 等人 1991 J. Biol. Chem. 266 (32) 21687-92 描述], 其中 IC₅₀ 值小于 10μM、优选地小于 1μM, 最优选地小于 0.1μM 且特别优选地小于 0.01μM。亲和力还可以被定义为抑制胰岛素样生长因子-II (IGF-II) 在体外与 M6P 受体结合的能力[Marron P.G.等人 1998 J. Biol. Chem. 273 (35) 22358-22366], 其中 IC₅₀ 值小于 10μM、优选地小于 1μM, 最优选地小于 0.1μM 且特别优选地小于 0.01μM。

本发明的显像剂优选地不在 M6P 载体上缀合寡核苷酸、RNA、DNA、肽核酸、生长因子、疫苗、维生素或抗体。最优选地本发明的显像剂只具有与 M6P 载体缀合的成像部分, 即没有任何进一步物质与 M6P 载体缀合。

对于 M6P 受体的载体优选地包含下述中的至少一种:

- (i) 67 氨基酸的 IGF-II 序列，或其片段或肽类似物；
- (ii) M6P；
- (iii) 二磷酸化糖肽；或
- (iv) 视黄酸或其衍生物。

IGF-II 以高亲和力（在 pH 7.4 下 K_d 0.3 - 14nM）与 M6P 受体结合，且因此适合于在本发明中用作载体。IGF-II 是如 SEQ ID NO. 1 中所示的 67 氨基酸（aa）残基的非糖基化单链。优选地，可以使用 67 aa 序列的肽片段或肽类似物。

本发明背景中的术语“肽片段”用于意指包含 67 aa IGF-II 序列的分离的片段的天然或合成肽，所述分离的片段保留对于 M6P 受体的亲和力。IGF-II 序列的肽片段可以由 5 - 60 个 aa 残基组成，优选地 8 - 60 个 aa 残基。优选的肽片段是合成肽。

本发明背景中的术语“肽类似物”用于意指包含 67 aa IGF-II 序列的全部或分离的片段的天然或合成肽，其中一个或多个 aa 残基已由可替代的 aa 残基置换，且保留对于 M6P 受体的亲和力。优选的肽类似物是合成肽。为了使肽的改变降到最低，仅置换少数 aa 残基且仅进行保守置换是通常的实践。下表概述了被视为保守的置换：

原始 aa 残基	示例性置换
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser, Met
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Ala, Asn
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

然而，任何 aa 置换都是合适的，只要对于 M6P 受体的亲和力被保留。此外，优选的 aa 置换是导致对于 M6P 受体具有超过胰岛素样生长因子 I (IGF-I) 受体的增加的特异性的肽类似物的那些置换。例如，Tyr27 由 Leu 的非保守置换使对于 IGF-I 受体的亲和力减少，同时保留对于 M6P 受体的亲和力。

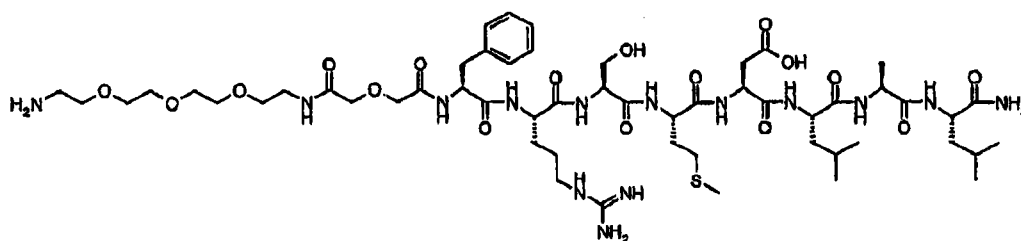
下述是最优选的 67 aa IGF-II 序列的肽片段和肽类似物的例子：

- (i) 包含氨基酸残基 48 - 55 (SEQ ID NO 2) 的肽或其肽类似物；
 - (ii) 包含直接连接或由式 $-(L^3)_p$ - 的接头隔开的氨基酸残基 8 - 28 (SEQ ID NO. 3) 和 41 - 61 (SEQ ID NO. 4) 的肽或其肽类似物；
 - (iii) 包含氨基酸残基 8 - 67 (SEQ ID NO. 5) 的肽或其肽类似物；
- 和

(iv) 如下的各种氨基酸残基置换：Phe26Ser (SEQ ID NO. 6)；Phe19Ser (SEQ ID NO. 7)；Glu12Lys (SEQ ID NO. 8)；Tyr27Leu (SEQ ID NO. 9)

其中 L^3 如上文对于 L^1 定义的且 p 是 1 - 30。

本发明的优选 IGF-II 片段的例子是 IGF 化合物 1:



“IGF 化合物 1” (合成在实施例 1 中描述)

这些肽可以通过常规固相合成来获得。Albericio 提供了用于固相肽合成的方法的近期综述[Curr. Opin Cell Biol. 2004 8 211-21]。

IGF-II 的 2 个或更多肽片段可以任选通过一个或多个接头基团-(L³)_p-进行连接。在 IGF-II 的 2 个肽片段连接的背景中, 包含是氨基酸和/或 PEG 的 L³ 基团的接头是优选的。当接头是 PEG 接头时, 它优选地由 1 - 30 个乙二醇单位组成。

对于 IGF-II 肽及其片段或肽类似物, 关于成像部分的合适位置包括肽的氨基末端和羧基末端。其他合适的位置是构成肽的氨基酸的侧链。优选地, 存在使 IGF-II、或其片段或肽类似物与成像部分连接的接头。例如, 在上文的 IGF 化合物 1 的情况下, 显像剂优选地位于接头末端的氨基处。

包含 M6P 的许多化合物适合于在本发明的显像剂中用作载体。这些包括 M6P、M6P 装饰的人血清清蛋白 (HSA) 和含 M6P 的寡甘露糖苷, 例如如下由 Distler 等人[J. Biol. Chem. 1991 266 (32) 21687-92]报道的那些 (其中 Man=甘露糖):

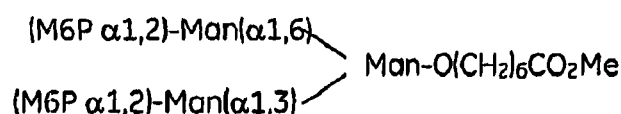
(i) M6P (α1,2) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α1,2 连接的二甘露糖苷)

(ii) M6P (α1,3) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α1,3 连接的二甘露糖苷)

(iii) M6P (α1,6) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α1,6 连接的二甘露糖苷)

(iv) M6P (α1,2) -Man (α1,2) -Man-O (CH₂)₈CO₂Me (α1,2 连接的三甘露糖苷)

(v) 双触角的寡甘露糖苷:

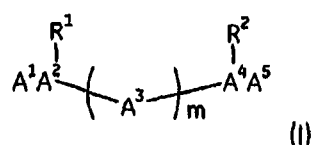


上文的化合物(i)-(v)在本文中分别被称为“M6P化合物1”至“M6P化合物5”。上述寡糖化合物的合成已由 Distler 等人[J. Biol. Chem 1991 266 (32) 21687-92]和 Srivastava 等人[J. Org. Chem. 1987 52 2869-75]报道。

当包含 M6P 的化合物是载体时，成像部分适当地经由所述载体的取代基进行缀合，所述取代基不涉及与 M6P 受体的结合。优选地，包含 M6P 的化合物是 M6P 化合物 1-6 之一，且成像部分经由 M6P 化合物 1-5 的羧甲基基团，或经由 M6P 化合物 6 的赖氨酸残基胺进行缀合。

在可替代的优选实施方案中，包含 M6P 的化合物可以是上述化合物之一，但其中一个或多个磷酸酯基被膦酸酯基替换。

适合于在本发明的显像剂中用作载体的其他化合物是二磷酸化糖肽。WO 95/014036 公开了与 M6P 受体结合且在炎症和其他疾病的治疗中有用的此种化合物，并且其合成由 Christensen 等人 (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1994 1299-1310) 描述。这些化合物中的任何一种都是用于本发明的合适载体。它们可以由式 I 表示:



其中

R^1 和 R^2 独立地选自

(i) 选自下述的天然 L-或 D-单糖: 葡萄糖、甘露糖、半乳糖、岩藻糖、rhammanose、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺、果糖和 N-乙酰神经氨酸、或其磷酸化或硫酸化形式; 或,

(ii) 由选自 (i) 的单糖组成的寡糖;

A^1 和 A^5 独立地选自 -H、-OH、-NH₂、-乙酰基、D-或 L-氨基酸、肽、糖肽、肽模拟物 (peptidomimetics) 和寡核苷酸,

A^2 和 A^4 独立地选自 D-或 L-羟基氨基酸, 例如 Ser、Thr、Hyl、Hyp、Tyr, 或 D-或 L-酰胺氨基酸, 例如 Asn 和 Gln, 且

A^3 选自以其 D-或 L-形式的遗传编码或非编码的氨基酸或肽模拟物或核苷酸, 且其中 m 是 1-30 的整数

且其中所述线性序列 $A^1 - A^5$ 中的任何残基可以进行共价连接以形成环状化合物。

优选地, R^1 和 R^2 是 M6P 基团, A^1 是乙酰基且 A^5 是 -NH₂, A^2 和 A^4 是 Thr, 且 A^3 是 1-5 个氨基酸残基的链。

本发明的最优选的二磷酸化糖肽是:

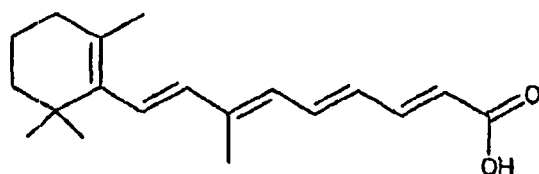
(i) Ac-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-Lys (氨基苯甲酰胺)-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-NH₂ (“糖肽化合物 1”)

(ii) Ac-Thr[α -D-M6P]-Gly-Lys-Gly-Thr[α -D-M6P]-NH₂ (“糖肽化合物 2”)

当二磷酸化糖肽是对于 M6P 受体具有亲和力的载体时, 成像部分优选地经由基团 (A^3) _{m} 中存在的氨基酸之一进行缀合。

在可替代的优选实施方案中, 二磷酸化糖肽可以是上述化合物之一, 但其中一个或多个磷酸酯基被磷酸酯基替换。

视黄酸与 M6P 受体上不同于 IGF-II 结合位点的位点且以高亲和力 (Kd 2.4nM) 结合。它以及它的衍生物因此作为本发明的显像剂中的载体是合适的。视黄酸的结构在下文举例说明:



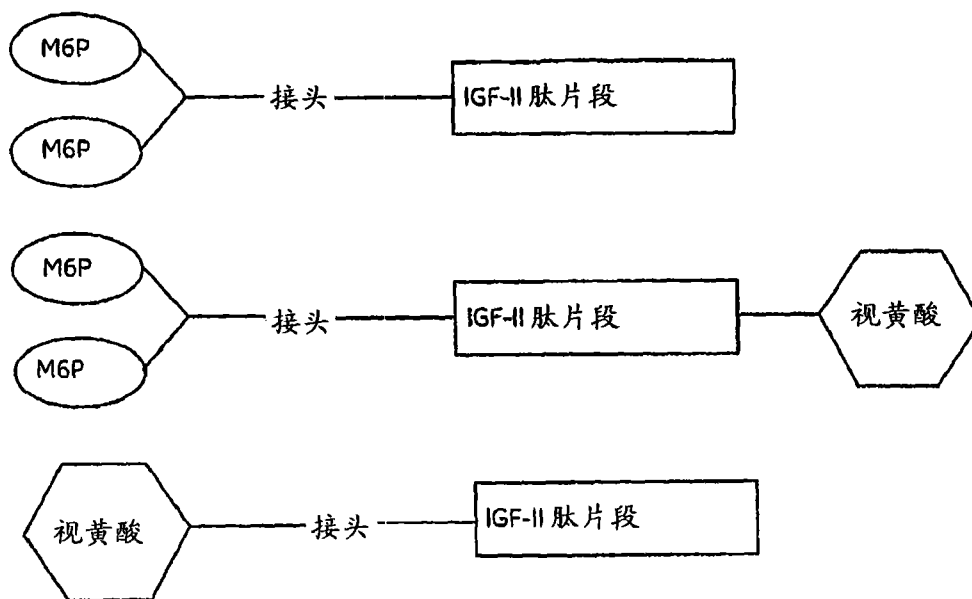
适合于本发明的视黄酸衍生物包括通过添加式- (L^4) _{q} -R"的基团修饰的视黄酸, 其中 L^4 、 q 和 R"如上文对于 L^1 、 n 和 R 定义的。R"优选是氨基、羧基和羟基, 且 L^4 优选是氨基酸或 PEG。当接头是 PEG 接头时, 它优选由 1-20 个乙二醇单位组成, 最优选地 1-15 个乙二醇单位和特

别优选地 1 - 12 个乙二醇单位。

这种类型的视黄酸的优选衍生物包括 PEG 接头加一个或多个氨基酸残基。设想 PEG 接头可以包括一个或多个带电氨基酸基团作为调整所得到的显像剂的生物分布和/或排泄的手段。

当对于 M6P 受体的载体是视黄酸或其类似物时，成像部分优选经由视黄酸的羧基或经由视黄酸类似物中存在的任何反应基团进行缀合，所述反应基团例如上文视黄酸化合物 1 中的氨基或羧基。

此外设想载体可以是使 2 种或更多种上述载体组合的多价靶向载体。由于 M6P 受体包含对于每种载体独立的结合位点的事实，包含此种载体的显像剂预期显示出对于 M6P 受体增加的亲和力。此种多价载体的例子在下文举例说明：



对于具有 2 个 M6P 基团的多价载体，这些优选由如前定义的分支 PEG 接头基团连接在一起。上图中举例说明的接头具有式- $(L^5)_r$ ，其中 L^5 如前文对于 L^1 定义的，且 r 是 10 - 50。理想地，接头用于使单独的载体部分间隔开，从而使得它们如此定位以与其在 M6P 受体上各自的结合位点最佳结合。包含氨基酸和/或 PEG 的接头是优选的。

在显像剂施用后，“成像部分”可以在人身体外部进行检测或经由使用设计用于在体内使用的探测器进行检测，例如血管内辐射或光学探测器例如内窥镜，或设计用于手术中 (intra-operative) 使用的辐射探测器。

成像部分优选选自：

- (i) 放射性金属离子；
- (ii) 顺磁性金属离子；
- (iii) γ -射线发射放射性卤素；
- (iv) 正电子发射放射性非金属；
- (v) 超极化 NMR 活性核；
- (vi) 适合于体内光学成像的报道分子；
- (vii) 适合于血管内检测的 β -射线发射体。

当成像部分是放射性金属离子即射电金属 (radiometal) 时，合适的射电金属可以是正电子发射体例如 ^{64}Cu 、 ^{48}V 、 ^{52}Fe 、 ^{55}Co 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 或 ^{68}Ga ； γ -射线发射体例如 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 或 ^{67}Ga 。优选的射电金属是 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 和 ^{111}In 。最优的射电金属是 γ -射线发射体，特别是 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

当成像部分是顺磁性金属离子时，合适的此种金属离子包括 Gd (III)、Mn (II)、Cu (II)、Cr (III)、Fe (III)、Co (II)、Er (II)、Ni (II)、Eu (III) 或 Dy (III)。优选的顺磁性金属离子是 Gd (III)、Mn (II) 和 Fe (III)，其中 Gd (III) 是特别优选的。

当成像部分是 γ -射线发射放射性卤素时，放射性卤素适当地选自 ^{123}I 、 ^{131}I 或 ^{77}Br 。 ^{125}I 被特别排除，因为它不适合于用作成像部分用于诊断显像。优选的 γ -射线发射放射性卤素是 ^{123}I 。

当成像部分是正电子发射放射性非金属时，合适的此种正电子发射体包括： ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{17}F 、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 或 ^{124}I 。优选的正电子发射放射性非金属是 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{18}F 和 ^{124}I ，特别是 ^{11}C 和 ^{18}F ，最特别是 ^{18}F 。

当成像部分是超极化 NMR 活性核时，此种 NMR 活性核具有非零的核自旋，且包括 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{19}F 、 ^{29}Si 和 ^{31}P 。在这些中， ^{13}C 是优选的。术语“超极化”意指 NMR 活性核的极化程度超过其平衡极化的增加。 ^{13}C 的天然丰度（相对于 ^{12}C ）为约 1%，且在超极化之前合适的 ^{13}C 标记的化合物适当地富集至至少 5% 的丰度，优选地至少 50%，最优选地至少 90%。本发明的显像剂的至少一个碳原子适当地用 ^{13}C 富集，所述 ^{13}C 随后进行超极化。

当成像部分是适合于体内光学成像的报道分子时，报道分子是在光学成像程序中能够直接或间接检测的任何部分。报道分子可以是光散射体（例如有色或无色颗粒）、光吸收体或光发射体。更优选地报道分子

是染料例如发色团或荧光化合物。染料可以是与在电磁谱中具有从紫外线到近红外线的波长的光相互作用的任何染料。最优选地报道分子具有荧光性质。

优选的有机发色和荧磷光 (fluorophoric) 报道分子包括具有广泛移位的电子系统的基团, 例如花菁、部花青、靛青、酞菁、萘酞菁 (naphthalocyanines)、三苯基次甲基 (triphenylmethines)、卟啉、吡喃鎓 (pyrilium) 染料、噻喃鎓 (thiapyrilium) 染料、squarylium 染料、croconium 染料、azulenium 染料、靛苯胺 (indoaniline)、benzophenoxazinium 染料、benzothiaphenothiazinium 染料、蒽醌、萘醌 (naphthoquinones)、indathrenes、邻苯二甲酰吡啶酮、三苯酚合萘醌 (trisphenoquinones)、偶氮染料、分子内和分子间电荷转移染料和染料络合物、环庚三烯酮、四嗪、双(二硫纶)络合物 (bis(dithiolene)complexes)、双(苯二硫醇盐)络合物、碘苯胺 (iodoaniline) 染料、双(S,O-二硫纶)络合物。荧光蛋白质例如绿色荧光蛋白 (GFP) 和具有不同吸收/发射性质的 GFP 修饰也是有用的。在某些背景中使用某些稀土金属 (例如, 铕、钐、铽或镱) 的络合物, 就像荧光纳米晶体 (nanocrystal) (量子点) 一样。

可以使用的发色团的具体例子包括: 荧光素、磺酰罗丹明 101 (sulforhodamine 101) (德克萨斯红 (Texas Red))、罗丹明 B、罗丹明 6G、罗丹明 19、靛青绿、Cy2、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Marina Blue、Pacific Blue、Oregon Green 88、Oregon Green 514、四甲基罗丹明、和 Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、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。

特别优选的是在可见或近红外线 (NIR) 区域, 400 nm - 3 μ m, 特别是 600 - 1300 nm 中具有最大吸收的染料。光学成像形式和测量技术包括但不限于: 发光成像; 内窥镜; 荧光内窥镜; 光相干断层摄影术; 透射成像; 时间分辨透射成像; 共焦成像; 非线性显微镜术; 光声成像; 声光成像; 光谱学; 反射光谱; 干涉分析法; 相干干涉分析法; 扩散光学断层摄影术和荧光介导的扩散光学断层摄影术 (连续波、时域和频域系统) 以及光散射、吸收、极化、发光、荧光寿命、量子产率和猝灭测

量。

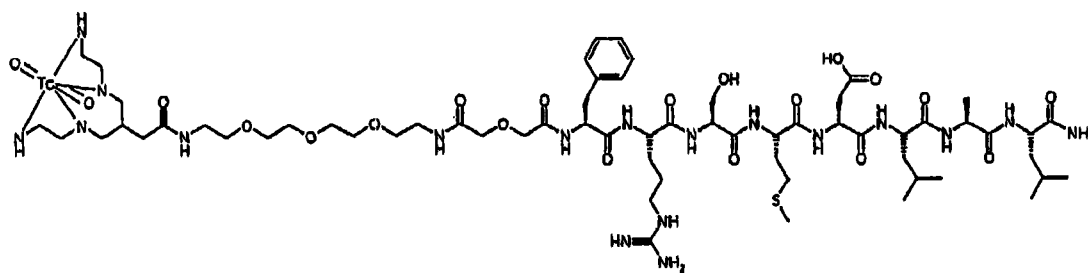
当成像部分是适合于血管内检测的 β -射线发射体时,合适的此种 β -射线发射体包括射电金属 ^{67}Cu 、 ^{89}Sr 、 ^{90}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 或 ^{192}Ir ,和非金属 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{38}S 、 ^{38}Cl 、 ^{39}Cl 、 ^{82}Br 和 ^{83}Br 。

优选的成像部分是在体内施用后可以以非侵入性方式外部检测的那些。最优选的成像部分是放射性的,特别是放射性金属离子、 γ 射线发射放射性卤素和正电子发射放射性非金属,特别是适合于使用SPECT或PET成像的那些。这些成像部分可以通过其掺入每种载体类型内的各种方法在下文本发明的进一步方面的描述中概述。

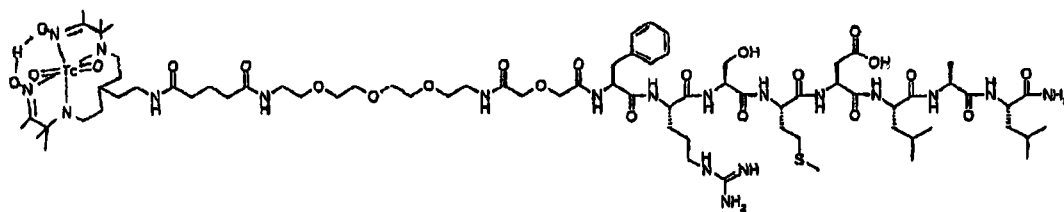
本发明的优选显像剂在体内不经历易实现的代谢,且因此最优选地在人中显示出60-240分钟的体内半衰期。显像剂优选经由肾排泄(即显示出尿排泄)。显像剂优选在患病病灶处显示出至少1.5的信号背景比,最优选地至少5,而至少10是特别优选的。当显像剂包含放射性同位素时,在体内非特异性结合或游离的显像剂峰水平一半的清除优选地在小于或等于成像部分的放射性同位素的放射性衰变半衰期的时间段内发生。

此外,显像剂的分子量适当地最高达5000道尔顿。优选地,分子量为150-3000道尔顿,最优选地200-1500道尔顿,而300-800道尔顿是特别优选的。

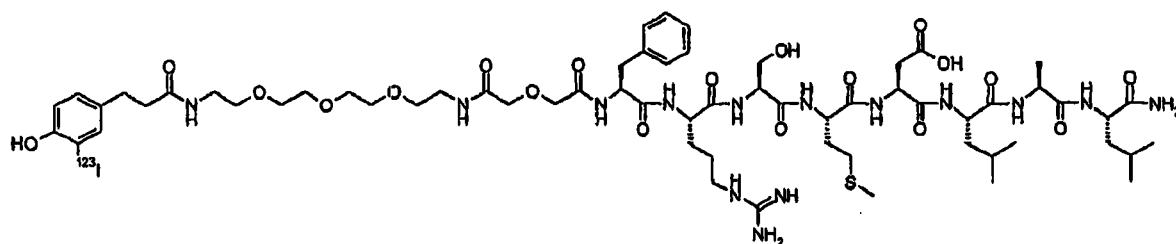
本发明的显像剂的例子在下文举例说明:



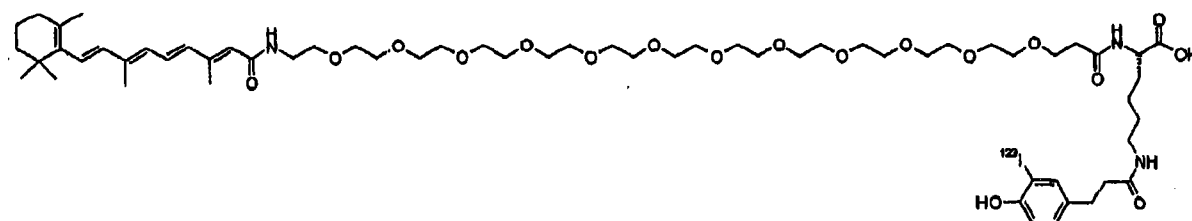
IGF 显像剂 1



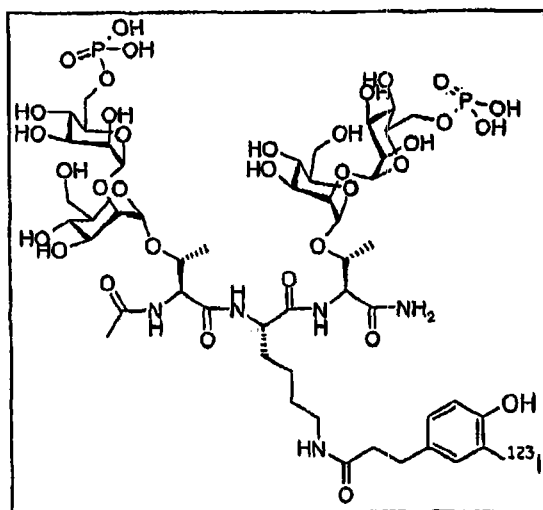
IGF 显像剂 2



IGF 显像剂 3



视黄酸显像剂 1



糖肽显像剂 1

用于获得上文化合物的合成途径分别在实施例 4、7、8 和 10 中得到描述。

本发明的这个方面的显像剂由前体化合物制备，这具体体现了本发明的进一步方面且在下文更详细地描述。

在进一步的方面，本发明提供了用于制备本发明的显像剂的方法，所述方法包括使前体与合适来源的成像部分反应，其中所述前体包含：

(i) 对于 M6P 受体具有亲和力的载体；和

(ii) 能够与成像部分来源反应的化学基团，从而使得成像部分变得与化合物附着，以导致产生所述显像剂；

其中所述化学基团是所述载体的整合部分或与所述载体缀合。

“前体”包含这样设计的载体衍生物，从而使得与方便化学形式的成像部分的化学反应位点特异性发生；可以以最低限度数目的步骤（理想地单步）进行；并且无需显著纯化（理想地没有进一步的纯化），以产生所需显像剂。此种前体是合成的，并且可以以良好的化学纯度方便地获得。“前体”可以任选包含用于对于 M6P 受体具有亲和力的载体的某些官能团的保护基团。

术语“保护基团”意指基团，其抑制或压制不希望有的化学反应，但设计为足够反应性的，从而使得它在不改变分子其余部分的足够温和的条件下可以与所讨论中的官能团切割开。脱保护后获得所需产物。保护基团是本领域技术人员众所周知的并且适当地选自，对于胺基团：Boc（其中 Boc 是叔丁氧基羰基）、Fmoc（其中 Fmoc 是芴甲氧羰基）、三氟乙酰基、烯丙氧基羰基、Dde[即 1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己基)乙基]或 Npys（即 3-硝基-吡啶亚磺酰基）；和对于羧基：甲酯、叔丁酯或苯甲酯。对于羟基，合适的保护基团是：甲基、乙基或叔丁基；烷氧基甲基或烷氧基乙基；苯甲基；乙酰基；苯甲酰基；三苯甲基（Trt）或三烷基甲硅烷基例如四丁基二甲基甲硅烷基。对于硫醇基，合适的保护基团是：三苯甲基和 4-甲氧苯甲基。进一步的保护基团的使用在‘Protective Groups in Organic Synthesis’, Theodorora W. Greene 和 Peter G. M. Wuts, (第 3 版, John Wiley & Sons, 1999) 中得到描述。

优选地，能够与成像部分来源反应的所述化学基团包含：

(i) 能够使金属成像部分络合的螯合剂；

(ii) 有机金属衍生物, 例如三烷基锡烷或三烷基硅烷;

(iii) 含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物;

(iv) 含有朝向亲核或亲电子取代活化的芳环的衍生物;

(v) 含有经历易实现的烷化的官能团的衍生物; 或,

(vi) 使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物

当成像部分包含金属离子时, 前体包含能够使金属离子络合以形成金属络合物的化学基团。术语“金属络合物”意指金属离子与一种或多种配体的配位络合物。特别优选金属络合物是“对转螯合作用 (transchelation) 抗性的”, 即对于金属配位部位不容易经历与其他潜在地竞争配体的配体交换。潜在地竞争配体包括对于 M6P 受体自身的载体加体外制备中的其他赋形剂 (例如在制备中使用的辐射防护剂或抗微生物性防腐剂) 或体内的内源性化合物 (例如谷胱甘肽、运铁蛋白或血浆蛋白质)。

用于在本发明中使用的、形成对转螯合作用抗性的金属络合物的合适配体包括: 螯合剂, 其中 2-6, 优选地 2-4 金属供电子原子被这样排列, 从而使得产生 5 员或 6 员的螯合环 (通过让碳原子或非配位杂原子的非配位主链连接金属供电子原子); 或包含与金属离子强结合的供电子原子的单齿配体, 例如异腈、膦或 diazenides。作为螯合剂部分与金属良好结合的供电子原子类型的例子是: 胺、硫醇、酰胺、肟和膦。膦形成这样强的金属络合物, 从而使得甚至单齿或二齿膦都形成合适的金属络合物。异腈和 diazenides 的线性几何学是这样的, 从而使得它们不易于容易地掺入螯合剂内, 且因此一般用作单齿配体。合适的异腈例子包括简单的烷基异腈例如叔丁基异腈, 和醚取代的异腈例如 mibi (即 1-异氰基-2-甲氧基-2-甲基丙烷)。合适的膦例子包括替曲膦 (Tetrofasmín)、和单齿膦例子如三 (3-甲氧基丙基) 膦。合适的 diazenides 例子包括配体的 HYNIC 系列, 即肼取代的吡啶或烟酰胺。

用于形成对转螯合作用抗性的金属络合物的钆的合适螯合剂例子包括但不限于:

(i) 二胺二肟;

(ii) 具有硫醇三酰胺供体组例如 MAG_3 (巯基乙酰基三甘氨酸) 的 N_3S 配体和相关配体; 或具有二酰胺吡啶硫醇供体组例如 Pica;

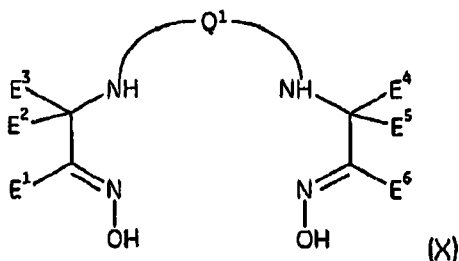
(iii) 具有二胺二硫醇供体组例如 BAT 或 ECD (即双半胱乙酯 (ethylcysteinate dimer)), 或酰胺胺二硫醇供体组例如 MAMA 的 N_2S_2 配体;

(iv) 是开链的 N_4 配体或具有四胺、酰胺三胺或二酰胺二胺供体组例如 1,4,8,11-四-吡环四癸烷(cyclam)、monoxocyclam 或 dioxocyclam 的大环配体; 或

(v) 具有二胺联苯酚供体组的 N_2O_2 配体。

用于镓的本发明的优选整合剂是二胺二肟和四胺, 现在更详细地描述其优选形式。

优选的二胺二肟具有式 (X):



其中 $E^1 - E^6$ 各自独立地是 R^* 基团;

每个 R^* 是 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} 羟烷基、 C_{1-10} 氟烷基、 C_{2-10} 羧基烷基或 C_{1-10} 氨基烷基, 或 2 个或更多 R^* 基团连同它们与之附着的原子一起形成碳环、杂环、饱和或不饱和的环, 并且其中一个或多个 R^* 基团与载体缀合;

且 Q^1 是式- $(J^1)_f$ 的桥连基;

其中 f 是 3、4 或 5, 且每个 J^1 独立地是 $-O-$ 、 $-NR^*$ 或 $-C(R^*)_2-$, 前提是- $(J^1)_f$ 包含最多 1 个是 $-O-$ 或 $-NR^*$ 的 J^1 基团。

优选的 Q^1 基团如下:

$Q^1 = -(CH_2)(CHR^*)(CH_2)-$ 即丙二胺肟或 PnAO 衍生物;

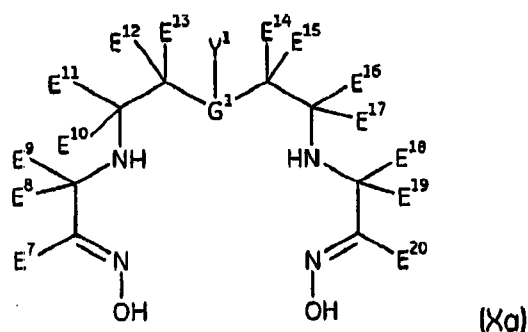
$Q^1 = -(CH_2)_2(CHR^*)(CH_2)_2-$ 即戊二胺肟或 PentAO 衍生物;

$Q^1 = -(CH_2)_2NR^*(CH_2)_2-$ 。

$E^1 - E^6$ 优选地选自: C_{1-3} 烷基、烷基芳基 烷氧基烷基、羟烷基、氟烷基、羧基烷基或氨基烷基。最优选地, 每个 $E^1 - E^6$ 基团是 CH_3 。

对于 M6P 受体的载体优选地在 E^1 或 E^6 R^* 基团, 或 Q^1 部分的 R^*

基团处缀合。最优选地，它与 Q^1 部分的 R^* 基团缀合。当它与 Q^1 部分的 R^* 基团缀合时， R^* 基团优选地在桥头位置处。在那种情况下， Q^1 优选地是 $-(CH_2)(CHR^*)(CH_2)-$ 、 $-(CH_2)_2(CHR^*)(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2NR^*(CH_2)_2-$ ，最优选地 $-(CH_2)_2(CHR^*)(CH_2)_2-$ 。特别优选的双功能二胺二肟螯合剂具有式 (Xa)：



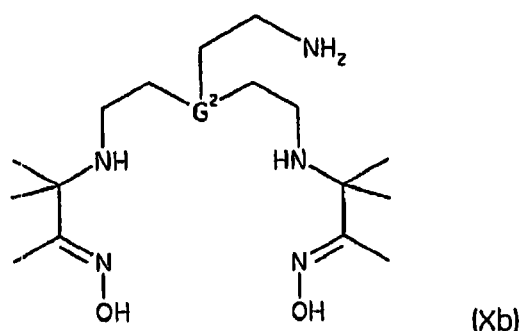
其中：

$E^7 - E^{20}$ 各自独立地是如上定义的 R^* 基团；

G^1 是 N 或 CR^* ；

Y^1 是 $-(L^6)_s$ -载体，其中 L^6 和 s 如上文对于 L^1 和 n 定义的，且‘载体’代表如前定义的对于 M6P 受体具有亲和力的载体。当存在接头基团 $-(L^6)_s$ -时，不存在使螯合物与载体连接的其他接头基团。

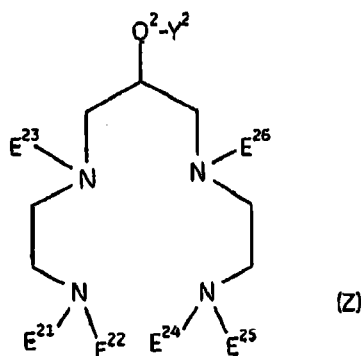
式 (Xa) 的优选螯合剂具有式 (Xb)：



其中 G^2 如上文对于 G^1 定义的，且优选地是 CH (=“螯合物 X”，关于其的合成在实施例 5 中得到描述)；

从而使得对于 M6P 受体的载体经由桥头 $-CH_2CH_2NH_2$ 基团缀合。

本发明的优选四胺螯合剂具有式 Z:



其中:

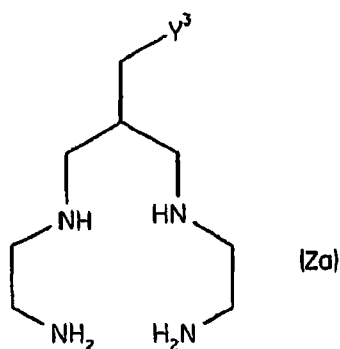
Q^2 是式- $(J^2)_g$ -的桥连基;

其中 g 是 1-8, 且每个 J^2 独立地是 $-O-$ 、 $-NR^*$ -或 $-C(R^*)_2-$, 优选地 $-C(R^*)_2-$ 和最优选地 $-CH_2-$, 其中 R^* 如前定义。

Y^2 是基团- $(L^7)_t$ -载体, 其中 L^7 和 t 如前文对于 L^1 和 n 定义的。当存在接头- $(L^7)_t$ -时, 不存在使螯合物与载体连接的其他接头。优选地对于这些四胺螯合物, 接头不包含芳基环。这帮助使络合物的亲脂性降到最低。

$E^{21} - E^{26}$ 是如前定义的 R^* 基团。

本发明的最优选的四胺螯合物具有式 Za:



其中 Y^3 如上文对于 Y^2 定义的。

本发明的特别优选的四胺螯合物具有式 Za, 其中 Y^3 是 $-CO-$ 载体 (“螯合物 Z”, 没有附着载体的螯合物的合成在实施例 2 中得到描述)。

上述配体特别适合于使得例如 ^{94m}Tc 或 ^{99m}Tc 络合, 并且由 Jurisson

等人[Chem.Rev., 99, 2205-2218 (1999)]更充分地描述。配体对于其他金属也是有用的,例如铜(^{64}Cu 或 ^{67}Cu)、钒(例如 ^{48}V)、铁(例如 ^{52}Fe)、或钴(例如 ^{55}Co)。其他合适的配体在 Sandoz WO 91/01144 中得到描述,所述专利包括特别适合于钷、钷和钷的配体,特别是大环氨基羧酸酯和氨基磷酸配体。这种类型的合适螯合剂的例子包括 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)和二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)。形成钷的非离子(即中性)金属络合物的配体是已知的且在 US 4885363 中得到描述。当射电金属离子是钷时,配体优选是四齿的螯合剂。用于钷的优选螯合剂是二胺二胍,或具有如前所述的 N_2S_2 或 N_3S 供体组的那些。

设想接头基团[上文定义为 $-(\text{L}^6)_s-$ 或 $-(\text{L}^7)_t-$]的作用是使相对大的金属络合物远离,这在金属配位后由载体对于 M6P 受体的活性位点产生,从而使得例如受体结合不受损害。这可以通过柔性(例如简单的烷基链)组合来达到,从而使得大基团具有使其本身定位远离活性位点的自由和/或刚性,例如使金属络合物远离活性位点定向的环烷基或芳基间隔基。接头基团的特性也可以用于修饰缀合物的所得到的金属络合物的生物分布和排泄性质。因此,例如在接头中引入醚基将帮助使血浆蛋白质结合降到最低,或使用聚合接头基团例如聚(亚烷基)二醇,特别是 PEG(聚乙二醇)可以帮助延长试剂在体内血液中的寿命。

优选的接头基团 $-(\text{L}^6)_s-$ 或 $-(\text{L}^7)_t-$ 具有这样的主链,其包含 2-10 个原子,最优选地 2-5 个原子,而 2 或 3 个原子是特别优选的。2 个原子的最低限度接头基团主链赋予下述优势:螯合剂与生物学靶向部分充分分开,从而使得任何相互作用降到最低。此外,载体不太可能与螯合剂的配位有效竞争金属离子。这样,载体的生物学靶向特征和螯合剂的金属络合能力得到维持。特别优选对于 M6P 受体的载体与螯合剂以这样的方式结合,从而使得连接在血液中不经历易实现的代谢。这是因为此种代谢将导致成像金属络合物在对于 M6P 受体的标记的载体达到所需的体内靶位点前被切割掉。对于 M6P 受体的载体因此优选经由不容易被代谢的接头基团与本发明的金属络合物共价结合。合适的此种连接是碳-碳键、酰胺键、脲或硫脲键、或醚键。

非肽接头基团例如亚烷基或亚芳基具有下述优势:不存在与对于 M6P 受体的缀合载体的显著氢键合相互作用,从而使得接头不包缠在载

体上。优选的亚烷基间隔基是 $-(\text{CH}_2)_u-$ ，其中 u 是值 2-5 的整数。优选地 q 是 2 或 3。优选的亚芳基间隔基具有下式：



其中： a 和 b 各自独立地是 0、1 或 2。

优选的 $Y^1 - Y^3$ 基团因此是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{L}^8)_v-$ ，其中 v 是值 0-3 的整数。

当载体是肽时， $Y^1 - Y^3$ 优选地是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{L}^9)_w-$ ，其中 L^9 是 $-\text{CO}-$ 或 $-\text{NR}^m-$ ，且 w 是 0-3，其中 R^m 如上文对于 R 定义的。当 G^1 或 G^2 是 N ，且 $-(\text{L}^9)_w-$ 是 $-\text{NH}-$ 时，这种基 (grouping) 具有它起源于对称的中间体 $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_3$ 的另外优势，所述中间体 $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_3$ 是商购可得的。

当成像金属是铊时，通常的铊原材料是高铊酸盐，即处于 $\text{Tc}(\text{VII})$ 氧化状态的铊的 TcO_4^- 。高铊酸盐其本身不容易形成金属络合物，因此铊络合物的制备通常需要添加合适的还原剂例如亚锡离子，以通过使得的氧化状态还原至较低的氧化状态来促进络合，通常为 $\text{Tc}(\text{I})$ 至 $\text{Tc}(\text{V})$ 。溶剂可以是有机或水性的，或其混合物。当溶剂包含有机溶剂时，有机溶剂优选地是生物相容性溶剂，例如乙醇或 DMSO。优选地溶剂是水性的，且最优选地是等渗盐水。

当成像部分是放射性碘时，优选的前体是包含衍生物的那些，所述衍生物经历亲电子或亲核碘化或经历与标记的醛或酮的缩合。第一类的例子是：

(a) 有机金属衍生物，例如三烷基锡烷（例如三甲基甲锡烷基或三丁基甲锡烷基），或三烷基硅烷（例如三甲基甲硅烷基），或有机硼化合物（例如硼酸酯 (boronate ester) 或有机三氟硼酸盐）；

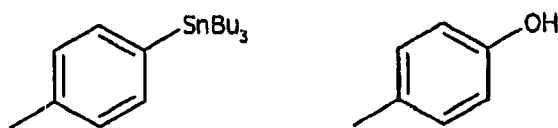
(b) 用于卤素交换的非放射性烷基溴或用于亲核碘化的对甲苯磺酸烷基酯、甲磺酸烷基酯或三氟甲磺酸烷基酯；

(c) 朝向亲电子碘化活化的芳环（例如苯酚）和朝向亲核碘化活化的芳环（例如芳基碘鎓盐芳基重氮，芳基三烷基铵盐或硝基芳基衍生物）。

前体优选包含：非放射性卤素原子例如芳基碘或溴（以允许放射性碘交换）；活化的前体芳基环（例如苯酚基）；有机金属前体化合物（例如三烷基锡、三烷基甲硅烷基或有机硼化物）；或有机前体例如三氮烯或用于亲核取代的良好离去基团例如碘鎓盐。优选地对于放射性碘化，前体包含有机金属前体化合物，最优选地三烷基锡。

将放射性碘引入有机分子内的前体和方法由 Bolton [J.Lab.Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002)] 描述。将放射性碘引入蛋白质内的前体和方法由 Wilbur [Bioconj.Chem., 3 (6), 433-470 (1992)] 描述。合适的硼酸酯有机硼化合物及其制备由 Kabalaka 等人 [Nucl.Med.Biol., 29, 841-843 (2002) 和 30, 369-373 (2003)] 描述。合适的有机三氟硼酸盐及其制备由 Kabalaka 等人 [Nucl.Med.Biol., 31, 935-938 (2004)] 描述。

放射性碘可以与之附着的芳基例子在下文给出：



两者都包含允许在芳环上易实现的放射性碘取代的取代基。包含放射性碘的可替代的取代基可以通过经由放射性卤素交换的直接碘化来合成，例如

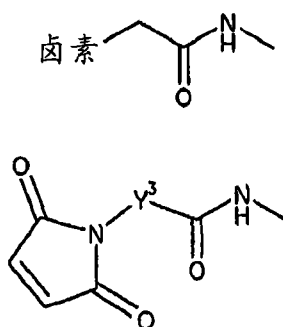


放射性碘原子优选地经由直接的共价键与芳环例如苯环或乙烯基附着，因为已知与饱和脂族系统结合的碘原子易于在体内代谢且因此失去放射性碘。

当成像部分是氟的放射性同位素时，放射性氟原子可以形成氟烷基或氟烷氧基的部分，因为烷基氟对于体内代谢有抗性。可替代地，放射性氟原子可以经由直接的共价键与芳环例如苯环附着。放射性卤化可以经由直接标记使用 ^{18}F -氟化物与具有良好的离去基团的前体中合适的化

学基团的反应来进行, 所述前体例如烷基溴、甲磺酸烷基酯或对甲苯磺酸烷基酯。 ^{18}F 还可以通过 N-卤乙酰基由 $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ 反应剂的烷化而引入, 以产生 $-\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$ 衍生物。对于芳基系统, 来自芳基重氮盐、芳基硝基化合物或芳基季铵盐的 ^{18}F -氟化物亲核置换是到芳基- ^{18}F 衍生物合适途径。

如 WO 03/080544 中所述的用于放射性氟化的进一步方法是使包含下述取代基之一的前体化合物



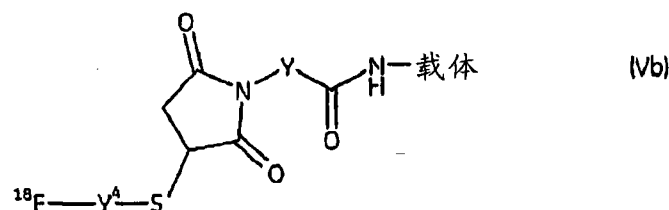
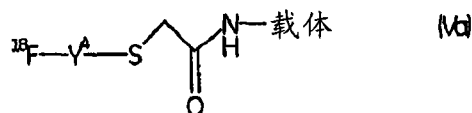
与式 V 的化合物反应:



其中 Y^3 是具有式 $-(\text{L}^{10})_x-$ 的接头, 其中 L^{10} 如前文对于 L^1 定义的, x 是 1 - 10 且任选包括 1 - 6 个杂原子; 且,

Y^4 是具有式 $-(\text{L}^{11})_y-$ 的接头, 其中 L^{11} 如前文对于 L^1 定义的, y 是 1 - 30 且任选包括 1 - 10 个杂原子;

以分别产生式 (Va) 或 (Vb) 的放射性氟化显像剂:

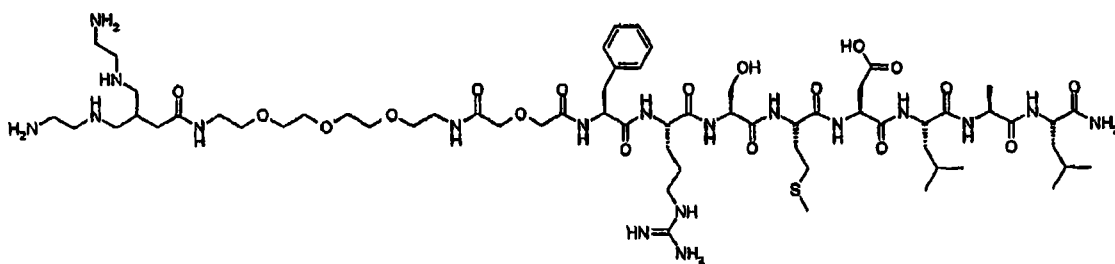


其中 Y^4 如上定义，且‘载体’是如上文相对于本发明显像剂定义的对 M6P 受体具有亲和力的载体。

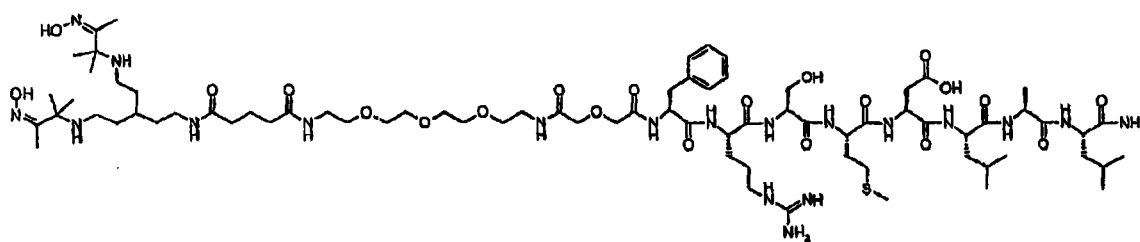
到 ^{18}F -标记的衍生物的合成途径的进一步细节由 Bolton, J.Lab.Comp.Radiopharm., 45, 485-528 (2002) 描述。

本发明的 ^{18}F -标记的化合物可以通过 ^{18}F 氟二烷基胺形成和随后当 ^{18}F 氟二烷基胺与包含例如氯、 $\text{P}(\text{O})\text{Ph}_3$ 或活化酯的前体反应时的酰胺形成来获得。

当载体是 IGF-II 或其片段或类似物时，成像部分可以经由其氨基或羧基末端掺入。当存在接头时，成像部分可以经由其中的任何反应基团掺入。例如，可以给 IGF-II aa 48-55 的氨基末端添加接头，其后添加适合于掺入成像部分的化学基团，以产生例如如下的前体化合物：

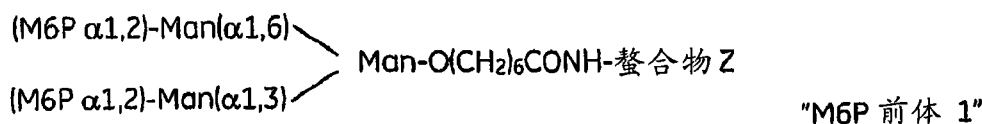


“IGF 前体 1” (合成在实施例 3 中得到描述)



“IGF 前体 2” (合成在实施例 6 中得到描述)

当载体包含 M6P 时，成像部分可以通过下述而掺入，使如上所述的优选化合物的羧甲基衍生化，以产生前体化合物例如：

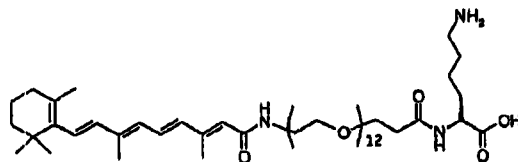


当载体是二磷酸化糖肽时，成像部分可以例如经由肽中存在的氨基酸残基之一掺入，所述肽连接 M6P 单位以形成前体化合物，例如：

(iii) Ac-Thr[α -D-M6P- (1,2) - α -D-甘露糖]-Lys (螯合物) -Thr[α -D-M6P- (1,2) - α -D-甘露糖]-NH₂ (“糖肽前体 1”)

(iv) Ac-Thr[α -D-M6P]-Gly-Lys- (螯合物) -Gly-Thr[α -D-M6P]-NH₂ (“糖肽前体 2”)

当载体是视黄酸或其衍生物时，成像部分可以经由羧基直接或经由接头间接掺入。羧基是用于掺入成像部分的最优选位点，因为它对于与 M6P 受体的结合不是必需的。具有接头和能够与成像部分来源反应的化学基团的视黄酸前体化合物的例子是：



“视黄酸前体 1” (合成在实施例 9 中描述)

视黄酸是亲脂化合物且同样地，当它与金属络合螯合物缀合以形成前体化合物时，它应当与亲水金属络合螯合物例如四胺缀合。

在组合载体的情况下，任何元件都可以如上文讨论的经由合适的基团进行衍生化，所述合适的基团对于衍生化以形成前体是可用的。

在优选实施方案中，本发明的前体是无菌、无热原形式的。前体因此可以用于制备药物组合物，且同样适合于作为组分包括在用于制备药物组合物的试剂盒中。这些方面在下文相对于本发明的另外方面更详细地讨论。

在进一步优选的实施方案中，本发明的前体与固相结合。优选提供以这样的方式与固体支持体基质共价附着的前体，从而使得标记反应导致同时标记和从固相切割。所需的显像剂产物因此在溶液中形成，并且任何原材料和杂质都保持与固相结合。作为此种系统的例子，对于由 ¹⁸F-氟化物进行固相亲电子氟化的前体在 WO 03/002489 中得到描述，且对于由 ¹⁸F-氟化物进行固相亲核氟化的前体在 WO 03/002157 中得到描述。可以提供药液筒，优选地作为试剂盒的部分，所述药液筒可以插入合适

地适应的自动化合成仪内。除了固体支持体结合的前体外，药液筒可以包含柱以去除不需要的氟化物离子，和连接的合适容器以便允许反应混合物被蒸发且允许产物根据需要进行配制。

本发明的进一步方面是如相对于显像剂的制备方法定义的前体，其中所述化学基团优选地：

- (i) 包含能够使金属成像部分络合的螯合剂；
- (ii) 包含有机金属衍生物，例如三烷基锡烷或三烷基硅烷；
- (iii) 包含含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物；或，
- (iv) 包含使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物。

在进一步的方面，本发明提供了适合于哺乳动物施用形式的包含如上所述的显像剂连同生物相容性载体的药物组合物。优选地，药物组合物是放射性药物组合物。

“生物相容性载体”是流体，特别是液体，其中显像剂是悬浮或溶解的，从而使得组合物是生理学耐受的，即可以给哺乳动物身体施用而无毒性或过度不适。生物相容性载体介质适当地是可注射的载体液体，例如无菌、无致热原注射用水；水溶液例如盐水（其可以有利地进行平衡从而使得用于注射的最终产物是等渗或不是低渗的）；一种或多种张力调节物质（例如血浆阳离子与生物相容性抗衡离子的盐）、糖（例如葡萄糖或蔗糖）、糖醇（例如山梨糖醇或甘露糖醇）、甘醇（例如甘油）、或其他非离子多元醇材料（例如聚乙二醇、丙二醇等）的水溶液。生物相容性载体介质还可以包含生物相容性有机溶剂例如乙醇。此种有机溶剂对于溶解更亲脂的化合物或制剂是有用的。优选地生物相容性载体介质是无致热原注射用水、等渗盐水或乙醇水溶液。用于静脉内注射的生物相容性载体介质的 pH 适当地是 4.0 - 10.5。

此种药物组合物适当地在任一装备封口的容器中提供，所述封口适合于用皮下注射针头单次或多次穿刺（例如压褶（crimped-on）隔膜封口密封），同时维持无菌完整性。此种容器可以包含单份或多份患者剂量。优选的多份剂量容器包含单体积小瓶（例如 10 - 30 cm³ 体积），所述小瓶包含多份患者剂量，由此单份患者剂量因而可以在制备的可行使用期限以各种时间间隔抽取到临床级别的注射器内以适应临床情况。预装填注射器被设计为包含单份人剂量，或“单位剂量”且因此优选是一次

性的或适合于临床使用的其他注射器。当药物组合物是放射性药物组合物时，预装填注射器可以任选地装备注射器罩（shield）以保护操作者不受放射性剂量。合适的此种放射性药物注射器罩是本领域已知的且优选包含铅或钨。

本发明的药物组合物可以由试剂盒制备，如下文本发明的进一步方面中描述的。可替代地，药物组合物可以在无菌制备条件下进行制备以产生所需无菌产物。药物组合物还可以在非无菌条件下进行制备，随后为使用例如 γ 辐照、高压灭菌、干热或化学处理（例如用环氧乙烷）的最终灭菌。优选地，本发明的药物组合物由试剂盒制备。

如上文相对于本发明的显像剂描述的，对于放射性药物组合物本发明的最优的放射性成像部分是 ^{99m}Tc 、 ^{123}I 和 ^{18}F 。

在另外一个进一步的方面，本发明提供了用于制备本发明的药物组合物的试剂盒。此种试剂盒包含本发明的合适前体，优选为无菌非致热原形式，从而使得以最低限度数目的操作与无菌来源的成像部分的反应产生所需药物组合物。此类考虑对于放射性药物是特别重要的，特别是当放射性同位素具有相对短的半衰期时，且为了易于操作和因此减少对于放射性药物工作者的辐射剂量。因此，用于重构此种试剂盒的反应介质优选是如上定义的“生物相容性载体”，且最优选是水性的。

合适的试剂盒容器包含允许维持无菌完整性和/或放射性安全性的密封容器，任选地加上惰性顶空气体（例如氮或氩），同时允许通过注射器添加和抽取溶液。优选的此种容器是隔膜密封的小瓶，其中气密密封由顶封（overseal）（一般为铝）压褶。此种容器具有下述另外优点：若需要，密封可以经得住真空，例如以改变顶空气体或给溶液除气。

在试剂盒中使用前体的优选方面如上文相对于本发明的显像剂的合成方法中所述的。用于在试剂盒中使用的前体可以在无菌制备条件下使用以产生所需无菌、非致热原材料。前体还可以在非无菌条件下使用，随后为使用例如 γ 辐照、高压灭菌、干热或化学处理（例如用环氧乙烷）的最终灭菌。优选地，前体可以以无菌、非致热原形式使用。最优选地无菌、非致热原前体在如上所述的密封容器中使用。

优选地提供与固体支持体基质共价附着的试剂盒的前体，如上文相对于本发明的显像剂的合成方法所述的。

对于 ^{99m}Tc ，试剂盒优选是冻干的，且被设计为用来自 ^{99m}Tc 放射性

同位素发生器的无菌 ^{99m}Tc -高锝酸盐 (TcO_4^-) 重构, 以产生无需进一步操作适合于人施用的溶液。合适的试剂盒包含容器 (例如隔膜密封瓶), 其含有未络合的螯合剂, 连同药学上可接受的还原剂, 例如连二亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、抗坏血酸、甲脒亚磺酸、亚锡离子、 $\text{Fe}(\text{II})$ 或 $\text{Cu}(\text{I})$; 连同至少一种弱有机酸与生物相容性阳离子的盐。术语“生物相容性阳离子”意指与离子化、带负电荷基团形成盐的带正电荷抗衡离子, 其中所述带正电荷抗衡离子也是无毒的且因此适合于给哺乳动物身体, 特别是人身体施用。合适的生物相容性阳离子的例子包括: 碱金属钠或钾; 碱土金属钙和镁; 和铵离子。优选的生物相容性阳离子是钠和钾, 最优选钠。

用于制备 ^{99m}Tc 显像剂的试剂盒可以任选进一步包含第二种、弱有机酸或其与生物相容性阳离子的盐, 其充当转螯合剂 (transchelator)。转螯合剂是这样的化合物, 其快速反应以与锝形成弱络合物, 随后由试剂盒的螯合剂取代。由于与锝络合竞争的高锝酸盐的快速还原, 这使形成还原的水解锝 (RHT) 的危险降到最低。合适的此种转螯合剂是上述弱有机酸及其盐, 优选地酒石酸盐、葡糖酸盐、葡庚糖酸盐、苯甲酸盐或膦酸盐, 优选地膦酸盐, 最优选地二膦酸盐。优选的此种转螯合剂是 MDP, 即亚甲基二膦酸, 或其与生物相容性阳离子的盐。

作为使用游离形式的螯合剂的可替代方法, 用于制备 ^{99m}Tc 显像剂的试剂盒可以任选地包含螯合剂的非放射性金属络合物, 其在添加锝后经历产生所需产物的金属转移作用 (即配体交换)。用于金属转移作用的合适的此种络合物是铜或锌络合物。

试剂盒中使用的药学上可接受的还原剂优选地是亚锡盐例如氯化亚锡、氟化亚锡或酒石酸亚锡, 且可以是无水或水合形式。亚锡盐优选地是氯化亚锡或氟化亚锡。

试剂盒可以任选地进一步包含另外组分例如辐射防护剂、抗微生物性防腐剂、pH 调节剂或充填剂。

术语“辐射防护剂”意指通过捕获高度反应性的自由基, 例如起于水的辐解作用的含氧自由基抑制降解反应, 例如氧化还原过程的化合物。本发明的辐射防护剂适当地选自: 抗坏血酸、对氨基苯甲酸 (即 4-氨基苯甲酸)、龙胆酸 (即 2,5-二羟基苯甲酸) 及其与生物相容性阳离子的盐。“生物相容性阳离子”及其优选实施方案如上所述。

术语“抗微生物性防腐剂”意指抑制潜在有害的微生物例如细菌、酵母或霉菌的生长的试剂。取决于剂量，抗微生物性防腐剂也可以显示某些杀细菌性质。本发明的一种或多种抗微生物性防腐剂的主要作用是抑制重构后的药物组合物，即显像剂产物本身中任何此种微生物的生长。然而，抗微生物性防腐剂还可以任选地用于抑制在重构前试剂盒的一种或多种组分中潜在有害的微生物的生长。合适的一种或多种抗微生物性防腐剂包括：对羟基苯甲酸酯，即对羟基苯甲酸甲、乙、丙或丁酯或其混合物；苯甲醇；苯酚；甲酚；溴棕三甲胺和硫柳汞。优选的一种或多种抗微生物性防腐剂是对羟基苯甲酸酯。

术语“pH调节剂”意指对确保重构试剂盒的pH在用于人或哺乳动物施用的可接受的限度（约pH 4.0 - 10.5）内有用的化合物或化合物混合物。合适的此种pH调节剂包括药学上可接受的缓冲剂，例如*N*-[2-羟-1,1-二羟甲基乙基]甘氨酸（*tricine*）、磷酸盐或TRIS[即三（羟甲基）氨基甲烷]，和药学上可接受的碱例如碳酸钠、碳酸氢钠或其混合物。当缀合物以酸式盐形式使用时，pH调节剂可以任选地在分开的小瓶或容器中提供，从而使得试剂盒的使用者可以作为多步骤程序的部分调整pH。

术语“充填剂”意指可以促进生产和冻干过程中的材料处理的药学上可接受的填充剂。合适的充填剂包括无机盐例如氯化钠，和水溶性糖或糖醇例如蔗糖、麦芽糖、甘露糖醇或海藻糖。

本发明的显像剂对于体内成像是有用的。因此，在另外的方面，本发明提供了用于在体内诊断或成像法例如SPECT或PET中使用的本发明的显像剂。优选地所述方法涉及其中M6P受体上调的状况的体内成像，且因此在与纤维化相关的状况诊断中 useful，所述状况例如肝纤维化、充血性心力衰竭、肾小球硬化症和呼吸衰竭。在最优选的实施方案中，所述状况是肝纤维化，其中M6P受体已知在HSC上和肝实质细胞上是上调的。

本发明的这个方面还提供了用于受试者中其中M6P受体上调的状况的体内诊断或成像的方法，所述方法包括施用上述的本发明的药物组合物。所述受试者优选地是哺乳动物且最优选是人。在可替代的实施方案中，本发明的这个方面另外提供了本发明的显像剂用于受试者中其中M6P受体上调的状况的体内成像的用途，其中所述受试者先前施用本发明的药物组合物。“先前施用”意指其中药物例如静脉内注射给予患者的

涉及临床医生的步骤先前已进行。

本发明的这个方面还包含本发明的显像剂在制备用于其中 M6P 受体上调的状况体内诊断成像的药物中的用途。

在本发明的另一个进一步的方面，提供了监控用药物治疗人或动物身体以对抗其中 M6P 受体上调的状况的作用的方法，所述方法包括给所述身体施用本发明的显像剂且检测所述显像剂的摄取，所述施用和检测任选但优选重复实现，例如在用所述药物治疗之前、期间和之后。

实施例简述

实施例 1 描述了与 PEG 接头连接的 IGF-II 的 aa48 - 55 肽片段(IGF 化合物 1)的合成。

实施例 2 描述了受保护的四胺螯合物化合物，四-Boc-四胺 NHS 酯(受保护的螯合物 Z)的合成。

实施例 3 描述了使螯合物 Z 与 IGF-II 的 aa48 - 55 肽片段连接所需的步骤，所述肽片段与 PEG 接头连接，以生产适合于用 ^{99m}Tc 标记的本发明的前体(IGF 前体 1)。

实施例 4 描述了如何用 ^{99m}Tc 标记 IGF 前体 1 以形成 IGF 显像剂 1。

实施例 5 描述了二胺二肟螯合物，螯合物 X (即式 Xb 其中 G = C)的合成。

实施例 6 描述了使螯合物 X 与 IGF-II 的 aa48 - 55 肽片段连接所需的步骤，所述肽片段与 PEG 接头连接，以生产适合于用 ^{99m}Tc 标记的本发明的前体(IGF 前体 2)。

实施例 7 描述了如何用 ^{99m}Tc 标记 IGF 前体 2 以形成 IGF 显像剂 2。

实施例 8 描述了使碘化的 Bolton-Hunter 基团与 IGF-II 的 aa48 - 55 肽片段连接所需的步骤，所述肽片段与 PEG 接头连接，以生产非放射性形式的本发明的放射性碘化的显像剂(非放射性 IGF 显像剂 3)。

实施例 9 描述了视黄酸衍生物视黄酰(retinoyl)-PEG-Lys(视黄酸前体 1)的合成。

实施例 10 描述了使碘化的 Bolton-Hunter 基团与视黄酸衍生物视黄酰-PEG-Lys 连接所需的步骤，以生产非放射性形式的本发明的放射性碘化的显像剂(非放射性视黄酸显像剂 1)。

实施例 11 提供了 ^{123}I 标记的糖肽显像剂 1 的合成。

实施例

实施例中使用的缩写列表

AcOH	乙酸
C18	18个碳原子的链
DCM	二氯甲烷
Dde	二氯二苯二氯乙烯
DMF	二甲基甲酰胺
EMS	乙基甲基硫化物
FMoc	9-芴甲氧羰基
HATU	O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯
HBTU	O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯
HPLC	高效液相层析
MBHA	4-甲基二苯甲基胺
NHS	N-羟基琥珀酰亚胺
NMM	N-甲基吗啉
OtBu	叔丁基酯
PEG	聚乙二醇
Pmc	2,2,5,7,8-五甲基苯并二氢吡喃-6-磺酰基
tBu	叔丁基
TFA	三氟乙酸
TFE	四氟乙烯
TIS	三异丙基硅烷。

实施例 1: IGF 化合物 1 [H-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg-Ser-Met-Asp-Leu-Ala-Leu-NH₂] 的合成

肽基-树脂 H-Phe-Arg (Pmc) -Ser (tBu) -Met-Asp (OtBu) -Leu-Ala-Leu-R 在 Applied Biosystems 433A 肽合成仪上使用 Fmoc/tBu 策略从 0.25 mmol Fmoc-Rink 酰胺 MBHA Resin 开始装配。使用 HBTU 的过量 1 mmol 预活化氨基酸应用于偶联步骤中。

将 Fmoc-氨基 PEG 二乙醇酸 (1 mmol)、HATU (1 mmol) 和 N-甲基吗啉 (2 mmol) 溶解于 DMF 中且静置 5 分钟。将混合物加入来自上文的肽基-树脂中, 且使得反应过夜。最终的 Fmoc-脱保护使用溶于

DMF 的 20% 哌啶来完成。

将肽基-树脂 (0.05 mmol) 用溶于 TFA (10 mL) 的 2.5% 水、2.5% EMS 和 2.5% TIS 溶液处理 2 小时。通过过滤去除树脂且使滤液在真空中蒸发。将二乙醚加入残渣中。所得到的沉淀用醚洗涤且风干。

通过制备型 HPLC (梯度: 10-40 % B 经过 40 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 31.5 分钟) 纯化粗材料提供 6 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 10-40 % B 经过 10 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 7.89 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH⁺: 1241.7, 发现的 MH⁺: 1247.7)。

实施例 2: (8-氨基-2-[[叔丁氧基羰基-(2-叔羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基]-辛基)-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基甲酸叔丁基酯 (受保护的螯合物 Z) 的合成

步骤 (a): 2-(6-氯-己氧基) 四氢吡喃。

将 6-氯己醇 (6.85 g, 10 mmol) 和对甲苯磺酸 (500 mg) 溶解于干醚 (75 ml) 中且在冰浴中冷却至 0 - 5°C。在 30 分钟的时间段内伴随不断搅拌逐滴添加溶于干醚 (25 ml) 的二氢吡喃 (4.3 g, 10 mmol)。添加完成后, 去除冷却浴并继续搅拌 16 小时。用水 (50 ml x 2) 萃取溶液, 干燥 (MgSO₄), 过滤且在减压下蒸发溶剂以留下浅黄色油。这种油经由 ¹³C NMR 光谱学显示足够纯以无需纯化而在后续反应中使用。得率 10.1 g (91 %)。

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.30 - 1.71 (14H, m, CH₂ x 7), 3.24 - 3.32 (1H, m, CH), 3.41 - 3.48 (3H, m, CH 和 CH₂), 3.60 - 3.67 (1H, m, CH), 3.72 - 3.82 (1H, bm, CH), 4.44 - 4.49 (1H, bm, OCHO)。

步骤 (b): 2-[6-(四氢吡喃-2-基氧)-己基]-丙二酸二乙酯。

在干氮气层下伴随不断搅拌将少量钠 (1.13 g, 49 mmol) 溶解于无水乙醇 (100 ml) 中。加入一份丙二酸二乙酯 (8.0 g, 50 mmol) 且使溶液在 60°C 下加热 1 小时。加入一份 2-(6-氯-己氧基)-四氢吡喃 (9.3

g, 42.2 mmol), 并且使温度升高至 75 - 80°C 且在这个水平上维持 24 小时。冷却后, 通过过滤去除无机酸且从滤液中蒸发溶剂。将残渣溶解于 CH_2Cl_2 (50 ml) 中, 用水 (30 ml x 2) 萃取, 干燥 (MgSO_4), 过滤且去除挥发物以留下浅黄色油。在硅胶上对这种油实施层析, 其中使用石油醚 (pet ether) 40: 60/醚 (200: 40) 作为洗脱液。所需产物以 $r_f = 0.15$ 洗脱且作为无色油分离。得率 8.7 g (60 %)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1.10 - 1.25 (14H, m, $\text{CH}_3 \times 2$, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.36 - 1.50 (6H, bm, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.70 - 1.81 (2H, bm, CH_2), 3.17 - 3.28 (2H, m, CH_2), 3.56 - 3.66 (1H, m, CH), 3.70 - 3.80 (1H, m, OCH), 4.04 - 4.16 (4H, m, $\text{OCH}_2 \times 2$), 4.03 - 4.08 (1H, m, OCHO).

步骤 (c): $\text{N,N}'$ -双-(2-氨基乙基)-2-[6-(四氢吡喃-2-基氧)-己基]-丙二酰胺。

将 2-[6-(四氢吡喃-2-基氧)-己基]-丙二酸二乙酯 (5.1 g, 14.8 mmol) 溶解于 1,2-二氨基乙烷 (10 g, 167 mmol) 中且在室温下搅拌 16 小时。在真空 (在 0.01 mm Hg 下 40 - 50°C) 中去除挥发物以留下浅绿色粘性残渣, 对所述残渣实施柱层析, 其用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (50 : 50 : 5) 洗脱。标题 (title) 化合物以 r_f 0.2 洗脱且作为浅绿色粘性油收集, 所述油经静置固化。(得率 3.9 g, 71 %)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1.15 - 1.28 (6H, bs, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.39 - 1.44 (6H, bm, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.69 - 1.74 (4H, bm, $\text{CH}_2 \times 2$), 2.64 (4H, bs, $\text{NH}_2 \times 2$), 2.73 (4H, t, $J = 6$ Hz, $\text{CH}_2 \times 2$), 3.08 - 3.29 (6H, m, $\text{CH}_2 \times 3$), 3.35 - 3.41 (1H, m CH), 3.55 - 3.63 (1H, m, CH), 3.70 - 3.78 (1H, m, CH), 4.43 (1H, bt, $J = 4$ Hz, OCHO), 7.78 (2H, bt, $J = 5$ Hz, $\text{OCNH} \times 2$)

IR (薄膜) cm^{-1} : 3417, 3082, 2936, 2862, 1663, 1558, 1439, 1354, 1323, 1261, 1200, 1189, 1076, 1026, 956, 907, 867, 810.

步骤 (d): $\text{N,N}'$ -双(2-氨基乙基)-2-(6-羟基-己基)-丙二酰胺。

在回流下使 $\text{N,N}'$ -双(2-氨基乙基)-2-[6-(四氢吡喃-2-基氧)-己基]-丙二酰胺 (3.9 g, 10.6 mmol)、对甲苯磺酸一水合物 (8.5 g, 3 mmol) 和乙醇 (50 ml) 于 70 - 75°C 加热 16 小时。冷却后, 逐滴加入浓缩的氢氧化铵 (.880) 直至达到持久的 pH 9。经由 Celite 通过过滤去除沉淀的白色固体, 且用乙醇 (30 ml) 洗涤滤饼。在减压 (15 mm Hg, 40°C) 下去除乙醇以留下半固体蜡。在硅胶上对这种残渣实施层析, 其中使用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (100: 50: 10) 洗脱, 且发现标题化合物具有 $r_f =$

0.2。收集这种产物且与乙醇 (100 ml x 3) 共蒸发 (co-evaporate) 以去除任何残留水。获得经静置固化的浅绿色粘性残渣。(得率 2.1 g, 69%)。

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD): δ 1.28 - 1.38 (6H, bs, $\text{CH}_2 \times 3$), 1.46 - 1.55 (2H, bm, CH_2), 1.79 - 1.87 (2H, bm, CH_2), 2.73 (4H, t, $J = 6$ Hz, $\text{H}_2\text{NCH}_2 \times 2$), 3.13 (1H t, $J = 7$ Hz, CH), 3.27 (4H, dt, $J = 6$ 和 2 Hz, $\text{HNCH}_2 \times 2$), 3.53 (2H t, $J = 7$ Hz OCH_2).

Mass spec (Fabs) m/e: -对于 $\text{C}_{13}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) 计算的 289 发现的 289。

步骤 (e): (2-叔丁氧基羰基氨基-乙基-2-[[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基]-8-羟基-辛基)-碳酸叔丁基酯。

在干氮气层下, 经由注射器向溶于二噁烷 (50 ml) 的 $\text{N,N}'$ -双(2-氧乙基)-2-(6-羟基己基)丙二酰胺 (2.1 g, 7.3 mmol) 的搅拌混合物中逐滴加入纯硼烷-二甲基硫化物加合物 (15 ml, 150 mmol)。完全添加后, 在回流下于 110°C 使混合物轻轻加热 5 天。在这个时间段期间残留某些白色固体。冷却后, 在减压下去除挥发物以留下白色固体, 向所述白色固体中逐滴加入甲醇 (50 ml) 从而产生无色溶液。使这种溶液在回流下加热 3 小时, 冷却, 加入浓 HCl (5 ml) 且在回流下于 $70 - 75^\circ\text{C}$ 连续加热 48 小时。去除溶剂以留下粘性绿色残渣, 使所述残渣与甲醇 (100 ml x 3) 共蒸发以留下浅绿色固体。将这种固体再溶解于无水甲醇中且加入无水碳酸钾 (4.0 g, 30 mmol) 随后为二碳酸二叔丁基酯 (7.0 g, 32 mmol)。使混合物于室温搅拌 48 小时。经由 Celite 通过过滤去除无机固体且从滤液中蒸发溶剂以留下粘性残渣。使这种残渣与水 (50 ml) 混合且用 CH_2Cl_2 (50 ml x 3) 萃取。将有机级分组合, 干燥 (MgSO_4), 过滤且蒸发溶剂以留下浅黄色残渣。

注: 在这一点上, 通过 $^{13}\text{C NMR}$ 监控反应是很方便的。

在硅胶上对残渣实施层析, 其中使用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95: 5) 作为洗脱液。标题化合物以 $r_f = 0.41$ 洗脱且作为无色粘性油分离 (得率 2.5 g, 52%)。

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 25.6 (CH_2), 26.4 (CH_2), 28.4 ($\text{CH}_3 \times 12$), 29.8 ($\text{CH}_2 \times 2$), 32.6 (CH_2), 36.5 (非常宽, CH), 39.2 ($\text{NCH}_2 \times 2$, 邻近的 CH), 46.9 (宽单峰, $\text{HNCH}_2 \times 2$), 50.0 (宽单峰, $\text{NCH}_2 \times 2$), 62.4 (HOCH_2), 79.0 ($\text{OC} \times 2$), 79.9 ($\text{OC} \times 2$), 156.4 (宽单峰 $\text{C}=\text{O} \times 4$)

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.05 - 1.18 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.27 (18h, s, $\text{CH}_3 \times 6$, 叔丁基), 1.31 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$, 叔丁基), 1.41 (2H, m, CH_2), 1.81 (1H bs, CH), 2.63 (1H, bs, OH), 2.98 (4H, bs, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.11 (8H, bs, $\text{NCH}_2 \times 4$), 3.44 (2H, t, $J = 8$ Hz, CH_2O), 5.2 (2H, bs, $\text{NH} \times 2$)

Mass Spec (Fabs) m/e: - 对于 $\text{C}_{33}\text{H}_{65}\text{N}_4\text{O}_9$ ($\text{M}+\text{H}$) 计算的 661 发现的 661。

步骤 (f): 甲苯-4-磺酸 8-[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基-氨基)]-7-{[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基}-辛酯。

在室温下使(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基-2-{[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)氨基]-甲基}-8-羟基辛基)-碳酸叔丁基酯 (2.52 g, 3.82 mmol)、对甲苯磺酰氯 (1.0 g, 5.2 mmol)、三乙胺 (1.3 g, 12.8 mmol) 和 CH_2Cl_2 (30 ml) 搅拌, 伴随溶剂的缓慢蒸发。通过碳 NMR 监控反应且在 3 天后残留少许原材料。用 CH_2Cl_2 将反应体积补足至 30 ml, 用水 (50 ml \times 3) 萃取, 干燥 (MgSO_4), 过滤且使溶剂蒸发以留下褐色残渣。在硅胶上对残渣实施层析, 其中使用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (100:5) 作为洗脱液。要洗脱的第一种化合物是 $r_f = 0.95$ 的未反应的甲苯磺酰氯。标题化合物以 $r_f = 0.2$ 洗脱且作为浅黄色粘性油分离。得率 (1.20 g, 39%)。

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.16 (8H, bs, $\text{CH}_2 \times 4$), 1.35 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.39 (18H, s, $\text{CH}_3 \times 6$), 1.88 (1H, bs, CH), 2.38 (3H, s, CH_3 甲苯磺酰基), 3.10 - 3.12 (4H, bs, $\text{NCH}_2 \times 2$), 3.19 (8H, bs, $\text{NCH}_2 \times 4$), 3.93 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2OTs), 5.0 (1H, bs, NH), 5.08 (1H, bs, NH), 7.29 (2H, d, $J = 8$ Hz, $\text{CH} \times 2$, Ar), 7.72 (2H, d, $J = 8$ Hz $\text{CH} \times 2$, Ar)

Mass Spec (Fabs) m/e: - 对于 $\text{C}_{40}\text{H}_{71}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) 计算的 815 发现的 815。

步骤 (g): (8-叠氨基-2-{[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基}-辛基)-(2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基甲酸叔丁基酯。

在回流下于 70 - 75 $^\circ\text{C}$ 使甲苯-4-磺酸 8-[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基

羰基氨基乙基-氨基]-7-{[叔丁氧基羰基-(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)氨基]甲基}-辛酯 (1.105 g, 1.36 mmol)、叠氮化钠 (350 mg, 5.4 mmol) 和甲醇 (10 ml) 加热 16 小时。冷却后, 在减压下于室温去除甲醇直至残留约 1-2 ml。用水 (25 ml) 稀释这种残渣且用 CH₂Cl₂ (25 ml x 4) 萃取。将有机萃取液组合, 干燥 (MgSO₄), 过滤且在室温下蒸发挥发物 (注: 叠氮化物是有可能爆炸的, 并且这个步骤应在安全罩后进行) 以留下浅黄色粘性残渣, 所述残渣是纯态的所需化合物。(得率 820 mg, 88%)。

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.16 (8H, bs, CH₂ x 4), 1.29 (18H, s, CH₃ x 6), 1.33 (18H, s, CH₃ x 6), 1.47 (2H, bt, J = 6.5 Hz CH₂ 邻近的 CH), 1.86 (1H, bs, CH), 2.95 - 3.05 (4H, bs, NCH₂ x 2), 3.05 - 3.20 (10H, bs, NCH₂ x 4 和 CH₂N₃), 5.09 (2H, bs, NH x 2)

IR (薄膜) cm⁻¹ : - 3350, 2974, 2932, 2860, 2097 (强带 N₃), 1694, 1520, 1470, 1418, 1391, 1366, 1250, 1167, 1069, 870, 777.

步骤 (h): (8-氨基-2-{[叔丁氧基羰基-(2-叔羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基}-辛基) - (2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基甲酸叔丁基酯 (化合物 2)。

在 30 个大气压的压力下于室温用氢气处理(8-叠氨基-2-{[叔丁氧基羰基-(2-叔羰基氨基-乙基)-氨基]-甲基}-辛基) - (2-叔丁氧基羰基氨基-乙基)-氨基甲酸叔丁基酯 (820 mg, 1.20 mmol)、在木炭上的 10% 钯 (100 mg) 和甲醇 (10 ml) 16 小时。经由 Celite 通过过滤去除固体, 且用甲醇 (50 ml) 洗涤滤饼。从滤液中去除挥发物以留下粘性油, 所述油是纯态的所需材料。(得率 700 mg, 89%)。

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.08 (8H, bs, CH₂ x 4), 1.23 (18H, s, CH₃ x 6), 1.27 (20H, bs, CH₃ x 6 和 CH₂), 1.77 (1H, bs, CH), 2.40 (2H, bs, NH₂), 2.50 (2H, t, J = 7 Hz, CH₂NH₂), 2.97 (4H, bm, NCH₂ x 2), 3.00 - 3.16 (8H, bm, NCH₂ x 4), 5.21 (1H, bs, NH), 5.30 (1H, bs, NH).

Mass Spec (Fabs) m/e: -对于 C₃₃H₆₆N₅O₈ (M+H) 计算的 660 发现的 660。

实施例 3: IGF 前体 1 [四胺-PEG (4) -二乙醇酰-Phe-Arg-Ser-Met-Asp-Leu-Ala-Leu-NH₂] 的合成

将肽基-树脂 H-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg(Pmc)-Ser(tBu)-Met-Asp

(OtBu)-Leu-Ala-Leu-R (0.05 mmol) 用溶解于 DMF (5 mL) 中的四-Boc-四胺 NHS 酯 (0.05 mmol) 和 NMM (0.2 mmol) 的溶液处理 3 天。通过过滤取出试剂且用 DMF 和 DCM 洗涤树脂。

将肽基-树脂 (0.05 mmol) 用溶于 TFA (10 mL) 的 2.5% 水、2.5% EMS 和 2.5% TIS 溶液处理 2 小时。通过过滤去除树脂且使滤液在真空中蒸发。将二乙醚加入残渣中。所得到的沉淀用醚洗涤且风干。

通过制备型 HPLC (梯度: 10-40 % B 经过 40 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 25 分钟) 纯化粗材料提供 38 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 10-40 % B 经过 10 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 7.05 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH⁺: 1441.8, 发现的 MH⁺: 1441.7)。

实施例 4: IGF 前体 1 的 ^{99m}Tc 放射性标记以产生 IGF 显像剂 1

通过向氮清洗的 P46 小瓶中添加下述制备 ^{99m}Tc 络合物:

溶于 MeOH 的 100 μ g IGF 前体 1 或 2,

0.5 ml Na₂CO₃/NaHCO₃ 缓冲液 (pH 9.2),

来自 ^{99m}Tc 发生器的 0.5 ml TcO₄⁻,

0.1 ml SnCl₂/MDP 溶液,

(溶液包含溶于 100ml N₂ 清洗盐水的 10.2 mg SnCl₂ 和 101 mg 亚甲基二磷酸)。

ITLC (瞬间薄层层析) 用于测定 RCP。对于 IGF 前体 I, SG 板和 MeOH/ (NH₄OAc 0.1M) 1: 1 的流动相显示在 origin 处的 RHT (还原的水解 Tc), 在溶剂前面的高锝酸盐和在中间 R_f 处的锝络合物。

通过反相 HPLC (Xterra 柱 RP18 3.5 μ m, 150mm x 4.6mm) 分析反应混合物。关于 IGF 前体 I 的 HPLC 条件:

溶剂 A - 溶于 H₂O 的 0.07% 氨

溶剂 B - MeCN

0 分钟 - 90% 溶剂 A, 10% 溶剂 B

10 分钟 - 40% 溶剂 A, 60% 溶剂 B

15 分钟 - 40% 溶剂 A, 60% 溶剂 B

17 分钟 - 90% 溶剂 A, 10% 溶剂 B

20 分钟 - 90% 溶剂 A, 10% 溶剂 B

实施例 5: 螯合物 X[双[N-(1,1-二甲基-2-N-羟亚胺丙基)2-氨基]- (2-氨基) 甲烷]的合成

(步骤 a): 三(甲氧基羰基甲基)甲烷的制备

在氢气气氛 (3.5 巴) 下使溶于甲醇 (200ml) 的 3-(甲氧基羰基亚甲基) 戊二酸二甲酯 (89g, 267mmol) 与 (在木炭上的 10% 钨: 50% 水) (9 g) 一起摇动 (30 小时)。通过硅藻土过滤溶液且在真空中进行浓缩以产生作为油的 3-(甲氧基羰基甲基) 戊二酸二甲酯, 得率 (84.9g, 94%)。

NMR ^1H (CDCl_3), δ 2.48 (6H, d, $J=8\text{Hz}$, $3\times\text{CH}_2$), 2.78 (1H, hextet, $J=8\text{Hz}$ CH,) 3.7 (9H, s, $3\times\text{CH}_3$)。

(步骤 b): 三甲酯用对甲氧基-苄胺的酰胺化

将三(甲氧基羰基甲基)甲烷 [2 g, 8.4 mmol] 溶解于对甲氧基-苄胺 (25 g, 178.6 mmol) 中。设立用于蒸馏的装置且在氮流下加热至 120°C 24 小时。通过收集的甲醇量监控反应进展。将反应混合物冷却至环境温度且添加 30 ml 乙酸乙酯, 随后将沉淀的三酰胺 (triamide) 产物搅拌 30 分钟。通过过滤分离三酰胺且用足量乙酸乙酯将滤饼洗涤几次, 以去除过量对甲氧基-苄胺。干燥后获得 4.6 g, 100% 的白色粉末。高度不溶性的产物无需进一步的纯化或表征直接在下一个步骤中使用。

(步骤 c): 1,1,1-三[2-(对甲氧基苄氨基) 乙基]甲烷的制备。

向在冰水浴中冷却的 1000 ml 3 颈圆底瓶中, 将来自步骤 2 (a) 的三酰胺 (10 g, 17.89 mmol) 小心地加入 250 ml 1M 硼烷溶液 (3.5 g, 244.3 mmol) 硼烷中。完全添加后, 去除冰水浴且将反应混合物缓慢加热至 60°C 。于 60°C 将反应混合物搅拌 20 小时。取出反应混合物的样品 (1 ml), 并且与 0.5 ml 5N HCl 混合且静置 30 分钟。向样品中加入 0.5 ml 50 NaOH, 随后为 2 ml 水, 并且将溶液搅拌直至所有白色沉淀溶解。用醚 (5 ml) 萃取溶液且进行蒸发。以 1 mg/ml 的浓度将残渣溶解于乙

睛中且通过MS进行分析。如果在MS谱中可见单和二酰胺($M+H/z = 520$ 和534)，那么反应不完全。为了完成反应，添加另外100 ml 1M 硼烷 THF 溶液，且于60°C将反应混合物再搅拌6小时，并且遵循先前的取样程序取出新样品。必要时继续溶于THF溶液的1M 硼烷的进一步添加直至完全转变至三胺。

使反应混合物冷却至环境温度且缓慢加入5N HCl，[注意：发生剧烈的泡沫形成！]。添加HCl直至没有观察到更多的气体发生。将混合物搅拌30分钟且随后进行蒸发。将饼悬浮于NaOH水溶液(20-40 %; 1: 2 w/v)中且搅拌30分钟。随后用水(3体积)稀释混合物。随后用二乙醚(2 x 150 ml)萃取混合物[注意：不使用卤化溶剂]。随后用水(1x 200 ml)、盐水(150 ml)洗涤组合的有机相且在硫酸镁上进行干燥。蒸发后的得率：作为油7.6 g, 84%。

NMR ^1H (CDCl_3), δ : 1.45, (6H, m, $3\times\text{CH}_2$); 1.54, (1H, septet, CH); 2.60 (6H, t, $3\times\text{CH}_2\text{N}$); 3.68 (6H, s, ArCH_2); 3.78 (9H, s, $3\times\text{CH}_3\text{O}$); 6.94(6H, d, $6\times\text{Ar}$); 7.20(6H, d, $6\times\text{Ar}$).

(步骤 d)：1,1,1-三(2-氨基乙基)甲烷的制备。

将1,1,1-三[2-(对甲氧基苄氨基)乙基]甲烷(20.0克, 0.036 mol)溶解于甲醇(100 ml)中且添加 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (5.0克)。使混合物氢化(3巴, 100°C, 在高压灭菌器中)且搅拌5小时。在10和15小时后分别添加另外2份(2 x 5克) $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 。

使反应混合物过滤且用甲醇洗涤滤液。使组合的有机相蒸发且在真空(1×10^{-2} , 110°C)下蒸馏残渣, 以产生2.60克(50%)的1,1,1-三(2-氨基乙基)甲烷。

NMR ^1H (CDCl_3), δ 2.72 (6H, t, $3\times\text{CH}_2\text{N}$), 1.41 (H, septet, CH), 1.39 (6H, q, $3\times\text{CH}_2$)。

NMR ^{13}C (CDCl_3), δ 39.8 (CH_2NH_2), 38.2 (CH_2), 31.0 (CH)。

(步骤 e)：螯合物 X (即式 Za 其中 G = C) 的制备

在氮气氛下伴随剧烈搅拌于室温向溶于无水乙醇(30ml)的三(2-氨基乙基)甲烷(4.047g, 27.9mmol)溶液中添加无水碳酸钾(7.7g, 55.8mmol, 2eq)。将3-氯-3-甲基-2-亚硝基丁烷(7.56g, 55.8mmol, 2当量)溶液溶解于无水甲醇(100ml)中, 且将75ml这种溶液缓慢滴入反

应混合物内。反应随后为在硅石上的 TLC[板在二氯甲烷、甲醇、浓缩的 (0.88sg) 氨; 100/30/5 中运行且 TLC 板通过用茚三酮喷雾且加热显色]。以那种顺序用渐增的 RF's 可见单、二和三烷基化产物。使用 RPR 反相柱以溶于 3% 氨水的 7.5 - 75% 乙腈梯度运行分析型 HPLC。反应在真空中进行浓缩以去除乙醇且重悬浮于水 (110ml) 中。用醚 (100ml) 萃取含水浆以去除一些三烷基化化合物和亲脂性杂质, 从而在水层中留下单和所需二烷基化产物。水溶液用乙酸铵 (2 当量, 4.3g, 55.8mmol) 进行缓冲以确保良好的层析。在通过自动化制备型 HPLC 纯化前将水溶液贮存于 4°C 过夜。

得率 (2.2g, 6.4mmol, 23%)。

Mass spec; 阳离子 10 V 锥电压 (cone voltage)。发现的: 344; 计算的 M+H= 344。

NMR ^1H (CDCl_3), δ 1.24(6H, s, 2xCH₃), 1.3(6H, s, 2xCH₃), 1.25-1.75(7H, m, 3xCH₂CH), (3H, s, 2xCH₂), 2.58 (4H, m, CH₂N), 2.88(2H, t CH₂N₂), 5.0 (6H, s, NH₂, 2xNH, 2xOH).

NMR ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$), δ 9.0 (4xCH₃), 25.8 (2xCH₃), 31.0 2xCH₂, 34.6 CH₂, 56.8 2xCH₂N; 160.3, C=N.

HPLC 条件: 流速 8ml/分钟, 其中使用 25mm PRP 柱

A=3% 氨溶液 (sp.gr = 0.88) /水; B = 乙腈

时间	% B
0	7.5
15	75.0
20	75.0
22	7.5
30	7.5

每次运行装载 3ml 水溶液, 且在 12.5 - 13.5 分钟的时间窗中收集。

实施例 6: IGF 前体 2[螯合物 X-戊二酰-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg-Ser-Met-Asp-Leu-Ala-Leu-NH₂]的合成

将肽基-树脂 H-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg(Pmc)-Ser(tBu)-Met-Asp(OtBu)-Leu-Ala-Leu-R (0.05 mmol) 用溶解于 DMF (5 mL) 中的螯合物 X-戊二酰四氟苯磺酰胺 (0.1 mmol) 和 NMM (0.2 mmol) 的溶液处理 3 天。通过过滤取出试剂且用 DMF 和 DCM 洗涤树脂。

将肽基-树脂 (0.05 mmol) 用溶于 TFA (10 mL) 的 2.5 % 水、2.5 % EMS 和 2.5 % TIS 溶液处理 2 小时。通过过滤去除树脂且使滤液在真空中蒸发。将二乙醚加入残渣中。所得到的沉淀用醚洗涤且风干。

通过制备型 HPLC (梯度: 20-40 % B 经过 60 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 13 分钟) 纯化粗材料提供 35 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 10-50 % B 经过 10 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 5.60 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH⁺: 1681.0, 发现的 MH⁺: 1681.1)。

实施例 7: IGF 前体 2 的放射性标记以形成 IGF 显像剂 2

使用上文实施例 4 中描述的方法进行 ^{99m}Tc 标记, 但使用下述 HPLC 和 TLC 条件:

HPLC。

溶剂 A - 溶于 H₂O 的 0.1 % TFA

溶剂 B - 溶于 MeCN 的 0.1 % TFA

1 分钟 - 90 % 溶剂 A, 10 % 溶剂 B

10 分钟 - 60 % 溶剂 A, 40 % 溶剂 B

15 分钟 - 60 % 溶剂 A, 40 % 溶剂 B

17 分钟 - 90 % 溶剂 A, 10 % 溶剂 B

20 分钟 - 90 % 溶剂 A, 10 % 溶剂 B

TLC SG 板和盐水的流动相显示在溶剂前面的高锝酸盐。Whatman 1 板和 MeCN: H₂O 1: 1 的流动相显示在原点处的 RHT。

实施例 8: 非放射性 IGF 显像剂 3/[3-(4-羟基-3-碘苯基)丙酸酯-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg-Ser-Met-Asp-Leu-Ala-Leu-NH₂] 的合成

将肽基-树脂 H-PEG(4)-二乙醇酰-Phe-Arg(Pmc)-Ser(tBu)-Met-Asp(OtBu)-Leu-Ala-Leu-R (0.05 mmol) 用溶解于 DMF (5 mL) 中的 N-琥珀酰亚胺基-3-(4-羟基-3-碘苯基)丙酸酯 (0.1 mmol) 和 NMM (0.2 mmol) 的溶液处理 3 天。通过过滤取出试剂且用 DMF 和 DCM 洗涤树

脂。

将肽基-树脂 (0.05 mmol) 用溶于 TFA (10 mL) 的 2.5 % 水、2.5 % EMS 和 2.5 % TIS 溶液处理 2 小时。通过过滤去除树脂且使滤液在真空中蒸发。将二乙醚加入残渣中。所得到的沉淀用醚洗涤且风干。

通过制备型 HPLC (梯度: 10-50 % B 经过 60 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 27 分钟) 纯化粗材料提供 5 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 10-50 % B 经过 10 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 7.03 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH⁺: 1515.6, 发现的 MH⁺: 1515.8)。

实施例 9: 视黄酸前体 1 [视黄酰-PEG (12) -丙酰-Lys-OH] 的合成

使用二异丙基乙胺 (1.4 mmol) 作为碱, 通过标准程序在无水二氯甲烷中使 Fmoc-Lys (Dde) -OH (Novabiochem, 0.4 mmol) 与过量的 2-氯三苯甲基氯树脂 (Novabiochem) 附着。树脂用二氯甲烷/甲醇/二异丙基乙胺 (17: 2: 1) 混合物、二氯甲烷和 DMF 洗涤。Fmoc 基团通过标准哌啶处理进行切割且使用 HATU (0.6 mmol) 和二异丙基乙胺 (1.2 mmol) 使 Fmoc-氨基 PEG (12) -丙酸 (Polypure AS, 0.6 mmol) 偶联。通过标准 Kaiser 测试检查反应的完全。Fmoc 基团切割后, 使用相同的偶联条件使视黄酸 (Fluka, 0.6 mmol) 偶联。通过用溶于 DMF (3 x 2 分钟) 的 2 % 水合肼处理去除 Dde 保护基团。

将来自上文的树脂 (0.05 mmol) 用 AcOH/TFE/DCM (2: 2: 6, 10 mL) 溶液处理 45 分钟。通过过滤去除树脂, 向滤液中加入己烷 (200 mL) 且在真空中蒸发混合物。

通过制备型 HPLC (梯度: 30-80 % B 经过 40 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 33 分钟) 纯化粗材料提供 17 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 30-80 % B 经过 10 分钟, 其中 A = H₂O/0.1 % TFA 且 B = ACN/0.1 % TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV

214 nm, 产物保留时间: 7.11 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH^+ : 1028.7, 发现的 MH^+ : 1028.7)。

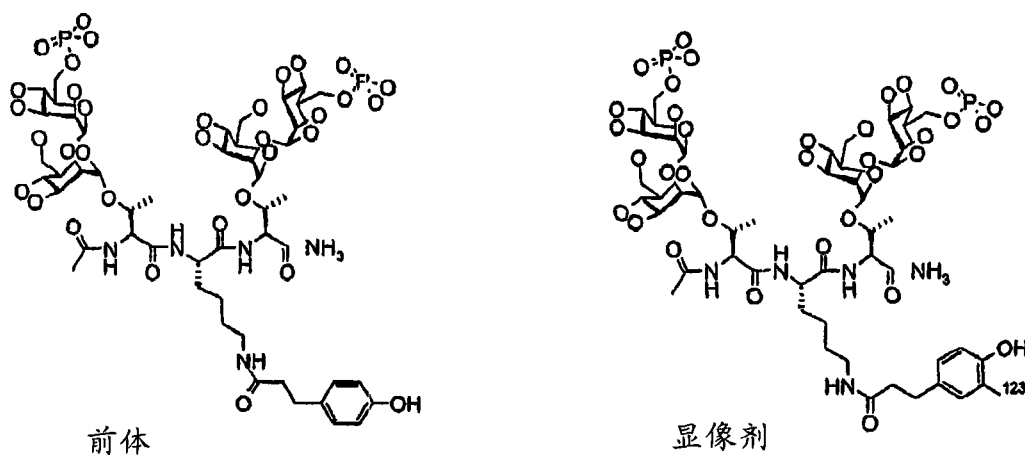
实施例 10: 非放射性视黄酸显像剂 1 [视黄酰-PEG (12) - 丙酰-Lys (3-(4-羟基-3-碘苯基) 丙酰) - OH] 的合成

将树脂视黄酰-PEG (12) - 丙酰-Lys-R (0.05 mmol) 用溶解于 DMF (5 mL) 中的 N-琥珀酰亚胺基-3-(4-羟基-3-碘苯基) 丙酸酯 (0.1 mmol) 和 NMM (0.2 mmol) 的溶液处理 20 小时。通过过滤取出试剂且用 DMF 和 DCM 洗涤树脂。

将来自上文的树脂 (0.05 mmol) 用 AcOH/TFE/DCM (2: 2: 6, 10 mL) 溶液处理 2 小时。通过过滤去除树脂, 向滤液中加入己烷 (200 mL) 且在真空中蒸发混合物。

通过制备型 HPLC (梯度: 50-100 % B 经过 40 分钟, 其中 A = $H_2O/0.1\%$ TFA 且 B = ACN/ 0.1% TFA, 流速: 10 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 5μ C18 (2) 250 x 21.20 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 31 分钟) 纯化粗材料提供 17 mg 纯产物。通过分析型 HPLC (梯度: 50-95 % B 经过 10 分钟, 其中 A = $H_2O/0.1\%$ TFA 且 B = ACN/ 0.1% TFA, 流速: 0.3 mL/分钟, 柱: Phenomenex Luna 3μ C18 (2) 50 x 2 mm, 检测: UV 214 nm, 产物保留时间: 5.24 分钟) 分析纯产物。进一步的产物表征使用质谱法进行 (计算的 MH^+ : 1302.6, 发现的 MH^+ : 1302.6)。

实施例 11: ^{123}I -标记的糖肽显像剂 1 的合成。



糖肽显像剂 1 的前体如上所示，且如下进行放射性碘化：

最初向在微量离心管中的 200 μ l 乙酸铵缓冲液 (0.2 M, pH 4) 中加入 10 μ l 127 I-NaI (溶于 0.01M NaOH 的 15 mg/100 ml) 溶液 (包含 1×10^{-8} 摩尔 127 I-NaI)。随后向溶于 0.05M NaOH (来自 GE Healthcare)、包含 10mCi (364 mCi/ml) 放射性的 123 I-NaI 中加入 127 I-NaI /NH₄OAc 溶液且使溶液充分混合。将 5 μ l 过乙酸 (溶于乙酸的 36 - 40 重量% 溶液) 加入 5 ml H₂O 中，充分混合且将 10 μ l 稀释溶液加入 $^{123}/^{127}$ I-NaI 反应混合物中。

将 100 μ l 前体 (溶于 H₂O 的 0.74mM 溶液) 加入反应混合物中，用移液管混合且在 5 分钟后分析反应。通过 HPLC 使用 Phenomenex Luna 柱 5 μ , C₁₈ (2) 100A, 150 x 4.6 mm 分析或纯化产物。

溶剂 A - 溶于 H₂O 的 0.1 % TFA

溶剂 B - 溶于乙腈的 0.1 % TFA

2 分钟 - 100 % 溶剂 A, 0 % 溶剂 B

20 分钟 - 50 % 溶剂 A, 50 % 溶剂 B

25 分钟 - 10 % 溶剂 A, 90 % 溶剂 B

35 分钟 - 10 % 溶剂 A, 90 % 溶剂 B

36 分钟 - 100 % 溶剂 A, 0 % 溶剂 B

43 分钟 - 100 % 溶剂 A, 0 % 溶剂 B

在这些条件下 M6P 显像剂 1 的保留时间是 9.9 分钟。

<110> GE HEALTHCARE LIMITED

<120> 用于纤维化的新显像剂

<130> PZ0590-PCT

<140> 0524987.5

<141> 2005-12-08

<160> 9

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

Ala Tyr Arg Pro Ser Glu Thr Leu Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr
1 5 10 15

Leu Gln Phe Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala
 20 25 30

Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe
 35 40 45

Arg Ser Cys Asp Leu Ala Leu Leu Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala
 50 55 60

Lys Ser Glu
65

<210> 2

<211> 8

<400> 5

Leu Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr Leu Gln Phe Val Cys Gly Asp
1 5 10 15

Arg Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser
 20 25 30

Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Ala Leu
 35 40 45

Leu Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala Lys Ser Glu
 50 55 60

<210> 6

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 6

Ala Tyr Arg Pro Ser Glu Thr Leu Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr
1 5 10 15

Leu Gln Phe Val Cys Gly Asp Arg Gly Ser Tyr Phe Ser Arg Pro Ala
 20 25 30

Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe
 35 40 45

Arg Ser Cys Asp Leu Ala Leu Leu Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala
 50 55 60

Lys Ser Glu
65

<210> 7

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7

Ala Tyr Arg Pro Ser Glu Thr Leu Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr
1 5 10 15

Leu Gln Ser Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala
 20 25 30

Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe
 35 40 45

Arg Ser Cys Asp Leu Ala Leu Leu Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala
 50 55 60

Lys Ser Glu
65

<210> 8

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

Ala Tyr Arg Pro Ser Glu Thr Leu Cys Gly Gly Lys Leu Val Asp Thr
1 5 10 15

Leu Gln Phe Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala
 20 25 30

Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe

Organization Applicant

Street : Amersham Place
 City : Little Chalfont
 State : Buckinghamshire
 Country : United Kingdom
 PostalCode : HP7 9NA
 PhoneNumber : +44 1494 542023
 FaxNumber : +44 1494 542996
 EmailAddress :

<110> OrganizationName : GE HEALTHCARE LIMITED

Application Project

<120> Title : NOVEL IMAGING AGENTS FOR FIBROSIS
 <130> AppFileReference : PZ0590-PCT
 <140> CurrentAppNumber : GB 0524987.5
 <141> CurrentFilingDate : 2005-12-08

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 AYRPSETLCG GELVDTLQFV CGDRGFYFSR PASRVSRRSR GIVECCFRS CDLALLETYC 60
 ATPAKSE 67
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 67
 SequenceName : SEQ ID NO 1
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 FRSCDLAL 8
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 8
 SequenceName : SEQ ID NO 2
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens

<400> PreSequenceString :
 LCGGELVDTL QFVCGDRGFY F 21
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 21
 SequenceName : SEQ ID NO 3
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 GIVECCFRS CDLALLETYC A 21
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 21
 SequenceName : SEQ ID NO 4
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 LCGGELVDTL QFVCGDRGFY FSRPASRVSR RSRGIVEECC FRSCDLALLE TYCATPAKSE 60
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 60
 SequenceName : SEQ ID NO 5
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 AYRPSETLCG GELVDTLQFV CGDRGSYFSR PASRVRRSR GIVECCFRS CDLALLETYC 60
 ATPAKSE 67
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 67
 SequenceName : SEQ ID NO 6
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 AYRPSETLCG GELVDTLQSV CGDRGFYFSR PASRVRRSR GIVECCFRS CDLALLETYC 60

ATPAKSE 67
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 67
 SequenceName : SEQ ID NO 7
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 AYRPSETLCG GKLVDTLQFV CGDRGFYFSR PASRVSRRSR GIVECCFRS CDLALLETYC 60
 ATPAKSE 67
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 67
 SequenceName : SEQ ID NO 8
 SequenceDescription :

Sequence

<213> OrganismName : Homo sapiens
 <400> PreSequenceString :
 AYRPSETLCG GELVDTLQFV CGDRGFLFSR PASRVSRRSR GIVECCFRS CDLALLETYC 60
 ATPAKSE 67
 <212> Type : PRT
 <211> Length : 67
 SequenceName : SEQ ID NO 9
 SequenceDescription :

1. 一种显像剂, 其包含:

- (i) 对于甘露糖-6-磷酸 (M6P) 受体具有亲和力的载体; 和
- (ii) 成像部分

其中所述成像部分是放射性成像部分; 且

其中所述成像部分作为所述载体的整合部分存在或所述成像部分经由合适的化学基团与所述载体缀合。

2. 权利要求 1 的显像剂, 其中所述载体包含下述中的至少一种:

- (i) 67 氨基酸的 IGF-II 序列, 或其片段或类似物;
- (ii) 甘露糖-6-磷酸 (M6P);
- (iii) 二磷酸化糖肽; 或
- (iv) 视黄酸或其衍生物。

3. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是 67 氨基酸的 IGF-II 序列, 或是选自下述的其 8 - 60 氨基酸片段或肽类似物:

- (i) 包含氨基酸残基 48 - 55 (SEQ ID NO 2) 的肽或其肽类似物;
 - (ii) 包含直接连接或由式 $-(L^3)_p-$ 的接头隔开的氨基酸残基 8 - 28 (SEQ ID NO. 3) 和 41 - 61 (SEQ ID NO. 4) 的肽或其肽类似物;
 - (iii) 包含氨基酸残基 8 - 67 (SEQ ID NO. 5) 的肽或其肽类似物;
- 和

(iv) 如下的各种氨基酸残基置换: Phe26Ser (SEQ ID NO. 6); Phe19Ser (SEQ ID NO. 7); Glu12Lys (SEQ ID NO. 8); Tyr27Leu (SEQ ID NO. 9)

其中对于 $-(L^3)_p-$, 每个 L^3 独立地是 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CR}_2-$ 、 $-\text{CR}=\text{CR}-$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 、 $-\text{CR}_2\text{CO}_2-$ 、 $-\text{CO}_2\text{CR}_2-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NRCO}-$ 、 $-\text{CONR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{S})\text{NR}-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}-$ 、 $-\text{NRSO}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{OCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{SCR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{NR}_2-$ 、 $-\text{CR}_2\text{NR}_2-$ 、 $-\text{C}_4-8$ 亚环杂烷基、 $-\text{C}_4-8$ 亚环烷基、 $-\text{C}_5-12$ 亚芳基、 $-\text{C}_3-12$ 杂亚芳基、氨基酸残基、聚(亚烷基)二醇、聚乳酸或聚乙醇酸部分;

p 是值 0 - 30 的整数;

每个 R 基团独立地是 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} 羟烷基、 C_{1-10} 氟烷基, 或 2 个或更多 R 基团, 连同它们与之附着的原子一起形成碳环、杂环、饱和或不饱和的环。

4. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体包含 M6P 且选自:

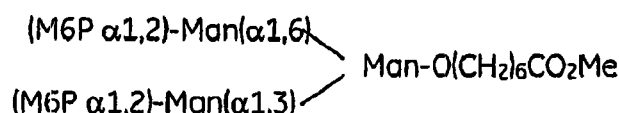
(i) M6P ($\alpha 1,2$) -Man-O (CH_2)₈CO₂Me ($\alpha 1,2$ 连接的二甘露糖苷)

(ii) M6P ($\alpha 1,3$) -Man-O (CH_2)₈CO₂Me ($\alpha 1,3$ 连接的二甘露糖苷)

(iii) M6P ($\alpha 1,6$) -Man-O (CH_2)₈CO₂Me ($\alpha 1,6$ 连接的二甘露糖苷)

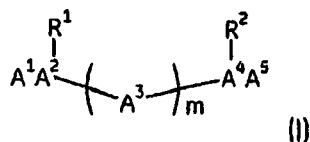
(iv) M6P ($\alpha 1,2$) -Man ($\alpha 1,2$) -Man-O (CH_2)₈CO₂Me ($\alpha 1,2$ 连接的三甘露糖苷)

(v) 双触角的寡甘露糖苷:



其中 Man 是甘露糖。

5. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是二磷酸化糖肽且具有式 I:



其中

R¹ 和 R² 独立地选自:

(i) 选自下述的天然 L-或 D-单糖: 葡萄糖、甘露糖、半乳糖、岩藻糖、rhamnanose、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺、果糖和 N-乙酰神经氨酸、或其磷酸化或硫酸化形式; 或,

(ii) 由选自 (i) 的单糖组成的寡糖;

A¹ 和 A⁵ 独立地选自 -H、-OH、-NH₂、-乙酰基、D-或 L-氨基酸、肽、糖肽、肽模拟物和寡核苷酸,

A² 和 A⁴ 独立地选自 D-或 L-羟基氨基酸, 例如 Ser、Thr、Hyl、Hyp、Tyr, 或 D-或 L-酰胺氨基酸, 例如 Asn 和 Gln, 且

A³ 选自以其 D-或 L-形式的遗传编码或非编码的氨基酸或肽模拟物或核苷酸,

且其中 m 是 1 - 30 的整数;

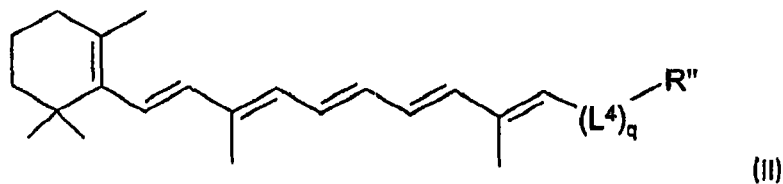
且其中所述线性序列 $A^1 - A^5$ 中的任何残基可以进行共价连接以形成环状化合物。

6. 权利要求 5 的显像剂, 其中所述二磷酸化糖肽是

(i) Ac-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-Lys(氨基苯甲酰胺)-Thr[α -D-M6P-(1,2)- α -D-甘露糖]-NH₂

(ii) Ac-Thr[α -D-M6P]-Gly-Lys-Gly-Thr[α -D-M6P]-NH₂。

7. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是视黄酸, 或具有式 II 的其类似物:



其中 L^4 、 q 和 R'' 分别如权利要求 3 中对于 L^3 、 p 和 R 定义的。

8. 权利要求 2 的显像剂, 其中所述载体是使 2 种或更多种权利要求 2 - 7 的载体组合的多价靶向载体。

9. 权利要求 1 - 8 中任一项的显像剂, 其中所述成像部分选自:

- (i) 放射性金属离子;
- (ii) γ -射线发射放射性卤素;
- (iii) 正电子发射放射性非金属;

10. 权利要求 9 的显像剂, 其中所述成像部分是放射性金属离子。

11. 权利要求 10 的显像剂, 其中所述放射性金属离子是 ^{99m}Tc。

12. 权利要求 9 的显像剂, 其中所述成像部分是 γ -射线发射放射性卤素。

13. 权利要求 12 的显像剂, 其中所述 γ -射线发射放射性卤素选自 ¹²³I 或 ¹³¹I。

14. 权利要求 9 的显像剂, 其中所述成像部分是正电子发射放射性非金属。

15. 权利要求 14 的显像剂, 其中所述正电子发射放射性非金属是¹⁸F。

16. 一种用于制备权利要求 1-15 中任一项的显像剂的方法, 其包括使前体与合适来源的成像部分反应, 其中所述前体包含:

(i) 如权利要求 1-7 中定义的对于 M6P 受体具有亲和力的载体;
和

(ii) 能够与所述成像部分来源反应的化学基团, 从而使得所述成像部分变得与所述化合物附着, 以导致产生所述显像剂;

其中所述化学基团是所述载体的整合部分或与所述载体缀合。

17. 根据权利要求 16 的方法, 其中所述化学基团:

(i) 包含能够使金属成像部分络合的螯合剂;
(ii) 包含有机金属衍生物, 例如三烷基锡烷或三烷基硅烷;
(iii) 包含含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物;

(iv) 包含含有朝向亲核或亲电子取代活化的芳环的衍生物;

(v) 包含含有经历易实现的烷化的官能团的衍生物;

(vi) 包含使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物; 或

18. 权利要求 16 或 17 任一项的方法, 其中所述前体是无菌、无热原形式的。

19. 根据权利要求 16-18 中任一项的方法, 其中所述前体与固相结合。

20. 如权利要求 16-19 中任一项的方法中定义的前体, 其中所述化学基团:

(i) 包含能够使金属成像部分络合的螯合剂;
(ii) 包含有机金属衍生物, 例如三烷基锡烷或三烷基硅烷;
(iii) 包含含有烷基卤、对甲苯磺酸烷基酯或甲磺酸烷基酯用于亲核取代的衍生物;

(iv) 包含使含硫醇化合物烷化以产生含硫醚产物的衍生物。

21. 一种药物组合物, 其包含权利要求 1-15 中任一项的显像剂连同生物相容性载体, 为适合于哺乳动物施用形式的。

22. 权利要求 21 的药物组合物, 其具有适合于单个患者的放射性剂量且在合适的注射器或容器中提供。

23. 一种试剂盒, 其用于制备权利要求 21 或 22 中任一项的药物组合物。

24. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂, 其用于在体内诊断或成像法中。

25. 权利要求 24 的显像剂, 其中所述方法涉及其中 M6P 受体上调的状况的体内成像。

26. 权利要求 25 的显像剂, 其中 M6P 受体上调的所述状况是与纤维化相关的状况。

27. 权利要求 26 的显像剂, 其中与纤维化相关的所述状况是肝纤维化、充血性心力衰竭、肾小球硬化症或呼吸衰竭。

28. 权利要求 27 的显像剂, 其中与纤维化相关的所述状况是肝纤维化。

29. 权利要求 28 的显像剂, 其中所述 M6P 受体在肝实质细胞上是上调的。

30. 一种用于受试者中其中 M6P 受体上调的状况的体内诊断或成像的方法, 其包括施用权利要求 21 或 22 中任一项的药物组合物。

31. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂用于受试者中其中 M6P 受体上调的状况的体内成像的用途, 其中所述受试者先前施用权利要求 21 或 22 中任一项的药物组合物。

32. 权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂在制备用于其中 M6P 受体上调的状况体内成像的药物中的用途。

33. 一种监控用药物治疗人或动物身体以对抗其中 M6P 受体上调的状况的作用的方法, 所述方法包括给所述身体施用权利要求 1 - 15 中任一项的显像剂且检测所述显像剂的摄取。