



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108135903 A

(43)申请公布日 2018.06.08

(21)申请号 201680059695.8

(22)申请日 2016.09.08

(30)优先权数据

62/216,157 2015.09.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.04.12

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/050709 2016.09.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/044584 EN 2017.03.16

(71)申请人 目标实验室有限责任公司

地址 美国印第安纳

(72)发明人 S·A·库拉拉特恩 P·S·洛

P·嘉嘉里 C·梅尔斯

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 徐达

(51)Int.Cl.

A61K 31/519(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

权利要求书32页 说明书66页 附图26页

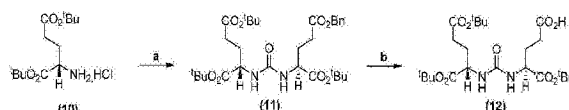
(54)发明名称

靶向PSMA的NIR染料及其应用

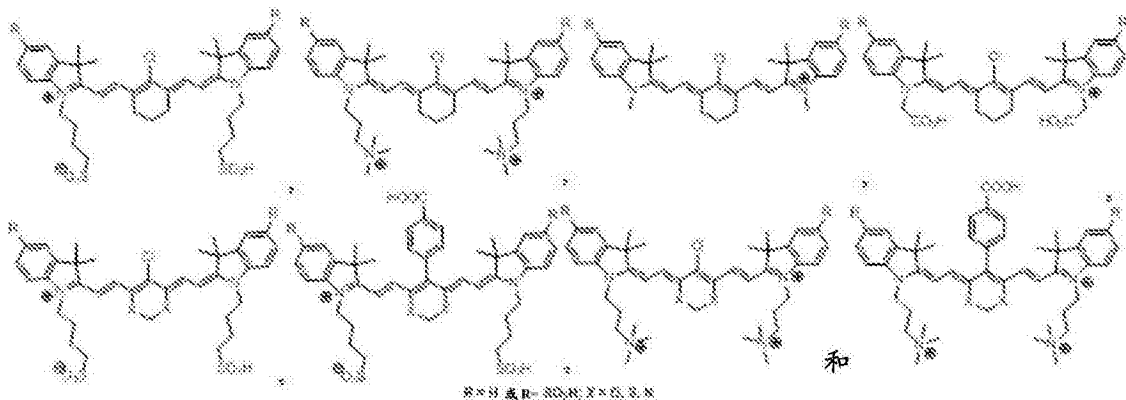
(57)摘要

本公开涉及靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的化合物,其缀合至近红外(NIR)染料,和它们治疗和诊断应用的方法。更特别地,本公开提供化合物和方法,用于诊断和治疗与表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞和/或脉管系统有关的疾病,比如前列腺癌和有关疾病。本公开还描述制备和使用该化合物的方法和组合物,包括化合物的方法,和包括化合物的试剂盒。

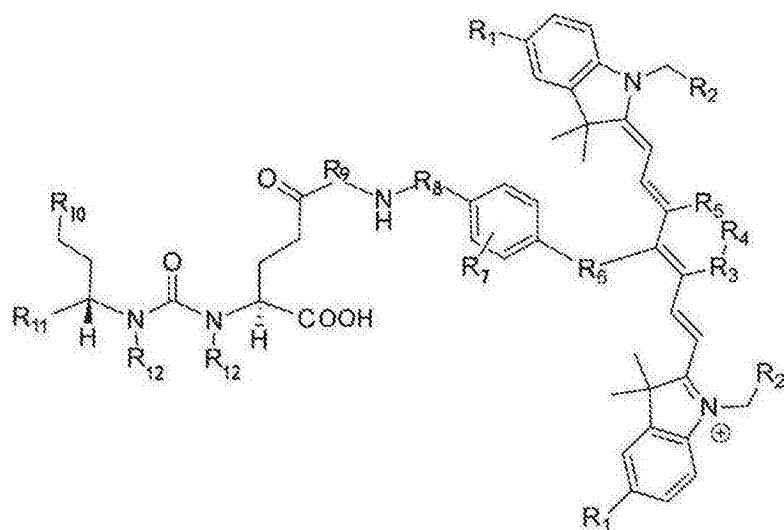
(a)DUPA-连接体-NIR 染料混合物



1. 下式化合物: B-X-Y-Z, 其中
B包含能够结合至前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的化合物,
X包含烃链或含杂原子的烃链,
Y包含至少一种氨基酸或其衍生物, 和
Z包含近红外 (NIR) 染料。
2. 权利要求1的化合物, 其中B选自小分子, 配体, 抑制剂, 激动剂及其衍生物。
3. 权利要求1的化合物, 其中B是2-[3-(1,3-二羧基丙基)-脲基]戊二酸 (DUPA) 或其衍生物。
4. 权利要求1的化合物, 其中X是疏水间隔物。
5. 权利要求1的化合物, 其中X的长度是7个原子至14个原子。
6. 权利要求1的化合物, 其中X选自8-氨基辛酸 (EAOA), 聚乙二醇 (PEG), 和聚乙烯胺 (PEA) 连接体。
7. 权利要求1的化合物, 其中X是EAOA。
8. 权利要求1的化合物, 其中X是N-氨基-dPEG₂-酸。
9. 权利要求1的化合物, 其中Y包含带负电的氨基酸。
10. 权利要求1的化合物, 其中Y包含带正电的氨基酸。
11. 权利要求1的化合物, 其中Y包含芳族氨基酸。
12. 权利要求1的化合物, 其中Z具有正电荷。
13. 权利要求1的化合物, 其中Z具有负电荷。
14. 权利要求1的化合物, 其中Z选自LS288, IR800, SP054, S0121, KODAK, S2076, S0456,



15. 权利要求1的化合物, 其中
B包含DUPA或其衍生物;
X选自EAOA, PEG和PEA;
Y选自苯丙氨酸-酪氨酸, 组氨酸-酪氨酸, 苯丙氨酸-精氨酸-酪氨酸, 和组氨酸-酪氨酸;
和Z包含S0456。
16. 下述结构式的化合物:



或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

R₁代表氢或SO₃H;

R₂代表氢,或CH₃,或C₃H₆SO₃⁻,或C₃H₆SO₃H或C₄H₈SO₃⁻,或C₄H₈SO₃H或C₃H₆N⁺(CH₃)₃;

R₃和R₅各自代表碳,任选地一个或多个共享键,或氧,或硫,或氮

R₄代表碳,具有任选的一个或多个共享键;

R₆代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);

R₇是任选的且当存在时代表给电子芳族取代基团;

R₈是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His、Tyr或其衍生物,和/或阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,和/或阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,和/或芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;

R₉是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,聚乙烯胺连接体,阳离子连接体或其衍生物;

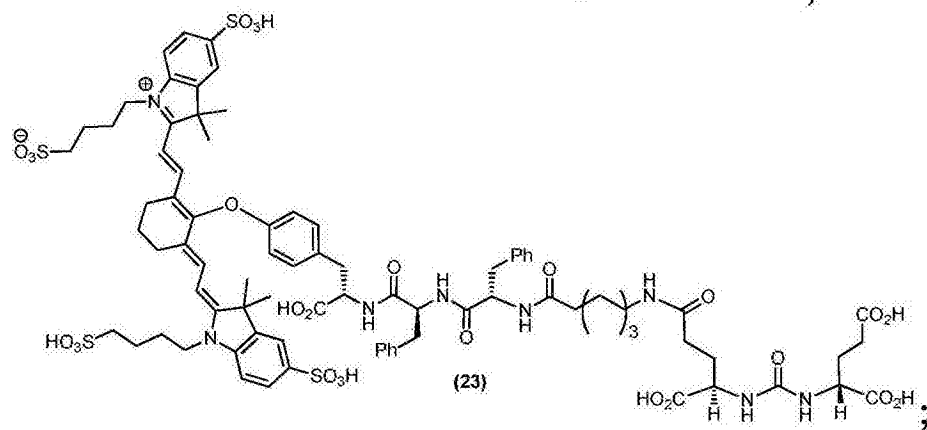
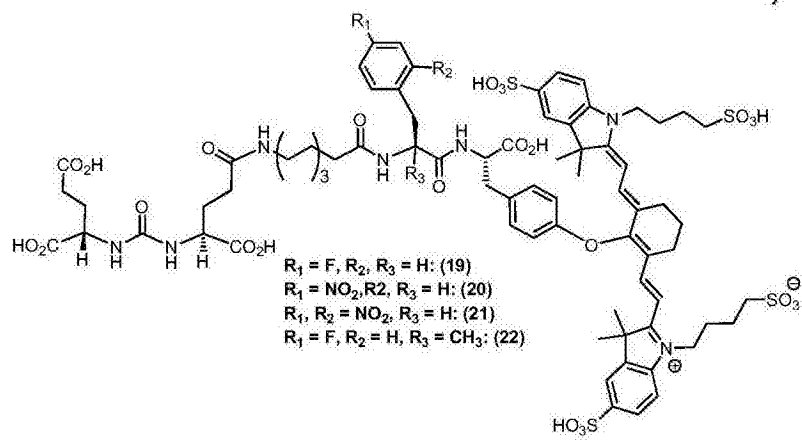
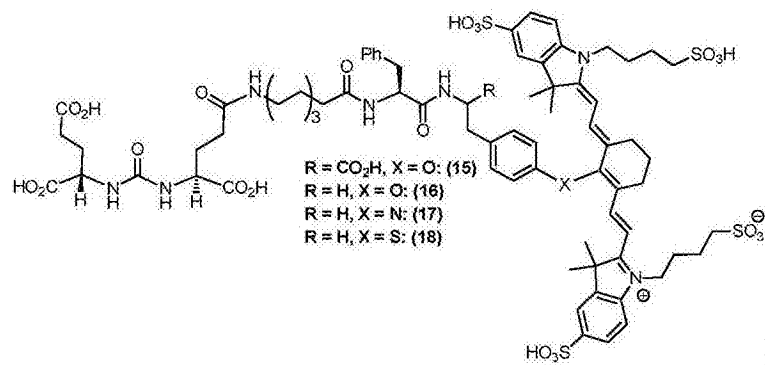
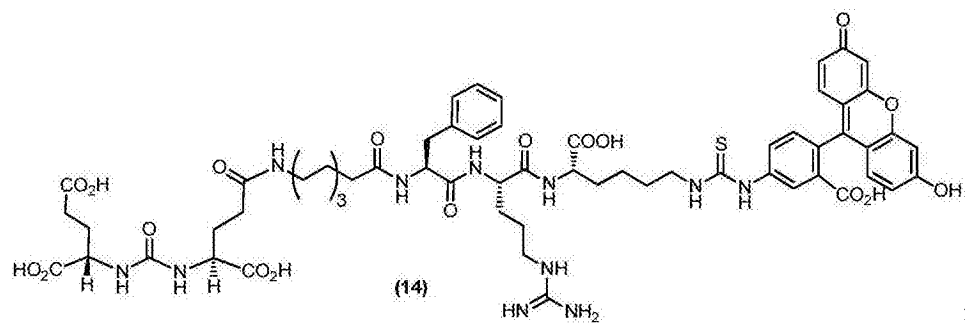
R₁₀代表CO₂H, PO₃H₂, SO₃H, CH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂CH₂SO₃H;

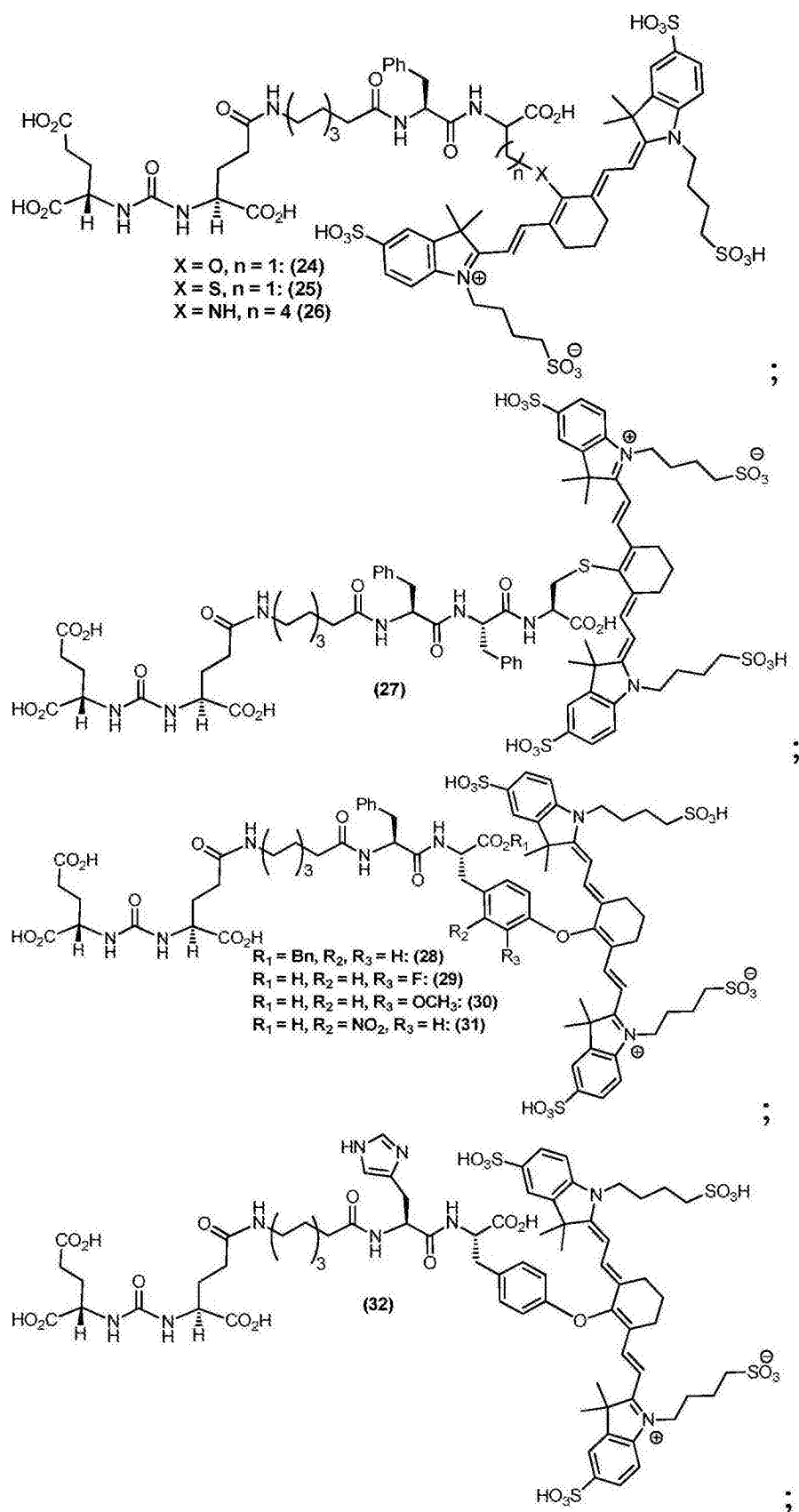
R₁₁代表CO₂H, SO₃H, CH₂CONHCH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂CH₂SO₃H; 和

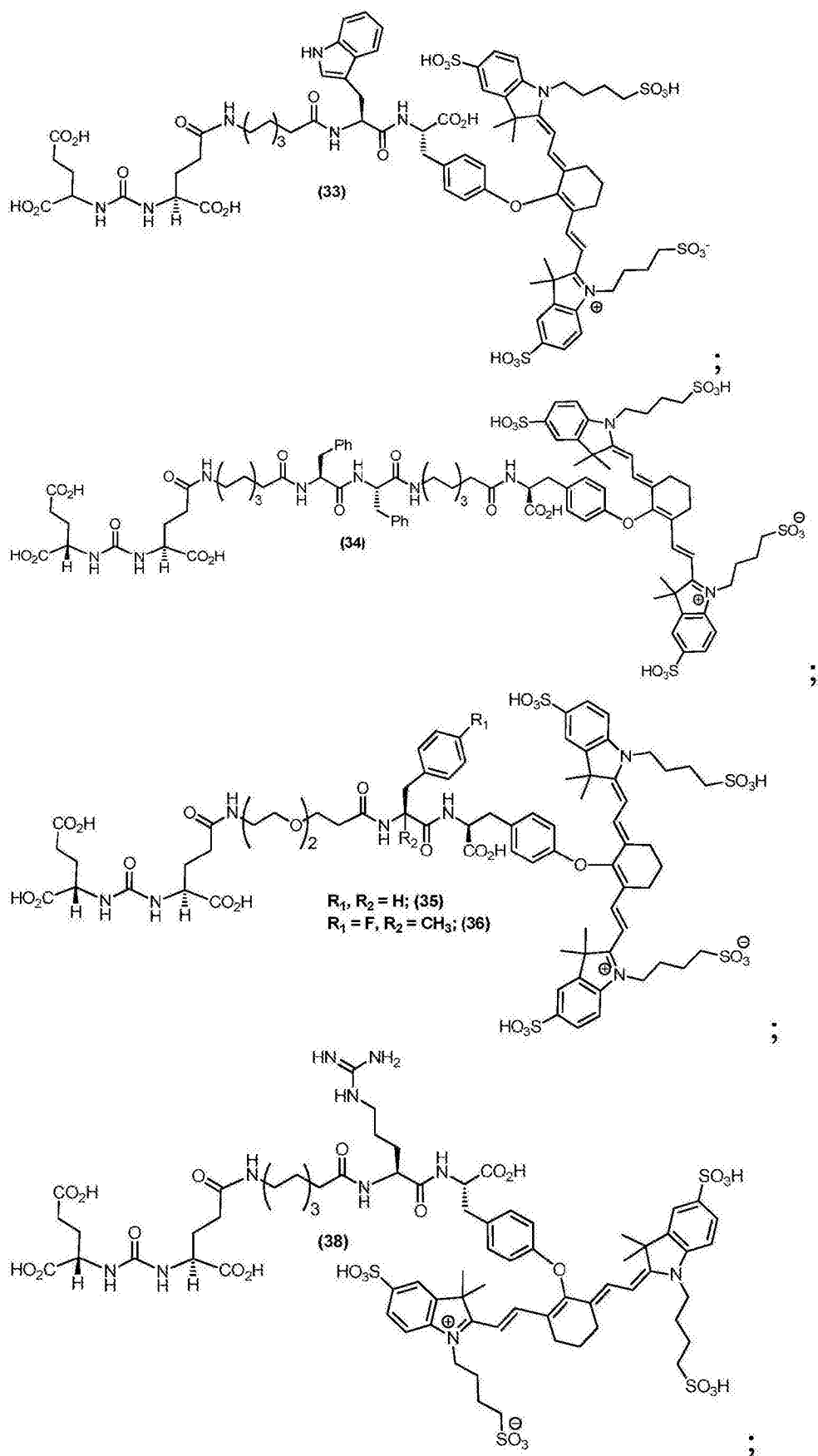
R₁₂独立地代表氢,甲基,CH₂COOH,CH₂和可以任选地各自代表共享键的CH₂。

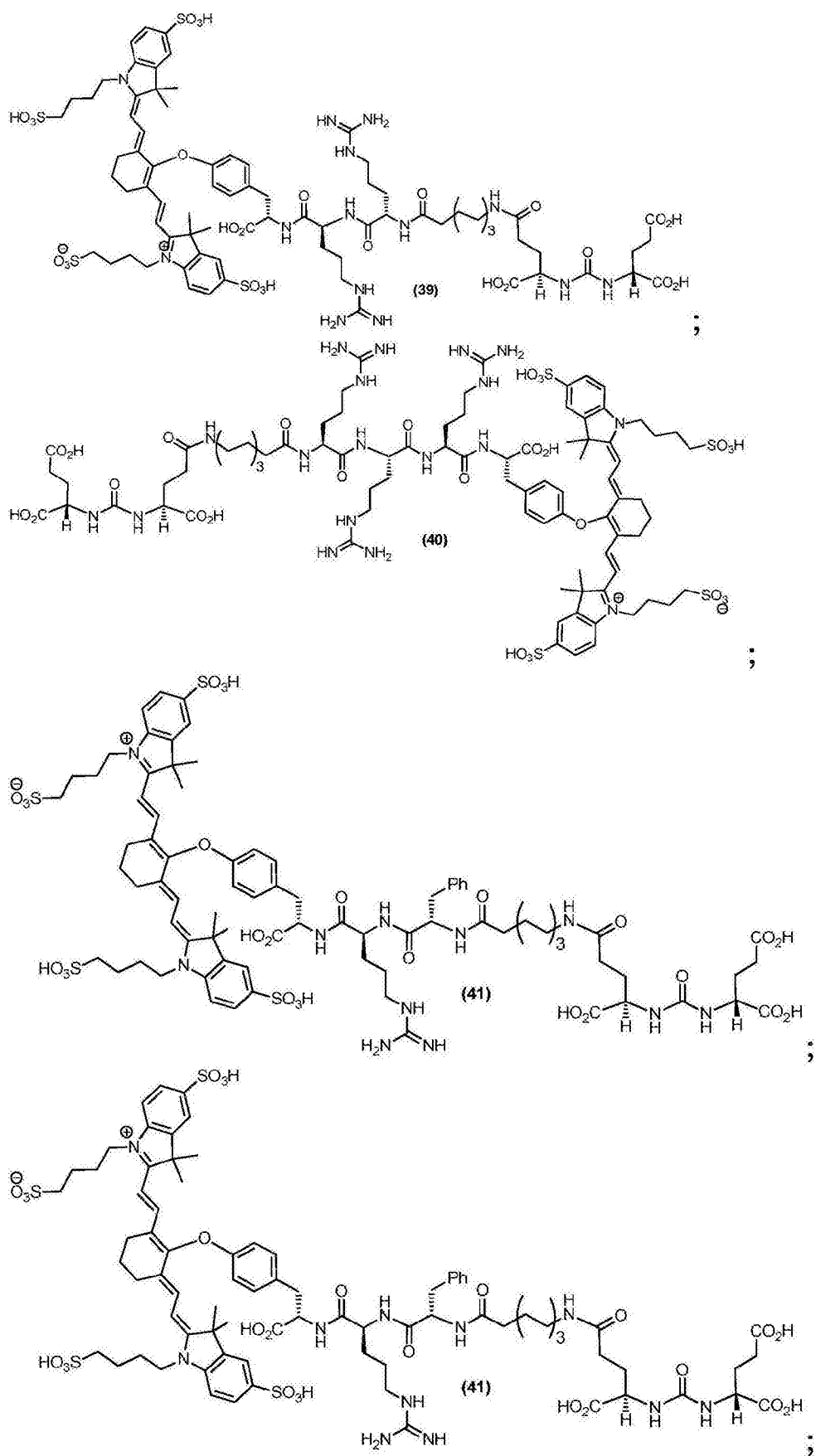
17. 权利要求16的化合物,其中所述化合物选自:



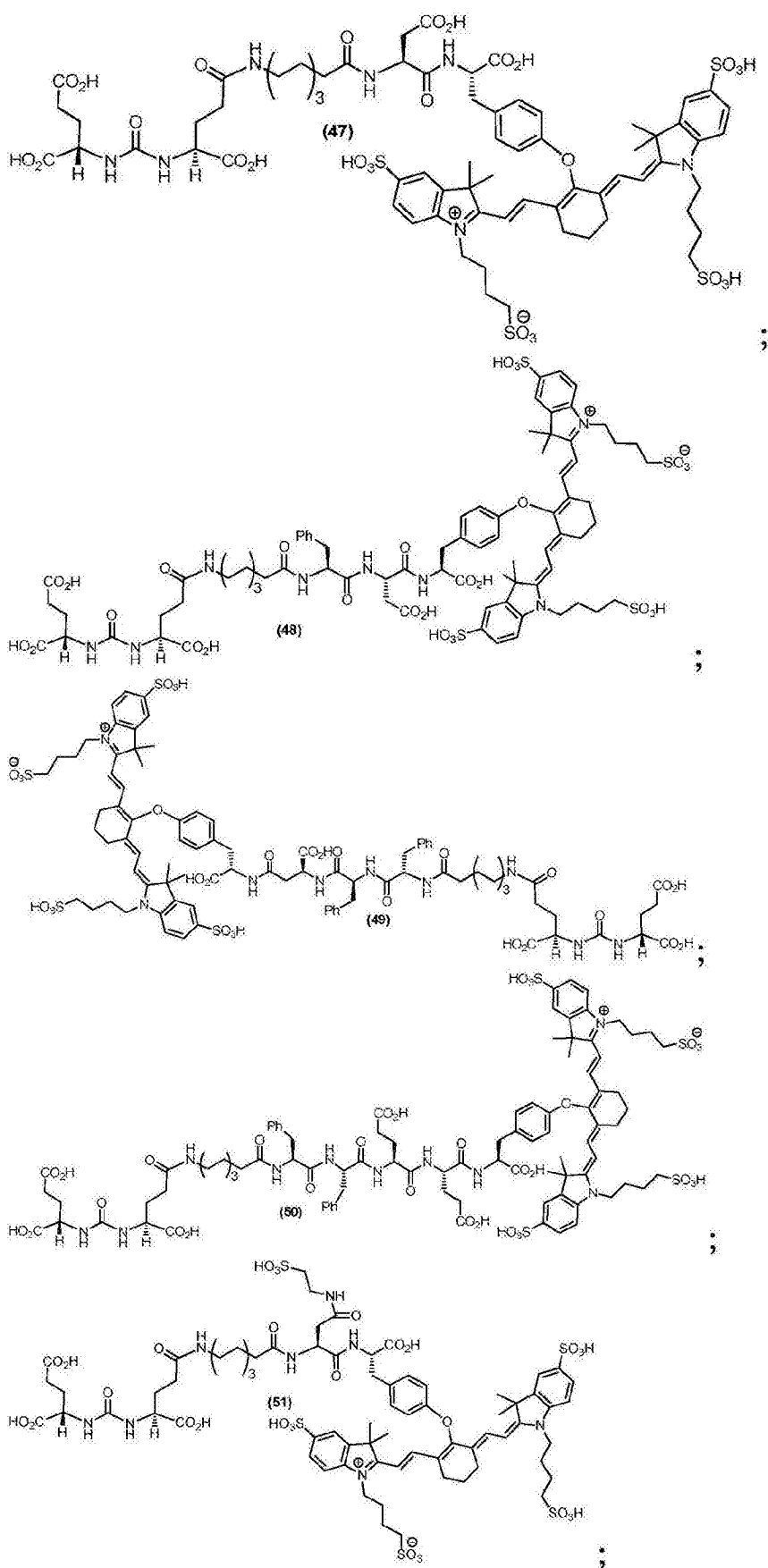


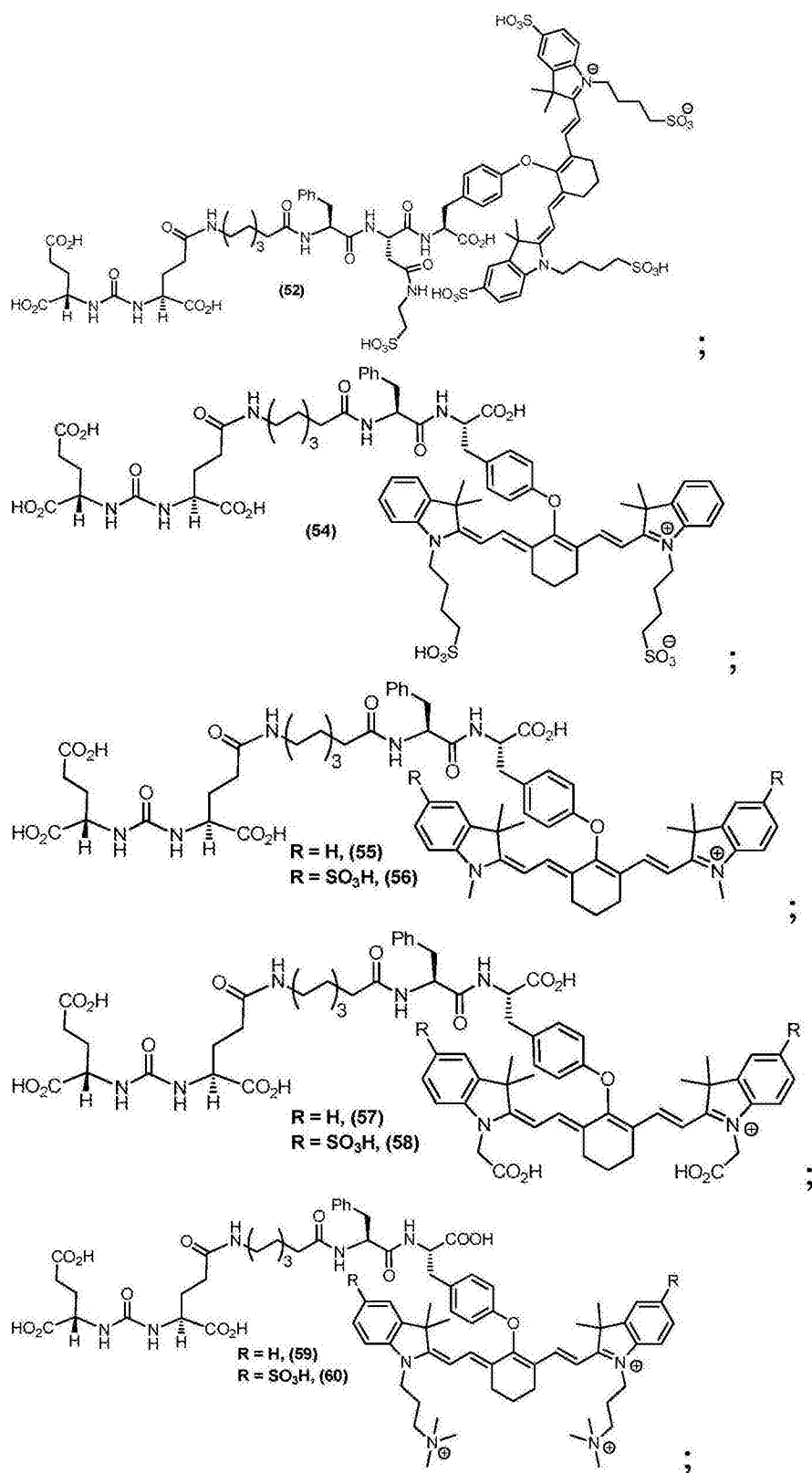


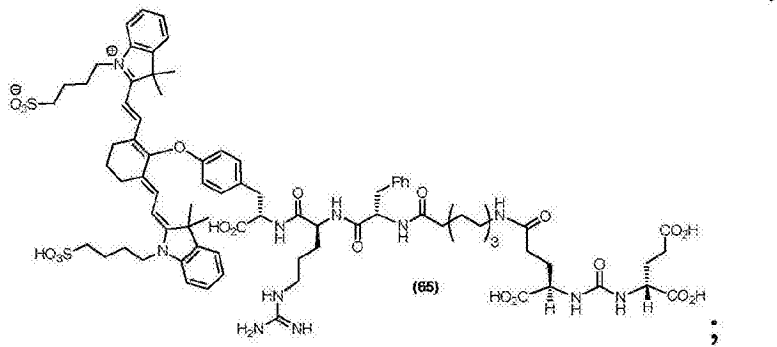
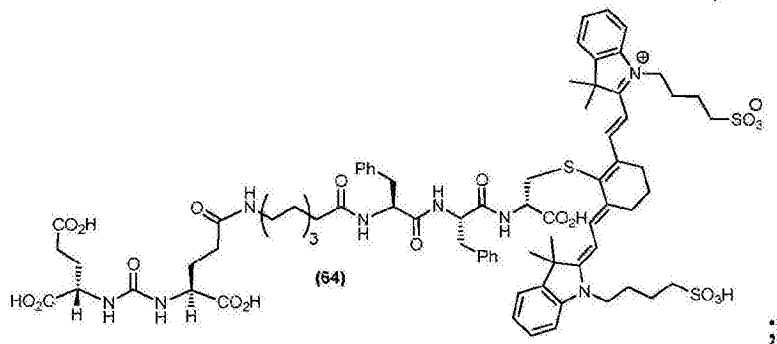
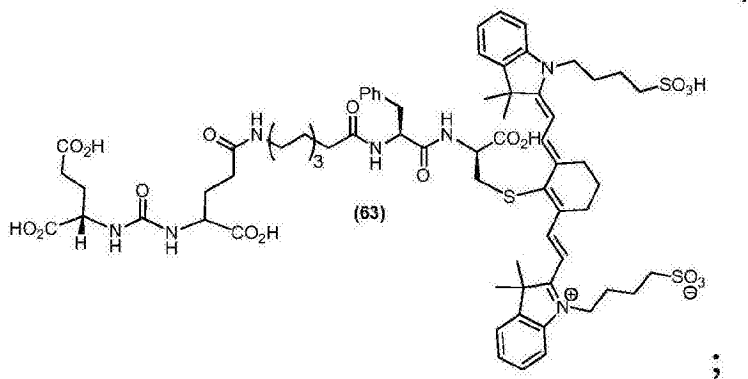
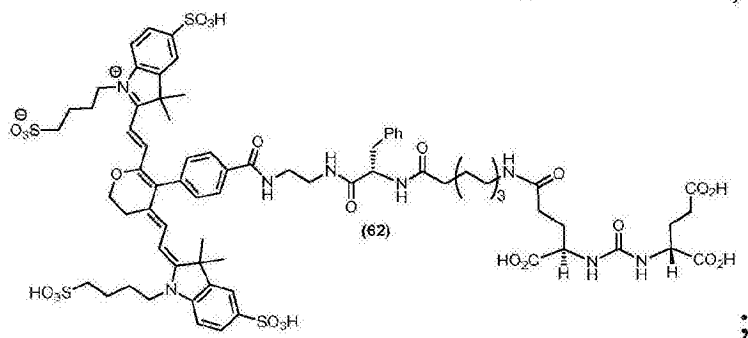
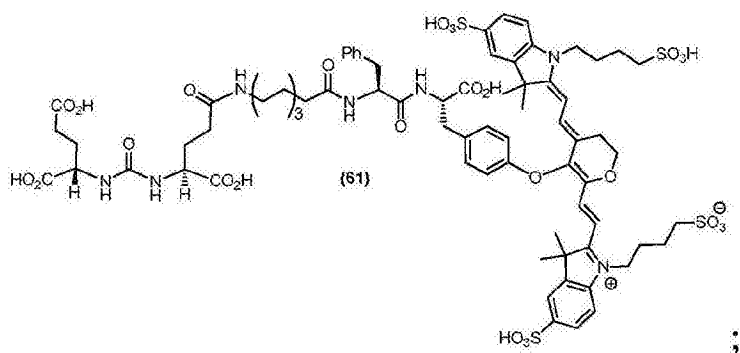


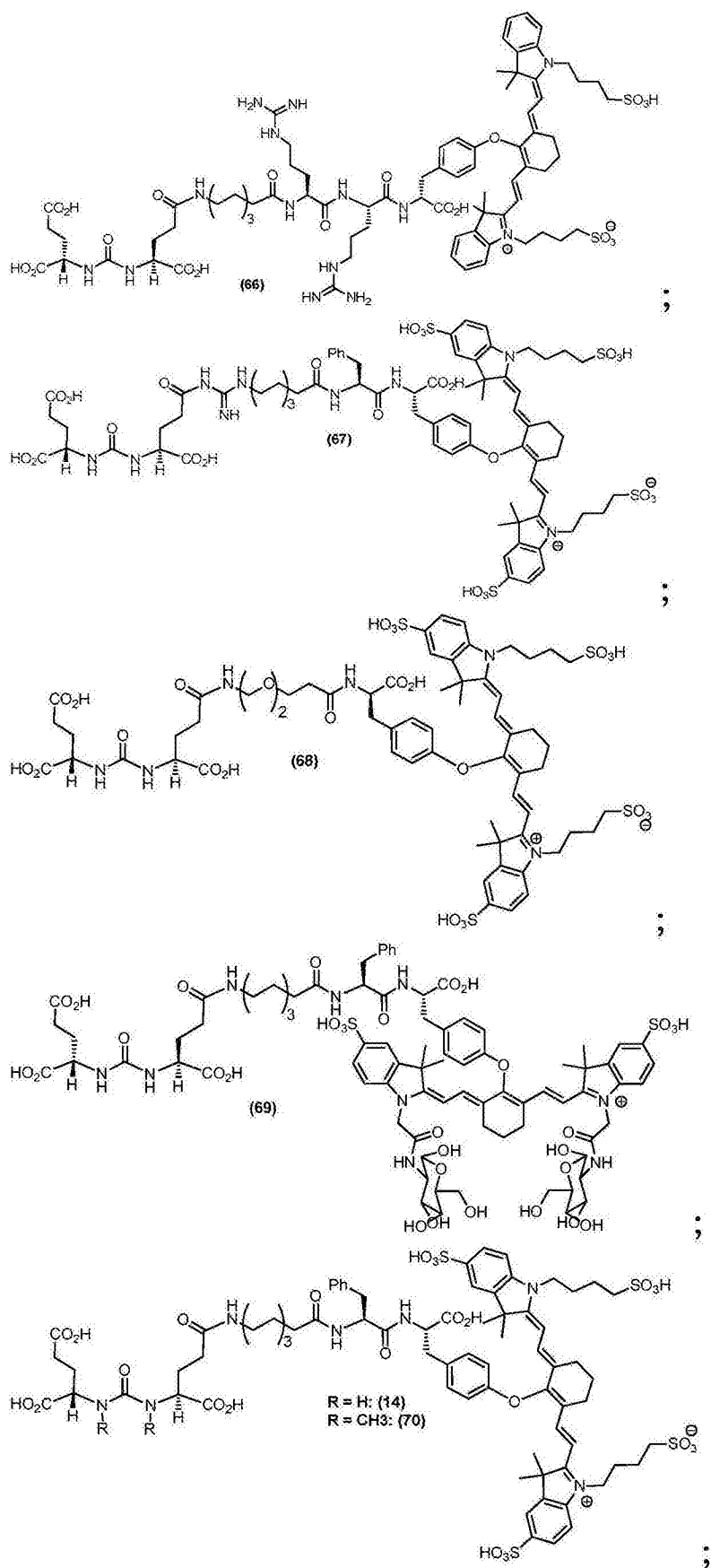


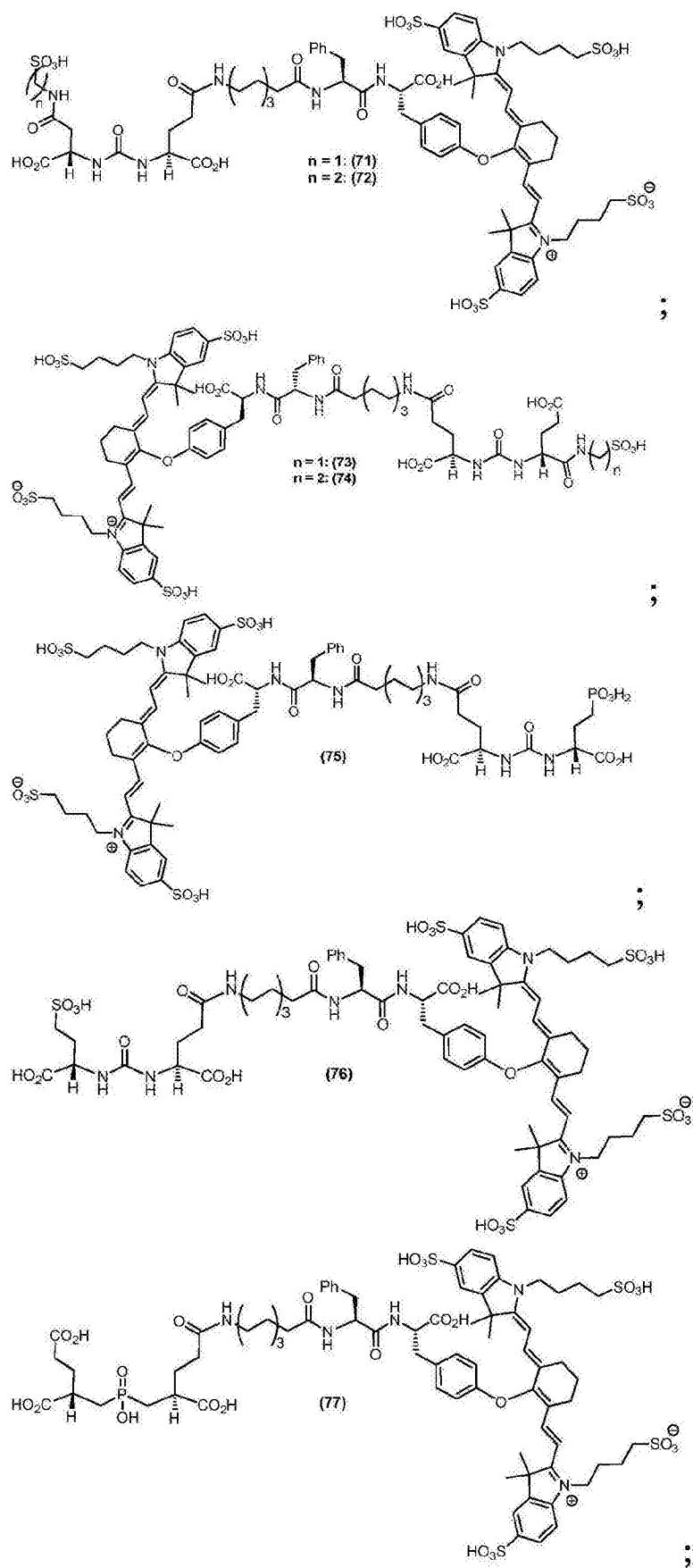


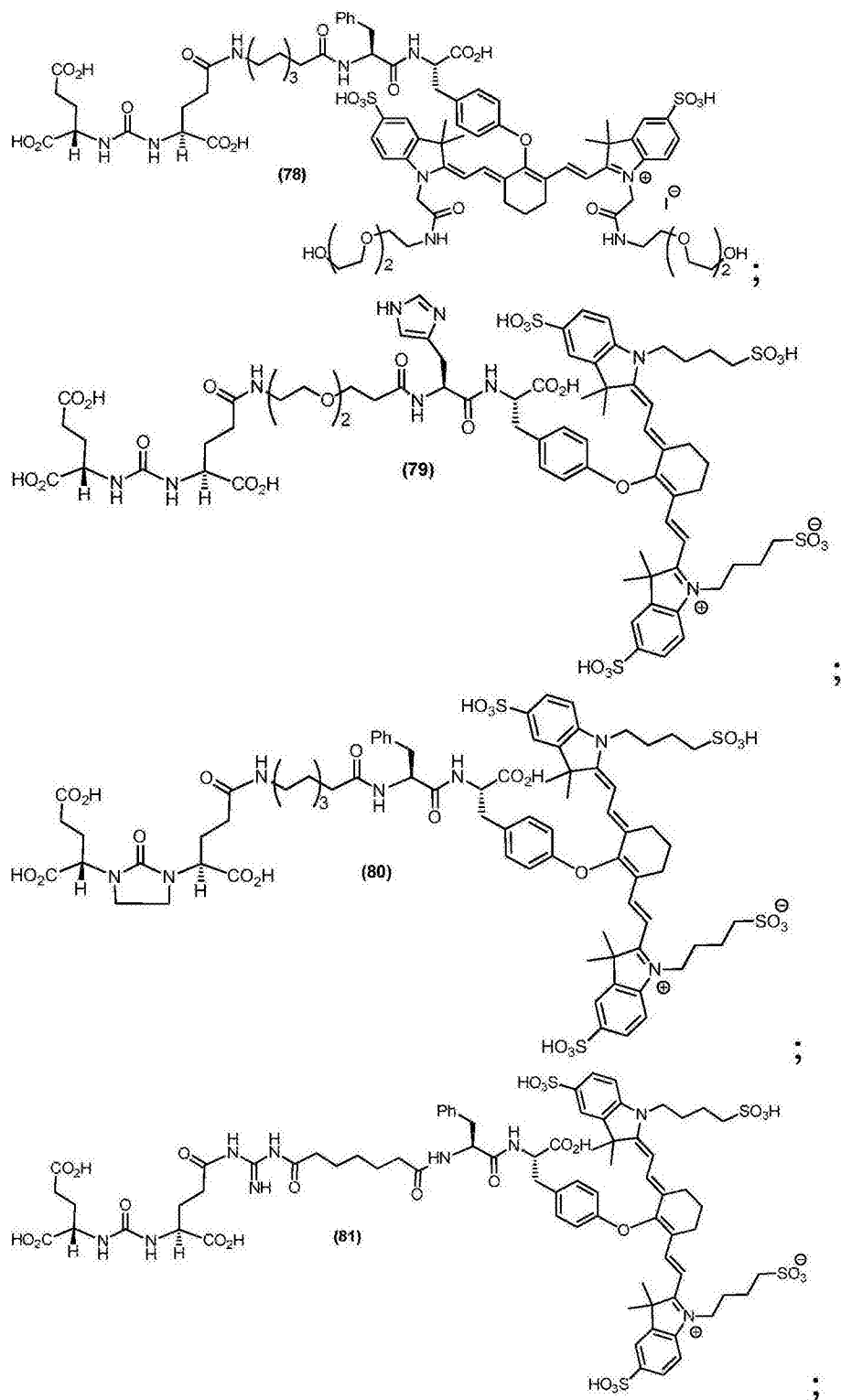


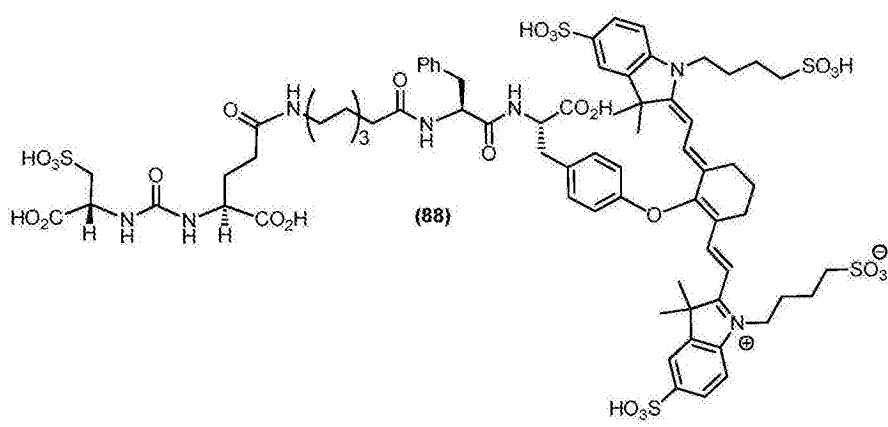
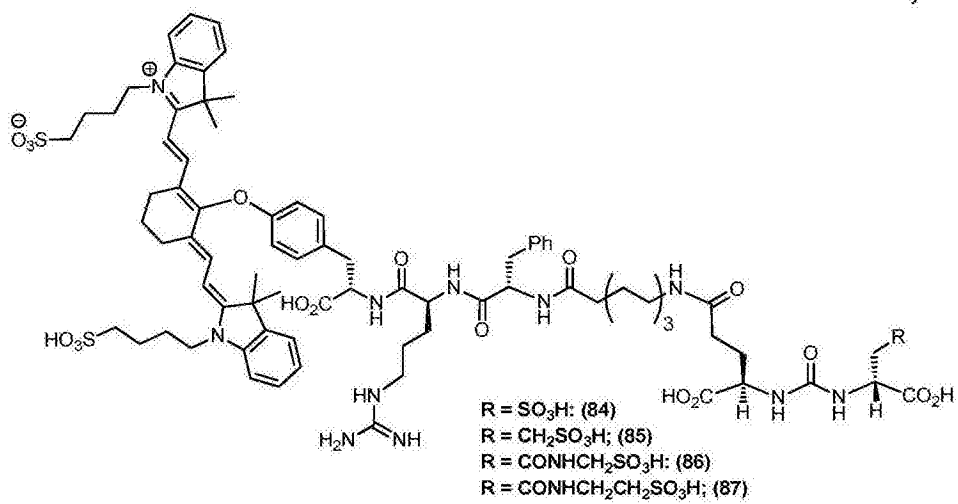
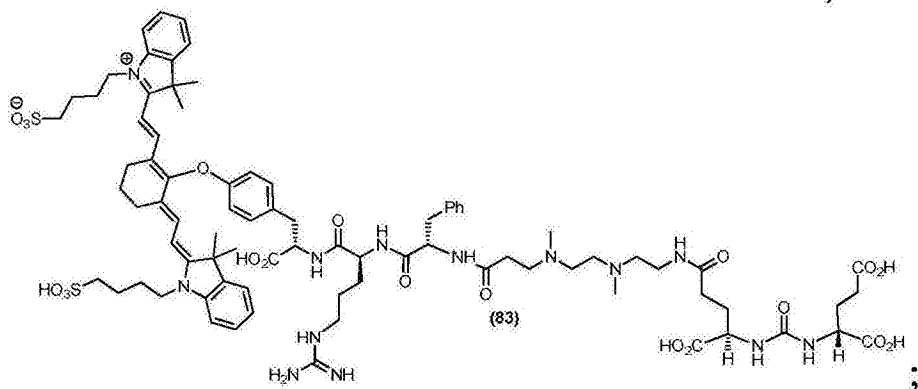
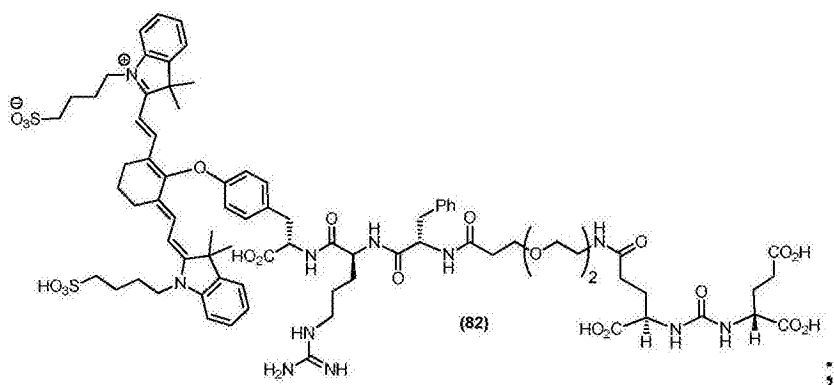




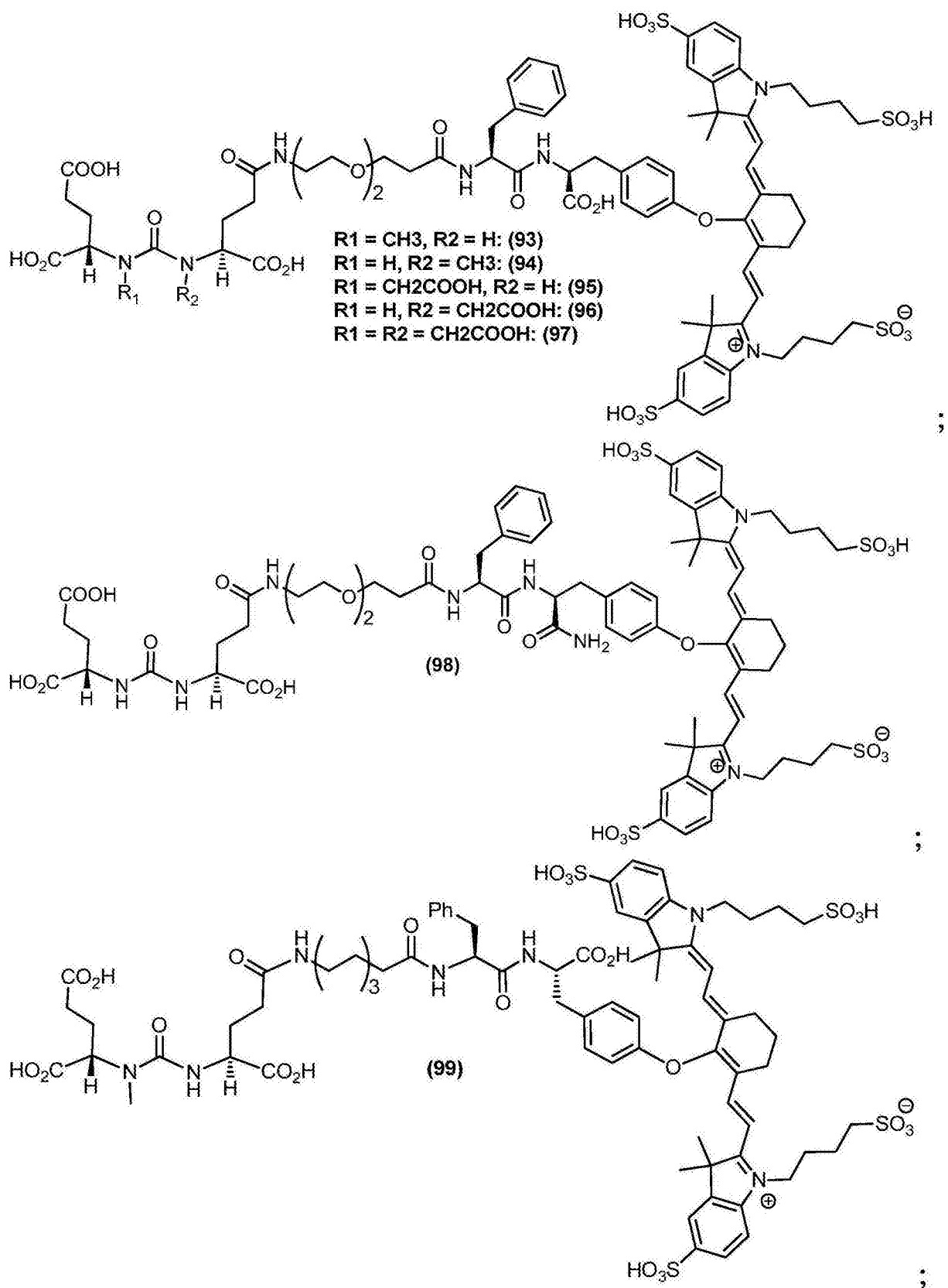


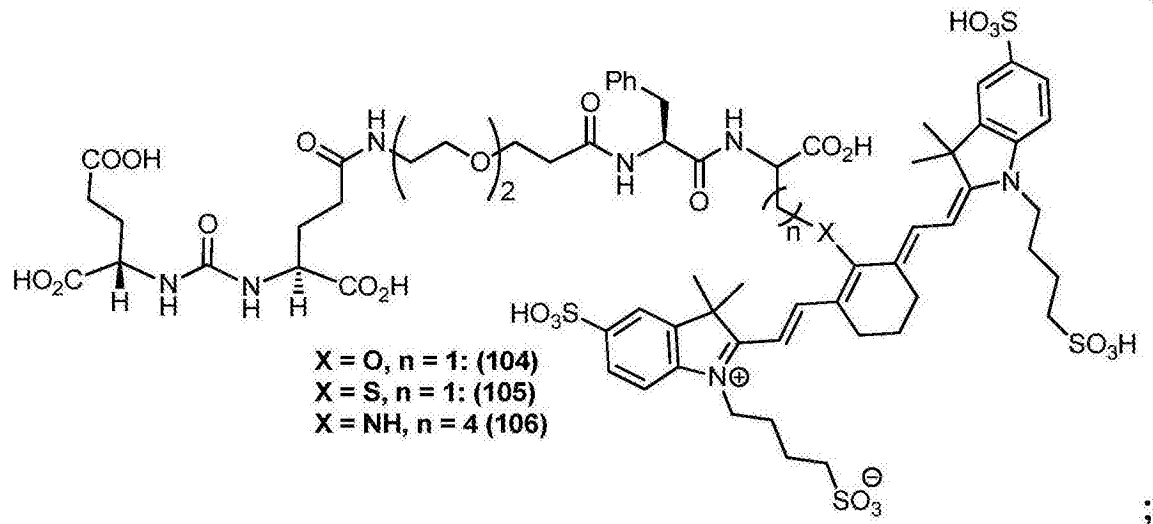
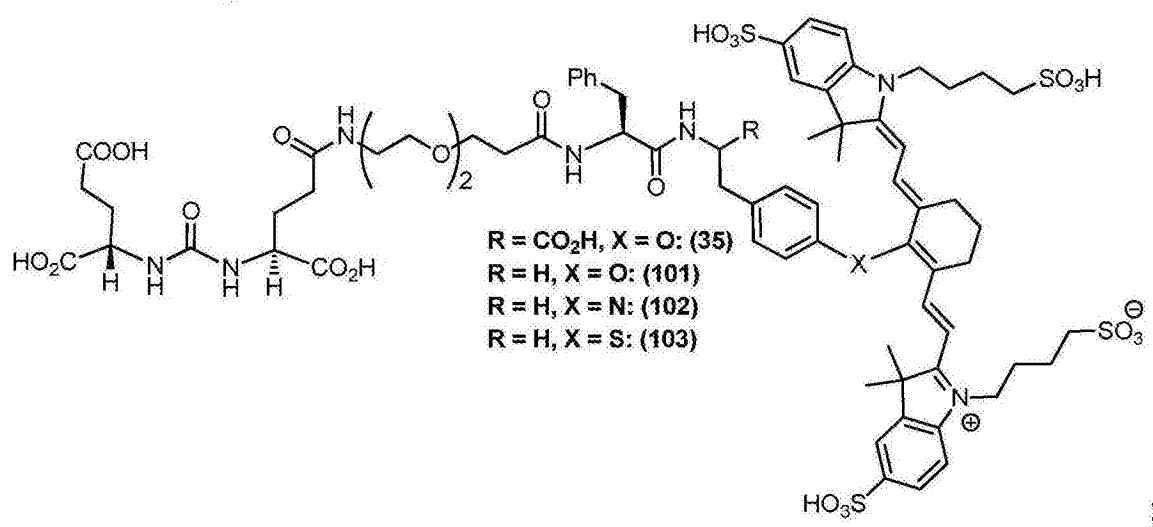
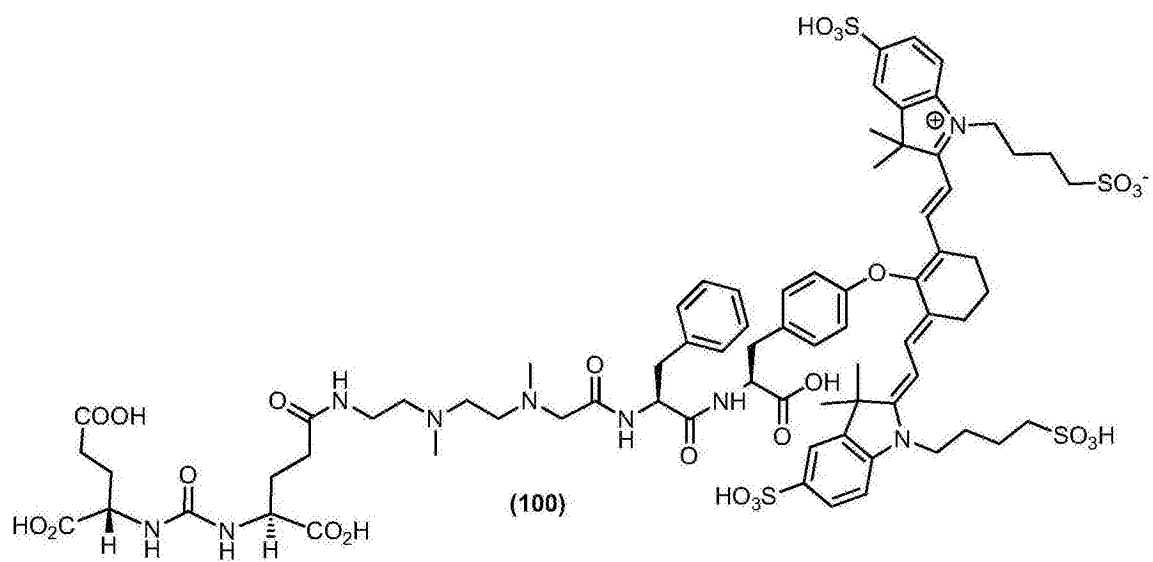




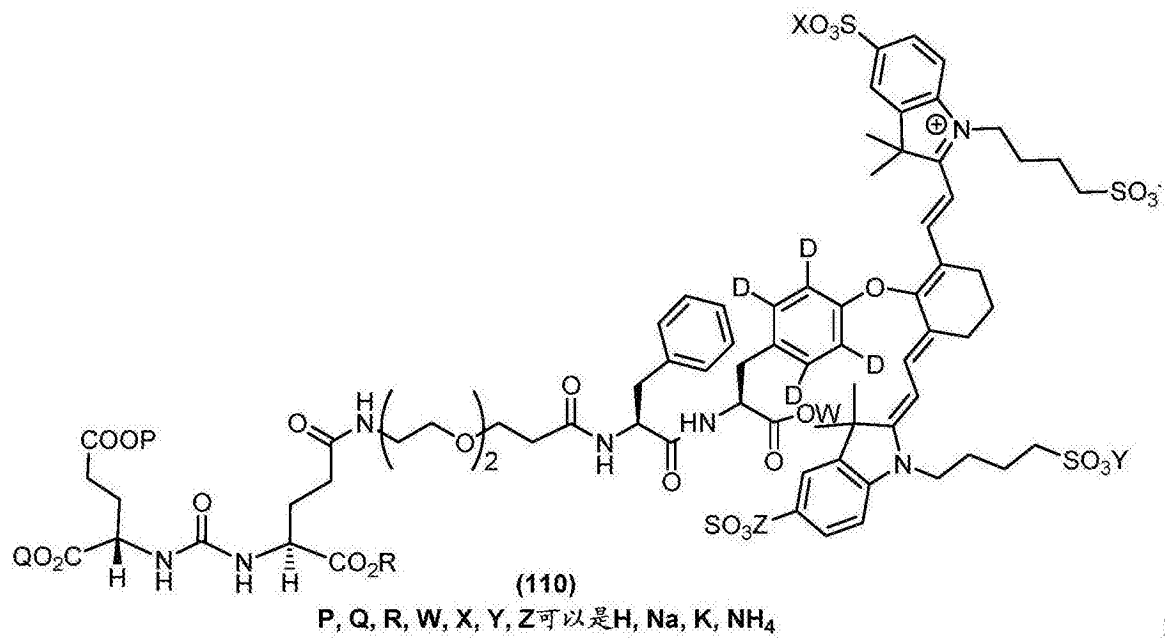
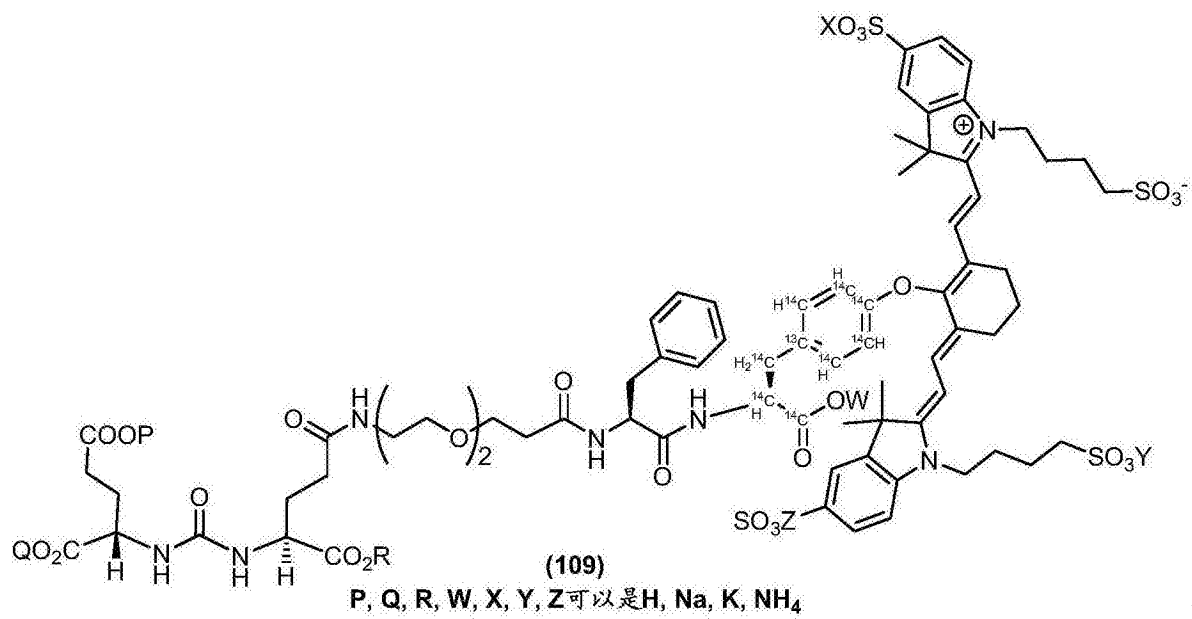


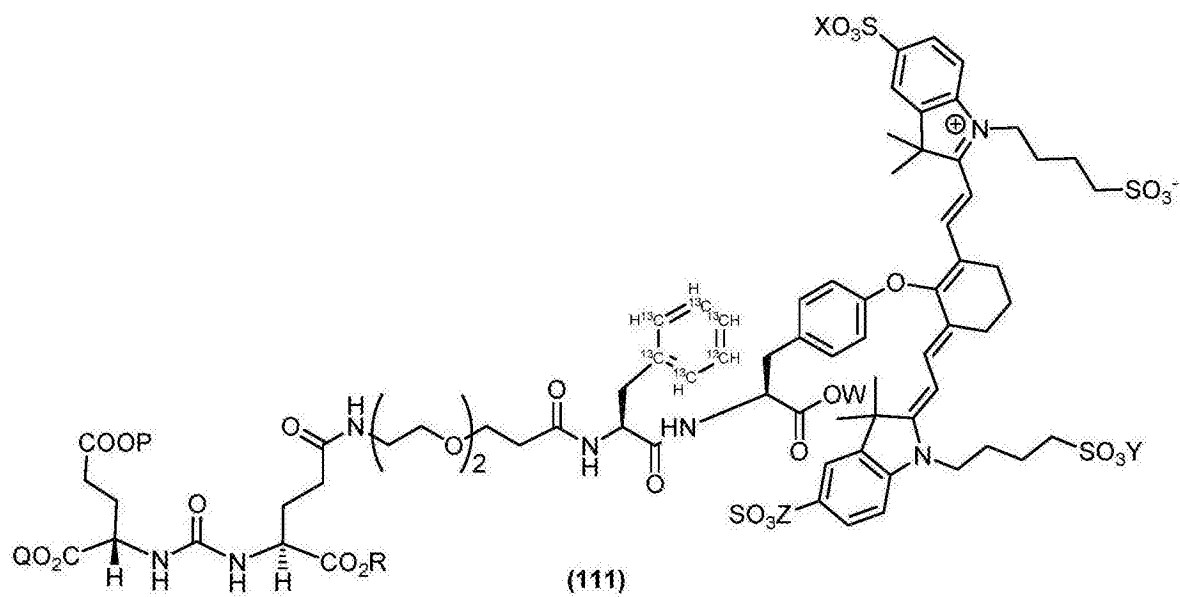






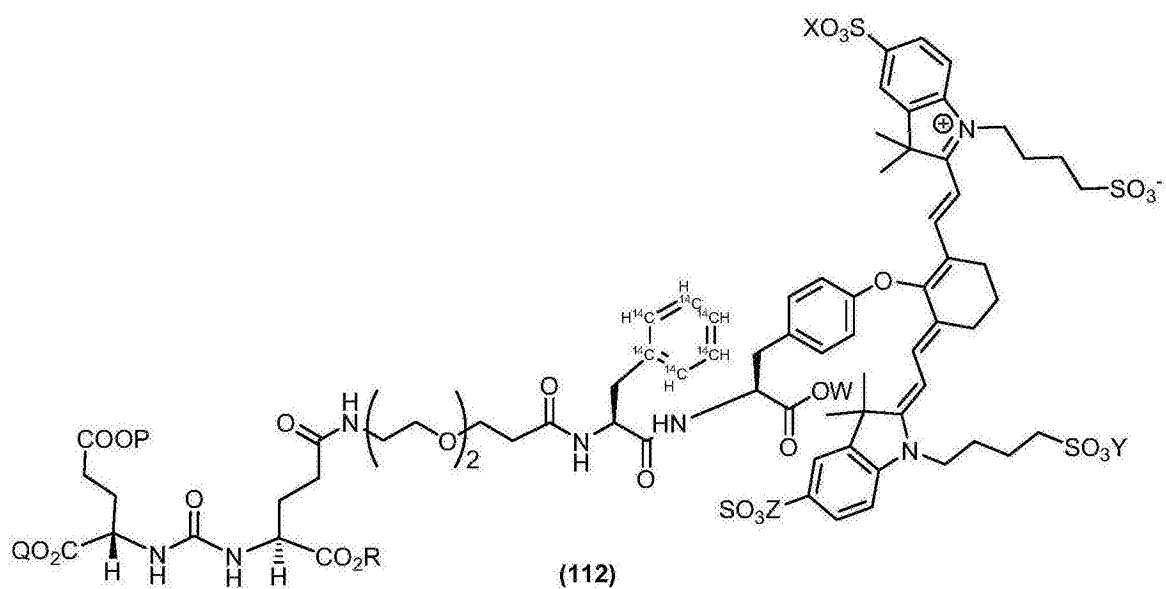






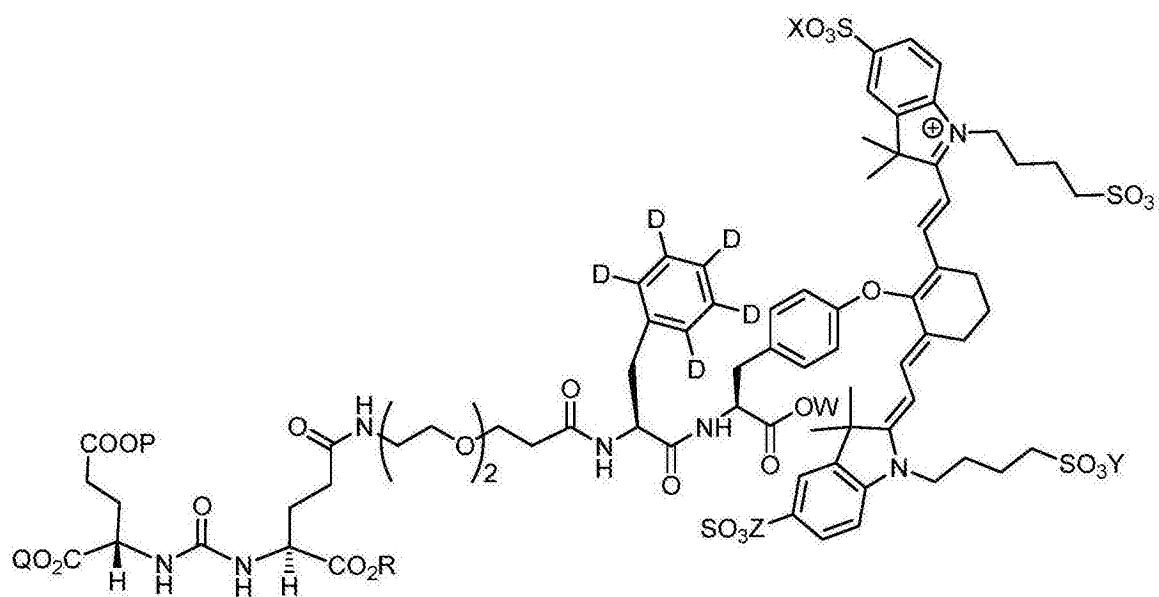
P, Q, R, W, X, Y, Z可以是H, Na, K, NH₄

;



P, Q, R, W, X, Y, Z可以是H, Na, K, NH₄

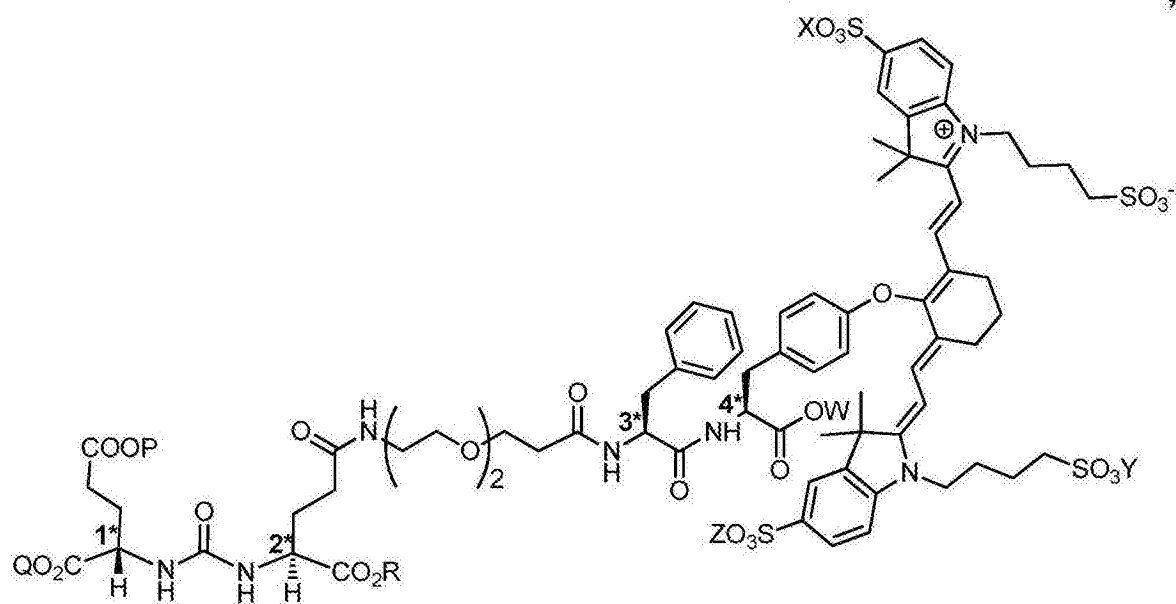
;



(113)

P, Q, R, W, X, Y, Z可以是H (35), Na, K, NH₄

;

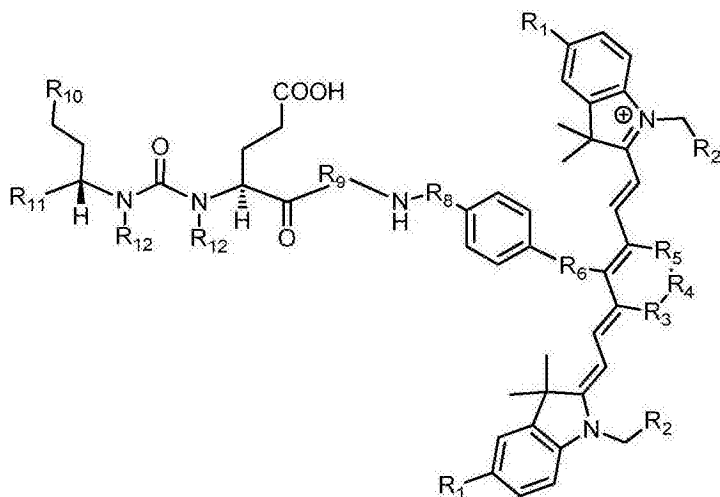


.

化合物 \ 手性中心	1*	2*	3*	4*
35	L	L	L	L
114	L	L	L	D
115	L	L	D	L
116	L	L	D	D
117	L	D	L	L
118	L	D	L	D
119	L	D	D	L
120	L	D	D	D
121	D	L	L	L
122	D	L	L	D
123	D	L	D	L
124	D	L	D	D
125	D	D	L	L
126	D	D	L	D
127	D	D	D	L
128	D	D	D	D

或其外消旋混合物。

18. 下述结构式的化合物：



或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

R₁代表氢或SO₃H;

R₂代表氢,或CH₃,或C₃H₆SO₃⁻,或C₃H₆SO₃H或C₄H₈SO₃⁻,或C₄H₈SO₃H或C₃H₆N⁺(CH₃)₃;

R₃和R₅各自代表碳,任选地一个或多个共享键,或氧,或硫,或氮

R₄代表碳,具有任选地一个或多个共享键;

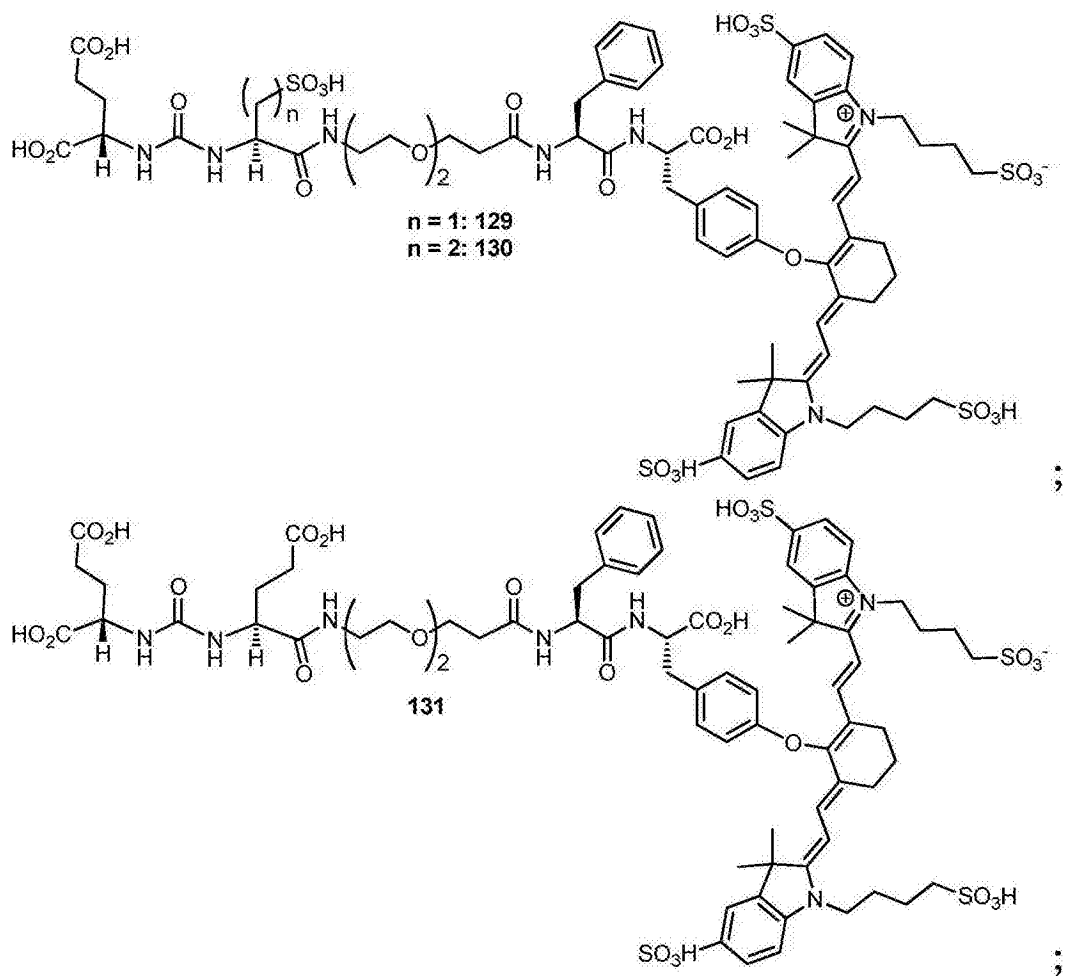
R₆代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);

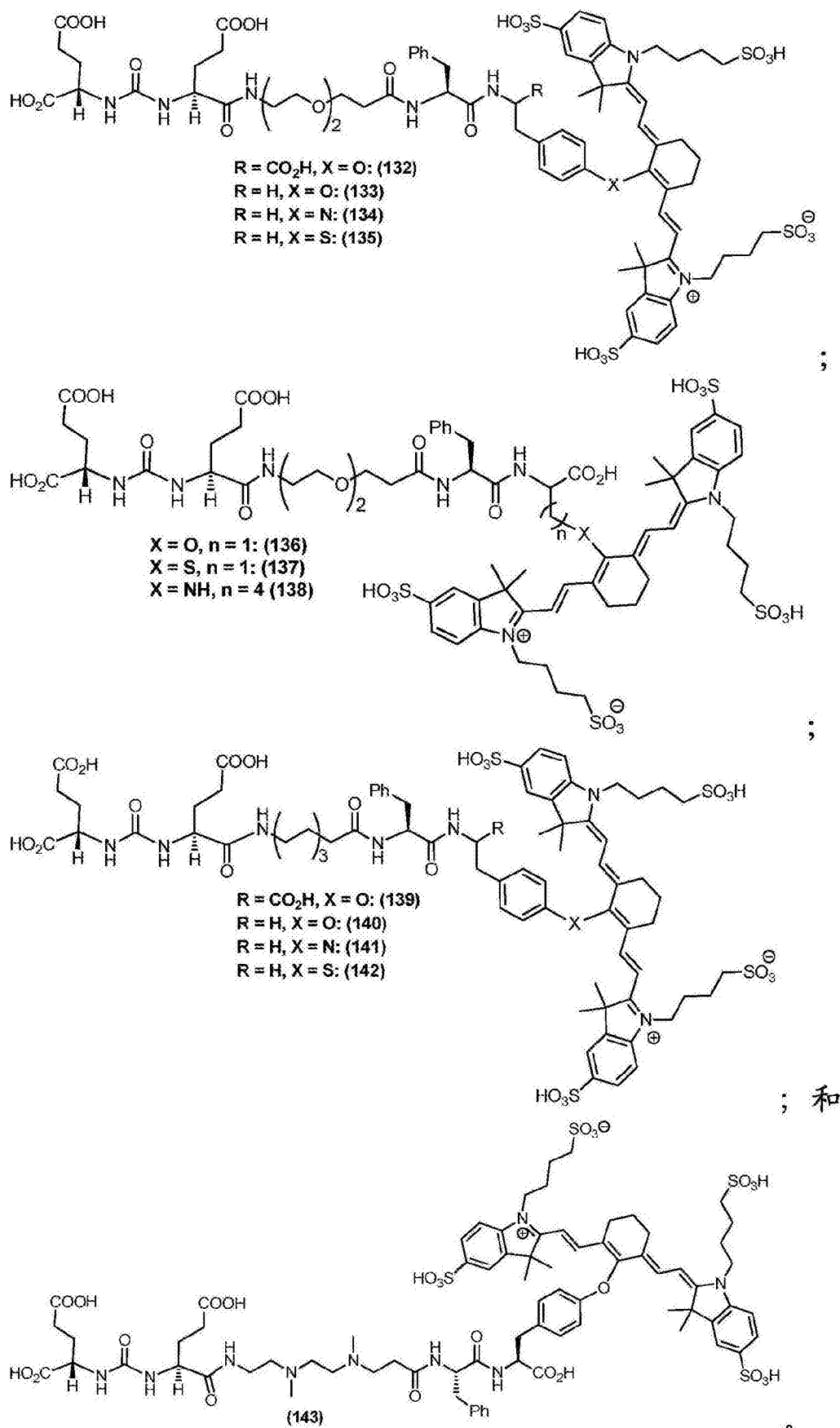
R₇是任选的且当存在时代表给电子芳族取代基团;

R₈是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His、Tyr或其衍生物,和/或阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,和/或阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,和/或芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;

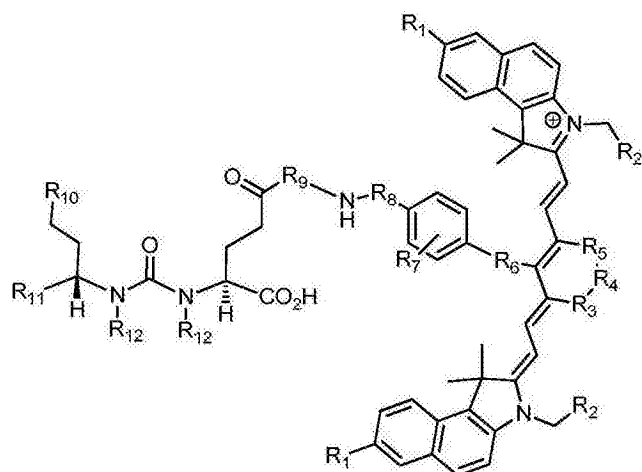
R₉是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,聚乙烯胺连接体,阳离子连接体或其衍生物;

R_{10} 代表 CO_2H , PO_3H_2 , SO_3H , CH_2SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$;
 R_{11} 代表 CO_2H , SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$; 和
 R_{12} 独立地代表氢, 甲基, CH_2COOH , CH_2 和可以任选地各自代表共享键的 CH_2 。
 19. 权利要求18的化合物, 其中所述化合物选自:





20. 下述结构式的化合物：



或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

R₁代表氢或SO₃H;

R₂代表氢,或CH₃,或C₃H₆SO₃⁻,或C₃H₆SO₃H或C₄H₈SO₃⁻,或C₄H₈SO₃H或C₃H₆N⁺(CH₃)₃;

R₃和R₅各自代表碳,任选地一个或多个共享键,或氧,或硫,或氮;

R₄代表碳,具有任选地一个或多个共享键;

R₆代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);

R₇是任选的且当存在时代表给电子芳族取代基团;

R₈是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His、Tyr或其衍生物,和/或阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,和/或阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,和/或芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;

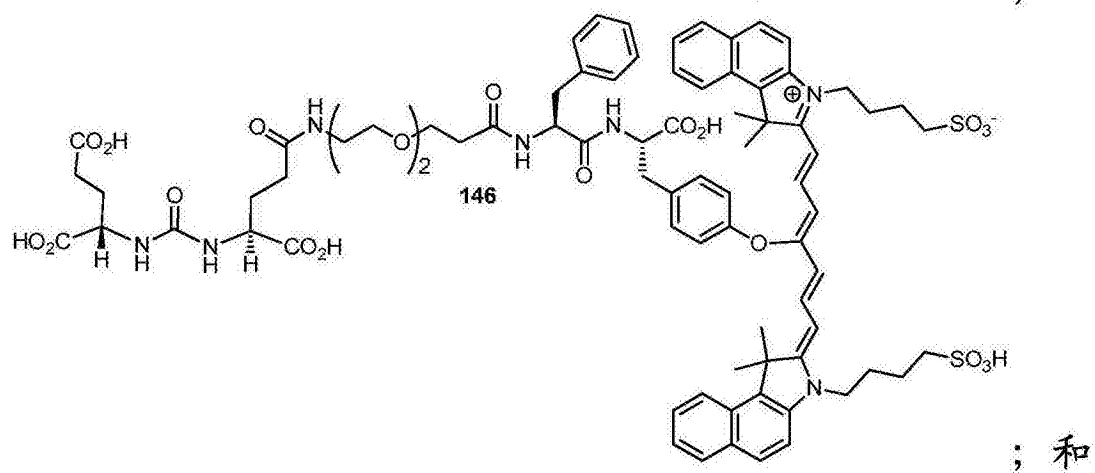
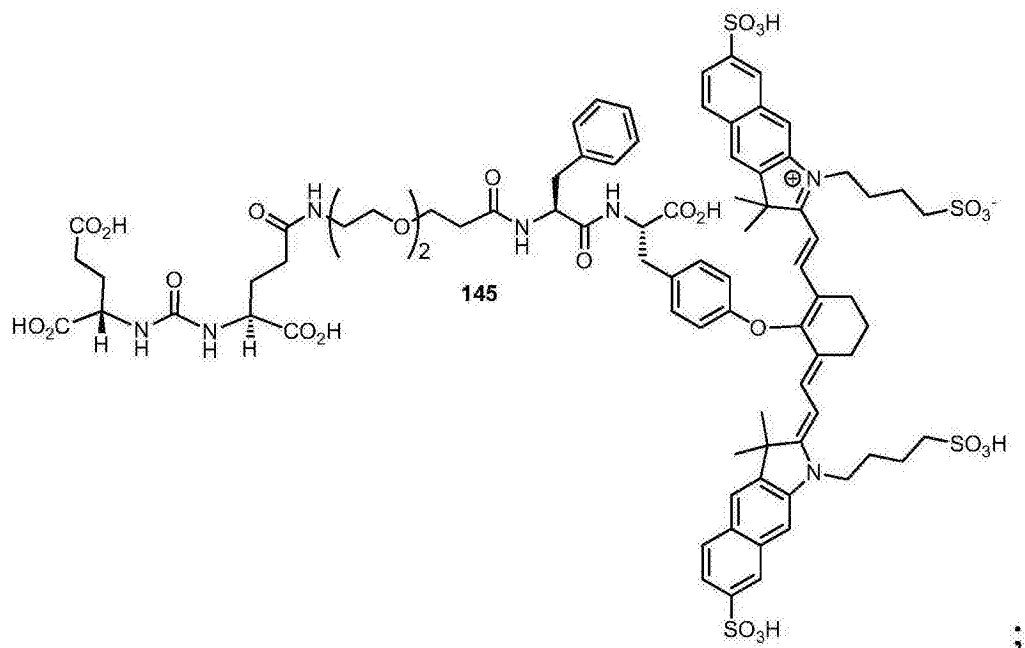
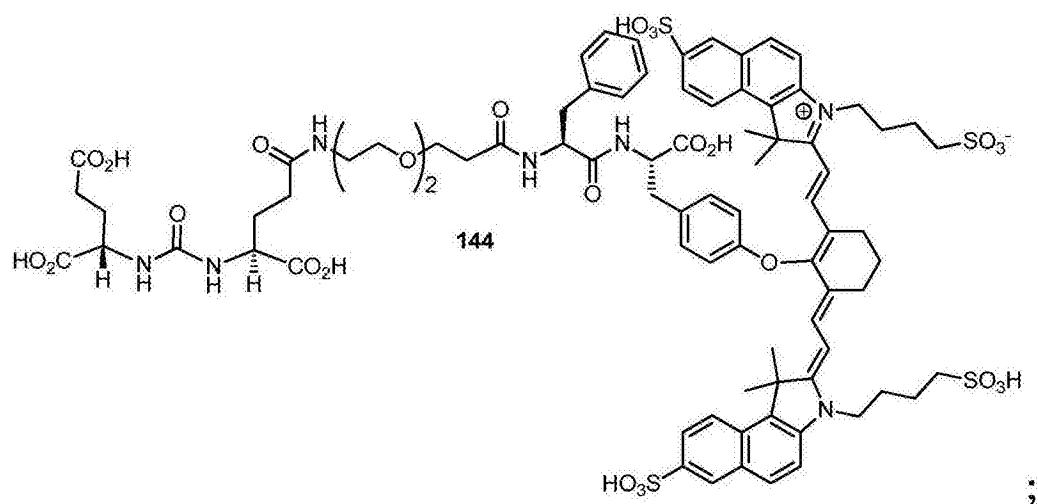
R₉是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,聚乙烯胺连接体,阳离子连接体或其衍生物;

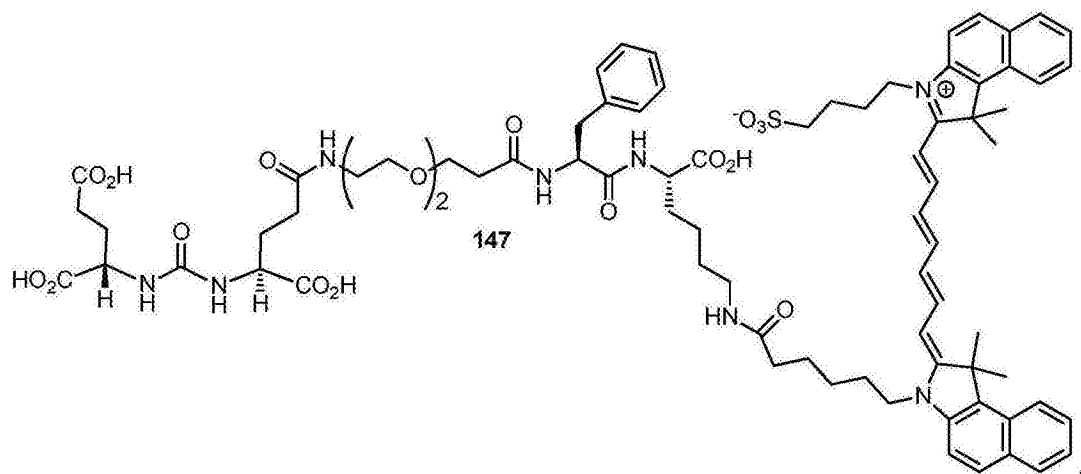
R₁₀代表CO₂H, PO₃H₂, SO₃H, CH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂CH₂SO₃H;

R₁₁代表CO₂H, SO₃H, CH₂CONHCH₂SO₃H, CH₂CONHCH₂CH₂SO₃H; 和

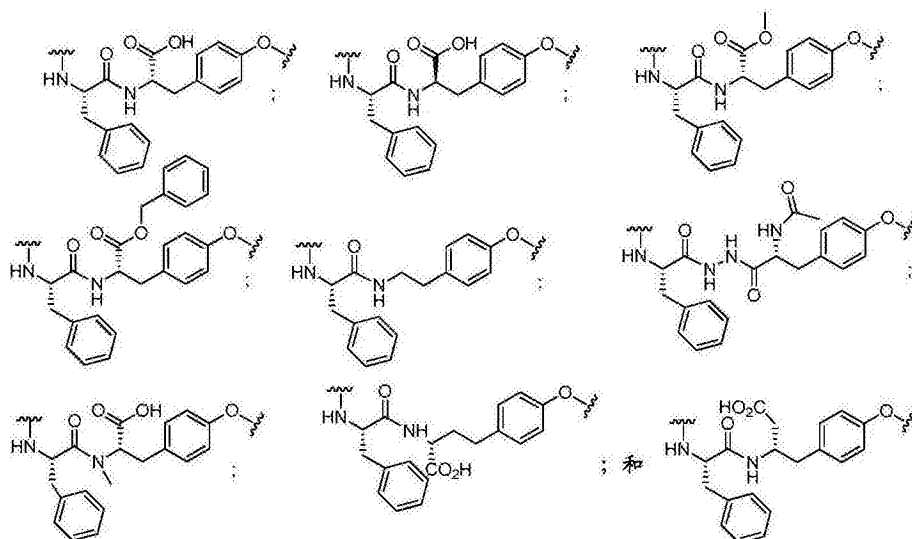
R₁₂独立地代表氢,甲基,CH₂COOH,CH₂和可以任选地各自代表共享键的CH₂。

21. 权利要求20的化合物,其中所述化合物选自:





22. 权利要求1的化合物,其中氨基酸包括含氧侧链基团。
23. 权利要求22的化合物,其中包括含氧侧链基团的氨基酸选自苯丙氨酸-酪氨酸,苯丙氨酸-丝氨酸,和苯丙氨酸-酪胺。
24. 权利要求22的化合物,其中包括含氧侧链基团的氨基酸是苯丙氨酸-酪氨酸。
25. 权利要求1的化合物,其中氨基酸包括含硫侧链基团。
26. 权利要求25的化合物,其中包括含硫侧链基团的氨基酸选自苯丙氨酸-半胱氨酸,苯丙氨酸-甲硫氨酸,苯丙氨酸-硒基半胱氨酸,或组氨酸-半胱氨酸。
27. 权利要求25的化合物,其中包括含硫侧链基团的氨基酸是苯丙氨酸-半胱氨酸。
28. 权利要求1的化合物,其中氨基酸包括含氮侧链基团。
29. 权利要求28的化合物,其中包括含氮侧链基团的氨基酸选自苯丙氨酸-赖氨酸,苯丙氨酸-鸟氨酸,苯丙氨酸-精氨酸,或组氨酸-赖氨酸。
30. 权利要求28的化合物,其中包括含氮侧链基团的氨基酸是苯丙氨酸-赖氨酸。
31. 权利要求1的化合物,其中氨基酸选自酪氨酸,半胱氨酸,赖氨酸或其衍生物,或苯丙氨酸-酪氨酸,苯丙氨酸-半胱氨酸,苯丙氨酸-赖氨酸,组氨酸-酪氨酸,或其衍生物。
32. 权利要求1的化合物,其中Y包含苯丙氨酸-酪氨酸或其衍生物。
33. 权利要求1的化合物,其中Y包含氨基酸或其衍生物的同位素。
34. 权利要求33的化合物,其中碳同位素位于酪氨酸或苯丙氨酸的芳族环上。
35. 权利要求33的化合物,其中氢同位素是酪氨酸或苯丙氨酸的芳族环的取代基。
36. 权利要求1的化合物,其中氨基酸衍生物是酪氨酸的衍生物,选自:



或其外消旋混合物。

37. 权利要求1的化合物, 其中化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。

38. 权利要求37的化合物, 其中化合物具有约600nm至800nm的吸收最大值和发射最大值。

39. 权利要求1的化合物, 其中使得化合物在组织细胞中分布之后发荧光。

40. 权利要求39的化合物, 其中组织细胞选自前列腺细胞, 前列腺癌细胞, 膀胱癌细胞, 胰癌细胞, 肝癌细胞, 肺癌细胞, 肾癌细胞, 肉瘤细胞, 乳腺癌细胞, 脑癌细胞, 神经内分泌癌细胞, 结肠癌细胞, 睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

41. 权利要求16的化合物, 其中化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。

42. 权利要求18的化合物, 其中化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。

43. 权利要求20的化合物, 其中化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。

44. 权利要求16的化合物, 其中使得化合物在组织细胞中分布之后发荧光。

45. 权利要求18的化合物, 其中使得化合物在组织细胞中分布之后发荧光。

46. 权利要求20的化合物, 其中使得化合物在组织细胞中分布之后发荧光。

47. 权利要求44的化合物, 其中组织细胞选自前列腺细胞, 前列腺癌细胞, 膀胱癌细胞, 胰癌细胞, 肝癌细胞, 肺癌细胞, 肾癌细胞, 肉瘤细胞, 乳腺癌细胞, 脑癌细胞, 神经内分泌癌细胞, 结肠癌细胞, 睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

48. 权利要求45的化合物, 其中组织细胞选自前列腺细胞, 前列腺癌细胞, 膀胱癌细胞, 胰癌细胞, 肝癌细胞, 肺癌细胞, 肾癌细胞, 肉瘤细胞, 乳腺癌细胞, 脑癌细胞, 神经内分泌癌细胞, 结肠癌细胞, 睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

49. 权利要求46的化合物, 其中组织细胞选自前列腺细胞, 前列腺癌细胞, 膀胱癌细胞, 胰癌细胞, 肝癌细胞, 肺癌细胞, 肾癌细胞, 肉瘤细胞, 乳腺癌细胞, 脑癌细胞, 神经内分泌癌细胞, 结肠癌细胞, 睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

50. 权利要求1的化合物,其中通过使化合物经受近红外波长的激发光来使化合物发荧光。

51. 权利要求1的化合物,其中化合物具有对PSMA的结合亲和力,其类似DUPA的结合亲和力。

52. 权利要求1的化合物,其中所述化合物高度选择性地靶向肿瘤细胞。

53. 一种组合物,包含权利要求1的化合物和药学上可接受的载体,赋形剂或稀释剂。

54. 表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包括:

- (a) 将生物学组织与权利要求1的组合物接触,
- (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布;
- (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织;和
- (d) 检测化合物发出的光学信号。

55. 权利要求54的方法,其中化合物发出的信号用来构建图像。

56. 权利要求54的方法,其中生物学组织选自前列腺细胞,前列腺癌细胞,膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

57. 表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包括:

- (a) 将生物学组织与权利要求16的组合物接触,
- (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布;
- (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织;和
- (d) 检测化合物发出的光学信号。

58. 权利要求57的方法,其中化合物发出的信号用来构建图像。

59. 权利要求57的方法,其中生物学组织选自前列腺细胞,前列腺癌细胞,膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

60. 表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包括:

- (a) 将生物学组织与权利要求18的组合物接触,
- (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布;
- (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织;和
- (d) 检测化合物发出的光学信号。

61. 权利要求60的方法,其中化合物发出的信号用来构建图像。

62. 权利要求60的方法,其中生物学组织选自前列腺细胞,前列腺癌细胞,膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

63. 表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包括:

- (a) 将生物学组织与权利要求20的组合物接触,
- (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布;
- (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织;和
- (d) 检测化合物发出的光学信号。

64. 权利要求63的方法,其中化合物发出的信号用来构建图像。

65. 权利要求63的方法, 其中生物学组织选自前列腺细胞, 前列腺癌细胞, 膀胱癌细胞, 胰癌细胞, 肝癌细胞, 肺癌细胞, 肾癌细胞, 肉瘤细胞, 乳腺癌细胞, 脑癌细胞, 神经内分泌癌细胞, 结肠癌细胞, 睾丸癌细胞和黑色素瘤细胞。

66. 鉴定生物学样品中的靶标细胞类型的方法, 包括:

a) 将生物学样品与权利要求1的化合物接触一定时间, 其条件使得化合物与靶标细胞类型或靶标组织的脉管系统的至少一种细胞结合; 和

b) 光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在, 其中化合物在检测步骤b) 中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。

67. 鉴定生物学样品中的靶标细胞类型的方法, 包括

a) 将生物学样品与权利要求16的化合物接触一段时间, 其条件使得化合物结合至靶标细胞类型的至少一种细胞; 和

b) 光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在,

c) 其中化合物在检测步骤b) 中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。

68. 鉴定生物学样品中的靶标细胞类型的方法, 包括

a) 将生物学样品与权利要求18的化合物接触一段时间, 其条件使得化合物结合至靶标细胞类型的至少一种细胞; 和

b) 光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在,

c) 其中化合物在检测步骤b) 中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。

69. 鉴定生物学样品中的靶标细胞类型的方法, 包括

a) 将生物学样品与权利要求20的化合物接触一段时间, 其条件使得化合物结合至靶标细胞类型的至少一种细胞; 和

b) 光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在,

c) 其中化合物在检测步骤b) 中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。

70. 包含权利要求1的化合物的试剂盒。

靶向PSMA的NIR染料及其应用

[0001] 相关申请

[0002] 本专利申请涉及和要求2015年9月9日提交的U.S.临时专利申请Ser.No.62/216,157的优先权益处,在此通过援引将其全部内容并入本公开中。

发明领域

[0003] 本公开涉及靶向前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的近红外 (NIR) 染料及其在治疗和诊断中应用的方法。更特别地,本公开提供化合物和方法,用于诊断和手术除去(图像引导式手术)表达前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的细胞,比如前列腺癌和有关的疾病。本公开还描述制备和使用化合物的方法和组合物,并入化合物的方法,和并入化合物的试剂盒。

[0004] 发明背景

[0005] 前列腺位于骨盆中膀胱下的男性生殖器官之一。它的作用是产生和储存精液,其在生殖期间提供对于引入阴道的精液生存很关键的营养素和流体。类似许多其它组织,前列腺也容易发展恶性(癌性)或良性(非癌性)肿瘤。美国癌症学会预测在2005年超过230,000男性会诊断出前列腺癌和超过30,000男性会死于该病。实际上,前列腺癌是西方社会中最常见的男性癌症之一,并且是在美国男性中第二常见的恶性形式。前列腺癌的目前治疗方法包括激素疗法,放疗,手术,化疗,光动力疗法和联合疗法。治疗的选择一般地取决于癌症阶段而变化。然而,这些治疗中的许多影响患者的生活质量,特别是诊断出前列腺癌的50岁以上的那些男性。例如,使用激素药物常常伴随副作用比如骨质疏松症和肝损伤。所述副作用可能因如下而缓和:使用对负责疾病状态的组织更具选择性或特异性的治疗,并且避开非靶标组织比如骨骼或肝。如本文描述的,前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 代表所述选择性或特异性治疗的靶标。

[0006] 手术除去恶性病是初步治疗癌症最常见且有效治疗性干预之一。切除全部可检测的恶性病灶引起在大约50%的全部癌患者中不可检测的疾病复发并且可以延长预期寿命或降低观察到癌症复发的患者的发病。并不令人惊讶地,实现更定量的细胞减少的手术方法目前正接受更高的关注。

[0007] 切除全部可检测的恶性病灶引起在大约50%的全部癌患者中不可检测的疾病复发并且可以延长预期寿命或降低观察到癌症复发的患者的发病。鉴于全部切除恶性病灶的重要性,有益的是确保恶性病灶被精确且完整的识别。在手术期间鉴定恶性组织目前通过三种方法实现。第一,许多肿瘤块和小瘤能够基于异常颜色、质地和/或形态来视觉检测。从而,肿瘤块可以展示杂色、具有不规则边界而显得不对称,或从健康器官的轮廓突出。恶性团块还可以触觉识别,原因是与相邻健康组织的塑性、弹性或坚实性的差异。最终,少数癌症病灶能够在手术中用荧光染料定位,所述染料从原发肿瘤被动流入排空中的淋巴结。在后者方法中,荧光(哨兵)淋巴结能够被视觉识别、切除和检查,以确定癌细胞是否转移至这些淋巴结。

[0008] PSMA大致是由于其在前列腺癌细胞上以较高水平表达而命名;然而,其对前列腺癌细胞的特殊作用仍是未解决的。与其它人体器官比如肾、近端小肠和唾腺相比,PSMA在恶

性前列腺组织中过表达。PSMA也在绝大多数实体肿瘤的新血管系统中表达。尽管PSMA在脑中表达但该表达是很低的,并且PSMA的绝大多数配体是极性从而无法穿透血脑屏障。PSMA是II类细胞表面膜结合的糖蛋白,具有~110kD分子量,包括细胞内片段(氨基酸1-18),跨膜区域(氨基酸19-43),和广泛的细胞外区域(氨基酸44-750)。虽然细胞内片段和跨膜区域的功能目前据信是不显著的,细胞外区域则牵涉于数种不同活性中。PSMA在中枢神经系统中发挥作用,其在此将N-乙酰基-天冬氨酰基谷氨酸(NAAG)代谢为谷氨酸和N-乙酰基天冬氨酸。相应地,其有时也称为N-乙酰基 α 连接的酸性二肽酶(NAALADase)。由于在近端小肠中的作用,PSMA有时也称为叶酸水解酶I(FOLH I)或谷氨酸羧基肽酶(GCP II),其在此从聚- γ -谷氨酸化的叶酸除去 γ -连接的谷氨酸并且从肽和小分子除去 α -连接的谷氨酸。

[0009] PSMA也具有与人类转铁蛋白受体(TfR)的相似性,原因是PSMA和TfR均是II类糖蛋白。更特别地,PSMA分别显示与TfR1和TfR2的54%和60%的同源性。然而,尽管TfR由于链间巯基连接的形成仅以二聚体形式存在,PSMA则能够以二聚体或单体形式存在。

[0010] 不同于许多其它膜结合蛋白,PSMA以与细胞表面结合受体比如维生素受体相似的方式发生快速内化进入细胞。PSMA通过网格蛋白包覆的凹陷内化,随后能够循环至细胞表面或到达溶酶体。已表明的是,PSMA的二聚体和单体形式是可相互转化的,但是互变的直接证据仍有争论。尽管如此,仅PSMA的二聚体才具有酶活性,而单体则没有。

[0011] 尽管PSMA对前列腺癌细胞的细胞表面的作用仍然未知,已认识到的是PSMA代表选择性和/或特异性递送生物学活性剂包括诊断剂、成像剂和治疗剂至所述前列腺癌细胞的可行靶标。

[0012] 抗-PSMA单克隆抗体(mAb)7E11的放射性-免疫缀合物(称为**PROSTASCINT®** scan)目前用来诊断前列腺癌的转移和复发。然而,该试剂倾向于产生难于理解的图像(Lange,P.H.PROSTASCINT scan for staging prostate cancer.Urology 2001,57,402-406;Haseman,M.K.;et al.Cancer Biother Radiopharm 2000,15,131-140;Rosenthal,S.A.;et al.Tech Urol 2001,7,27-37)。它结合至在坏死的前列腺癌细胞中的PSMA的细胞内表位。最近,已开发出结合至PSMA细胞外区域的单克隆抗体,并且已放射性标记的和在PSMA-阳性前列腺肿瘤动物模型中显示聚集。然而,用单克隆抗体诊断和检测肿瘤已受到低渗透性的限制,原因是其大尺寸(150,000Da)和从非靶向组织的慢清除率。此外,放射性成像剂或光学成像剂的选择性靶向对于成像或治疗意图都是有挑战的,原因是其长半衰期(~30天)。特别是,患者不得不在医院停留更长天数和花费更多医药费。

[0013] 荧光引导式手术的两种希望途径目前在受到集中调查以用于诊所当中。在一种方法中,可激活的NIR荧光探针(由于邻近所附的猝灭剂其稳态荧光很低)在恶性组织中释放猝灭剂后则变得高度荧光。最通常使用的释放机理之一牵涉在染料与能够被富肿瘤的蛋白酶(也即组织蛋白酶、半胱天冬酶和基质金属蛋白酶)特异性裂解的猝灭剂之间掺入肽序列。该策略的主要优势是在缺少活化酶的组织中不存在荧光,允许沿着排泄途径(例如肾、膀胱、肝)的组织保持无荧光,例外是它们偶然表达了裂解酶。所述肿瘤活化的NIR染料还能够产生实质荧光,条件是恶性病灶富集了裂解蛋白酶且释放的染料保留在肿瘤当中。该方法的主要缺点产生自许多有关水解酶的劣肿瘤特异性(其中绝大多数也在发生天然重塑或经历炎症的健康组织中表达)。此外,希望蛋白酶的丰度可以随肿瘤块变化,导

致荧光在某些恶性病灶缓慢或无活化而在另一些中快速产生荧光。绝大多数时候,这些可激活的肽含有超过20个由肽键连接的氨基酸,这能导致较高分子量,更长前导时间(24h),肽键在循环中被肽酶裂解,高的假阳性结果和很高的生产成本。

[0014] 可激活染料使用的其它释放机理是在循环间和在肿瘤中的pH差异或氧化还原电位的变化。

[0015] 第二,荧光染料缀合至肿瘤-特异性靶向配体,其导致附着的染料在过表达配体的受体的癌症中聚集。虽然靶向PSMA的抗体-NIR染料缀合物并未进入癌症荧光引导式手术的临床试验,但是数种类型的NIR染料已缀合至单克隆抗体比如Her-2,其目的正是临床开发。不幸地,这些染料中绝大多数经由酰胺、二硫醚或马来酰亚胺化学用蛋白质中的赖氨酸或半胱氨酸残基非特异性地链系至抗体,导致亲和力、效力、PK和安全特征各不相同的异质化学个体。此外,马来酰亚胺和二硫醚键已知在循环中不稳定(半衰期 $\leq 2h$)。另一方面,缺少精确结构定义可以限制这些缀合物进展至临床应用,原因是与生产过程和安全有关的挑战。此外,与小分子配体相比,制备这些抗体是高度昂贵的。与之相对,能够快速穿透实体肿瘤和在 $<2h$ 内从PSMA-阴性组织清除的小分子配体($M_r > 0.5Da$)显示高肿瘤背景比,易于合成和在合成和贮藏期间稳定。

[0016] 尽管那些小分子配体具有许多优势,开发维持或增强小分子特性的NIR染料是有挑战的。最近,PSMA的各种低分子量抑制剂已缀合至可见光波长的染料(400–600nm)比如荧光素和罗丹明并且在动物模型[Kularatne SA,Wang K,Santhapuram HK,Low PS.Mol Pharm.2009May-Jun;6(3):780–9]或者在培养物中的细胞中[Liu T,Nedrow-Byers JR,Hopkins MR,Berkman CE.Bioorg Med Chem Lett.2011Dec 1;21(23)]或在人血样品(He W,Kularatne SA,Kalli KR,Prendergast FG,Amato RJ,Klee GG,Hartmann LC,Low PS.Int J Cancer.2008 Oct 15;123(8):1968–73)中测试。

[0017] 可见光波长染料对术内图像引导式手术来说并非最佳,原因是这些染料由于组织中存在胶原而涉及相对高水平的非特异性背景光。于是,这些常规化合物的信噪比较低。此外,生物学生色团尤其是血红蛋白吸收可见光,将穿透深度限制为数毫米。从而在组织中比数毫米埋藏更深的肿瘤一般仍是不能检测。另外荧光素的离子化平衡($pK_a = 6.4$)导致在5至9范围的pH依赖性吸收和发射。因此,基于荧光素染料的荧光在低pH(在pH 5以下)被猝灭。

[0018] 因此,缀合至靶向PSMA的小分子配体的NIR染料[(a) Humblet V,Lapidus R,Williams LR,Tsukamoto T,Rojas C,Majer P,Hin B,Ohnishi S,De Grand AM,Zaheer A,Renze JT,Nakayama A,Slusher BS,Frangioni JV.Mol Imaging.2005Oct-Dec;4(4):448–62.;(b) Thomas M,Kularatne SA,Qi L,Kleindl P,Leamon CP,Hansen MJ,Low PS.;(c) Chen Y,Dhara S,Banerjee SR,Byun Y,Pullambhatla M,Mease RC,Pomper MG.Biochem Biophys Res Commun.2009Dec 18;390(3):624–9;(d) Nakajima T,Mitsunaga M,Bander NH,Heston WD,Choyke PL,Kobayashi H.Bioconjug Chem.2011Aug 17;22(8):1700–5.;(e) Chen Y,Pullambhatla M,Banerjee SR,Byun Y,Stathis M,Rojas C,Slusher BS,Mease RC,Pomper MG.Bioconjug Chem.2012Dec 19;23(12):2377–85.;(f) Laydner H,Huang SS,Heston WD,Autorino R,Wang X,Harsch KM,Magi-Galluzzi C,Isac W,Khanna R,Hu B,Escobar P,Chalikonda S,Rao PK,Haber GP,Kaouk JH,Stein

RJ.Urology.2013Feb;81(2):451-6.;(g)Kelderhouse LE,Chelvam V,Wayua C,Mahalingam S,Poh S,Kularatne SA,Low PS.Bioconjug Chem.2013Jun 19;24(6):1075-80.]已经测试作为前列腺癌鼠类模型的成像剂。

[0019] 虽然这些靶向PSMA的NIR染料在培养物中显示前列腺癌细胞的某种标记,但是它们在表达PSMA的前列腺肿瘤异种移植物动物模型中具有很弱的荧光。例如,Humblet等人描述的分子显示很低的肿瘤聚集和肿瘤异种移植物模型中的荧光。原因可以是配体与NIR染料之间缺少合适间隔物,其可以阻碍配体与PSMA中的结合口袋结合。另一方面,与DUPA相比,基于亚磷酸的配体具有对PSMA更低的亲和力。此外,基于亚磷酸的配体难以合成,牵涉多个步骤和制备昂贵。

[0020] 靶向PSM的NIR试剂在Chen等人中报告需要超过20小时来到达肿瘤以及72小时从非靶向组织清除。也显著地,该靶向PSMA的NIR染料具有很慢的皮肤清除。虽然在所用转染细胞中的PSMA的结合表位能够是人工的,其在转染PSMA的前列腺癌细胞肿瘤中具有很低的吸收和低荧光。另外,该分子在全部其它组织中存在实质的非特异性吸收,在PSMA-阴性细胞中存在聚集和荧光,这指出Chen等人报告的NIR缀合物的非特异性和非靶向性质。

[0021] Chen等人Laydner等人也将小分子配体缀合至IR800CW(一种NIR染料)。IR800CW是不对称的染料,具有活化羧酸,具有n-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS)。这是合成极度昂贵的分子和从可商购资源购买则甚至更贵(1g超过\$60,000)。IR800CW也具有在合成期间不稳定的缺点,两点原因是:(a) NHS酯的水解,(b) 乙烯醚的水解。IR800CW缀合物在合成期间缺少稳定性导致形成超过60%的不希望的副产物。这需要复杂的纯化技术,意味着更高的生产成本,更高的临床翻译等待时间段,并且手术医师和患者难以获得药物。

[0022] Laydner等人经由长肽间隔物(6个氨基酸)和具有NHS和马来酰亚胺的双官能连接体将PSMA配体缀合至IR800CW。除了由IR800CW引起的全部缺点之外,该靶向PSMA的IR800CW缀合物还具有复杂的合成方案,需要五阶段合成(合成配体,将配体经由马来酰亚胺官能团缀合至双官能连接体,合成肽连接体,将肽连接体缀合至IR800CW,将肽连接体-IR800CW经由酰胺键缀合至配体-双官能连接体),步骤繁多。因此,制备成本妨碍有效产生该分子用于临床意图。这些分子的合成方案复杂的原因还在于分子中的多个手性中心。然而,为了FDA审批,具有多个手性中心的肽间隔物(立体异构体)一般地需要制备和评价全部立体异构体。例如,具有仅3个氨基酸(也即3个手性中心)的肽间隔物会需要8个不同药物产品的毒性特征,原因是这些异质混合物能引起不同的亲和力、效力、PK和安全特征。

[0023] Laydner等人所用的小分子配体是GluNHCONHCys-SH。Cys中的游离硫醇部分倾向于氧化,于是分子必须在氩或氮环境下处理并且一般导致不稳定的分子。GluNHCONHCys-SH配体经由马来酰亚胺反应缀合至双官能连接体。大量报告显示,在硫醇与马来酰亚胺之间的反应是可逆的并且产生50%的副产品。此外,马来酰亚胺键在人体循环中是不稳定的,从而马来酰亚胺键的使用风险是非靶向染料的释放导致其非特异性吸收。

[0024] Kelderhouse等人经由马来酰亚胺基团将DUPA-连接体-Cys缀合至Alexa flour 647,并将Dylight 750缀合至DUPA。再次,这些分子具有与马来酰亚胺有关的全部缺点。此外,这些低波长NIR染料虽可商购但很昂贵。虽然在实验转移小鼠模型中测试了分子,但图像则是不确定的。

[0025] Liu等人也报告靶向PSMA的NIR染料和一些体外数据,但是并未报告动物数据。在

配体与NIR染料之间缺少合适间隔物可以是缺少体内数据的原因。此外,该染料与其它报告的化合物一样具有许多缺点。其是基于亚磷酸的配体和不对称的染料。因此,其具有对基于亚磷酸的配体以及不对称NIR染料所描述的缺点。

[0026] Nakajima等人报告缀合至ICG的抗-PSMA抗体(J591)。不幸地,该化合物需要72小时才从其它健康组织比如肝清除。此外,化合物停留在循环中6天,意味着其将停留在人体中超过30天。此外,ICG用蛋白质中的赖氨酸残基之一经由酰胺非特异性地链系至J591,导致引起不同亲和力、效力、PK和安全特征的异质化学个体。缺少精确结构定义可以限制这些缀合物进展至临床应用,原因是与生产过程和安全有关的挑战。

[0027] 所报告的靶向PSMA的NIR染料的较高非特异性和从皮肤缓慢清除可以是由于这些化合物的劣药代动力学(PK)特性。

[0028] 从而,始终需要染料物质,其能够用来特异性靶向表达PSMA的癌细胞或患病组织的新血管系统,具有增加的稳定性,更佳的PK特性,更高的溶解度,快速肿瘤聚集,高荧光,快速皮肤清除,和更高的肿瘤背景比(TBR),用于体内组织成像和用于图像引导式手术。

发明概要

[0029] 本公开提供经由不同连接体连接至NIR染料的靶向PSMA的配体,以便改善化合物的临床特性(例如稳定性,PK特性,溶解度,快速肿瘤聚集,更高的荧光,快速皮肤清除,和更高的肿瘤背景比)。本公开提供化合物在图像引导式手术中的应用和合成其的方法。本公开还提供通过向连接体加入正电荷或减少染料分子中的负电荷量来改变配体-连接体-NIR染料缀合物的总电荷。本公开也提供新的更高亲和力的配体,以便改善NIR缀合物的体内亲和力和PK特性。本公开也提供用于表达PSMA的肿瘤包括但不限于前列腺癌的靶向成像中的化合物,和其用于例如牵涉PSMA阳性组织和肿瘤的成像和手术中的方法。

[0030] 在某些实施方式中,本发明化合物具有B-X-Y-Z形式

[0031] 其中B是靶向PSMA的分子;

[0032] X是间隔物;

[0033] Y是氨基酸间隔物;和

[0034] Z是NIR染料。

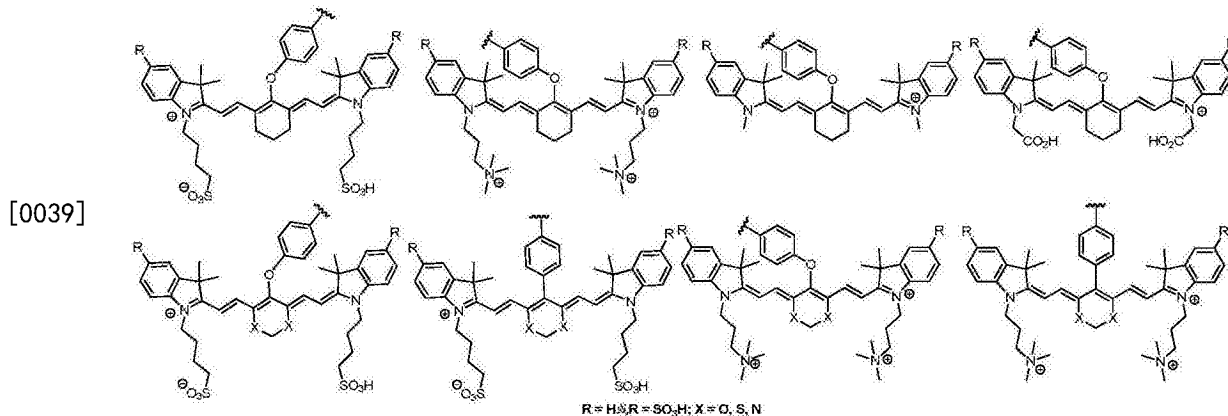
[0035] 在某些实施方式中,靶向PSMA的分子选自小分子,配体,抑制剂,激动剂或其衍生物。在某些实施方式中,靶向PSMA的化合物是配体。在某些实施方式中,靶向PSMA的化合物是DUPA。在其它实施方式中,靶向PSMA的化合物是结合PSMA的小分子。

[0036] 在某些实施方式中,X是疏水间隔物。在某些实施方式中,X选自8-氨基辛酸(EA0A),7个原子的链,7个原子长度的间隔物,7至24个原子长度的链;包含两个芳基或芳基烷基的肽,其各自是任选经取代的,和其中一个芳基或芳基烷基具有约7至约11个,或约7至约14个原子,而另一个芳基或芳基烷基具有约10至约14个,或约10至约17个原子。在又一实施方式中,间隔物包含约1至约30个原子,或约2至约20个原子。在某些实施方式中,间隔物长度是7个原子。在某些实施方式中,间隔物包含EA0A。在某些实施方式中,间隔物可变地带电。在某些实施方式中,X具有正电荷。在其它实施方式中,X具有负电荷。

[0037] 在某些实施方式中,Y选自:酸性(带负电的)氨基酸,比如天冬氨酸和谷氨酸及其衍生物;碱性(带正电的)氨基酸比如精氨酸,组氨酸,和赖氨酸及其衍生物;中性极性氨基

酸,比如甘氨酸,丝氨酸,苏氨酸,半胱氨酸,酪氨酸,天冬酰胺,和谷氨酰胺及其衍生物;中性非极性(疏水)氨基酸,比如丙氨酸,亮氨酸,异亮氨酸,缬氨酸,脯氨酸,苯丙氨酸,色氨酸,和甲硫氨酸;及其衍生物。在某些实施方式中,Y是芳族氨基酸及其衍生物。在某些实施方式中,Y具有正电荷。在其它实施方式中,Y具有负电荷。

[0038] 在某些实施方式中,Z选自近红外染料,包括但不限于LS288,IR800,SP054,S0121,KODAK,S2076,S0456和/或选自下述的染料:



[0040] 在某些实施方式中,Z可变地带电。在某些实施方式中,Z具有正电荷。在其它实施方式中,Z具有负电荷。

[0041] 在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:

[0042] B-X-Y-Z

[0043] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物;和Z是NIR染料。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是半胱氨酸。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是甲硫氨酸。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是含有硫酚(thiophenol)部分的分子。

[0044] 在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:

[0045] B-X-Y-Z

[0046] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是具有含硫族元素侧链基团的氨基酸间隔物;和Z是NIR染料。

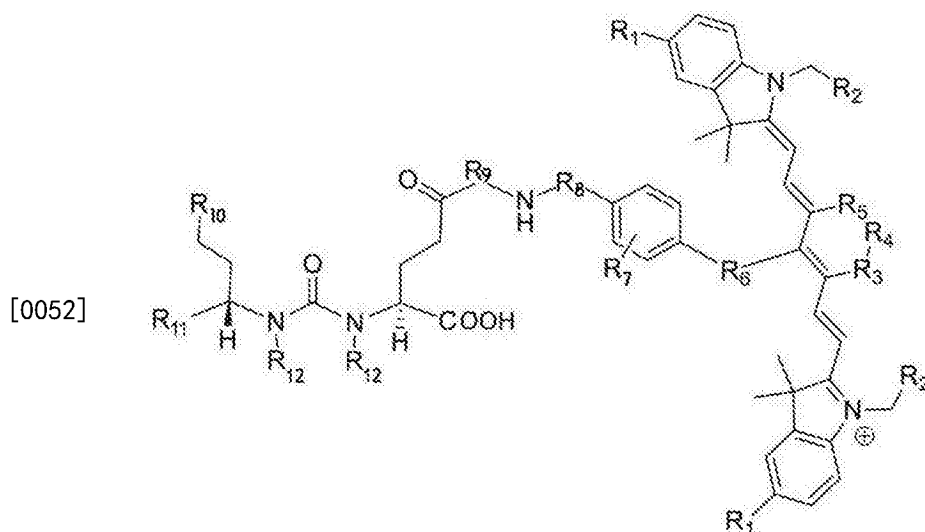
[0047] 在某些实施方式中,本发明提供下式化合物:

[0048] B-X-Y-Z

[0049] 其中,B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是氨基酸选自酪氨酸,半胱氨酸,赖氨酸或其衍生物;和Z是NIR染料。在某些实施方式中,Y包含酪氨酸或酪氨酸衍生物。在某些实施方式中,Y包含酪氨酸和碳同位素在酪氨酸的芳族环上。在某些实施方式中,Y包含具有氢同位素芳族环的氨基酸。

[0050] 在某些实施方式中,本发明包括化合物B-X-Y-Z,其中B包含DUPA或其衍生物,X包含EA0A,Y包含酪氨酸,和Z包含S0456。

[0051] 本发明也涉及具有下述结构式的化合物:



(I)

[0053] 或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

[0054] R_1 代表氢或 SO_3H ;

[0055] R_2 代表氢, CH_3 , $\text{C}_3\text{H}_6\text{SO}_3^-$, $\text{C}_3\text{H}_6\text{SO}_3\text{H}$ 或 $\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3^-$,或 $\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3\text{H}$ 或 $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

[0056] R_3 和 R_5 各自代表碳,任选地一个或多个共享键,

[0057] R_4 代表碳,具有任选地一个或多个共享键;

[0058] R_6 代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);

[0059] R_7 是任选的且当存在时代表芳族取代基团,以便增强光谱特性比如增加亮度和乙烯醚桥的稳定性;

[0060] R_8 是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His或其衍生物,阳离子氨基酸比如Arg、Lys,或其衍生物,阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;

[0061] R_9 是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,阳离子连接体,或其衍生物;

[0062] R_{10} 代表 CO_2H , PO_3H_2 , SO_3H , $\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$;

[0063] R_{11} 代表 CO_2H , SO_3H , $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$;和

[0064] R_{12} 代表氢,甲基, CH_2 和可以任选地各自代表共享键的 CH_2 。

[0065] 在某些实施方式中,本发明化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。在某些实施方式中,本发明化合物具有约600nm至800nm的吸收最大值和发射最大值。

[0066] 在某些实施方式中,在组织细胞中分布之后使本发明化合物发荧光。在某些实施方式中,通过近红外波长激发作用化合物使本发明化合物发荧光。在某些实施方式中,本发明化合物具有与PSMA的结合亲和力,其类似DUPA的结合亲和力。在某些实施方式中,本发明化合物高度选择性地靶向肿瘤细胞。在特别优选的实施方式中,本发明化合物靶向前列腺癌细胞。

[0067] 在某些实施方式中,本发明化合物给予有需要的受试者,在某些实施方式中,给予的组合物除了化合物之外还包含药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

[0068] 本发明的某些实施方式提供表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包

括：

[0069] (a) 将生物学组织与包含靶向PSMA的NIR染料化合物的组合物接触，

[0070] (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布；

[0071] (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织；和

[0072] (d) 检测化合物发出的光学信号。

[0073] 在某些实施方式中，这些方法用于检测与高PSMA表达有关的疾病。在某些实施方式中，还包括从(d)中发出的信号构建图像的步骤。在某些实施方式中，本发明提供前述的方法，其中步骤(a)包括将信号特性可区分的两种或更多种荧光化合物与组织接触，和组织任选地在受试者中。在某些实施方式中，本发明提供内窥镜，导管，断层摄影系统，手持光学成像系统，手术护目镜或术内显微镜用于光照和/或检测方法步骤。

[0074] 在某些实施方式中，本发明的组合物和方法用来治疗癌症。在某些实施方式中，癌症选自前列腺癌，肺癌，膀胱癌，胰癌，肝癌，肾癌，肉瘤，乳腺癌，脑癌，神经内分泌癌，结肠癌，睾丸癌或黑色素瘤。在某些实施方式中，本发明靶向PSMA的NIR染料化合物用于表达PSMA的细胞的成像。在某些实施方式中，那些细胞选自前列腺细胞，前列腺癌细胞，膀胱癌细胞，胰癌细胞，肝癌细胞，肺癌细胞，肾癌细胞，肉瘤细胞，乳腺癌细胞，脑癌细胞，神经内分泌癌细胞，结肠癌细胞，睾丸癌细胞或黑色素瘤细胞。

[0075] 本发明也提供靶向生物学样品中的细胞类型的方法，包括：(a)

[0076] 将生物学样品与靶向PSMA的NIR染料化合物接触一段时间，其条件使得化合物结合至靶标细胞类型的至少一种细胞；和(b)光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在，其中化合物在检测步骤(b)中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。在某些实施方式中，本发明提供表达PSMA的细胞的光学检测方法，包括给予本发明的PSMA-靶向NIR染料化合物，使激发光源作用于化合物，和检测来自化合物的荧光。在某些实施方式中，激发光源是近红外波长的光。在某些实施方式中，激发光波长的范围是约600至1000纳米。在某些实施方式中，激发光波长的范围是约670至850纳米。

[0077] 在某些实施方式中，本发明提供对受试者进行图像引导式手术的方法，包括：

[0078] a) 给予包含PSMA-靶向NIR染料化合物的组合物，其条件和时间足以使化合物聚集在给定的手术位点；

[0079] b) 用红外光光照化合物使得化合物可视化；和

[0080] c) 对红外光激发时发荧光的区域进行手术切除。

[0081] 在本发明方法的某些实施方式中，红外光波长的范围是约600至1000纳米。在本发明方法的某些实施方式中，使用约670至850纳米的红外光波长。

[0082] 本发明的某些实施方式提供在受试者中诊断疾病方法，包括：

[0083] a) 给予有需要的受试者诊断量的靶向PSMA的NIR染料化合物一段时间，其条件使得化合物结合至至少一种表达PSMA的细胞；

[0084] b) 测量来自生物学样品中存在的化合物的信号；

[0085] c) 将在(b)中测量的信号与至少一个对照数据集比较，其中所述至少一个对照数据集包含产生自权利要求1的化合物与不包含靶标细胞类型的生物学样品接触的信号；和

[0086] d) 提供疾病诊断，其中在步骤(c)中的比较指出疾病存在。

[0087] 本发明的某些实施方式，提供包含PSMA-靶向NIR染料化合物的试剂盒。在某些实

施方式中,试剂盒用于表达PSMA的细胞的成像。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是肿瘤细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是非前列腺癌细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是前列腺肿瘤细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是癌细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的区域是肿瘤细胞的新血管系统。在某些实施方式中,本发明用于检测转移疾病。在某些实施方式中,本发明化合物用于改善的手术切除和/或改善的预后。在本发明方法的某些实施方式中,提供比非NIR缀合的发荧光染料更清晰的手术边缘。在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的NIR染料化合物具有改善的肿瘤背景比。

[0088] 在其它实施方式中,本发明化合物用来成像、诊断或检测非前列腺癌细胞,其选自膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞或黑色素瘤细胞。在其它实施方式中,检测的细胞在皮肤下超过5mm深。在某些实施方式中,检测的组织在皮肤下超过5mm深。在其它实施方式中,检测的肿瘤在皮肤下超过5mm深。在某些实施方式中,检测的细胞在受试者皮肤下超过6mm,7mm,8mm,9mm或10mm深。在本发明的某些实施方式中,可检测的染料探针在可见光光谱之外。在某些实施方式中,使用大于可见光光谱的染料探针。在某些实施方式中,本发明化合物包含对波长650nm至900nm敏感的染料探针。在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的NIR染料化合物具有在约650nm至1000nm近红外区域的最大光吸收波长,例如在一种实施方式中为大约800nm。

[0089] 在所提供方法的又一实施方式中,非前列腺癌是膀胱癌,胰癌,肝癌,肺癌,肾癌,肉瘤,乳腺癌,脑癌,神经内分泌癌,结肠癌,睾丸癌或黑色素瘤。

[0090] 在所提供的方法的又一实施方式中,表达PSMA的癌细胞来自肿瘤。在所提供的方法的又一实施方式中,表达PSMA的癌是肿瘤。在某些实施方式中,肿瘤体积是至少1000mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于1000mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于950mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于900mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于850mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于800mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于750mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于700mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于650mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于600mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于550mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于500mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于450mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于400mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于350mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于300mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于250mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于200mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于150mm³。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于100mm³。在一种实施方式中,肿瘤体积是至少75mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于75mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于70mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于65mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于60mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于55mm³。在一种实施方式中,肿瘤体积是至少50mm³。在其它实施方式中,肿瘤小于50mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于45mm³。在其它实施方式中,肿瘤体积是小于40mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于35mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于30mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于25mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于20mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于15mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于10mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于12mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于

9mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于8mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于7mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于6mm³。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于5mm³。

[0091] 在一种实施方式中,在用本发明靶向PSMA的NIR染料化合物手术切除之前,肿瘤具有至少5mm的长度。在一种实施方式中,这些方法检测小于5mm的肿瘤。在其它实施方式中,本文方法检测小于4mm的肿瘤。在某些实施方式中,本文方法检测小于3mm的肿瘤。在又一实施方式中,肿瘤具有至少6mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少7mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少8mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少9mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少10mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少11mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少12mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少13mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少14mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少15mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少16mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少17mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少18mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少19mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少20mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少21mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少22mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少23mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少24mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少25mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少30mm的长度。

[0092] 在某些实施方式中,本公开涉及缀合至近红外(NIR)染料的靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的化合物,和其用于治疗 and 诊断应用的方法。更特别地,本公开提供诊断和治疗与表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞有关的疾病的化合物和方法,所述疾病是比如前列腺癌,实体肿瘤和有关的疾病。本公开还描述制备和使用化合物的方法和组合物,并入化合物的方法,和并入化合物的试剂盒。已发现的是,靶向PSMA的化合物比如经由连接体(L)缀合至NIR染料的DUPA可以用于成像、诊断和/或治疗前列腺癌和牵涉表达或过表达PSMA的病原细胞群体的有关疾病。PSMA是细胞表面蛋白质,其内化类似于对细胞表面受体比如维生素受体观察到的内吞作用。相应地已发现,包括具有预先确定的长度、和/或预先确定的直径、和/或沿着其长度的预先选择的官能团的连接体的某些缀合物可以用来治疗、成像和/或诊断所述疾病。

[0093] 在一个示例性实施方式中,连接体L可以是可释放的或非可释放的连接体。在一个方面,连接体L的长度是至少约7个原子。在一个变型中,连接体L的长度是至少约10个原子。在一个变型中,连接体L的长度是至少约14个原子。在又一变型中,连接体L的长度是约7至约22个,约7至约20个,或约7至约18个原子。在又一变型中,连接体L的长度是约14至约22,约15至约12,或约14至约20个原子。

[0094] 在备择方面,连接体L的长度是至少约10埃(Å)。

[0095] 在一个变型中,连接体L的长度是至少约15Å。在又一变型中,连接体L的长度是至少约20Å。在又一变型中,连接体L的长度是约10Å至约30Å。

[0096] 在备择方面,在连接至结合配体B的一端,连接体L长度的至少一部分的直径是约5Å或更低。在一个变型中,在连接至结合配体B的一端,连接体L长度的至少一部分的直径是约4Å或更低,或约3Å或更低。应认识到,包括直径约5Å或更低、约4Å或更低、或约

3Å或更低的要求的示例性实施方式可以包括对于预先确定长度的连接体的这种要求,由此定义连接体的圆柱形部分。示例性地,在又一变型中,连接体包括在连接至结合配体一端的圆柱形部分,其长度为至少约7Å且直径为约5Å或更低、约4Å或更低或约3Å或更低。

[0097] 在又一实施方式中,连接体L包括一个或多个亲水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括具有亲水侧链的氨基酸比如Ser,Thr,Cys,Arg,Orn,Lys,Asp,Glu,Gln和类似残基。在又一实施方式中,连接体L包括一个或多个疏水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括具有疏水侧链的氨基酸比如Val,Leu,Phe,Tyr,Met和类似残基。应理解,前述的实施方式和方面可以包括单独或相互组合的连接体L。例如,本文预期和描述连接体L,其长度是至少约7个原子或更低且直径约5Å、约4Å或更低或约3Å或更低,以及包括一个或多个亲水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括Val,Leu,Phe,Tyr,Met和类似残基。

[0098] 在又一实施方式中,连接体的一端是未支化的和包含碳,氧,氮和硫原子的链。在一种实施方式中,碳,氧,氮和硫原子的线性链长度是至少5个原子。在一个变型中,线性链长度是至少7个原子,或至少10个原子。在又一实施方式中,碳,氧,氮和硫原子的链是未取代的。在一个变型中,碳,氧,氮和硫原子链的一部分是用二价片段环化的。例如,包含二肽Phe-Phe的连接体(L)可以通过用亚乙基片段或其取代的变型环化两个氮而包括哌嗪-1,4-二基结构。

[0099] 在又一实施方式中,本文描述药物组合物,其中所述药物组合物包括有效量的本文描述的缀合物,其用于治疗疾病和疾病状态,诊断疾病或疾病状态,和/或成像组织和/或细胞,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。示例性地,药物组合物也包括一种或多种载体,稀释剂和/或赋形剂。

[0100] 在又一实施方式中,本文描述了方法,其用于治疗疾病和疾病状态,诊断疾病或疾病状态,和/或成像组织和/或细胞,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。所述方法包括给予本文描述的缀合物和/或含有本文描述的缀合物的药物组合物的步骤,其量有效治疗疾病和疾病状态,诊断疾病或疾病状态,和/或成像组织和/或细胞,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。

附图说明

[0101] 图1-化学图(1)-(9)显示靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,具有可变长度连接体。

[0102] 图2(A)-靶向PSMA的DUPA-FITC(荧光素异硫氰酸盐/酯)缀合物(14)的结构。

[0103] 图2(B)-靶向PSMA的DUPA-FITC(荧光素异硫氰酸盐/酯)缀合物(14)及其在培养物中对PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞和对PSMA-阴性A549人类肺泡基底上皮细胞的结合亲和力(K_D)和特异性。将溶于RPMI培养基的DUPA-FITC以指出浓度加至RPMI培养基中的22Rv1或A549细胞,在37°C温育1小时。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS(磷酸缓冲盐水)替换。样品用流式细胞术分析。误差柱状图代表SD($n=3$)。s在抗原识别位点中。

[0104] 图3-相对DUPA-NIR缀合物1-9关于DUPA-FITC (14) 的结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0105] 图5-来自靶向PSMA的DUPA-NIR缀合物1-9的组织生物分布数据的肿瘤:组织荧光比。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域 (ROI) 中的荧光,然后计算肿瘤:-组织的荧光。

[0106] 图6-靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,其具有在配体与NIR染料之间的芳族氨基酸连接体。

[0107] 图7-具有芳族氨基酸连接体的DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0108] 图8-DUPA-NIR缀合物15和23的组织生物分布分析和肿瘤:组织比,使用带人类前列腺肿瘤异种移植植物 (22Rv1细胞) 的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域 (ROI) 中的荧光,然后计算肿瘤:-组织的荧光。

[0109] 图9-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植植物的小鼠注射20nmol 14,并在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。

[0110] 图10-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植植物的小鼠注射20nmol 23,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。

[0111] 图11-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植植物的小鼠注射20nmol 25,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。

[0112] 图12-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植植物的小鼠注射6nmol 35,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。

[0113] 图13-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植植物的小鼠注射6nmol 36,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($ex=745nm$, $em=ICG$, 暴露时间=1s)。

[0114] 图14-靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,具有在配体与NIR染料之间的正电荷连接体。

[0115] 图15-DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细

胞术测试。

[0116] 图16-DUPA-NIR缀合物39和41的肿瘤:组织比,使用携带人类前列腺肿瘤异种移植(22Rv1细胞)的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域(ROI)中的荧光,然后计算肿瘤:-组织的荧光。

[0117] 图17-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 39,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0118] 图18-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 40,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0119] 图19-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 41,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0120] 图20-靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,具有在配体与NIR染料之间的负电荷连接体。

[0121] 图21-49和50的DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0122] 图22-DUPA-NIR缀合物49和50的组织生物分布分析和肿瘤:组织比,使用携带人类前列腺肿瘤异种移植(22Rv1细胞)的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域(ROI)中的荧光,然后计算肿瘤:-组织的荧光。

[0123] 图23-靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,具有可变带电的NIR染料分子

[0124] 图24-DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0125] 图25-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 54,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0126] 图26-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 55,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0127] 图27-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1

人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 56,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0128] 图28-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 57,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0129] 图29-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 58,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0130] 图30-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 60,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0131] 图31-靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,具有各种连接体和NIR染料

[0132] 图32-DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0133] 图33-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 63,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0134] 图34-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 63,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0135] 图35-在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 64,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0136] 图36-具有不同配体的靶向PSMA的NIR成像剂的结构。

[0137] 图37:靶向PSMA的NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0138] 图38:在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 14,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0139] 定义

[0140] 应理解,本发明并不局限于本文描述的特别的方法、方案、细胞系、结构和试剂并且其可以变化。还应理解,术语在本文仅用于描述具体实施方式中的意图,并且期望限制本发明的范围,所述范围仅受所附权利要求所限。

[0141] 如本文和所附权利要求中所用,单数形式“一”、“一个”和“该”包括复数指称,除非上下文清楚指出相反。从而,例如“前列腺特异性膜抗原配体”“PSMA配体”是指一个或多个

所述配体和包括本领域技术人员已知的等价物,等等。

[0142] 除非另有定义,本文所用的全部技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员一般理解的相同含义。尽管与本文描述的那些相似或相等的任何方法、装置和物质能够用于本发明的实践或测试,现在描述优选的方法、装置和物质。

[0143] 本文提及的全部公开和专利通过援引以描述和公开目的并入本文,例如公开中描述的结构和方法可能针对目前描述的发明使用。本文讨论的文献仅仅用于提供其在本申请提交日之前的公开内容。本文中的任何内容都并不解释为承认发明人由于在先发明或任何其它原因而不能位于所述公开之前。

[0144] 关于本发明的靶向PSMA的NIR缀合物,术语“抗原特异性”或“特异性结合”是指PSMA-靶向化合物,其结合至PSMA的一个或多个表位,但实质上并不识别和结合在含有抗原混合群体的样品中的其它分子。

[0145] 术语“表位”如本文所用是指DUPA所识别的PSMA上的位点。表位可以是线性或结构化的序列或者氨基酸的形状。

[0146] 如本文所用,“PSMA-靶向化合物”或“靶向PSMA的化合物”将包括那些小分子、配体、多肽和蛋白质,其至少具有特异性结合至PSMA或PSMA表位的生物学活性。这些化合物包括配体,受体,肽或任意氨基酸序列,其结合至PSMA或至少一个PSMA表位。

[0147] 本发明化合物包含PSMA-靶向化合物,它们可以结合PSMA部分本身,或它们可以结合与PSMA有关的细胞表面蛋白质或受体。

[0148] 术语“官能团”,“活性部分”,“活化基团”,“离去基团”,“反应性位点”,“化学反应性基团”和“化学反应性部分”在本领域和本文中用于指明显的、可定义的分子部分或单元。这些术语在化学领域某种程度上同义,并且在本文中用来指出分子部分,其实现一定功能或活性并且是与其它分子反应性的。

[0149] 术语“氨基酸”是指天然和非天然氨基酸,以及功能类似天然氨基酸的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。自然编码的氨基酸是20种常见氨基酸(丙氨酸,精氨酸,天冬酰胺,天冬氨酸,半胱氨酸,谷氨酰胺,谷氨酸,甘氨酸,组氨酸,异亮氨酸,亮氨酸,赖氨酸,甲硫氨酸,苯丙氨酸,脯氨酸,丝氨酸,苏氨酸,色氨酸,酪氨酸,和缬氨酸)以及焦赖氨酸和硒代半胱氨酸。氨基酸类似物是指化合物,其具有与天然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,比如高丝氨酸,正亮氨酸,甲硫氨酸亚砷,甲硫氨酸甲基砷。所述类似物具有经修饰的R基团(比如正亮氨酸)或经修饰的肽骨架,但保留与天然氨基酸相同的基本化学结构。

[0150] 氨基酸可以在本文中通过其一般已知的三字母符号或通过IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission推荐的单字母符号来提及。

[0151] 尤其是,本发明应对与下述有关的各种问题:早期诊断和手术治疗牵涉于疾病和/或癌症中的表达PSMA的细胞,和尤其是靶向PSMA的染料缀合物,其具有改善的成像、诊断、生物学特性,非限制性实例包括更高的特异性、降低的背景信号和增加的肿瘤荧光。

[0152] 发明详述

[0153] 手术治愈50%的US实体肿瘤患者,而化疗和放疗则治愈小于5%的全部癌症患者。US每年超过700,000名患者经历癌症手术而40%的手术患者在5年内具有局部疾病的复发。尽管肿瘤学领域有实质进展,但仍需要早期检测,克服完全手术切除负边缘原发肿瘤的障

碍的方法,和除去转移癌细胞和鉴定卫星疾病。实现这三个目标不仅改善疾病清除而且还指导有关术后化疗和放疗的决定。虽然非靶向荧光染料已显示在某些肿瘤中被动聚集,所得肿瘤背景比常常很低,在恶性与健康组织之间的边界能够难以定义。尽管配体靶向的荧光染料(例如EC17:叶酸-EDA-FITC)已用于组织成像,但那些染料是低效的,原因是它们无法穿透深部组织从而仅识别组织表面的而不是组织样品中更深部分的特异性细胞。此外,基于荧光素的染料具有低存放期稳定性的缺点。荧光异硫氰酸盐/酯(FITC)化合物形成的硫脲桥容易分解,使得化合物不稳定。此外,EC17所用荧光素具有的缺点是,成像位点周围的组织胶原导致的相对高水平的非特异性背景噪音。此外,生物学生色团尤其是血红蛋白吸收可见光,进一步限制掺入荧光素的染料的有用性。因此,常规染料不能容易地检测可以埋在组织中超过数毫米深的肿瘤。另外,荧光素的荧光在低pH(在pH 5之下)猝灭。

[0154] 为了染料物质可以用于检测和引导手术或提供早期检测,转移组织和其它组织成像,尤其需要克服上述缺点。本发明提供近红外染料的靶向PSMA的缀合物,其是稳定的、在红外范围发荧光、在靶向组织中深度穿透,从而在表达PSMA的组织区域中产生特异性且明亮的鉴定、从不表达PSMA的组织快速清除、获得高肿瘤背景比、和快速皮肤清除。更特别地,靶向PSMA的缀合物通过连接体连接至近红外染料,所述连接体由一个或多个原子的间隔物、氨基酸、氨基酸衍生物组成。甚至更特别地,已发现其中原子间隔物是中性或带电原子的疏水7原子间隔物,并且氨基酸间隔物是芳族氨基酸或芳族氨基酸的衍生物,或负电荷或正电荷氨基酸和酪氨酸或酪氨酸衍生物。连接体的电荷能够变化,以便获得快速皮肤清除和快速肿瘤聚集,以便获得较高肿瘤背景比。此外,NIR染料的荧光强度通过芳族氨基酸或酪氨酸或酪氨酸衍生物的存在得到保持或甚至增强,并且NIR染料的电荷能够变化以实现快速皮肤清除。

[0155] 本公开提供连接至NIR染料的靶向PSMA的配体,和合成其的方法。本公开也提供化合物,其用于表达PSMA的肿瘤包括但不限于前列腺癌的靶向成像,及其使用方法,例如在牵涉PSMA阳性组织和肿瘤的成像和手术中的使用方法。

[0156] 在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:B-X-Y-Z

[0157] 其中B是靶向PSMA的化合物;

[0158] X是间隔物;

[0159] Y是氨基酸间隔物;和

[0160] Z是NIR染料。

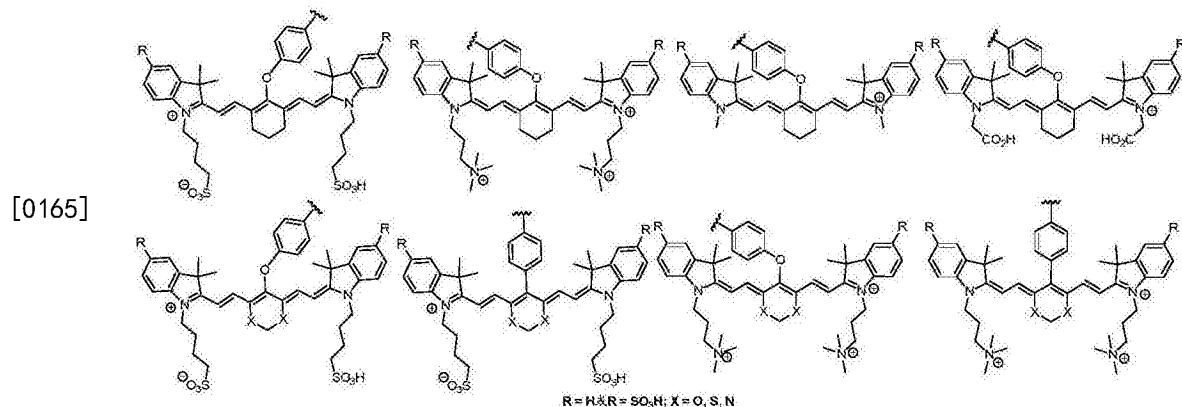
[0161] 在某些实施方式中,靶向PSMA的化合物选自小分子,配体或其衍生物。在某些实施方式中,靶向PSMA的化合物是配体。在某些实施方式中,靶向PSMA的化合物是DUPA。在其它实施方式中,靶向PSMA的化合物是结合PSMA的小分子。

[0162] 在某些实施方式中,X是疏水间隔物。在某些实施方式中,X选自8-氨基辛酸(EAOA),7个原子的链,聚乙二醇间隔物,7个原子长度的间隔物,阳离子间隔物,7个原子的链,7至24个原子长度的链;包含两个芳基或芳基烷基的肽,其各自任选经取代,并且其中一个芳基或芳基烷基具有约7至约11个、或约7至约14个原子,而另一个芳基或芳基烷基具有约10至约14个、或约10至约17个原子。在又一实施方式中,间隔物包含约1至约30个原子,或约2至约20个原子。在某些实施方式中,间隔物长度是7个原子。在某些实施方式中,间隔物包含EAOA。在某些实施方式中,间隔物可变地带电。在某些实施方式中,X具有正电荷。在其它实

施方式中,X具有负电荷。

[0163] 在某些实施方式中,Y选自:酸性(带负电的)氨基酸,比如天冬氨酸和谷氨酸;碱性(带正电的)氨基酸比如精氨酸,组氨酸,和赖氨酸;中性极性氨基酸,比如甘氨酸,丝氨酸,苏氨酸,半胱氨酸,酪氨酸,天冬酰胺,和谷氨酰胺;中性非极性(疏水)氨基酸,比如丙氨酸,亮氨酸,异亮氨酸,缬氨酸,脯氨酸,苯丙氨酸,色氨酸,和甲硫氨酸;及其衍生物。在某些实施方式中,Y是芳族氨基酸。在某些实施方式中,Y具有正电荷。在其它实施方式中,Y具有负电荷。

[0164] 在某些实施方式中,Z选自近红外染料,包括但不限于LS288,IR800,SP054,S0121,KODAK,S2076S0456和/或所述染料选自:



[0166] 在某些实施方式中,Z可变电带电。在某些实施方式中,Z具有正电荷。在其它实施方式中,Z具有负电荷。

[0167] 在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:

[0168] B-X-Y-Z

[0169] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物;和Z是NIR染料。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是半胱氨酸。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是甲硫氨酸。在某些实施方式中,具有含硫侧链基团的氨基酸间隔物是含有硫酚部分的分子。在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:

[0170] B-X-Y-Z

[0171] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是具有含硫族元素侧链基团的氨基酸间隔物;和Z是NIR染料。在某些实施方式中,本发明提供下式化合物:

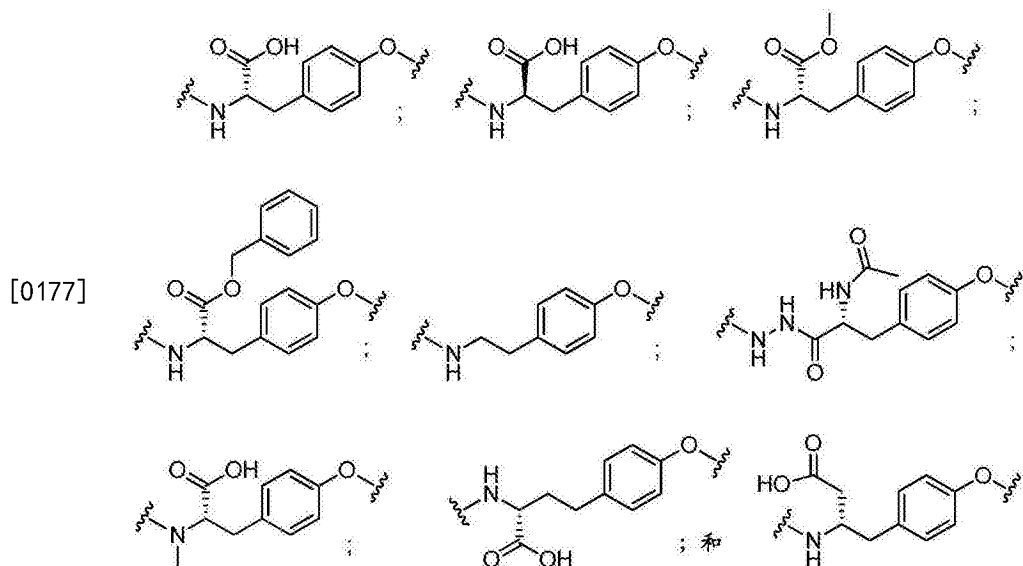
[0172] B-X-Y-Z

[0173] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Y是氨基酸选自酪氨酸,半胱氨酸,赖氨酸或其衍生物;和Z是NIR染料。在某些实施方式中,Y包含酪氨酸或酪氨酸衍生物。在某些实施方式中,Y包含酪氨酸和碳同位素在酪氨酸的芳族环上。在某些实施方式中,Y包含芳族环上具有氢同位素的氨基酸。

[0174] 在某些实施方式中,本发明化合物具有下式:

[0175] B-X-Y-Z

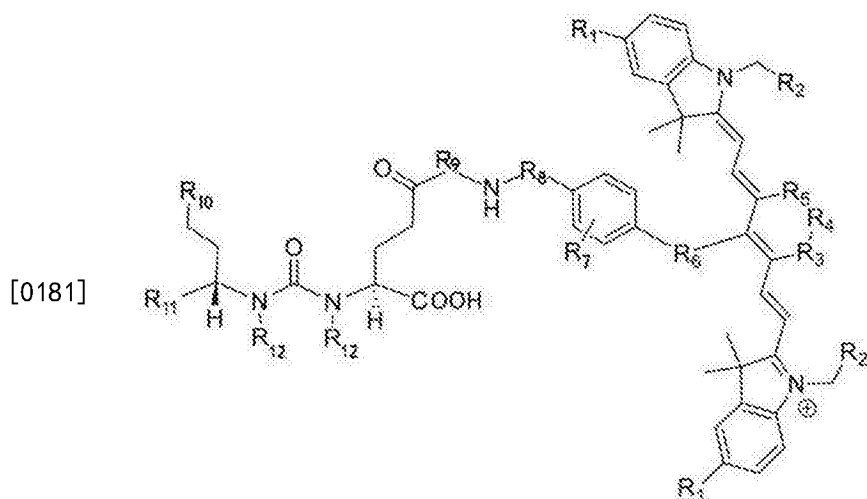
[0176] 其中B是靶向PSMA的化合物;X是间隔物;Z是NIR染料;和Y包含酪氨酸衍生物,其选自:



[0178] 或其外消旋混合物。

[0179] 在某些实施方式中,本发明包括化合物B-X-Y-Z,其中B包含DUPA或其衍生物,X包含EAOA,Y包含酪氨酸,和Z包含S0456。

[0180] 下述结构式的化合物:



(I)

[0182] 或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

[0183] R_1 代表氢或 SO_3H ;

[0184] R_2 代表氢, CH_3 , $C_3H_6SO_3^-$, $C_3H_6SO_3H$ 或 $C_4H_8SO_3^-$,或 $C_4H_8SO_3H$ 或 $C_3H_6N^+(CH_3)_3$;

[0185] R_3 和 R_5 各自代表碳,任选地一个或多个共享键,

[0186] R_4 代表碳,具有任选地一个或多个共享键;

[0187] R_6 代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);

[0188] R_7 是任选的且当存在时代表芳族取代基团,以便增强光谱特性比如增加亮度和增加乙烯醚桥的稳定性;

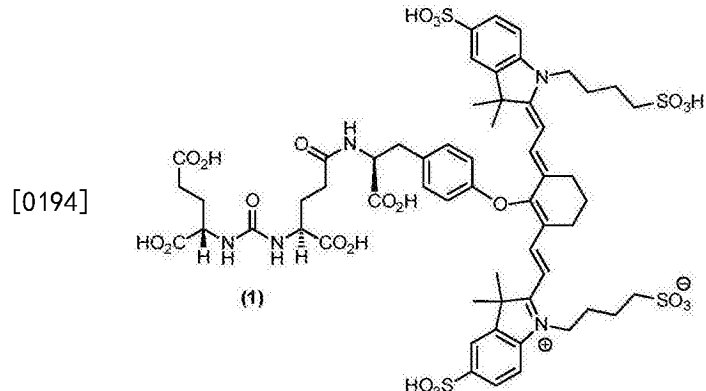
[0189] R_8 是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His或其衍生物,阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;

[0190] R_9 是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,阳离子连接体或其衍生物;

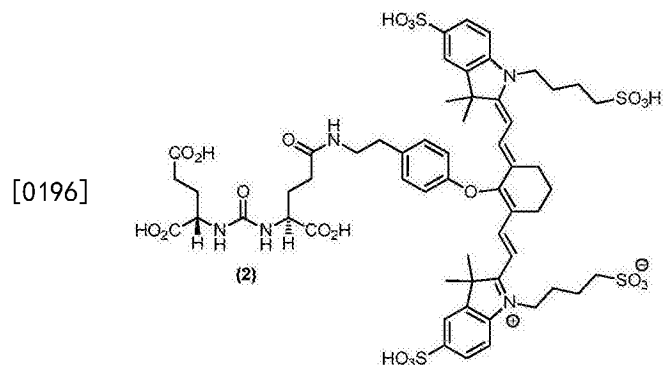
[0191] R_{10} 代表 CO_2H , PO_3H_2 , SO_3H , CH_2SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$;

[0192] R_{11} 代表 CO_2H , SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$; 和

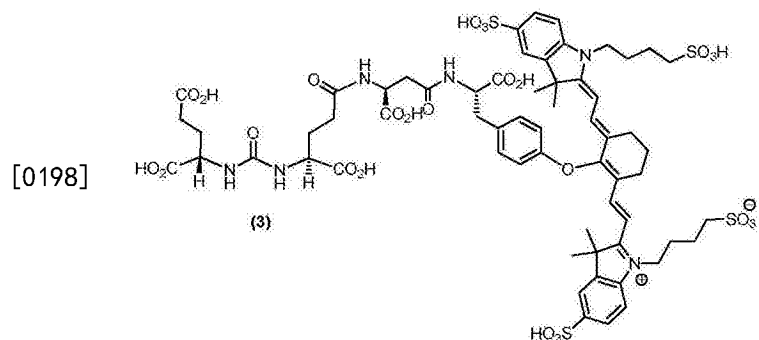
[0193] R_{12} 代表氢, 甲基, CH_2 和可以任选地各自代表共享键的 CH_2 。在某些实施方式中, 本发明包括具有下述结构式的化合物:



[0195] 在某些实施方式中, 本发明包括具有下述结构式的化合物:

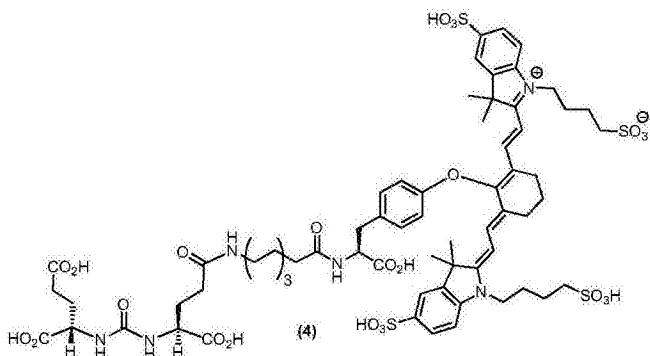


[0197] 在某些实施方式中, 本发明包括具有下述结构式的化合物:



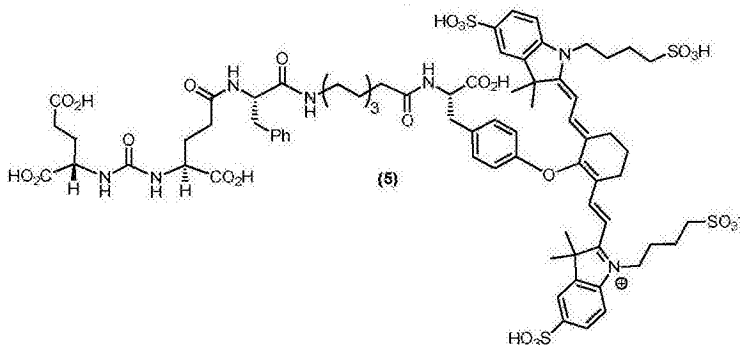
[0199] 在某些实施方式中, 本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0200]



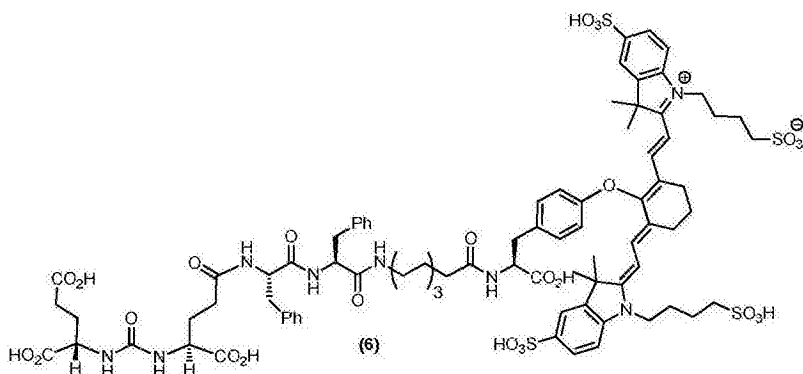
[0201] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0202]



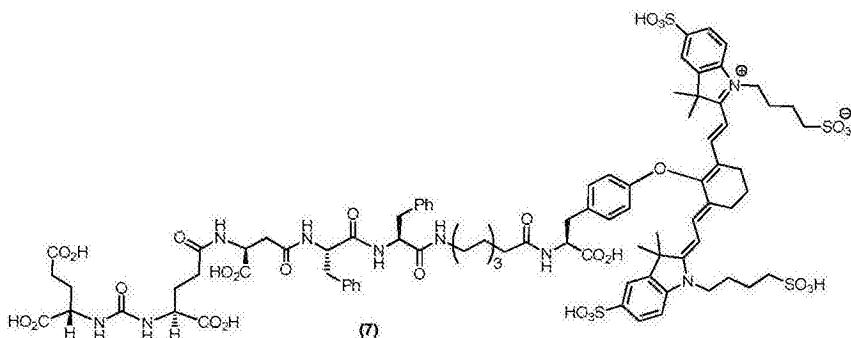
[0203] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0204]



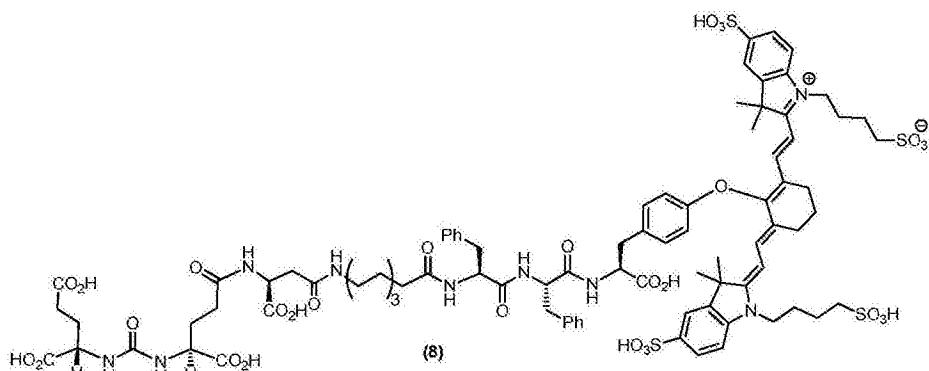
[0205] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0206]



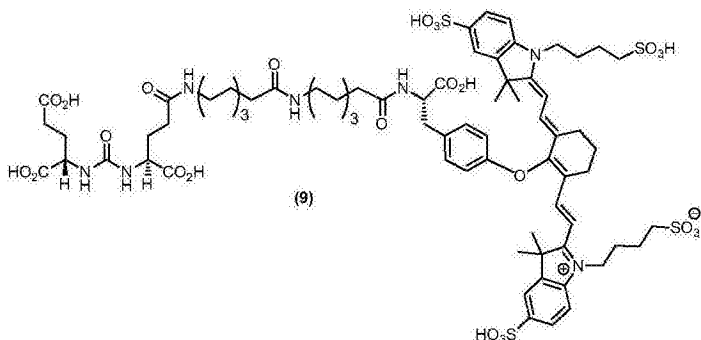
[0207] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0208]



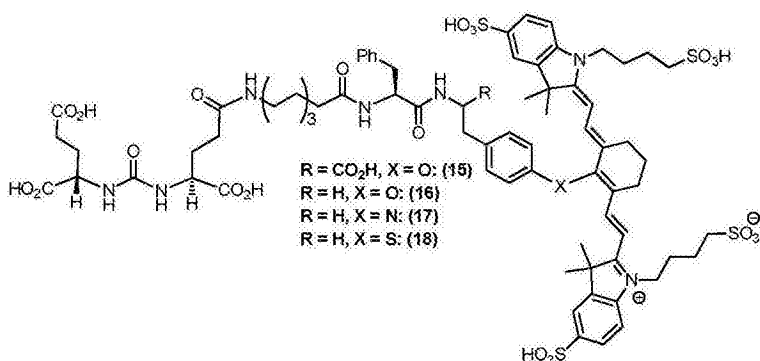
[0209] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0210]



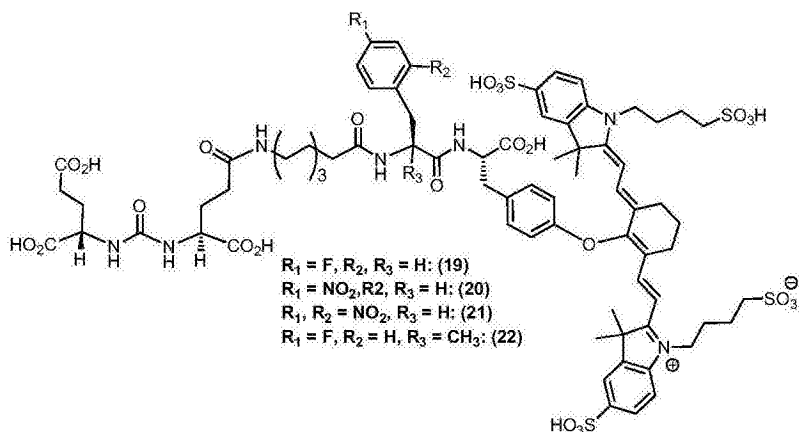
[0211] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0212]



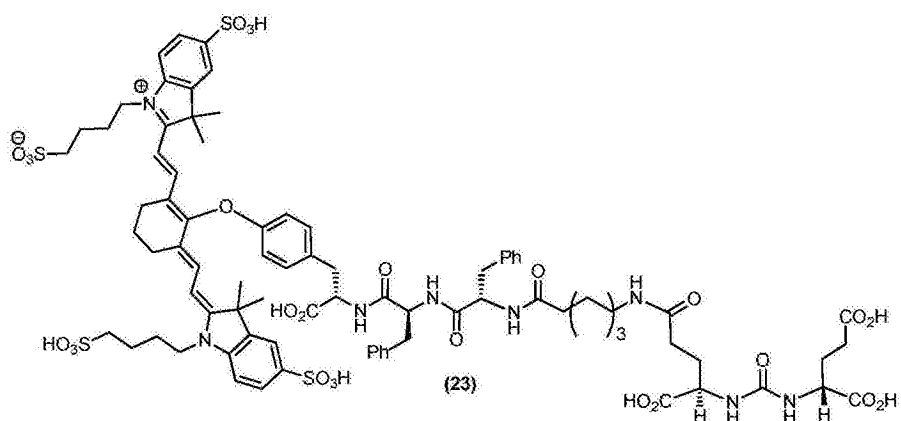
[0213] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0214]



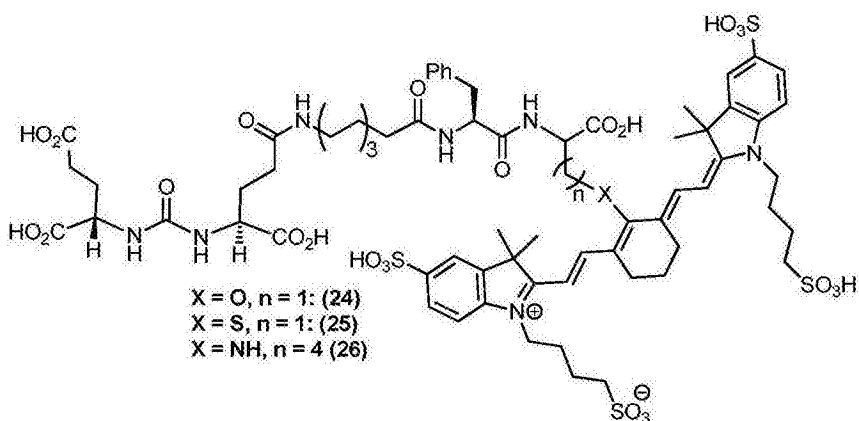
[0215] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0216]



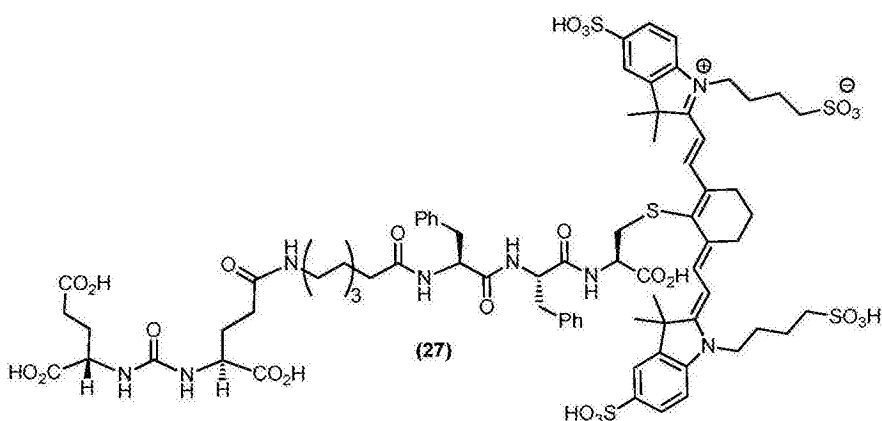
[0217] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0218]



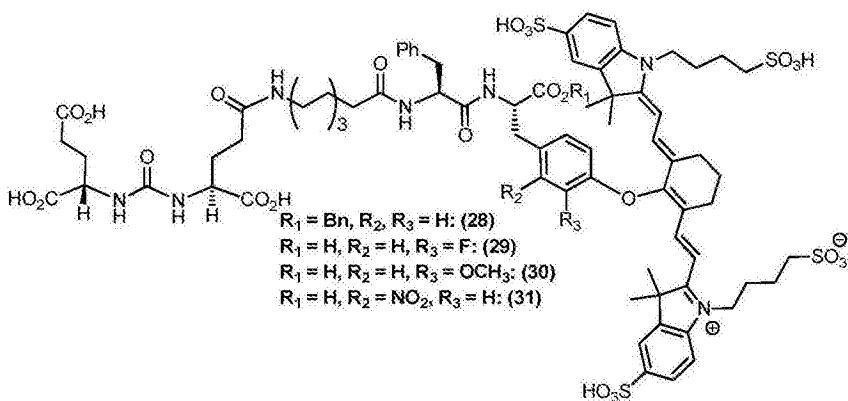
[0219] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0220]

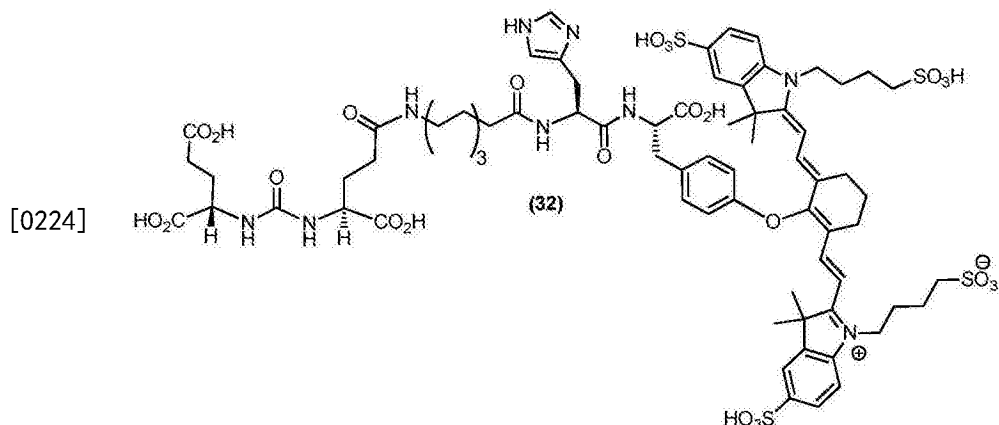


[0221] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

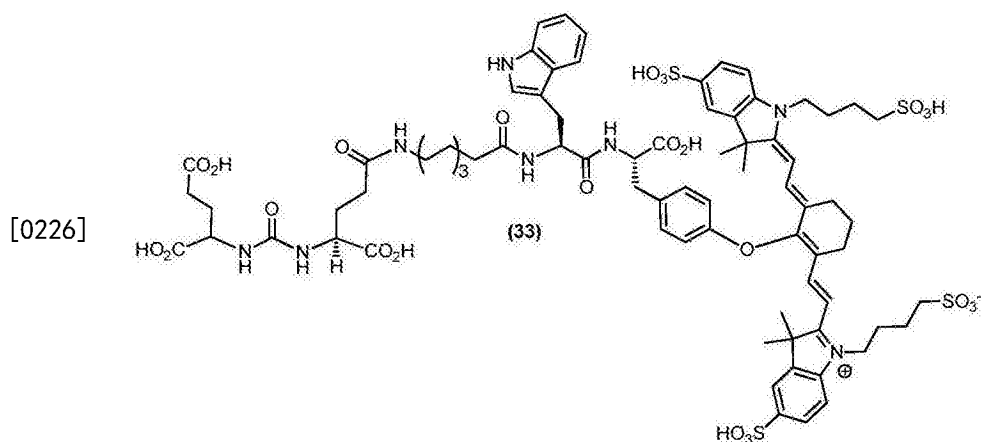
[0222]



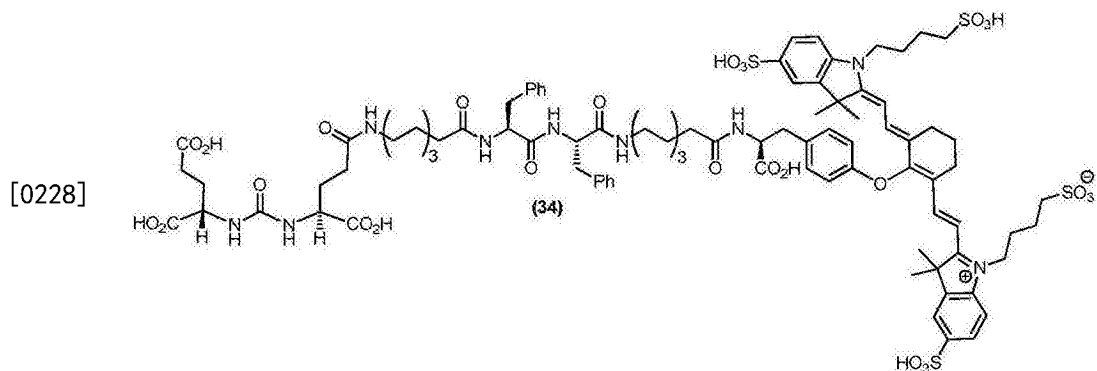
[0223] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:



[0225] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

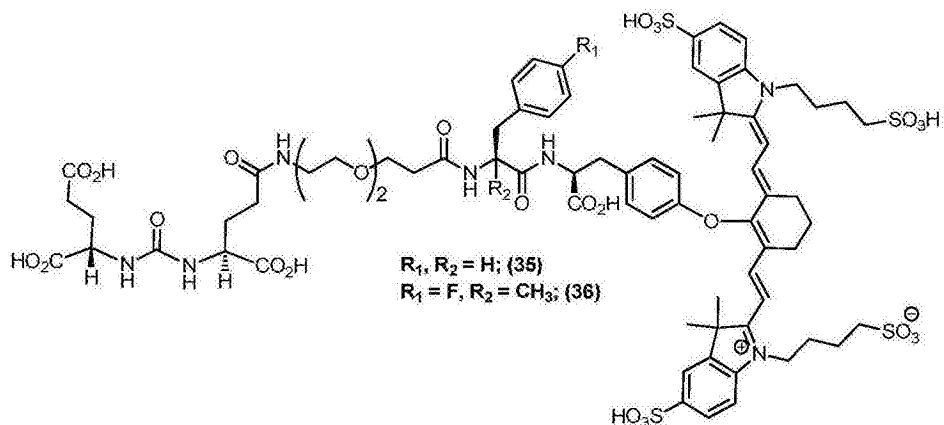


[0227] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:



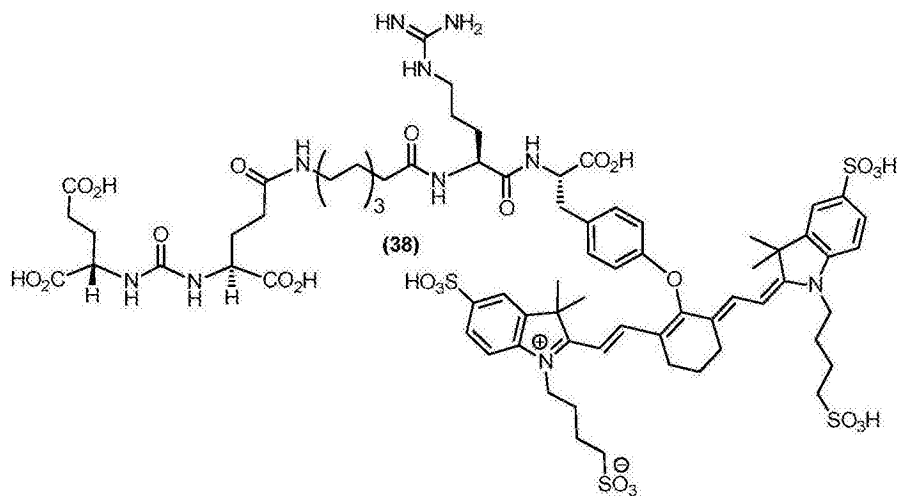
[0229] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0230]



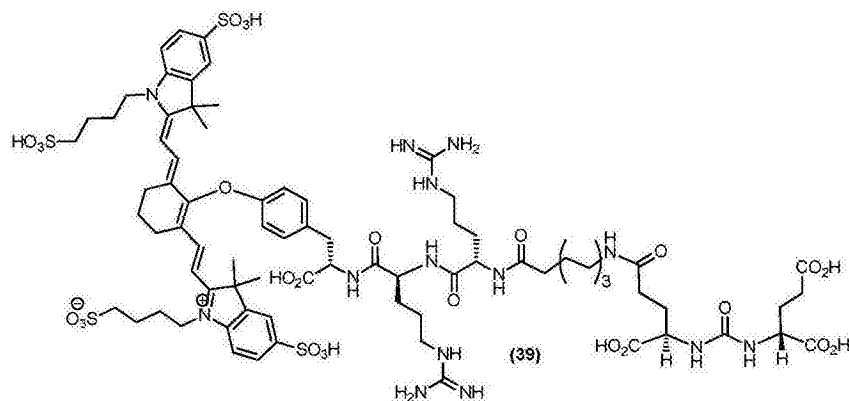
[0231] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0232]



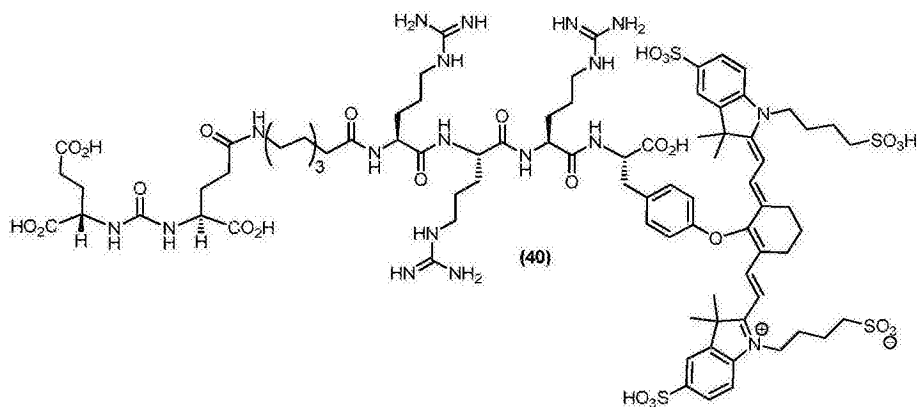
[0233] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0234]



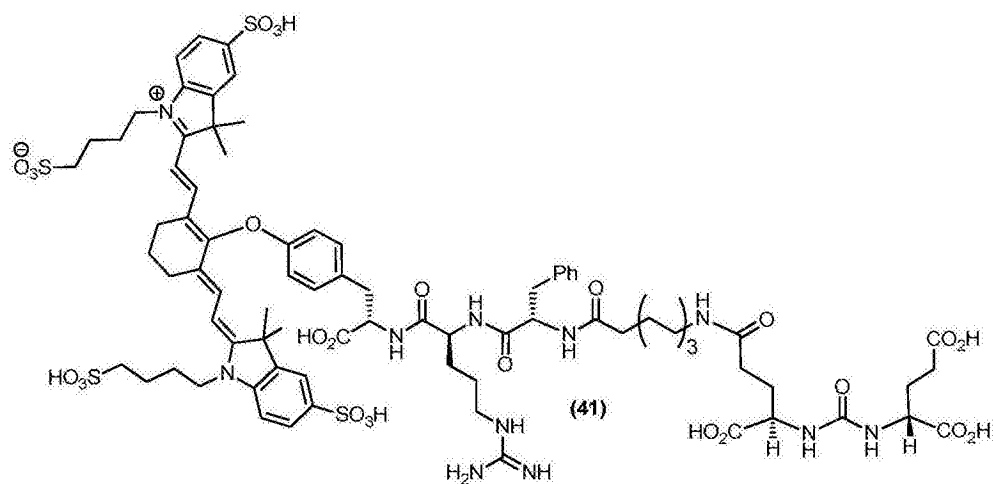
[0235] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0236]



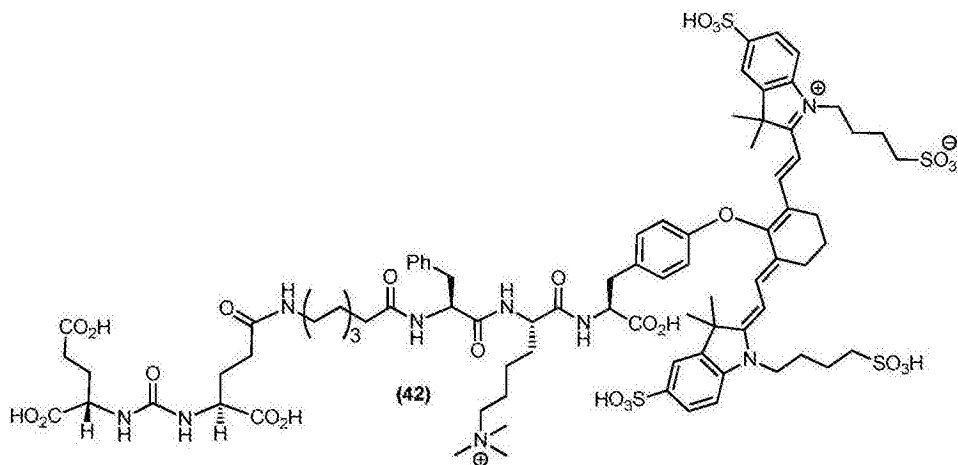
[0237] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0238]



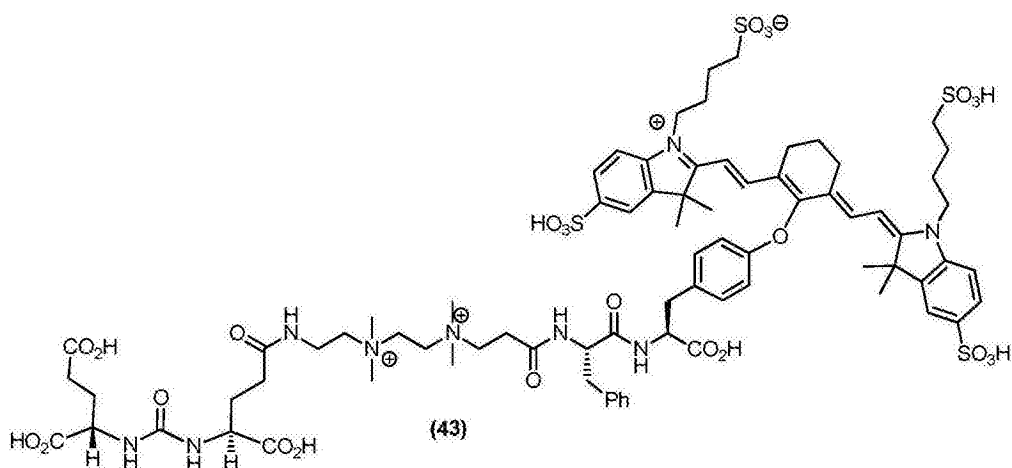
[0239] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0240]



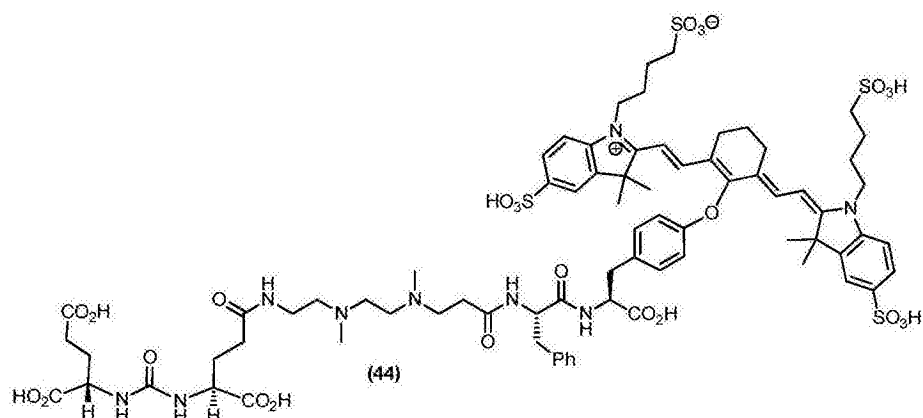
[0241] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0242]



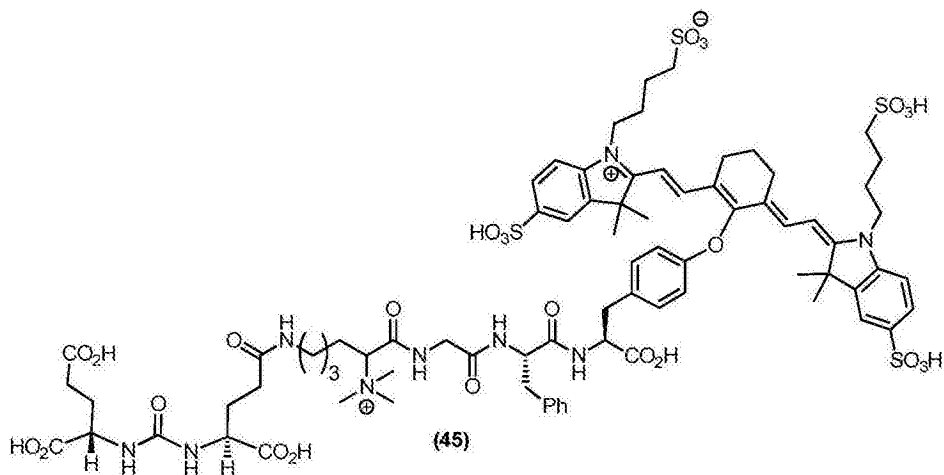
[0243] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0244]



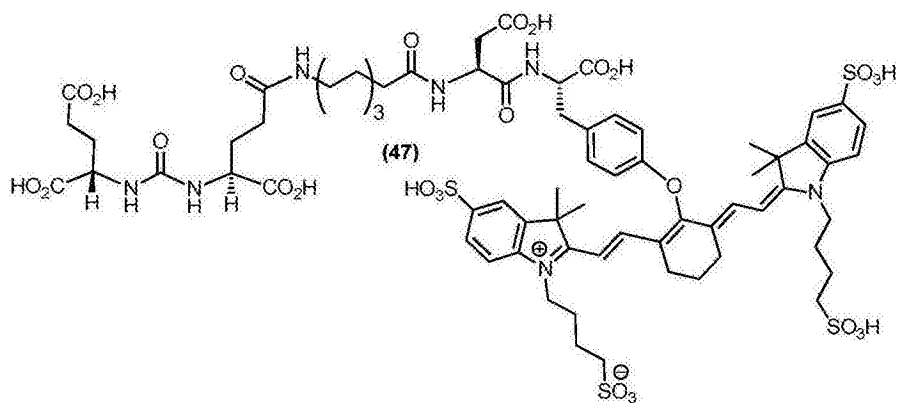
[0245] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0246]



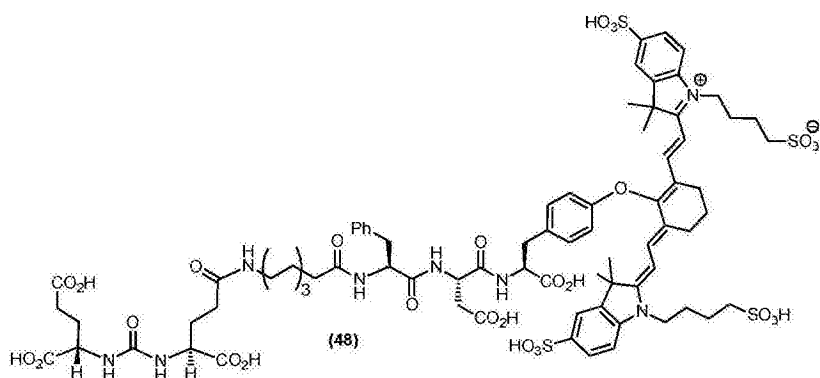
[0247] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0248]



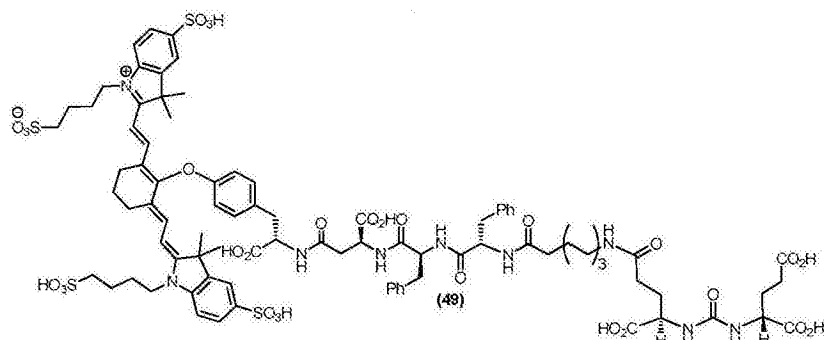
[0249] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0250]



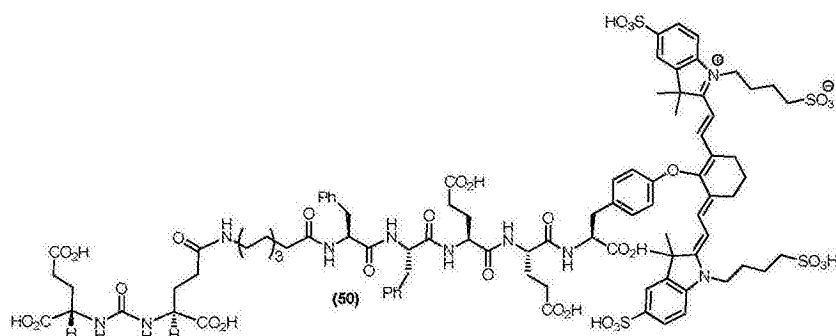
[0251] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0252]



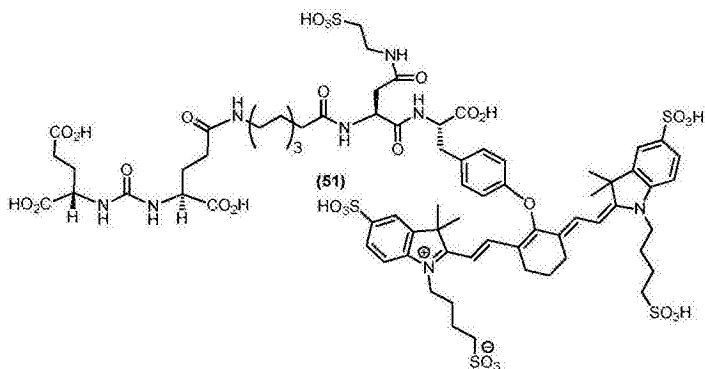
[0253] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0254]



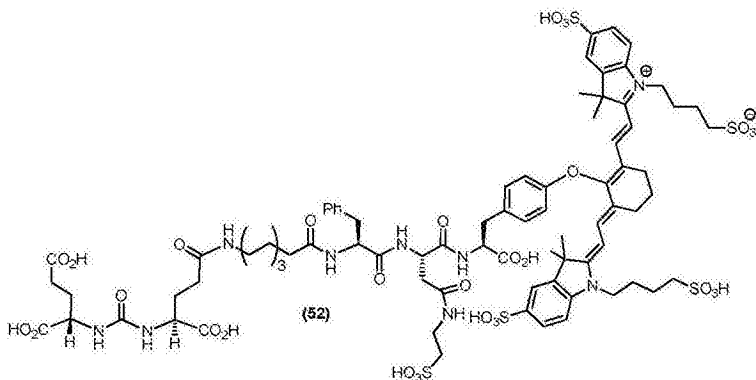
[0255] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0256]



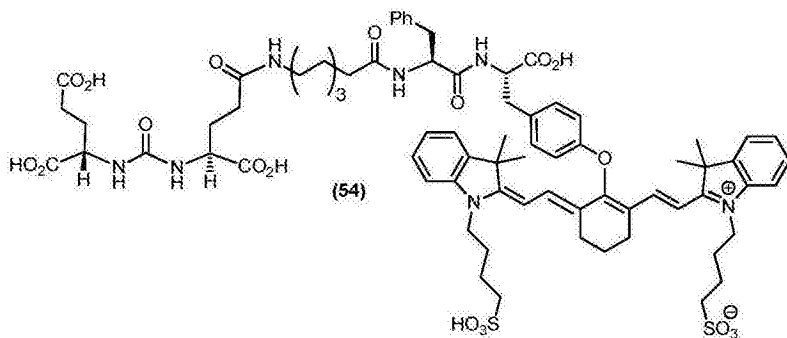
[0257] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0258]



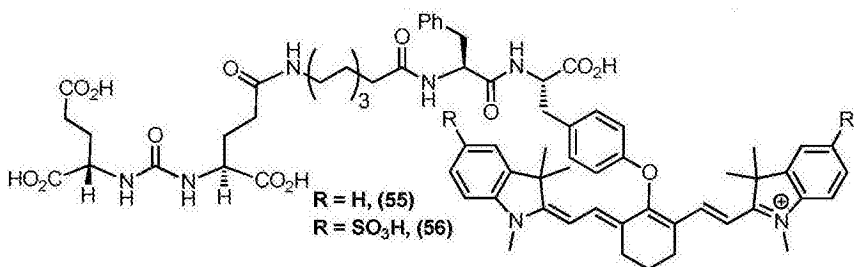
[0259] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0260]



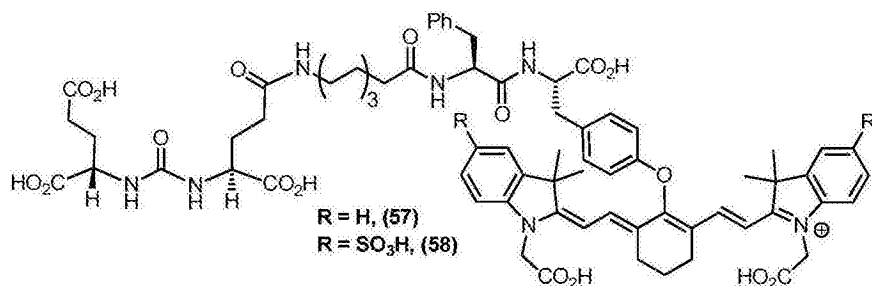
[0261] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0262]



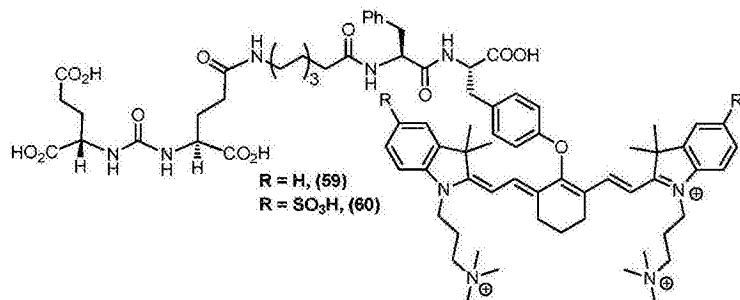
[0263] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0264]



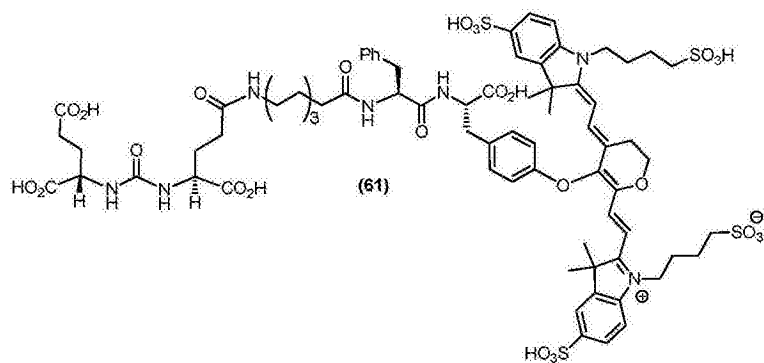
[0265] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0266]



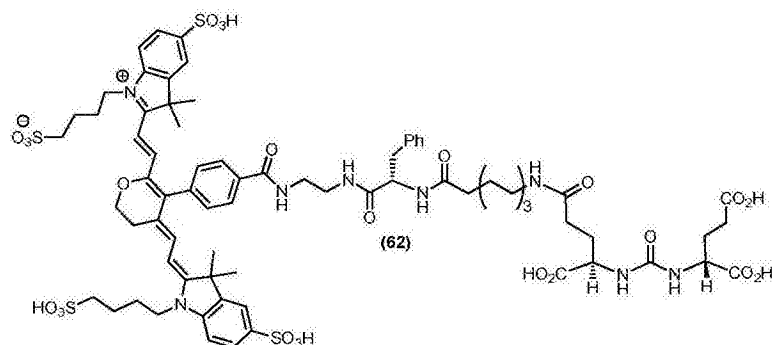
[0267] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0268]



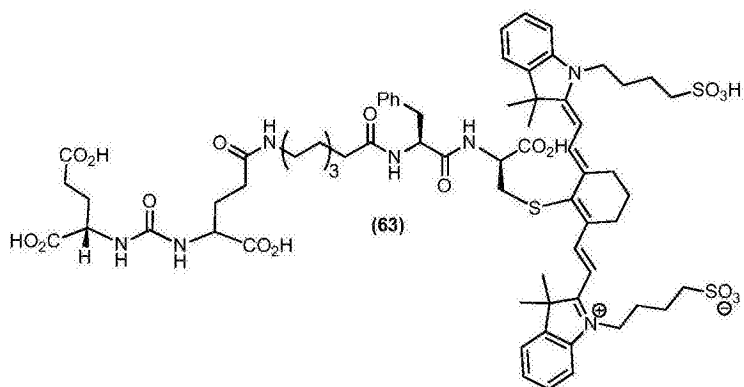
[0269] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0270]



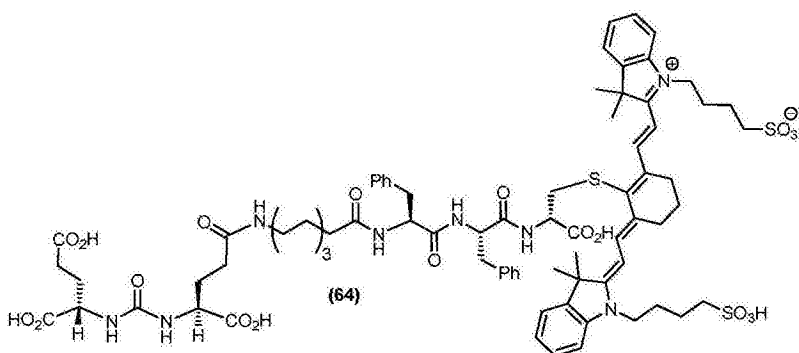
[0271] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0272]



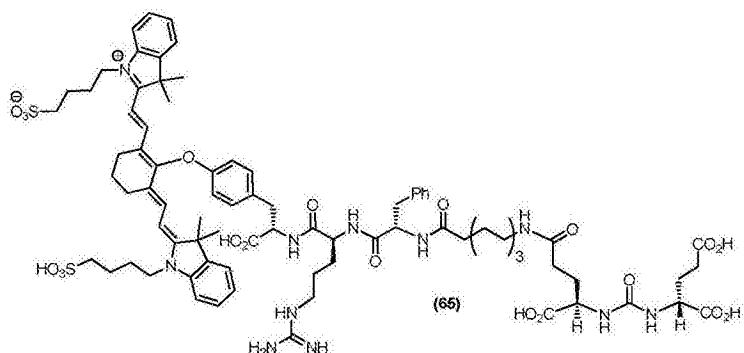
[0273] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0274]



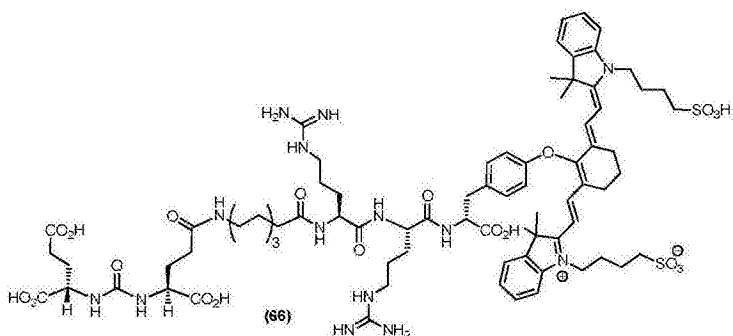
[0275] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0276]



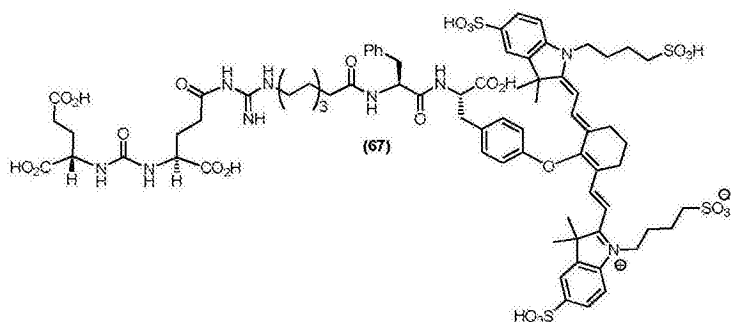
[0277] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0278]



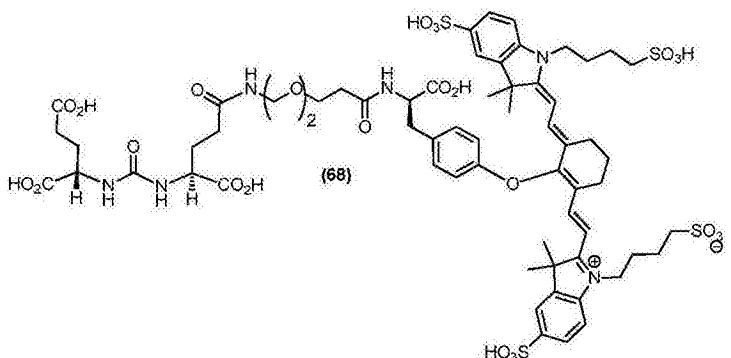
[0279] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0280]



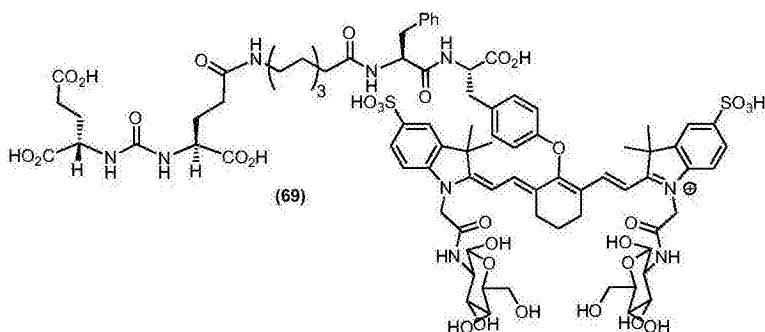
[0281] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0282]



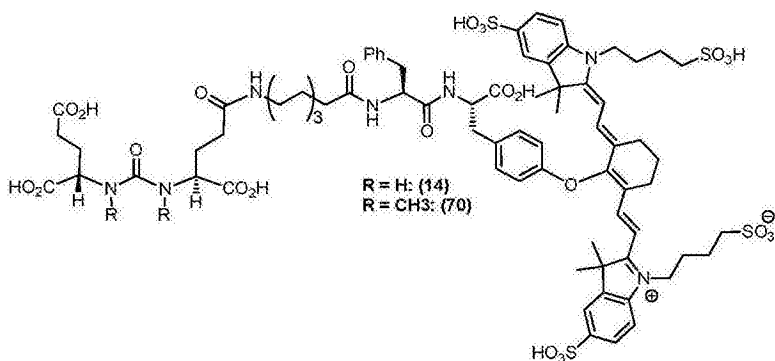
[0283] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0284]



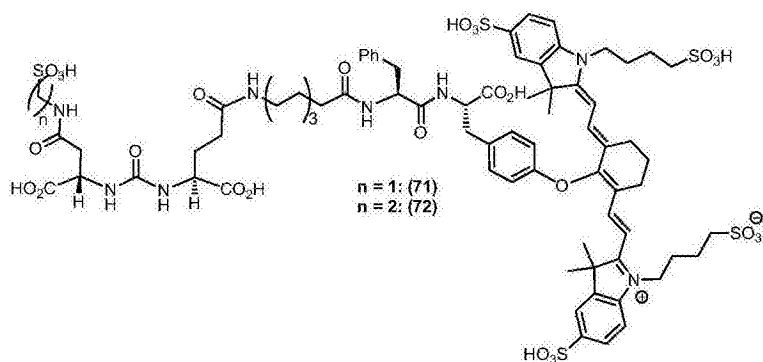
[0285] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0286]



[0287] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

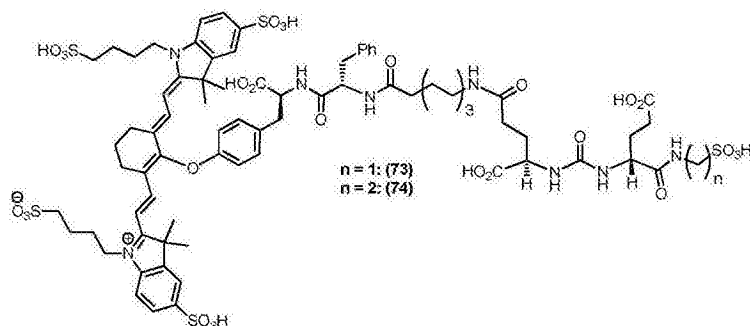
[0288]



[0289]

在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

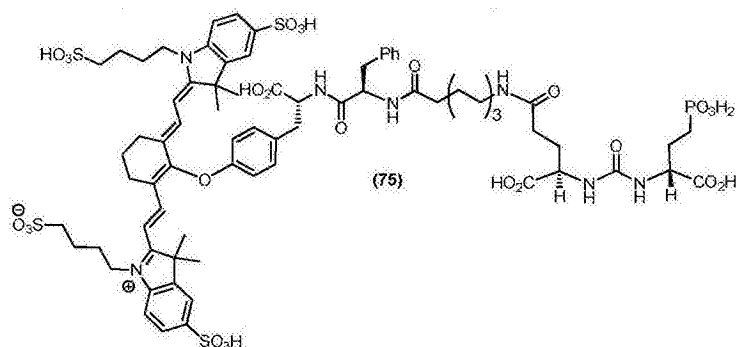
[0290]



[0291]

在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

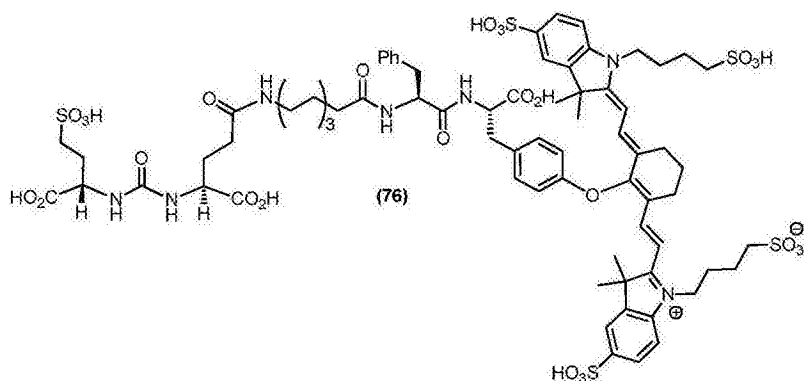
[0292]



[0293]

在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

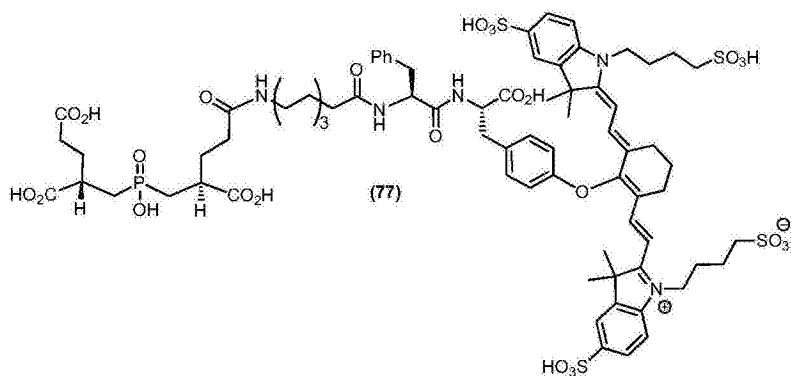
[0294]



[0295]

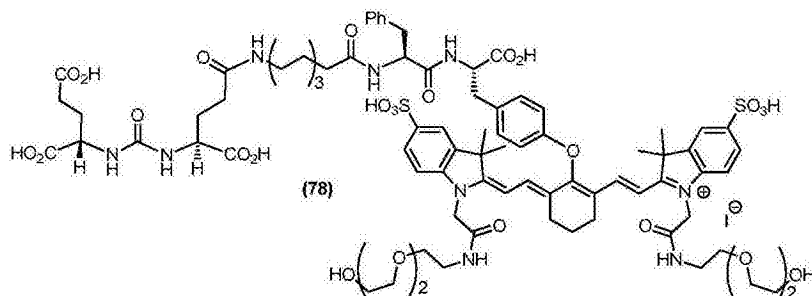
在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0296]



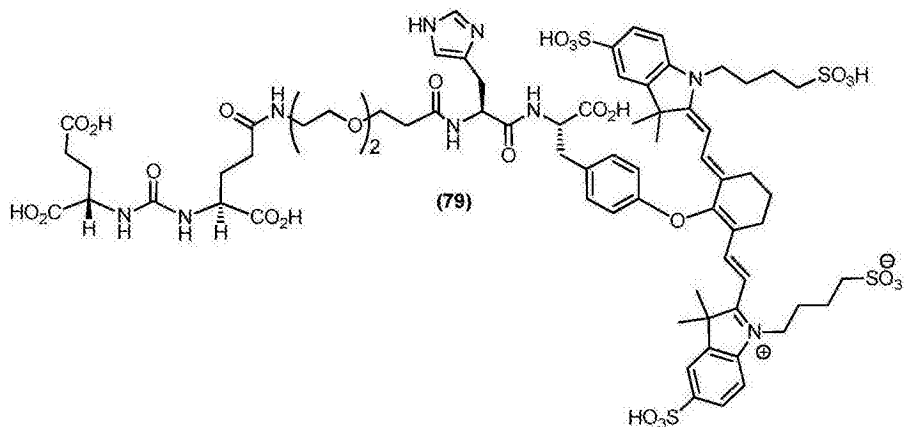
[0297] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0298]



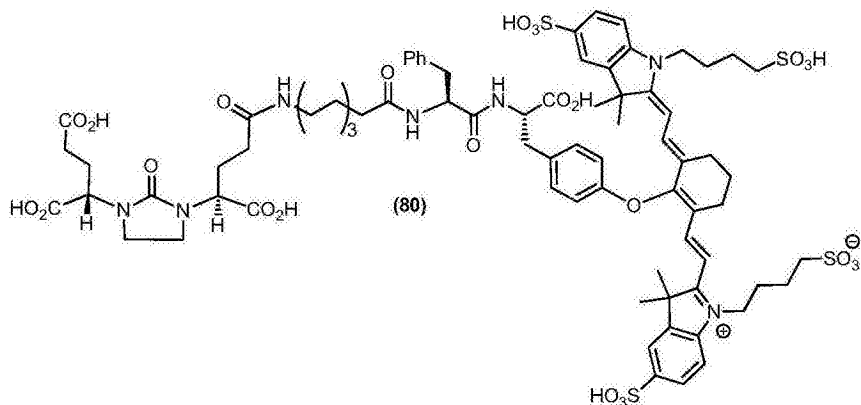
[0299] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0300]



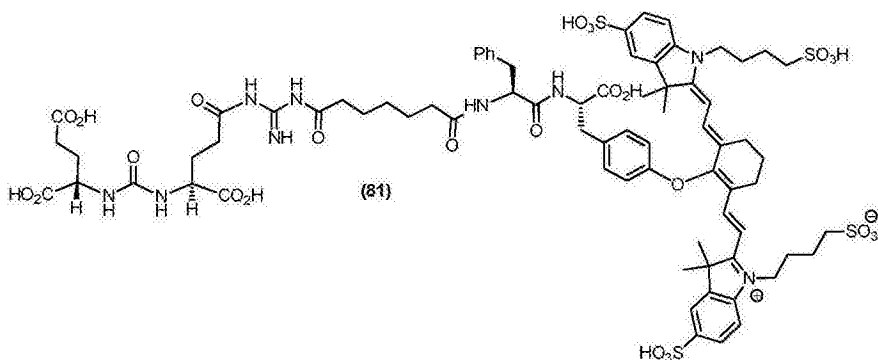
[0301] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0302]



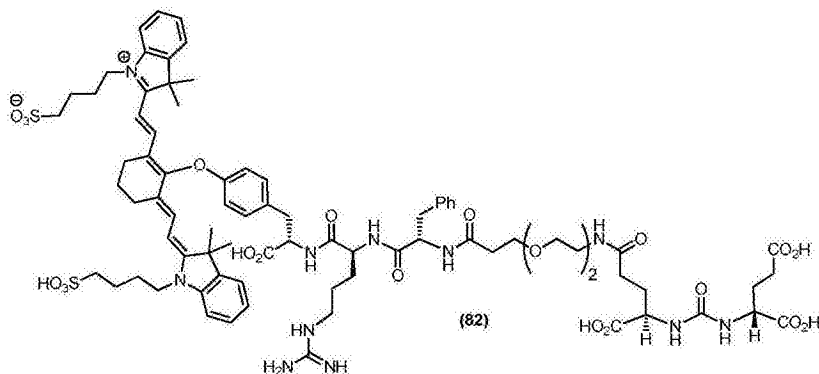
[0303] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0304]



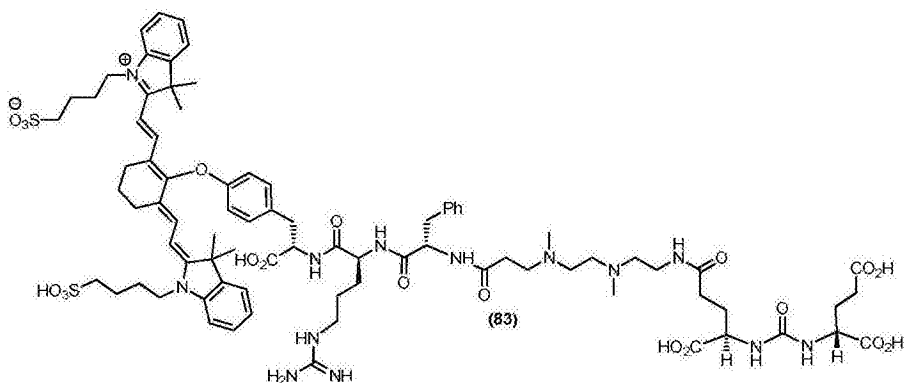
[0305] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0306]



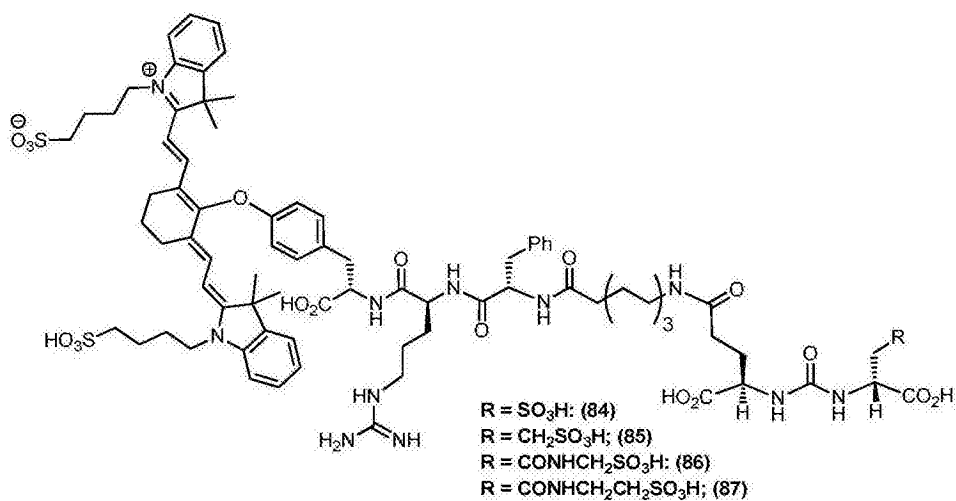
[0307] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0308]



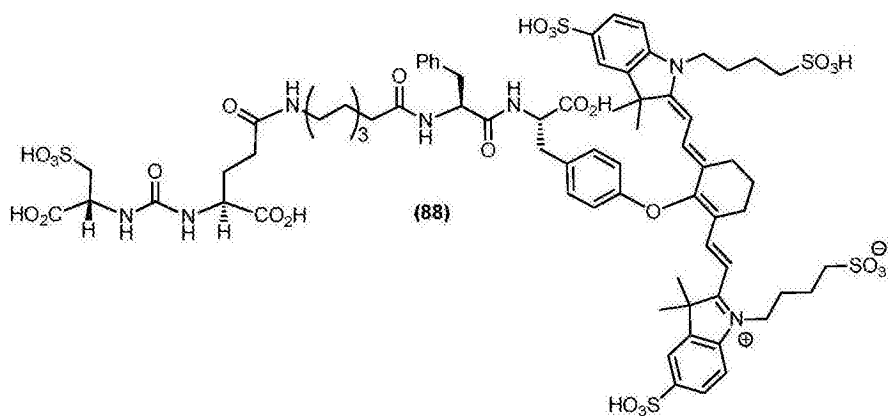
[0309] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0310]



[0311] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

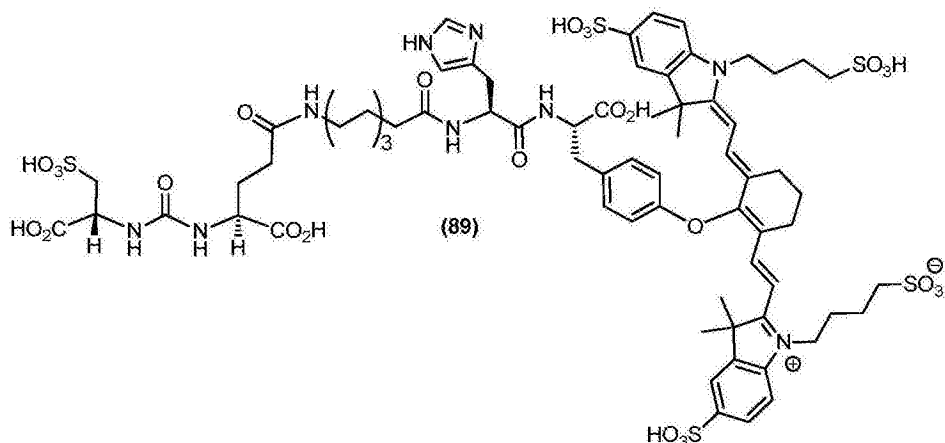
[0312]



[0313]

在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

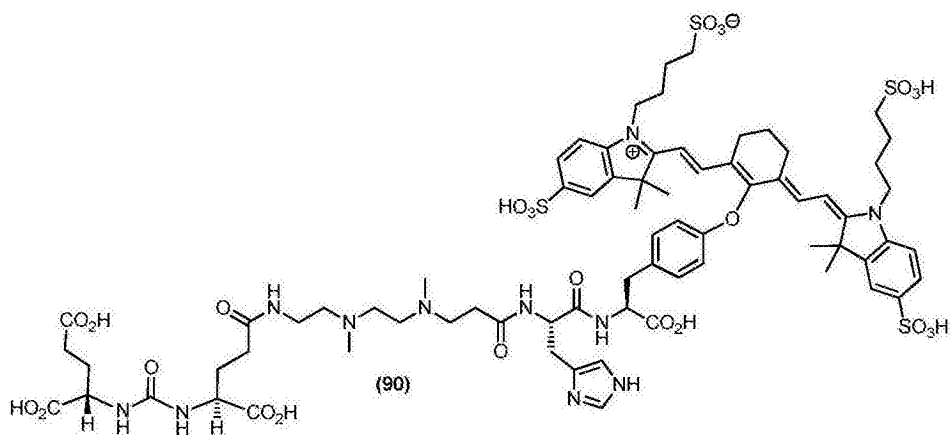
[0314]



[0315]

在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

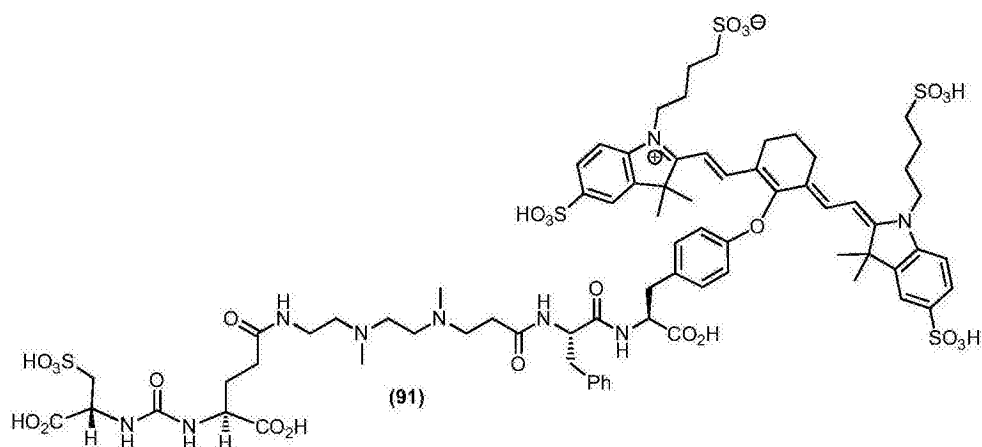
[0316]



[0317]

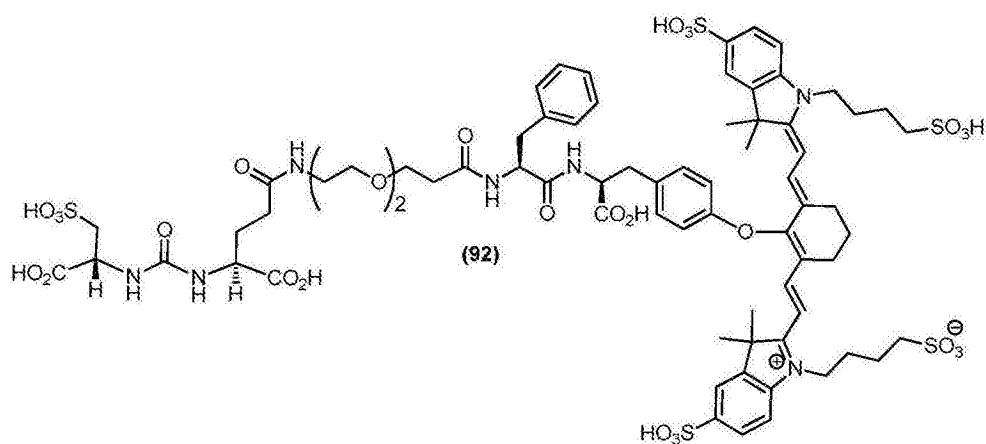
在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

[0318]



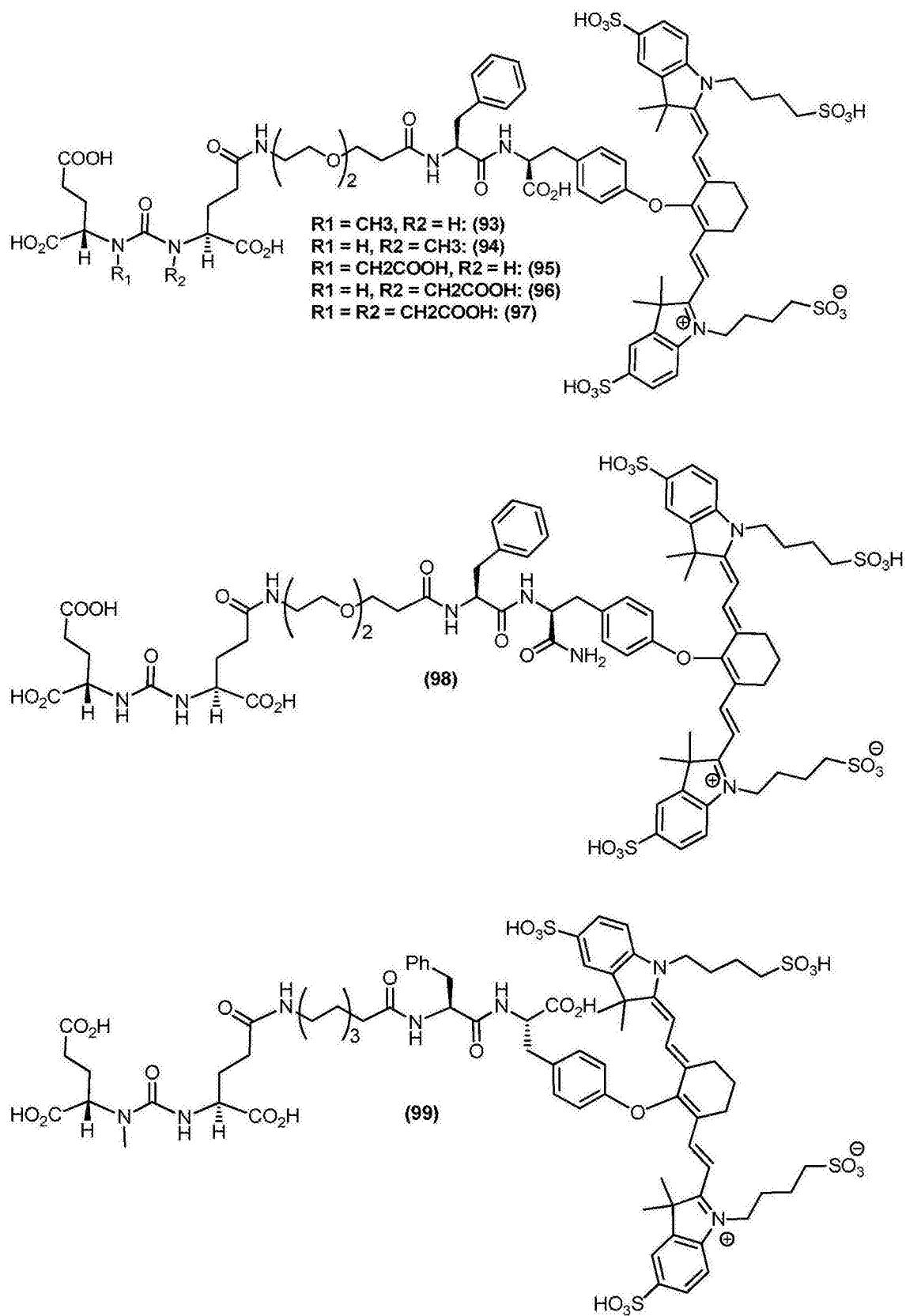
[0319] 在某些实施方式中,本发明包括具有下述结构式的化合物:

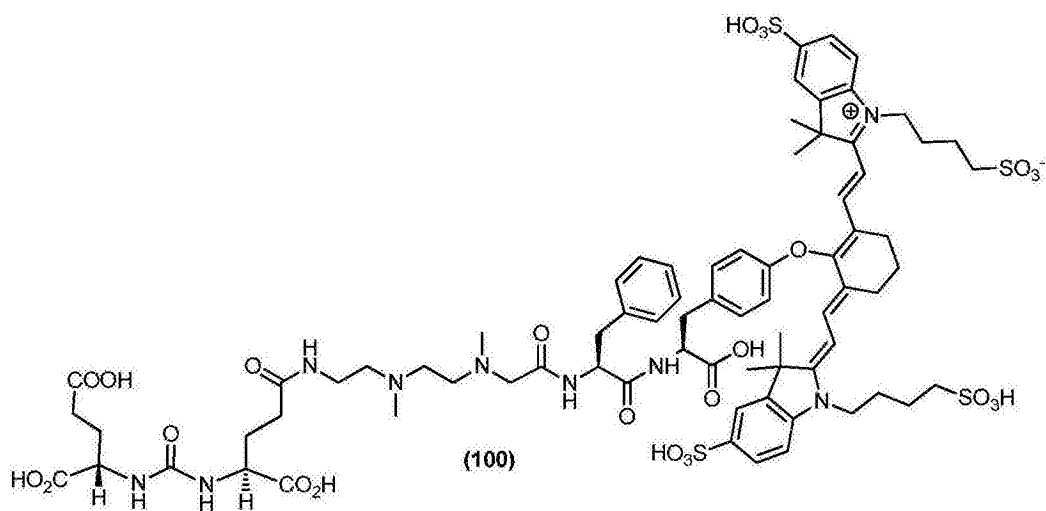
[0320]



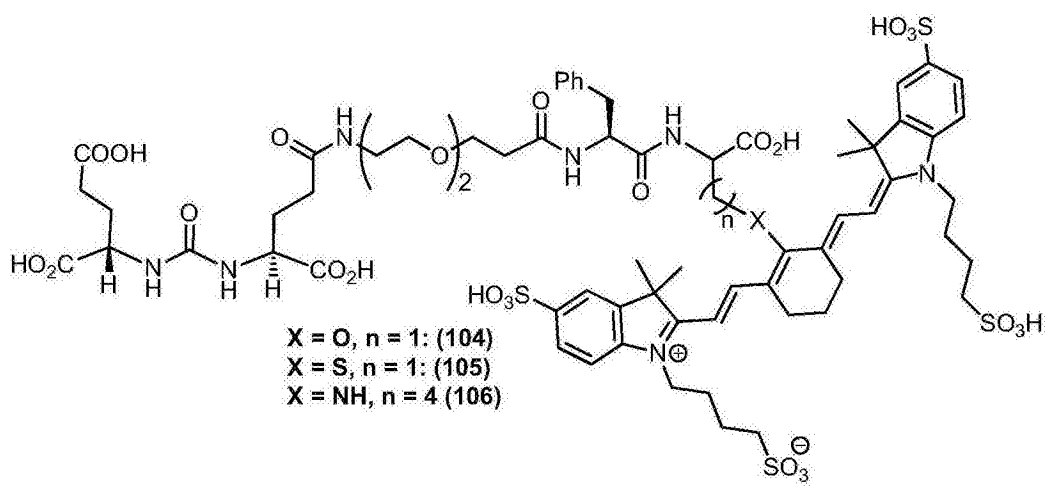
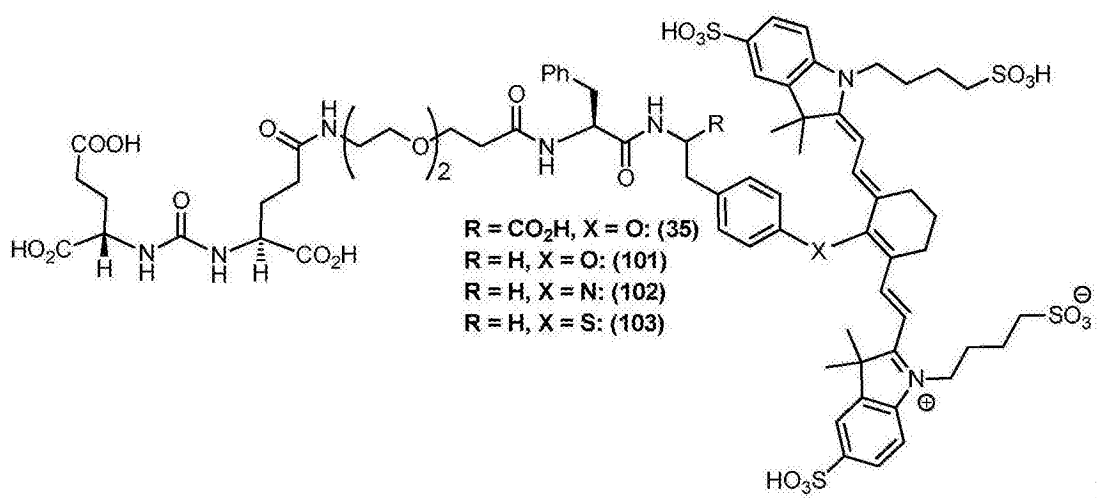
[0321] 本发明额外优选的化合物包括下述:

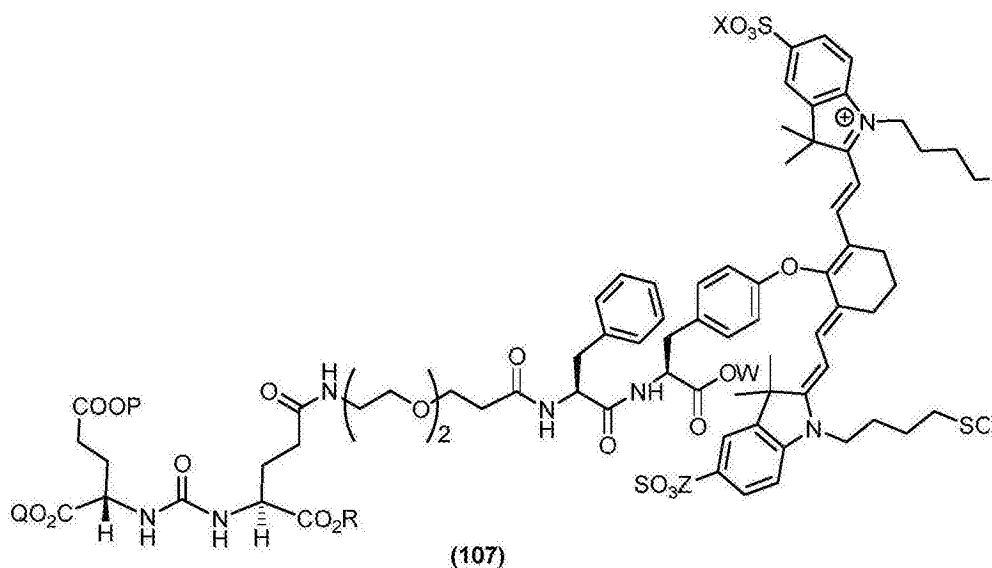
[0322]





[0323]

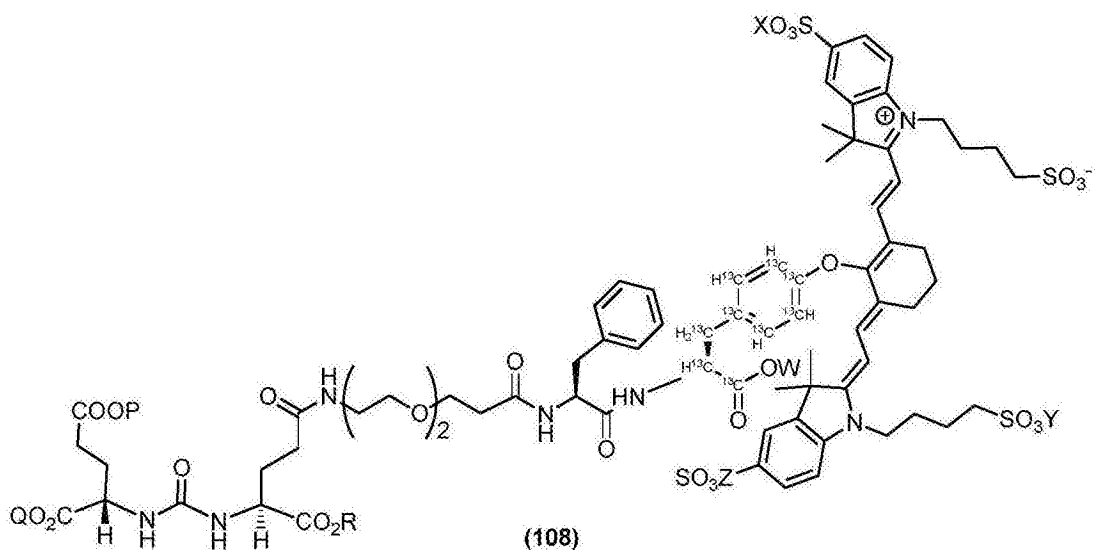




P, Q, R, W, X, Y, Z可以是H (35), Na, K, NH₄

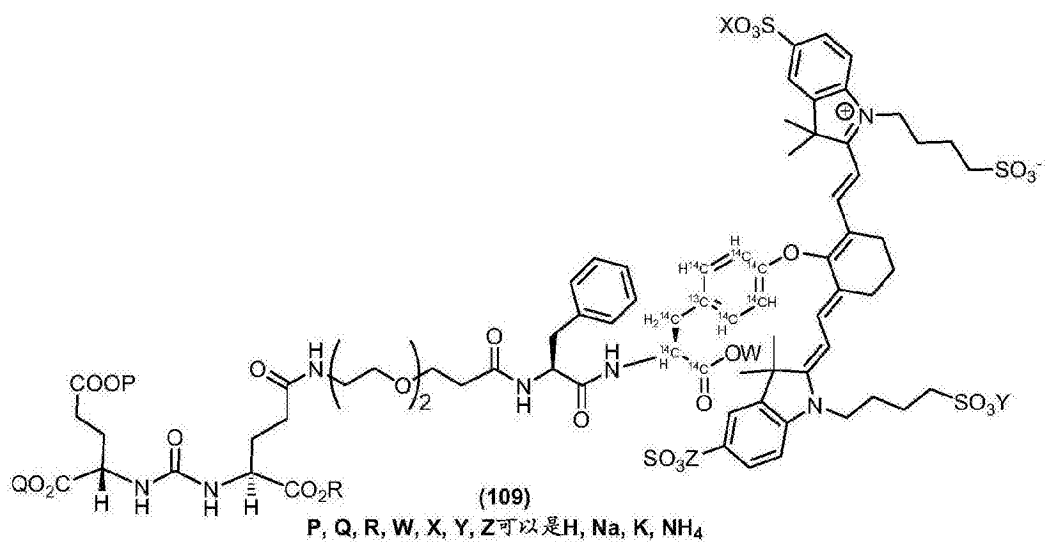
;

[0324]

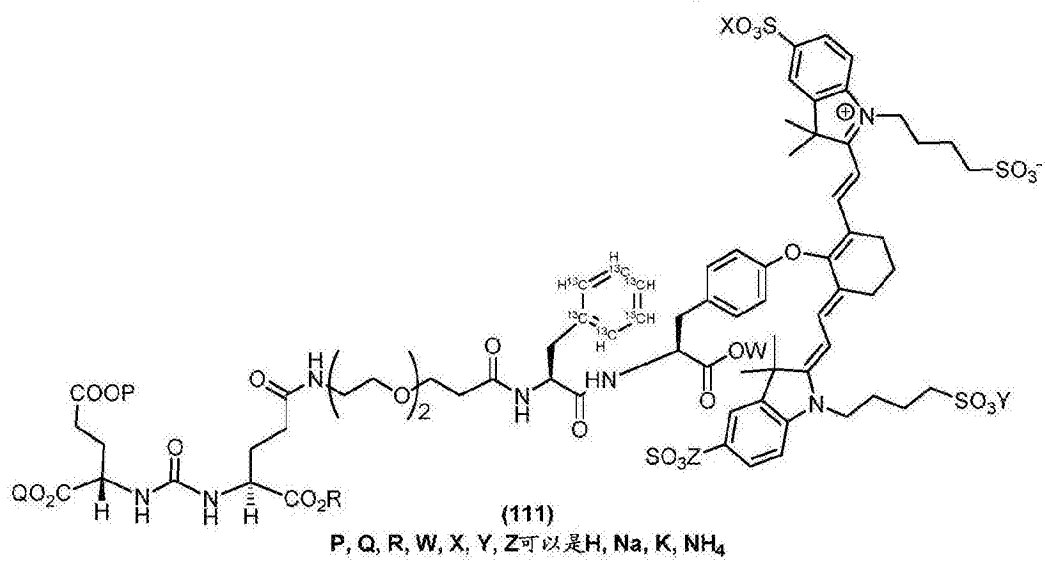
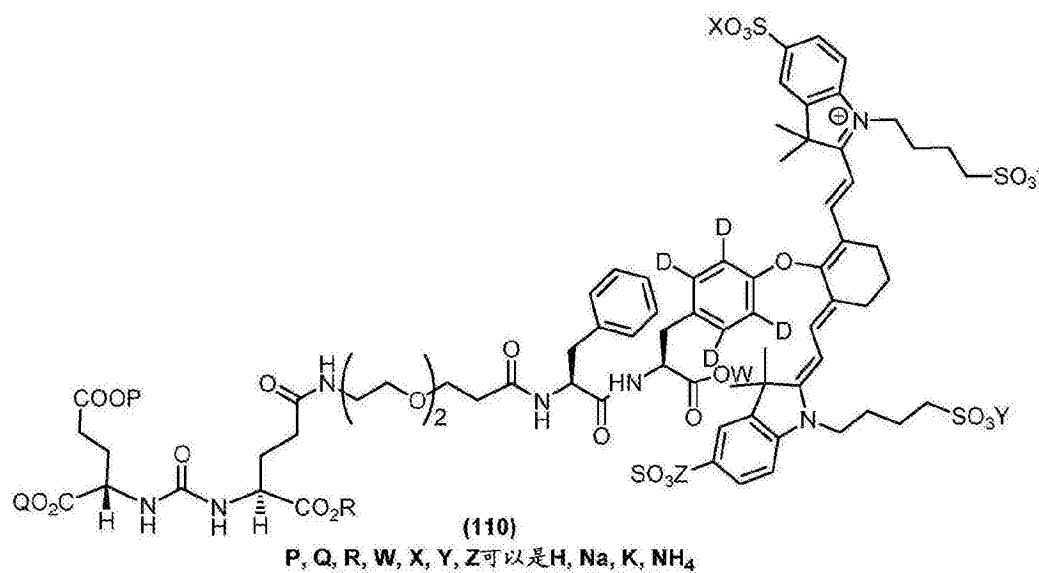


P, Q, R, W, X, Y, Z可以是H, Na, K, NH₄

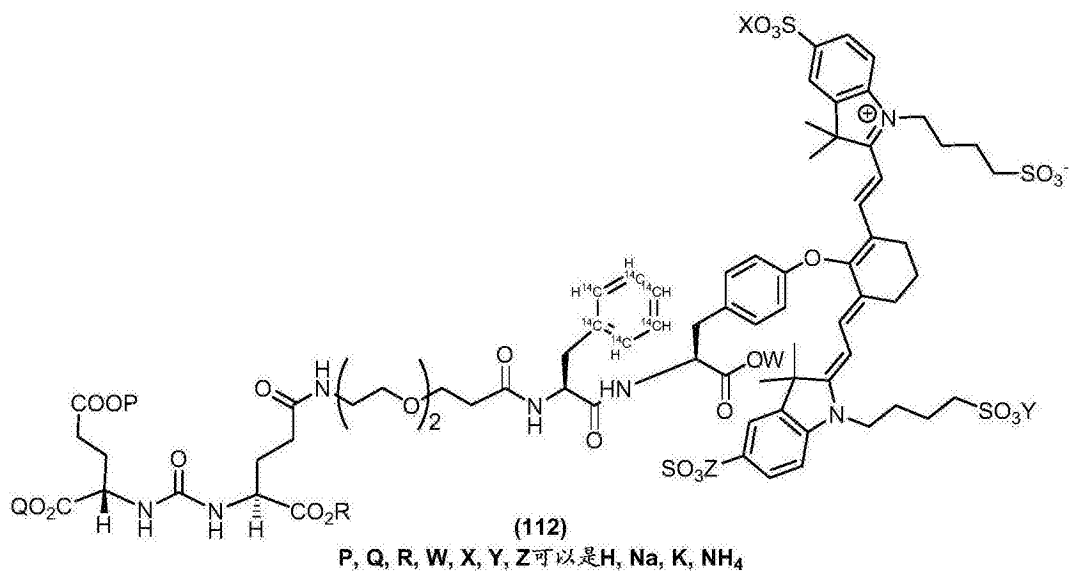
;



[0325]

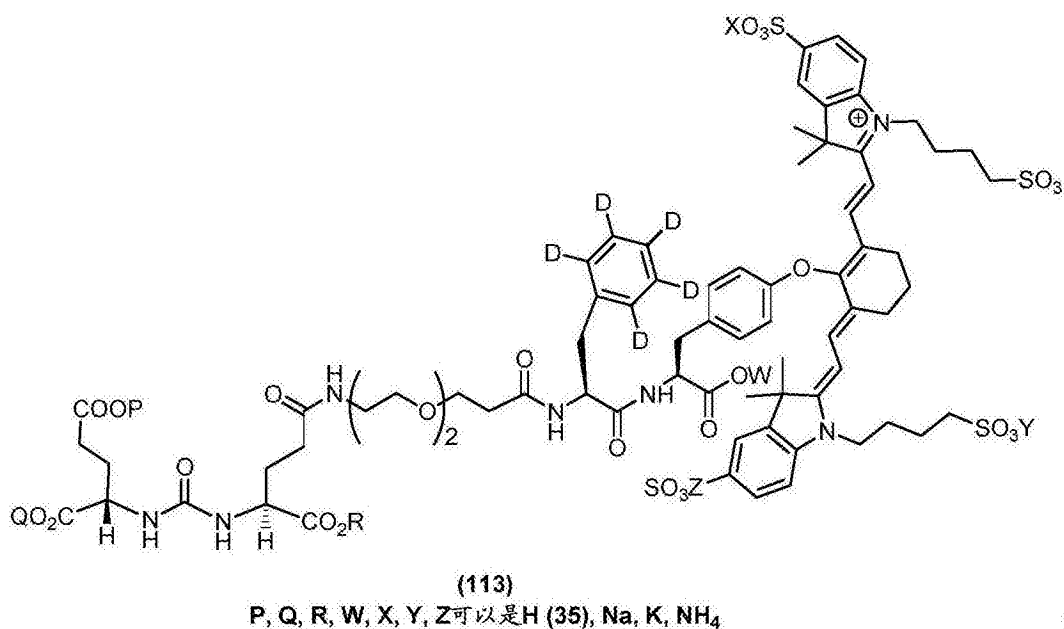


[0326]



;

[0327]

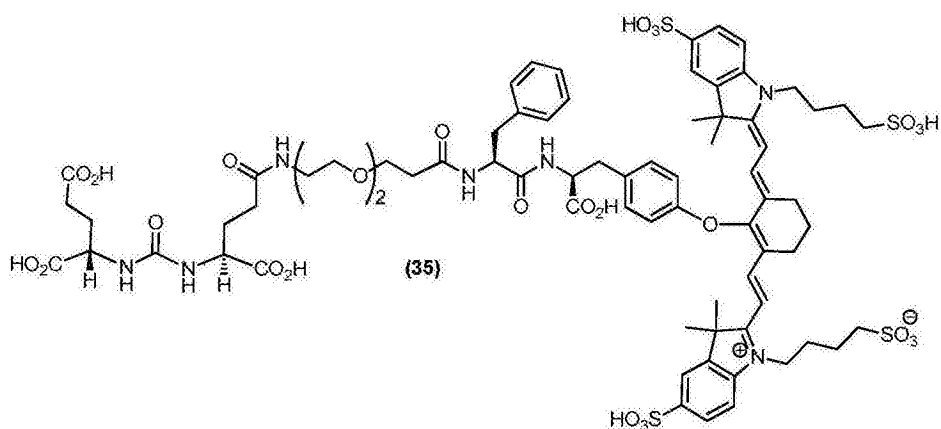


和

;

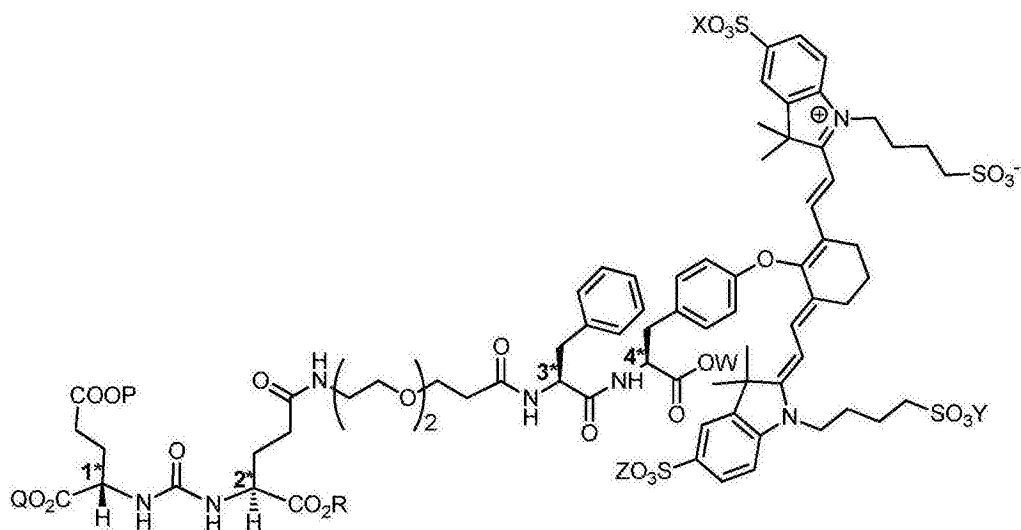
[0328] 结构35的化合物是在本发明中特别优选的。

[0329]



[0330] 此外,化合物35的立体异构体比如示于下表的那些也预期是有用的PSMA-靶向近红外(NIR)染料,应用于本发明方法中。

[0331]



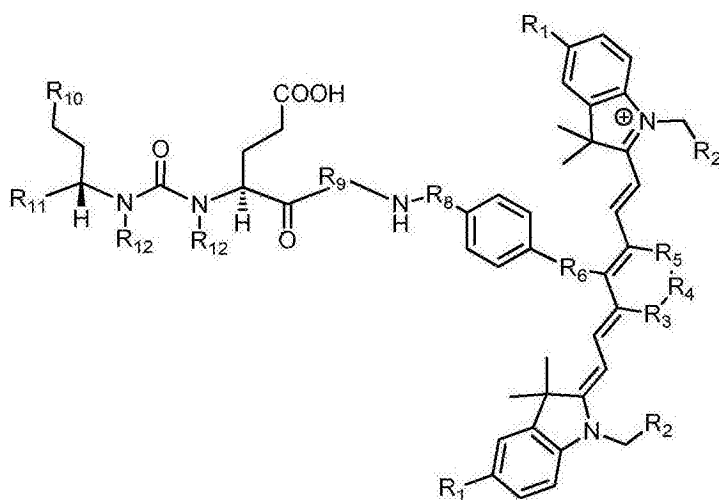
[0332]

化合物 \ 手性中心	1*	2*	3*	4*
35	L	L	L	L
114	L	L	L	D
115	L	L	D	L
116	L	L	D	D
117	L	D	L	L
118	L	D	L	D
119	L	D	D	L
120	L	D	D	D
121	D	L	L	L
122	D	L	L	D
123	D	L	D	L
124	D	L	D	D
125	D	D	L	L
126	D	D	L	D
127	D	D	D	L
128	D	D	D	D

[0333] 注：手性中心指为*

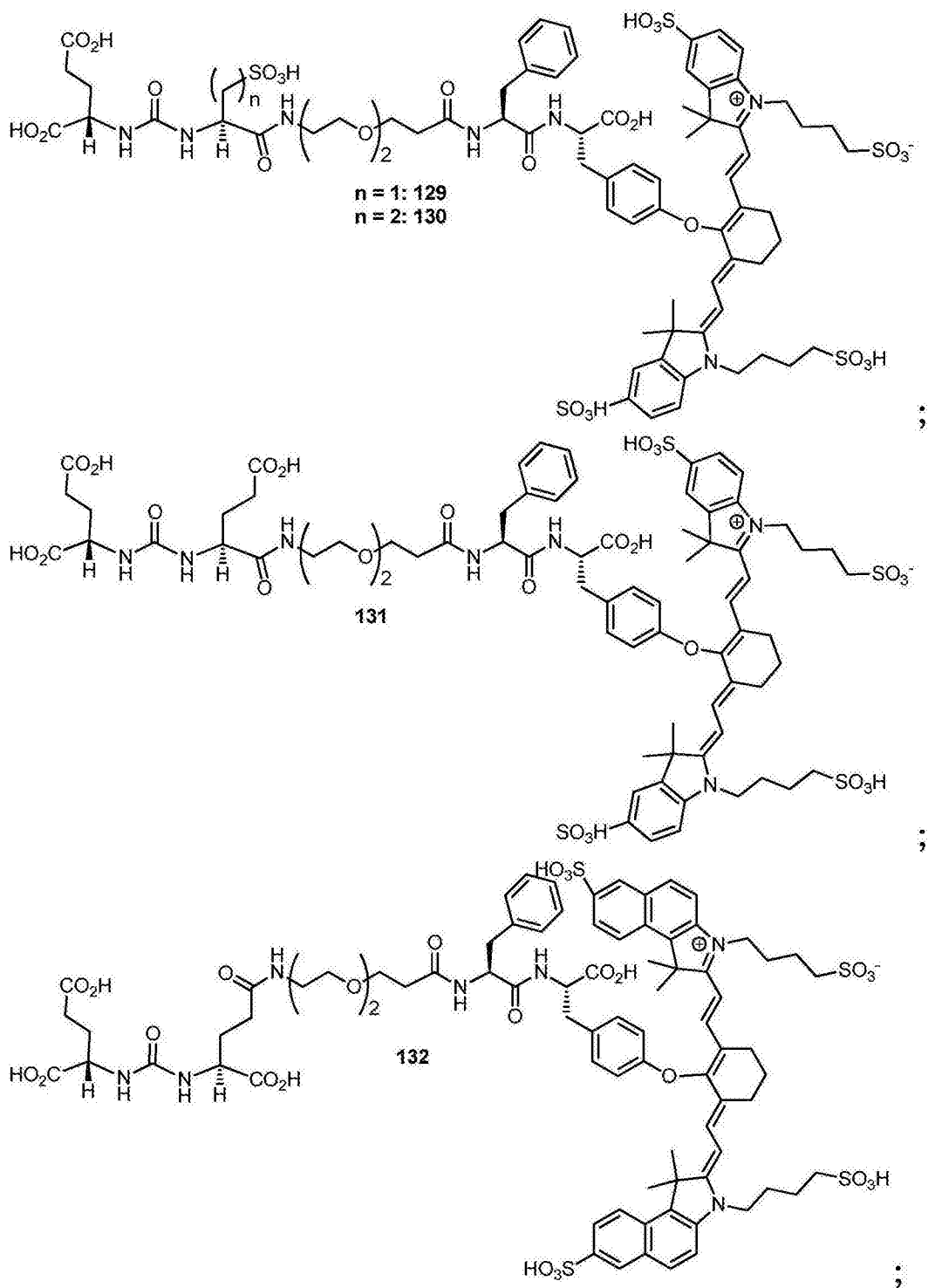
[0334] 本发明额外的优选化合物包括下述：

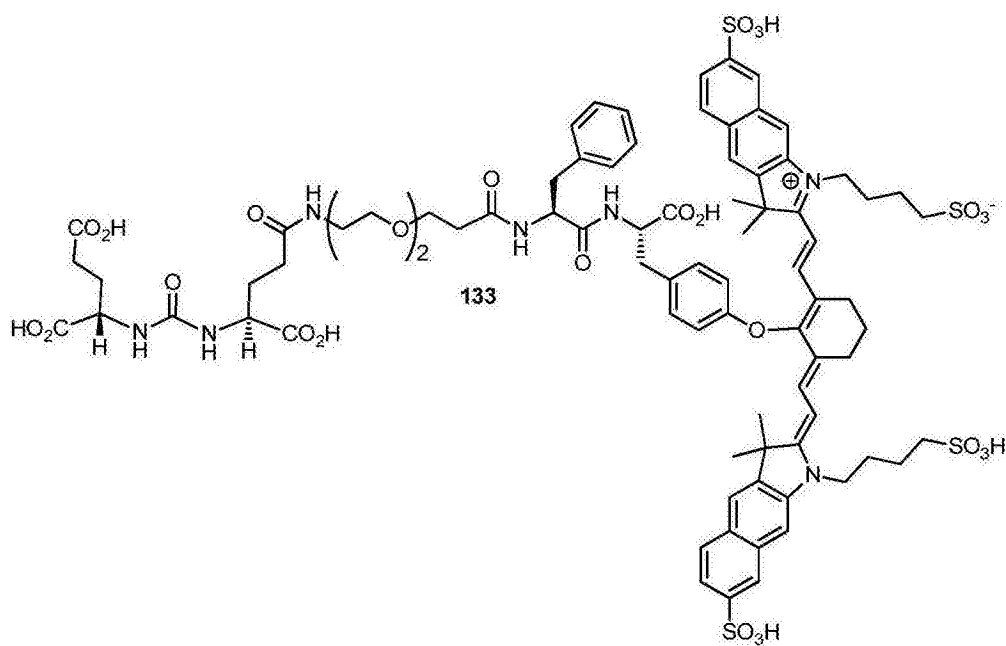
[0335]



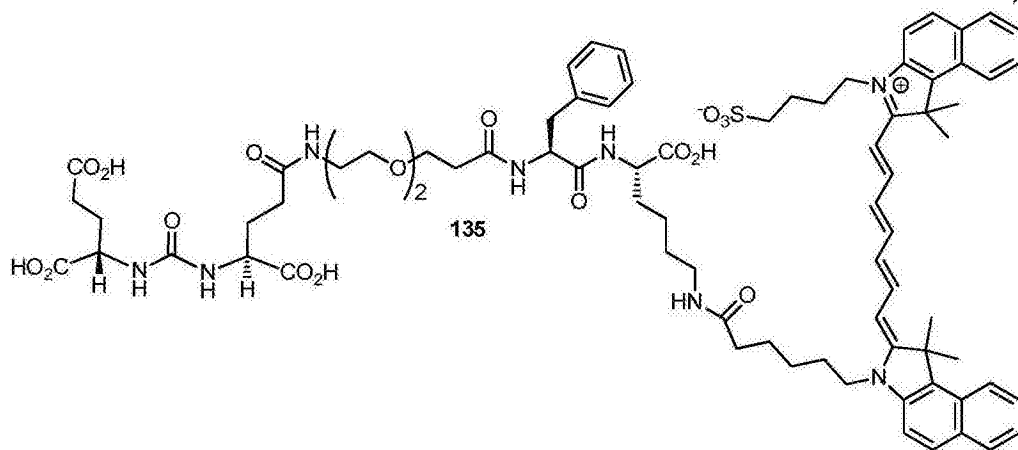
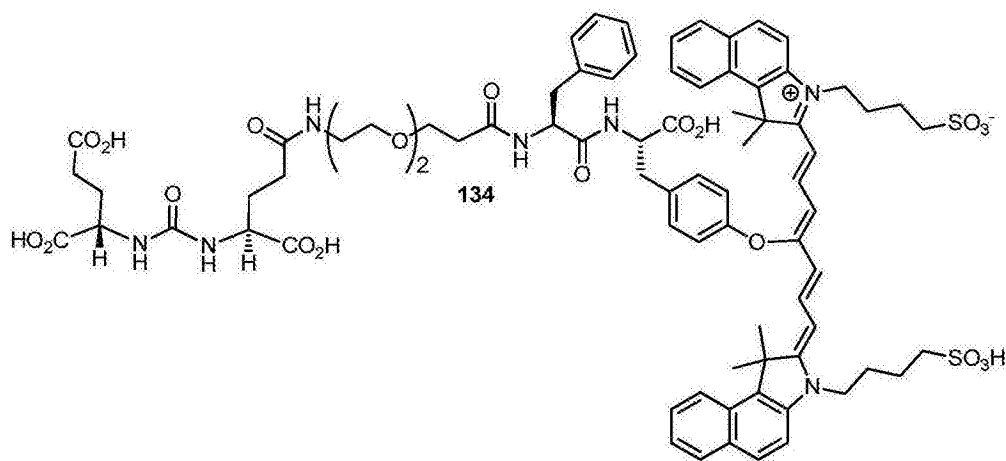
[0336] 或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:

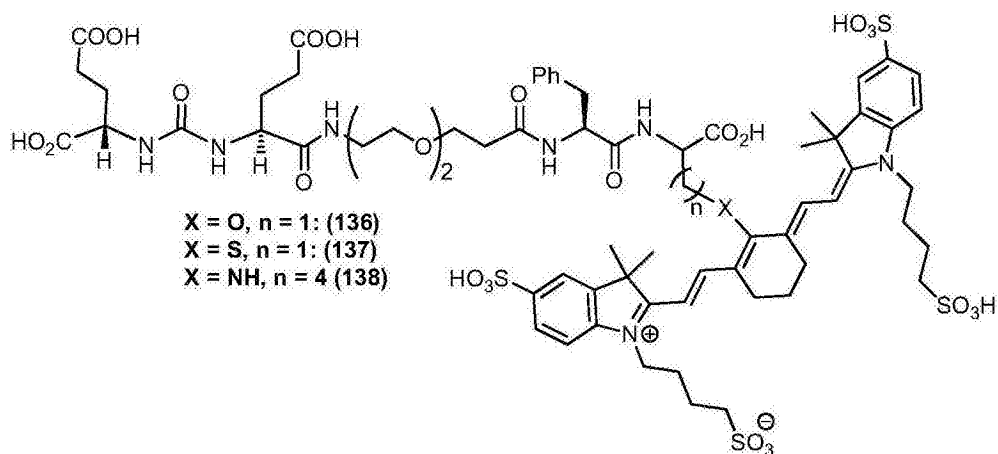
- [0337] R_1 代表氢或 SO_3H ;
- [0338] R_2 代表氢,或 CH_3 ,或 $\text{C}_3\text{H}_6\text{SO}_3^-$,或 $\text{C}_3\text{H}_6\text{SO}_3\text{H}$ 或 $\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3^-$,或 $\text{C}_4\text{H}_8\text{SO}_3\text{H}$ 或 $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;
- [0339] R_3 和 R_5 各自代表碳,任选地一个或多个共享键,或氧,或硫,或氮
- [0340] R_4 代表碳,具有任选地一个或多个共享键;
- [0341] R_6 代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);
- [0342] R_7 是任选的且当存在时代表给电子芳族取代基团;
- [0343] R_8 是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His、Tyr或其衍生物,和/或阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,和/或阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,和/或芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;
- [0344] R_9 是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,聚乙烯胺连接体,阳离子连接体或其衍生物;
- [0345] R_{10} 代表 CO_2H , PO_3H_2 , SO_3H , $\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$;
- [0346] R_{11} 代表 CO_2H , SO_3H , $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{SO}_3\text{H}$, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$; 和
- [0347] R_{12} 独立地代表氢,甲基, CH_2COOH , CH_2 和可以任选地各自代表共享键的 CH_2 。
- [0348] 本发明额外优选的化合物包括下述:



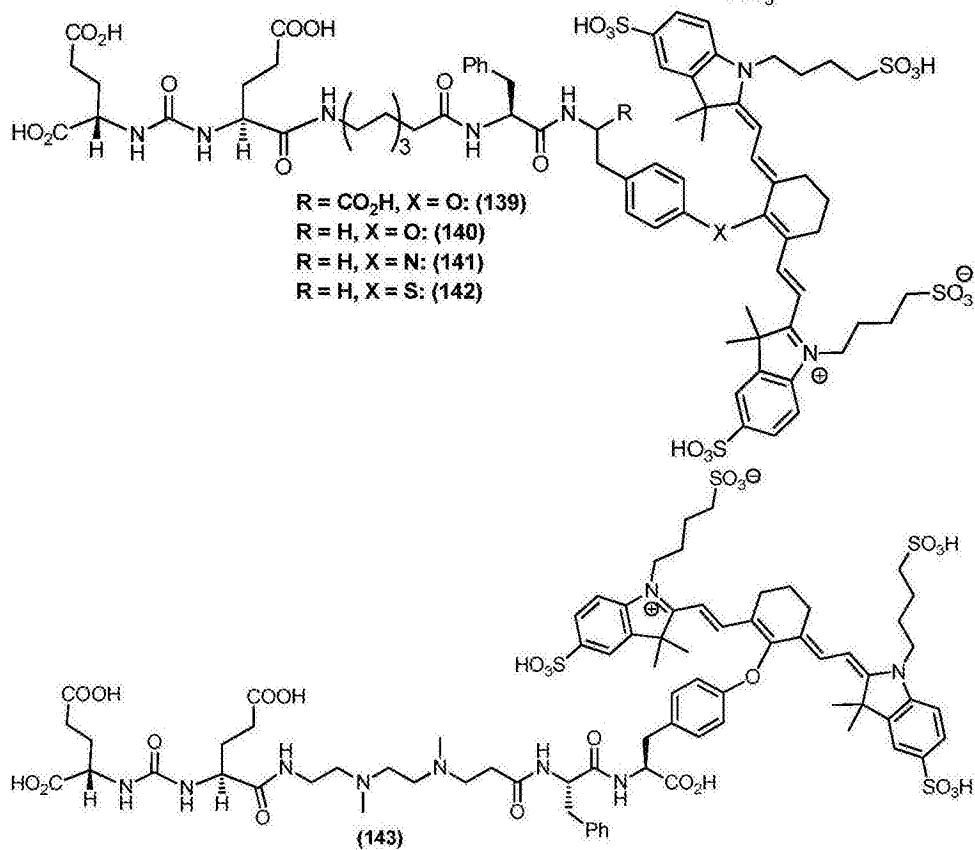


[0350]



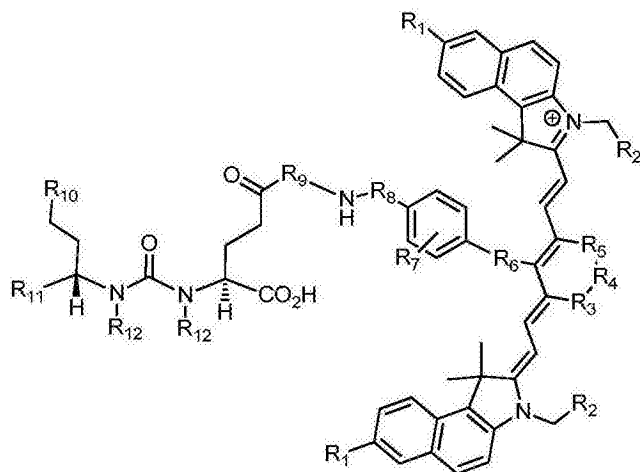


[0351]

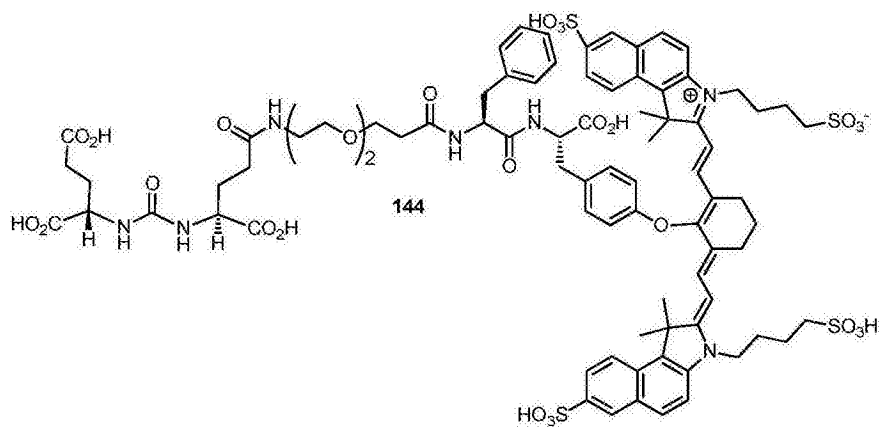


[0352] 本发明额外优选的化合物包括下述：

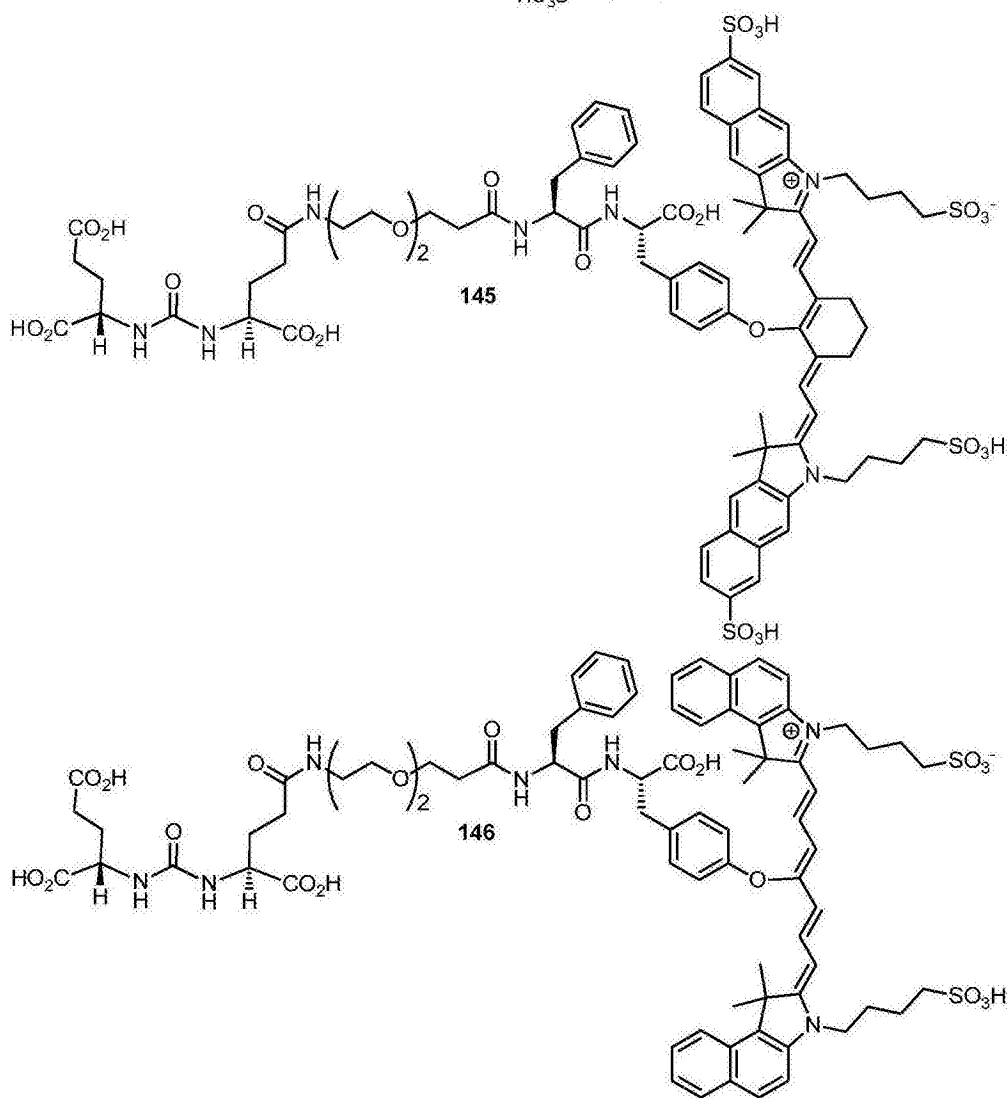
[0353]



- [0354] 或其药学上可接受的盐,或其同位素,其中:
- [0355] R_1 代表氢或 SO_3H ;
- [0356] R_2 代表氢,或 CH_3 ,或 $C_3H_6SO_3^-$,或 $C_3H_6SO_3H$ 或 $C_4H_8SO_3^-$,或 $C_4H_8SO_3H$ 或 $C_3H_6N^+(CH_3)_3$;
- [0357] R_3 和 R_5 各自代表碳,任选地一个或多个共享键,或氧,或硫,或氮
- [0358] R_4 代表碳,具有任选地一个或多个共享键;
- [0359] R_6 代表氮,氧,或硫或无原子(在芳族环与乙烯基环之间的直接C-C键);
- [0360] R_7 是任选的且当存在时代表给电子芳族取代基团;
- [0361] R_8 是任选的且当存在时代表具有芳族氨基酸的连接体,所述芳族氨基酸是比如Phe、Trp、His、Tyr或其衍生物,和/或阳离子氨基酸比如Arg、Lys或其衍生物,和/或阴离子氨基酸比如Asp、Glu或其衍生物,和/或芳族/阳离子/阴离子酸的非天然氨基酸或其衍生物;
- [0362] R_9 是任选的且当存在时代表线性碳链,或聚乙二醇连接体,聚乙烯胺连接体,阳离子连接体或其衍生物;
- [0363] R_{10} 代表 CO_2H , PO_3H_2 , SO_3H , CH_2SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$;
- [0364] R_{11} 代表 CO_2H , SO_3H , $CH_2CONHCH_2SO_3H$, $CH_2CONHCH_2CH_2SO_3H$; 和
- [0365] R_{12} 独立地代表氢,甲基, CH_2COOH , CH_2 和可以任选地各自代表共享键的 CH_2 。
- [0366] 本发明额外优选的化合物包括下述:

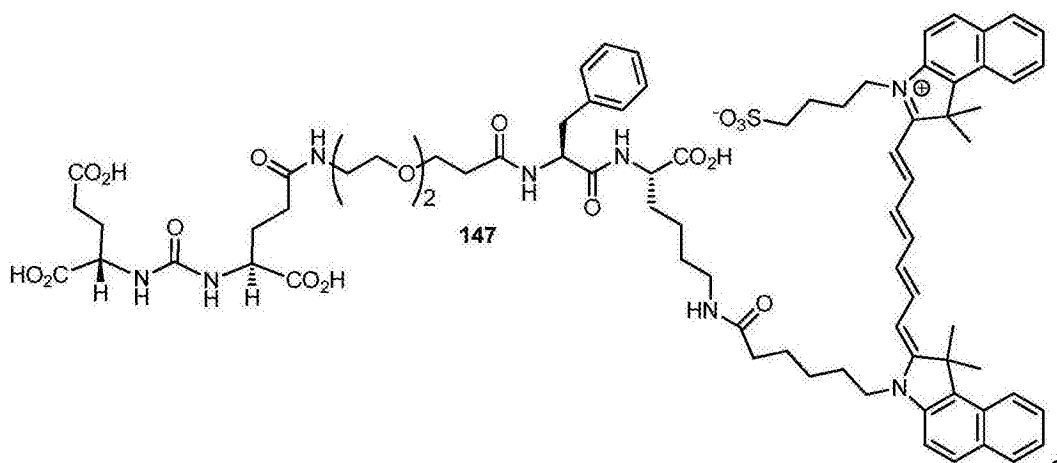


[0367]



和

[0368]



[0369] 在某些实施方式中,本发明化合物具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。在某些实施方式中,本发明化合物具有约600nm至800nm的吸收最大值和发射最大值。

[0370] 在某些实施方式中,在组织细胞中分布之后使本发明化合物发荧光。在某些实施方式中,用近红外波长激发作用化合物使本发明化合物发荧光。在某些实施方式中,本发明化合物具有与PSMA的结合亲和力,其类似DUPA的结合亲和力。在某些实施方式中,本发明化合物高度选择性地靶向肿瘤细胞。

[0371] 在某些实施方式中,将本发明化合物给予有需要的受试者,和在某些实施方式中,给予组合物,其除了化合物之外还包含药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

[0372] 本发明的某些实施方式提供表达PSMA的生物学组织的光学成像方法,所述方法包括:

[0373] (a) 将生物学组织与包含靶向PSMA的NIR染料化合物的组合物接触,

[0374] (b) 留出时间使组合物中的化合物在生物学靶标中分布;

[0375] (c) 用化合物可吸收的波长的激发光光照组织;和

[0376] (d) 检测化合物发出的光学信号。

[0377] 在某些实施方式中,这些方法用于检测与高PSMA表达有关的疾病。在某些实施方式中,还包括从(d)中发出的信号构建图像的步骤。在某些实施方式中,本发明提供前述的方法,其中步骤(a)包括将信号特性可区分的两种或更多种荧光化合物与组织接触,和任选地组织位于受试者中。在某些实施方式中,本发明提供内窥镜,导管,断层摄影系统,手持光学成像系统,手术护目镜,或术内显微镜,用于光照和/或检测方法步骤。

[0378] 在某些实施方式中,本发明的组合物和方法用来治疗癌症。在某些实施方式中,癌症选自前列腺癌,膀胱癌,胰癌,肝癌,肺癌,肾癌,肉瘤,乳腺癌,脑癌,神经内分泌癌,结肠癌,睾丸癌或黑色素瘤。在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的NIR染料化合物用于表达PSMA的细胞的成像。在某些实施方式中,那些细胞选自前列腺细胞,前列腺癌细胞,膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞或黑色素瘤细胞;

[0379] 本发明也提供靶向生物学样品中的细胞类型的方法,包括:a) 将生物学样品与靶向PSMA的NIR染料化合物接触一段时间,其条件使得化合物结合至靶标细胞类型的至少一种细胞;和b) 光学检测化合物在生物学样品中存在或不存在,其中化合物在检测步骤c) 中存在指出靶标细胞类型存在于生物学样品中。在某些实施方式中,本发明提供表达PSMA的

细胞的光学检测方法,包括给药本发明的PSMA-靶向NIR染料化合物,使得所述化合物受激发光源作用,和检测来自化合物的荧光。在某些实施方式中,激发光源是近红外波长光。在某些实施方式中,激发光波长的范围是约600至1000纳米。在某些实施方式中,激发光波长的范围是约670至850纳米。

[0380] 在某些实施方式中,本发明提供对受试者进行图像引导式手术的方法,包括:

[0381] a) 给予包含PSMA-靶向NIR染料化合物的组合物,其条件和时间足以使得化合物在给定手术位点聚集;

[0382] b) 用红外光光照化合物使得化合物可视化;和

[0383] c) 对受红外光激发而发荧光区域进行手术切除。

[0384] 在本发明方法的某些实施方式中,红外光波长的范围是约600至1000纳米。在本发明方法的某些实施方式中,所用红外光波长的范围是约670至850纳米。

[0385] 本发明的某些实施方式提供在受试者中诊断疾病的方法,包括:

[0386] a) 给予有需要的受试者诊断量的靶向PSMA的NIR染料化合物一段时间,其条件使得化合物结合至至少一种表达PSMA的细胞或组织(PSMA也在绝大多数实体肿瘤的新血管系统中表达);

[0387] b) 测量来自生物学样品中存在的化合物的信号;

[0388] c) 将在b)中测量的信号与至少一个对照数据集比较,其中所述至少一个对照数据集包含来自将权利要求1的化合物与不包含靶标细胞类型的生物学样品接触的信号;和

[0389] d) 提供疾病诊断,其中在步骤c)中的比较指出疾病存在。

[0390] 本发明的某些实施方式提供包含PSMA-靶向NIR染料化合物的试剂盒。在某些实施方式中,试剂盒用于表达PSMA的细胞或组织的成像。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是肿瘤细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是非前列腺癌细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是前列腺肿瘤细胞。在某些实施方式中,表达PSMA的细胞是癌细胞。在某些实施方式中,本发明用于转移疾病的检测。在某些实施方式中,本发明化合物用于改善的手术切除和/或改善的预后。在某些实施方式中,本发明方法提供比非NIR缀合的发荧光染料更清晰的手术边缘。在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的NIR染料化合物具有改善的肿瘤背景比。

[0391] 在其它实施方式中,本发明化合物用来成像、诊断或检测非前列腺癌细胞,其选自膀胱癌细胞,胰癌细胞,肝癌细胞,肺癌细胞,肾癌细胞,肉瘤细胞,乳腺癌细胞,脑癌细胞,神经内分泌癌细胞,结肠癌细胞,睾丸癌细胞或黑色素瘤细胞。在其它实施方式中,检测的细胞在皮肤下超过5mm深。在某些实施方式中,检测的组织在皮肤下超过5mm深。在其它实施方式中,检测的肿瘤在皮肤下超过5mm深。在某些实施方式中,检测的细胞在受试者皮肤下超过6mm,7mm,8mm,9mm或10mm。在本发明某些实施方式中,可检测的染料探针位于可见光谱以外。在某些实施方式中,使用大于可见光谱的染料探针。在某些实施方式中,本发明化合物包含对波长650nm至900nm敏感的染料探针。在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的NIR染料化合物具有约650nm至1000nm近红外区的最大光吸收波长,比如说且在一种实施方式中位于大约800nm。

[0392] 在所提供方法的又一实施方式中,非前列腺癌是膀胱癌,胰癌,肝癌,肺癌,肾癌,肉瘤,乳腺癌,脑癌,神经内分泌癌,结肠癌,睾丸癌或黑色素瘤。

[0393] 在所提供的方法的又一实施方式中,表达PSMA的癌细胞来自肿瘤。在所提供的方法的又一实施方式中,表达PSMA的癌是肿瘤。在某些实施方式中,肿瘤体积是至少 1000mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 1000mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 950mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 900mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 850mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 800mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 750mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 700mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 650mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 600mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 550mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 500mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 450mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 400mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 350mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 300mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 250mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 200mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 150mm^3 。在某些实施方式中,肿瘤体积是小于 100mm^3 。在一种实施方式中,肿瘤体积是至少 75mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 75mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 70mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 65mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 60mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 55mm^3 。在一种实施方式中,肿瘤体积是至少 50mm^3 。在其它实施方式中,肿瘤是小于 50mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 45mm^3 。在其它实施方式中,肿瘤体积是小于 40mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 35mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 30mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 25mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 20mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 15mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 10mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 12mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 9mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 8mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 7mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 6mm^3 。在又一实施方式中,肿瘤体积是小于 5mm^3 。

[0394] 在一种实施方式中,在用本发明靶向PSMA的NIR染料化合物手术切除之前,肿瘤具有至少5mm的长度。在一种实施方式中,这些方法检测小于5mm的肿瘤。在其它实施方式中,本文方法检测小于4mm的肿瘤。在某些实施方式中,本文方法检测小于3mm的肿瘤。在又一实施方式中,肿瘤具有至少6mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少7mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少8mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少9mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少10mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少11mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少12mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少13mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少14mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少15mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少16mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少17mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少18mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少19mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少20mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少21mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少22mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少23mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少24mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少25mm的长度。在又一实施方式中,肿瘤具有至少30mm的长度。

[0395] 在某些实施方式中,本公开涉及缀合至近红外(NIR)染料的前列腺特异性膜抗原(PSMA)靶向化合物,及其治疗和诊断应用的方法。更特别地,本公开提供化合物和方法,用于诊断和治疗与表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的细胞有关的疾病,比如前列腺癌和有关

的疾病。本公开还描述制备和使用化合物的方法和组合物,并入化合物的方法,和并入化合物的试剂盒。已发现,靶向PSMA的化合物比如DUPA或将PSMA-靶向配体经由连接体(L)缀合至NIR染料可以用于前列腺癌和牵涉表达或过表达PSMA的病原细胞群体的有关疾病的成像、诊断和/或治疗。PSMA是细胞表面蛋白质,其内化过程类似于对细胞表面受体比如维生素受体观察到的内吞作用。PSMA也在绝大多数实体肿瘤的新脉管系统中表达。相应地已发现,包括具有预先确定的长度、和/或预先确定的直径、和/或沿着其长度预先选择的官能团的连接体的某些缀合物可以用来治疗、成像和/或诊断所述疾病。

[0396] 在一个示例性实施方式中,连接体L可以是可释放的或非可释放的连接体。在一个方面,连接体L的长度是至少约7个原子。在一个变型中,连接体L的长度是至少约10个原子。在一个变型中,连接体L的长度是至少约14个原子。在又一变型中,连接体L的长度是约7至约22个、约7至约24个、或约7至约20个原子。在又一变型中,连接体L的长度是约14至约31个、约14至约24个、或约14至约20个原子。

[0397] 在备择方面,连接体L的长度是至少约10埃(A)。

[0398] 在一个变型中,连接体L的长度是至少约15A。在又一变型中,连接体L的长度是至少约20A。在又一变型中,连接体L的长度范围是约10A至约30A。

[0399] 在备择方面,在连接至结合配体B的一端,连接体L长度的至少一部分的直径是约5A或更低。在一个变型中,在连接至结合配体B的一端,连接体L长度的至少一部分的直径是约4A或更低,或约3A或更低。应认识到,包括约5A或更低、约4A或更低、或约3A或更低的直径要求的示例性实施方式可以包括对连接体的预先确定长度的所述要求,由此限定连接体的圆柱状部分。示例性地,在又一变型中,连接体包括在连接至结合配体的一端的圆柱形部分,其长度为至少约7A而直径为约5A或更低、约4A或更低、或约3A或更低。

[0400] 在又一实施方式中,连接体L包括一个或多个亲水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括具有亲水侧链的氨基酸比如Ser,Thr,Cys,Arg,Orn,Lys,Asp,Glu,Gin和类似残基。在又一实施方式中,连接体L包括一个或多个疏水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括具有疏水侧链的氨基酸比如Val,Leu,Phe,Tyr,Met和类似残基。应理解,前述的实施方式和方面可以包括单独或相互组合的连接体L。例如,本文预期和描述连接体L,其长度为至少约7个原子或更低而直径为约**5Å**、约**4Å**或更低、或约**3Å**或更低,并且包括一个或多个亲水连接体,其能够与PSMA的一个或多个残基相互作用,包括Val,Leu,Phe,Tyr,Met和类似残基。

[0401] 在又一实施方式中,连接体的一端是未支化的和包含碳,氧,氮和硫原子的链。在一种实施方式中,碳,氧,氮和硫原子的线性链长度为至少5个原子。在一个变型中,线性链长度为至少7个原子或至少10个原子。在又一实施方式中,碳、氧、氮和硫原子的链是未取代的。在一个变型中,碳、氧、氮和硫原子链的一部分是用二价片段环化的。例如,包含二肽Phe-Phe的连接体(L)可以通过用亚乙基片段或其取代的变型环化两个氮而包括哌嗪-1,4-二基结构。

[0402] 在又一实施方式中,本文描述药物组合物,其中药物组合物包括本文描述的缀合物,其量有效治疗疾病和疾病状态、诊断疾病或疾病状态、和/或成像组织和/或细胞,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。示例性地,药物组合物也包括一种或多种载体,稀释剂和/或赋形剂。

[0403] 在又一实施方式中,本文描述用于治疗疾病和疾病状态、诊断疾病或疾病状态、和/或成像组织和/或细胞的方法,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。所述方法包括给予本文描述的缀合物、和/或含有本文描述的缀合物的药物组合物的步骤,其量有效地治疗疾病和疾病状态,诊断疾病或疾病状态,和/或成像组织和/或细胞,它们与表达或过表达PSMA的细胞病原群体有关。

[0404] 在某些实施方式中,本文显示所述靶向PSMA的NIR染料缀合物结合至组织内表达PSMA的肿瘤细胞。此外,荧光强度大于对其它近红外染料预先观察到的强度,所述染料使得叶酸靶向叶酸受体阳性肿瘤。该增加的强度使得可以靶向且清楚地鉴定所监测组织的生物学样品的较小区域(例如较小肿瘤)。此外,本发明化合物增加的强度提供额外优势,能够给予更低剂量/数量的染料并仍产生有意义的结果。从而,本发明化合物导致更经济的成像技术。此外,额外优势是较低剂量的本公开化合物与常规成像化合物相比使得毒性和与向身体给予外来物质随之而来的其它副作用最小化。

[0405] 另外,小肿瘤的鉴定将导致更精确和更有效的阴性边缘原发肿瘤切除,以及精确鉴定和除去潜藏转移癌细胞的淋巴结和鉴定卫星疾病。这些优势各自与治疗患者的更佳临床结果正相关。

[0406] 在特别的实施方式中预期的是,除了酪氨酸和酪氨酸衍生物之外,也可以使用具有半胱氨酸或半胱氨酸衍生物的近红外染料的靶向PSMA的缀合物。另外预期的是,将靶向PSMA的部分直接连接至染料或者通过胺连接体将染料连接至DUPA或靶向PSMA的配体也产生来自缀合物的荧光强度的损失,而酪氨酸或酪氨酸衍生物作为连接部分存在则增强缀合化合物的荧光,其原因是本发明的基于酪氨酸的化合物不需要额外的胺连接体来缀合S0456并且还是因为通过酪氨酸的苯酚部分缀合导致增强的荧光。

[0407] 化合物能够与荧光介导的分子断层摄影成像系统一起使用,比如设计用来检测深部组织近红外荧光活化的那些。化合物提供分子和组织特异性,产生高荧光对比,更亮的荧光信号,和降低背景自体荧光,允许体内患病组织(例如癌)的改善早期检测和分子靶标评价。化合物能够用于深部组织三维成像,靶向手术,和定量生物学样品中靶标细胞类型的量的方法。

[0408] 在特别的实施方式中,连接体小于10个原子。在其它实施方式中,连接体小于20个原子。在某些实施方式中,连接体小于30个原子。在某些实施方式中,连接体通过分开PSMA-靶向化合物和NIR染料的原子数来限定。在又一实施方式中,连接体具有至少7个原子的链长。在某些实施方式中,连接体具有至少14个原子的链长。在又一实施方式中,连接体具有范围是7个原子至20个原子的链长。在又一实施方式中,连接体具有范围是14个原子至24个原子的链长。

[0409] 适用于本发明的PSMA-靶向化合物能够例如基于下述标准选择,其不期望是排它的:结合至表达PSMA的活细胞;结合至表达PSMA的新脉管系统;结合至PSMA的高亲和力;结合至PSMA上的独特表位(消除组合使用时互补活性的抗体会竞争结合至相同表位的可能性);表达PSMA的细胞的调理作用;在效应细胞存在下生长抑制的介导、噬菌作用和/或杀死表达PSMA的细胞;NAALADase、叶酸水解酶、二肽基肽酶IV和/或 γ -谷氨酰基水解酶活性的调节(抑制或增强);不存在效应细胞时的生长抑制、细胞循环停止和/或细胞毒性;PSMA的内化;结合至PSMA上的构象表位;与不表达PSMA的细胞或组织的最低交叉反应性;和优先结

合至二聚体形式的PSMA而不是单体形式的PSMA。

[0410] 本文提供的PSMA-靶向化合物,PSMA抗体及其抗原-结合片段一般符合前述标准中的一个或多个和在某些情况下超过五个。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合前述标准中的六个或更多。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合前述标准中的七个或更多。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合前述标准中的八个或更多。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合前述标准中的九个或更多。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合前述标准中的十个或更多。在某些实施方式中,PSMA-靶向本发明化合物符合全部前述标准。

[0411] 能够用本发明靶向PSMA的化合物(例如靶向PSMA的NIR染料缀合物)成像的肿瘤实例包括表达PSMA的任何肿瘤例如前列腺,膀胱,胰,肺,结肠,肾,黑色素瘤和肉瘤。表达PSMA的肿瘤包括表达PSMA的新血管系统的肿瘤。

[0412] 在某些实施方式中,靶向PSMA的分子结合至PSMA并且随细胞上表达的PSMA内化。从而,包含的PSMA配体缀合物随细胞上表达的PSMA内化。该内化发生的机理并非实施本发明的关键。

[0413] 在某些实施方式中,PSMA靶向化合物结合至PSMA分子细胞外区域内的构象表位。在其它实施方式中,PSMA-靶向化合物结合至PSMA上的二聚体-特异性表位。一般地,结合至二聚体-特异性表位的化合物优先结合PSMA二聚体而不是PSMA单体。在本发明的某些实施方式中,PSMA-靶向化合物优先结合至PSMA二聚体。在本发明的某些实施方式中,PSMA-靶向化合物具有对单体PSMA蛋白质的低亲和力。

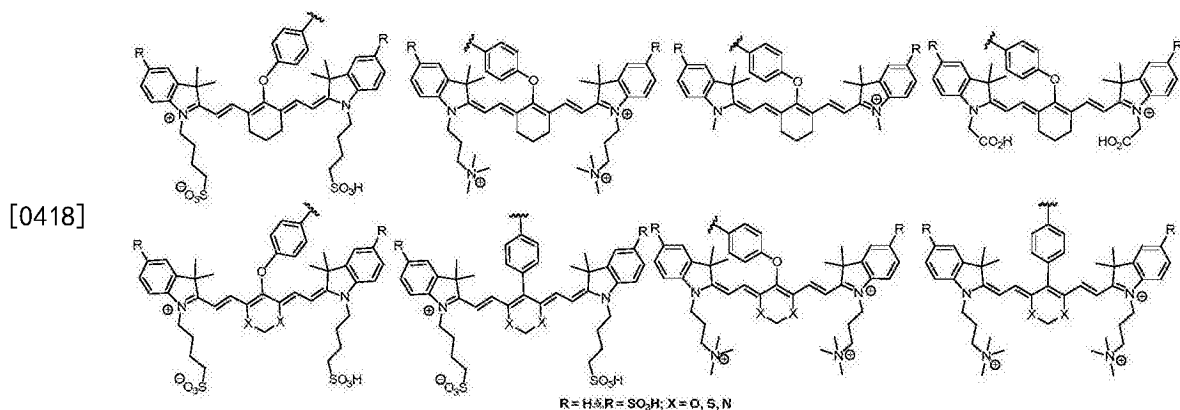
[0414] 在某些实施方式中,PSMA-靶向化合物是配体。在某些实施方式中,PSMA-靶向化合物是2-[3-(1,3-二羧基丙基)脲基]戊二酸(DUPA)。在某些实施方式中,PSMA-靶向化合物是DUPA或DUPA的衍生物,配体,抑制剂或激动剂,其结合至表达PSMA的活细胞。

[0415] 本发明的PSMA-靶向NIR染料产生肿瘤:背景信号比,其高于缀合至非NIR染料或非靶向NIR染料的PSMA-靶向化合物的肿瘤:背景信号比。在某些实施方式中,改善是10倍。在某些实施方式中,肿瘤:背景信号比是至少4倍的改善。在某些实施方式中,肿瘤背景比增加至少1.5倍。在某些实施方式中,靶向PSMA的NIR染料的背景信号是靶向PSMA的化合物的背景信号的一半,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的一半,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的一半,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的三分之一,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的三分之一,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的四分之一,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向

PSMA的化合物的背景信号的四分之一,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的五分之一,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的五分之一,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的八分之一,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的八分之一,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的十分之一,所述化合物缀合至对波长小于600nm的光有反应性的荧光染料。在本发明的某些实施方式中,对活细胞使用靶向PSMA的NIR染料的方法产生背景信号,其小于靶向PSMA的化合物的背景信号的十分之一,所述化合物缀合至对波长小于500nm的光有反应性的荧光染料。

[0416] 在某些实施方式中,PSMA-靶向化合物是特异性结合PSMA的小分子配体。所述小分子配体可以结合至天然构象PSMA的酶位点。另外,所述小分子配体可以具有PSMA抗体配体特征中的任何一种或多种。

[0417] 本公开也提供合成氨基酸联接基团的方法,其缀合至PSMA-靶向化合物,用于表达PSMA的细胞、组织或肿瘤的靶向成像。在某些实施方式中,本公开涉及化合物及其盐衍生物,其包含PSMA-靶向化合物、联接基团和NIR染料。在某些实施方式中,联接基团能够是氨基酸,异构体,衍生物,或其外消旋混合物。在某些方面,染料选自LS288,IR800,SP054,S0121,KODAK,S2076,S0456和/或染料选自:



[0419] 在某些方面,本公开提供将氨基酸联接基团缀合至NIR染料的方法,其中氨基酸能够是酪氨酸,丝氨酸,苏氨酸,赖氨酸,精氨酸,天冬酰胺,谷氨酰胺,半胱氨酸,硒代半胱氨酸,及其异构体和衍生物。在某些实施方式中,含有-OH、-NH₂或-SH官能团的氨基酸、其异构体或衍生物在加入少许摩尔过量的荧光染料的情况下产生荧光基团与氨基酸、其异构体或衍生物的缀合物。在其它实施方式中,含有-OH官能团的氨基酸、其异构体或衍生物在合成时与染料产生醚键,其增进化合物的亮度和检测。在某些实施方式中,本公开涉及将氨基酸联接基团与NIR染料缀合,其中含有-SH、-SeH、-PoH或-TeH官能团的氨基酸、其异构体或衍

生物在合成时与染料产生C-S、C-Se、C-Po或C-Te键。在某些方面,本公开涉及将氨基酸联接基团缀合至染料,其具有约500nm至约900nm的吸收最大值和发射最大值。在其它方面,将氨基酸联接基团缀合至荧光染料,其具有约600nm至约800nm的吸收最大值和发射最大值。

[0420] 在额外的实施方式中,本公开提供将氨基酸联接基团缀合至PSMA配体的方法,其中氨基酸联接基团是酪氨酸,丝氨酸,苏氨酸,赖氨酸,精氨酸,天冬酰胺,谷氨酰胺,半胱氨酸,硒代半胱氨酸,其异构体或衍生物,并且通过二肽键缀合至叶酸。在又一方面,本公开提供将联接基团与叶酸配体缀合的方法,其中联接基团是酪氨酸,丝氨酸,苏氨酸,赖氨酸,精氨酸,天冬酰胺,谷氨酰胺,半胱氨酸,硒代半胱氨酸,其异构体或衍生物。在其它实施方式中,本公开涉及将蝶酰基配体缀合至氨基酸联接基团的方法,其中联接基团是酪氨酸,丝氨酸,苏氨酸,赖氨酸,精氨酸,天冬酰胺,谷氨酰胺,半胱氨酸,硒代半胱氨酸,其异构体或衍生物。在某些方面,联接基团的羧酸结合至任何氨基酸的 α 碳,于是增加化合物对靶向受体的特异性。在某些实施方式中,连接体的电荷贡献化合物的特异性,其中化合物与靶向受体的观察结合亲和力是至少15nM。

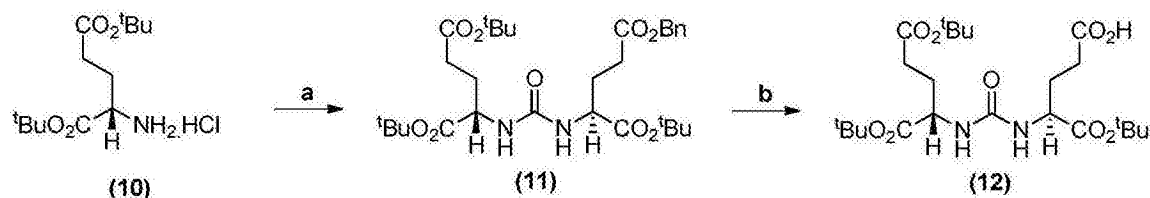
[0421] 在其它实施方式中,本公开涉及名为DUPA-EAOA-Tyr-S0456的化合物(其中EAOA是8-氨基辛酸)的用途,其用于图像引导式手术,肿瘤成像,前列腺成像,表达PSMA的组织成像,表达PSMA的肿瘤成像,感染疾病或法医应用。在其它方面,化合物是DUPA-EAOA-Tyr-S0456衍生物,选自DUPA-EAOA-(D) Tyr-S0456, DUPA-EAOA-高Tyr-S0456, DUPA-EAOA- β -高Tyr-S0456, DUPA-EAOA-(NMe)-Tyr-S0456, DUPA-EAOA-Tyr(OMe)-S0456, DUPA-EAOA-Tyr(Obn)-S0456, DUPA-EAOA-NHNH-Tyr-OAc-S0456, 其盐和衍生物。

[0422] 在某些实施方式中,本发明靶向PSMA的化合物是PSMA的小分子配体。

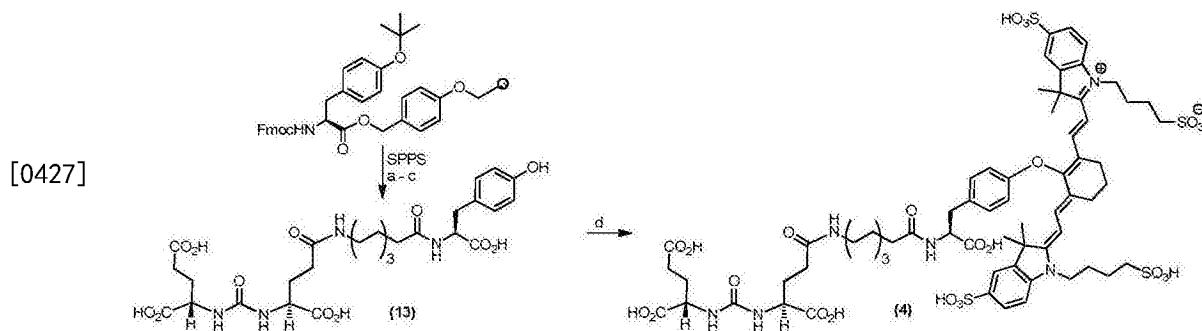
[0423] 靶向PSMA的NIR染料缀合物及其合成

[0424] 下述方案显示本发明靶向PSMA的NIR染料缀合物的合成。

[0425]



[0426] 方案1: 试剂和条件: (a) (i) 三光气, TEA/DCM, -78°C ; (ii) H-L-Glu(Obn)-O^tBu • HCl; (b) H₂; Pd-C/DCM

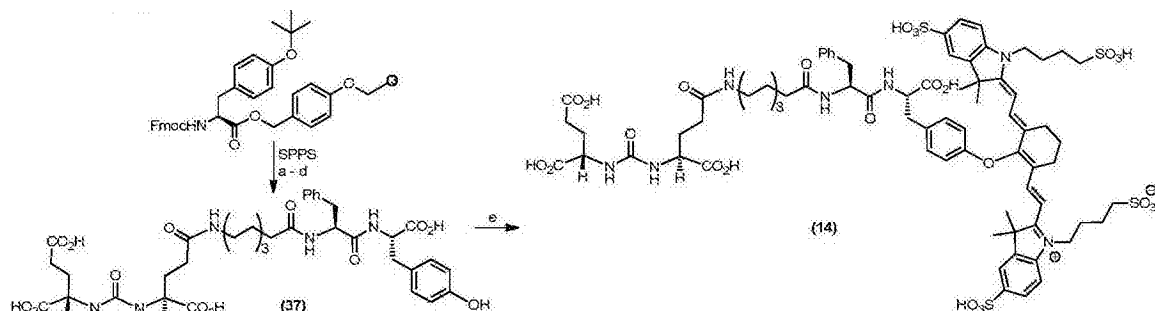


[0428] 方案2: 试剂和条件: (a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2h; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) 12, HATU, DMF/DIPEA, 2h;

c) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1h; (d) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

[0429] (a)

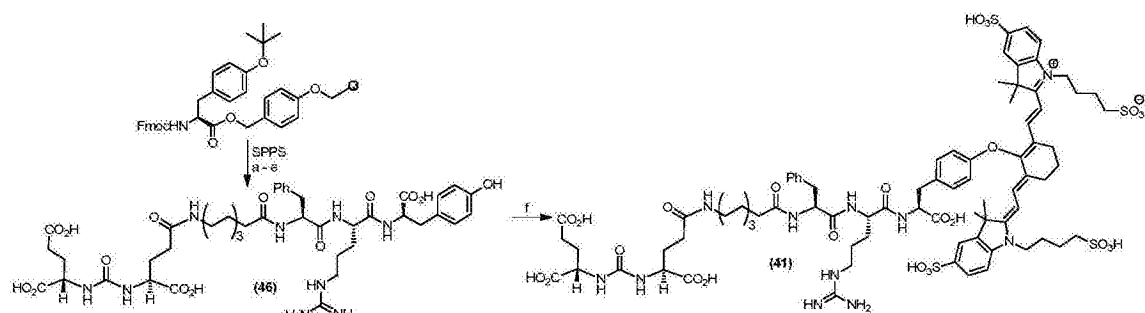
[0430]



[0431] 方案3: 试剂和条件: (a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10min; (ii) Fmoc-Phe-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (c) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) 12, HATU, DMF/DIPEA, 2h; (d) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时; (e) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

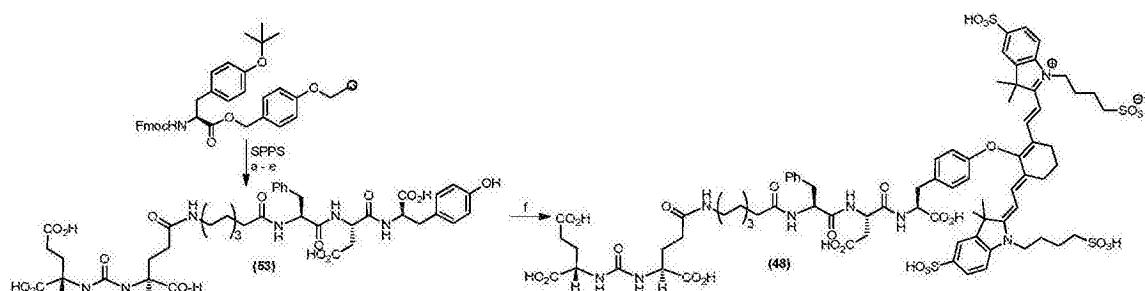
[0432] (a)

[0433]



[0434] 方案4: 试剂和条件: (a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Arg (Pbf) -OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Phe-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (c) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (d) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; 12, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (e) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时; (f) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

[0435]



[0436] 方案5: 试剂和条件: (a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Asp (O^tBu) -

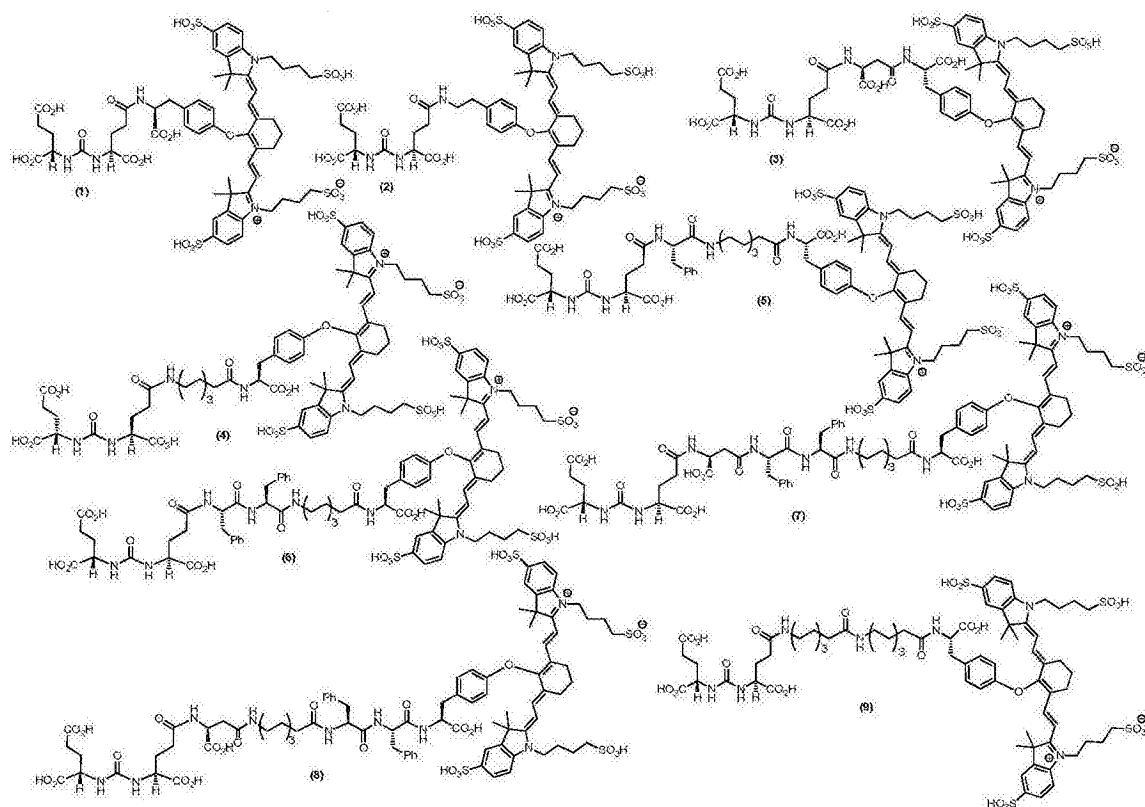
OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Phe-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (c) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (d) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; 12, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (e) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时; (f) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

[0437] 下述实施例仅出于示例本公开的具体实施方式的意图提供, 并非意在限制所附权利要求的范围。如本文讨论, 所公开化合物和方法的特定特征能够以各种方式修饰, 其并非它们提供的可操作性或优势所必需。例如, 化合物能够掺入各种氨基酸和氨基酸衍生物以及靶向配体, 其取决于化合物所用于的特定用途。本领域技术人员将理解, 所述修饰属于所附权利要求范围以内。

实施例

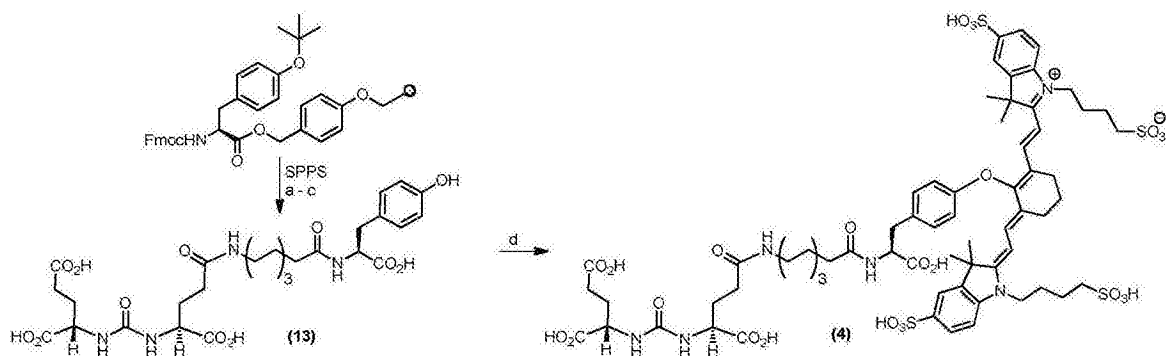
[0438] 实施例(1): 靶向PSMA的NIR染料缀合物的临床前评价, 其具有在配体与NIR染料之间随机变化的连接体/间隔物长度

[0439]



[0440] 方案1: 试剂和条件: (a) (i) 三光气, TEA/DCM, -78°C; (ii) H-L-Glu(OBn)-O^tBu • HCl; (b) H₂; Pd-C/DCM

[0441]



[0442] 方案2: 试剂和条件: (a) (i) 20% 哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2h; b) (i) 20% 哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) 12, HATU, DMF/DIPEA, 2h; c) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1h; (d) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100℃, 15分钟。

[0443] (a) 体外研究。

[0444] 图2显示靶向PSMA的DUPA-FITC (荧光素异硫氰酸盐/酯) 缀合物 (14) 的结构及其在培养物中对PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞和对PSMA-阴性A549人类肺泡基底上皮细胞的结合亲和力 (K_D) 和特异性。将DUPA-FITC溶于RPMI培养基DUPA-FITC溶于RPMI培养基以指出浓度加至RPMI培养基中的22Rv1或A549细胞, 在37℃温育1小时。然后除去培养基, 用新鲜培养基洗涤 (3x), 并用PBS (磷酸缓冲盐水) 替换。样品用流式细胞术分析。误差柱状图代表SD (n=3)。**不结合至A549细胞

[0445] 图3: DUPA-NIR缀合物1-9关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时, 并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基, 用新鲜培养基洗涤 (3x), 并用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0446] 监测DUPA-NIR缀合物的结合亲和力, 数据示于表1。

[0447] 表1: 具有可变长度间隔物的DUPA-NIR缀合物对PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞的结合亲和力。

化合物	在 DIPA 与 NIR 试剂之间的原子数	K _D (nM)
1	3	141.9
2	3	112.7
3	7	9.71
4	12	15.2
5	15	12.2
6	18	35.7
7	22	26.8
8	22	23.2
9	21	17.2

[0449] 体内研究。对于体内分析,监测DIPA-NIR缀合物的组织分布并示于图4。更特别地,用携带人类前列腺肿瘤异种移植物(22Rv1细胞)的小鼠的荧光成像来监测DIPA-NIR缀合物1-9的生物分布。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DIPA-NIR染料缀合物。在给予DIPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。结果示于图4。

[0450] 还测试缀合物以显示肿瘤:组织荧光比。图5显示肿瘤:组织荧光比,源自靶向PSMA的DIPA-NIR缀合物1-9的组织生物分布数据。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域(ROI)中的荧光,然后计算肿瘤:-组织的荧光。

[0451] 结论:体外结合亲和力数据显示化合物3(7个原子间隔物),4(12个原子间隔物),和5(15个原子间隔物)对PSMA具有很高的亲和力,而化合物1(3个原子间隔物)和2(3个原子间隔物)对PSMA具有低亲和力。上述数据显示,PSMA-靶向NIR染料在DIPA与NIR试剂之间需要7个原子间隔物的最小长度,以具有最佳的有效结合亲和力。

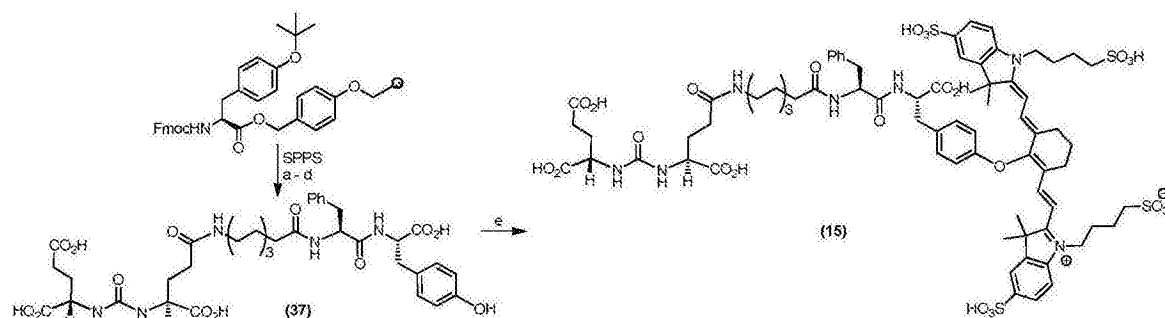
[0452] 化合物4,DIPA-EA0A-Tyr-S0456,(EA0A-8氨基辛酸)显示所评价的全部化合物中的最佳肿瘤背景比(TBR)。化合物4也显示肿瘤中较高的荧光强度。在该实施例中评价的化合物中,化合物6和7显示第二和第三最佳TBR。然而,化合物6和7的肿瘤中荧光强度与化合物3、4和5相比更低。在考虑对表达PSMA的前列腺癌细胞和肿瘤组织的亲和力和特异性、肿瘤内荧光强度、肿瘤背景比等之后所显现的是,化合物4能够视为适宜的临床候选物,但是其它化合物也可以在临床以及在实验条件中提供一些有价值的知识。

[0453] 实施例2:靶向PSMA的NIR缀合物的临床前评价,其具有在配体与NIR染料之间的芳族氨基酸连接体。

[0454] 图6显示靶向PSMA的DIPA-连接体-NIR成像剂的结构,其具有在配体与NIR染料之间的芳族氨基酸连接体。合成方案示于方案3。

[0455] (b) 合成

[0456]



[0457] 方案3:试剂和条件:(a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10min; (ii) Fmoc-Phe-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (c) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) 12, HATU, DMF/DIPEA, 2h; d) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时; (e) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

[0458] 体外研究。图7显示具有芳族氨基酸连接体的DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37°C在100nMDUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0459] 表2显示具有芳族连接体的DUPA-NIR缀合物与PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞的结合亲和力数据。

化合物	K _D (nM)
15	4.9
23	7.5
25	6.3
27	22.2
32	32
33	16
34	34.9
35	23.9
36	13.4

[0460]

[0461] 体内研究。图8显示DUPA-NIR缀合物15和23的组织生物分布分析和肿瘤:组织比,使用携带人类前列腺肿瘤异种移植物 (22Rv1细胞) 的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像 (ex=745nm, em=ICG, 暴露时间=1s)。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域 (ROI) 中的荧光,然后计

算肿瘤:-组织的荧光。

[0462] 图9显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 15,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0463] 图10显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 23,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0464] 图11显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 25,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0465] 图12显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 35,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

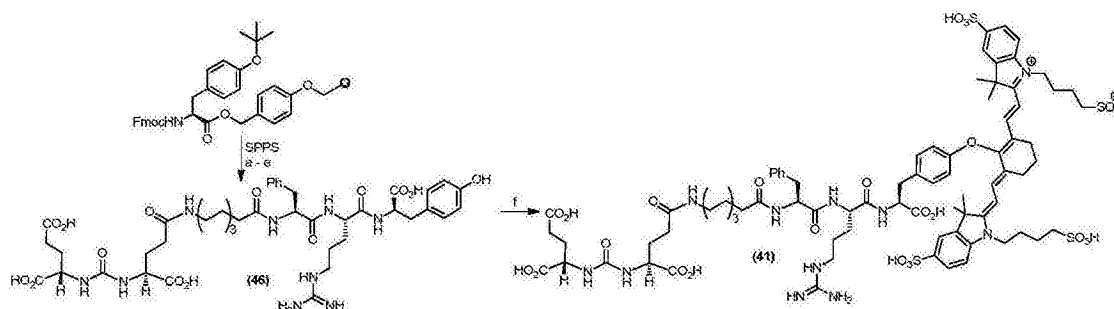
[0466] 图13显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 36,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0467] 结论:这些体外结合亲和力数据显示的是,化合物15、23、25和36对PSMA具有很高的亲和力。此外,化合物15、23、25、35和36显示在给予动物后2-4小时之内很良好的全身成像数据。此外,化合物15和35显示优异的肿瘤背景比(TBR)。在考虑对表达PSMA的前列腺癌细胞和肿瘤组织的亲和力和特异性、肿瘤内荧光强度、肿瘤背景比、易于合成和低成本原料的可获得性之后,化合物15和35能够视为优异的临床候选物,但是其它化合物也可以用作临床和/或实验候选物。

[0468] 实施例(3):靶向PSMA的NIR缀合物的临床前评价,其具有在配体与NIR染料之间的正电荷连接体

[0469] 图14显示靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,其具有在配体与NIR染料之间的正电荷连接体,并且这些试剂的合成方案示于方案4:

[0470]



[0471] 方案4:试剂和条件:(a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟;(ii) Fmoc-Arg(Pbf)-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时;(b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟;(ii) Fmoc-Phe-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时;(c) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟;(ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时;(d) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟;12, HATU, DMF/DIPEA, 2小时;(e) TFA: H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时;(f) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C,

15分钟。

[0472] 图15显示DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37℃在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0473] 体内研究:图16显示DUPA-NIR缀合物39和41的肿瘤:组织比,使用携带人类前列腺肿瘤异种移植 (22Rv1细胞) 的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死,收获所选的组织,组织用IVIS成像仪成像 ($\text{ex}=745\text{nm}$, $\text{em}=\text{ICG}$, 暴露时间=1s)。在成像之后,用体内成像软件测量各组织有关区域 (ROI) 中的荧光,然后计算肿瘤:组织的荧光。

[0474] 图17显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 39,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($\text{ex}=745\text{nm}$, $\text{em}=\text{ICG}$, 暴露时间=1s)。

[0475] 图18显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 40,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($\text{ex}=745\text{nm}$, $\text{em}=\text{ICG}$, 暴露时间=1s)。

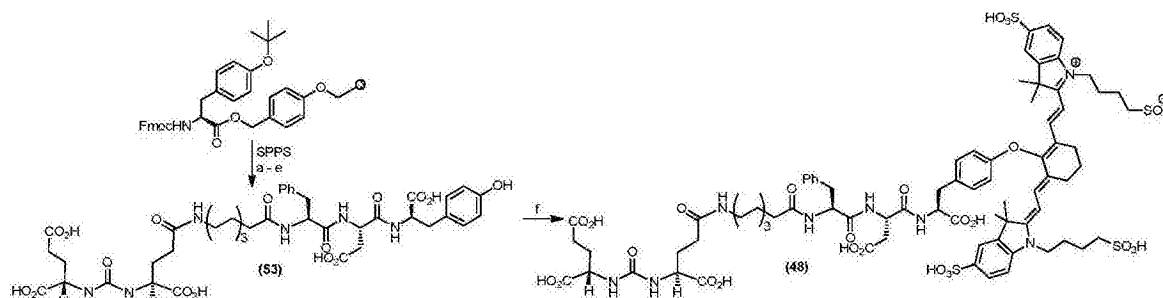
[0476] 图19显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 41,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 ($\text{ex}=745\text{nm}$, $\text{em}=\text{ICG}$, 暴露时间=1s)。

[0477] 结论:这些体外结合亲和力数据显示的是,化合物41对PSMA具有很高的亲和力。化合物39、40和41显示在时间依赖性成像研究中很良好的全身成像和快速皮肤清除。向在配体-8-氨基辛酸连接体与NIR染料之间的连接体加入Arg,增加正电荷数且降低整个分子的总负电荷。尽管具有Arg部分降低分子与PSMA的亲和力,但是这些化合物显示快速皮肤清除。在考虑对表达PSMA的前列腺癌细胞和肿瘤组织的亲和力和特异性、快速皮肤清除之后,化合物41能够视为临床候选物,但是其它化合物也可以用作临床和/或实验候选物。

[0478] 实施例 (4): 靶向PSMA的NIR缀合物的临床前评价,其具有在配体与NIR染料之间的负电荷连接体。

[0479] 图20显示靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,其具有在配体与NIR染料之间的负电荷连接体。合成方案示于方案5。

[0480]



[0481] 方案5: 试剂和条件: (a) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Asp (O^tBu) -OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (b) (i) 20%哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-Phe-OH, HATU,

DMF/DIPEA, 2小时; (c) (i) 20% 哌啶/DMF, r.t., 10分钟; (ii) Fmoc-8-氨基辛酸-OH, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (d) (i) 20% 哌啶/DMF, r.t., 10分钟; 12, HATU, DMF/DIPEA, 2小时; (e) TFA:H₂O:TIPS (95:2.5:2.5), 1小时; (f) (i) H₂O, aq. NaOH/pH=9.5, r.t.; (ii) S0456, H₂O, 100°C, 15分钟。

[0482] 体外研究: 图21: 49和50的DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37°C在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时, 并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基, 用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0483] 体内研究。图22显示DUPA-NIR缀合物49和50的组织生物分布分析和肿瘤: 组织比, 使用携带人类前列腺肿瘤异种移植物 (22Rv1细胞) 的小鼠的荧光成像。经由尾部静脉向带22Rv1肿瘤异种移植物的雄性裸鼠注射DUPA-NIR染料缀合物。在给予DUPA-NIR染料缀合物之后2小时将小鼠安乐死, 收获所选的组织, 组织用IVIS成像仪成像 (ex=745nm, em=ICG, 暴露时间=1s)。在成像之后, 用体内成像软件测量各组织有关区域 (ROI) 中的荧光, 然后计算肿瘤: 组织的荧光。

[0484] 结论: 虽然对PSMA具有低结合亲和力, 化合物49具有很高的肿瘤聚集 (高荧光强度) 和良好的肿瘤背景比。

[0485] 实施例 (5): 靶向PSMA的NIR染料缀合物的临床前评价, 其具有变化电荷的NIR染料分子。

[0486] 图23显示靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构, 其具有可变带电的NIR染料分子。

[0487] 图24: DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC (14) 的相对结合亲和力。在37°C在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时, 并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基, 用新鲜培养基洗涤 (3x), 和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

化合物	K _D (nM)
15	4.9
54	2.6
[0488] 55	7.3
56	3.7
59	60.9
60	5.4

[0489] 图25: 在调节阈值之后, 全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 54, 在不同时间间隔用IVIS成像仪成像 (ex=745nm, em=ICG, 暴露时间=1s)。

[0490] 图26显示在调节阈值之后, 全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的鼠注射20nmol 55, 在不同时间间隔用IVIS成像仪成

像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0491] 图27显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 56,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0492] 图28显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 57,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0493] 图29显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 58,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0494] 图30显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 60,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0495] 结论:这些体外结合亲和力数据显示的是,化合物15、55、56、和60对PSMA具有很高的亲和力。化合物15、54、57和60显示在时间依赖性成像研究中很良好的全身成像和快速皮肤清除。因此,通过从NIR染料除去磺酸基团(SO₃H)而减少负电荷有助于产生快速皮肤清除和快速肿瘤聚集。在考虑对表达PSMA的前列腺癌细胞和肿瘤组织的亲和力和特异性、快速皮肤清除之后,化合物54、57、和60能够视为临床候选物。

[0496] 实施例(6):靶向PSMA的NIR染料缀合物的临床前评价:各种DUPA-NIR缀合物

[0497] 图31:靶向PSMA的DUPA-连接体-NIR成像剂的结构,其具有各种连接体和NIR染料。

[0498] 图32显示DUPA-NIR缀合物关于DUPA-FITC(14)的相对结合亲和力。在37°C在100nM DUPA-FITC存在下将PSMA-阳性22Rv1人类前列腺癌细胞温育1小时,并增加DUPA-NIR缀合物的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试

化合物	K _D (nM)
62	141.4
[0499] 64	318.8
65	983
66	无活性

[0500] 体内研究。图33显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 63,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0501] 图34显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 63,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0502] 图35显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射20nmol 64,在不同时间间隔用IVIS成像仪成

像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0503] 结论:这些体外结合亲和力数据显示的是,化合物62、64、65和66对PSMA具有低亲和力。然而,化合物63和64也显示在时间依赖性成像研究中很良好的全身成像和快速皮肤清除。因此,化合物63和64能够视为特别优选的临床候选物,但是其它化合物也可以用作临床和/或实验候选物。

[0504] 实施例(7):靶向PSMA的NIR染料缀合物的临床前评价:DUPA的备择配体

[0505] 图36显示具有不同配体的靶向PSMA的NIR成像剂的结构。

[0506] 图37显示靶向PSMA的NIR缀合物15关于DUPA-FITC(14)对PSMA-阳性22Rv1和对PSMA-阴性A549细胞的相对结合亲和力。在37°C在100nM DUPA-FITC存在下将癌细胞温育1小时,并增加化合物15的浓度。然后除去培养基,用新鲜培养基洗涤(3x),和用PBS替换。细胞结合的荧光用流式细胞术测试。

[0507] 图38显示在调节阈值之后,全身或半身荧光图像在白光图像上的重叠。向携带22Rv1人类前列腺肿瘤异种移植物的老鼠注射6nmol 15,在不同时间间隔用IVIS成像仪成像(ex=745nm,em=ICG,暴露时间=1s)。

[0508] 结论:虽然已合成DUPA的备择配体,与DUPA相比其对PSMA具有更高的亲和力,但是该实施例显示化合物15对PSMA-阳性22Rv1细胞具有很高的亲和力,但对PSMA-阴性A549细胞则并非如此,这指出化合物15对PSMA是高度特异性的。时间依赖性全身成像研究显示的是,化合物15在老鼠的PSMA阳性肿瘤和肾中聚集,这再次展示化合物15是优异的临床候选物。

靶向 PSMA 的 DUPA-连接体-NIR 成像剂的结构, 具有可变长度连接体
(a)DUPA-连接体-NIR 染料缀合物

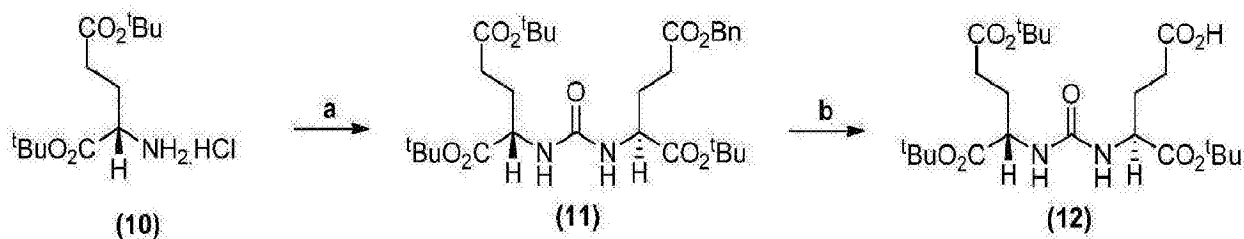
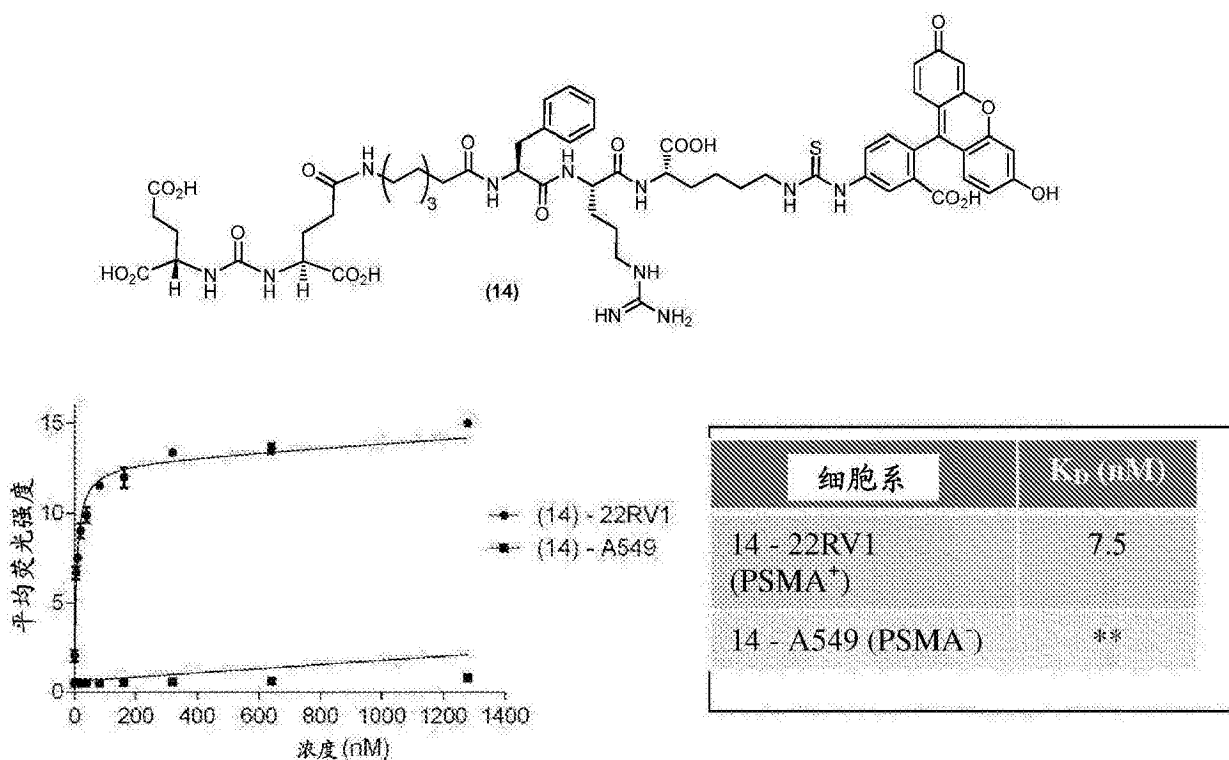


图1



靶向 PSMA 的 DUPA-FITC (荧光素异硫氰酸盐/酯)缀合物(14)的结构及其在培养物中对 PSMA-阳性 22Rv1 人类前列腺癌细胞和对 PSMA-阴性 A549 人类肺泡基底上皮细胞的结合亲和力(K_D)和特异性。将溶于 RPMI 培养基的 DUPA-FITC 以指出浓度加至 RPMI 培养基中的 22Rv1 或 A549 细胞, 在 37°C 温育 1 小时。然后除去培养基, 用新鲜培养基洗涤(3x), 和用 PBS(磷酸缓冲盐水)替换。样品用流式细胞术分析。误差柱状图代表 SD ($n=3$)。**并未结合至 A549 细胞。

图2

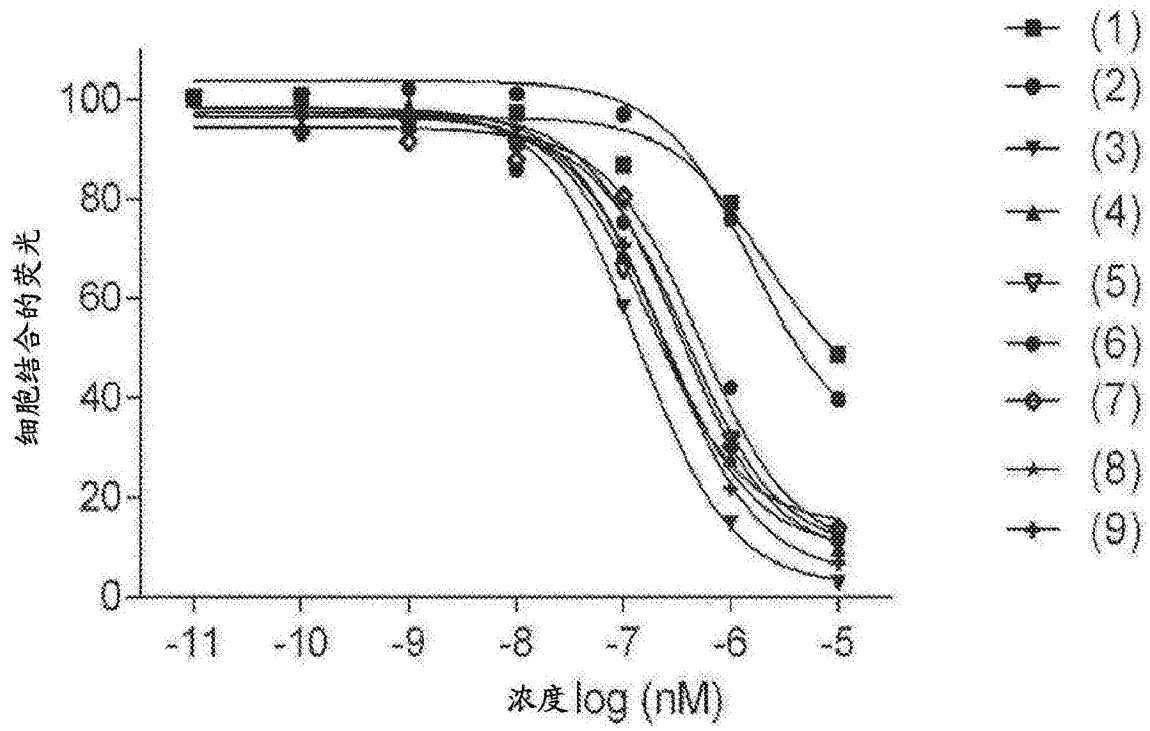


图3

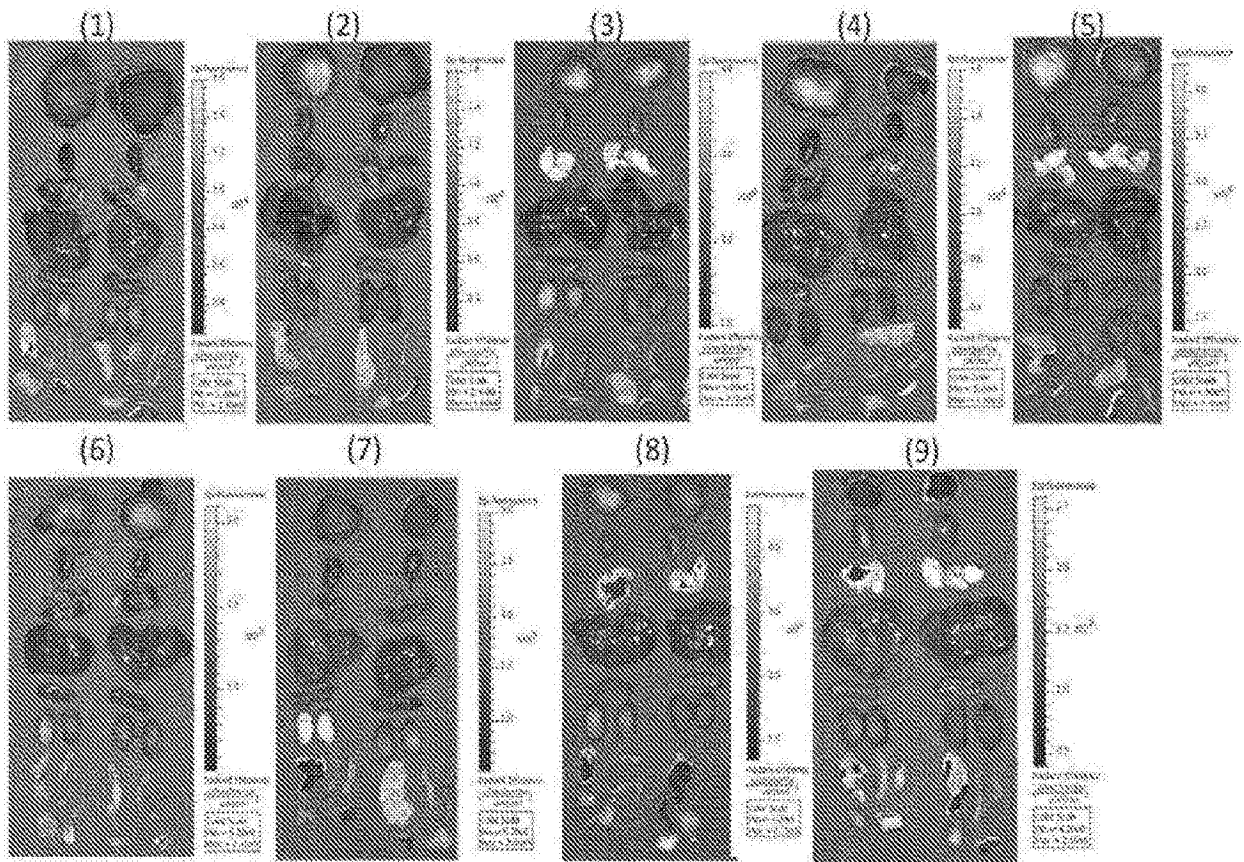


图4

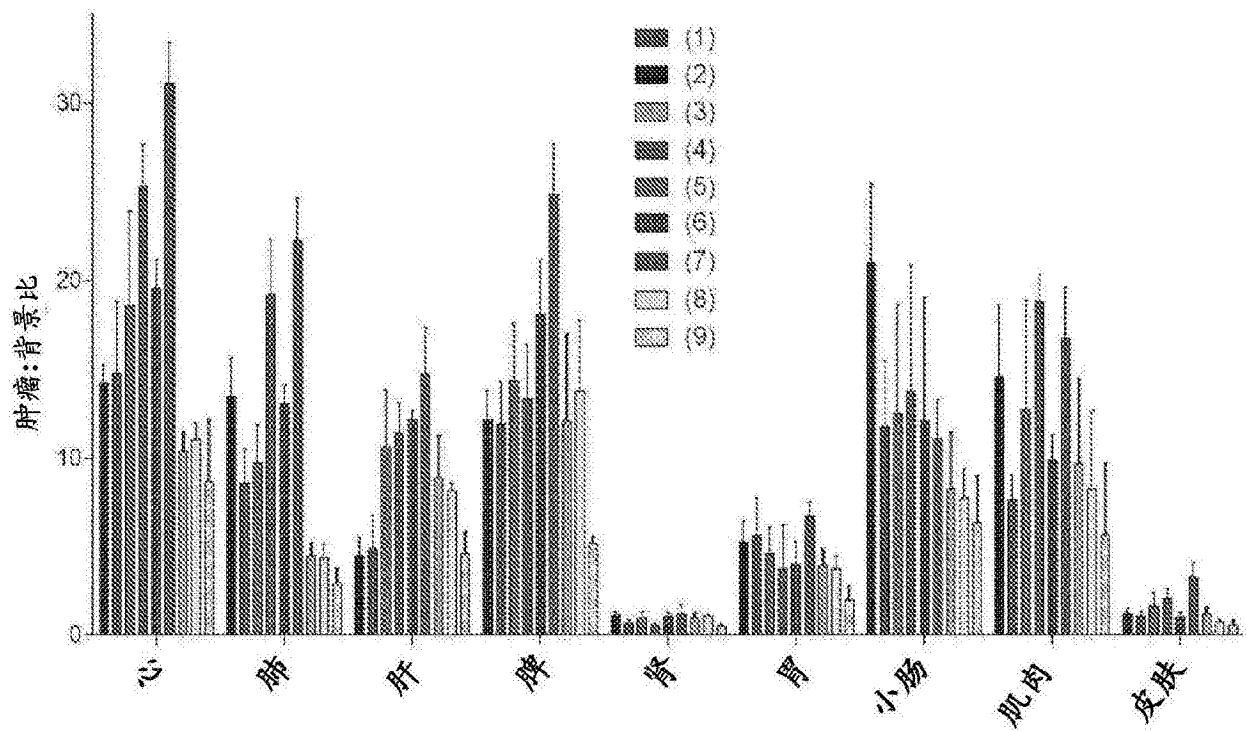


图5

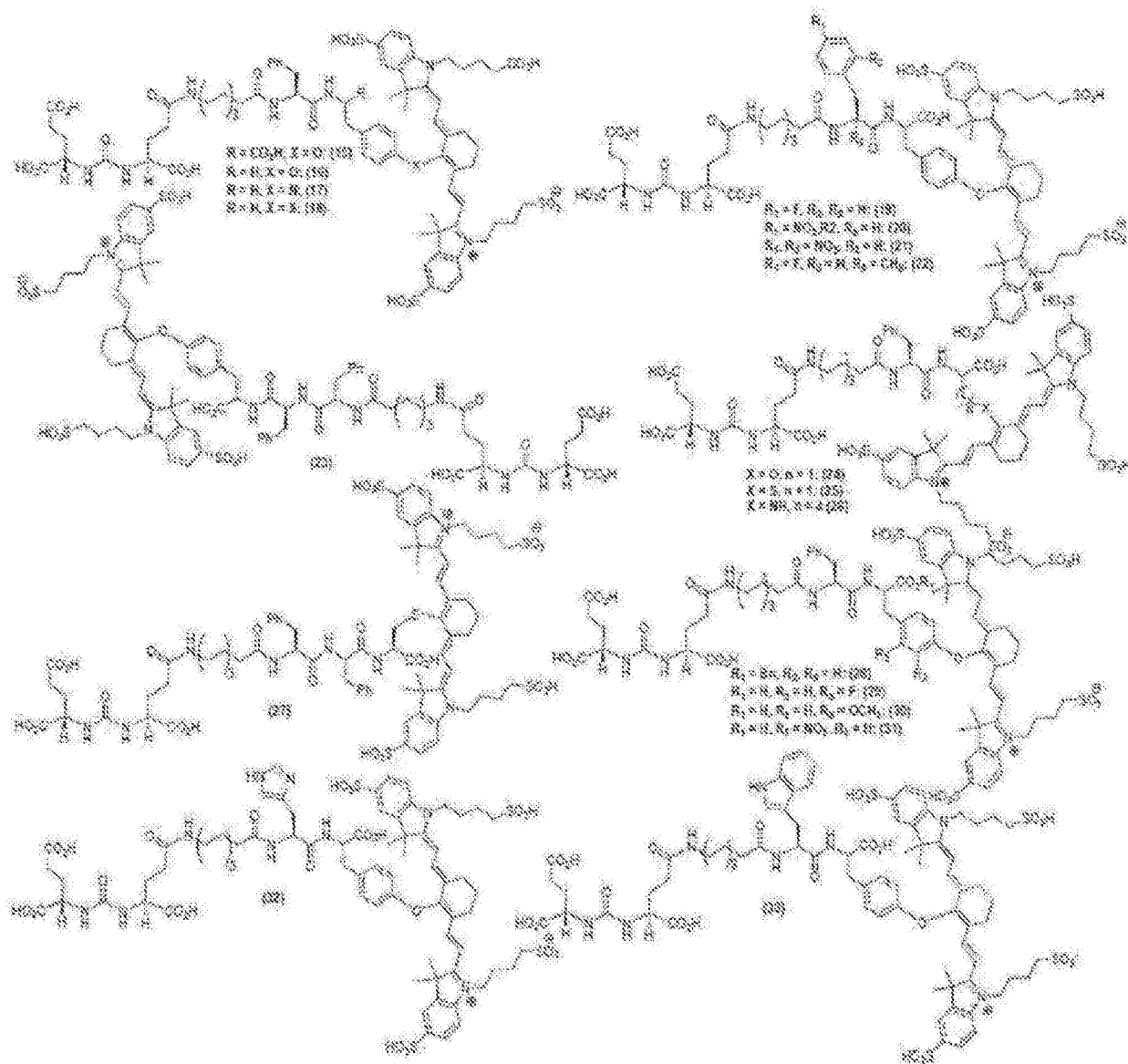


图6

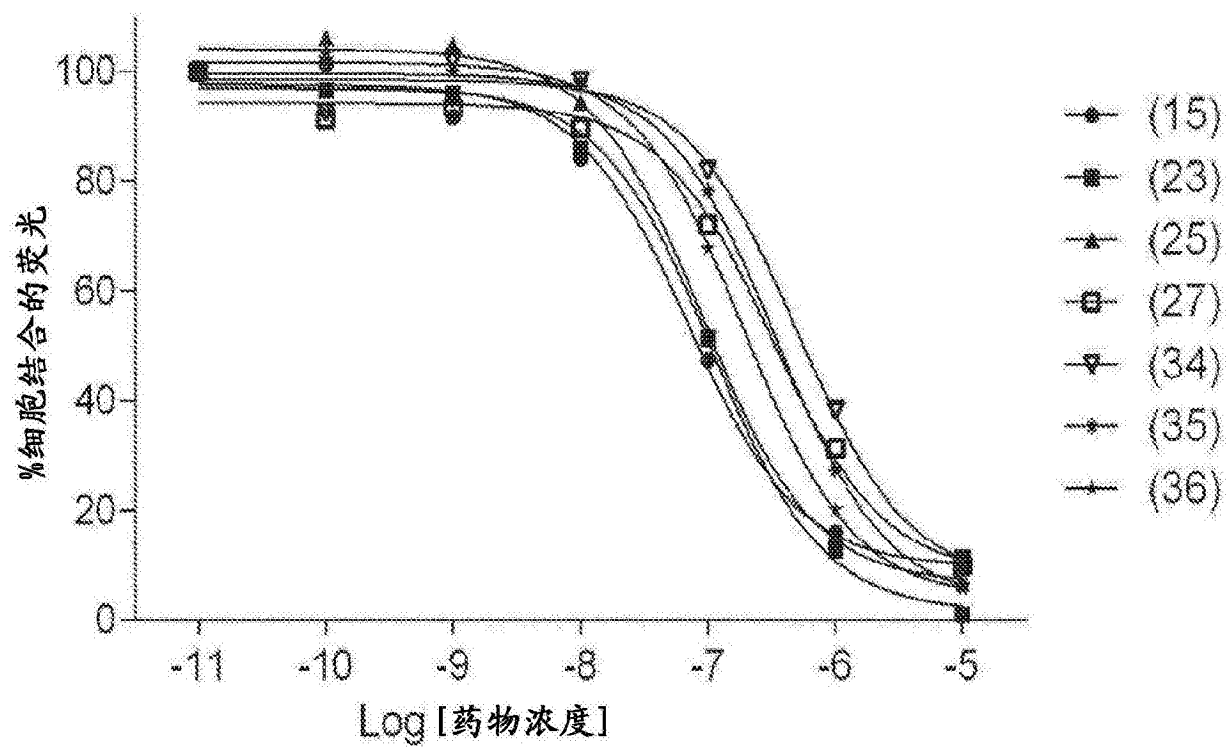
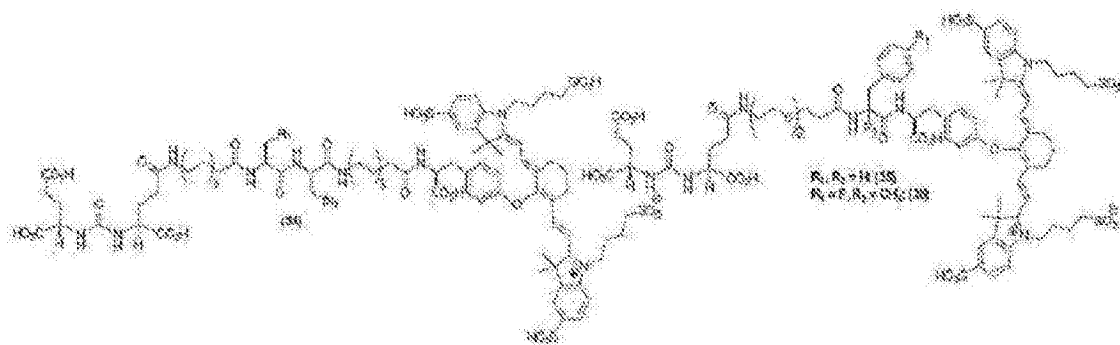


图7

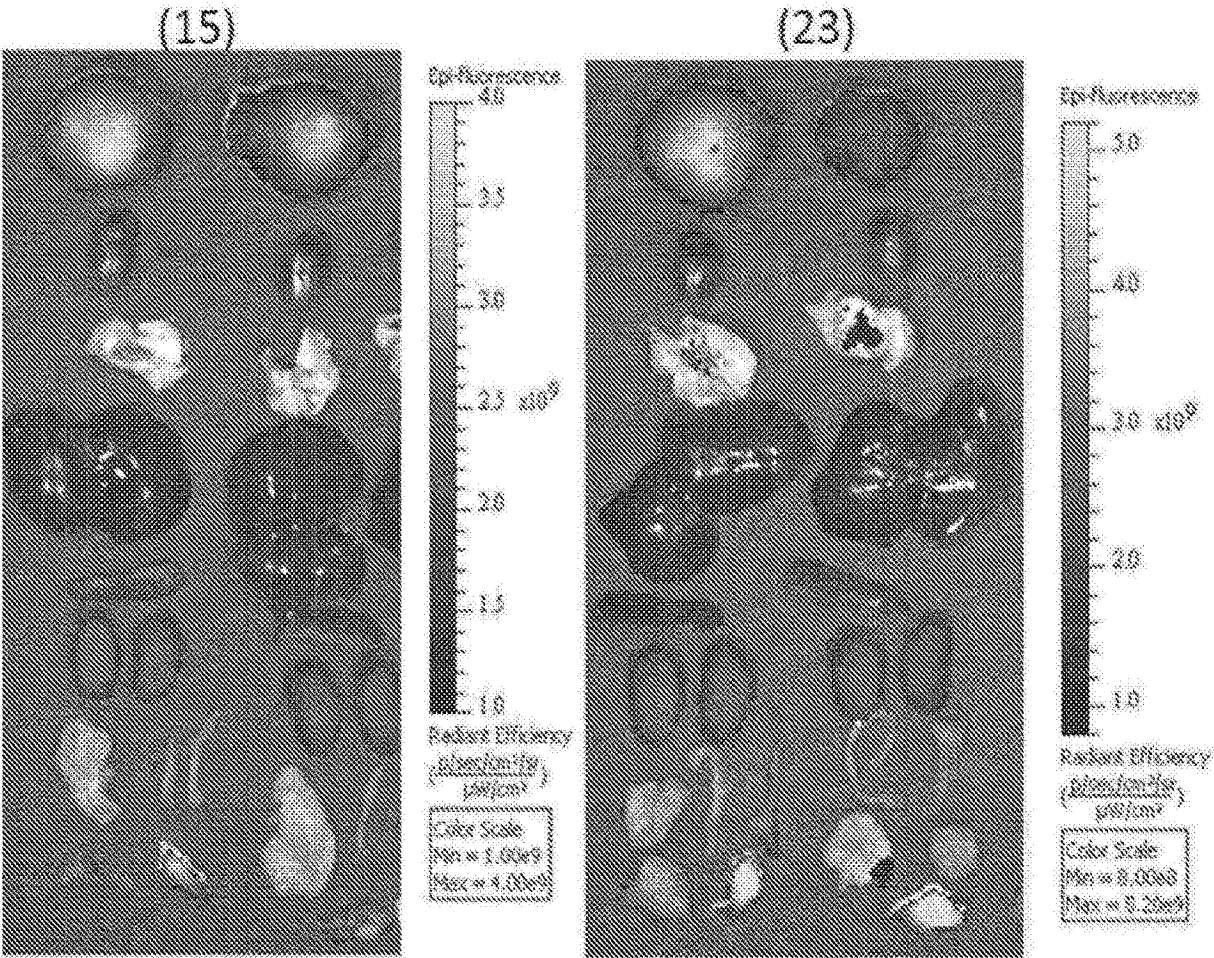


图8

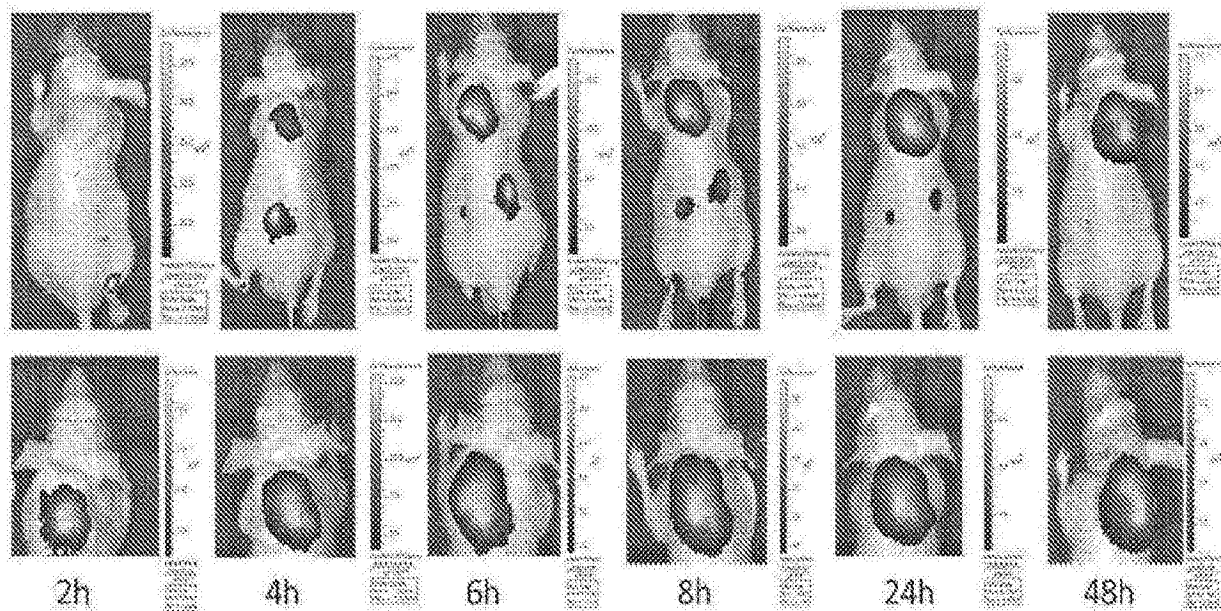
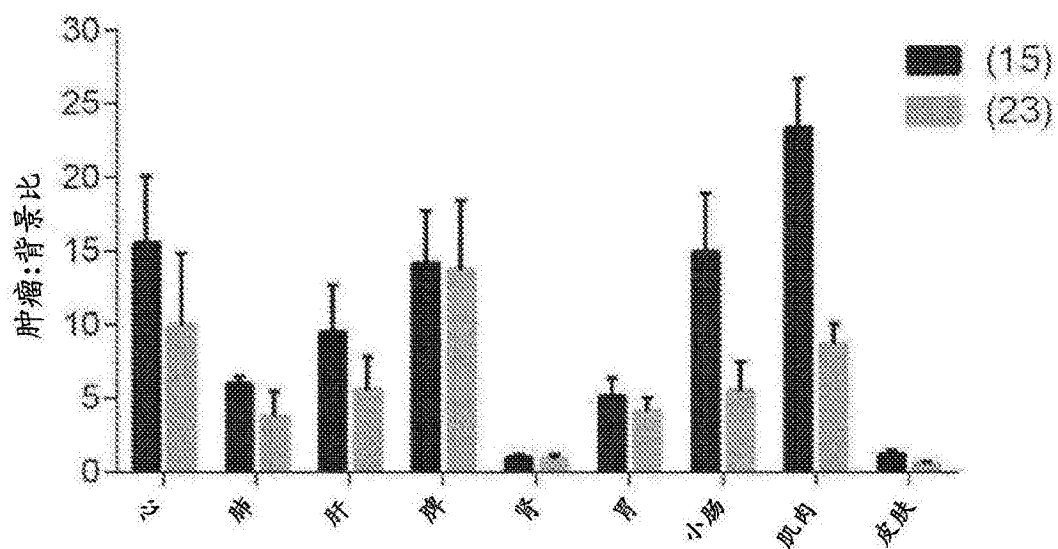


图9

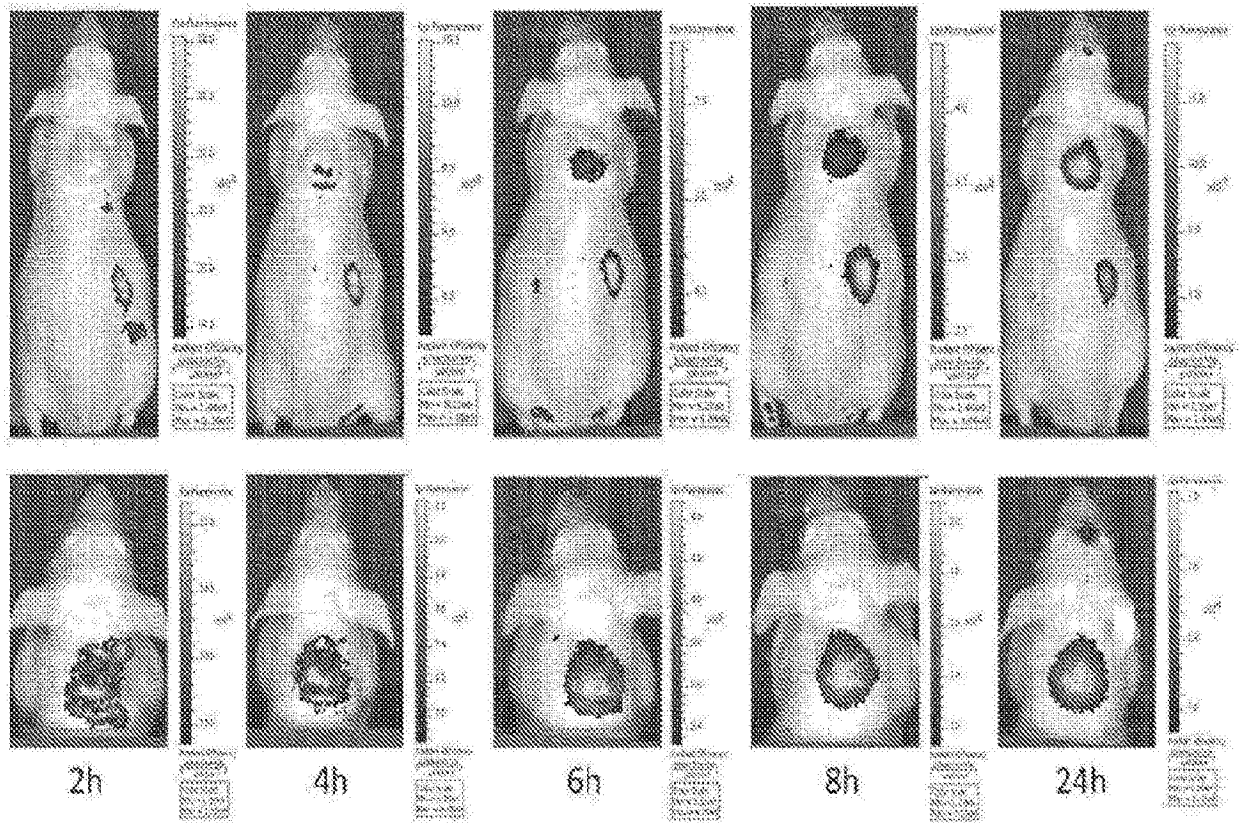


图10

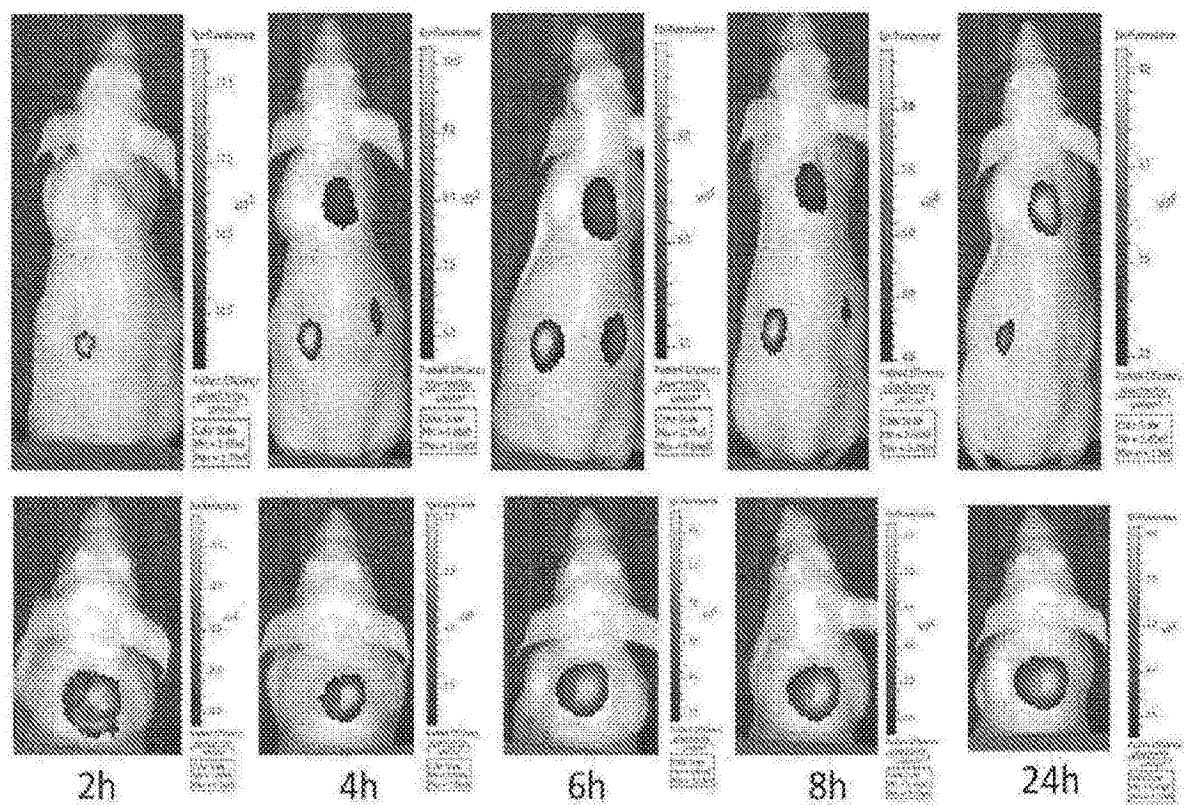


图 11

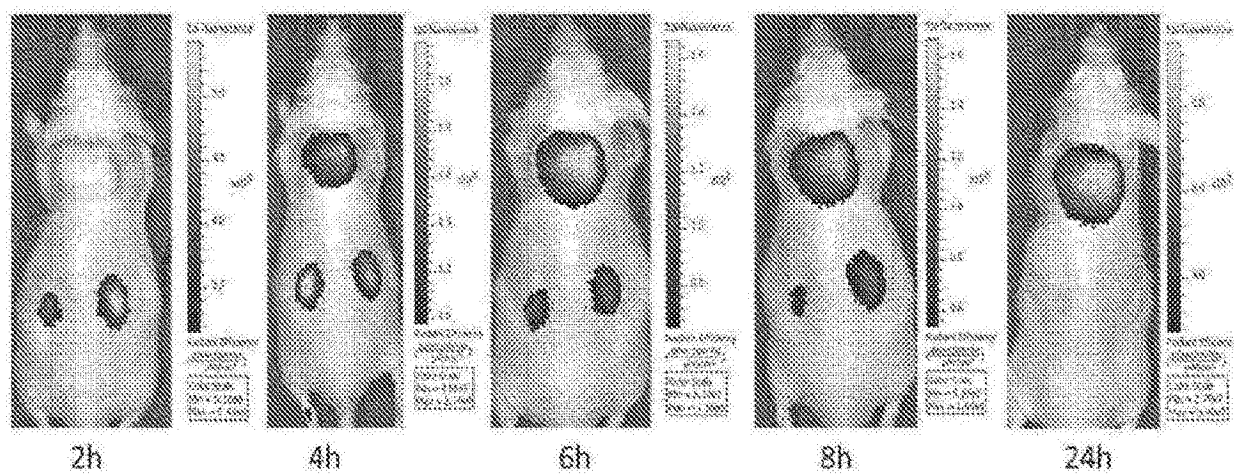


图12

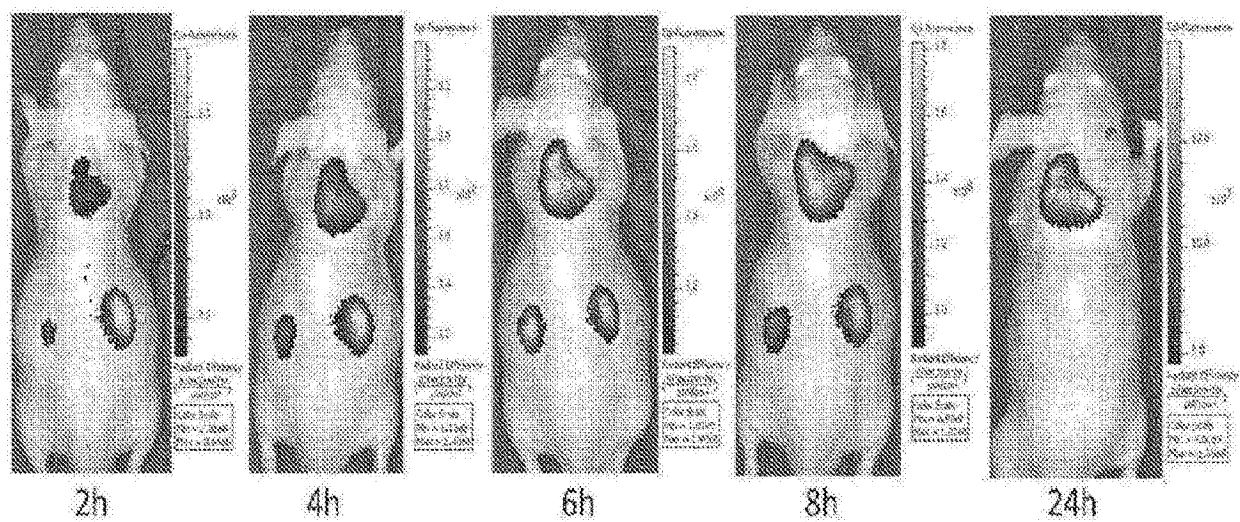


图13

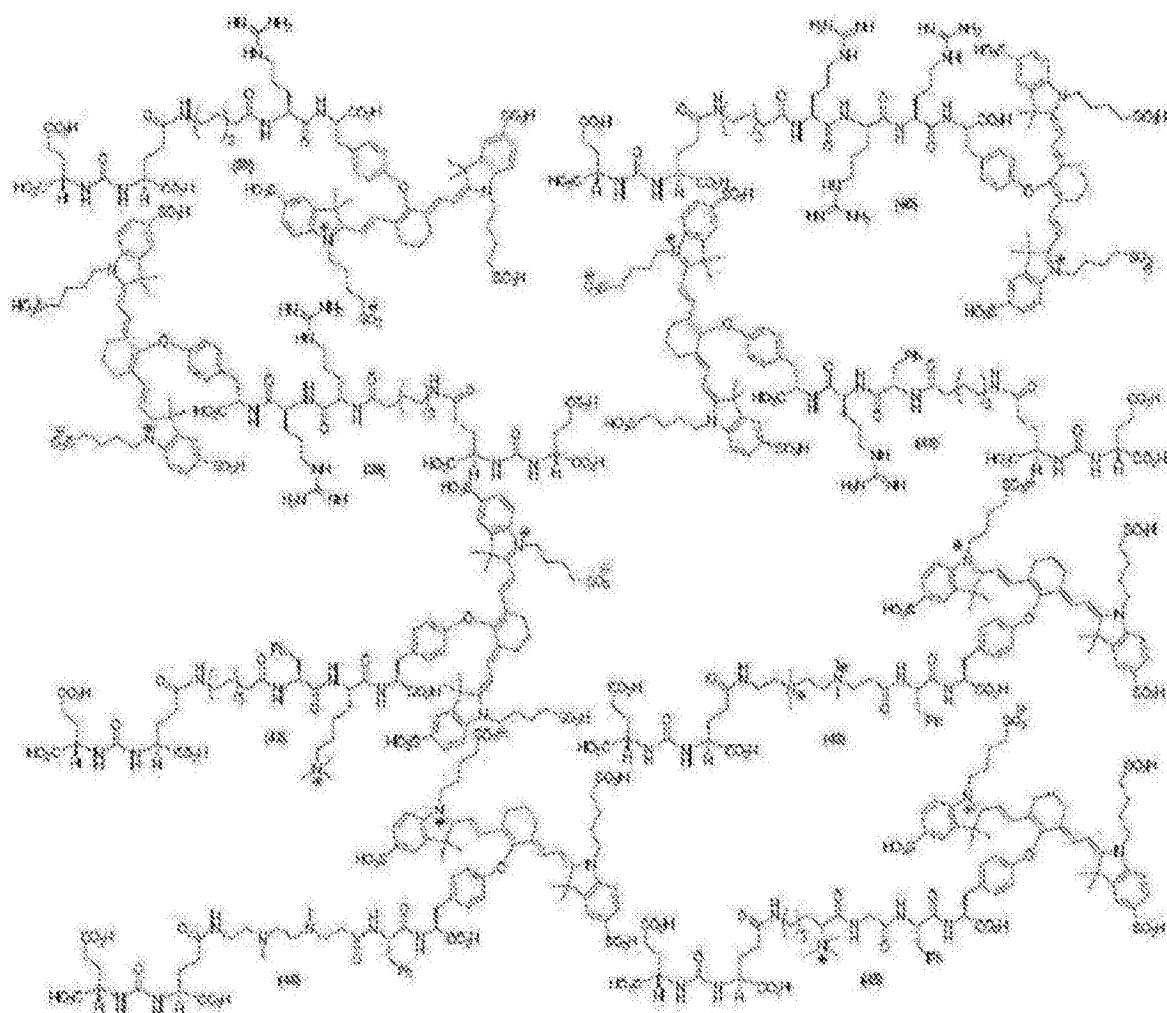
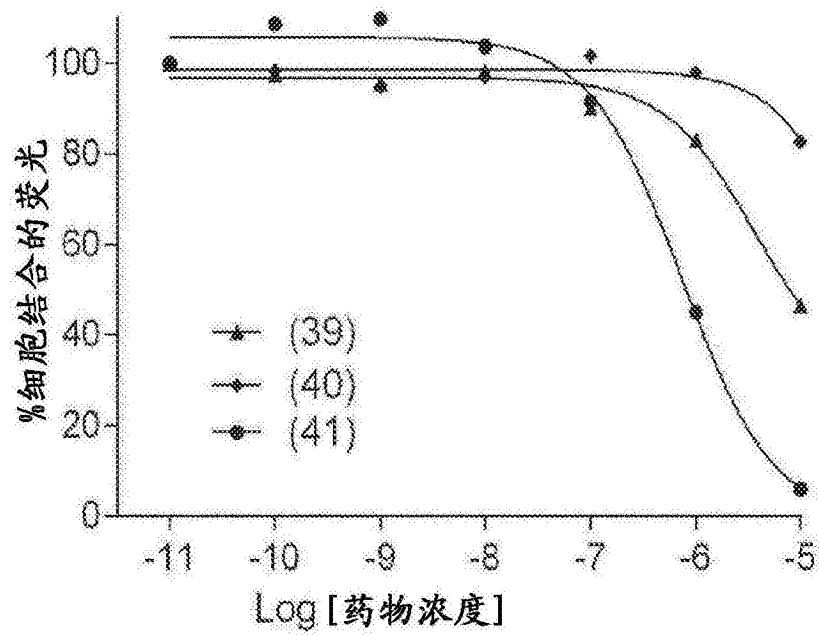


图14



化合物	K _d (nM)
39	258.9
40	NA*
41	51.7

图15

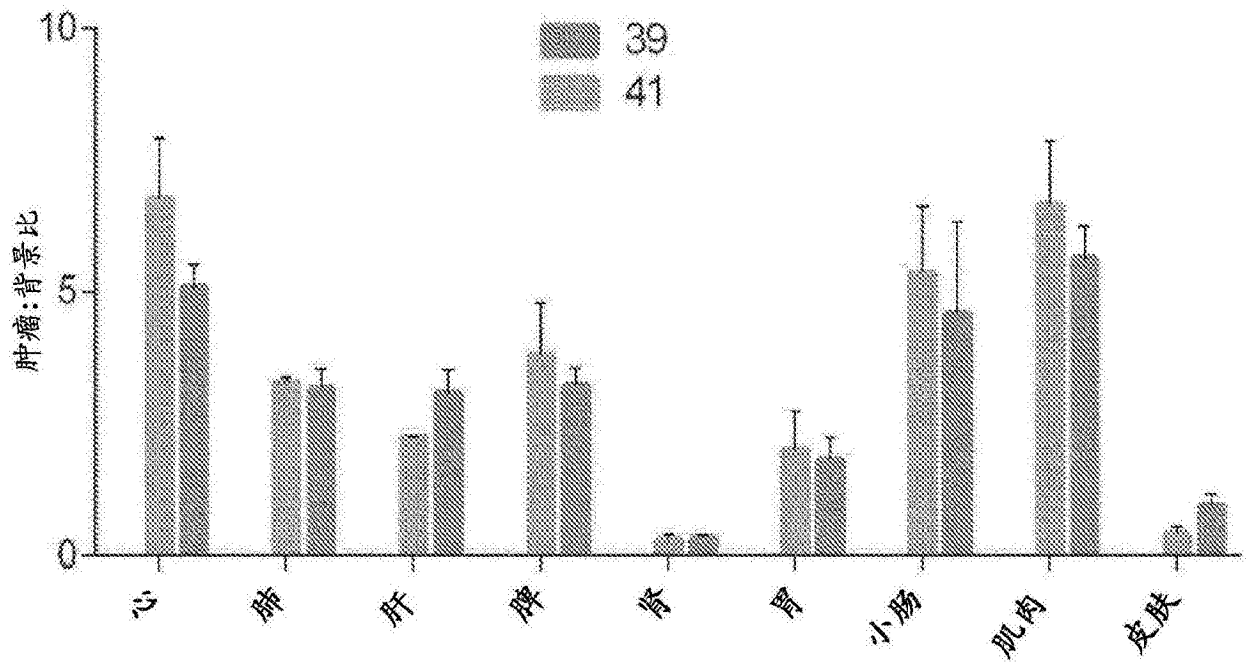


图16

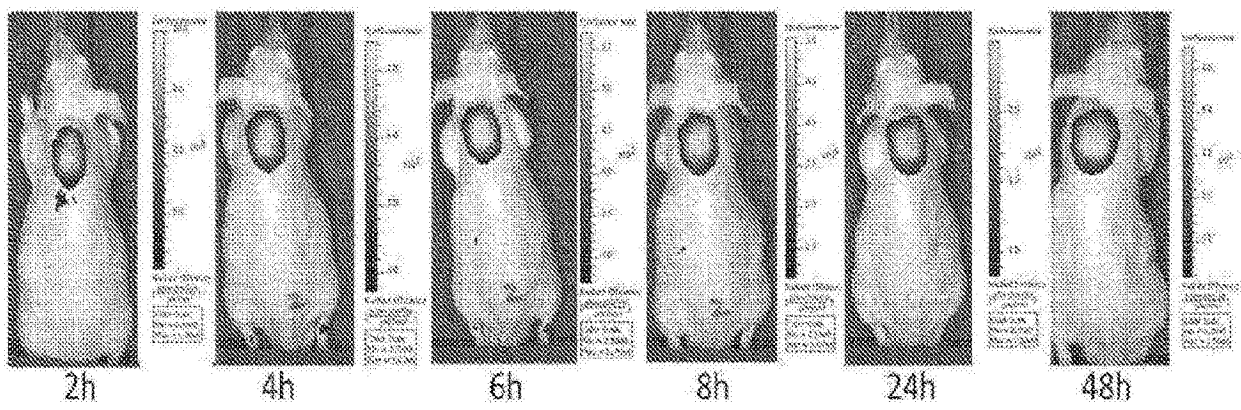


图17

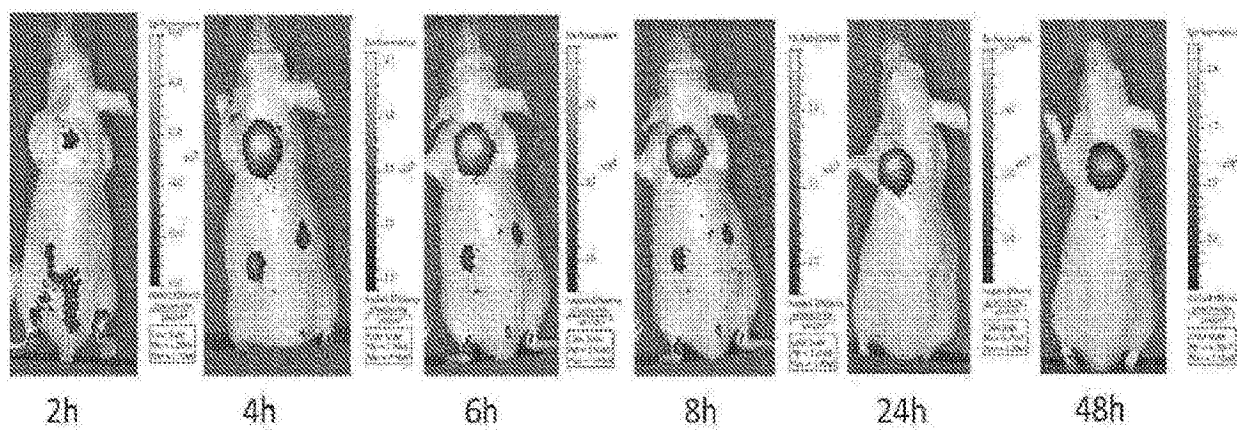


图18

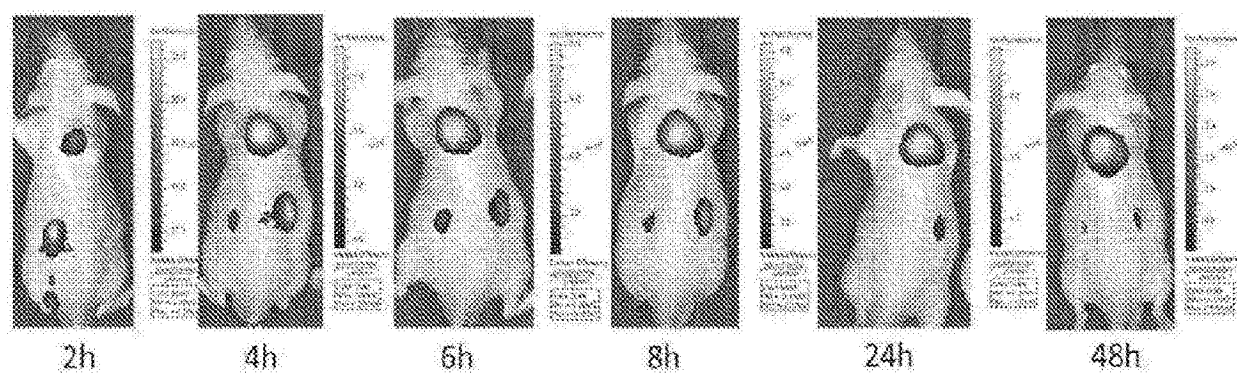


图19

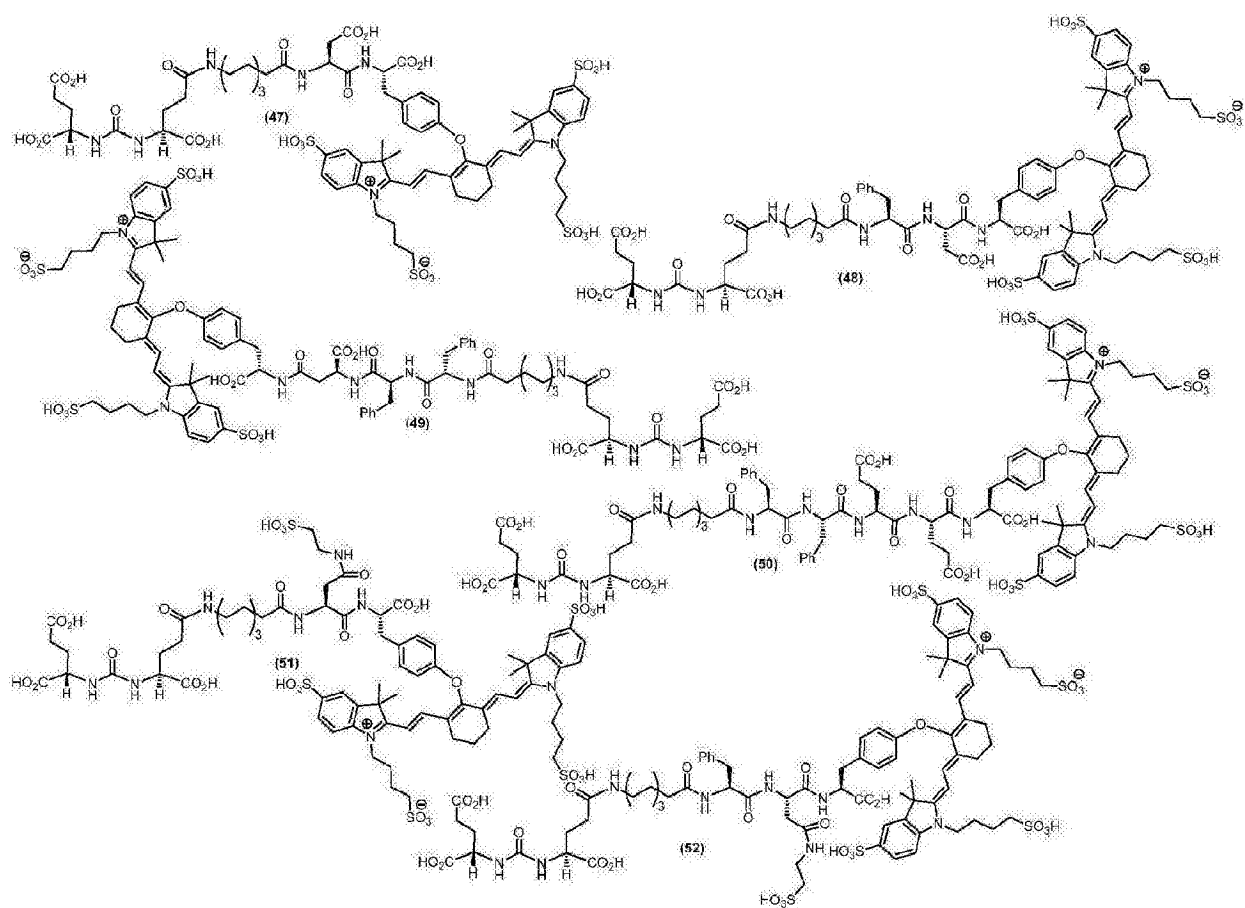
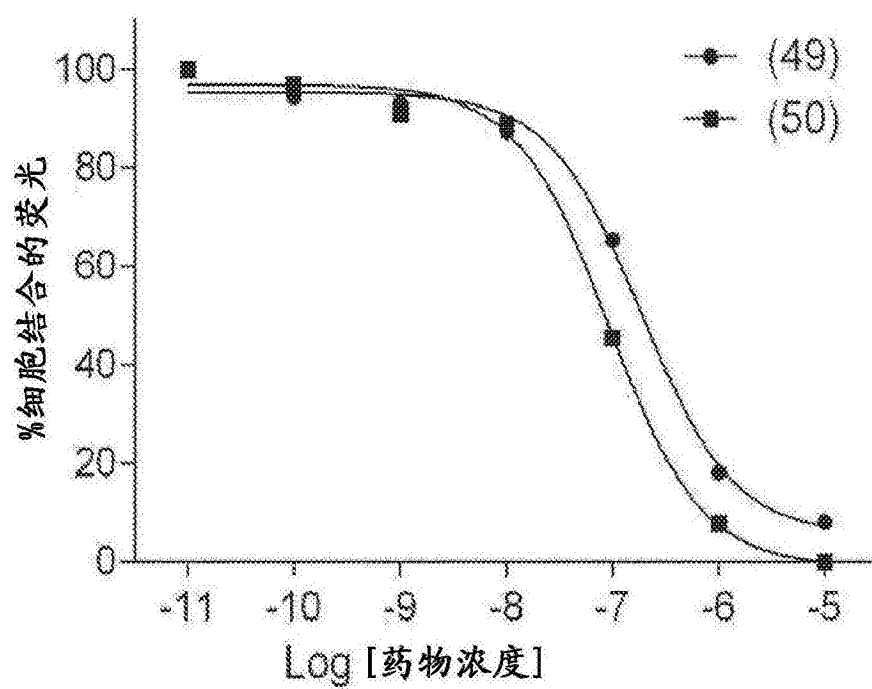


图20



化合物	K_D (mM)
49	186.4
50	92

图21

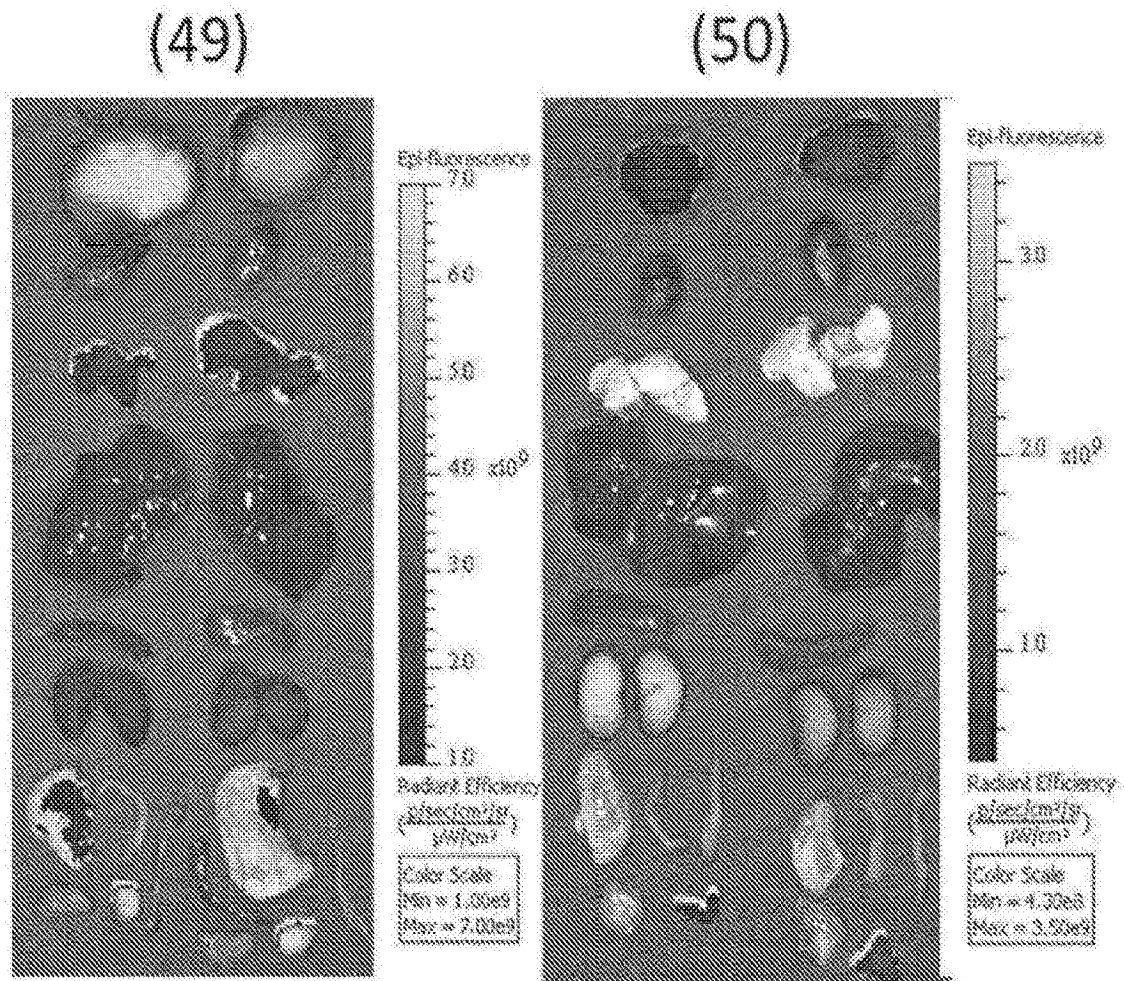


图22

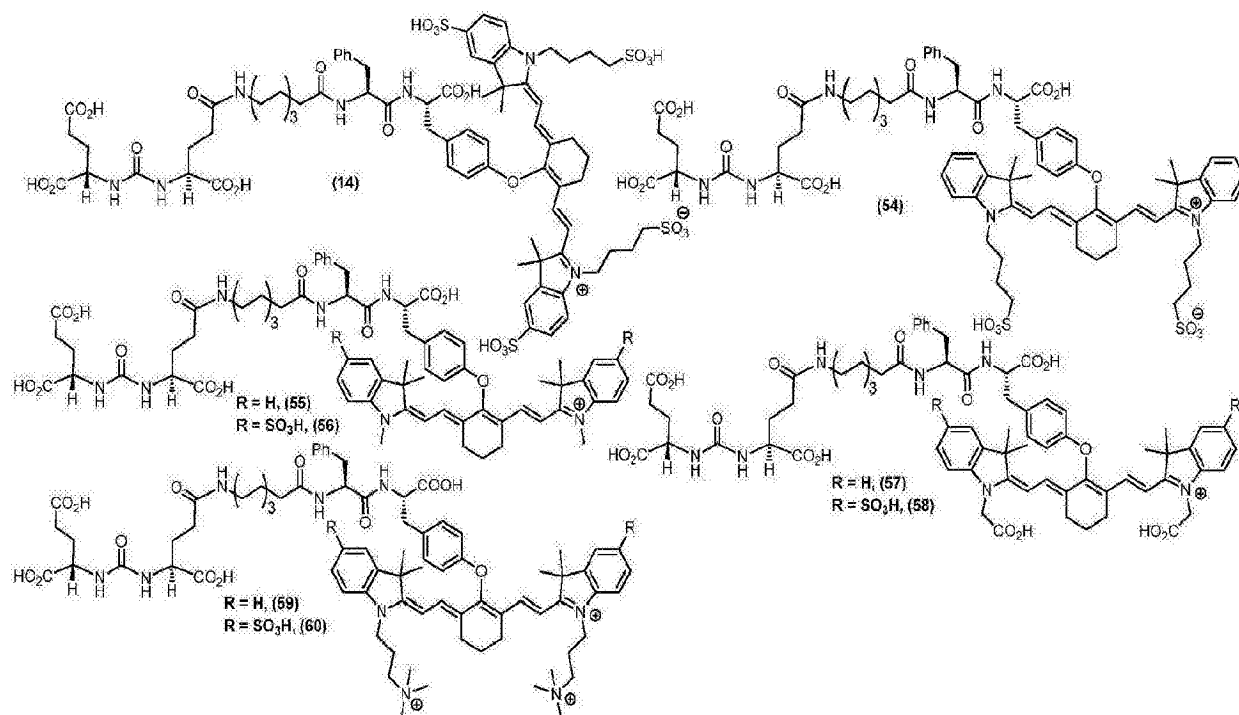
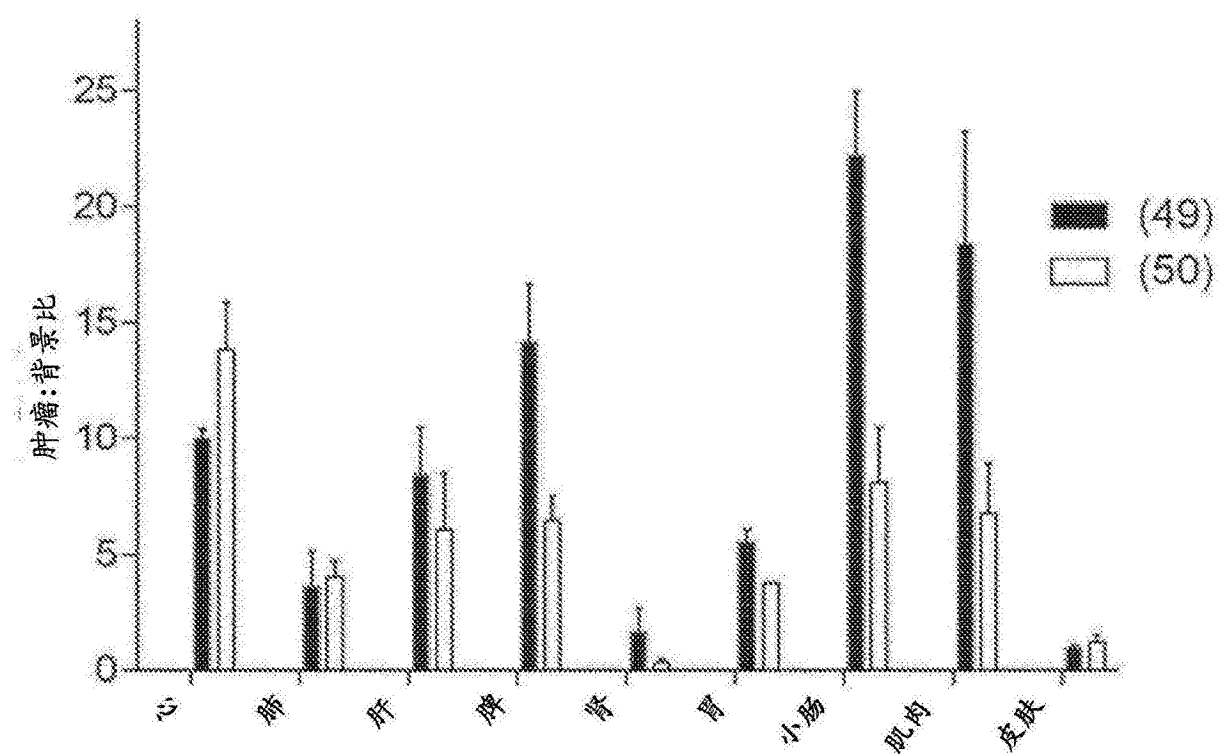


图23

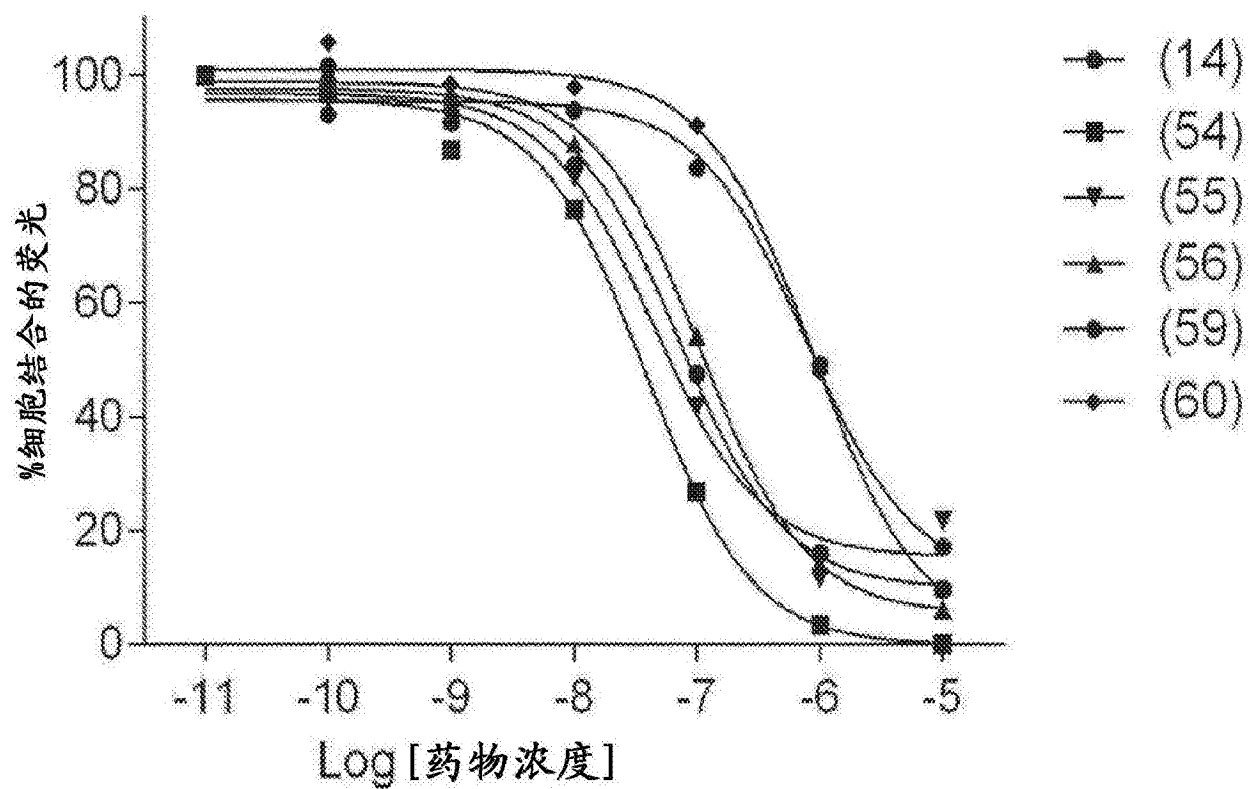


图24

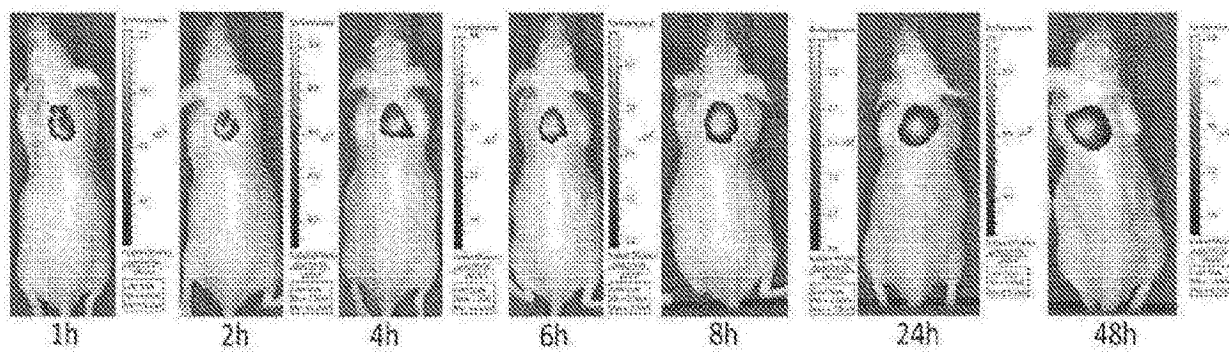


图25

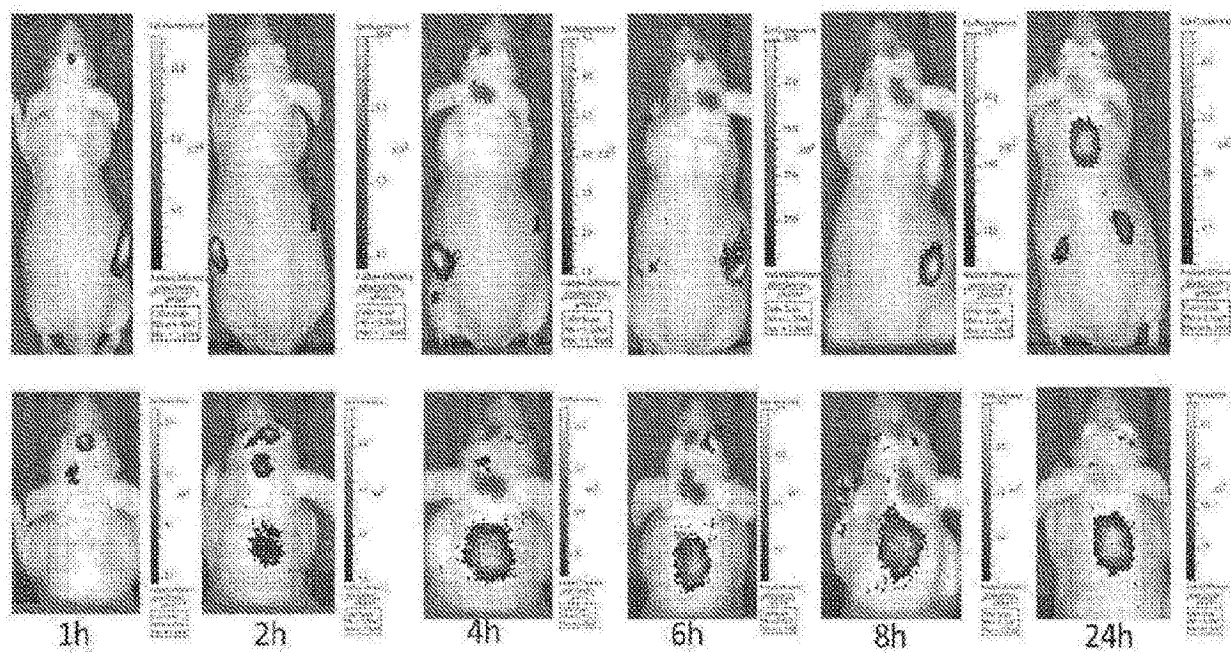


图26

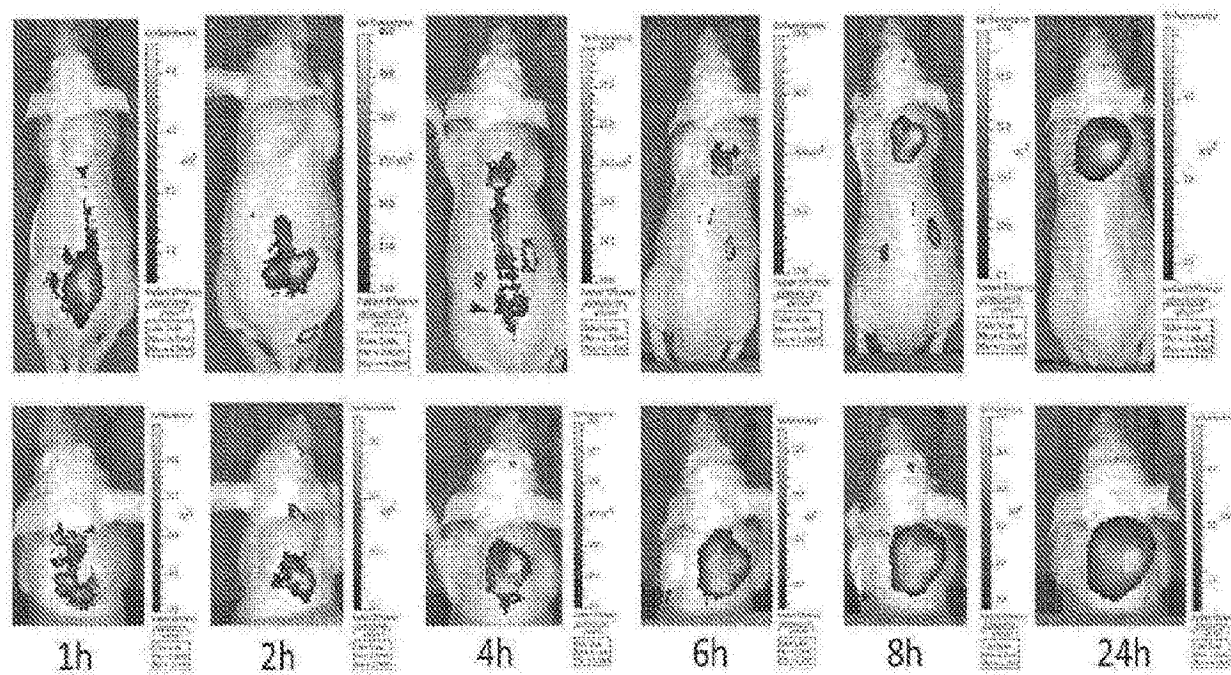


图27

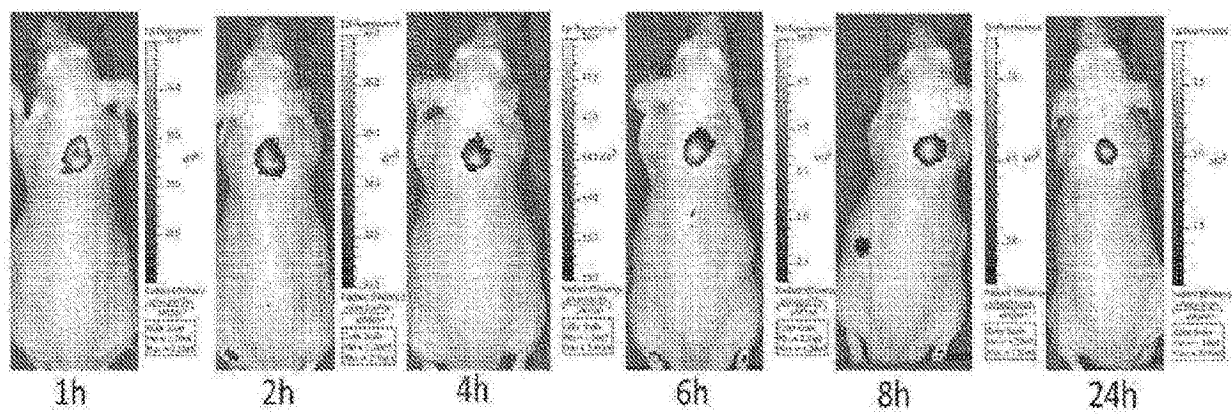


图28

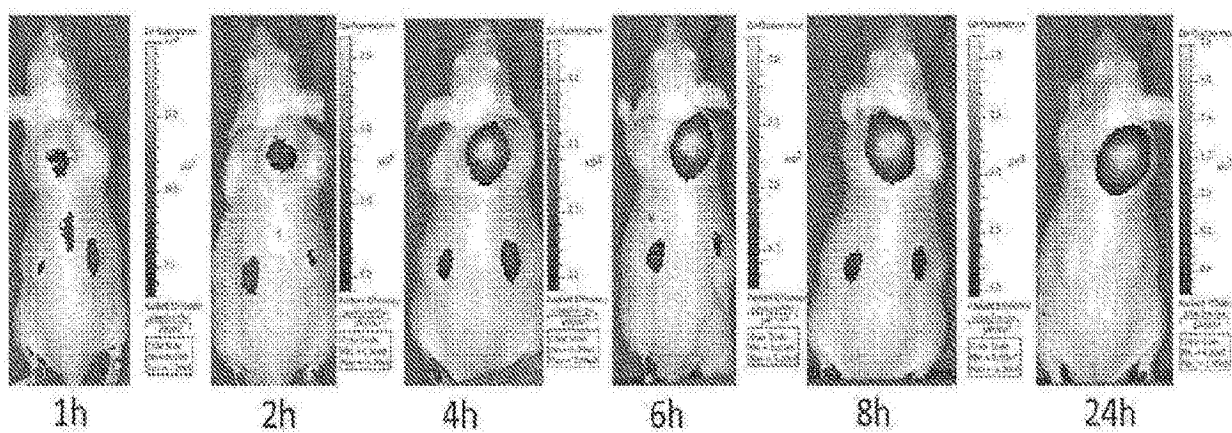


图29

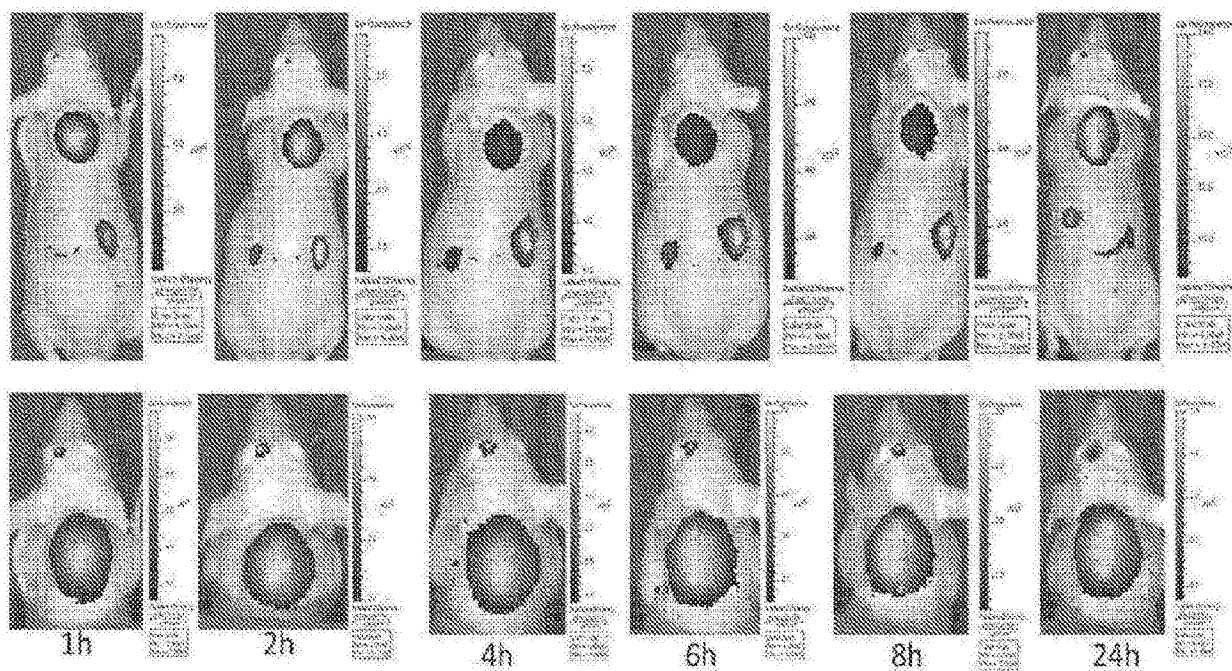


图30

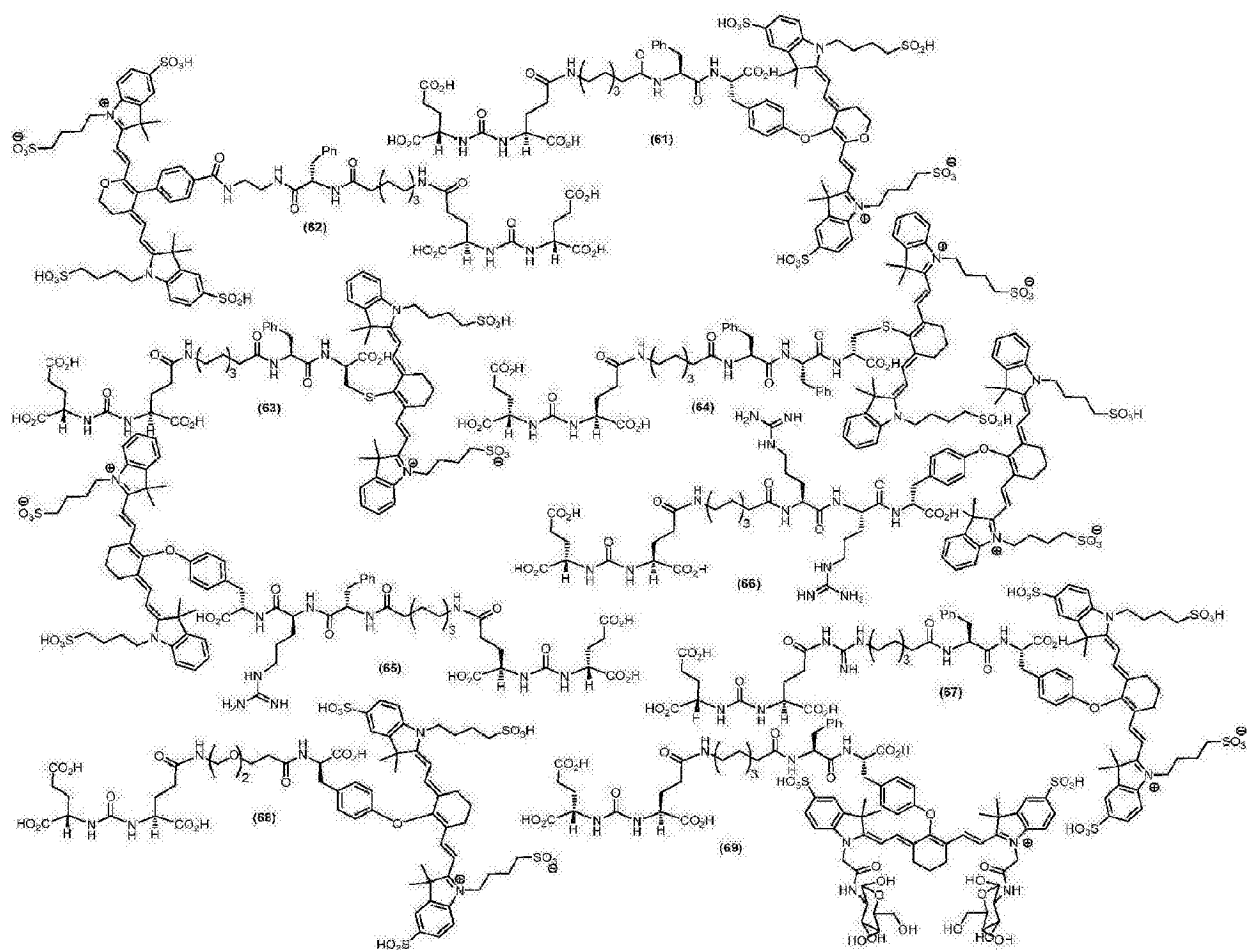


图31

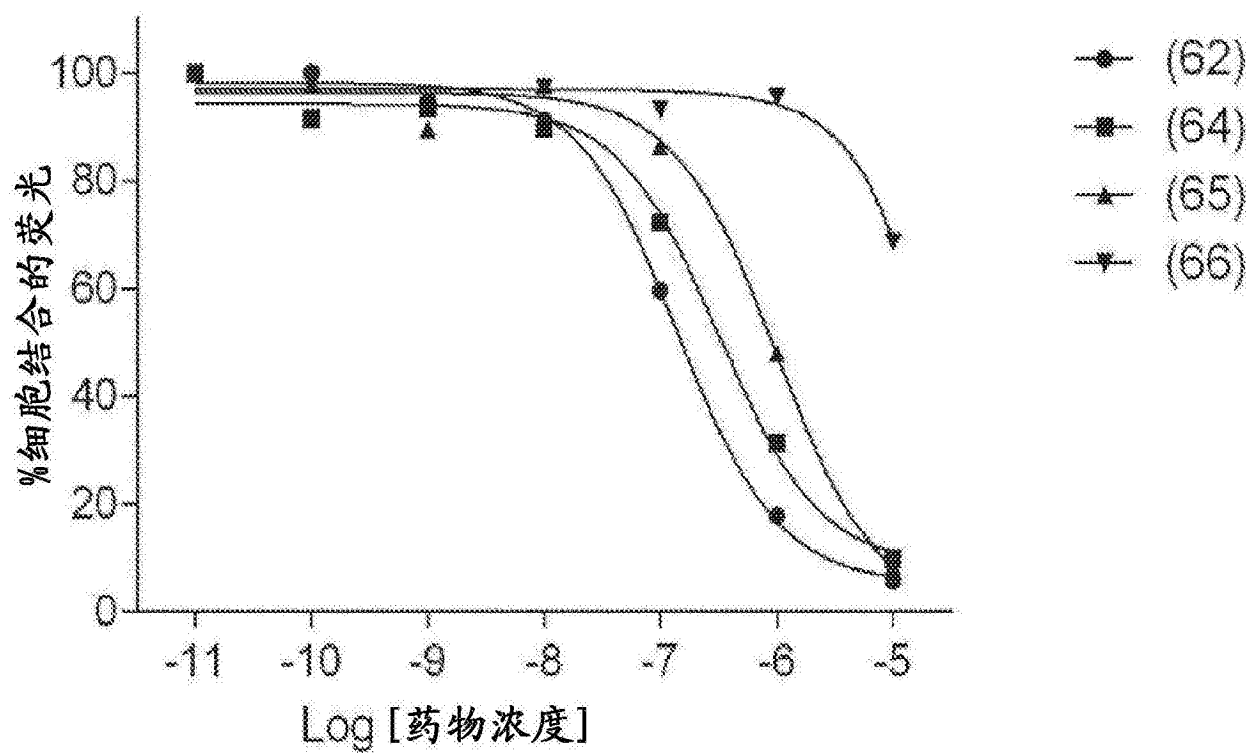


图32

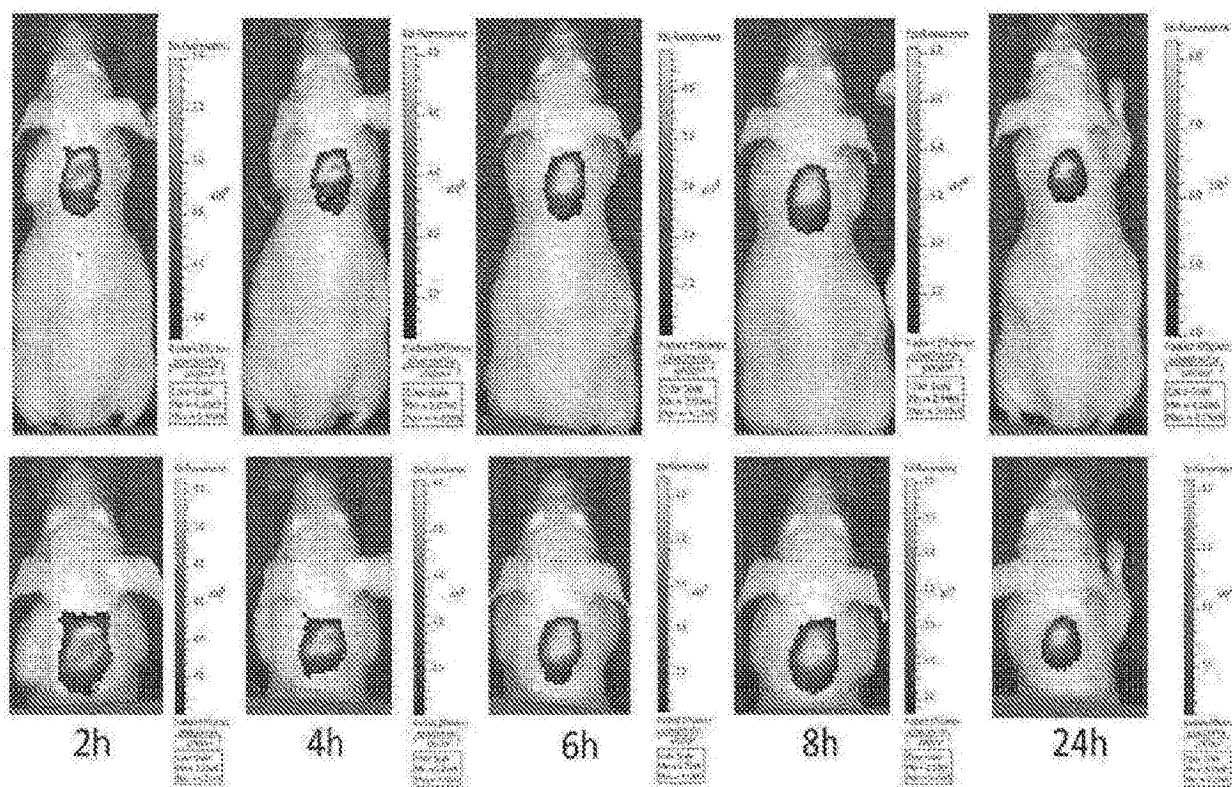


图33

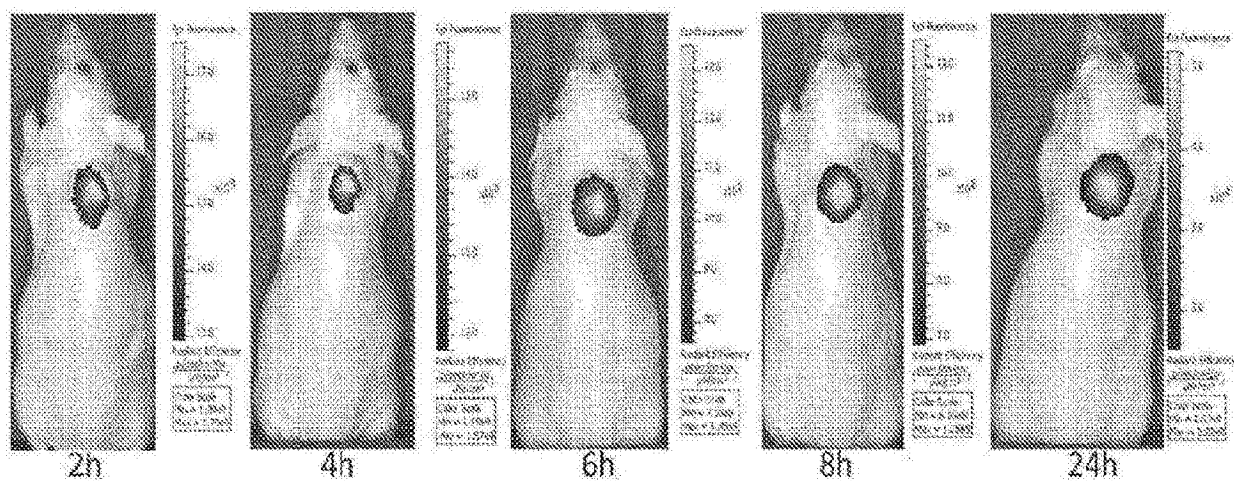


图34

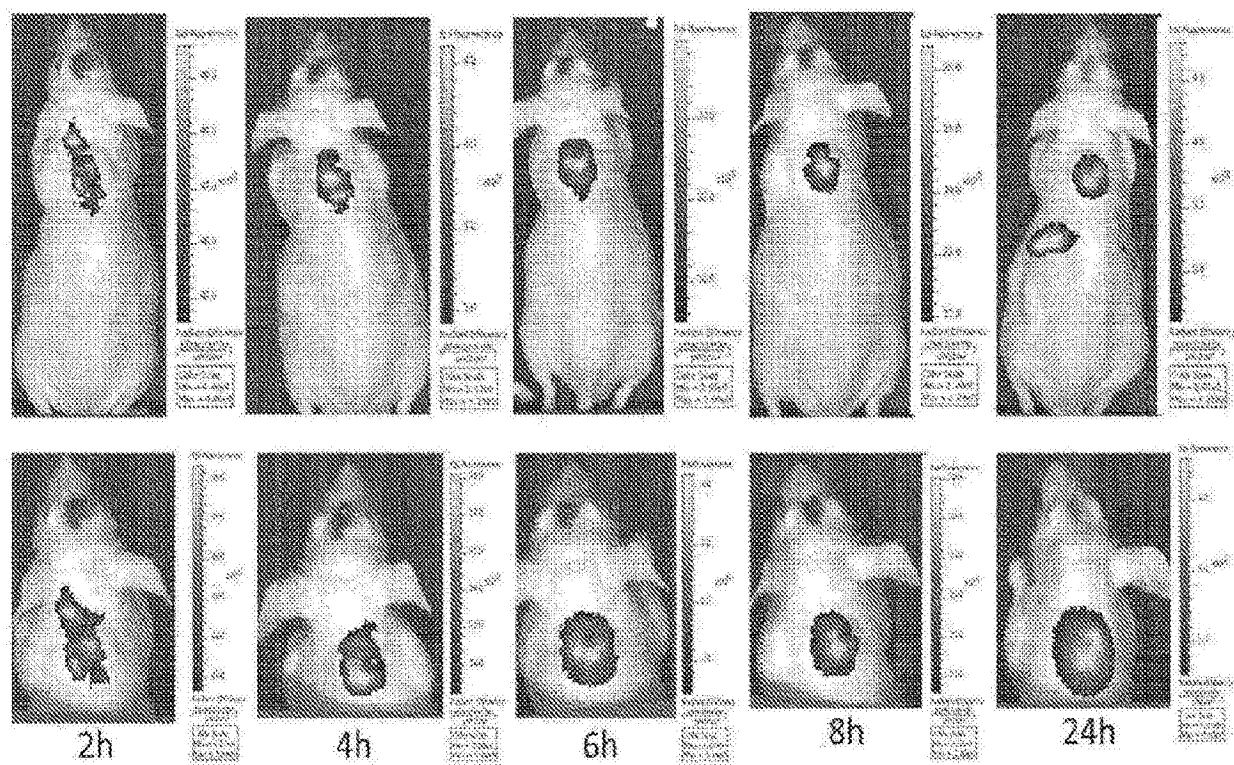


图35

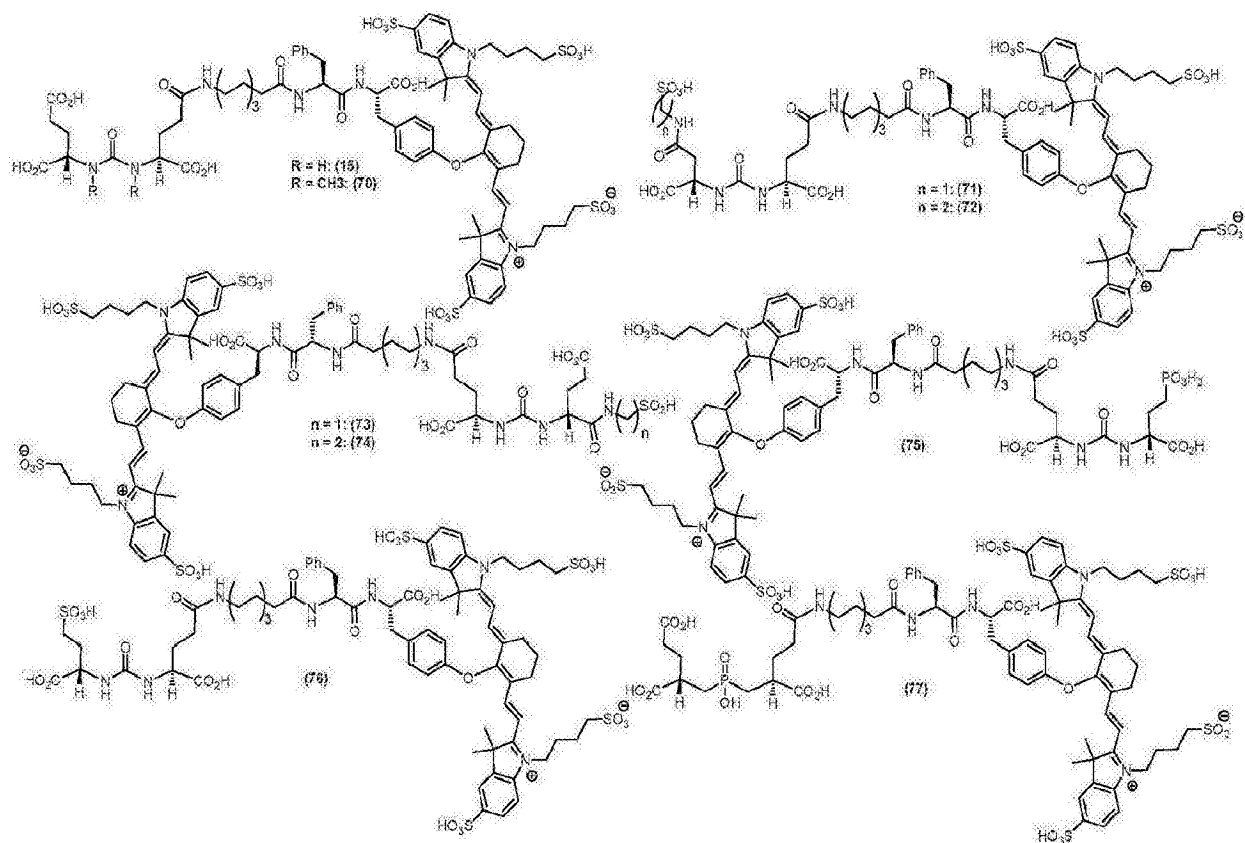


图36

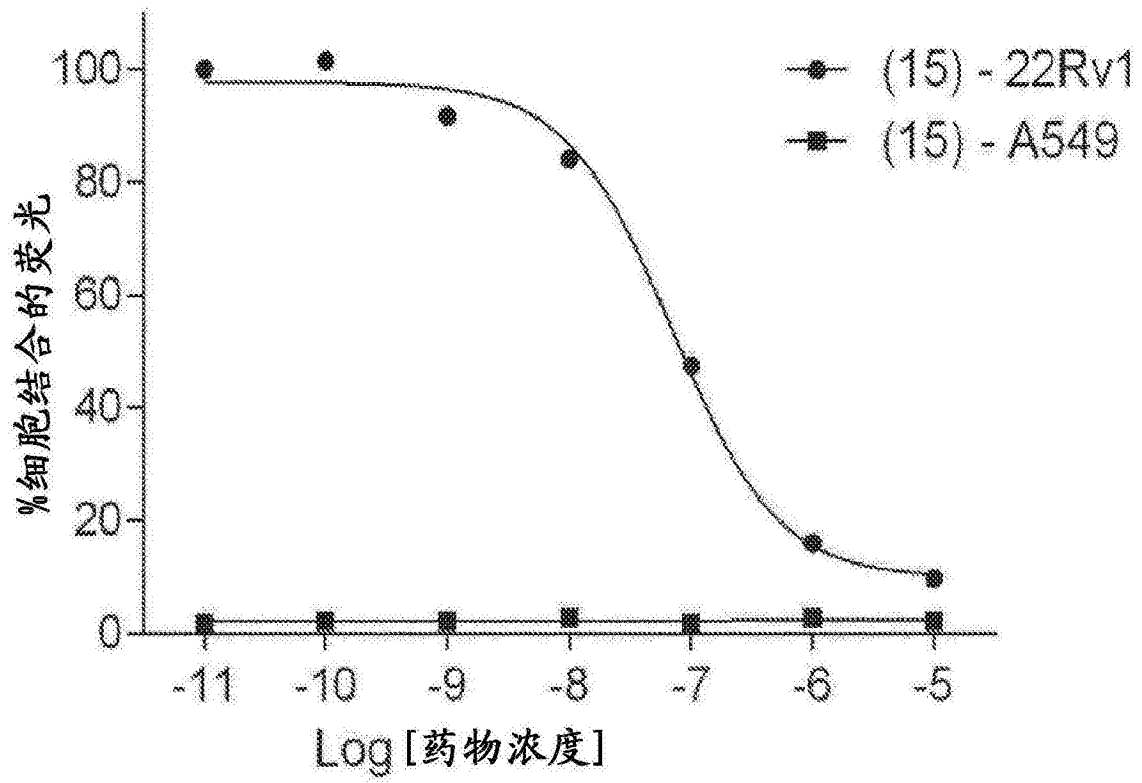


图37

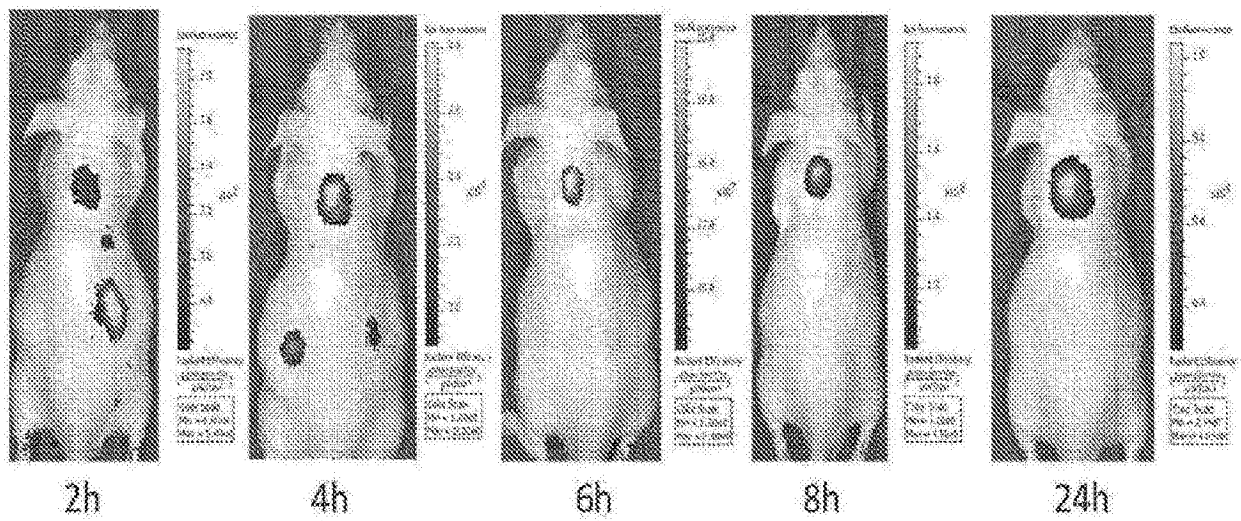


图38