



(21) 申请号 202210364662.1

(22) 申请日 2016.08.12

(30) 优先权数据

62/204,519 2015.08.13 US

62/356,732 2016.06.30 US

(62) 分案原申请数据

201680054836.7 2016.08.12

(71) 申请人 通用医疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 埃里克·M·盖尔 P·卡拉万

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

专利代理师 刘新宇 李茂家

(51) Int. Cl.

C07D 213/80 (2006.01)

权利要求书17页 说明书88页 附图4页

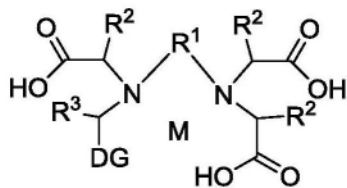
(54) 发明名称

用于MR分子成像的基于锰的螯合缀合物

(57) 摘要

本发明涉及用于MR分子成像的基于锰的螯合缀合物。在此提供是对锰具有高亲和力的金属螯合配体的实例。所得的金属络合物可以用作MRI造影剂,并且可以用在生化靶标的存在下结合生化靶标或导致弛豫率变化的部分进行官能化。

1. 一种具有式 (XVII) 的化合物:



或其药学上可接受的盐,

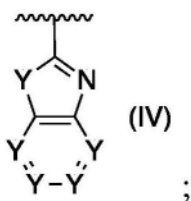
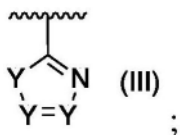
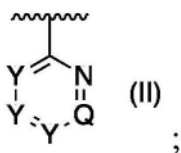
其中:

R^1 为 C_3 - C_{10} 环亚烷基, 其任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^x 基团取代, 并且其中 R^1 经由 R^1 上的 1, 2 或 1, 3 位置与相邻氮结合;

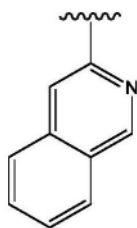
每个 R^2 和 R^3 独立地选自下组, 该组由以下组成: H 、 CO_2H 、 $(C_1-C_6 \text{ 烷基}) CO_2H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_4-C_6 环烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基、 $C(O)NR^4R^5$ 、 CH_2NHCOR^4 、 $C(O)N(OH)R^4$ 、 $C(O)NHSO_2R^4$ 、 $CH_2NHSO_2R^4$ 、 $N(OH)C(O)R^4$ 、 $P(R^4)O_2R^5$ 、 $PO_3R^4R^5$ 、和 $[L]-[TBM]$;

每个 R^4 和 R^5 独立地选自下组, 该组由以下组成: H 、 C_1-C_6 烷基、和 $[L]-[TBM]$, 其中该烷基任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^x 基团取代;

DG 选自下组, 该组由以下组成:



和



其中

每个 Y 独立地是 CH 、 CZ 、或 NR^4 ;

Q 是 CH ;

每个 Z 独立地选自下组, 该组由以下组成: H 、 OH 、 OR^4 、 CO_2H 、和 C_1-C_6 烷基, 其中该烷基任选

地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代；

L是接头；

TBM是靶标结合部分，其中每个TBM独立地选自结合以下物质中的一个或多个的TBM，所述物质为：人血清白蛋白(HSA)；纤维蛋白；选自胶原蛋白、弹性蛋白和饰胶蛋白聚糖的心肌的细胞外组分；选自过氧化物酶和蛋白酶的在炎症或癌症中分泌的细胞外酶；选自透明质酸(HA)、肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素、多能蛋白聚糖、双糖链蛋白聚糖、失调的硫醇/二硫化物组合物、跨膜蛋白的蛋白水解片段、纤连蛋白的病变的细胞外组分；叶酸受体；玻连蛋白； α -v- β -3和 α -v- β -5整联蛋白；基质金属蛋白酶(MMPs)；卟啉；和膦酸盐；

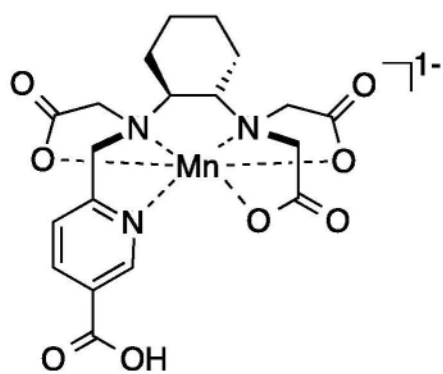
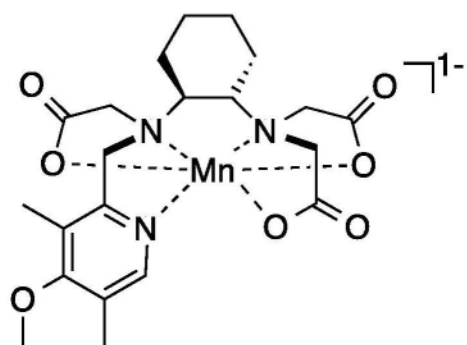
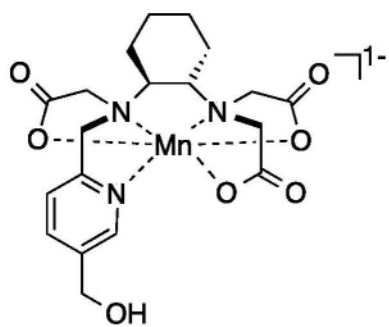
每个 R^X 独立地选自下组，该组由以下组成：OH、SH、CN、NO₂、卤基、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、和C₁-C₄烷基；并且

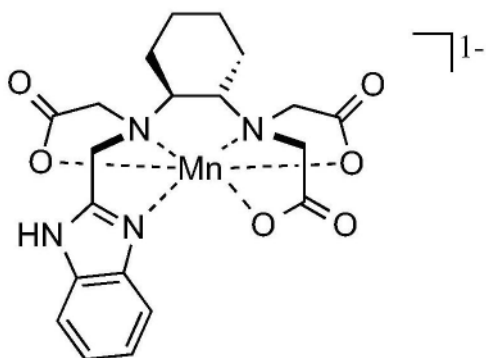
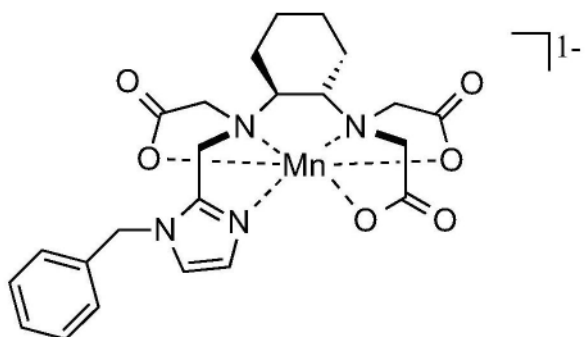
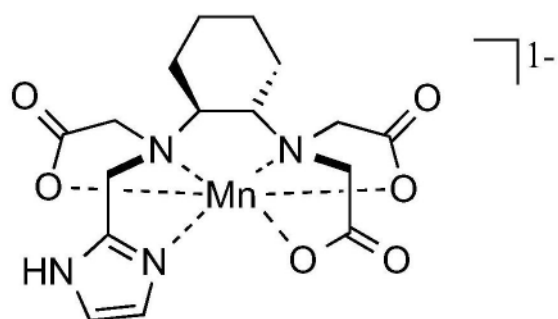
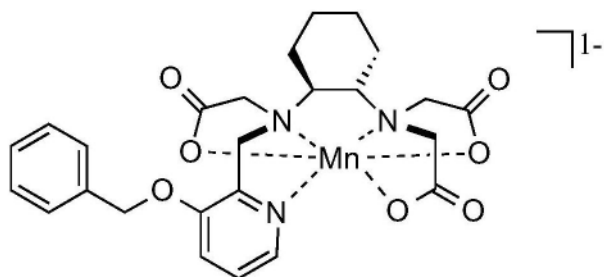
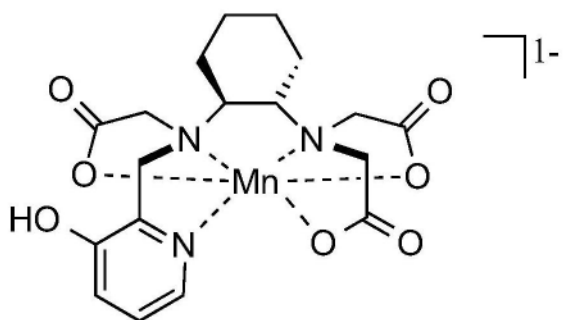
M选自下组，该组由以下组成：Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Mn(III)、Cr(III)、Cu(II)、Cu(III)、Dy(III)、Ho(III)、Er(III)、Pr(III)、Eu(II)、Eu(III)、Nd(III)、La(III)、Lu(III)、Sm(III)、Tb(III)、Tb(IV)、Tm(III)、Y(III)、In(III)、Ga(III)、Tc(III)、Tc(IV)、Tc(V)、Re(III)、Re(IV)、Re(V)、Bi(III)、和Yb(III)；

其中，如果所有Y都是CH，则 R^2 或 R^3 中的至少一个不是H；并且

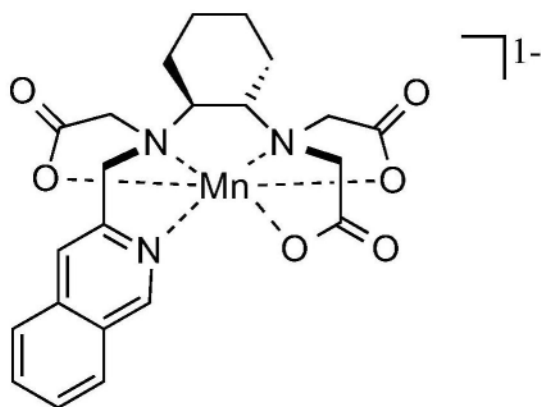
其中，如果所有 R^2 和 R^3 都是H，并且式IV中的至少一个Y不是CH，则 R^1 不是C₂亚烷基。

2. 如权利要求1所述的化合物，其中该化合物选自下组，该组由以下组成：



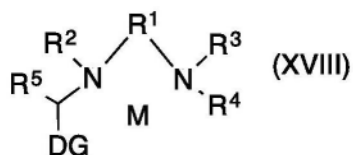


， 和



或其药学上可接受的盐。

3. 一种具有式 (XVIII) 的化合物：

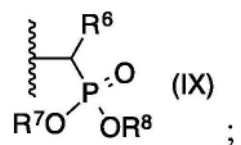
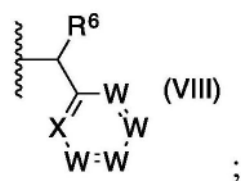


或其药学上可接受的盐，

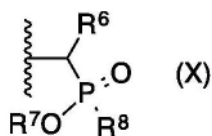
其中：

R^1 选自下组，该组由以下组成： C_3 - C_{10} 环亚烷基，其任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代，并且其中 R^1 经由 R^1 上的 1,2 或 1,3 位置与相邻氮结合；

R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自具有以下式的化合物的组：



和



R^5 和 R^6 独立地选自下组，该组由以下组成： H 、 CO_2H 、 $(C_1-C_6 \text{ 烷基})CO_2H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_4-C_6 环烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基、 $C(O)NR^7R^8$ 、 CH_2NHCOR^7 、 $C(O)N(OH)R^7$ 、 $C(O)NHSO_2R^7$ 、 $CH_2NHSO_2R^7$ 、 $N(OH)C(O)R^7$ 、 $P(R^7)O_2R^8$ 、 $PO_3R^7R^8$ 、和 $[L] - [TBM]$ ；

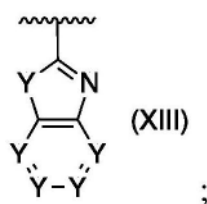
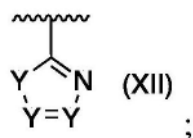
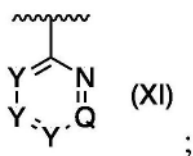
X 是 CZ 、 N 、或 NR^7 ；

每个 W 独立地是 CH 、 CZ 、 N 、或 NR^7 ；

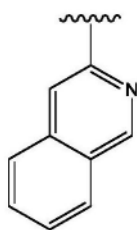
每个 Z 独立地选自： H 、 OH 、 OR^4 、 CO_2H 、或 $(C_{1-6} \text{ 烷基})$ ，其中该烷基任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代；

每个 R^7 和 R^8 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 C_1-C_6 烷基、和 $-[L]-[TBM]$,其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代;

DG选自下组,该组由以下组成:



和



其中每个Y独立地是 CH 、 CZ^1 、 N 、或 NR^7 ;

Q是 CH ;

每个 Z^1 独立地选自: H 、 OH 、 OR^7 、 CO_2H 、或 C_1-C_6 烷基,其中该烷基任选地被1、2、3或4个独立选择的 R^x 基团取代;

L是接头;

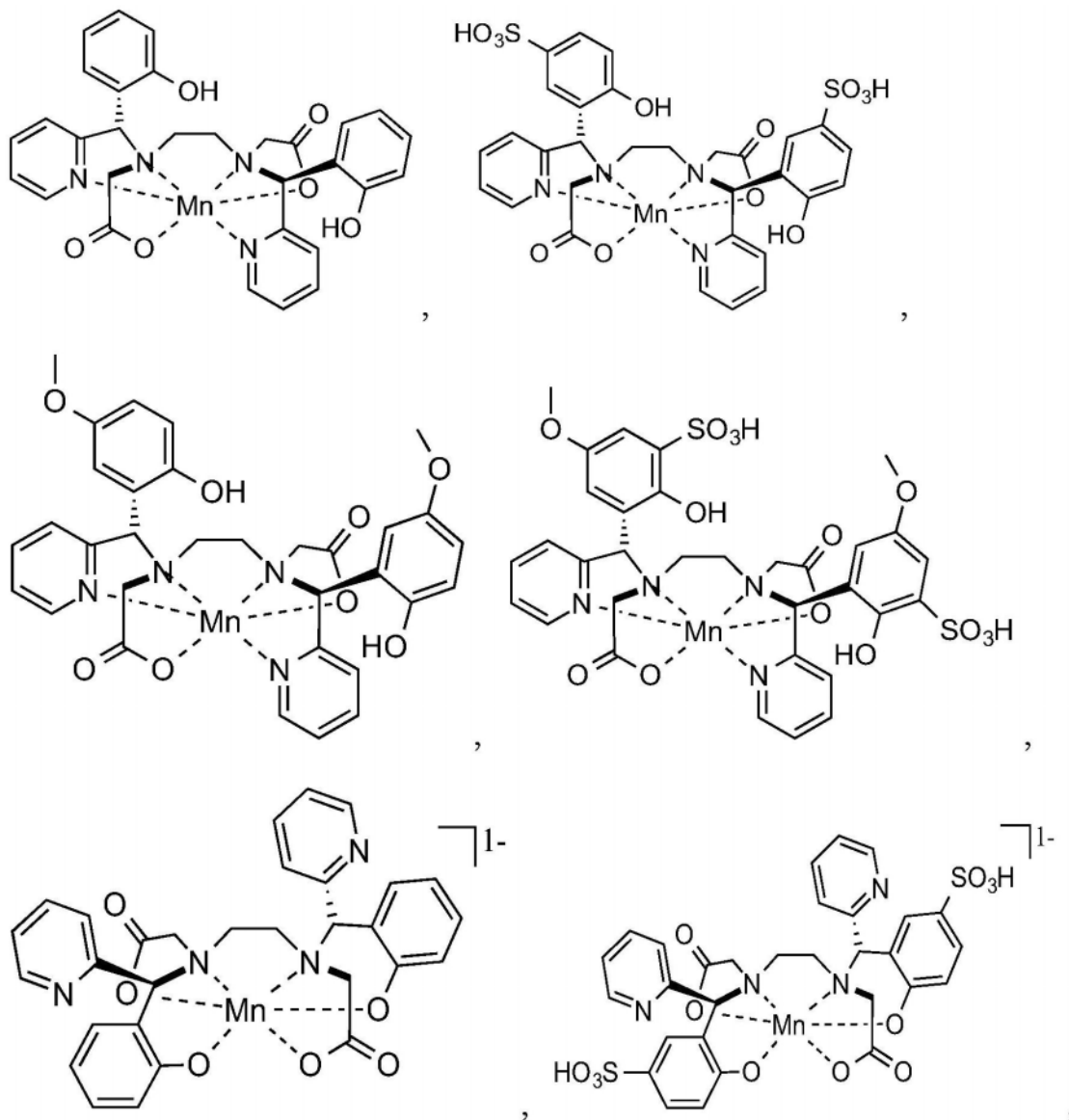
TBM是靶标结合部分,其中每个TBM独立地选自结合以下物质中的一个或多个的TBM,所述物质为:人血清白蛋白(HSA);纤维蛋白;选自胶原蛋白、弹性蛋白和饰胶蛋白聚糖的心肌的细胞外组分;选自过氧化物酶和蛋白酶的在炎症或癌症中分泌的细胞外酶;选自透明质酸(HA)、肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素、多能蛋白聚糖、双糖链蛋白聚糖、失调的硫醇/二硫化物组合物、跨膜蛋白的蛋白水解片段、纤连蛋白的病变的细胞外组分;叶酸受体;玻连蛋白; α -v- β -3和 α -v- β -5整联蛋白;基质金属蛋白酶(MMPs);卟啉;和膦酸盐;

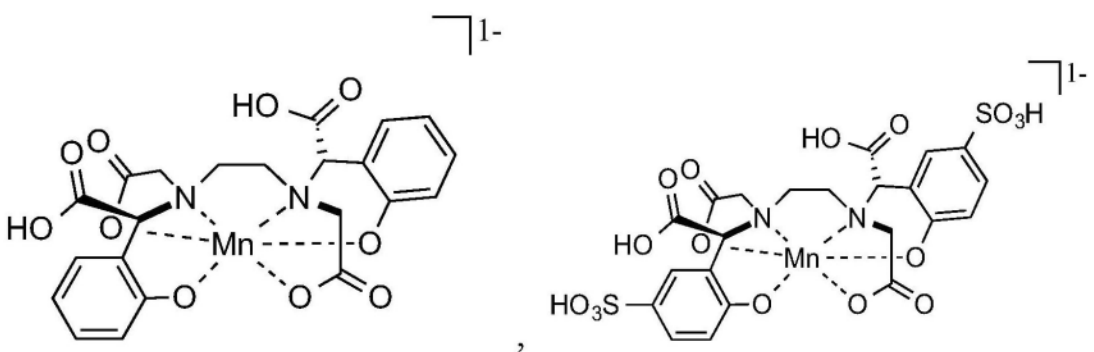
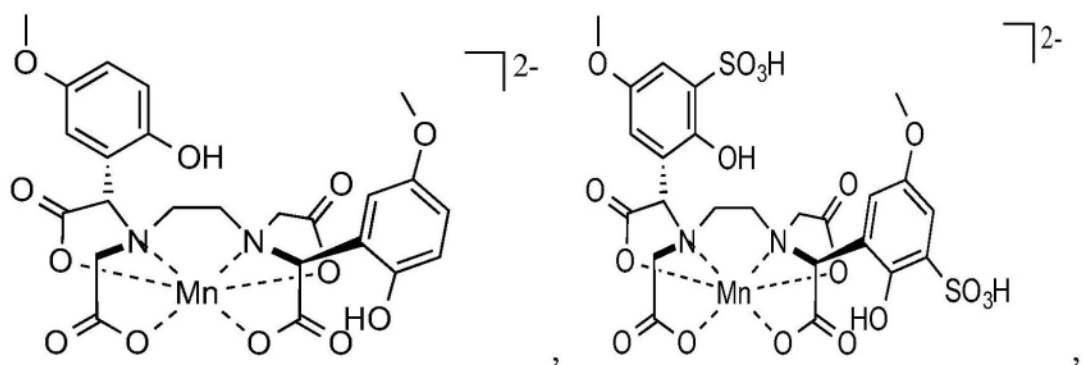
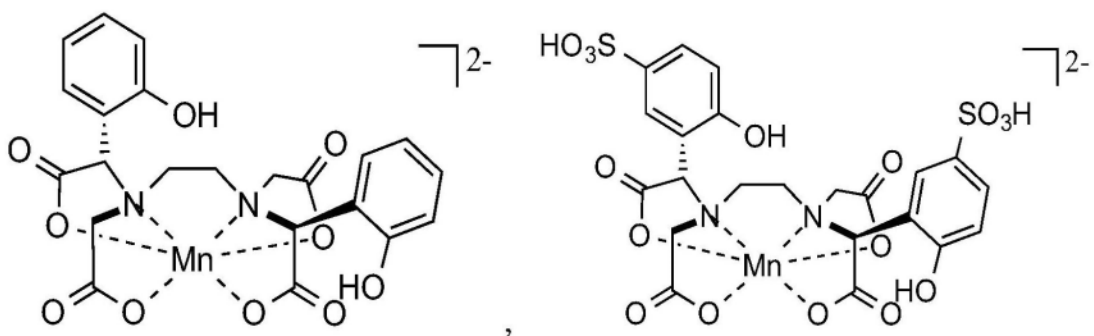
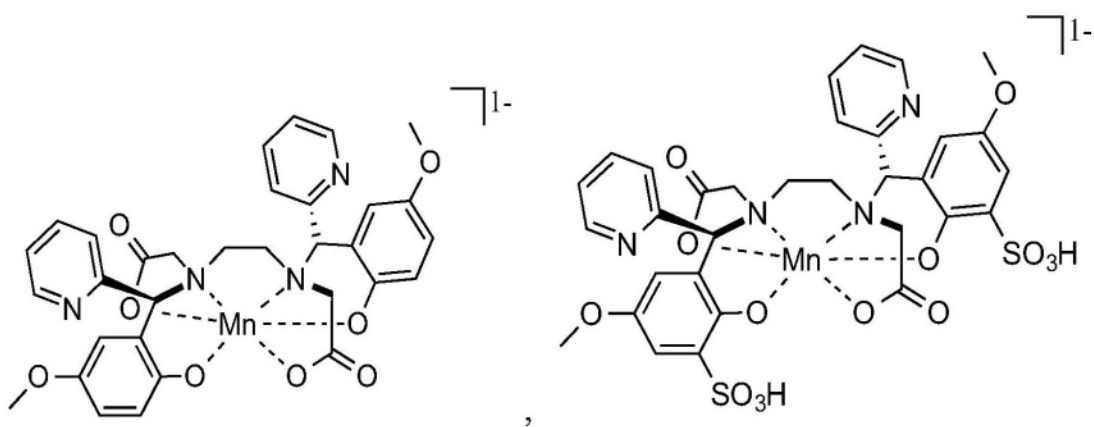
每个 R^x 独立地选自下组,该组由以下组成: OH 、 SH 、 CN 、 NO_2 、卤基、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、和 C_1-C_4 烷基;并且

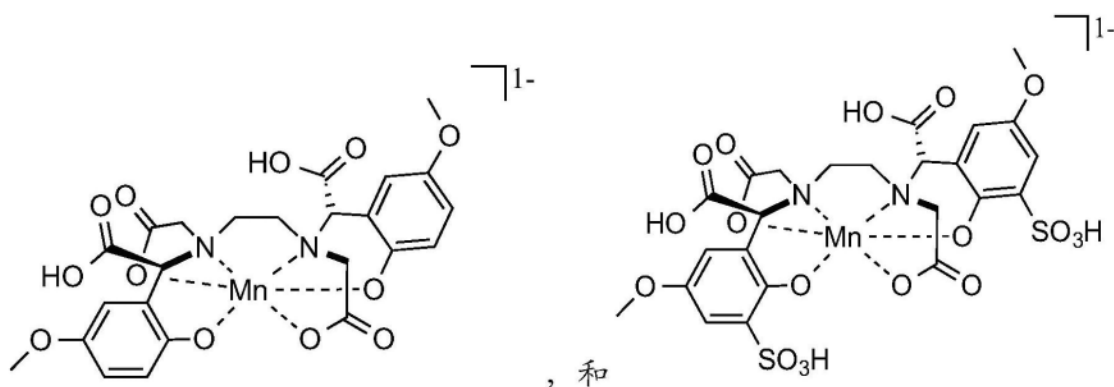
M选自下组,该组由以下组成: $Gd(III)$ 、 $Fe(III)$ 、 $Mn(II)$ 、 $Mn(III)$ 、 $Cr(III)$ 、 $Cu(II)$ 、 $Cu(III)$ 、 $Dy(III)$ 、 $Ho(III)$ 、 $Er(III)$ 、 $Pr(III)$ 、 $Eu(II)$ 、 $Eu(III)$ 、 $Nd(III)$ 、 $La(III)$ 、 $Lu(III)$ 、 $Sm(III)$ 、 $Tb(III)$ 、 $Tb(IV)$ 、 $Tm(III)$ 、 $Y(III)$ 、 $In(III)$ 、 $Ga(III)$ 、 $Tc(III)$ 、 $Tc(IV)$ 、 $Tc(V)$ 、 $Re(III)$ 、 $Re(IV)$ 、 $Re(V)$ 、 $Bi(III)$ 、和 $Yb(III)$;并且

如果 R^2 、 R^3 、或 R^4 中的任一个是式VIII，并且 R^5 和 R^6 是H，则式VIII的相应的含有X和W的环不同于DG。

4. 如权利要求3所述的化合物，其中该化合物选自下组，该组由以下组成：

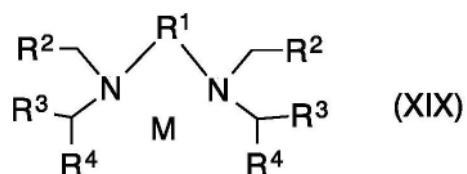






或其药学上可接受的盐。

5. 一种具有式 (XIX) 的化合物:

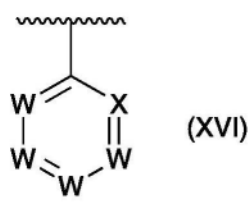


或其药学上可接受的盐,

其中:

R^1 为 C_3 - C_{10} 环亚烷基, 其任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代, 并且其中 R^1 经由 R^1 上的 1, 2 或 1, 3 位置与相邻氮结合;

每个 R^2 、 R^3 、和 R^4 为 CO_2H 或具有以下式的化合物:



其中 X 是 CZ、N、或 NR^4 ;

每个 W 独立地是 CH、CZ、N、或 NR^4 ;

每个 Z 独立地选自: H、OH、 OR^4 、 CO_2H 、或 C_1 - C_6 烷基, 其中该烷基任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代;

每个 R^5 和 R^6 独立地选自下组, 该组由以下组成: H、 C_1 - C_6 烷基、和 $-[L]-[TBM]$, 其中该烷基任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代;

L 是接头;

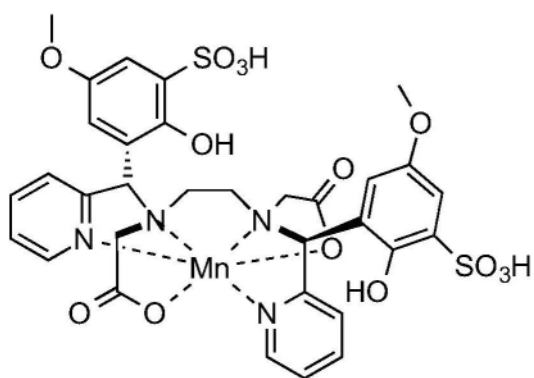
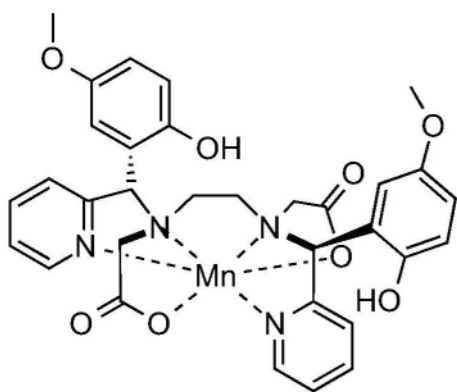
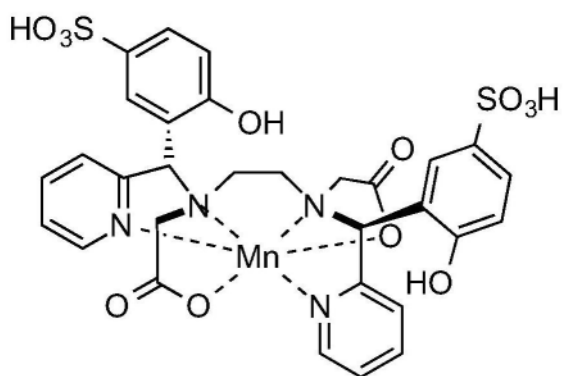
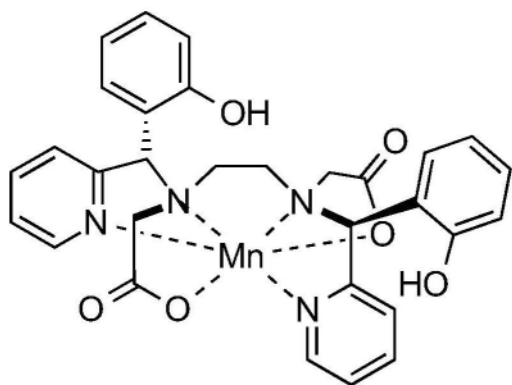
TBM 是靶标结合部分, 其中每个 TBM 独立地选自结合以下物质中的一个或多个的 TBM, 所述物质为: 人血清白蛋白 (HSA); 纤维蛋白; 选自胶原蛋白、弹性蛋白和饰胶蛋白聚糖的心肌的细胞外组分; 选自过氧化物酶和蛋白酶的在炎症或癌症中分泌的细胞外酶; 选自透明质酸 (HA)、肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素、多能蛋白聚糖、双糖链蛋白聚糖、失调的硫醇/二硫化物组合物、跨膜蛋白的蛋白水解片段、纤连蛋白的病变的细胞外组分; 叶酸受体; 玻连蛋白; α -v- β -3 和 α -v- β -5 整合蛋白; 基质金属蛋白酶 (MMPs); 卟啉; 和膦酸盐;

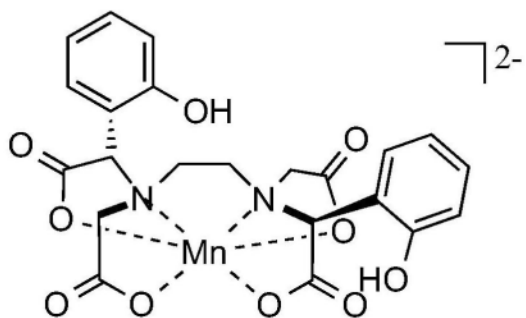
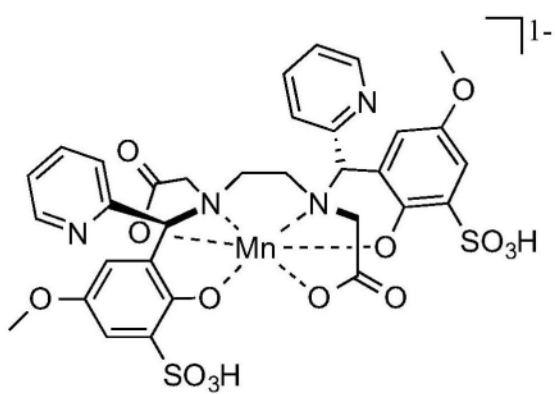
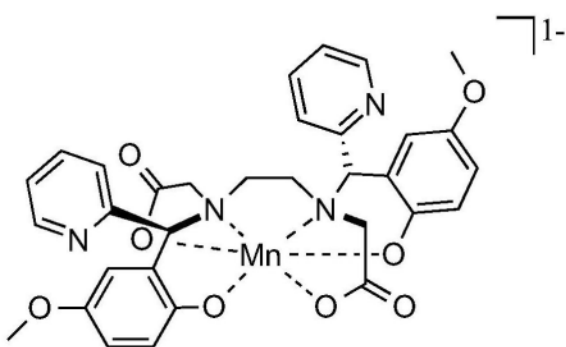
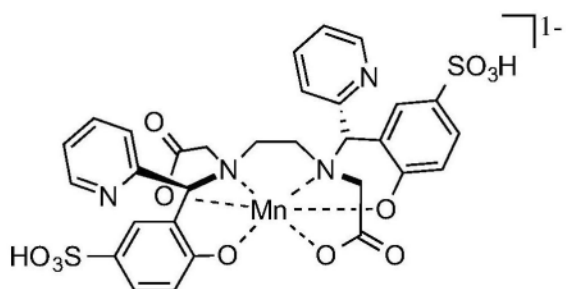
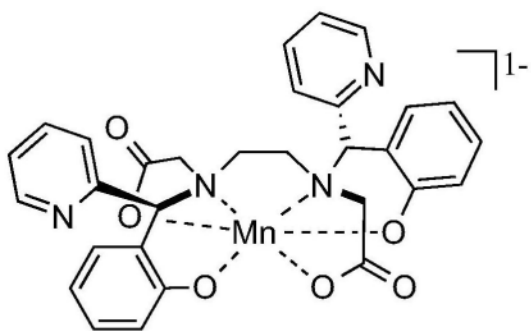
每个 R^X 独立地选自下组, 该组由以下组成: OH、SH、CN、 NO_2 、卤基、氨基、亚硫酰基、亚磺酰

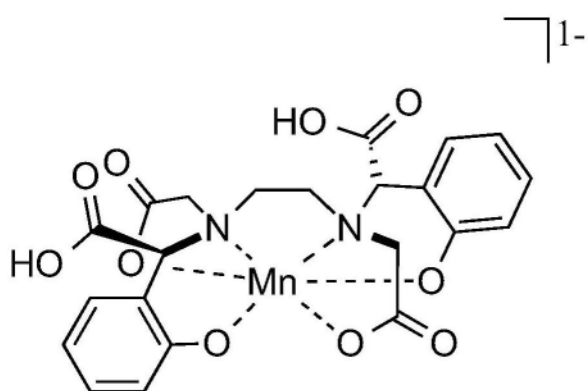
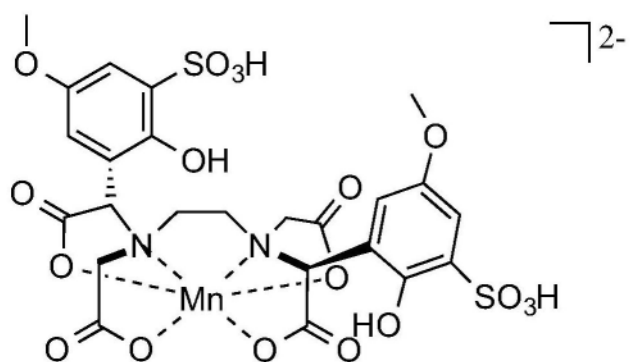
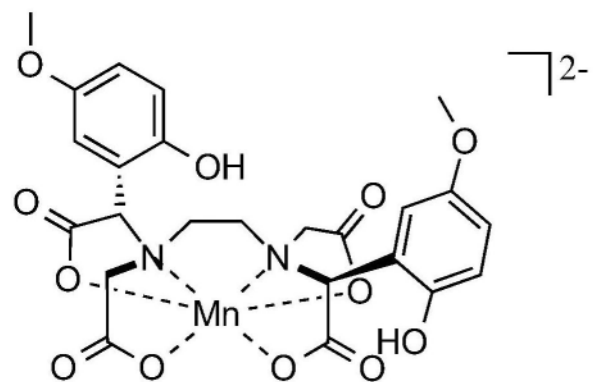
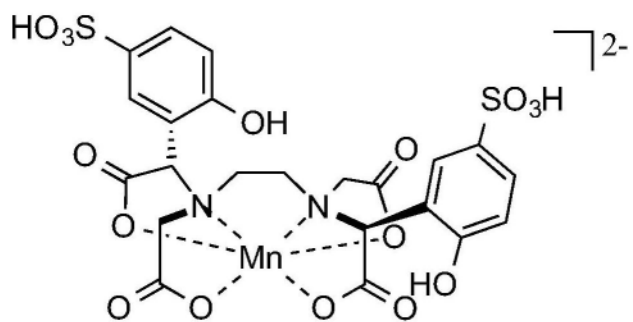
基、磺酰基、磺基、和C₁-C₄烷基；并且

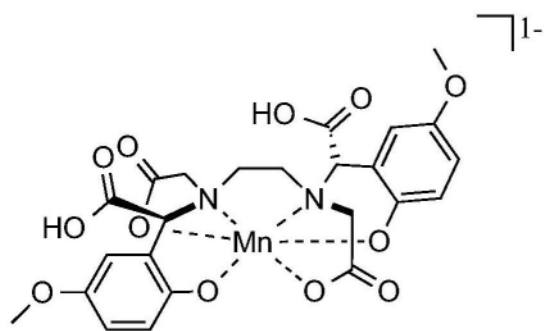
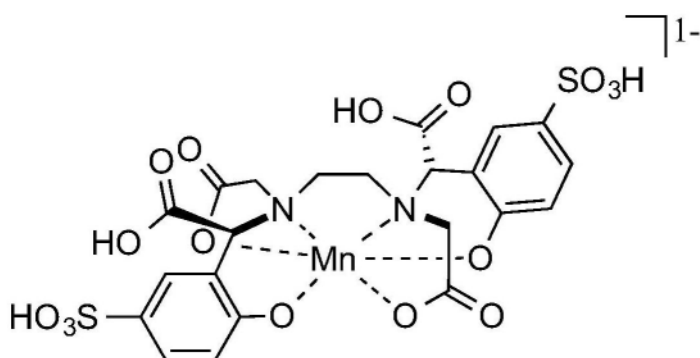
M选自下组，该组由以下组成：Gd (III)、Fe (III)、Mn (II)、Mn (III)、Cr (III)、Cu (II)、Cu (III)、Dy (III)、Ho (III)、Er (III)、Pr (III)、Eu (II)、Eu (III)、Nd (III)、La (III)、Lu (III)、Sm (III)、Tb (III)、Tb (IV)、Tm (III)、Y (III)、In (III)、Ga (III)、Tc (III)、Tc (IV)、Tc (V)、Re (III)、Re (IV)、Re (V)、Bi (III)、和Yb (III)。

6. 如权利要求5所述的化合物，其中该化合物选自下组，该组由以下组成：

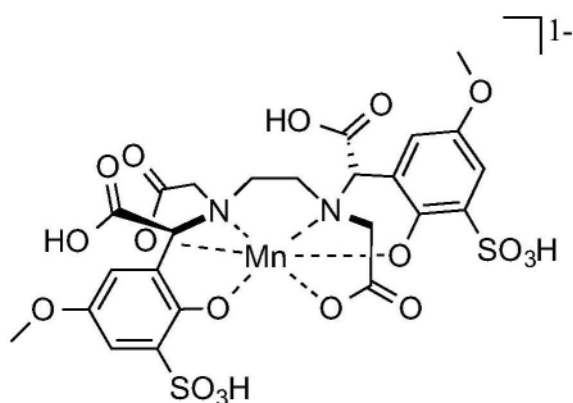








, 和



或其药学上可接受的盐。

7. 一种具有式 (A) 的化合物:



(A)

或其药学上可接受的盐,

其中:

TBM是靶标结合部分,其中每个TBM独立地选自结合以下物质中的一个或多个的TBM,所述物质为:人血清白蛋白(HSA);纤维蛋白;选自胶原蛋白、弹性蛋白和饰胶蛋白聚糖的心肌的细胞外组分;选自过氧化物酶和蛋白酶的在炎症或癌症中分泌的细胞外酶;选自透明质酸(HA)、肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素、多能蛋白聚糖、双糖链蛋白聚糖、失调的硫醇/二硫化物组合物、跨膜蛋白的蛋白水解片段、纤连蛋白的病变的细胞外组分;叶酸受体;玻连蛋白; α -v- β -3和 α -v- β -5整联蛋白;基质金属蛋白酶(MMPs);卟啉;和膦酸盐;

D^1 和 D^2 各自独立地是如权利要求1-6中任一项所述的化合物;

L^1 是接头；

L^2 是接头；

a是从0至4的整数；

b是0或1；

其中如果a是0,b是0；

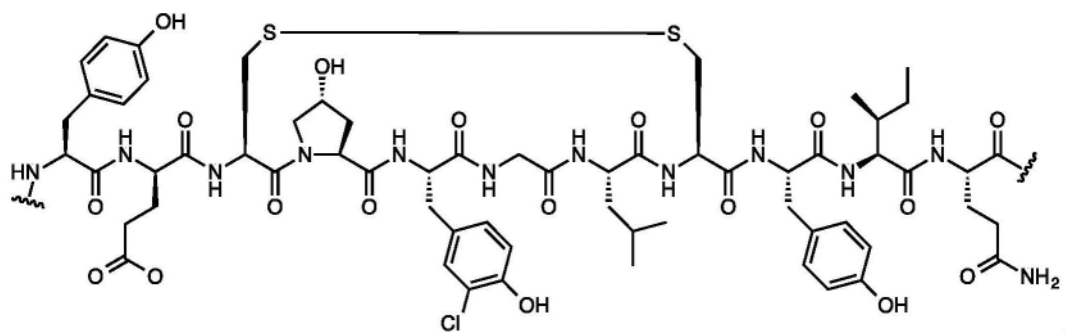
c是0或1；

d是从0至4的整数；

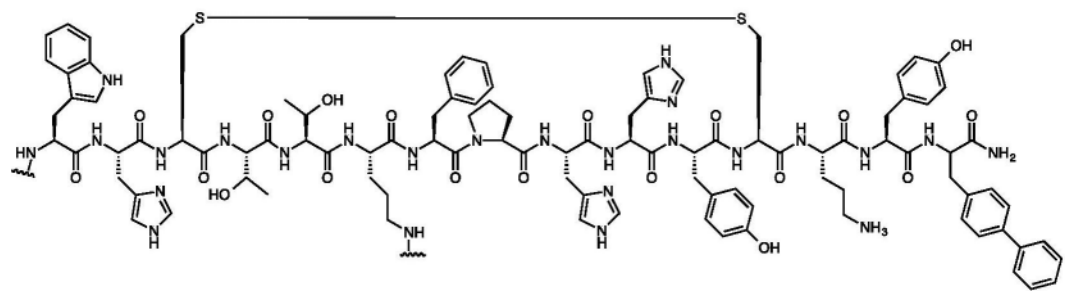
其中如果d是0,c是0；

其中a和d中的至少一个是从1至4的整数。

8. 如权利要求7所述的化合物,其中[TBM]是:

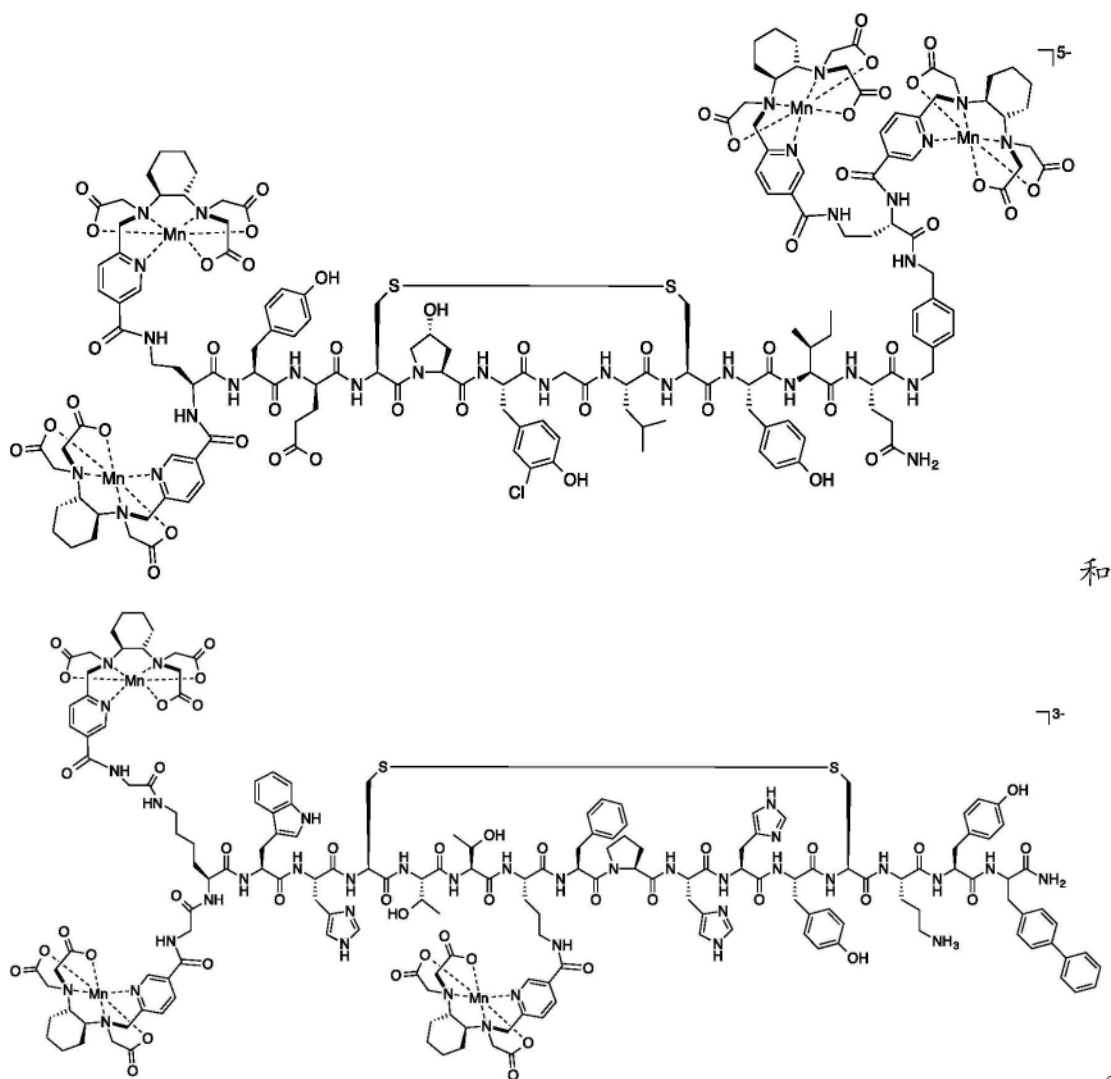


9. 如权利要求7所述的化合物,其中[TBM]是:



10. 如权利要求7所述的化合物,其中 D^1 和 D^2 是根据权利要求1所述的化合物,其中 R^1 是1,2-亚环己基, R^2 是H, R^3 是H,DG是式II,Q是CH,定位 α -至Q的Y是C-[L]-TBM,并且所有其他Y都是CH,并且L是-C(O)-。

11. 如权利要求7所述的化合物,其中该化合物选自下组,该组由以下组成:



12. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法对患者进行磁共振 (MR) 成像的试剂中的用途, 该方法包括:

- 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物; 和
- 采集该患者的MR图像。

13. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法用于对患者中的肿瘤进行成像的试剂中的用途, 该方法包括:

- 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物; 和
- 采集该患者中的肿瘤的MR图像。

14. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法用于对患者中的血凝块进行成像的试剂中的用途, 该方法包括:

- 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物; 和
- 采集该患者中的血凝块的MR图像。

15. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法用于对患者中的脑病变进行成像的试剂中的用途, 该方法包括:

- 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物; 和
- 采集该患者中的脑病变的MR图像。

16. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法用于检测患者中是否存在破坏的血脑屏障的试剂中的用途,该方法包括:

- a) 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物,其中M是Mn(II);
- b) 采集该患者的脑的第一MR图像;
- c) 采集该患者的脑的第二MR图像;和
- d) 将这些图像进行比较。

17. 权利要求1-11中任一项所述的化合物在制备通过以下方法用于检测患者中是否存在动脉狭窄的试剂中的用途,该方法包括:

- a) 向该患者给予有效量的如权利要求1-11中任一项所述的化合物,其中M是Mn(II);
- b) 采集该患者的动脉的第一MR图像;
- c) 在注射该化合物之后立即采集该患者的动脉的第二MR图像;和
- d) 将这些图像进行比较。

用于MR分子成像的基于锰的螯合缀合物

[0001] 本申请是中国专利申请201680054836.7的分案申请,原申请201680054836.7的申请日为2016年08月12日,其名称为“用于MR分子成像的基于锰的螯合缀合物”。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2015年8月13日提交的美国临时申请序列号62/204,519和于2016年6月30日提交的美国临时申请序列号62/356,732的优先权,这些文件的内容通过引用以其全部内容结合在此。

[0004] 联邦资助的研究或开发

[0005] 本发明在受美国国立卫生研究院(National Institutes of Health)授予的政府支持下完成,批准号为R01 CA161221。美国政府享有本发明的一定的权利。

技术领域

[0006] 本发明涉及金属螯合配体,并且更具体地涉及可以作用于磁共振成像的造影剂的这些配体的锰螯合络合物。

[0007] 发明背景

[0008] 目前在磁共振(MR)中使用的许多金属螯合配体是被设计用于镧系元素(III)离子如钆(III)的螯合的聚氨基聚羧酸酯金属结合螯合配体。所有可商购的MR造影配制品都含有钆(III)的金属-螯合化合物。然而,近十年来,在接受含有钆(III)的MR造影配制品的患者中,人们越来越多地意识到钆(III)诱导的毒性。这种毒性表现为肾源性系统性纤维化(NSF)。经历慢性肾病的患者对钆(III)诱导的NSF尤其易感,并且通常不向患有严重慢性肾病的患者给予MR造影配制品。为避免钆(III)相关的毒性的可能性,因此鉴定不含钆(III)的MR造影剂将是有用的。

[0009] 有效的造影剂必须含有若干个特征。它应该有很高的弛豫率以产生图像对比度。弛豫率是金属螯合物弛豫水质子的能力,并且被定义为水的弛豫速率除以螯合物的毫摩尔浓度的变化。弛豫率取决于许多分子因素。对于高弛豫率,使用具有高自旋量子数的金属离子是有利的;具有一个或多个与金属离子直接结合的水分子是有利的;并且结合的水分子应该与溶剂中的其他水分子经受非常快速的化学交换。大多数金属离子在提供MR造影所需的浓度下是有毒的。因此,金属离子应该与具有足够稳定性的多齿配体螯合,以防止金属离子被大量释放到体内。

[0010] 鉴定形成高弛豫率化合物的金属螯合配体也是有价值的,这些高弛豫率化合物在生化靶标的存在下结合生化靶标或改变弛豫率。在非结合形式的化合物经由排泄被清除后,结合生化靶标的化合物使得在延迟期检测靶标蛋白质、酶或细胞成为可能。在生化靶标的存在下改变弛豫率的化合物将提供靶标场所MRI信号强度的变化。用MRI来检测生物化学过程中的变化的能力将提供非侵入性手段来分期或监测疾病状态(例如癌症、炎症、纤维化和血栓形成)的进展。此类化合物和成像方法也将提供追踪治疗反应的非侵入性手段。

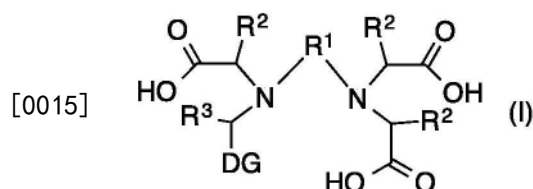
发明内容

[0011] 本披露基于螯合配体的一种或多种修饰以在生化靶标的存在下结合生化靶标或增强所得的金属螯合物的弛豫率,或提供所得的金属螯合物的另外稳定性来防止金属离子在体内解离。这些修饰包括:改变供体基团(直接与金属离子配位的官能团)、引入在第二配位层组成水(例如通过氢键)的基团、引入促进水与金属离子的交换开启或关闭的基团、引入通过增加分子量或通过金属螯合物靶向大分子(例如蛋白质)来减缓分子翻转的基团、和引入支持或促进金属氧化态改变的基团。供体基团可以包括许多官能度,以利用高弛豫率机制(包括:通过举例,经由结合大分子靶标来增强弛豫率,或响应于酶活性来改变氧化态)。

[0012] 用螯合配体制备的金属螯合物可以用技术(包括在不同磁场和温度下的弛豫率测量,和可变温度 ^{17}O NMR测量)来检测。

[0013] 最后,螯合配体可以用于制备放射性金属离子的诊断和/或治疗组合物。

[0014] 在此提供的是具有式(I)的化合物:



[0016] 或其药学上可接受的盐,

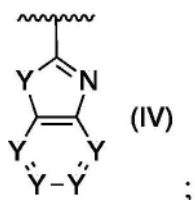
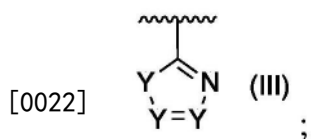
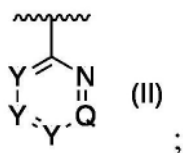
[0017] 其中:

[0018] R^1 选自下组,该组由以下组成: C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1 - C_6)二烷基(C_6 - C_{10} 亚芳基)、和(C_1 - C_6)二烷基(5-10元杂亚芳基),其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代,并且其中 R^1 经由 R^1 上的1,2或1,3位置与相邻氮结合;

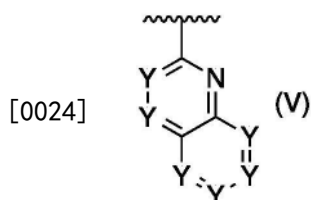
[0019] 每个 R^2 和 R^3 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 CO_2H 、(C_1 - C_6 烷基) CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $\text{P}(\text{R}^4)\text{O}_2\text{R}^5$ 、 $\text{PO}_3\text{R}^4\text{R}^5$ 、和 $[\text{L}]-[\text{TBM}]$;

[0020] 每个 R^4 和 R^5 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 C_1 - C_6 烷基、和 $[\text{L}]-[\text{TBM}]$,其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代;

[0021] DG 选自下组,该组由以下组成:



[0023] 和



[0025] 或任何具有式IV和V的构造异构体,其中

[0026] 每个Y独立地是CH、CZ、N、O、S或NR⁴;

[0027] Q是CH、CZ、N、O、S或NR⁴;

[0028] 每个Z独立地选自下组,该组由以下组成:H、OH、OR⁴、CO₂R⁴、-(C₁₋₆烷基)CO₂H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₄₋₆环烷基、C₆₋₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁴R⁵、CH₂NHCO⁴R⁴、C(O)N(OH)R⁴、C(O)NHSO₂R⁴、CH₂NHSO₂R⁴、N(OH)C(O)R⁴、P(R⁴)O₂R⁵、PO₃R⁴R⁵、和-[L]-[TBM],其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的R^x基团取代;

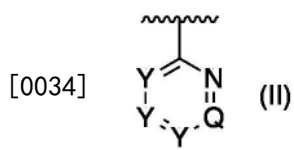
[0029] L是接头;

[0030] TBM是靶标结合部分;并且

[0031] 每个R^x独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄氰基烷基、C₁₋₄羟基烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₄氨基烷基、二(C₁₋₄烷基)氨基、C₁₋₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃₋₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁₋₄烷基)苯基、和-[L]-[TBM];

[0032] 其中如果Q是CH或CCOOH,并且所有Y都是CH,则R²或R³中的至少一个不是H。

[0033] 在一些实施例中,DG是:

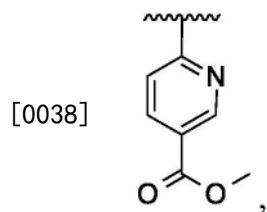


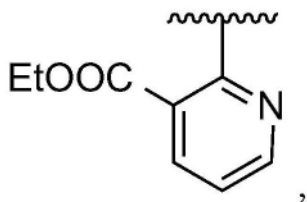
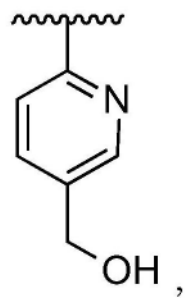
[0035] 在一些实施例中,Q是CH。在一些实施例中,Y是CH。在一些实施例中,至少一个Y是

CZ, 其中Z选自下组, 该组由以下组成: CO_2R^4 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、和 OR^4 。在一些实施例中, 一个Y是CZ, 其中Z选自下组, 该组由以下组成: CO_2R^4 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、和 OR^4 , 并且所有其他Y是CH。在一些实施例中, 每个 R^4 是H或 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基, 其中该烷基任选地被1、2、3、或4个OH基团取代。

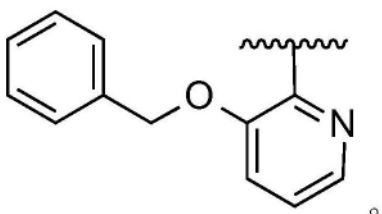
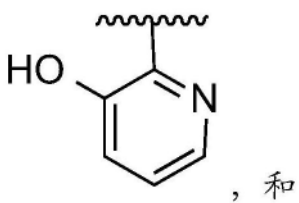
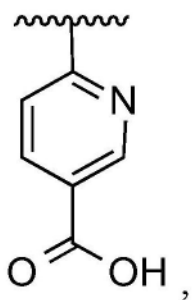
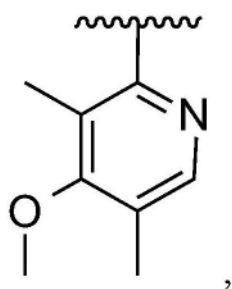
[0036] 在一些实施例中, R^2 和 R^3 是H。

[0037] 在一些实施例中, DG选自下组, 该组由以下组成:





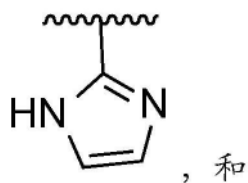
[0039]



[0040] 在一些实施例中,DG是

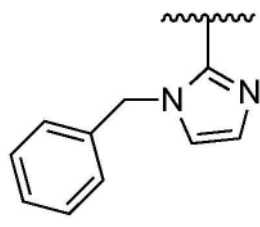
[0041]  (III) 例如,其中至少一个Y是N、O、S或NR⁴。在一些实施例中,一个Y是NR⁴并

且剩余的Y是CH。例如,DG选自下组,该组由以下组成:



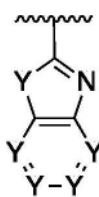
, 和

[0042]



,

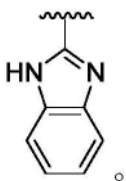
[0043] 在一些实施例中,DG是:



[0044]

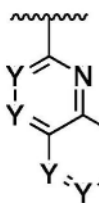
(IV) 在一些实施例中,至少一个Y是N、O、S或NR⁴。例如,一个Y是NR⁴并且剩

余的Y是CH。在一些实施例中,DG是:



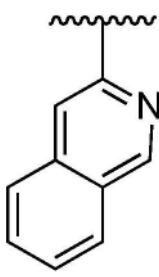
[0045]

[0046] 在一些实施例中,DG是:



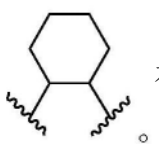
[0047]

(V) 例如,DG是:



[0048]

[0049] 在一些实施例中,R¹是C₃-C₁₀环亚烷基。例如,R¹是C₆环亚烷基。在一些实施例中,R¹是:



[0050]

在一些实施例中,R¹是C₁-C₆亚烷基。例如,R¹是C₂亚烷基。在一些实施例

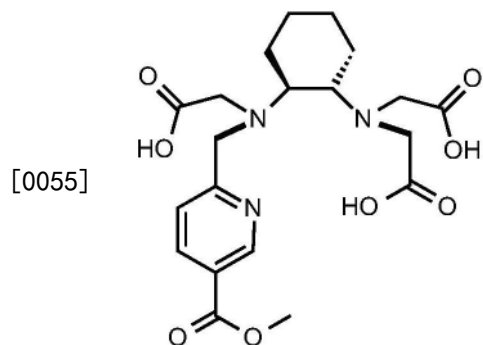
中,R¹是:

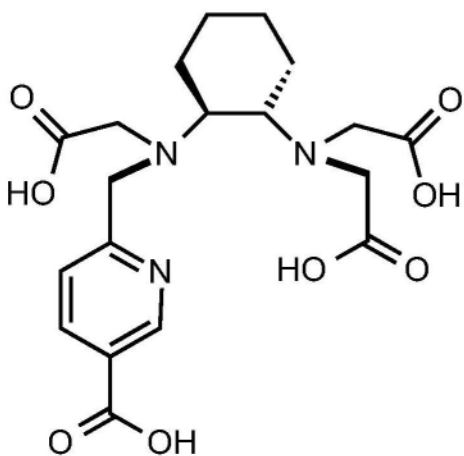
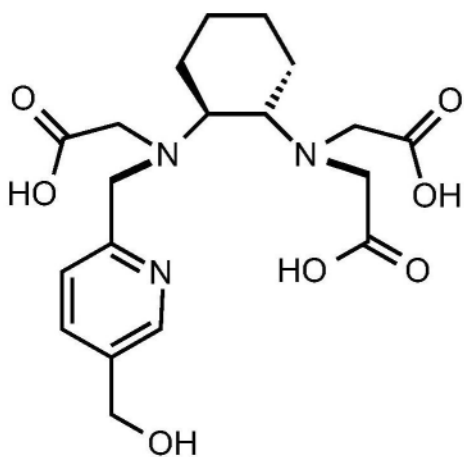


[0052] 在一些实施例中, R^2 是 H。

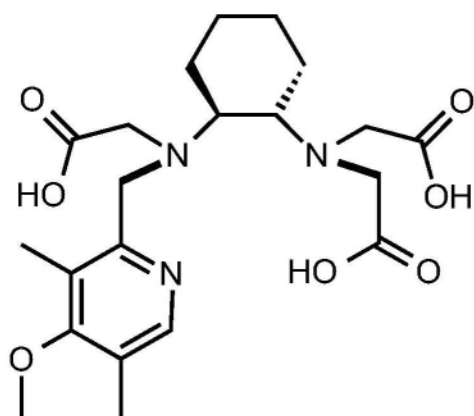
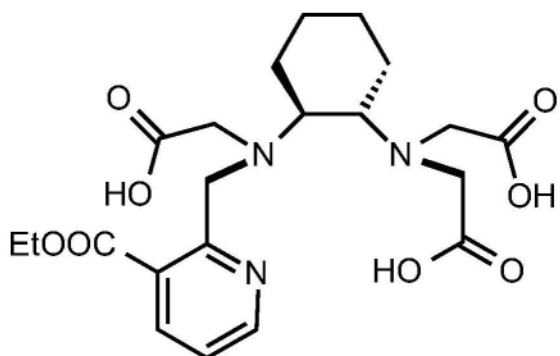
[0053] 在一些实施例中, R^3 是 H。

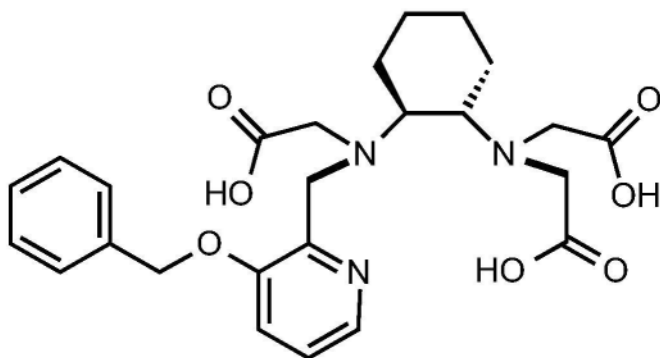
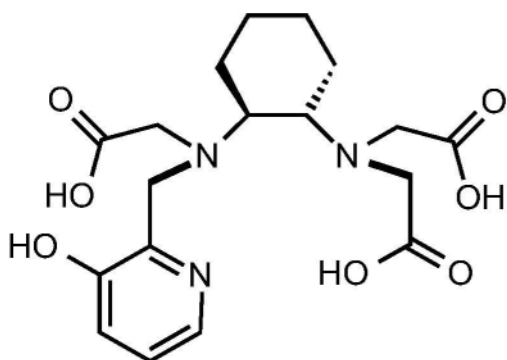
[0054] 在一些实施例中, 具有式 (I) 的化合物选自下组, 该组由以下组成:



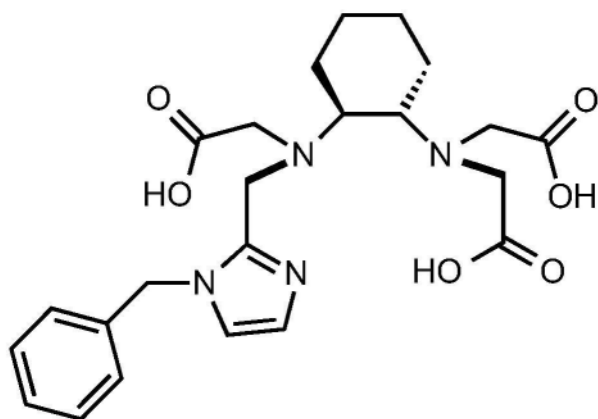
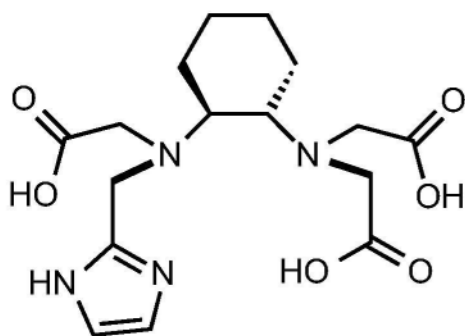


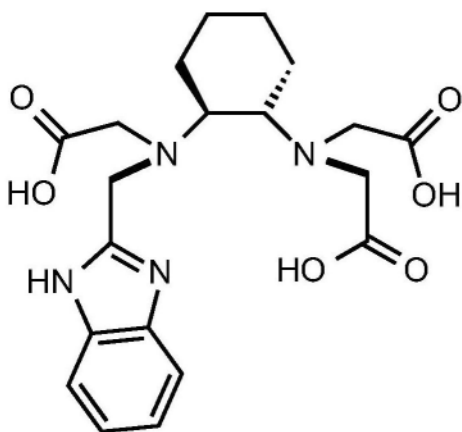
[0056]





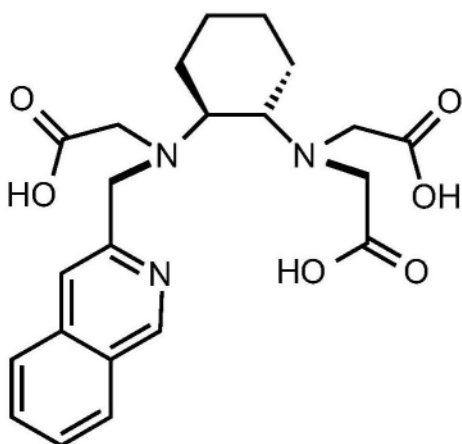
[0057]





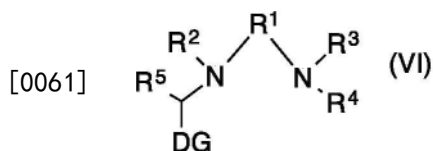
, 和

[0058]



[0059] 或其药学上可接受的盐。

[0060] 还在此提供的是具有式的 (VI) 的化合物:

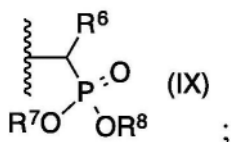
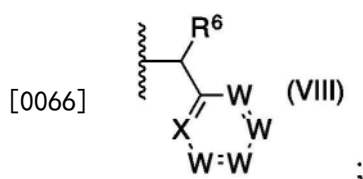
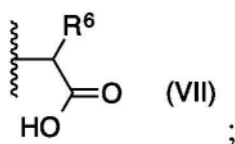


[0062] 或其药学上可接受的盐,

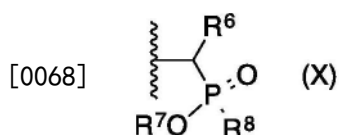
[0063] 其中:

[0064] R^1 选自下组, 该组由以下组成: C_2-C_6 亚烷基、 C_3-C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6-C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1-C_6) 二烷基 (C_6-C_{10} 亚芳基)、和 (C_1-C_6) 二烷基 (5-10元杂亚芳基), 其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代, 并且其中 R^1 经由 R^1 上的1,2或1,3位置与相邻氮结合;

[0065] R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自具有以下式的化合物的组:



[0067] 以及



[0069] R^5 和 R^6 独立地选自下组,该组由以下组成:H、 CO_2H 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基})\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{烯基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{炔基}$ 、 $\text{C}_4\text{-C}_6\text{环烷基}$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基}$ 、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^7$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^7$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^7$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^7$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ 、 $\text{P}(\text{R}^7)\text{O}_2\text{R}^8$ 、 $\text{PO}_3\text{R}^7\text{R}^8$ 、和 $[\text{L}]-[\text{TBM}]$;

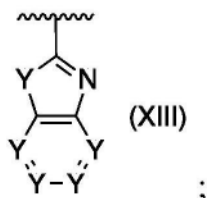
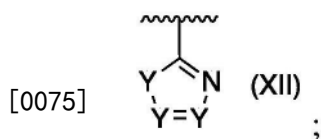
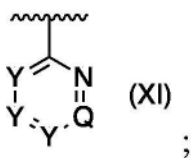
[0070] X是CZ、N、O、S或 NR^7 ;

[0071] 每个W独立地是CH、CZ、N、O、S或 NR^7 ;

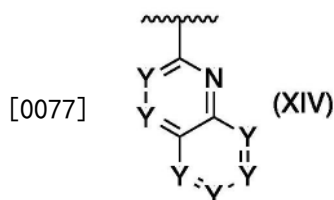
[0072] 每个Z独立地选自:H、OH、 OR^4 、 CO_2H 、 $-(\text{C}_{1-6}\text{烷基})\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{烯基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{炔基}$ 、 $\text{C}_4\text{-C}_6\text{环烷基}$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基}$ 、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $\text{P}(\text{R}^4)\text{O}_2\text{R}^5$ 、 $\text{PO}_3\text{R}^4\text{R}^5$ 、和 $[\text{L}]-[\text{TBM}]$,其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代;

[0073] 每个 R^7 和 R^8 独立地选自下组,该组由以下组成:H、 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、和 $[\text{L}]-[\text{TBM}]$,其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^x 基团取代;

[0074] DG选自下组,该组由以下组成:



[0076] 以及



[0078] 或任何具有式XIII-XIV的构造异构体,

[0079] 其中每个Y独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁷;

[0080] Q独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁷;

[0081] 每个Z¹独立地选自:H、OH、OR⁴、CO₂H、-(C₁₋₆烷基)CO₂H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₄₋₆环烷基、C₆₋₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁴R⁵、CH₂NHCOR⁴、C(O)N(OH)R⁴、C(O)NHSO₂R⁴、CH₂NHSO₂R⁴、N(OH)C(O)R⁴、P(R⁴)O₂R⁵、PO₃R⁴R⁵、和-[L]-[TBM], 其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的R^x基团取代;

[0082] L是接头;

[0083] TBM是靶标结合部分;并且

[0084] 每个R^x独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酸基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄氰基烷基、C₁₋₄羟基烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₄氨基烷基、二(C₁₋₄烷基)氨基、C₁₋₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃₋₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁₋₄烷基)苯基、和-[L]-[TBM];

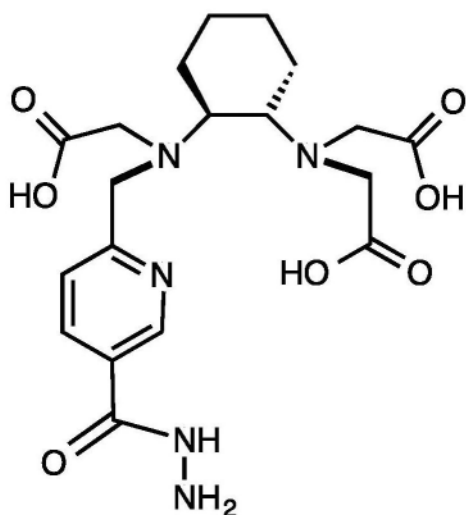
[0085] 其中如果Q是CH或CCOOH,所有Y都是CH,并且所有R²、R³、和R⁴都是式VII,则R⁵或R⁶中的至少一个不是H;并且

[0086] 如果R²、R³、或R⁴中的一个式VIII,并且所有R⁵和R⁶都是H,则具有式VIII的芳香族环组分(即含有X和W的环)必须不同于DG。

[0087] 在一些实施例中,R¹是1,2-亚环己基,R²、R³、和R⁴是式VII,R⁵和R⁶是H,并且DG是式XI,并且一个Y是[L]-[TBM],其中[L]是-C(O)-并且[TBM]是-NHNH₂。

[0088] 在一些实施例中,具有式(VI)的化合物是:

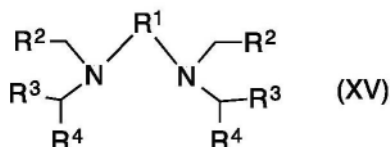
[0089]



[0090] 或其药学上可接受的盐。

[0091] 进一步在此提供的是具有式 (XV) 的化合物：

[0092]



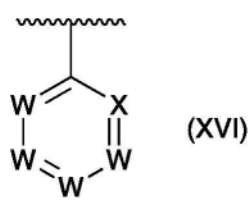
[0093] 或其药学上可接受的盐，

[0094] 其中：

[0095] R^1 选自下组，该组由以下组成： C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10 元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10 元杂亚芳基、(C_1 - C_6) 二烷基 (C_6 - C_{10} 亚芳基)、和 (C_1 - C_6) 二烷基 (5-10 元杂亚芳基)，其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代，并且其中 R^1 经由 R^1 上的 1, 2 或 1, 3 位置与相邻氮结合；

[0096] 每个 R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自下组，该组由以下组成： CO_2H 、 $(C(O)NR^5R^6)$ 、 CH_2NHCOR^5 、 $C(O)N(OH)R^5$ 、 $C(O)NHSO_2R^5$ 、 $CH_2NHSO_2R^5$ 、 $N(OH)C(O)R^5$ 、 $P(R^5)O_2R^6$ 、和 $PO_3R^5R^6$ ，和具有以下式的化合物：

[0097]

[0098] 其中 X 是 CZ、N、O、S、或 NR^5 ；[0099] 每个 W 独立地是 CH、CZ、N、O、S、或 NR^5 ；

[0100] 每个 Z 独立地选自： H 、 OH 、 OR^4 、 CO_2H 、 $-(C_{1-6} \text{ 烷基})CO_2H$ 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6 元杂环基、5-6 元杂芳基、 $C(O)NR^5R^6$ 、 CH_2NHCOR^5 、 $C(O)N(OH)R^5$ 、 $C(O)NHSO_2R^5$ 、 $CH_2NHSO_2R^5$ 、 $N(OH)C(O)R^5$ 、 $P(R^5)O_2R^6$ 、 $PO_3R^5R^6$ 、和 $-[L]-[TBM]$ ，其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代；

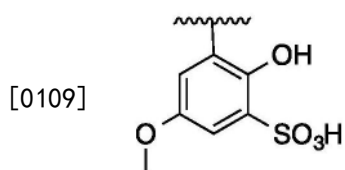
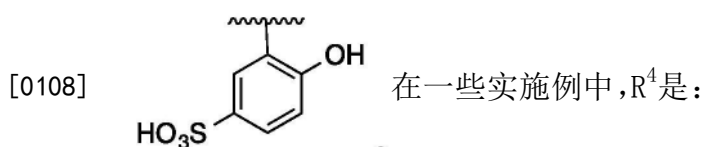
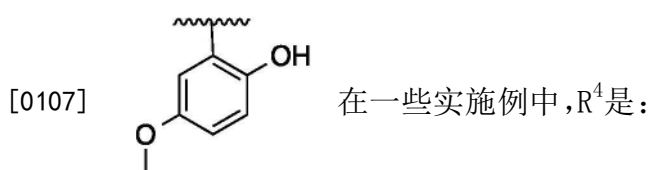
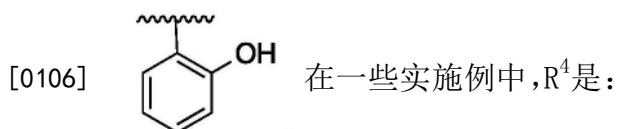
[0101] 每个 R^5 和 R^6 独立地选自下组，该组由以下组成： H 、 C_1 - C_6 烷基、和 $-[L]-[TBM]$ ，其中该烷基任选地被 1、2、3、或 4 个独立选择的 R^X 基团取代；

[0102] L是接头;

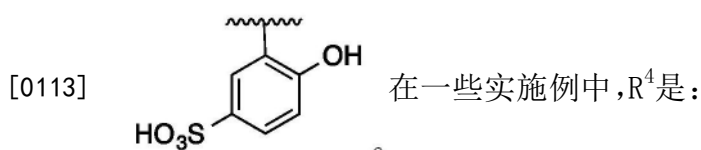
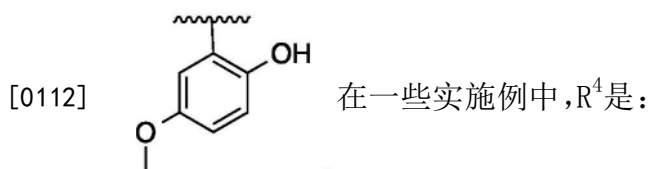
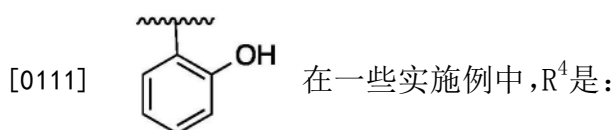
[0103] TBM是靶标结合部分;并且

[0104] 每个 R^X 独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₂-C₄炔基、C₁-C₄卤代烷基、C₁-C₄氰基烷基、C₁-C₄羟基烷基、C₁-C₄烷氧基、C₁-C₄氨基烷基、二(C₁-C₄烷基)氨基、C₁-C₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃-C₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁-C₄烷基)苯基、和-[L]-[TBM]。

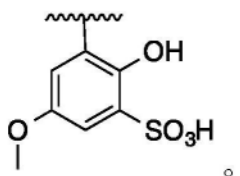
[0105] 在一些实施例中, R^1 是1,2-乙烯, R^2 是COOH, R^3 是式XVI,其中X是N且所有W都是CH,并且 R^4 选自具有式XVI的化合物。例如, R^4 是:



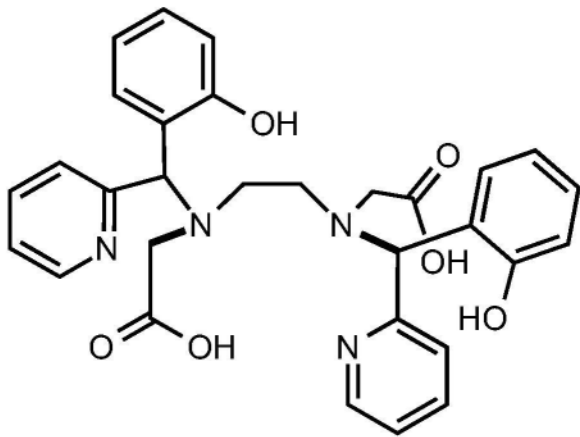
[0110] 在一些实施例中, R^1 是1,2-乙烯, R^2 是COOH, R^3 是COOH,并且 R^4 选自具有式XVI的化合物。例如, R^4 是:



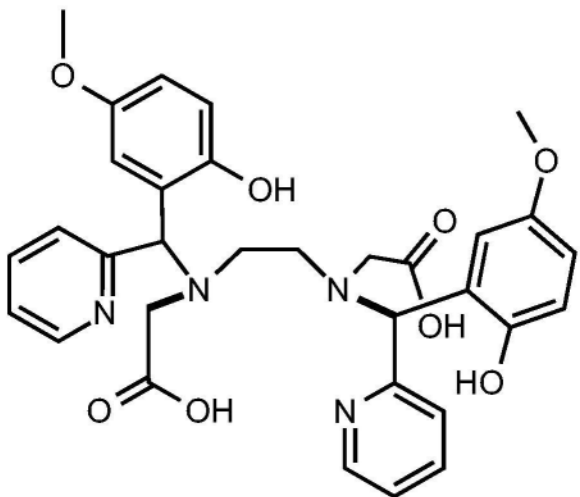
[0114]

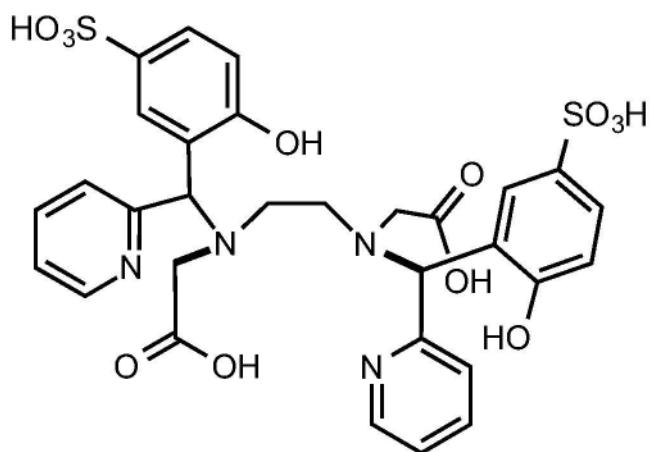


[0115] 在一些实施例中,具有式 (XV) 的化合物选自下组,该组由以下组成:

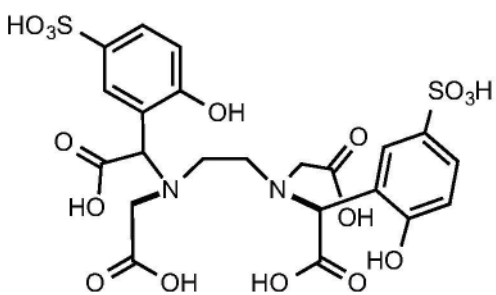
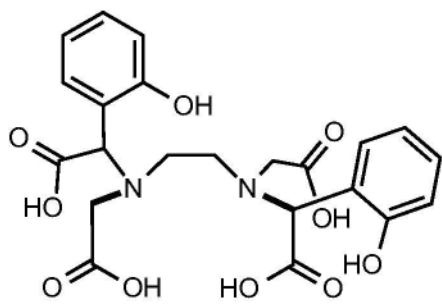
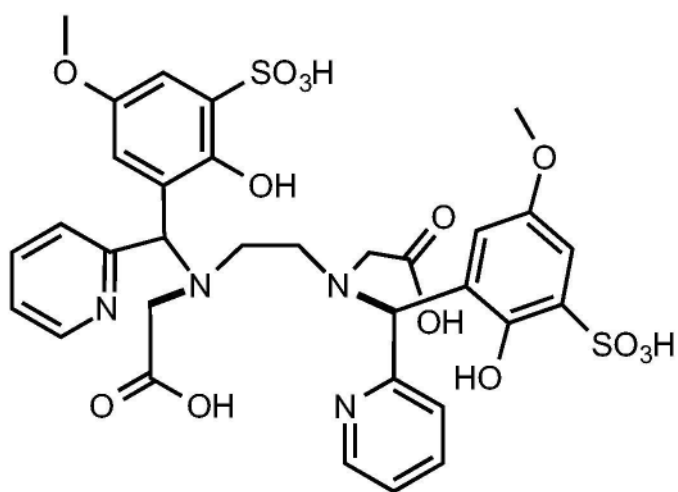


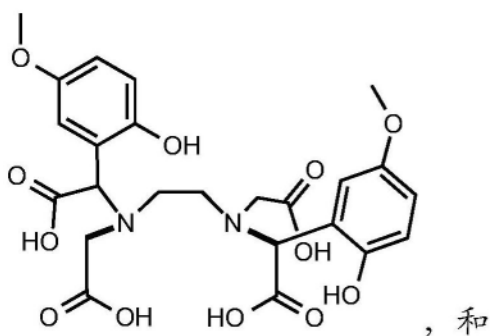
[0116]



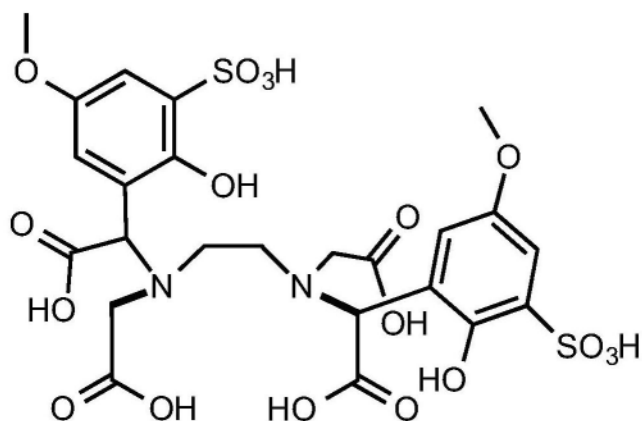


[0117]





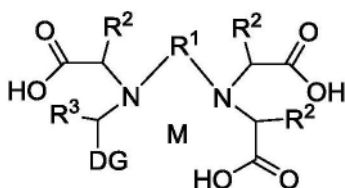
[0118]



[0119] 或其药学上可接受的盐。

[0120] 还在此提供的是具有式 (XVII) 的化合物：

[0121]



[0122] 或其药学上可接受的盐，

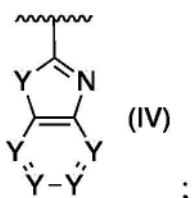
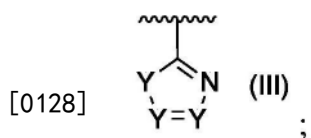
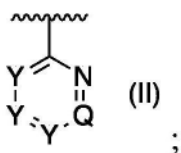
[0123] 其中：

[0124] R^1 选自下组，该组由以下组成： C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1 - C_6)二烷基 (C_6 - C_{10} 亚芳基)、和 (C_1 - C_6)二烷基 (5-10元杂亚芳基)，其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代，并且其中 R^1 经由 R^1 上的1,2或1,3位置与相邻氮结合；

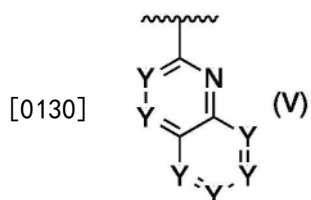
[0125] 每个 R^2 和 R^3 独立地选自下组，该组由以下组成： H 、 CO_2H 、(C_1 - C_6 烷基) CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^4R^5$ 、 CH_2NHCOR^4 、 $C(O)N(OH)R^4$ 、 $C(O)NHSO_2R^4$ 、 $CH_2NHSO_2R^4$ 、 $N(OH)C(O)R^4$ 、 $P(R^4)O_2R^5$ 、 $PO_3R^4R^5$ 、和 $[L]-[TBM]$ ；

[0126] 每个 R^4 和 R^5 独立地选自下组，该组由以下组成： H 、 C_1 - C_6 烷基、和 $[L]-[TBM]$ ，其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代；

[0127] DG 选自下组，该组由以下组成：



[0129] 以及



[0131] 或任何具有式IV和V的构造异构体,其中

[0132] 每个Y独立地是CH、CZ、N、O、S、或NR⁴;

[0133] Q是CH、CZ、N、O、S、或NR⁴;

[0134] 每个Z独立地选自下组,该组由以下组成:H、OH、OR⁴、CO₂H、- (C₁₋₆烷基) CO₂H、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₄-C₆环烷基、C₆-C₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁴R⁵、CH₂NHCOR⁴、C(O)N(OH)R⁴、C(O)NHSO₂R⁴、CH₂NHSO₂R⁴、N(OH)C(O)R⁴、P(R⁴)O₂R⁵、PO₃R⁴R⁵、和-[L]-[TBM],其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的R^x基团取代;

[0135] L是接头;

[0136] TBM是靶标结合部分;

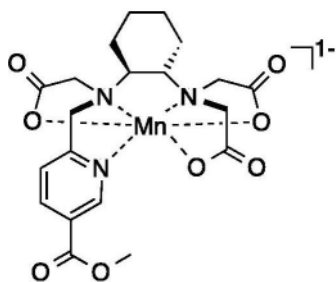
[0137] 每个R^x独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酸基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₂-C₄炔基、C₁-C₄卤代烷基、C₁-C₄氰基烷基、C₁-C₄羟基烷基、C₁-C₄烷氧基、C₁-C₄氨基烷基、二(C₁-C₄烷基)氨基、C₁-C₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃-C₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁-C₄烷基)苯基、和-[L]-[TBM];并且

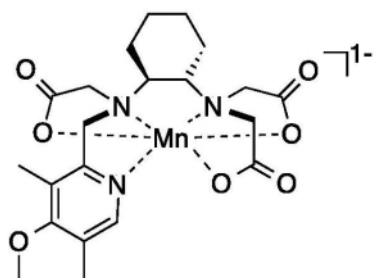
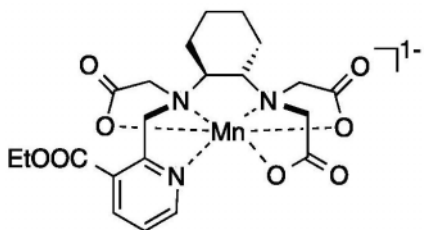
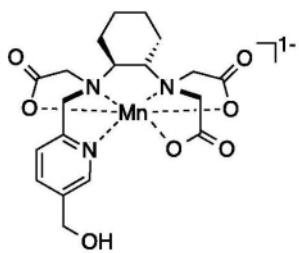
[0138] M选自下组,该组由以下组成:Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Mn(III)、Cr(III)、Cu(II)、Cu(III)、Dy(III)、Ho(III)、Er(III)、Pr(III)、Eu(II)、Eu(III)、Nd(III)、La(III)、Lu(III)、Sm(III)、Tb(III)、Tb(IV)、Tm(III)、Y(III)、In(III)、Ga(III)、Tc(III)、Tc(IV)、Tc(V)、Re(III)、Re(IV)、Re(V)、Bi(III)、和Yb(III);

[0139] 其中,如果Q是CH或CCOOH并且所有Y都是CH,则R²或R³中的至少一个不是H。

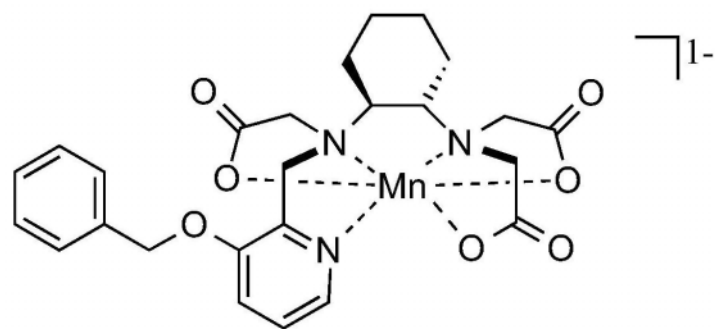
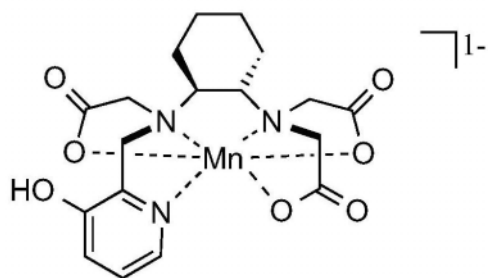
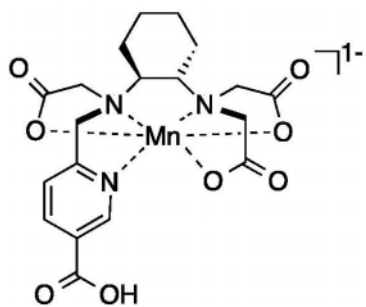
[0140] 在一些实施例中,具有式(XVII)的化合物选自下组,该组由以下组成:

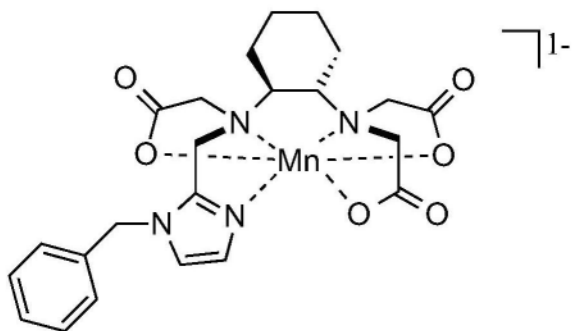
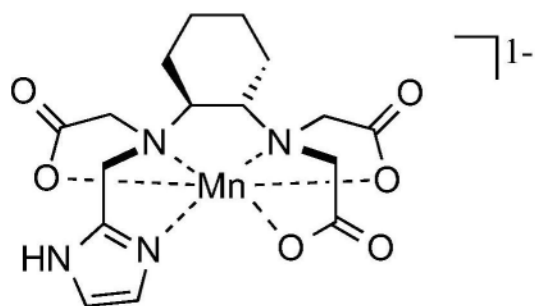
[0141]



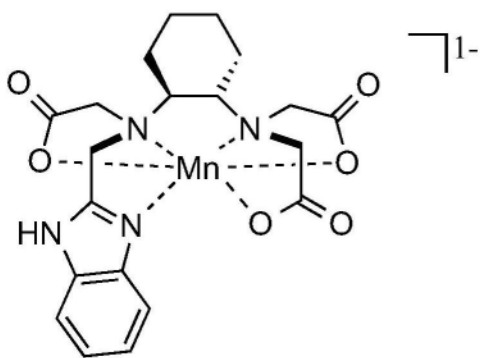


[0142]

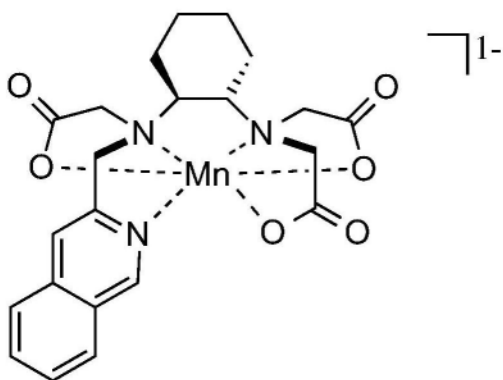




[0143]

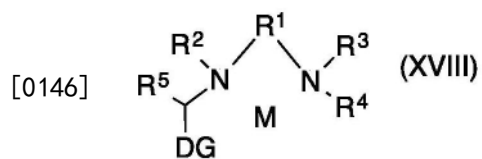


, 和



[0144] 或其药学上可接受的盐。

[0145] 进一步在此提供的是具有式 (XVIII) 的化合物：

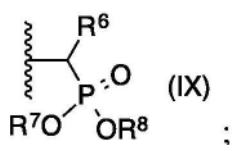
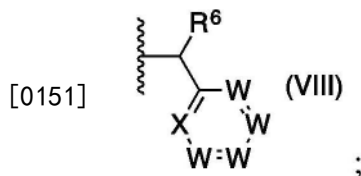
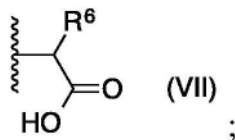


[0147] 或其药学上可接受的盐，

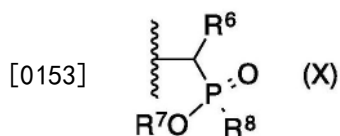
[0148] 其中：

[0149] R^1 选自下组,该组由以下组成: C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1 - C_6)二烷基(C_6 - C_{10} 亚芳基)、和(C_1 - C_6)二烷基(5-10元杂亚芳基),其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代,并且其中 R^1 经由 R^1 上的1,2或1,3位置与相邻氮结合;

[0150] R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自具有以下式的化合物的组:



[0152] 和



[0154] R^5 和 R^6 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 CO_2H 、(C_1 - C_6 烷基) CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^7R^8$ 、 CH_2NHCOR^7 、 $C(O)N(OH)R^7$ 、 $C(O)NHSO_2R^7$ 、 $CH_2NHSO_2R^7$ 、 $N(OH)C(O)R^7$ 、 $P(R^7)O_2R^8$ 、 $PO_3R^7R^8$ 、和 $[L]$ - $[TBM]$;

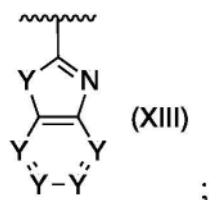
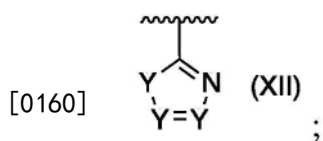
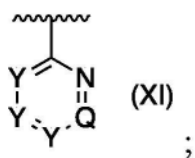
[0155] X 是 CZ 、 N 、 O 、或 S 、或 NR^7 ;

[0156] 每个 W 独立地是 CH 、 CZ 、 N 、 O 、 S 、或 NR^7 ;

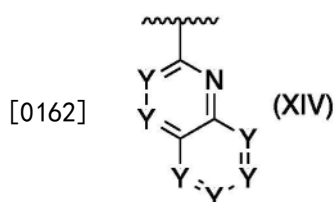
[0157] 每个 Z 独立地选自: H 、 OH 、 OR^4 、 CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 $(C_1$ - C_6 烷基) CO_2H 、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^7R^8$ 、 CH_2NHCOR^7 、 $C(O)N(OH)R^7$ 、 $C(O)NHSO_2R^7$ 、 $CH_2NHSO_2R^7$ 、 $N(OH)C(O)R^7$ 、 $P(R^7)O_2R^8$ 、 $PO_3R^7R^8$ 、和 $[L]$ - $[TBM]$,其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代;

[0158] 每个 R^7 和 R^8 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 C_1 - C_6 烷基、和 $[L]$ - $[TBM]$,其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代;

[0159] DG 选自下组,该组由以下组成:



[0161] 和



[0163] 或任何具有式XIII-XIV的构造异构体,

[0164] 其中每个Y独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁷;

[0165] Q独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁷;

[0166] 每个Z¹独立地选自:H、OH、OR⁷、CO₂H、-(C₁₋₆烷基)CO₂H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₄₋₆环烷基、C₆₋₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁷R⁸、CH₂NHCOR⁷、C(O)N(OH)R⁷、C(O)NHSO₂R⁷、CH₂NHSO₂R⁷、N(OH)C(O)R⁷、P(R⁷)O₂R⁸、PO₃R⁷R⁸、和-[L]-[TBM], 其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的R^x基团取代;

[0167] L是接头;

[0168] TBM是靶标结合部分;

[0169] 每个R^x独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酸基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄氰基烷基、C₁₋₄羟基烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₄氨基烷基、二(C₁₋₄烷基)氨基、C₁₋₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃₋₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁₋₄烷基)苯基、和-[L]-[TBM];并且

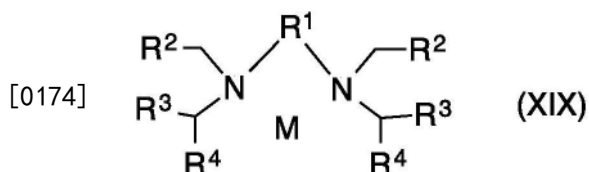
[0170] M选自下组,该组由以下组成:Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Mn(III)、Cr(III)、Cu(II)、Cu(III)、Dy(III)、Ho(III)、Er(III)、Pr(III)、Eu(II)、Eu(III)、Nd(III)、La(III)、Lu(III)、Sm(III)、Tb(III)、Tb(IV)、Tm(III)、Y(III)、In(III)、Ga(III)、Tc(III)、Tc(IV)、Tc(V)、Re(III)、Re(IV)、Re(V)、Bi(III)、和Yb(III);并且

[0171] 其中如果Q是CH或CCOOH,所有Y都是CH,并且所有R²、R³、和R⁴都是式VII,则R⁵或R⁶中的至少一个不是H;并且

[0172] 如果R²、R³、或R⁴中的一个式VIII,并且所有R⁵和R⁶都是H,则具有式VIII的芳香族

环组分 (即含有X和W的环) 必须不同于DG。

[0173] 还在此提供的是具有式 (XIX) 的化合物:

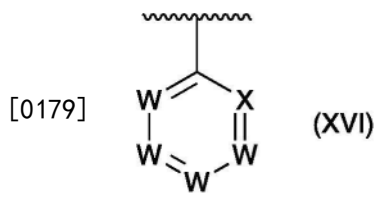


[0175] 或其药学上可接受的盐,

[0176] 其中:

[0177] R^1 选自下组,该组由以下组成: C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1 - C_6) 二烷基 (C_6 - C_{10} 亚芳基)、和 (C_1 - C_6) 二烷基 (5-10元杂亚芳基),其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代,并且其中 R^1 经由 R^1 上的1,2或1,3位置与相邻氮结合;

[0178] 每个 R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自下组,该组由以下组成: CO_2H 、($C(O)NR^5R^6$ 、 CH_2NHCOR^5 、 $C(O)N(OH)R^5$ 、 $C(O)NHSO_2R^5$ 、 $CH_2NHSO_2R^5$ 、 $N(OH)C(O)R^5$ 、 $P(R^5)O_2R^6$ 、和 $PO_3R^5R^6$ 、和具有以下式的化合物:



[0180] 其中X是CZ、N、O、或S、或 NR^4 ;

[0181] 每个W独立地是CH、CZ、N、O、S、或 NR^4 ;

[0182] 每个Z独立地选自: H 、 OH 、 OR^4 、 CO_2H 、- (C_{1-6} 烷基) CO_2H 、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_4 - C_6 环烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^5R^6$ 、 CH_2NHCOR^5 、 $C(O)N(OH)R^5$ 、 $C(O)NHSO_2R^5$ 、 $CH_2NHSO_2R^5$ 、 $N(OH)C(O)R^5$ 、 $P(R^5)O_2R^6$ 、 $PO_3R^5R^6$ 、和- [L] - [TBM],其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代;

[0183] 每个 R^5 和 R^6 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 C_1 - C_6 烷基、和- [L] - [TBM],其中该烷基任选地被1、2、3、或4个独立选择的 R^X 基团取代;

[0184] L是接头;

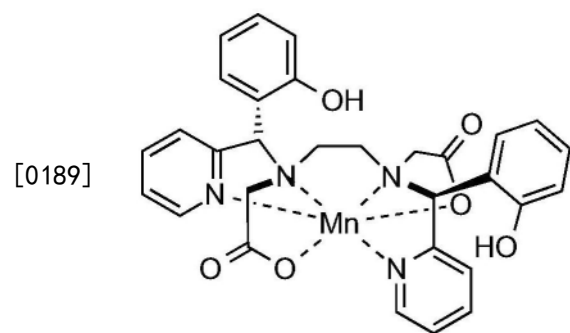
[0185] TBM是靶标结合部分;

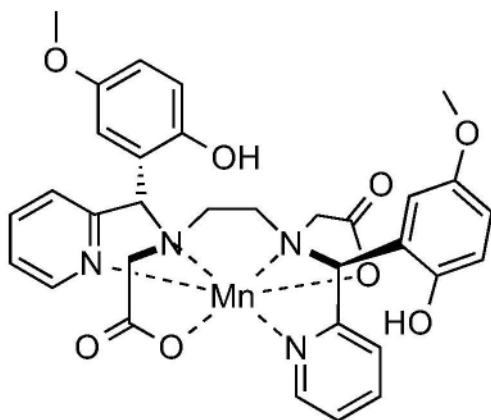
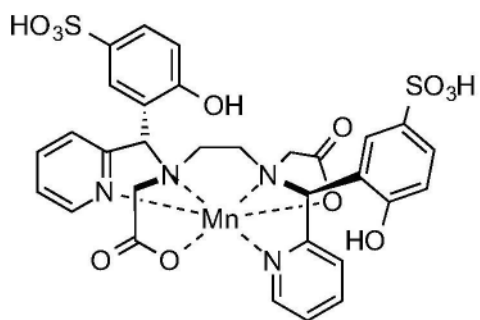
[0186] 每个 R^X 独立地选自下组,该组由以下组成: OH 、 SH 、 CN 、 NO_2 、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酸基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、 C_1 - C_4 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_2 - C_4 炔基、 C_1 - C_4 卤代烷基、 C_1 - C_4 氰基烷基、 C_1 - C_4 羟基烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_4 氨基烷基、二 (C_1 - C_4 烷基) 氨基、 C_1 - C_4 烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、 C_{1-4} 烷基磷酸二酯、 C_3 - C_6 环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C_1 - C_4 烷基) 苯基、和- [L] - [TBM];并且

[0187] M选自下组,该组由以下组成: $Gd(III)$ 、 $Fe(III)$ 、 $Mn(II)$ 、 $Mn(III)$ 、 $Cr(III)$ 、 $Cu(II)$ 、 $Cu(III)$ 、 $Dy(III)$ 、 $Ho(III)$ 、 $Er(III)$ 、 $Pr(III)$ 、 $Eu(II)$ 、 $Eu(III)$ 、 $Nd(III)$ 、 $La(III)$ 、 $Lu(III)$ 、 $Sm(III)$ 、 $Tb(III)$ 、 $Tb(IV)$ 、 $Tm(III)$ 、 $Y(III)$ 、 $In(III)$ 、 $Ga(III)$ 、 $Tc(III)$ 、 $Tc(IV)$ 、

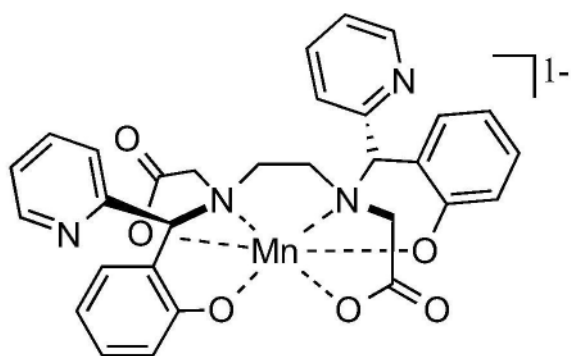
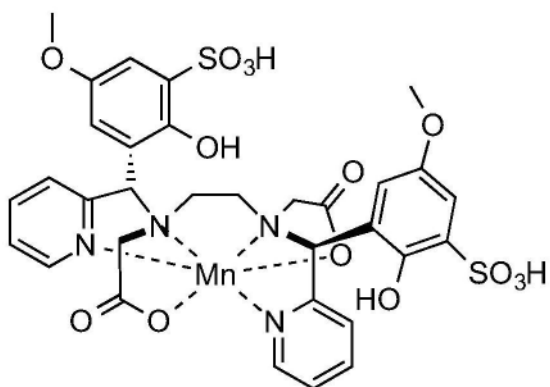
Tc (V) 、Re (III) 、Re (IV) 、Re (V) 、Bi (III) 、和Yb (III) 。

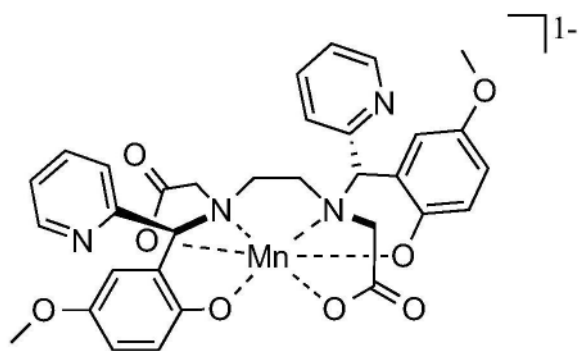
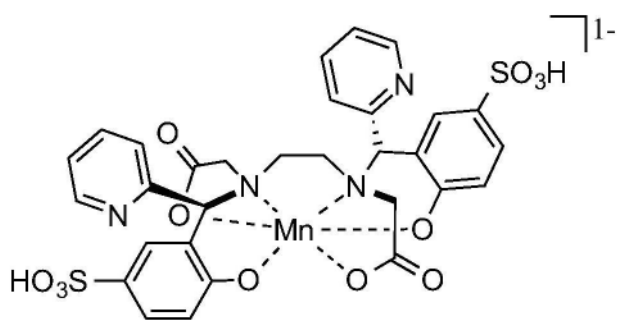
[0188] 在一些实施例中,具有式 (XVIII) 的化合物选自下组,该组由以下组成:



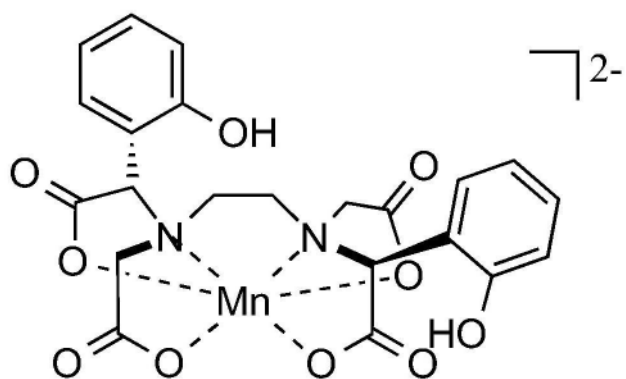
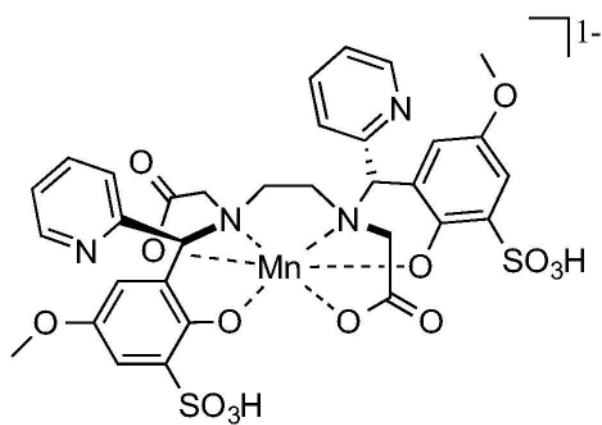


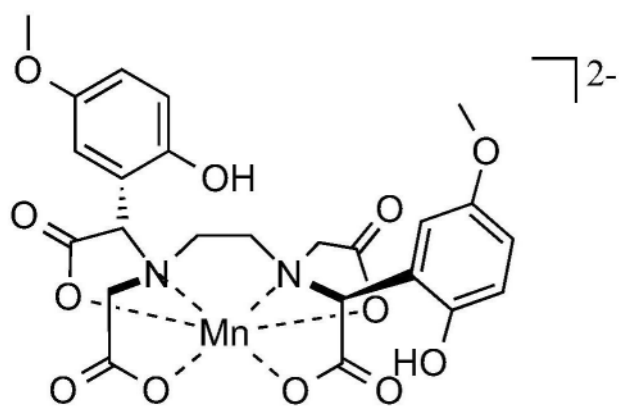
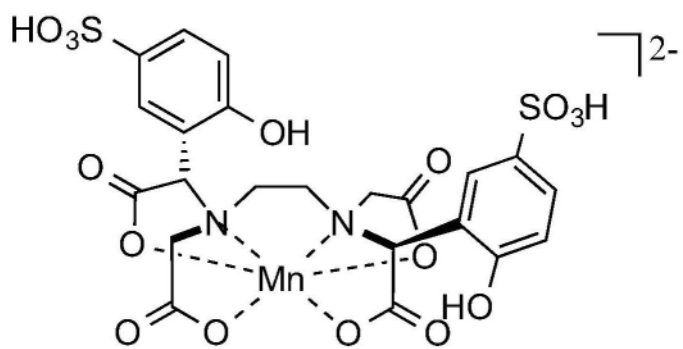
[0190]



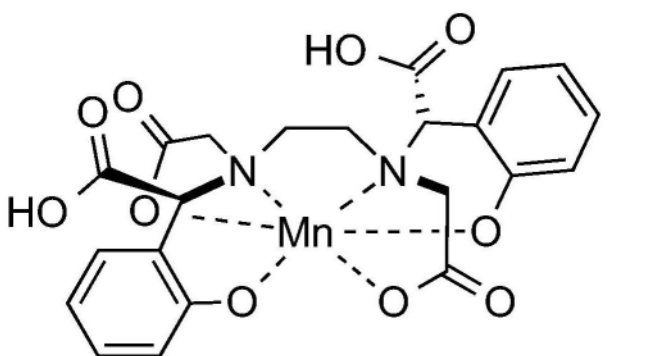
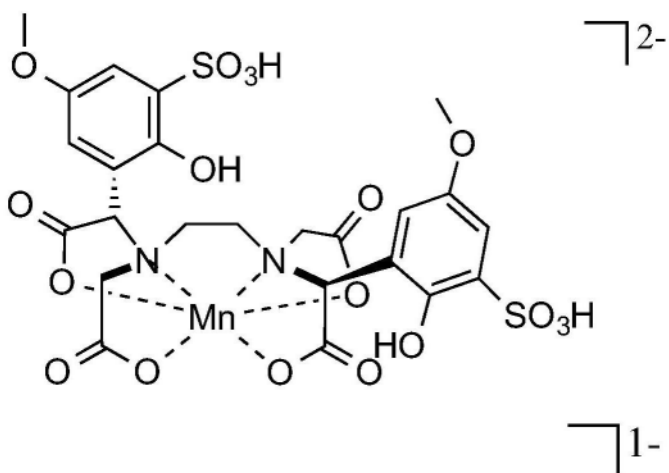


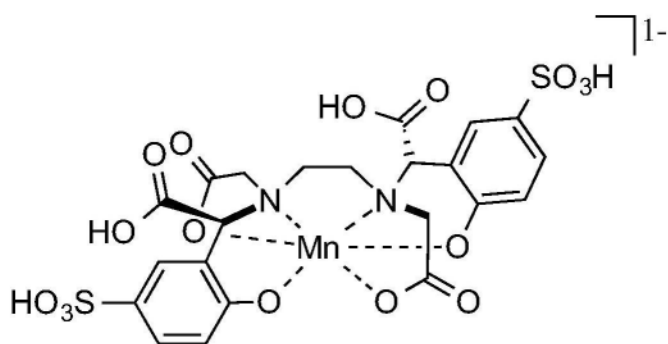
[0191]



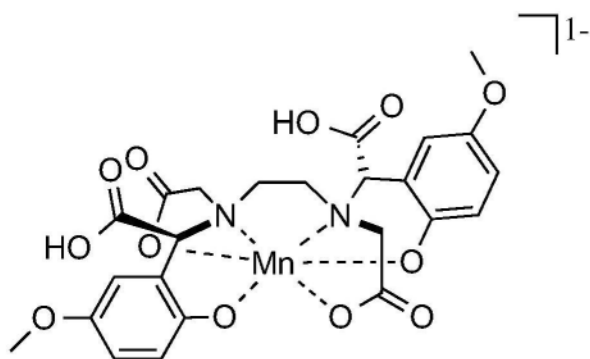


[0192]

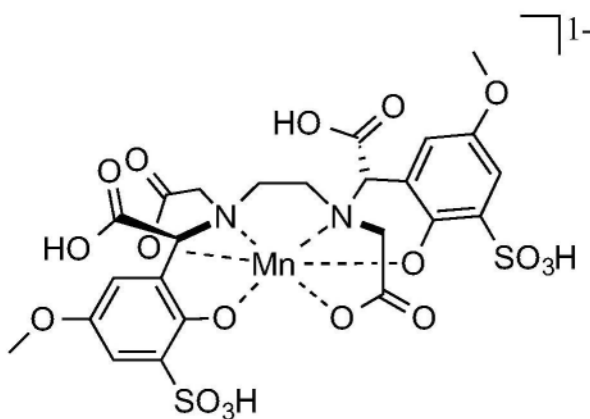




[0193]



, 和



[0194] 或其药学上可接受的盐或任何相应的立体异构体。

[0195] 本披露进一步提供了具有式 (A) 的化合物：

[0196] $(D^1)_a - (L^1)_b - TBM - (L^2)_c - (D^2)_d$

[0197] (A)

[0198] 或其药学上可接受的盐，

[0199] 其中：

[0200] TBM是靶标结合部分；

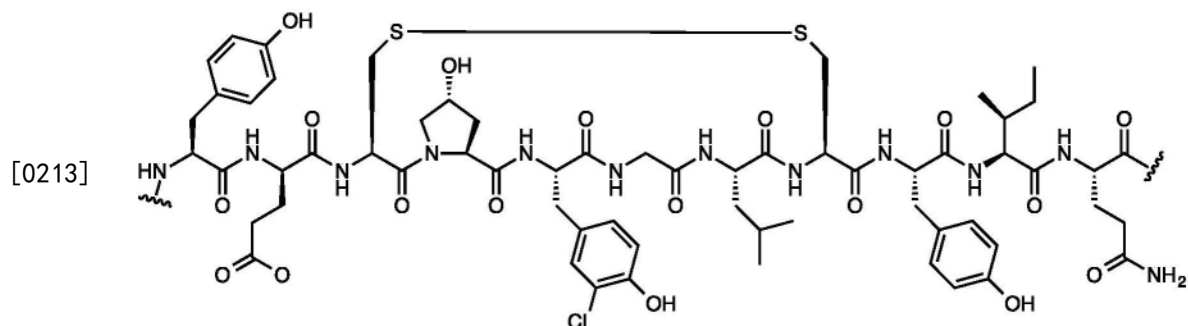
[0201] 每个 D^1 独立地是如权利要求44-48中任一项所述的金属螯合物；[0202] 每个 D^2 独立地是如权利要求44-48中任一项所述的金属螯合物；[0203] L^1 是接头；[0204] L^2 是接头；

[0205] a是从0至4的整数；

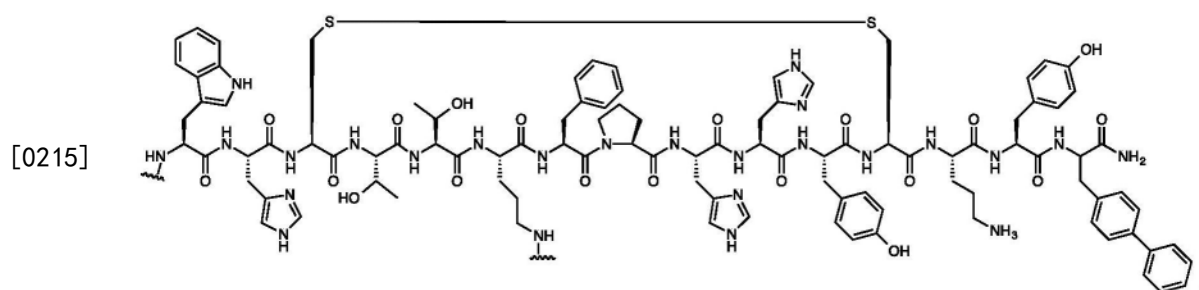
[0206] b是0或1；

[0207] 其中如果a是0, b是0；

- [0208] c是0或1；
 [0209] d是从0至4的整数；
 [0210] 其中如果d是0,c是0；
 [0211] 其中a和d中的至少一个是从1至4的整数。
 [0212] 在一些实施例中,[TBM]是：

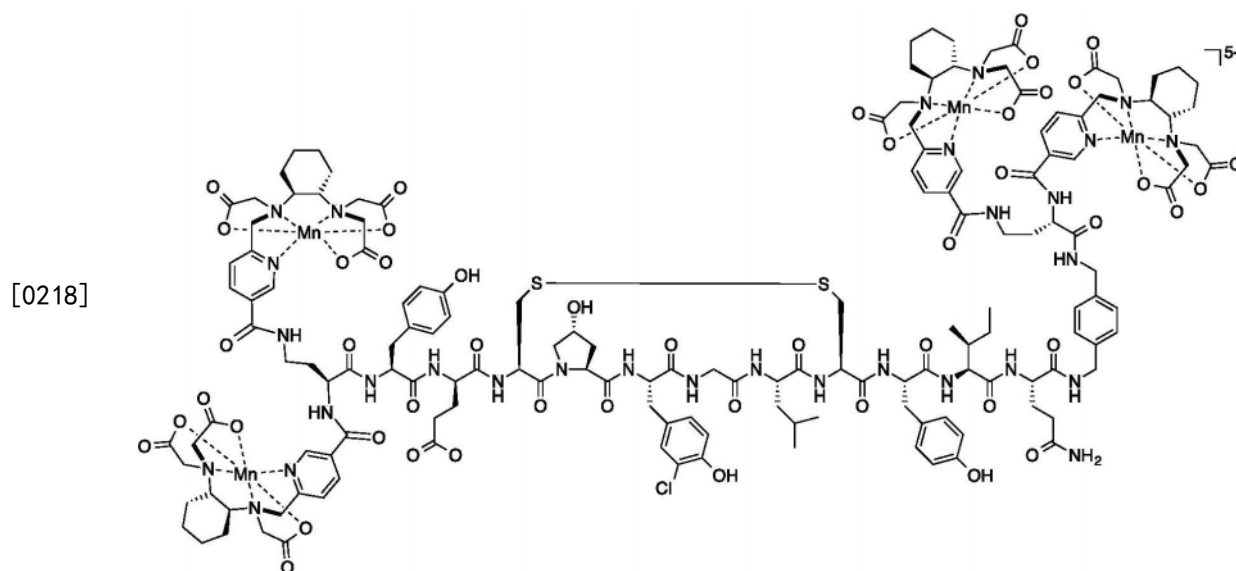


- [0214] 在一些实施例中,[TBM]是：

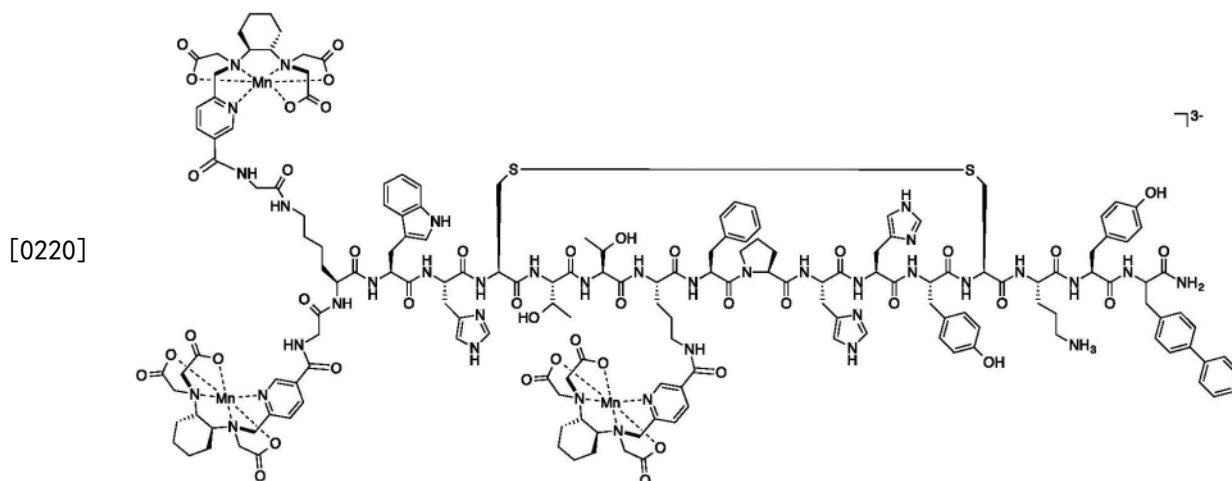


- [0216] 在一些实施例中, D^1 和 D^2 是根据权利要求1所述的化合物,其中 R^1 是1,2-亚环己基, R^2 是H, R^3 是H,DG是式II,Q是CH,定位 α 至Q的Y是C-[L]-TBM,并且所有其他Y都是CH,并且L是-C(O)-。

- [0217] 在一些实施例中,化合物选自下组,该组由以下组成：



- [0219] 和



[0221] 还在此提供的是对患者进行磁共振 (MR) 成像的方法, 该方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物; 和 b) 采集该患者的 MR 图像。例如, 在此提供的是用于对患者中的肿瘤进行成像的方法, 该方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物; 和 b) 采集肿瘤的 MR 图像。在一些实施例中, 该方法可以包括用于对患者中的血凝块进行成像的方法, 所述方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物; 和 b) 采集血凝块的 MR 图像。在一些实施例中, 该方法可以包括用于对患者中的脑病变进行成像的方法, 所述方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物; 和 b) 采集脑病变的 MR 图像。

[0222] 在此进一步提供的是用于检测患者中是否存在破坏的血脑屏障的方法, 该方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物, 其中 M 是 Mn (II); b) 采集该患者的脑的第一 MR 图像; c) 采集该患者的脑的第二 MR 图像; 和将这些图像进行比较。在一些实施例中, 提供的是用于检测患者中是否存在动脉狭窄的方法, 该方法包括: a) 向该患者给予有效量的包含如在此提供的金属螯合物的化合物, 其中 M 是 Mn (II); b) 采集患者的动脉的第一 MR 图像; c) 在注射该化合物之后立即采集患者的动脉的第二 MR 图像; 和 d) 将这些图像进行比较。

[0223] 除非另外定义, 否则所有在此使用的技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的意思。虽然类似或等同于在此所述的那些的方法和材料可以用于本发明的实践或测试, 但以下描述了适合的方法和材料。在此提及的所有出版物、专利申请、专利以及其他参考文献通过引用以其全文结合在此。在有矛盾的情况下, 将以本说明书 (包括定义) 为准。此外, 这些方法、材料、以及实例仅是说明性的, 并且不旨在进行限制。

[0224] 在以下的附图和说明中阐述本发明的一个或多个实施例的细节。本发明的其他特征、目的和优点会从说明书和附图以及权利要求书中显而易见。

附图说明

[0225] 图1显示纤维蛋白靶标化合物20对包含蛋白质的D-二聚体结构域和E结构域的络合物 (称为DD (E)) 的可溶性纤维蛋白降解产物具有高亲和力。显示了DD (E) 溶液中荧光素标记的纤维蛋白结合肽的荧光偏振各向异性作为添加的Mn-FBP (实心圆) 或已知的纤维蛋白结合分子EP2104R (空心圆) 的函数, 以确定对于DD (E) 的 K_i 。

[0226] 图2显示化合物20中的Mn离子具有一个快速交换水配体。显示了在化合物20(空心圆)的存在下, H_2^{17}O 横向弛豫率作为温度的函数。将实线拟合至数据。

[0227] 图3显示采用化合物20,大鼠模型中颈动脉血栓形成的MR成像。以1.5T静脉内给予化合物20之前(A,C)和之后35分钟(B,D)的轴向 T_1 加权图像。(C)和(D)分别是来自(A)和(B)的扩大区域,显示了颈总动脉。在注射化合物20后,化合物20在同侧血管(空心箭头,D)中产生明显的信号增强,但是在对侧血管(实心箭头,D)或在注射Mn-FBP之前的血管(C)中未产生明显的信号增强。(E):对侧(左侧)和同侧(右侧)颈动脉的苏木精和曙红染色切片在受伤血管中显示闭塞性血栓;比例尺=300 μm 。

[0228] 图4显示了采用化合物20,MR成像数据的定量。(A)和(B)显示了在分别给予化合物20和EP-2104R后,血栓(实心圆)、对侧血管区域(空心圆)和肌肉(实心菱形)的归一化信噪比(nSNR),显示了每个探针的持续增强的血栓以及来自背景组织的信号的清除。(C)和(D):在分别给予化合物20和EP2104R后,血栓对肌肉(实心圆)和对侧血管区域对肌肉(空心圆)的对比噪声比(CNR),显示了每个探针的血栓的大和持续的高CNR。对于每个探针, $N=4$,误差条表示平均值的标准误差。

[0229] 图5显示化合物20的血液清除,作为时间的函数($N=4$)。

[0230] 图6显示对于过氧化物酶反应性化合物20,在过氧化氢存在下(不具有(实心圆)或具有(空心圆)辣根过氧化物酶),作为时间的函数的弛豫率。在过氧化物酶暴露的3min内观察到7倍的弛豫率。

[0231] 图7显示了化合物33向化合物34的转化干净地发生且没有副产物。顶部迹线是化合物33,并且底部迹线是在用过氧化氢和辣根过氧化物处理后的化合物33(主要转化为化合物34)。

[0232] 图8显示了对于硫醇反应性化合物33,当在不具有(实心圆)或具有(空心圆)5mol当量的L-半胱氨酸的人血浆中孵育时,作为时间的函数弛豫率变化(1.41T,37 $^{\circ}\text{C}$)。

具体实施方式

[0233] 1. 定义

[0234] 本披露中未明确定义的常用化学缩写可以见于:The American Chemical Society Style Guide[美国化学学会风格指南],第二版;American Chemical Society[美国化学学会],Washington,DC[华盛顿特区](1997),“2001Guidelines for Authors[2001年作者指南]”J.Org.Chem.[有机化学杂志]66(1),24A(2001),和“A Short Guide to Abbreviations and Their Use in Peptide Science[缩略语及其在肽科学中的应用的简要指南]”J.Peptide.Sci.[肽科学杂志]5,465-471(1999)。

[0235] 术语“螯合配体”、“螯合部分”和“螯合的部分”可互换地使用,并且是指能够直接或在去除保护基团后配位金属离子的任何多齿配体,或者是试剂(具有或不具有合适的保护基团),该试剂用于MR造影剂的合成并且基本上包含最后将与最终金属络合物的金属离子进行配位的所有原子。术语“螯合物”或“金属螯合物”是指实际的金属-配体络合物。可以理解,多齿配体最终可以与医学上有用或诊断的金属离子进行配位。

[0236] 如在此使用的,术语“特异性结合亲和力”是指与其他非靶标生物组分相比,造影剂被特定或靶标生物组分更大程度吸收、保留或更大程度结合至特定或靶标生物组分的能

力。具有这一特性的造影剂被认为将被“靶向”到“靶标”组分。缺乏这一特性的造影剂被认为是“非特异性”或“非靶标性”的试剂。靶标的结合基团的结合亲和力以平衡解离常数“ K_d ”表示。

[0237] 如在此使用的,术语“弛豫率”是指每毫摩尔(mM)浓度的顺磁性离子或造影剂的MR量 $1/T_1$ 或 $1/T_2$ 中任一个的增加,如果造影剂中含有大量顺磁性离子,则这些量可能不同,其中 T_1 是纵向或自旋晶格弛豫时间,并且 T_2 是水质子或其他成像或光谱核(包括在除水以外的分子中发现的质子)的横向或自旋-自旋弛豫时间。弛豫率以 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 为单位表示。

[0238] 用于在此目的的术语“靶标结合”和“结合”是指造影剂与靶标的非共价相互作用。这些非共价相互作用是彼此独立的,并且尤其可以是疏水性、亲水性、偶极-偶极、 π -堆叠、氢键、静电缔合或路易斯酸-碱相互作用。

[0239] 通过水和其他配体进行的金属离子的配位通常被认为是配位层(参见例如: D.T.Richens, The Chemistry of Aqua Ions[水离子的化学性质], John Wiley and Sons [约翰·威利父子公司], 纽约, 1997, 第1章)。第一或初级配位层代表直接与金属离子结合的所有配体, 并且由配体定义。存在第二配位层, 其中水分子和反离子经由氢键和静电相互作用与第一配位层中的基团结合。第三和后续的配位层典型地被称为“散装水(bulk water)”或“散装溶剂(bulk solvent)”。这些层之间的区别既是空间的, 也是时间的。第一配位层典型地是明确定义的, 并且水或其他配体在第一配位层中花费的时间比在其他配位层中更久。第二配位层的定义不太清楚, 但是这里的水具有比水的典型扩散时间更长的寿命。在第二层之外, 水可以自由扩散。

[0240] 如在此使用的, 对“Mn(II)”或“锰(II)”的所有提及意指Mn(II)顺磁性金属离子; 对“Mn(III)”或“锰(III)”的所有提及意指Mn(III)顺磁性金属离子。如在此使用的, “烷基”意指仅含有碳和氢的支链或直链化学基团, 例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、仲戊基和新戊基。烷基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。在一些实施例中, 烷基基团包含1至9个碳原子(例如, 1至6个碳原子、1至4个碳原子、或1至2个碳原子)。

[0241] 如在此使用的, “烯基”意指仅含有碳和氢并且含有至少一个碳-碳双键的直链或支链化学基团, 例如乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基等。在不同实施例中, 烯基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。典型地, 烯基基团将包含2至9个碳原子(例如, 2至6个碳原子、2至4个碳原子、或2个碳原子)。

[0242] 如在此使用的, “炔基”意指仅含有碳和氢并且含有至少一个碳-碳三键的直链或支链化学基团, 例如乙炔基、1-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基等。在不同实施例中, 炔基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。典型地, 炔基基团将包含2至9个碳原子(例如, 2至6个碳原子、2至4个碳原子、或2个碳原子)。

[0243] 如在此使用的, “亚烷基”意指仅含有碳和氢的二价支链或直链化学基团, 例如亚甲基、乙烯、正丙烯、异丙烯、正丁烯、异丁烯、仲丁烯、叔丁烯、正戊二烯、异戊二烯、仲戊二烯和新戊二烯。亚烷基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。亚烷基基团可以是在一个或若干个位置处饱和或不饱和的(例如, 含有 $-\text{C}=\text{C}-$ 或 $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 亚基)。在一些实施例中, 亚烷基基团包含1至9个碳原子(例如, 1至6个碳原子、1至4个碳原子、或1至2个碳原子)。

[0244] 如在此使用的,“亚烯基”意指仅含有碳和氢并且含有至少一个碳-碳双键的二价支链或直链化学基团,例如亚乙烯基、1-亚丙烯基、2-亚丙烯基、2-甲基-1-亚丙烯基、1-亚丁烯基、2-亚丁烯基等。在不同实施例中,亚烯基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。典型地,亚烯基基团将包含2至9个碳原子(例如,2至6个碳原子、2至4个碳原子、或2个碳原子)。

[0245] 如在此使用的,“亚炔基”意指仅含有碳和氢并且含有至少一个碳-碳三键的二价支链或直链化学基团,例如乙亚炔基、1-丙亚炔基、1-丁亚炔基、2-丁亚炔基等。在不同实施例中,亚炔基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。典型地,亚炔基基团将包含2至9个碳原子(例如,2至6个碳原子、2至4个碳原子、或2个碳原子)。

[0246] 如在此使用的,“环烷基”或“碳环基”意指在环系统骨架中仅含有碳原子的环系统,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、和环己烯基。碳环基可以包括多个稠合环。碳环基可以具有任何饱和度,只要环体系中至少一个环不是芳香族的。碳环基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。在一些实施例中,碳环基基团包含3至10个碳原子,例如,3至6个碳原子。

[0247] 如在此使用的,“环亚烷基”意指在环系统骨架中仅含有碳原子的二价环系统,例如环丙烯、环丁烯、亚环戊基、亚环己基、和亚环己烯基。环亚烷基可以包括多个稠合环。环亚烷基可以具有任何饱和度,只要环体系中至少一个环不是芳香族的。环亚烷基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。在一些实施例中,环亚烷基基团包含3至10个碳原子,例如,3至6个碳原子。

[0248] 如在此使用的,“芳基”意指在环骨架中仅存在碳原子的单环、双环、三环或多环基团,该基团具有5至14个环原子,可替代地,5、6、9或10个环原子;并且具有在环阵列中共享的6、10、或14个 π 电子;其中该系统中至少一个环是芳香族的。芳基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。芳基的实例包括:苄基、苯基、萘基、四氢萘基、2,3-二氢-1H-茚基、以及其他。在一些实施例中,芳基是苯基。

[0249] 如在此使用的,“亚芳基”意指在环骨架中仅存在碳原子的二价单环、双环、三环或多环基团,该基团具有5至14个环原子,可替代地,5、6、9或10个环原子;并且具有在环阵列中共享的6、10、或14个 π 电子;其中该系统中至少一个环是芳香族的。亚芳基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。亚芳基的实例包括:亚苄基、亚苯基、亚萘基、四氢萘基、2,3-二氢-1H-亚茚基、以及其他。在一些实施例中,芳基是亚苯基。

[0250] 如在此使用的,“芳基亚烷基”意指芳基-亚烷基-基团,其中芳基和亚烷基部分是如先前所述的。在一些实施例中,芳基亚烷基基团含有 C_{1-4} 亚烷基部分。示例性芳基亚烷基基团包含苄基和2-苯乙基。

[0251] 如在此使用的,术语“杂芳基”意指单环、双环、三环或多环基团,该基团具有5至14个环原子,可替代地,5、6、9、或10个环原子;并且具有在环阵列中共享的6、10、或14个 π 电子;其中在该系统中的至少一个环是芳香族的,并且在该系统中的至少一个环含有独立地选自下组的一个或多个杂原子,该组由以下组成:N、O、和S。杂芳基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。杂芳基的实例包括:噻吩基、吡啶基、呋喃基、噁唑基、噁二唑基、吡咯基、咪唑基、三唑基、噻二唑基、吡唑基、异噁唑基、噻二唑基、吡喃基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、噻唑基苯并噻吩基、苯并噁二唑基、苯并呋喃基、苯并咪唑基、苯并三

唑基、噌啉基、吲唑基、吲哚基、异噻唑基、异噻唑基、萘啶基、嘌呤基、噻吩并吡啶基、吡啶并[2,3-d]嘧啶基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、噻唑啉基、噻啉基、噻吩并[2,3-c]吡啶基、吡唑并[3,4-b]吡啶基、吡唑并[3,4-c]吡啶基、吡唑并[4,3-c]吡啶基、吡唑并[4,3-b]吡啶基、四唑基、色烷、2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英、苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯、2,3-二氢苯并呋喃、四氢噻啉、2,3-二氢苯并[b][1,4]氧硫杂环己二烯、以及其他。在一些实施例中,杂芳基选自:噻吩基、吡啶基、呋喃基、吡唑基、咪唑基、吡喃基、吡嗪基、和嘧啶基。

[0252] 如在此使用的,术语“杂亚芳基”意指二价单环、双环、三环或多环基团,该基团具有5至14个环原子,可替代地,5、6、9、或10个环原子;并且具有在环阵列中共享的6、10、或14个 π 电子;其中在系统中的至少一个环是芳香族的,并且在系统中的至少一个环含有独立地选自下组的一个或多个杂原子,该组由以下组成:N、O、和S。杂亚芳基基团可以是未经取代的或被一个或多个取代基取代的。

[0253] 如在此使用的,“卤基”、“卤化物”或“卤素”是氯、溴、氟、或碘原子基团。在一些实施例中,卤基是氯、溴或氟。例如,卤化物可以是氟。

[0254] 如在此使用的,“卤代烷基”意指烃取代基,该烃取代基是被一个或多个氯、溴、氟、和/或碘原子取代的直链的或支链的烷基、烯基或炔基。在一些实施例中,卤代烷基是氟烷基,其中氢原子中的一个或多个被氟取代。在一些实施例中,卤代烷基的长度为1至约3个碳(例如,长度为1至约2个碳,或长度为1个碳)。术语“卤代亚烷基”意指卤代烷基的双自由基变体,并且此类双自由基可以充当自由基、其他原子之间或环与另一个官能团之间的间隔子。

[0255] 如在此使用的,“杂环基”意指在环系统骨架中包含至少一个杂原子的非芳香族环系统。杂环基可以包括多个稠合环。杂环基可以被一个或多个取代基取代或未经取代。在一些实施例中,杂环具有5-7个成员。在六元单环杂环中,一个或多个杂原子选自以下中的一个至三个:O、N或S,并且其中当杂环是五元时,其可以具有一个或两个选自O、N或S的杂原子。杂环基的实例包括:吡丙基、吡丙啶基、吡丁啶基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、1,4,2-二噻唑基、二氢吡啶基、1,3-二噁烷基、1,4-二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吗啉基、硫代吗啉基、哌嗪基、吡喃基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡啶基、噁嗪基、噻嗪基、硫杂环己二烯基(thiiny1)、噻唑烷基、异噻唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、哌啶基、吡唑烷基、咪唑烷基、硫代吗啉基、以及其他。在一些实施例中,杂环基选自:吡丁啶基、吗啉基、哌嗪基、吡咯烷基、和四氢吡啶基。

[0256] 如在此使用的,“单环杂环基”意指在环系统骨架中包含至少一个杂原子的非芳香族单环。杂环基可以被一个或多个取代基取代或未经取代。在一些实施例中,杂环具有5-7个成员。在六元单环杂环中,一个或多个杂原子选自以下中的一个至三个:O、N或S,并且其中当杂环是五元时,其可以具有一个或两个选自O、N或S的杂原子。杂环基的实例包括:吡丙基、吡丙啶基、吡丁啶基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、1,4,2-二噻唑基、二氢吡啶基、1,3-二噁烷基、1,4-二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吗啉基、硫代吗啉基、哌嗪基、吡喃基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡啶基、噁嗪基、噻嗪基、硫杂环己二烯基(thiiny1)、噻唑烷基、异噻唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、哌啶基、吡唑烷基、咪唑烷基、硫代吗啉基、以及其他。

[0257] 术语“取代的”是指具有替换分子的一个或多个非氢原子上的氢的取代基的部分。应该理解的是,“取代”或“经...取代”包括隐含的限制条件,即这种取代符合取代的原子和

取代基的允许的化合价,并且取代导致稳定的化合物,例如该化合物不自发地经历例如重排、环化、消除等转化。取代基可以包括,例如,任选地被以下一个或多个取代的 $-(C_{1-9}\text{烷基})$:羟基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-3}\text{烷基})$ 、和 $-N(C_{1-3}\text{烷基})_2$; $-(C_{1-9}\text{卤代烷基})$; 卤化物; 羰基[例如 $-C(O)OR$ 、和 $-C(O)R$]; 硫代羰基[例如 $-C(S)OR$ 、 $-C(O)SR$ 、和 $-C(S)R$]; 任选地被以下一个或多个取代的 $-(C_{1-9}\text{烷氧基})$: 卤化物、羟基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-3}\text{烷基})$ 、和 $-N(C_{1-3}\text{烷基})_2$; $-OP(O)(OH)_2$; 磷酸盐[例如 $-PO(OH)_2$ 和 $-PO(OR')_2$]; $-OP(O)(OR')R''$; $-NRR'$; $-C(O)NRR'$; $-C(NR)NR'R''$; $-C(NR')R''$; 氰基; 硝基; 叠氮基; $-SH$; $-S-R$; $-OSO_2(OR)$; 硫酸盐[例如 $-SO_2(OH)$ 和 $-SO_2(OR)$]; $-SO_2NR'R''$; 和 $-SO_2R$; 其中 R 、 R' 和 R'' 每次出现时独立地选自: H ; $-(C_{1-9}\text{烷基})$; 任选地被1-3个 R'' 取代的 C_{6-10} 芳基; 具有1-4个杂原子的5-10元杂芳基,该1-4个杂原子独立地选自: N 、 O 、和 S ,并且任选地被1-3个 R'' 取代; 任选地被1-3个 R'' 取代的 C_{3-7} 碳环基; 以及具有从1-4个杂原子的3-8元杂环基,该1-4个杂原子独立地选自: N 、 O 、和 S ,并且任选地被1-3个 R'' 取代; 其中每个 R'' 独立地选自: $-(C_{1-6}\text{烷基})$ 、 $-(C_{1-6}\text{卤代烷基})$ 、卤化物(例如, F)、羟基、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-(C_{1-6}\text{烷氧基})$ 、 $-NRR'$ 、 $-C(O)NRR'$ 、异硫氰基、和氰基,其中 R 和 R' 每次出现时独立地选自: H 和 $-(C_{1-6}\text{烷基})$ 。在一些实施例中,取代基选自: $-(C_{1-6}\text{烷基})$ 、 $-(C_{1-6}\text{卤代烷基})$ 、卤化物(例如, F)、羟基、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)R$ 、 $-(C_{1-6}\text{烷氧基})$ 、 $-NRR'$ 、 $-C(O)NRR'$ 、和氰基,其中 R 和 R' 每次出现时独立地选自: H 和 $-(C_{1-6}\text{烷基})$ 。

[0258] 如在此使用的,拟卤化物或拟卤素基团是具有基本类似于卤化物的行为的基团。此类化合物能以相同的方式进行使用并以与卤化物相同的方式进行处理。拟卤化物包括但不限于:氰化物、氰酸盐、硫氰酸盐、硒氰酸盐、三氟甲氧基和叠氮化物。

[0259] 如在此使用的,“亚磺酰基”或“亚硫酰基”是指 $-S(O)-$ 。如在此使用的,“磺酰基(sulfonyl)”或“磺酰(sulfuryl)”是指 $-S(O)_2-$ 。如在此使用的,“磺基”是指 $-S(O)_2O-$ 。

[0260] 如在此使用的,“次膦酸盐”是指 $-P(R)O_2H$,并且“次膦酸酯”是指 $-P(R)O_2R'$ 。如在此使用的,“膦酸盐”是指 $-PO_3H_2$,并且“膦酸酯”是指 $-PO_3RR'$ 。如在此使用的,“磷酸二酯”是指 $-OP(O)_3R-$,并且“烷基磷酸二酯”是指 $-OP(O)_3RR'$ 。在以上基团中, R 是 H 或烷基,并且 R' 是烷基。

[0261] 术语“哺乳动物”以其通常的生物学意义使用。因此,它具体包括人类、家牛、马、猴、狗、猫、小鼠、大鼠、牛、绵羊、猪、山羊和非人灵长类动物,但也包括许多其他物种。

[0262] 如在此所使用的,“患者”意指人类或非人哺乳动物,例如狗、猫、小鼠、大鼠、牛、绵羊、猪、山羊、非人灵长类动物或鸟(例如鸡),以及任何其他脊椎动物或无脊椎动物。在一些实施例中,患者是人类。

[0263] 螯合配体的设计

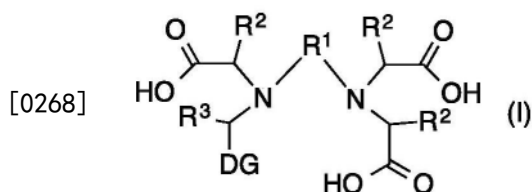
[0264] 在此提供是用于制备具有高弛豫率的金属螯合物的螯合配体。在一些实施例中,螯合配体可以用于制备具有高弛豫率的非特异性金属螯合物。在一些实施例中,可以对螯合配体进行修饰以掺入一个或多个靶标结合部分(TBM)。具有一个或多个靶标结合部分的螯合配体可以允许螯合配体(和金属螯合物)靶向体内的一个或多个位点。可以对螯合配体和金属螯合物进行修饰以掺入自组装部分(SAM),这些自组装部分是促进螯合物自组装成胶束、脂质体、乳液等的基团。在一些实施例中,螯合配体和金属螯合物也是用作生物分子的高通量、多重和/或实时检测和分析(例如免疫测定或实时PCR应用)的发光探针。

[0265] 在此所描述的螯合配体基于二胺官能化骨架的衍生物。通过用一个至三个 R 基团、和一个或多个基于杂环的供体基团(“DG”)修饰支架的胺部分来制备衍生物。连接骨架胺和

DG的碳可以用另外的“R”基团官能化。典型地,R基团和DG能够配位金属离子。R基团和DG可以根据它们增强螯合配体在处于金属螯合物形式时的弛豫率和/或促进金属离子的特异性氧化态的能力来选择的。可以通过以下来增强弛豫率:例如,DG对金属螯合物的水交换速率的影响;其降低金属离子的电子弛豫率的能力;其防止阴离子配位的能力(例如通过静电排斥);或其捕获生物化学产生的氧化态的能力。在一些实施例中,DG还可以掺入第二层部分(SSM)(通过配位第二水层(例如通过氢键)的能力而增加弛豫率的基团)。在一些实施例中,DG还可以任选地通过接头(L)掺入TBM,如下所讨论的。通过与TBM的靶标结合或通过形成自组装系统(例如脂质体)可以进一步增强弛豫率。

[0266] 可以制备各种螯合配体。

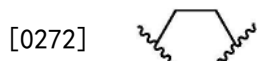
[0267] 在一些实施例中,螯合配体是具有式(I)的化合物:



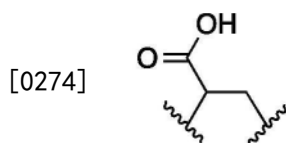
[0269] 或其药学上可接受的盐,

[0270] R^1 选自下组,该组由以下组成: C_2-C_6 亚烷基、 C_3-C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6-C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1-C_6)二烷基(C_6-C_{10} 亚芳基)、和(C_1-C_6)二烷基(5-10元杂亚芳基),其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的 R^X 基团取代。在一些实施例中, R^1 部分通过相邻原子(例如相邻碳原子(例如,通过乙烯上的1个和2个碳的结合)或通过由单个亚甲基分离的原子(例如通过丙烯上的1个和3个碳的结合))来与相邻氮结合。可以观察到与 R^1 的环部分类似的结合,例如通过相邻碳原子的结合(例如通过亚环己基上的1个和2个碳的结合)。

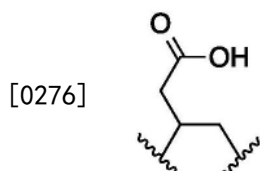
[0271] 在一些实施例中, R^1 选自下组,该组由以下组成:取代的或未经取代的亚烷基,例如1,3-丙烯或1,2-乙烯,如以下所示:



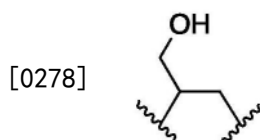
[0273] 或2,3-丙烯-1-甲酸酯,如以下所示,



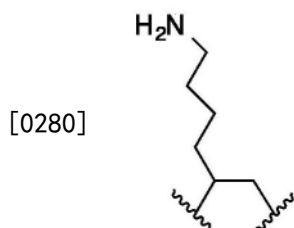
[0275] 或3,4-丁烯-1-甲酸,如以下所示,



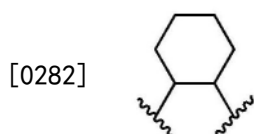
[0277] 或1-羟基-3,4-丁烯,如以下所示,



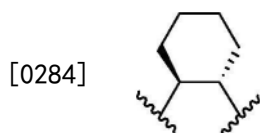
[0279] 或1-氨基-5,6-己烯,如以下所示,



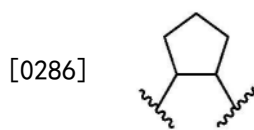
[0281] 如以下所示,取代的或未经取代的环亚烷基,例如如下所示的那些,例如,顺式-或反式-1,2-亚环己基,



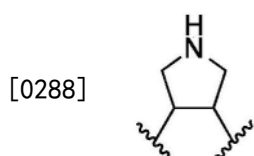
[0283] 或反式-1,2-亚环己基,如以下所示,



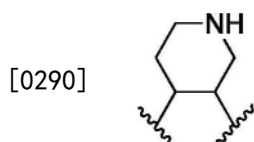
[0285] 或顺式-或反式-1,2-亚环戊基,如以下所示,



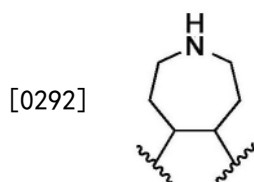
[0287] 取代的或未经取代的单环杂环基,例如2,5-二氢-1H-亚吡咯,如以下所示



[0289] 1,2,3,6-四氢亚吡啶,如以下所示,

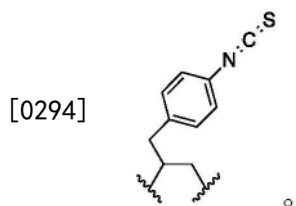


[0291] 2,3,6,7-四氢-1H-亚吡庚因(azepinene),如以下所示,

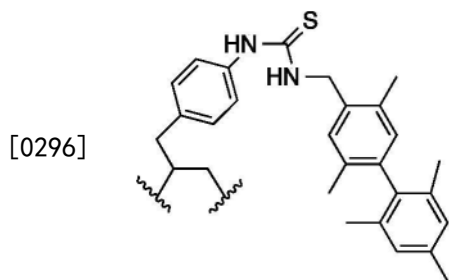


[0293] 以及取代的或未经取代的单环杂环基化合物、取代的或未经取代的芳基、取代的或未经取代的杂芳基、和取代的或未经取代的芳基亚烷基的任何相应的异构体,例如1-丙

烯-4-异硫氰酸苯酯,如以下所示,



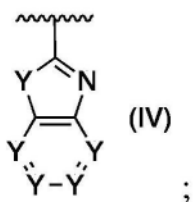
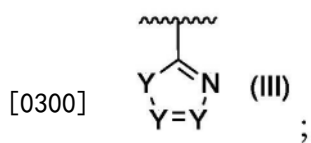
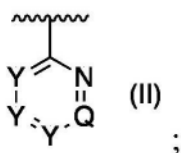
[0295] 在一些实施例中, R^1 可以被 [L] - [TBM], 例如用硫脲 (-NH-C(S)-NH-) [L] 官能化的 1-丙烯-苯, 和靶向取代的芳基亚烷基TBM的白蛋白, 2,2',4,4',5,6'-六甲基-1,1'-二苯基取代, 如以下所示,



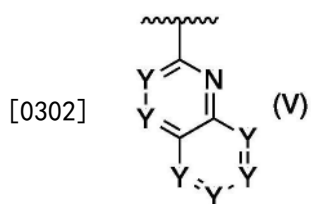
[0297] 每个 R^2 和 R^3 独立地选自下组, 该组由以下组成: H、 CO_2H 、 $(\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基})\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{烯基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{炔基}$ 、 $\text{C}_4\text{-C}_6\text{环烷基}$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基}$ 、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^4\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^4$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^4$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ 、 $\text{P}(\text{R}^4)\text{O}_2\text{R}^5$ 、 $\text{PO}_3\text{R}^4\text{R}^5$ 、和 [L] - [TBM];

[0298] 每个 R^4 和 R^5 独立地选自下组, 该组由以下组成: H、取代的或未经取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、和 [L] - [TBM]; 并且

[0299] DG选自下组, 该组由以下组成:



[0301] 和



[0303] 或任何具有式IV和V的构造异构体,其中

[0304] Y是CH、CZ、N、O、S或NR⁴;

[0305] 每个Q独立地是CH、CZ、N、O、S、或NR⁴;并且

[0306] Z选自下组,该组由以下组成:H、OH、OR⁴、CO₂R⁴、-(C₁₋₆烷基)CO₂H、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₄-C₆环烷基、C₆-C₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁴R⁵、CH₂NHCOR⁴、C(O)N(OH)R⁴、C(O)NHSO₂R⁴、CH₂NHSO₂R⁴、N(OH)C(O)R⁴、P(R⁴)O₂R⁵、PO₃R⁴R⁵、和-[L]-[TBM],其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3、或4个独立选择的R^x基团取代;

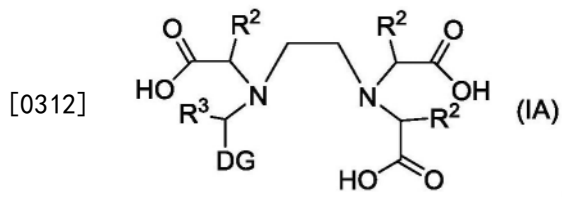
[0307] L是接头;

[0308] TBM是靶标结合部分;并且

[0309] 每个R^x独立地选自下组,该组由以下组成:OH、SH、CN、NO₂、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、异硫氰基、C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₂-C₄炔基、C₁-C₄卤代烷基、C₁-C₄氰基烷基、C₁-C₄羟基烷基、C₁-C₄烷氧基、C₁-C₄氨基烷基、二(C₁-C₄烷基)氨基、C₁-C₄烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、C₁₋₄烷基磷酸二酯、C₃-C₆环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、(C₁-C₄烷基)苯基(其中该苯基可以是取代的或未经取代的)、以及-[L]-[TBM];

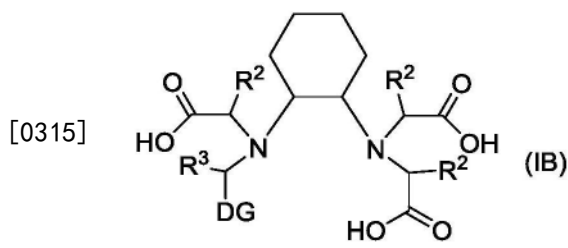
[0310] 在一些实施例中,如果Q是CH、CCOOH、或CCH₂-(4-硝基苄基磺酰胺),并且所有Y都是CH,则R²或R³中的至少一个不是H。

[0311] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物是具有式(IA)的化合物:



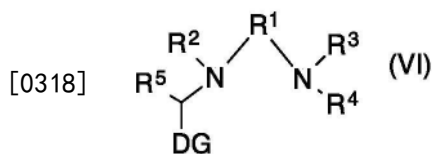
[0313] 或其药学上可接受的盐,其中R²、R³、和DG是如式(I)所定义的。

[0314] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物是具有式(IB)的化合物:



[0316] 或其药学上可接受的盐,其中R²、R³、和DG是如式(I)所定义的。

[0317] 在一些实施例中,螯合配体是具有式(VI)的化合物:



[0319] 或其药学上可接受的盐,

[0320] R¹选自下组,该组由以下组成:C₂-C₆亚烷基、C₃-C₁₀环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、

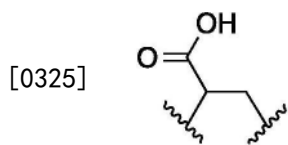
C₆-C₁₀亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C₁-C₆)二烷基 (C₆-C₁₀亚芳基)、和 (C₁-C₆)二烷基 (5-10元杂亚芳基), 其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的R^x基团取代。

[0321] 在一些实施例中, R¹部分通过相邻碳原子 (例如, 通过乙烯上的1个和2个碳的结合) 或由单个亚甲基分离的碳 (例如通过丙烯上的1个和3个碳的结合)) 来与相邻氮结合。可以观察到与R¹的环部分类似的结合, 例如通过相邻碳原子的结合 (例如通过亚环己基上的1个和2个碳的结合)。

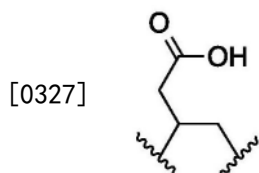
[0322] 在一些实施例中, R¹选自下组, 该组由以下组成: 取代的或未经取代的亚烷基, 例如1,3-丙烯或1,2-乙烯, 如以下所示:



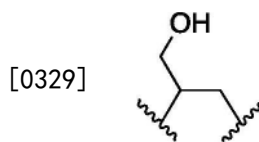
[0324] 或2,3-丙烯-1-甲酸酯, 如以下所示,



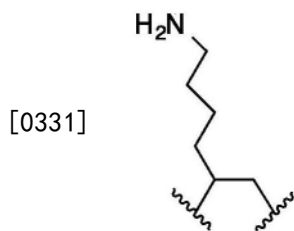
[0326] 或3,4-丁烯-1-甲酸, 如以下所示,



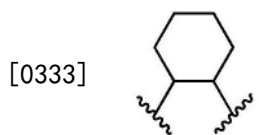
[0328] 或1-羟基-3,4-丁烯, 如以下所示,



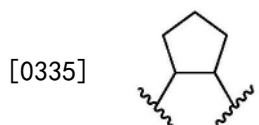
[0330] 或1-氨基-5,6-己烯, 如以下所示,



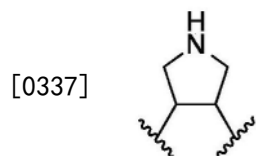
[0332] 例如顺式-或反式-1,2-亚环己基, 如以下所示,



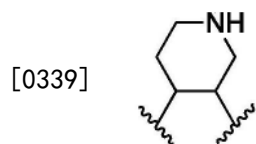
[0334] 或顺式-或反式-1,2-亚环戊基, 如以下所示,



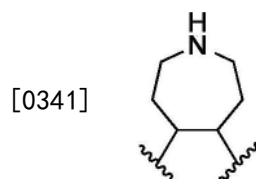
[0336] 取代的或未经取代的单环杂环基,例如2,5-二氢-1H-亚吡咯,如以下所示



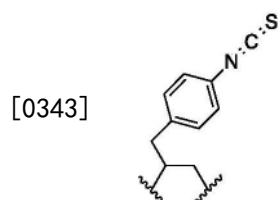
[0338] 1,2,3,6-四氢亚吡啶,如以下所示,



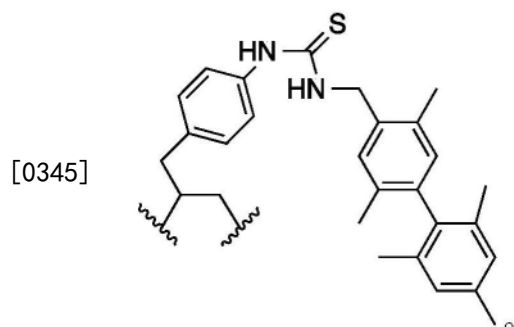
[0340] 2,3,6,7-四氢-1H-亚吡庚因 (azepinene), 如以下所示,



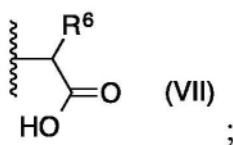
[0342] 以及取代的或未经取代的单环杂环基化合物、取代的或未经取代的芳基、取代的或未经取代的杂芳基、和取代的或未经取代的芳基亚烷基的任何相应的异构体,例如1-丙烯-4-异硫氰酸苯酯,如以下所示,



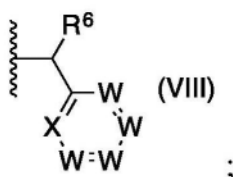
[0344] 在一些实施例中, R^1 可以被[L]-[TBM],例如用硫脲(-NH-C(S)-NH-) [L]官能化的1-丙烯-苯,和靶向取代的芳基亚烷基TBM的白蛋白,2,2',4,4',5,6'-六甲基-1,1'-二苯基取代,如以下所示,



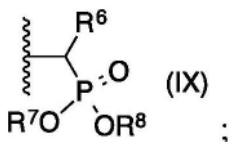
[0346] R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自具有以下式的化合物的组:



[0347]

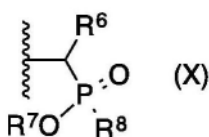


[0348]



[0349] 或

[0350]



[0351] 其中每个 R^5 和 R^6 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、 CO_2H 、 $(C_1-C_6\text{烷基})CO_2H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_4-C_6 环烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^7R^8$ 、 CH_2NHCOR^7 、 $C(O)N(OH)R^7$ 、 $C(O)NHSO_2R^7$ 、 $CH_2NHSO_2R^7$ 、 $N(OH)C(O)R^7$ 、 $P(R^7)O_2R^8$ 、 $PO_3R^7R^8$ 、和 $[L]-[TBM]$;

[0352] X 是 CZ 、 N 、 O 、 S 或 NR^4 ;

[0353] W 是 CH 、 CZ 、 N 、 O 、 S 、或 NR^4 ;并且

[0354] 每个 Z 独立地选自: H 、 OH 、 OR^7 、 CO_2R^7 、 $-(C_1-C_6\text{烷基})CO_2H$ 、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_4-C_6 环烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $C(O)NR^7R^8$ 、 CH_2NHCOR^7 、 $C(O)N(OH)R^7$ 、 $C(O)NHSO_2R^7$ 、 $CH_2NHSO_2R^7$ 、 $N(OH)C(O)R^7$ 、 $P(R^7)O_2R^8$ 、 $PO_3R^7R^8$ 、和 $-[L]-[TBM]$,其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的 R^X 基团取代;

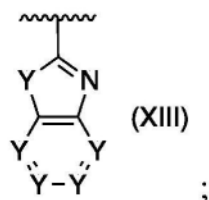
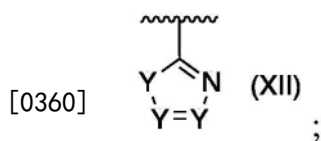
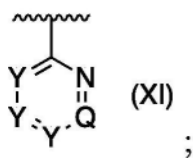
[0355] L 是接头;

[0356] TBM 是靶标结合部分;并且

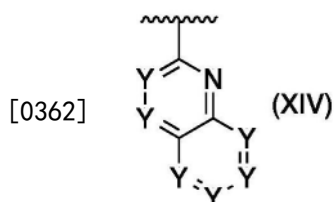
[0357] 每个 R^X 独立地选自下组,该组由以下组成: OH 、 SH 、 CN 、 NO_2 、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、 C_1-C_4 烷基、 C_2-C_4 烯基、 C_2-C_4 炔基、 C_1-C_4 卤代烷基、 C_1-C_4 氰基烷基、 C_1-C_4 羟基烷基、 C_1-C_4 烷氧基、 C_1-C_4 氨基烷基、二 $(C_1-C_4\text{烷基})$ 氨基、 C_1-C_4 烷基胺、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、 C_1-C_4 烷基磷酸二酯、 C_3-C_6 环烷基、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、 $(C_1-C_4\text{烷基})$ 苯基、和 $-[L]-[TBM]$;

[0358] 每个 R^7 和 R^8 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、取代的或未经取代的 C_1-C_6 烷基、和 $[L]-[TBM]$;并且

[0359] DG 选自下组,该组由以下组成:



[0361] 和



[0363] 或任何具有式XIII-XIV的构造异构体,

[0364] 其中每个Y独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁴

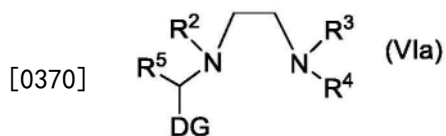
[0365] 每个Q独立地是CH、CZ¹、N、O、S、或NR⁴;并且

[0366] 每个Z¹独立地选自下组,该组由以下组成:H、OH、OR⁷、CO₂R⁷、-(C₁₋₆烷基)CO₂H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₄₋₆环烷基、C₆₋₁₀芳基、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、C(O)NR⁷R⁸、CH₂NHCO⁷R⁷、C(O)N(OH)R⁷、C(O)NHSO₂R⁷、CH₂NHSO₂R⁷、N(OH)C(O)R⁷、P(R⁷)O₂R⁸、PO₃R⁷R⁸、和-[L]-[TBM],其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的R^x基团取代。

[0367] 在一些实施例中,如果Q是CH、CCOOH、或CCH₂-(4-硝基苄基磺酰胺),所有Y都是CH,并且所有R²、R³、和R⁴都是式VII,则R⁵或R⁶中的至少一个不是H。

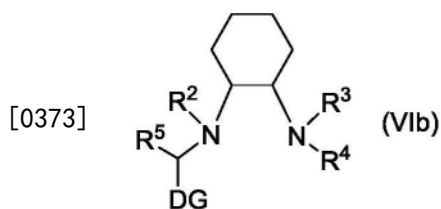
[0368] 在一些实施例中,如果R²、R³、或R⁴中的一个式VIII,并且所有R⁵和R⁶都是H,则具有式VIII的芳香族环组分(即含有X和W的环)必须不同于DG。

[0369] 在一些实施例中,具有式(VI)的化合物是具有式(XVa)的化合物:



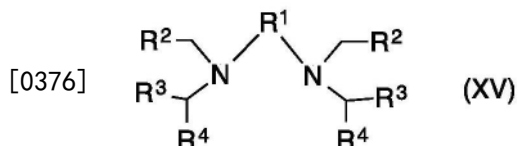
[0371] 或其药学上可接受的盐,其中R²、R³、R⁴、R⁵和DG⁴是如针对式(VI)所定义。

[0372] 在一些实施例中,具有式(VI)的化合物是具有式(XVb)的化合物:



[0374] 或其药学上可接受的盐,其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和DG是如针对式(VI)所定义。

[0375] 在一些实施例中,螯合配体是具有式XV的化合物



[0377] 或其药学上可接受的盐,

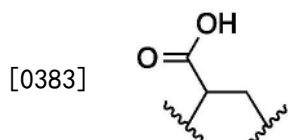
[0378] R^1 选自下组,该组由以下组成: C_2 - C_6 亚烷基、 C_3 - C_{10} 环亚烷基、4-10元杂环亚烷基、 C_6 - C_{10} 亚芳基、5-10元杂亚芳基、(C_1 - C_6)二烷基(C_6 - C_{10} 亚芳基)、和(C_1 - C_6)二烷基(5-10元杂亚芳基),其中该亚烷基、环亚烷基、杂环亚烷基、亚芳基、和杂亚芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的 R^x 基团取代。

[0379] 在一些实施例中, R^1 部分通过相邻碳原子(例如,通过乙烯上的1个和2个碳的结合)或由单个亚甲基分离的碳(例如通过丙烯上的1个和3个碳的结合))来与相邻氮结合。可以观察到与 R^1 的环部分类似的结合,例如通过相邻碳原子的结合(例如通过亚环己基上的1个和2个碳的结合)。

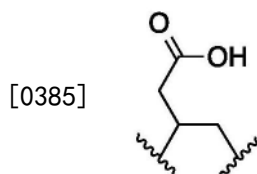
[0380] 在一些实施例中, R^1 选自下组,该组由以下组成:取代的或未经取代的亚烷基,例如1,3-丙烯或1,2-乙烯,如下所示:



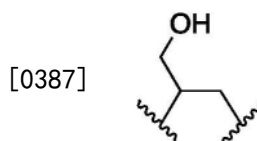
[0382] 或2,3-丙烯-1-甲酸酯,如下所示,



[0384] 或3,4-丁烯-1-甲酸,如下所示,

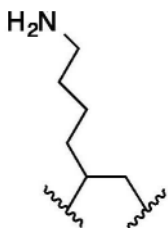


[0386] 或1-羟基-3,4-丁烯,如下所示,



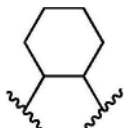
[0388] 或1-氨基-5,6-己烯,如下所示,

[0389]



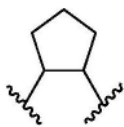
[0390] 例如顺式-或反式-1,2-亚环己基,如以下所示,

[0391]



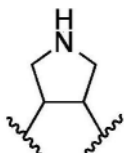
[0392] 或顺式-或反式-1,2-亚环戊基,如以下所示,

[0393]



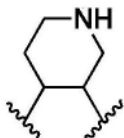
[0394] 取代的或未经取代的单环杂环基,例如2,5-二氢-1H-亚吡咯,如以下所示

[0395]



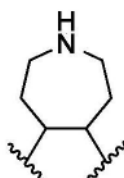
[0396] 1,2,3,6-四氢亚吡啶,如以下所示,

[0397]



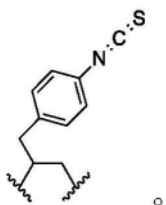
[0398] 2,3,6,7-四氢-1H-亚吡啶(azepinene),如以下所示,

[0399]



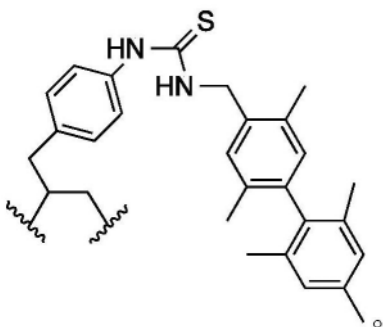
[0400] 以及取代的或未经取代的单环杂环基化合物、取代的或未经取代的芳基、取代的或未经取代的杂芳基、和取代的或未经取代的芳基亚烷基的任何相应的异构体,例如1-丙烯-4-异硫氰酸苯酯,如以下所示,

[0401]



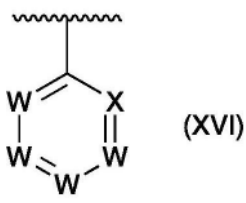
[0402] 在一些实施例中, R^1 可以被[L]-[TBM],例如用硫脲(-NH-C(S)-NH-) [L]官能化的1-丙烯-苯,和靶向取代的芳基亚烷基TBM的白蛋白,2,2',4,4',5,6'-六甲基-1,1'-二苯基取代,如以下所示,

[0403]



[0404] 每个 R^2 、 R^3 、和 R^4 独立地选自下组,该组由以下组成: CO_2H 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{P}(\text{R}^5)\text{O}_2\text{R}^6$ 、和 $\text{PO}_3\text{R}^5\text{R}^6$ 、和具有以下式的化合物

[0405]



[0406] 其中X是CZ、N、O、S、或 NR^4 ;

[0407] 每个W独立地是CH、CZ、N、O、S、或 NR^4 ;并且

[0408] 每个Z独立地选自: H 、 OH 、 OR^5 、 CO_2R^5 、 $-(\text{C}_{1-6}\text{烷基})\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{烯基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_6\text{炔基}$ 、 $\text{C}_4\text{-C}_6\text{环烷基}$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基}$ 、5-6元杂环基、5-6元杂芳基、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5\text{R}^6$ 、 $\text{CH}_2\text{NHCOR}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHSO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{R}^5$ 、 $\text{N}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{P}(\text{R}^5)\text{O}_2\text{R}^6$ 、 $\text{PO}_3\text{R}^5\text{R}^6$ 、和 $-\text{[L]}-\text{[TBM]}$,其中该烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、和杂芳基各自任选地被1、2、3或4个独立选择的 R^X 基团取代;

[0409] L是接头;

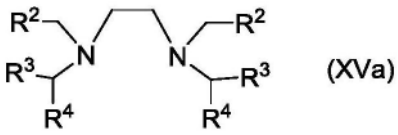
[0410] TBM是靶标结合部分;并且

[0411] 每个 R^X 独立地选自下组,该组由以下组成: OH 、 SH 、 CN 、 NO_2 、卤基、拟卤素、氨基、亚硫酰基、亚磺酰基、磺酰基、磺基、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_4\text{烯基}$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_4\text{炔基}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{卤代烷基}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{氰基烷基}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{羟基烷基}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷氧基}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{氨基烷基}$ 、二 $(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基胺}$ 、次膦酸盐、次膦酸酯、膦酸盐、膦酸酯、磷酸二酯、 $\text{C}_{1-4}\text{烷基磷酸二酯}$ 、 $\text{C}_3\text{-C}_6\text{环烷基}$ 、苯基、5-6元杂芳基、5-6元杂环烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4\text{烷基})$ 苯基、和 $-\text{[L]}-\text{[TBM]}$;和

[0412] 每个 R^5 和 R^6 独立地选自下组,该组由以下组成: H 、取代的或未经取代的 $\text{C}_1\text{-C}_6\text{烷基}$ 、和 $-\text{[L]}-\text{[TBM]}$ 。

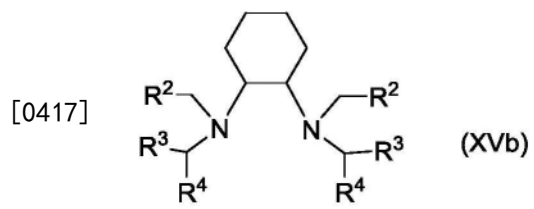
[0413] 在一些实施例中,具有式(XV)的化合物是具有式(XVa)的化合物:

[0414]



[0415] 或其药学上可接受的盐,其中 R^2 、 R^3 、和 R^4 是如针对式(XV)所定义。

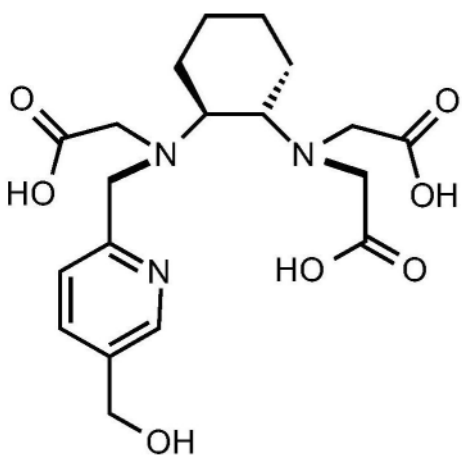
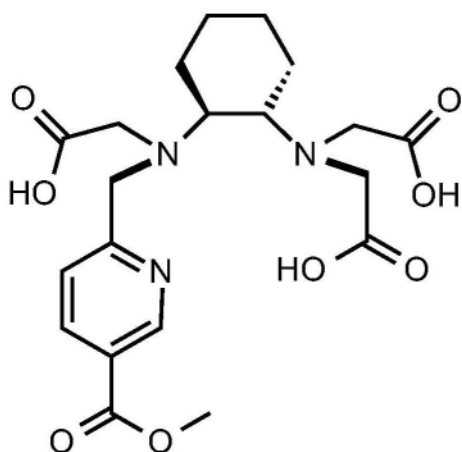
[0416] 在一些实施例中,具有式(XV)的化合物是具有式(XVb)的化合物:



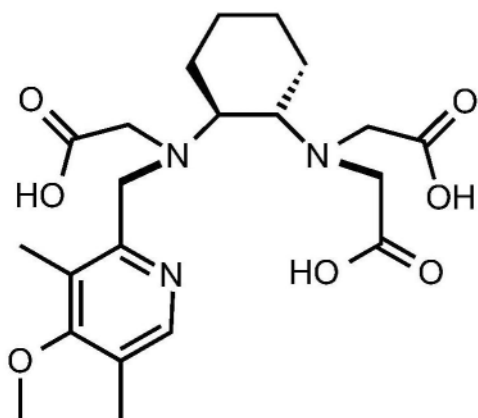
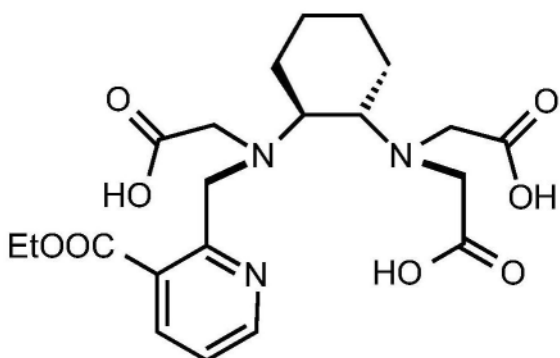
[0418] 或其药学上可接受的盐,其中 R^2 、 R^3 和 R^4 是如针对式 (XV) 所定义。

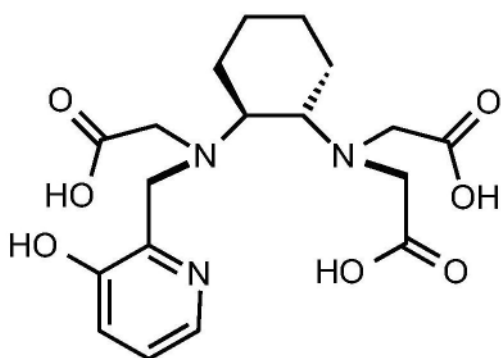
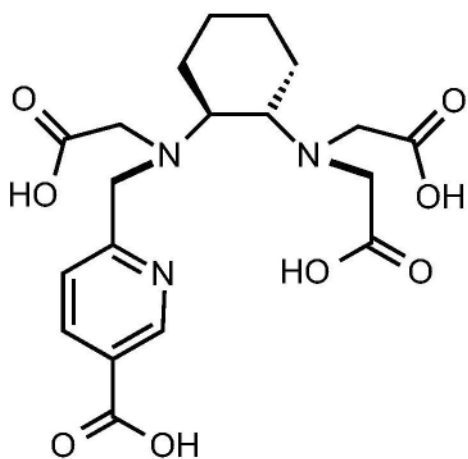
[0419] 在一些实施例中,DG已经被修饰以靶向血浆蛋白(例如血清白蛋白)。

[0420] 如在此提供的,螯合配体的非限制性实例包括:

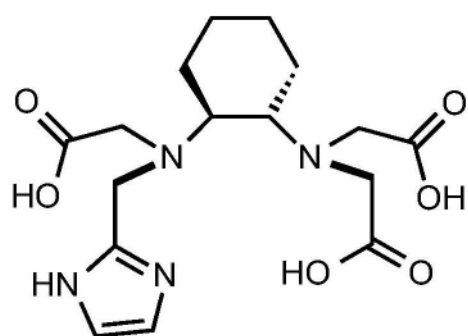
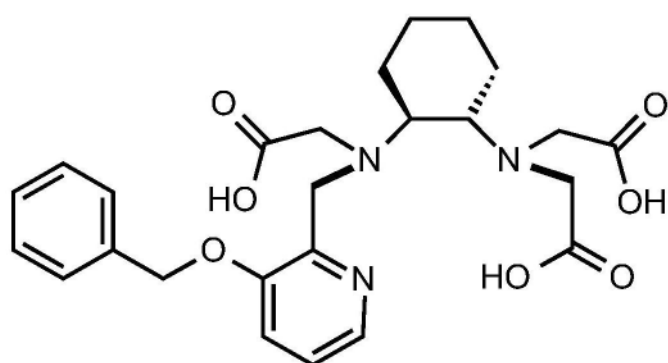


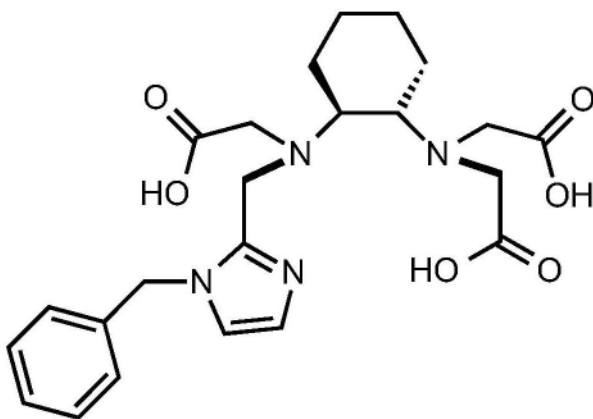
[0421]



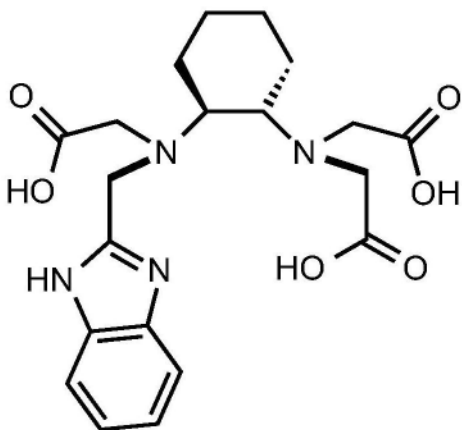


[0422]

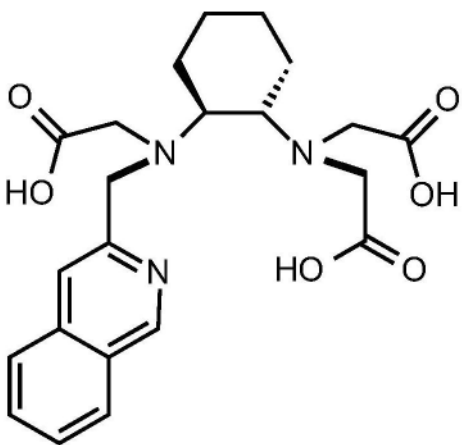




[0423]



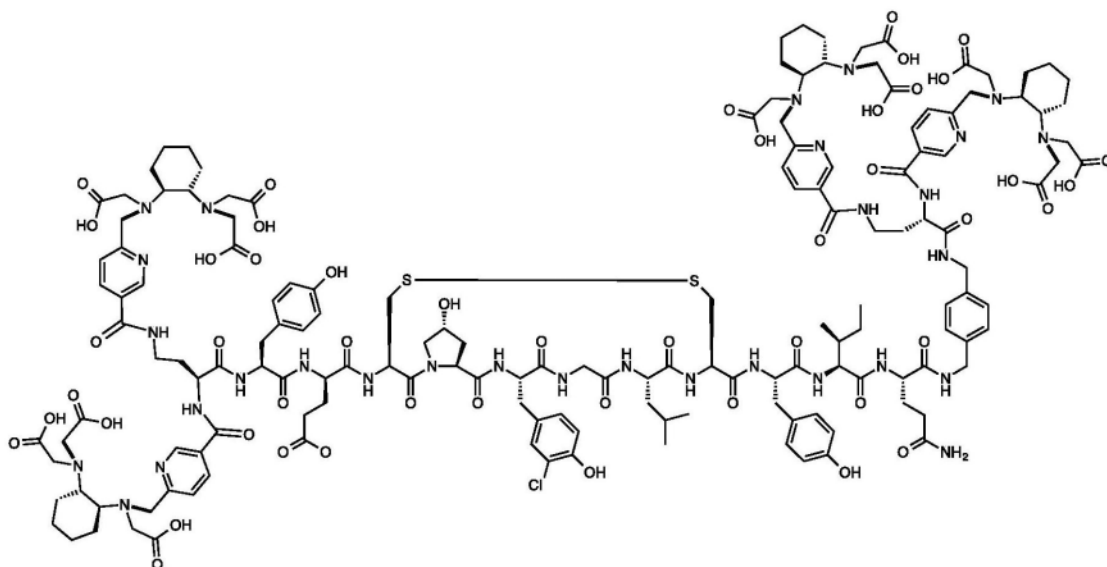
, 和



[0424] 或其药学上可接受的盐。

[0425] 在另一个示例性实施例中,一个或多个(例如,2、3、4、5、或6个)螯合配体被连接到对纤维蛋白具有高亲和力的TBM。例如,这种化合物可以具有如下所示的式:

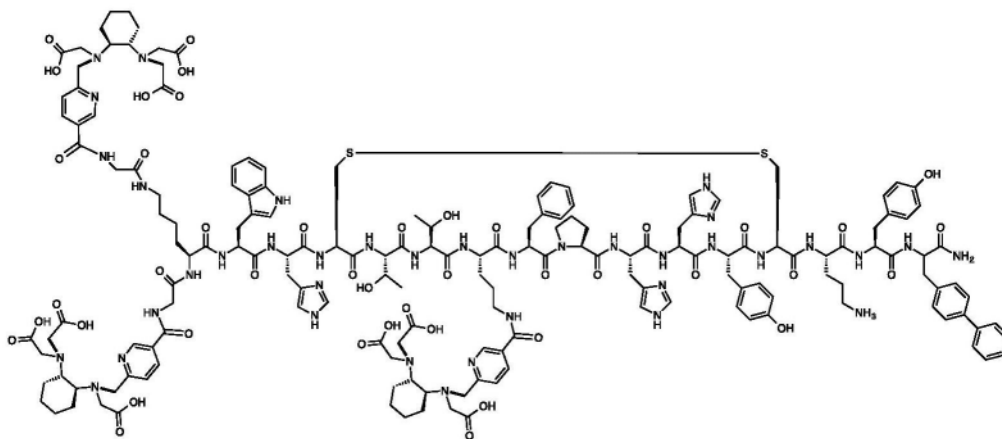
[0426]



[0427] 或其药学上可接受的盐。

[0428] 在另一个实施例中,一个或多个(例如,2、3、4、5、或6个)螯合配体被连接到对胶原蛋白具有高亲和力的TBM。例如,一个这种化合物可以具有如下所示的式:

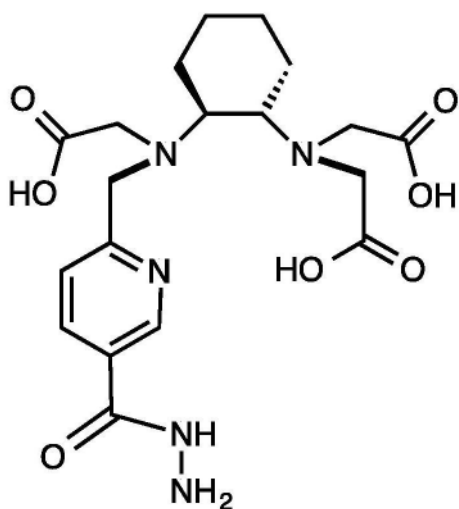
[0429]



[0430] 或其药学上可接受的盐。

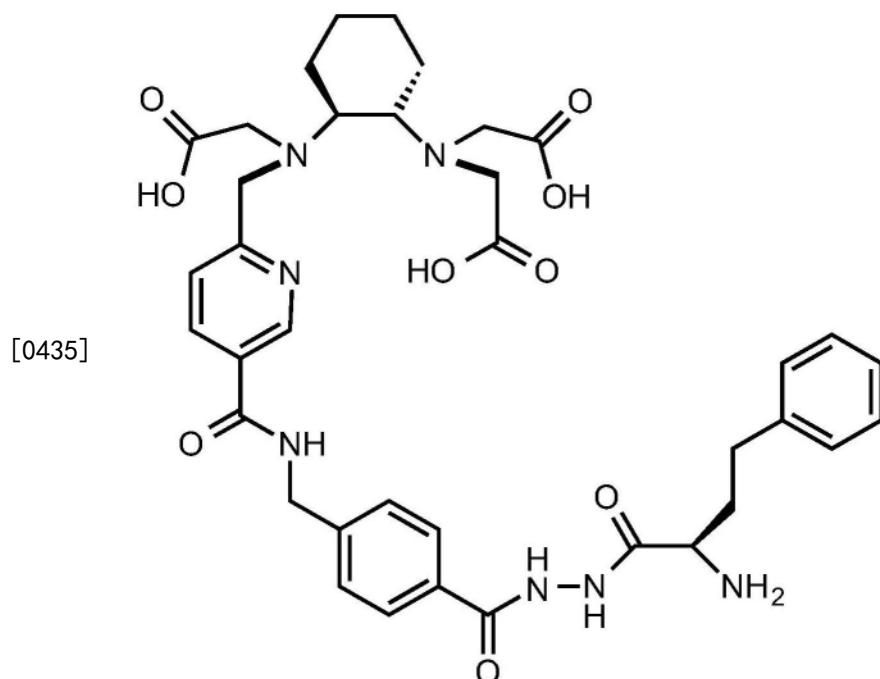
[0431] 在另一个实施例中,螯合配体连接到对蛋白质羰基具有高亲和力的TBM,例如酰肼。例如,一个螯合配体具有如下所示的式

[0432]



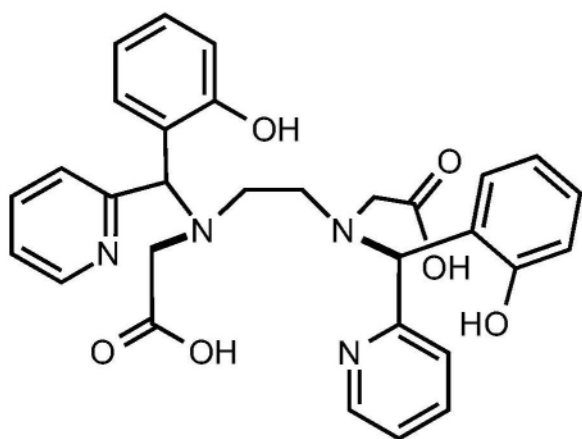
[0433] 或其药学上可接受的盐。

[0434] 在另一个实施例中，螯合配体连接到对弹性蛋白具有高亲和力的TBM。例如，一个螯合配体具有如下所示的式

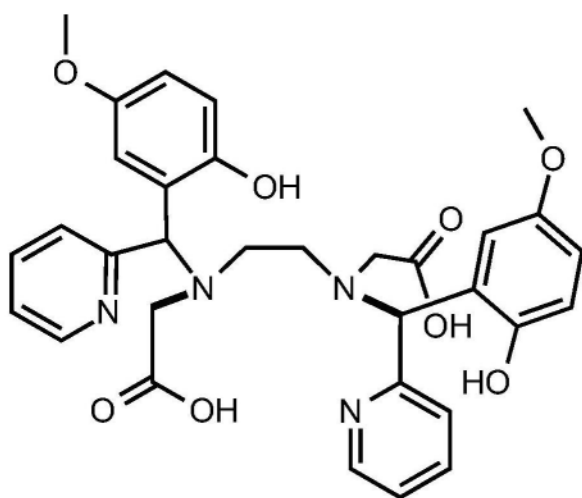
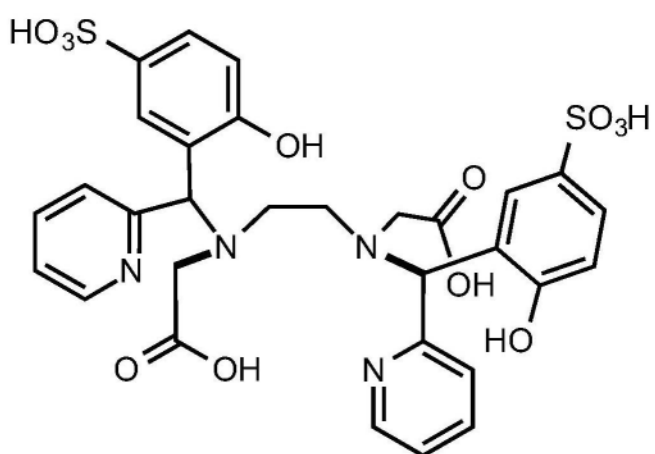


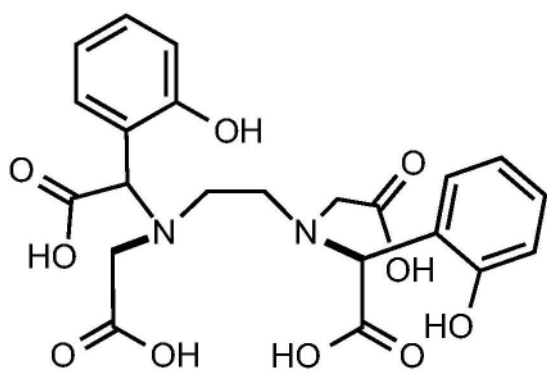
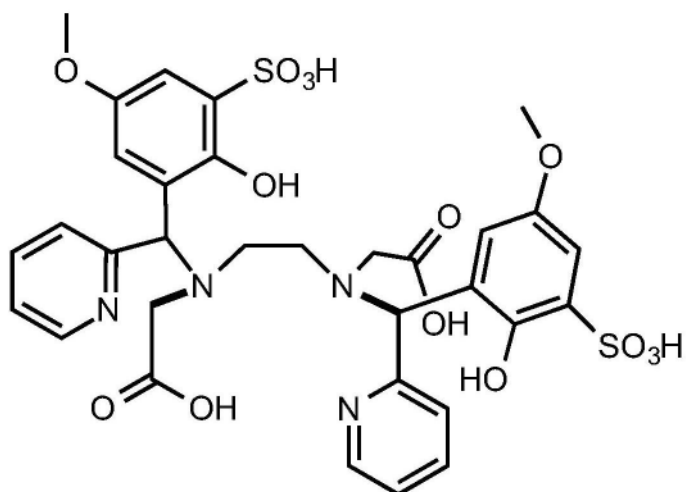
[0436] 或其药学上可接受的盐。

[0437] 在另一个实施例中，螯合配体具有有利于Mn(II)的结合的DG和R，而且具有有利于Mn(III)的结合的辅助R，其中每个螯合物或螯合配体中有利于Mn(II)的R基团不同于有利于Mn(III)的那些。例如，当M=Mn时，有利于Mn(II)的R³基团可以独立地选自：COOH、PO₃H₂、或式XVI(其中X=N)，而有利于Mn(III)的R⁴基团可以独立地选自：COOH、PO₃H₂、或式XVI(其中X=C(OH))。此类化合物的非限制性实例包括：

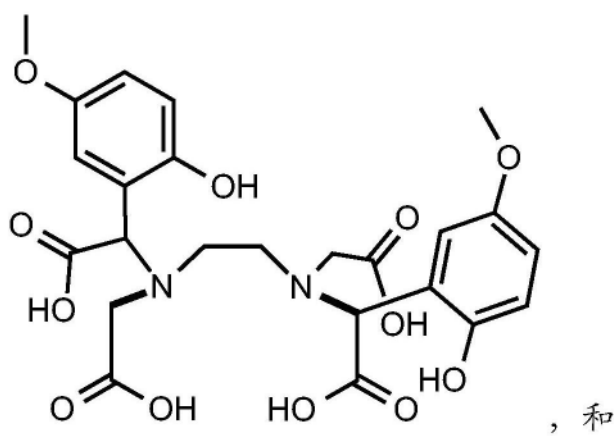
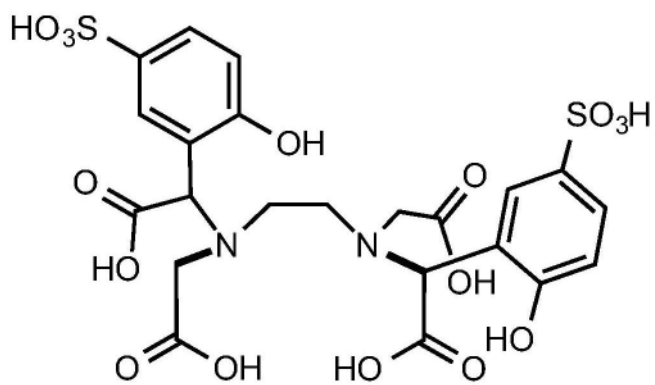


[0438]



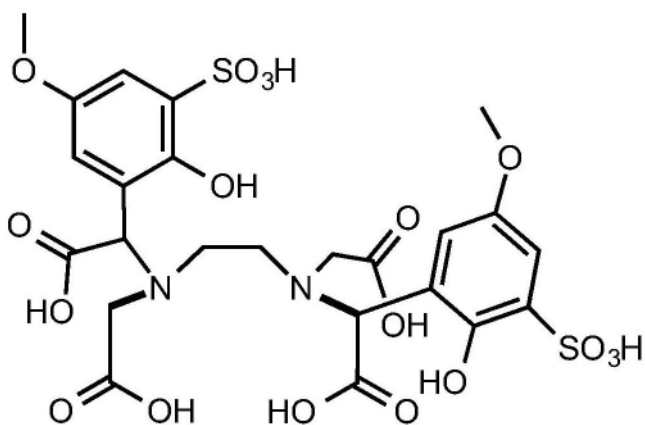


[0439]



, 和

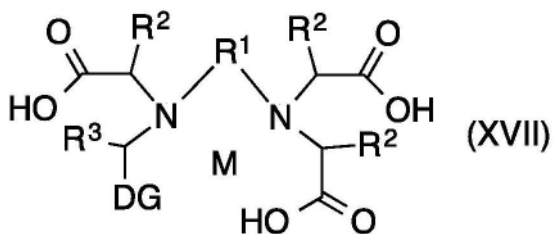
[0440]



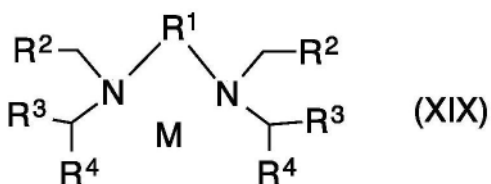
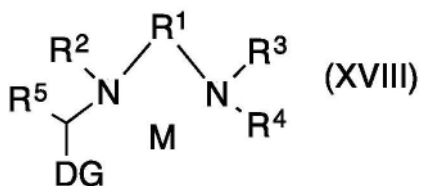
[0441] 或其药学上可接受的盐。

[0442] 用于制备螯合配体的合成方案是通用的并且可以被广泛地扩展以包括另外的实施例。

[0443] 在一些实施例中,螯合配体与金属配位以形成具有如下通式的化合物:

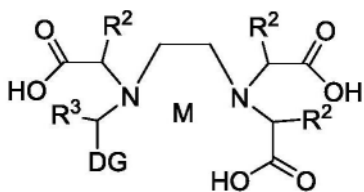


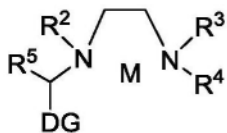
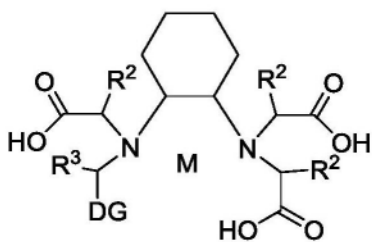
[0444]



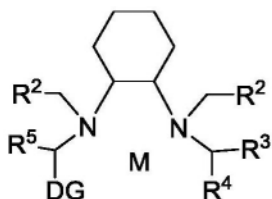
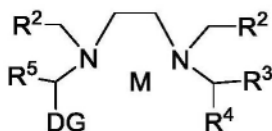
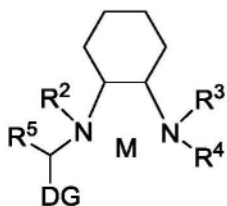
[0445] 或其药学上可接受的盐,其中所有部分是如上文定义的。例如,与金属配位的螯合配体可以形成具有如下通式的化合物:

[0446]





[0447]

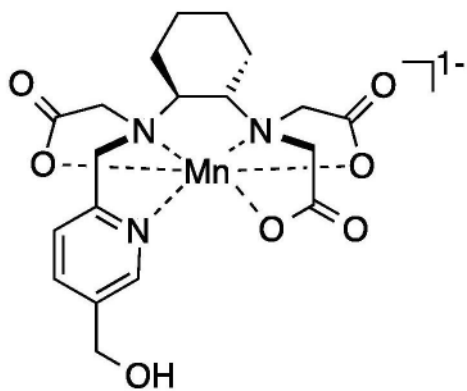
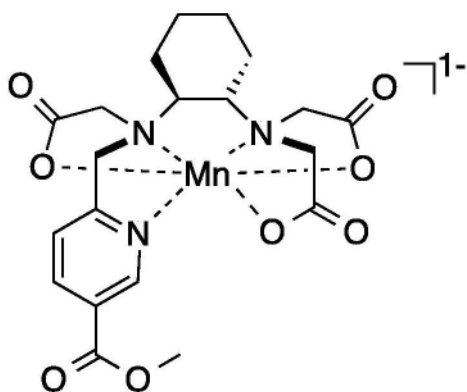


[0448] 或其药学上可接受的盐。

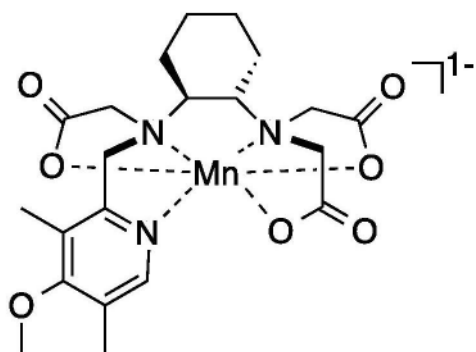
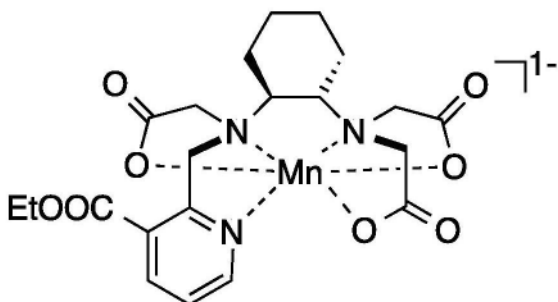
[0449] 在此类实施例中, M可以是选择以下的稳定或不稳定性同位素: Gd (III)、Fe (III)、Mn (II)、Mn (III)、Cr (III)、Cu (II)、Cu (III)、Dy (III)、Ho (III)、Er (III)、Pr (III)、Eu (II)、Eu (III)、Nd (III)、La (III)、Lu (III)、Sm (III)、Tb (III)、Tb (IV)、Tm (III)、Y (III)、In (III)、Ga (III)、Tc (III)、Tc (IV)、Tc (V)、Re (III)、Re (IV)、Re (V)、Bi (III)、和Yb (III)。在一些实施例中, M是Mn (II) 或Mn (III)。

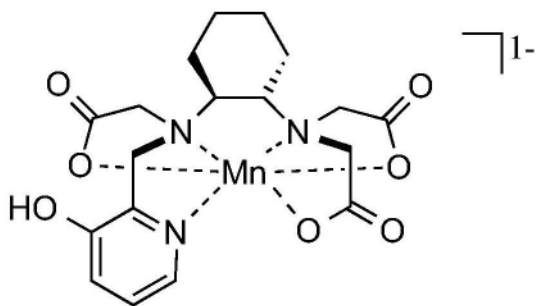
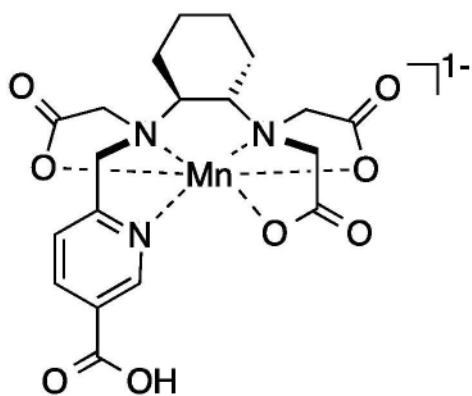
[0450] 在一些实施例中, 螯合物-金属络合物的DG已经被修饰以靶向血浆蛋白 (例如血清白蛋白)。

[0451] 如在此提供的, 金属螯合物的非限制性实例包括:

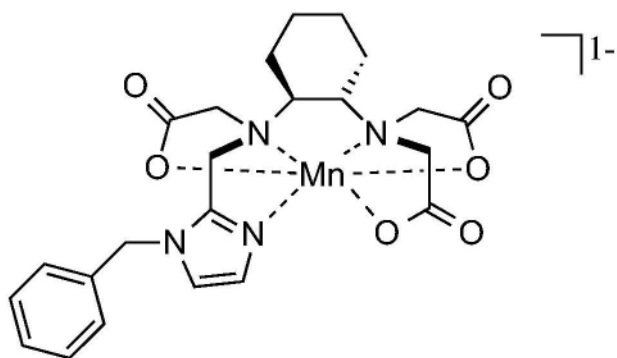
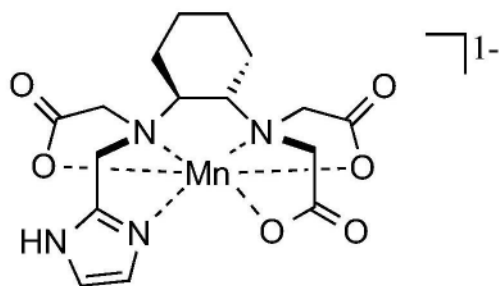
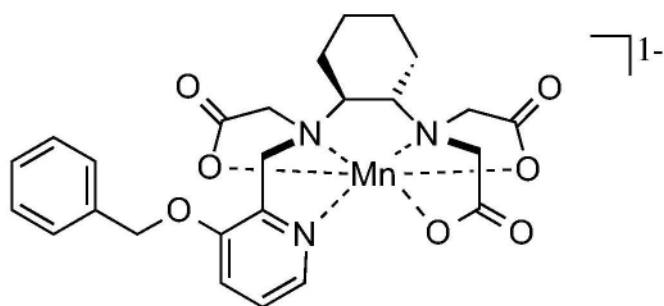


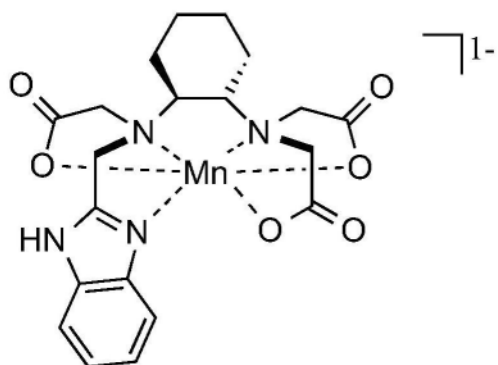
[0452]





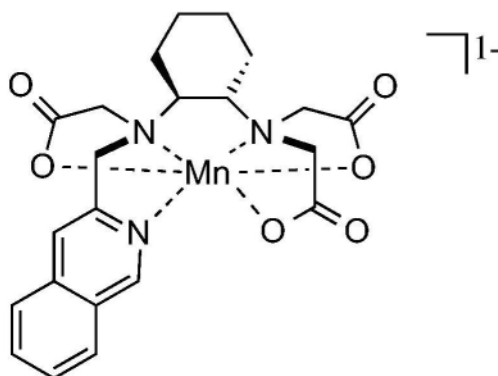
[0453]





, 和

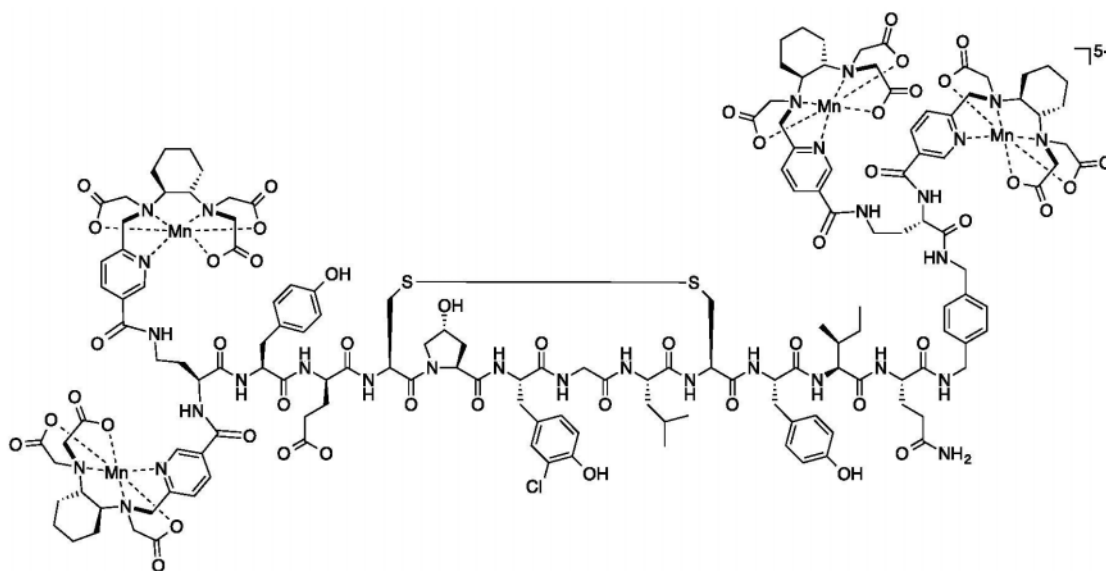
[0454]



[0455] 或其药学上可接受的盐。

[0456] 在另一个示例性实施例中,一个或多个(例如,2、3、4、5、或6个)螯合物-金属络合物被连接到对纤维蛋白具有高亲和力的TBM。例如,一个这种螯合物-金属络合物具有如下所示的式

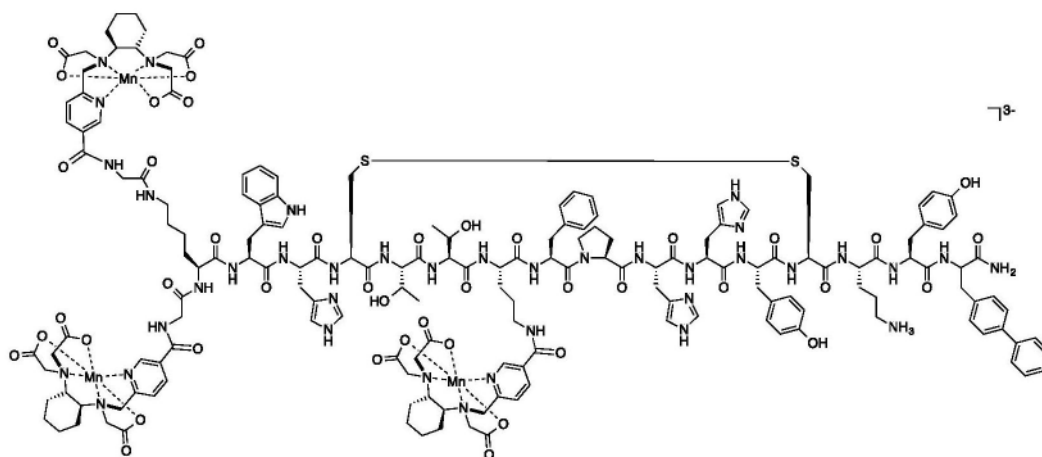
[0457]



[0458] 或其药学上可接受的盐。

[0459] 在另一个实施例中,一个或多个(例如,2、3、4、5、或6个)螯合物-金属络合物被连接到对胶原蛋白具有高亲和力的TBM。例如,一个螯合物-金属络合物具有如下所示的式:

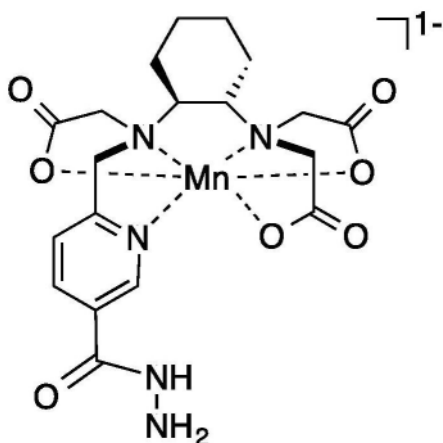
[0460]



[0461] 或其药学上可接受的盐。

[0462] 在另一个实施例中,螯合配体连接到对蛋白质羰基具有高亲和力的TBM,例如酰肼。例如,一个螯合配体具有如下所示的式

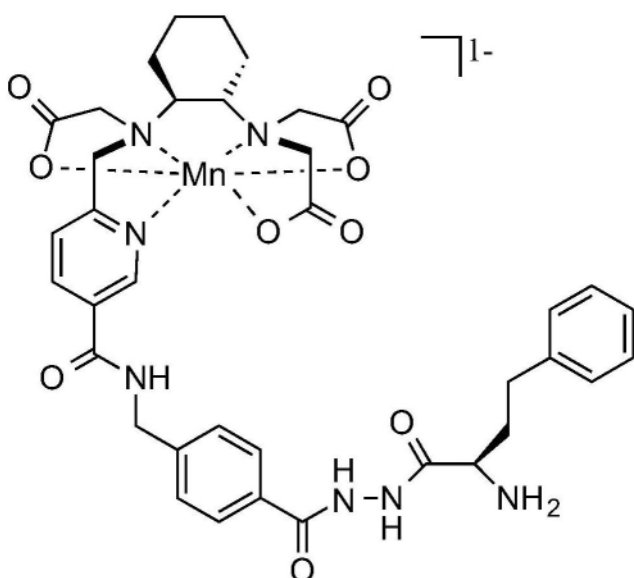
[0463]



[0464] 或其药学上可接受的盐。

[0465] 在另一个实施例中,螯合配体连接到对弹性蛋白具有高亲和力的TBM。例如,一个螯合配体具有如下所示的式

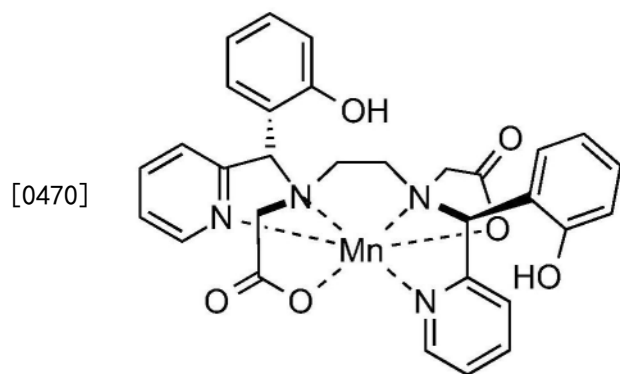
[0466]



[0467] 或其药学上可接受的盐。

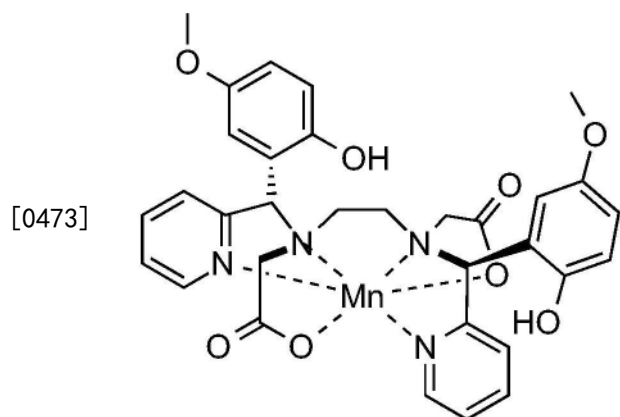
[0468] 在另一个实施例中,螯合物-金属络合物具有有利于Mn(II)的结合的DG和R,而且具有有利于Mn(III)的结合的辅助R,其中每个螯合物或螯合配体中有利于Mn(II)的R基团不同于有利于Mn(III)的那些。例如,在式XIX中,当M=Mn时,有利于Mn(II)的R基团可以独立地选自:COOH、PO₃H₂、或式XVI(其中X=N),而有利于Mn(III)的那些可以独立地选自:式XVI(其中X=C(OH))。在Mn(II)氧化为Mn(III)时,有利于Mn(III)的R基团与氧化的Mn(III)离子结合。从Mn(II)转换为Mn(III)导致弛豫率降低。

[0469] 在一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



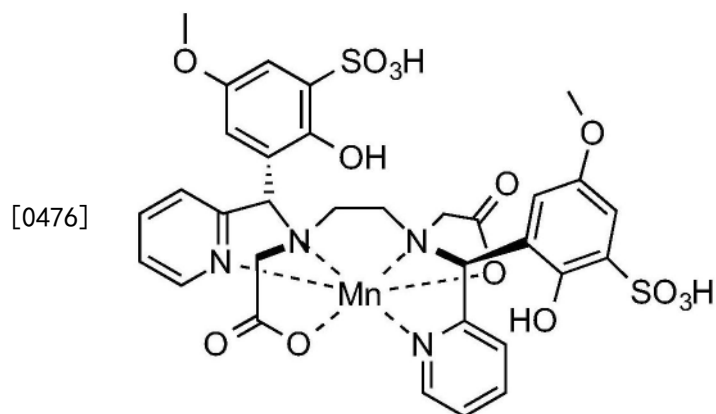
[0471] 或其药学上可接受的盐。

[0472] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



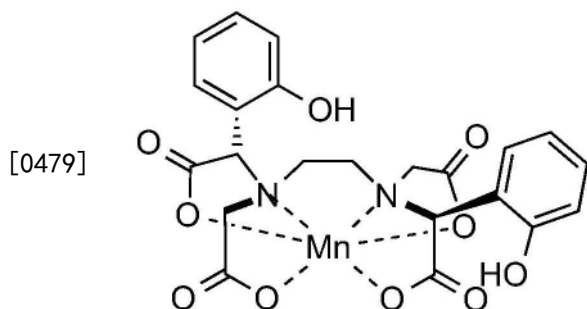
[0474] 或其药学上可接受的盐

[0475] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



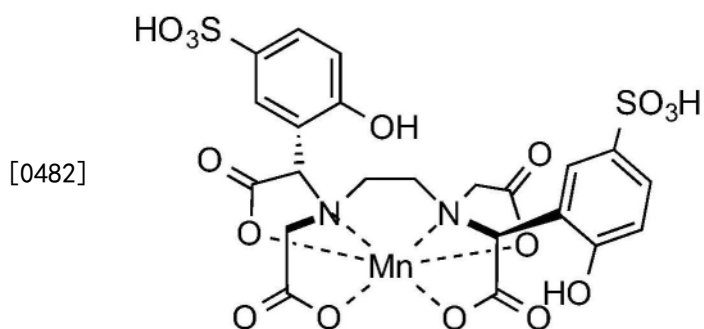
[0477] 或其药学上可接受的盐

[0478] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



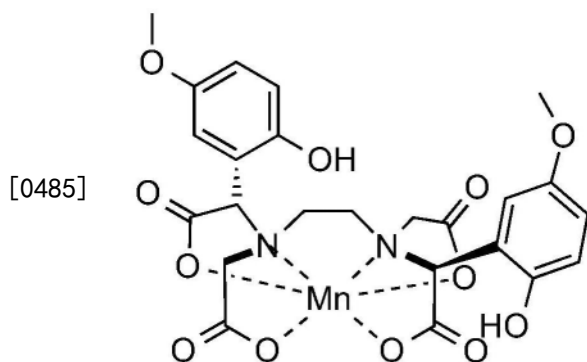
[0480] 或其药学上可接受的盐

[0481] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



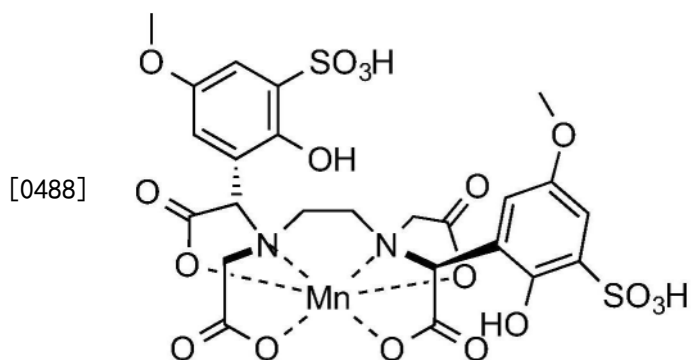
[0483] 或其药学上可接受的盐

[0484] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



[0486] 或其药学上可接受的盐

[0487] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式

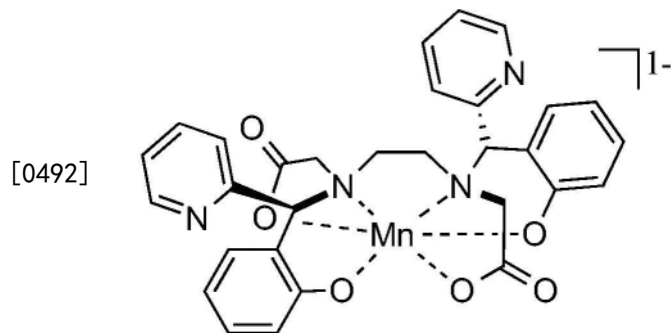


[0489] 或其药学上可接受的盐

[0490] 以相关的方式,螯合物-金属络合物具有有利于Mn(III)的结合的DG和R,而且具有

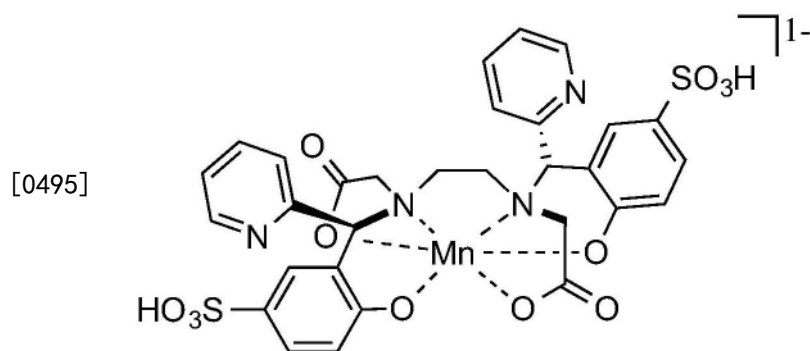
有利于Mn(II)的结合的辅助R,其中每个螯合物或螯合配体中有利于Mn(III)的R基团不同于有利于Mn(II)的那些。例如,当M=Mn时,有利于Mn(III)的R⁴基团可以独立地选自:式XVI(其中X=C(OH)),而有利于Mn(II)的R³基团可以独立地选自:COOH、PO₃H₂、或式XVI(其中X=N)。在Mn(III)还原为Mn(II)后,有利于Mn(II)的R基团与还原的Mn(II)离子结合。从Mn(III)转换为Mn(II)导致弛豫率增加。

[0491] 在一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



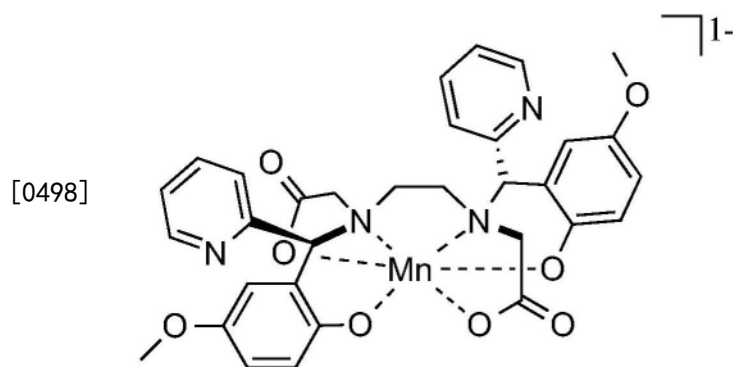
[0493] 或其药学上可接受的盐。

[0494] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



[0496] 或其药学上可接受的盐

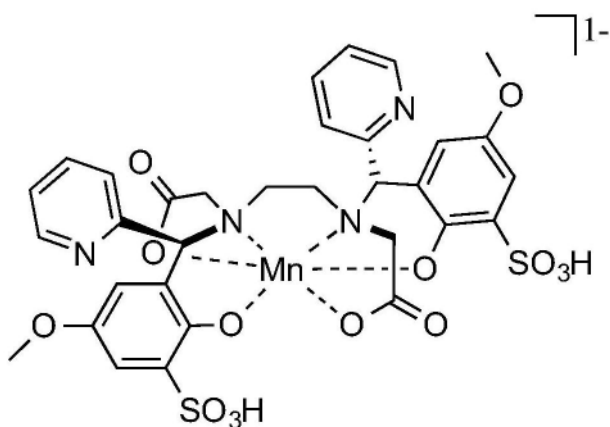
[0497] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



[0499] 或其药学上可接受的盐

[0500] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式

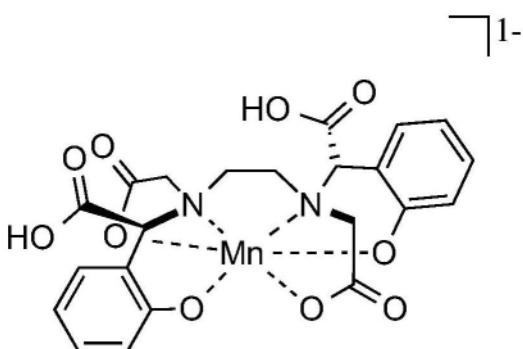
[0501]



[0502] 或其药学上可接受的盐

[0503] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式

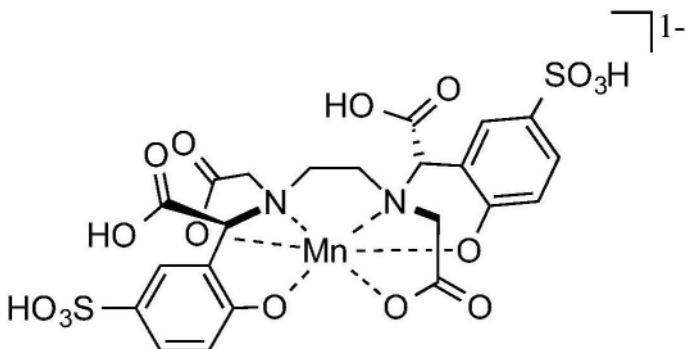
[0504]



[0505] 或其药学上可接受的盐

[0506] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式

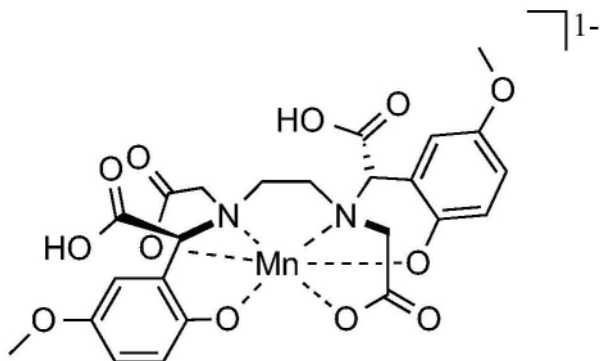
[0507]



[0508] 或其药学上可接受的盐

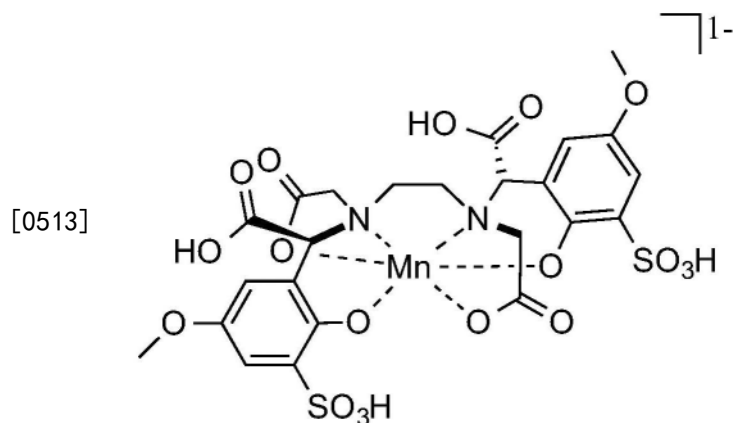
[0509] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式

[0510]



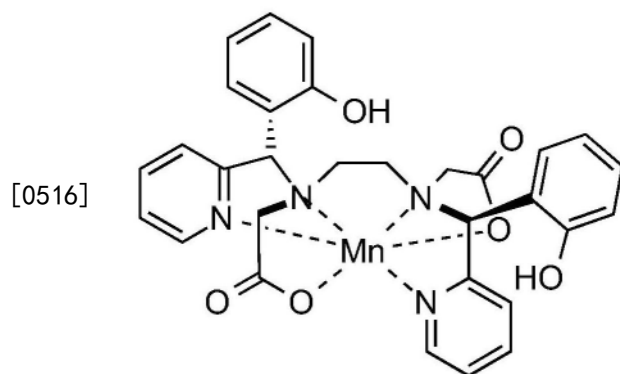
[0511] 或其药学上可接受的盐

[0512] 在另一个示例性实施例中,螯合物-金属络合物具有如下所示的式



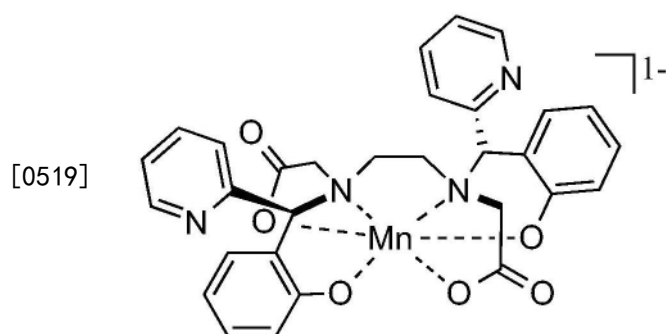
[0514] 或其药学上可接受的盐。

[0515] 可以在Mn(II)和Mn(III)氧化态之间切换的螯合物-金属络合物可以响应于生物化学刺激而“开启”和“关闭”。例如,化合物可以是其中Mn离子处于Mn(II)氧化态的化合物,如下式所示



[0517] 或其药学上可接受的盐。

[0518] 在还原后,化合物Mn(II)络合物可以是其中Mn离子处于Mn(III)氧化态的化合物:



[0520] 或其药学上可接受的盐。此类能够响应氧化或还原刺激而改变它们的弛豫率和信号产生特性的造影剂可用于检测氧化应激的区域,该氧化应激发生在体内,例如是由于在以下情况下的心肌缺血:急性冠状动脉综合征或心肌梗塞;或中风;或炎症;或非酒精性脂肪性肝炎;或炎性肠病;或多发性硬化症;或高风险动脉粥样硬化斑块;或其他以组织或器官缺血为特征的疾病;或慢性炎症(例如类风湿性关节炎或狼疮)。增殖的癌细胞比正常细胞需要更高的还原性环境,并且因此这些造影剂可以用于区分癌性组织与正常组织,或用

于分期特定癌症的侵袭性。

[0521] 用于制备螯合配体的合成方案是通用的并且可以被广泛地扩展以包括另外的实施例

[0522] 靶标基团

[0523] 如上所指示的,可以修饰螯合配体以掺入一个或多个靶标结合部分(TBM)。TBM可以包括:肽、核酸或小有機分子,这些的实例在下面提供。TBM允许螯合配体和金属螯合物在体内与靶标结合。典型地,TBM具有针对靶标的亲和力。例如,TBM能以小于10 μ M、或小于5 μ M、或小于1 μ M、或小于100nM的解离常数结合其靶标。在一些实施例中,相对于其他生理学靶标,TBM具有针对特定靶标的特异性结合亲和力。例如,相对于胶原蛋白解离常数,TBM可以表现出较小的纤维蛋白解离常数。一些TBM不一定附着靶标,但促进了造影剂在特定靶标存在下的弛豫率变化。例如,在通过过氧化物酶产生的活性氧(ROS)的存在下,TBM可以促进弛豫率的变化。

[0524] 可以通过本领域熟知的方法(包括标准肽和核酸合成方法(参见例如W0 01/09188、W0 01/08712、以及美国专利号6,406,297和6,515,113,所有这些文件通过引用以其整体结合))来合成TBM并将其缀合至螯合配体。在一些实施例中,TBM与螯合配体共价结合。例如,TBM可以通过任选的接头(L)与螯合配体共价结合。如上述结构所指示的,TBM可以位于螯合配体上的任何位置。例如,可以将TBM(任选地经由L)与任何R或DG结合。在一些实施例中,将多个TBM掺入螯合配体可以导致对靶标的更高的亲和力和亲合力。典型地,螯合配体含有1-4个(L-TBM)单元,例如螯合配体可以与一个L-TBM结合、或螯合配体可以与两个L-TBM单元结合、或螯合配体可以与三个L-TBM单元结合、或螯合配体可以与四个L-TBM单元结合。在其他实施例中,可能优选的是将多个螯合配体与一个或多个L-TBM单元结合,以增加造影剂的MR信号产生能力。在此类实施例中,典型地,造影剂将含有与2-8个螯合配体结合的1-4个(L-TBM)单元,例如两个螯合配体可以与一个L-TBM结合、或三个螯合配体可以与一个L-TBM结合、或四个螯合配体可以与一个L-TBM结合、或六个螯合配体可以与一个L-TBM结合、或八个螯合配体可以与一个L-TBM结合。

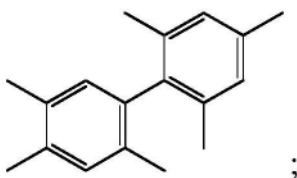
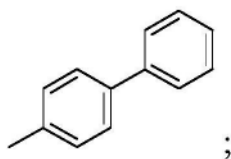
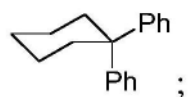
[0525] 在存在或不存在靶标的情况下,例如,当TBM分别与靶标结合或未结合时,可以测定具有TBM的螯合配体的弛豫率值(作为金属螯合物)。典型地,由于RIME影响,当与靶标结合时,具有TBM的金属螯合物将表现出更高的弛豫率(参见例如美国专利号4,899,755和4,880,008,两者均通过引用以其整体结合)。

[0526] 典型的靶标包括:人血清白蛋白(HSA)、纤维蛋白、心肌的细胞外组分(例如胶原蛋白、弹性蛋白和饰胶蛋白聚糖)、在炎症或癌症中分泌的细胞外酶(例如过氧化物酶或蛋白酶)、或病变的细胞外组分(例如透明质酸、肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素、多能蛋白聚糖、双糖链蛋白聚糖、失调的硫醇/二硫化物组合物)。

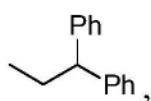
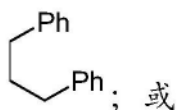
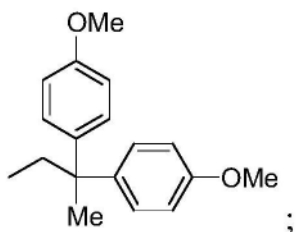
[0527] 用于结合HSA的TBM在本领域中是熟知的,并且可以包括多种疏水或两亲部分。例如,用于结合HSA的TBM可以具有以下式中的一个:

[0528] $(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$;

[0529] $(\text{CH}_2)_n\text{Ph}$;



[0530]



[0531] 其中n是2至20,并且Ph是苯基(参见例如,WO 96/23526)。

[0532] 用于结合纤维蛋白的有用TBM描述于:2002年7月30日提交的美国专利申请序列号10/209,183,题为“基于肽的多聚体靶向造影剂 (PEPTIDE-BASED MULTIMERIC TARGETED CONTRAST AGENTS)”,其通过引用以其整体结合。例如,纤维蛋白结合肽可以选自:环状二硫键桥肽C-P*-Y*-X-L-C (SEQ ID NO:1),其中P*为脯氨酸或其衍生物4-羟脯氨酸,Y*为酪氨酸或其非天然衍生物(在3-位置处被来自F、Cl、Br、I或NO₂的组的部分取代),并且X是甘氨酸、或D-或L-天冬氨酸。作为另一个实例,肽可以选自:X₁-X₂-C-P*-Y*-X₃-L-C-X₄-X₅-X₆ (SEQ ID NO:2),其中X₁选自W、S、F、Y、或取代的Y、或取代的F;X₂选自E、H、dH、S;X₃选自G、D、dD;X₄选自H、F、Y、和W;X₅选自I、L、V、和N;并且X₆选自N、Q、I、L、V,或X₆不存在。

[0533] 用于结合病变的细胞外组分的TBM包括对透明质酸(HA)具有亲和力的肽。已知对HA具有亲和力的肽。例如,已经分离了与来自随机12-mer噬菌体肽库的HA结合的肽(参见例如Mummert,M.,Mohamedzadeh,M.,Mummert,D.,Mizumoto,N.,和Takashima,A.J.,Exp.Med.[实验医学杂志](2000)769-779,其通过引用以其整体结合)。这些肽之一:GAHWQFNALTVR (SEQ ID NO:3),以约1μM的Kd与HA结合。如在此所描述的,所有肽都从它们的N末端至其C末端来书写的。其他HA结合肽包括:TSYGRPALLPAA (SEQ ID NO:4)、MDHLAPTRFRPAI (SEQ ID NO:5)、TLRAIWPMWSS (SEQ ID NO:6)、和IPLTANYQGDF (SEQ ID NO:7)。

[0534] 另外,对HA具有亲和力的肽可以包括在许多HA结合肽中发现的共有结合基序,包

括RHAMM、CD44和连接蛋白。共有基序可以是B(X)₇,其中B是碱性残基(例如Lys、His或Arg),并且X是非酸性残基。

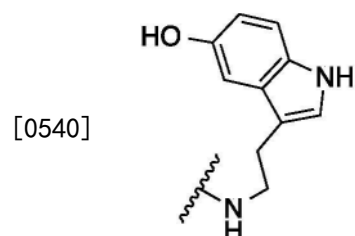
[0535] 在其他实施例中,病变靶向肽对肝素可以具有亲和力,并且可以包括在肝素结合蛋白中发现的肝素结合基序。用于包含在肽中的肝素结合基序包括:XBBXB_X或XBBBXXB_X,其中B是碱性残基(例如Lys、His或Arg),并且X是非酸性残基。例如,肝素结合肽ACQWHRVSVRWG (SEQ ID NO:8)符合XBBXXXB_X序列(参见例如Nielsen,P.K.,Gho,Y.S.,Hoffman,M.P.,Watanabe,H.,Makino,M.,Nomizu,M.,和Yamada,Y.J.Biol.Chem.[生物化学杂志](2000) 275,14517-14523,其通过引用以其整体结合)。最后,硫酸肝素/肝素相互作用蛋白序列(HIP)基序也可以包含在肽中。这种基序的一个实例是CRPKAKAKAKDQTK (SEQ ID NO:9)。

[0536] 在其他实施例中,病变靶向肽可以对跨膜蛋白的蛋白水解片段(例如受体蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP μ))具有亲和力(参见例如Burden-Gully,S.M.,Zhou,Z.,Craig,S.E.L.,Lu,Z.-R.,Brady-Kalnay,S.M.Transl.Oncol.[转化肿瘤学](2013) 6,329-337)。这种基序的一个实例是CGEGDDFNWEQVNTLTKPTSD (SEQ ID NO:10)。

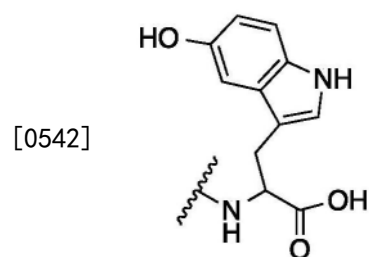
[0537] 在其他实施例中,病变靶向肽可以对纤连蛋白具有亲和力(参见例如Zhou,Z.,Qutaish,M.Han,Z.Schur,R.M.,Liu,Y.,Wilson,D.L.,和Lu,Z.-R.Nat.Comm.[自然通讯](2015) 6,7984-7994)。这种基序的一个实例是CREKA (SEQ ID NO:11)。

[0538] 用于靶向纤维蛋白的有用TBM包括纤维蛋白结合肽,以允许在哺乳动物内进行纤维蛋白的特异性成像(例如血栓、实体瘤和动脉粥样硬化斑块)。可以使用任何能够结合纤维蛋白的肽。例如,于以下中披露的肽:WO 2008/071679,美国专利号6,984,373;6,991,775;和7,238,341以及美国专利申请号2005/0261472,所有这些文件通过引用以其整体结合。肽的长度可以是约2至约25个氨基酸(例如约3至约20、约5至约18、约8至约15、和约10至约14个氨基酸)。

[0539] 用于靶向炎症和癌症中分泌的酶的有用TBM包括:5-羟色胺,如下所示



[0541] 和5-羟色氨酸,如下所示,



[0543] 这些有用TBM在过氧化物酶(例如髓过氧化物酶)产生的ROS的存在下被氧化并随后低聚化(参见例如Shazeeb,M.S.,Xie,Y.,Gupta,S.,和Bogdanov,A.A.Jr.,Mol.Imaging.[分子成像](2012) 11,433-443,所有这些文件通过引用以其整体结合)。低聚反应导致更大、更缓慢的翻转螯合物(具有更高弛豫率)。

[0544] 在其他实施例中,ROS靶向部分可以包括:可以被生物氧化剂(例如氧、过氧化氢、超氧化物、过氧化物酶、次氯酸或二硫化物)氧化的DG或R基团。在不存在氧化剂的情况下,DG或R基团有利于与处于高价氧化态的金属离子(例如Mn(III))形成金属螯合物。当DG或R基团被氧化时,则氧化的DG或R基团现在有利于与处于低价氧化态的金属离子(例如Mn(II))形成金属螯合物。从Mn(III)转换为Mn(II)导致弛豫率增加。

[0545] 在其他实施例中,包含R基团和DG(有利于并结合处于低价氧化态的金属离子,例如Mn(II))的金属-螯合物可以包括:辅助的、非配位的R基团(有利于结合高价氧化态金属,例如Mn(III))。此类辅助R基团可以结合并捕获由Mn(II)被生物氧化剂(例如氧气、过氧化氢、超氧化物、过氧化物酶、次氯酸或二硫化物)氧化而产生的Mn(III)。从Mn(II)转换为Mn(III)导致弛豫率降低。

[0546] 在其他实施例中,包含R基团和DG(有利于并结合处于高价氧化态的金属离子,例如Mn(III))的金属-螯合物可以包括:辅助的、非配位的R基团(有利于结合低价金属氧化态,例如Mn(II))。此类辅助R基团可以结合并捕获由Mn(II)被生物还原剂(例如硫醇、抗坏血酸、线粒体、超氧化物、还原酶、NADH或NADPH)还原而产生的Mn(II)。从Mn(III)转换为Mn(II)导致弛豫率增加。

[0547] 用于靶向炎症和癌症中分泌的酶的有效TBM可以包括:蛋白酶的肽底物(参见Jastrzebska,B.,Lebel,R.,Therriault,H.,McIntyre,J.O.,Escher,E.,Guerin,B.,Paquette,B.,Neugebauer,W.A.,和Lepage,M.J.Med.Chem.[药物化学杂志](2009) 52, 1576-1581,其通过引用以其整体结合)。蛋白酶对肽底物的活性可以影响螯合物-金属络合物的溶解度的变化。降低的溶解度导致生化靶标位点处的体内滞留。

[0548] 用于靶向胶原蛋白的有效TBM包括:衍生自冯维勒布兰德(vonWillebrand)因子的多肽原的肽(其已知可结合胶原蛋白)。如在此使用的,所有肽都是从N至C末端来书写的。另外,含有两个或更多个半胱氨酸残基的肽可以在非还原条件下形成二硫键。用于靶向胶原蛋白的肽可以包括以下通式: $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}$ (SEQ ID NO:12),其中 X_1 可以是W、C、或A; X_2 可以是R、C、或A; X_3 可以是E、C、A、K、或T; X_4 可以是P、C、或A; X_5 可以是D、G、S、C、或A; X_6 可以是F、R、C、或A; X_7 可以是C、M、或A; X_8 可以是A、E、或C; X_9 可以是L、M、R、C、或A;并且 X_{10} 可以是S、N、G、L、C、或A;其中 X_1-X_{10} 中不超过3个独立地是C或A,并且其中 X_1-X_{10} 中C和A残基的总数最多为4。例如,肽可以具有以下序列:WREPSFCALS(SEQ ID NO:13);WREPSFMALS(SEQ ID NO:14);和WREPGFCALS(SEQ ID NO:15)。

[0549] 结合胶原蛋白的肽的另一个实例具有以下通式: $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}$ (SEQ ID NO:16),其中 X_1 可以是W、C、或A; X_2 可以是R、C、或A; X_3 可以是E、C、A、K、或T; X_4 可以是P、C、或A; X_5 可以是D、G、S、C、或A; X_6 可以是F、R、C、或A; X_7 可以是C、M、或A; X_8 可以是A、E、或C; X_9 可以是L、M、R、C、或A; X_{10} 可以是S、N、G、L、C、或A; X_{11} 可以是C、M、或A; X_{12} 可以是P、A、或C;并且其中 X_{13} 可以是K、Q、P、H、G、C、或A;其中 X_1-X_{13} 中不超过4个独立地是C或A,并且其中 X_1-X_{13} 中C和A残基的总数最多为5。

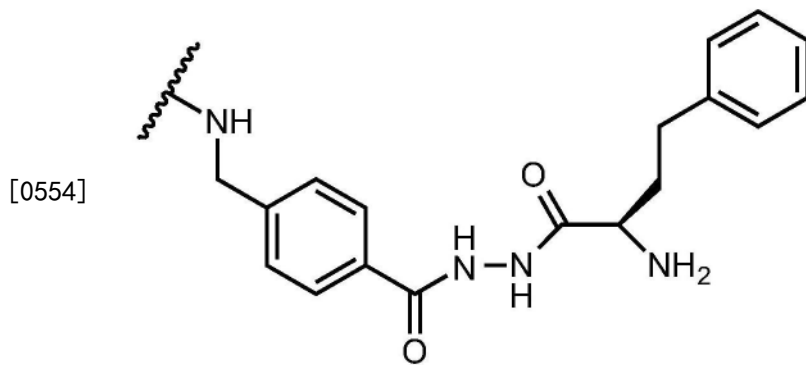
[0550] 用于结合胶原蛋白的肽还可以具有以下通式: $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}$ (SEQ ID NO:17),其中 X_1 可以是V、I、C、或A; X_2 可以是A、G、R、D、或C; X_3 可以是W、C、或A; X_4 可以是R、C、或A; X_5 可以是E、C、A、K、或T; X_6 可以是P、C、或A; X_7 可以是D、G、S、C、或A; X_8 可以是F、R、C、或A; X_9 可以是C、M、或A; X_{10} 可以是E、A、或C; X_{11} 可以是L、C、A、M、或R;

X_{12} 可以是S、C、A、N、G、或L; X_{13} 可以是C、M、或A; X_{14} 可以是P、A、或C; 并且 X_{15} 可以是K、Q、P、H、G、C、或A; 其中 X_1-X_{15} 中不超过4个独立地是C或A, 并且其中 X_1-X_{15} 中C和A残基的总数最多为6。

[0551] 用于靶向胶原蛋白的进一步肽可以发现于: 2006年12月29日提交的美国专利8,034,898, 题为“胶原蛋白成像的方法 (Methods of Collagen Imaging)”中, 其通过引用以其整体结合。例如, 胶原蛋白结合肽可以选自: 环状二硫键桥肽W-H-C- X_1 -T- X_2 -F-P-H-H-Y-C (SEQ ID NO:18), 其中 X_1 选自Y、T、或S, 并且 X_2 可以是任何氨基酸。用于靶向胶原蛋白的其他肽可以通过修饰(例如, 突变、截短、加长)上述肽来鉴定。

[0552] 用于结合叶酸受体、玻连蛋白、 α -v- β -3和 α -v- β -5整联蛋白、用于MMP靶标的RGD肽、卟啉和磷酸盐的有用TBM描述于以下文件和所述文件中的参考文献中: 2004年6月17日提交的WO 2004/112839, 其通过引用以其整体结合。

[0553] 用于结合弹性蛋白的有用TBM包括下式:



[0555] 自组装部分

[0556] 低浓度靶标的磁共振成像可能受造影剂的弛豫率的限制。已经采用了不同的策略将许多螯合物组装在一起, 以提高造影剂的灵敏度, 包括螯合配体和金属螯合物的共价和非共价组装。非共价方法涉及使用可以与其自身或类似基团相互作用以形成分子组装的基团。如上所指示的, 可以修饰螯合配体以掺入一个或多个自组装部分 (SAM)。SAM可以包括: 脂质、长链烷基或取代的烷基基团、全氟化碳、肽、核酸或小的有机分子。SAM允许螯合配体和金属螯合物与其自身缔合以形成较大的聚集体、颗粒或组装体。

[0557] 可以通过本领域熟知的方法(包括标准肽和核酸合成方法(参见例如WO 01/09188、WO 01/08712、以及美国专利号6,406,297和6,515,113,所有这些文件通过引用以其整体结合))来合成SAM并将其缀合至螯合配体。典型地, SAM与螯合配体共价结合, 并且可以通过任选的接头(L)与螯合配体共价结合。如上述结构所指示的, SAM可以位于螯合配体上的任何位置。例如, 可以将SAM(任选地经由L)与任何R或DG结合。

[0558] 可以测定具有SAM的螯合配体在等于或高于临界自组装浓度时的弛豫值(作为金属螯合物)。在非常低的浓度下, 螯合物可以主要以单体、未组装的形式存在; 在临界自组装浓度以上时, 螯合物可以主要以自组装形式存在。典型地, 由于RIME影响, 当处于自组装形式时, 具有SAM的金属螯合物将表现出更高的弛豫率(参见例如美国专利号4,899,755和4,880,008, 两者均通过引用以其整体结合)。

[0559] SAM可以包括能够形成胶束(参见例如Nicolle, G.M., Toth, E., Eisenwiener, K.P., Macke, H.R., 和Merbach, A.E. J Biol Inorg Chem. [生物无机化学学报] 2002 7:757-69, 其通过引用以其整体结合), 或脂质体(参见例如Mulder, W.J., Strijkers, G.J., van

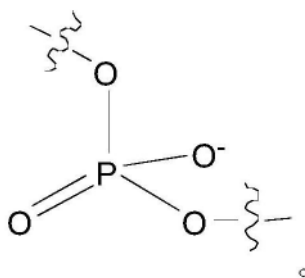
Tilborg, G.A., Griffioen, A.W., 和 Nicolay, K., NMR Biomed. [生物医学核磁共振杂志] 2006 19:142-64, 其通过引用以其整体结合) 的脂质和脂质样基团。SAM还可以促进向混合的脂质体或乳剂中的掺入 (参见例如美国专利号6,869,591, 其通过引用以其整体结合)。

[0560] SAM还可以是促进自组装的全氟烷基基团 (参见例如美国专利号6,916,461和WO 2003/0232012, 两者均通过引用以其整体结合)。可替代地, 肽还可以形成自组装物 (参见例如WO 2004/0204561, 其通过引用以其整体结合, 以及其中披露的肽序列)。

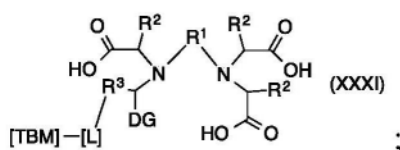
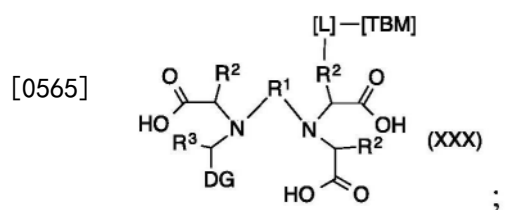
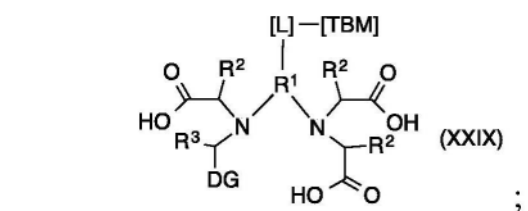
[0561] 接头

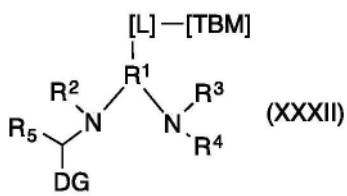
[0562] 在一些实施例中, TBM与螯合配体通过接头 (L) 共价结合。L可以包括, 例如, 直链、支链或环状肽序列。在一个实施例中, L可以包括线性二肽序列G-G (甘氨酸-甘氨酸)。在其中TBM包括肽的实施例中, L可以封端TBM肽的N-末端、C-末端、或N-和C-末端两者, 作为酰胺部分。其他示例性封端部分包括: 磺酰胺、脲、硫脲和氨基甲酸酯。接头还可以包括直链、支链或环状烷烃、烯烃或炔烃、以及磷酸二酯部分。L可以被一个或多个官能团 (包括酮、酯、酰胺、醚、碳酸盐、磺酰胺或氨基甲酸酯官能团) 取代。考虑的特异性接头包括: $-(O-(CH_2)_2-O)_n$, 其中 $n=1-20,000$, 并且更具体地, 其中 $n=1-6$; $-NH-CO-NH-$; $-CO-(CH_2)_n-NH-$, 其中 $n=1$ 至 10 ; dpr; dab; $-NH-Ph-$; $-NH-(CH_2)_n-$, 其中 $n=1$ 至 10 ; $-CO-NH-$; $-(CH_2)_n-NH-$, 其中 $n=1$ 至 10 ; $-CO-(CH_2)_n-NH-$, 其中 $n=1$ 至 10 ; $-CS-NH-$, 和

[0563]

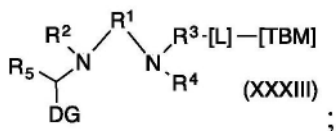


[0564] 在一些实施例中, L经由任何R或DG连接到螯合物。例如, 螯合物可以具有以下通式:

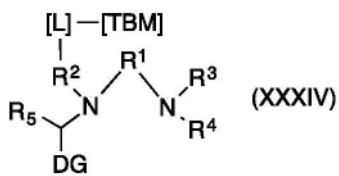




;

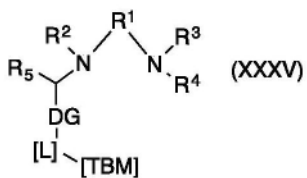


;

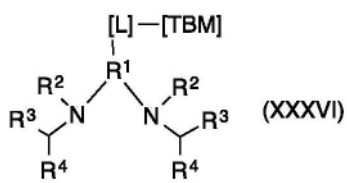


;

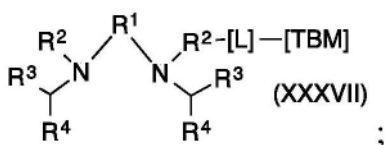
[0566]



;

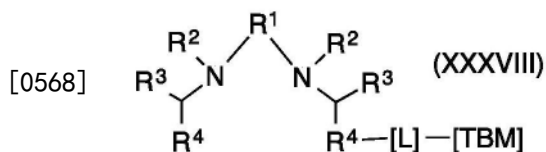


;



;

[0567] 和



[0569] 或其药学上可接受的盐。

[0570] 用于将它们掺入螯合配体(特别是包含肽的螯合配体)的接头和合成方法学的其他实例列于:W0 01/09188、W0 01/08712、W0 2004/112839、美国专利申请序列号10/209,183(题为“基于肽的多聚体靶向造影剂(Peptide-Based Multimeric Targeted Contrast Agents)”,于2002年7月30日提交)、以及美国专利申请序列号11/618,564(题为“胶原蛋白结合肽(COLLAGENBINDING PEPTIDES)”,于2006年12月29日提交),所有这些文件通过引用以其整体结合。

[0571] 螯合配体和金属螯合物的特性

[0572] 螯合配体能够结合一个或多个金属离子,以生成金属螯合物。可以通过本领域中

熟知的方法制备金属螯合物;参见例如,WO 96/23526,美国专利号6,406,297和6,515,113(所有这些文件通过引用以其整体结合),以及以下实例。

[0573] 金属螯合物可以包括原子序数为21-29、40、42或57-83的金属离子。例如、金属螯合物可以包括选择以下的稳定或不稳定的同位素:Gd(III)、Fe(III)、Mn(II)、Mn(III)、Cr(III)、Cu(II)、Cu(III)、Dy(III)、Ho(III)、Er(III)、Pr(III)、Eu(II)、Eu(III)、Nd(III)、La(III)、Lu(III)、Sm(III)、Tb(III)、Tb(IV)、Tm(III)、Y(III)、In(III)、Ga(III)、Tc(III)、Tc(IV)、Tc(V)、Re(III)、Re(IV)、Re(V)、Bi(III)、或Yb(III)。金属离子可以是顺磁性的。典型地,由于螯合配体上的DG的化学性质和数量,金属离子与螯合配体紧密结合,并且可以制备生理上相容的金属螯合物。用于金属离子的螯合配体的形成常数 K_f 是结合亲和力的指标,并且典型地参考对数 K_f 标度进行讨论。生理上相容的金属螯合物可以具有范围从10至约25的对数 K_f ,即 K_f 在 10^{10} 至 $10^{25}M^{-1}$ 的范围内。对于Mn(II)金属螯合物,对数 K_f 应该大于12。用于测量 K_f 的方法是本领域熟知的;参见例如Martell,A.E.和Motekaitis,R.J., *Determination and Use of Stability Constants*[稳定常数的确定和使用],第2版,VCH出版社,纽约(1992),其通过引用以其整体结合。

[0574] 还可以测定金属螯合物的弛豫率值。如果金属螯合物掺入TBM,则可以在存在和不存在靶标分子的情况下测量弛豫率。用于测量弛豫率的方法是本领域熟知的;参见例如,WO 96/23526,其通过引用以其整体结合。

[0575] 鉴定新型高弛豫率螯合物的一个挑战是,对于大多数金属螯合物来说,观察到的弛豫率受到螯合物翻转速率(旋转扩散)的限制。这将在以下综述中得到充分证明:例如R.B.Lauffer,Chem.Rev.1987,87:901-27和P.Caravan等人.,Chem.Rev.[化学评论]1999,99:2293-2352。上面列出的许多参数(例如,水的驻留时间和第二层影响)对低分子量(<1500Da)金属络合物的影响不显著。当金属螯合物缓慢翻转(通过与蛋白质等大分子结合、与高分子结构连接、或自组装成大的聚集体)时,可以观察到这些其他参数的影响。因此,鉴定能够具有非常高的弛豫率的金属螯合物的一种方式是在旋转扩散缓慢的条件下针对弛豫率筛选螯合物。

[0576] 做到这一点的一种方式是将每个待测试的螯合物掺入到常见的TBM或SAM基团中。通过比较在靶标蛋白(例如白蛋白)的存在下具有共同TBM的螯合物,可以按照从最高到最低弛豫率顺序对螯合物进行排序并且确定哪个供体基团和SSM是最有利的组合。以这种方式鉴定的高弛豫率螯合物可以被进一步修饰以掺入不同的TBM。

[0577] 金属螯合物也可以评估一个或多个水分子在一个或多个第一(或更高)配位层中的平均停留时间。水分子的平均停留时间是水交换速率的倒数,并且取决于温度而变化。在37℃下、在金属螯合物的配位层中的水的平均停留时间可以在1和100ns之间。在一些实施例中,在37℃下、在金属螯合物的配位层中的水的平均停留时间在3和30ns之间。可以使用 ^{17}O NMR来评估水分子的平均停留时间。参见例如以下实例7。

[0578] 发光寿命测量可用于评估与金属螯合物结合的水分子的数量。用于测量发光寿命的方法在本领域中是已知的,并且典型地包括监测特定波长处螯合物的发射跃迁以用于寿命确定,随后是发光衰变数据的拟合。发光寿命测量也可用于评估金属螯合物作为发光探针的适用性。可替代地, ^{17}O NMR可以用于Mn(II)螯合物(参见Gale EM,Zhu J,Caravan P.Direct Measurement of the Mn(II)Hydration State in Metal Complexes and

Metalloproteins through ^{17}O NMR Line Widths.[通过 ^{17}O NMR线宽直接测量金属络合物和金属蛋白中的Mn(II)的水合状态]J Am Chem Soc[美国化学学会杂志]2013;135:18600-18608,其通过引用以其整体结合)。

[0579] 螯合配体和金属螯合物的用途

[0580] 如上所述,螯合配体可以用于制备金属螯合物,以用于诊断目的。例如,用Mn(II)制备的金属螯合物可以在MR成像中用作造影剂。掺入TBM的造影剂可以结合靶标,并且因此可以在靶向MR应用中尤其有用,例如对血流、凝块、病变或心肌进行成像。在一些实施例中,至少约10%(例如,至少约50%、约80%、约90%、约92%、约94%、或约96%)的造影剂能以造影剂和靶标的生理学相关浓度与所希望的靶标结合。造影剂与靶标结合的程度可以通过多种平衡结合方法来评估,例如超滤方法;平衡透析;亲和力色谱法;或探针化合物的竞争性结合抑制或置换。

[0581] 由于靶标结合,造影剂可以表现出高弛豫率,这导致更好的MR图像分辨率。在一些实施例中,与未结合靶标或以不同氧化态存在的螯合物-金属络合物相比,结合后弛豫率的增加至少为约1.5倍(例如,弛豫率增加至少2、3、4、5、6、7、8、9或10倍)。例如,与未结合靶标或以不同氧化态存在的螯合物-金属络合物相比,靶标造影剂可以具有7至8倍、9至10倍、或甚至大于10倍的弛豫率的增加。在一些实施例中,如在此提供的在60MHz和37°C下的MRI造影剂的弛豫率至少为 $8\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ /顺磁性金属离子(例如,至少10、15、20、25、30、35、40、或 $60\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ /顺磁性金属离子)。例如,在60MHz和37°C下,在此提供的造影剂可以具有大于 $10\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 的弛豫率。

[0582] 镧系元素的金属螯合物还可以用作发光探针。发光金属螯合物探针可以用于多种测定,例如用于在研究和诊断应用(包括高通量、实时和多重应用)中检测、分离和/或定量化学和生物分析物。例如,掺入TBM的探针可以结合感兴趣的靶标分析物,并且可以具有长的发光寿命(例如,大于0.1 μs 、或100 μs 、或1ms),由此提高不同测定形式的灵敏度和适用性。一般来说,参见美国专利号6,406,297和6,515,113,用于描述适合于包含发光金属螯合物探针的测定,两者均通过引用以其整体结合。发光金属螯合物探针在免疫分析和实时PCR检测测定中尤其有用。

[0583] MRI造影剂的用途

[0584] MRI造影剂能以与常规MRI造影剂相同的方式使用。例如,向患者(例如,动物,如人类)给予有效量的造影剂并且采集该患者的MR图像。在具有TBM的实施例中,可以使用相对于背景血液或组织的磁共振信号对比度,优先增加具有与之结合的造影剂的靶标的磁共振信号的对比度的造影增强成像序列。这些技术包括但不限于:试图使血液变黑的黑血管造影序列,例如快速自旋回波序列:流动扰相(flow-spoiled)梯度回波序列;和抑制血液流入的无体积(out-of-volume)抑制技术。这些方法还包括:流动独立技术(增强由于造影增强靶标与血液和组织之间的 T_1 差异所造成的造影差异),例如反转恢复制备或饱和恢复制备序列(将增加靶标和背景组织之间的对比度)。 T_2 技术的制备方法也可能是有用的。最后,磁化转移技术的准备也可以提高与造影剂的对比度。

[0585] 可以使用涉及造影增强和非造影图像的采集和/或比较、和/或一种或多种另外的造影剂的使用的方法。另外的造影剂可以表现出对靶标的亲和力。示例性方法列于:美国专利申请序列号09/778,585,题为“磁共振血管造影数据(MAGNETIC RESONANCE ANGIOGRAPHY

DATA)”,于2001年2月7日提交,以及美国专利申请序列号10/209,416,题为“用于血管系统靶向磁共振成像的系统和方法(SYSTEMS AND METHODS FOR TARGETED MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE VASCULAR SYSTEM)”,于2002年7月30日提交,两者均通过引用以其整体结合。

[0586] 根据常规程序,造影剂可以被配制成药物组合物。如在此使用的,造影剂可以包括其药学上可接受的衍生物。“药学上可接受的”意指该试剂可以给予至动物而没有不可接受的副作用。“药学上可接受的衍生物”意指造影剂或组合物的任何药学上可接受的盐、酯、酯盐或其他衍生物,当将其给予接受者之后,能够(直接或间接)提供造影剂或其活性代谢物或残余物。其他衍生物是当给予哺乳动物时提高生物利用度(例如,通过让口服给予的化合物更容易地被吸收进血液)或相对于亲本种类增强母体化合物向生物区室(例如脑或淋巴系统)的递送从而增加暴露的那些。造影剂的药学上可接受的盐包括:衍生自本领域已知的药学上可接受的无机和有机酸和碱的抗衡离子,包括但不限于钠、钙和N-甲基-葡糖胺。

[0587] 药物组合物可以通过任何途径给予,包括口服和肠胃外给予。肠胃外给予包括但不限于皮下、静脉内、动脉内、间质、鞘内和腔内给予。当静脉内给予时,药物组合物可以作为推注、作为两个或更多个剂量在时间上分隔、或作为恒定或非线性流动输注来给予。因此,造影剂可以被配制为用于任何给予途径。

[0588] 典型地,用于静脉内给予的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,该组合物还可以包括增溶剂、稳定剂和局部麻醉剂(例如利多卡因)以缓解注射部位的疼痛。一般而言,成分将分开提供,例如以试剂盒形式提供,或以单位剂型混合在一起,例如作为干冻干粉或无水浓缩物提供。该组合物可以储存在气密容器(例如以活性单位指明活性剂的量的安瓿或小药囊中)。在通过输注给予组合物时,可以用包含“注射用水”、盐水或其他合适的静脉注射液的输注瓶进行分配。在通过注射给予组合物时,可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿,使得可以在给予前将这些成分混合。药物组合物包含造影剂及其药学上可接受的盐与任何药学上可接受的成分、赋形剂、载体、佐剂或运载体。

[0589] 在一些实施例中,造影剂以可注射组合物的形式给予至患者。给予造影剂的方法可以包括:胃肠外,意指静脉内、动脉内、鞘内、间质内或颅内给予。药物组合物能以与其他诊断剂或治疗剂相似的方式给予至哺乳动物(包括人类)。待给予的剂量和给予的方式将取决于多种因素(包括年龄、体重、性别、患者的病症和遗传因素)并且最终将由医务人员在实验确定不同剂量然后如本文所述进行成像之后决定。通常,诊断灵敏度或治疗功效所需的剂量将在约0.001至50,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (优选在0.01至25.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间)的宿主体重的范围内。

[0590] 实例

[0591] 方法。

[0592] 通用。所有的化学品和溶剂都是商业购买的,并且不需要进一步纯化即可使用

[0593] NMR。除非另有说明,在25 $^{\circ}\text{C}$ 下在500MHz的Varian光谱仪上记录NMR谱。化学位移以 δ (ppm)报告。对于 ^1H 和 ^{13}C NMR谱,将残余溶剂峰用作内部参考,除了在 D_2O (其中二噁烷用作内部参考)中记录的 ^{13}C NMR外(Fulmer, Organometallics[金属有机]2010,29,2176)¹。弛豫率测量在Bruker mq60 Minispec、1.41T和37 $^{\circ}\text{C}$ 下进行。纵向(T_1)弛豫率经由以下获得;使用在 $0.05 \times T_1$ 和 $5 \times T_1$ 之间的10个反转持续时间范围进行反转恢复实验;使用Carl-Purcell-Meiboom-Gill自旋回波实验测量横向(T_2)弛豫率。弛豫率(r_1 、 r_2)由至少4个浓度的 $1/T_{1,2}$ 对

比[Mn]的曲线的斜率确定。 ^{17}O 的横向(T_2)弛豫时间是在11.7T下从 H_2^{17}O 信号的半高处的全宽采集的(Gale, Carvan, J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志]2013, 135, 18600)。通过将相对于净 H_2O (pH 3)的Mn赋予的 $1/T_2$ 增加除以Mn浓度(以mM计)来计算 ^{17}O T_2 弛豫率(r_2^0)。用10 μL 的18% H_2^{17}O 富集0.7-1.0mL NMR样品。

[0594] 在纤维蛋白凝块的存在下的弛豫率。如先前所述进行测量(Carvan, J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志]2008, 130, 6025)。简而言之,将 CaCl_2 添加到化合物20(如下所示)、凝血酶和人纤维蛋白原的溶液中以触发纤维蛋白形成(CaCl_2 、纤维蛋白原和凝血酶的终浓度分别为10mM, 10mg/mL和0.6U/mL)。测量前,将所得的纤维蛋白凝胶在37°C下孵育20min。

[0595] HPLC方法。使用具有LC/MSD阱的安捷伦1100系列仪器和Daly转换倍增极检测器(其中在220、254和280nm处进行UV检测)进行液相色谱-质谱(LC-MS)。这一系统使用的方法如下:(A1) Kromasil C18柱(100×4.6mm);洗脱剂C:90%MeCN/10%10mM乙酸铵,D:10mM乙酸铵;梯度:在14min内为5%C至95%C;流速:0.8mL/min。使用Phenomenex C18或C5柱(250×21.8cm)在瑞宁(Rainin)Dynamax HPLC系统上进行反相半制备型纯化(其中从220至280nm进行UV检测)。流动相A是添加有0.1%TFA的水;流动相B是添加有0.1%TFA的MeCN;流动相C是50mM乙酸铵缓冲液,pH 6.5;流动相D是5%50mM的乙酸铵缓冲液(pH 6.5)和95%MeCN的混合物。用于纯化的方法如下:(P1)从95%A/5%B开始,B的级分在23min内增加至70%。将柱用95%B洗涤2min,并且然后斜变至5%B。将系统在5%B下再平衡3min,(P2)从95%C/5%D开始,D的级分在23min内增加至70%。将柱用95%D洗涤2min,并且然后斜变至5%B。将系统在5%B下再平衡3min,(P3)从95%A/5%B开始,B的级分在23min内增加至95%。将柱用95%B洗涤2min,并且然后斜变至5%B。将系统在5%B下再平衡3min,(P4)从95%C/5%D开始,D的级分在23min内增加至95%。将柱用95%D洗涤2min,并且然后斜变至5%D。将系统在5%B下再平衡3min,(P5)从80%A/20%B开始,B的级分在23min内增加至95%。将柱用95%B洗涤2min,并且然后斜变至5%B。将系统在5%B下再平衡3min,(P6)从95%A/5%B开始,B的级分在40min内增加至60%。将柱用95%B洗涤2min,并且然后斜变至5%B。将系统在5%B下再平衡3min,(P7)从95%C/5%D开始,D的级分在23min内增加至60%。将柱用95%D洗涤2min,并且然后斜变至5%D。将系统在5%D下再平衡3min,(P8)从95%C/5%D开始,D的级分在40min内增加至60%。将柱用95%D洗涤2min,并且然后斜变至5%D。将系统在5%D下再平衡3min,(P9)从95%C/5%D开始,D的级分在23min内增加至40%。将柱用95%D洗涤2min,并且然后斜变至5%D。将系统在5%D下再平衡3min。

[0596] DD(E)结合测定。使用先前描述的DD(E)荧光偏振置换测定来评估探针的亲合力。⁵通过观察荧光各向异性的相应变化来检测来自DD(E)的四甲基罗丹明标记的肽(TRITC-Tn6)的置换。TRITC-Tn6探针的 K_d 是通过用DD(E)蛋白质滴定并如先前所述拟合所得的荧光数据来确定的(Caravan, Bioconjugate Chem. [结合物化学]2012, 23, 548)。该实验在室温下、使用浓度为0.1 μM 的TRITC-Tn6、在以下测定缓冲液中进行:Tris碱(50mM)、NaCl(100mM)、 CaCl_2 (2mM)、Triton X-100(0.01%)(pH=7.8)。使用TECAN Infinity F200 Pro读板仪进行各向异性测量,该读板仪装配有适用于四甲基罗丹明的过滤器组(激发535nm,发射590nm)。

[0597] 在组织和血液中的Mn定量。使用安捷伦8800-QQQ ICP-MS系统来确定金属浓度。用

在5%硝酸中的0.1%Triton X-100来稀释所有样品。每日生成每种金属的线性校准曲线(在从0.1ppb至200ppb的范围内),用于定量。

[0598] 白蛋白结合评估。在4.5%wt/v BSA或牛血浆中的150-300 μ M之间的范围内的螯合物-金属络合物的一系列溶液中进行测量。将150 μ L各溶液置于Millipore Ultra Free MC 5kDa截断过滤容器内,并通过离心将约10 μ L的溶液强制通过过滤器。通过ICP-MS对每个未过滤的溶液和滤液中的Mn含量进行定量。根据未过滤溶液和滤液之间的Mn浓度的差异来评估与白蛋白结合的[Mn(PyC3A)(H₂O)]⁻的百分比。

[0599] 大鼠颈动脉血栓形成模型。所有实验均按照美国国立卫生研究院关于实验动物护理和使用指南(National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)(Guide for the care and use of laboratory animals[实验室动物的护理和使用指南]Bethesda[贝塞斯达],MD[马里兰州]1985)进行,并且得到了马萨诸塞州综合医院的研究机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee at Massachusetts General Hospital)的批准。这项研究使用成年雄性Wistar大鼠(N=4;体重,200-300g;查尔斯河实验室(Charles River Laboratories))。通过将25%w/v AlCl₃(水性)施加到血管外壁来诱导动脉血栓形成。在异氟烷麻醉下,暴露右侧颈总动脉,并施加浸泡在AlCl₃溶液中的小条滤纸。由相同的研究人员在颈动脉分叉处近端1-2cm处进行损害以最小化变异性。使用PE-50管(飞世尔科技公司(Fisher Scientific))插入导管至股动脉,用于探针注射。在血栓形成后30min注射探针(化合物20或含钆的对照化合物EP-2104R)。每只大鼠注射0.01mmol/kg探针(基于金属离子为0.04mmol/kg)。对于抽血实验,分别在大鼠的股静脉和动脉插入导管,用于进行注射和取样。注射后2、5、10、15、30、60和120min、然后是24h进行抽血,并且收集在肝素化的小瓶中。收集后立即将部分血液以5000rpm离心10min,并且分离血浆并称重,用PBS缓冲液稀释2倍并注射到分析型HPLC柱上。

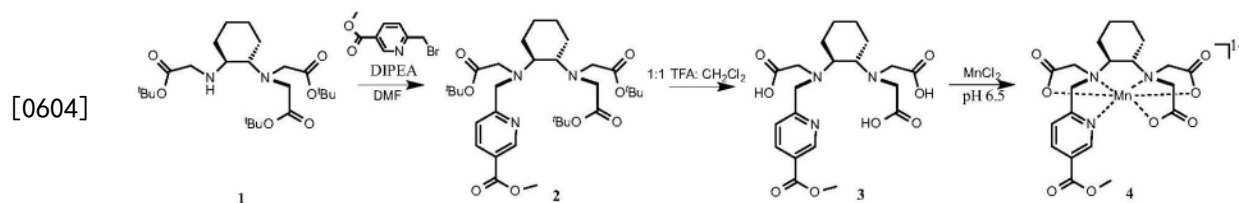
[0600] 大鼠血栓形成的MR成像。成像是人体全身1.5T系统(Avanto,西门子医疗(Siemens Healthcare),埃尔兰根(Erlangen),德国)上用定制的发射-接收线圈进行的。在实验期间用异氟烷(1%-2%)来麻醉动物。将导管放置在股静脉和股动脉中,分别用于抽血和给予造影剂。首先,在矢状面、冠状面和轴面使用T₁加权图像观察头部和颈部,然后横向采集3D TOF血管造影照片。接下来,用两种不同序列在基线处进行分子成像:3D T₁加权梯度回波(GRE)和2D T₁加权黑血快速自旋回波(DB-TSE)。在所有造影前扫描完成后,经由股动脉注射0.01mmol/kg的成像探针(EP-2104R或18)。在造影剂递送后重复在基线处使用的分子成像序列60分钟。采用以下参数来采集TOF血管造影照片:3D T₁加权梯度回波序列,TR/TE/翻转角=26ms/5.75ms/25°,面内FOV=85x85mm,矩阵=320×320,58切片,切片厚度=0.47mm,体素尺寸=0.3x0.3x0.47mm,1平均,并且采集时间=4:18分钟。用于分子成像的GRE序列具有与TOF血管造影照片相同的参数,但具有较小的从头到脚覆盖(48切片)和较长的TR(35ms),导致扫描时间为6:34分钟。另外,进行低饱和,以使流入的动脉血无效。如下进行DB-TSE:TR/TE=800ms/20ms,面内FOV=85x85mm,矩阵=320×320,11切片,切片厚度=2mm,体素尺寸=0.3x0.3x2mm,回波链长度=11,1平均,并且采集时间=4分钟。GRE和DB-TSE具有重叠的体积覆盖,并且是以轴向取向采集的。通过绘制ROI并测量凝块、对侧动脉和相邻肌肉的平均SI,在Matlab(版本R2104a,MathWorks公司,纳蒂克(Natick),MA(马萨诸塞州))中分析图像。噪声被量化为动物体外空气中测量的信号的标准偏差(SD)。如上所述,针

对每种组织类型计算SNR。我们还计算了凝块和对侧动脉相对于肌肉的对比噪声比： $CNR = (SI_{\text{组织}} - SI_{\text{相邻肌肉}}) / SD_{\text{空气}}$ 。在造影前图像基线($SNR_{\text{前}}$ 和 $CNR_{\text{前}}$)处和在造影剂注射后不同时间点($SNR_{\text{后}}$ 和 $CNR_{\text{后}}$)评估SNR和CNR。归一化SNR(nSNR)值是通过将每个时间点的SNR除以 $SNR_{\text{前}}$ 得到的。将非配对学生t检验用于统计分析,其中 $p < 0.05$ 被认为是显著的。

[0601] 组织学。将颈动脉在诱导血栓形成后90min收获、在磷酸盐缓冲液中小心地冲洗、包埋在OCT安装介质(Tissue-Tek)中、并在 -45°C 异戊烷中快速冷冻。根据标准方案,将动脉以20 μm 切片进行冷切片并且处理以用于苏木精和曙红染色。使用Nikon TE-2000显微镜(放大40倍)采集图像。

[0602] 实例1:形成蛋白质结合Mn(II)络合物的螯合配体的合成。

[0603] A. N-((5-甲氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-甲酯)(4)的合成。



[0605] 方案1

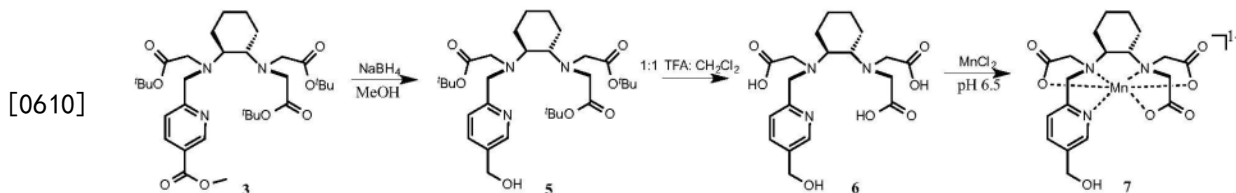
[0606] N-((5-甲氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(2)。将6-(溴甲基)-烟酸甲酯(0.450g,1.95mmol)添加到搅拌于4mL DMF中的3(1.00g,2.01mmol)、碘化钾(0.243g,1.46mmol)和二异丙基乙基胺(0.468g,3.62mmol)里。3h后,将反应物用 Et_2O 稀释至100mL,用饱和 Na_2CO_3 (水性)溶液、大量的水和盐水洗涤,然后经 Na_2SO_4 干燥并浓缩成棕色油状物。通过快速色谱法(碱性氧化铝,己烷: EtOAc ,0%至20% EtOAc)纯化粗产物,并分离1.02g(1.68mmol,84%)6,为透明无色油状物。 ^1H NMR(500MHZ, CDCl_3 , δ 来自质子溶剂):9.07(s,1H),8.24(d,1H),8.03(d,1H),4.20(d,1H),3.04(s,3H),3.86(d,1H),3.53-3.30(m,6H),2.73(br t,1H),2.58(br t,1H),2.05(br m,2H),1.69(br m,2H),1.65(brm,2H),1.45(s,18H),1.43(s,9H),1.26-1.09(m,4H)。 ^{13}C NMR(125.7MHZ, CDCl_3 , δ 来自溶剂):171.8,171.7,166.4,166.3,149.9,137.5,124.3,123.7,80.7,80.6,63.7,62.0,56.4,54.0,53.0,52.4,28.3,26.0,25.9。ESI-MS: $m/z = 606.4 [M+H]^+$;计算值:606.4。

[0607] N-((5-甲氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-甲酯)(3)。将一批2(0.390g,0.645mmol)在5mL 1:1TFA: CH_2Cl_2 中搅拌16h。将反应混合物在真空中浓缩,并且通过使用C18柱和方法P1的RP-HPLC进行纯化,以得到呈白色固体的3(0.184g,0.421mmol,65%产率)。 ^1H NMR(500MHZ, D_2O , 70°C , δ 来自质子溶剂):9.83(br s,1H),9.42(br s,1H),8.68(br s,1H),5.04-4.80(br m,2H),4.61(br s,3H),4.47-4.27(br m,6H),3.98(br s,1h),3.74(br s,1h),2.86-2.77(br m,2H),2.46(br s,2H),2.09-2.01(br m,2H),1.89(br s,2H)。 ^{13}C NMR(125.7MHZ, CDCl_3 , 70°C):173.5,170.7,165.3(一个羧酸盐 $\text{C}=\text{O}$ 共振未被拆分,可能是由于与另一个共振一致重叠),157.0,146.0,145.0,128.7,127.1,64.6,62.9,54.1,53.0,52.4,(一个羧酸盐 CH_2 共振未被拆分,可能是由于与另一个共振一致重叠),24.7,24.6,24.5,24.3。ESI-MS: $m/z = 438.2 [M+H]^+$;计算值:

438.2。

[0608] $\text{Na}[\text{Mn}(\text{PyC3A-5-甲酯})]$ (4)。将一批3 (0.182g, 0.416mmol) 溶于10mL H_2O 中并用乙酸铵将pH调节至6.5。添加 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.066g, 0.130mmol) 并将pH重新调节至6.5。将反应混合物经由使用C18柱和方法P2的RPLC进行纯化, 以得到呈白色固体的4 (0.140g, 0.273mmol, 66%产率)。ESI-MS: $m/z = 491.1 [\text{M}+2\text{H}]^+$; 计算值: 491.1。

[0609] B.N-((5-羟基甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-羟基甲基) (7)的合成。



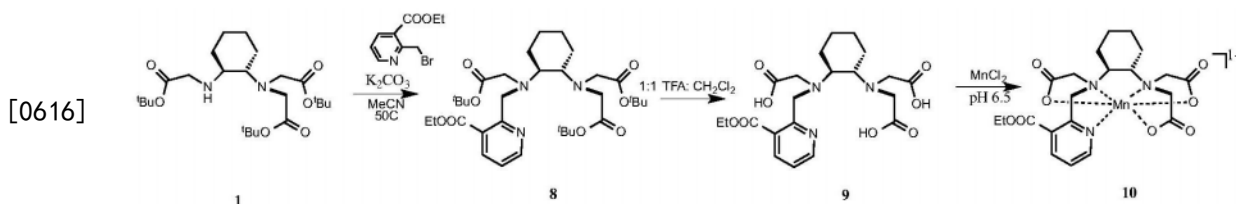
[0611] 方案2

[0612] N-((5-羟基甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(5)。在室温下,将一批2 (0.200g, 0.331mmol) 在20mL MeOH中搅拌,并在24h的过程内分批加入 NaBH_4 (0.562g, 14.9mmol)。通过HPLC监测反应物。完成后,添加10mL水并将反应混合物在真空中浓缩至干燥。粗制品5无需进一步处理或NMR表征就可直接进入下一步骤。ESI-MS: $m/z = 578.4 [\text{M}+\text{H}]^+$; 计算值: 578.4。

[0613] N-((5-羟基甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-6-羟基甲基) (6)。将粗制品5在6mL 1:1TFA: CH_2Cl_2 中搅拌16h。将反应混合物在真空中浓缩,并且然后通过使用C18柱和方法P1的RP-HPLC进行纯化,以得到呈白色固体的6 (0.036g, 0.082mmol, 27%产率)。 ^1H NMR (500MHz, D_2O , 70°C, δ 来自质子溶剂): 9.32 (br s, 1H), 9.07 (brs, 1H), 8.65 (br s, 1H), 5.42 (br m, 2H), 4.92-4.71 (br m, 3H), 4.47-4.27 (br m, 3H), 4.16-4.07 (br m, 3H), 3.61 (br s, 1H), 2.83-2.78 (br m, 2H), 2.46 (br s, 2H), 2.04 (br s, 2H), 1.89 (br s, 2H)。 ^{13}C NMR (125.7MHz, CDCl_3 , 70°C): 176.8, 171.5 (一个羧酸盐C=O共振未被拆分,可能是由于与另一个共振一致重叠), 153.7, 147.7, 163.0, 162.4, 129.6, 67.2, 63.8, 62.4, (一个羧酸盐 CH_2 共振未被拆分,可能是由于与另一个共振一致重叠), 55.3, 54.3, 26.5, 26.5, 26.4, 26.2。ESI-MS: $m/z = 410.2 [\text{M}+\text{H}]^+$; 计算值: 410.2。

[0614] $\text{Na}[\text{Mn}(\text{PyC3A-5-羟基甲基})]$ (7)。将一批6 (0.036g, 0.082mmol) 溶于4mL H_2O 中,并通过添加乙酸铵将pH调节至6.5。添加 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.014g, 0.070mmol) 并将pH重新调节至6.5。使用C18柱和方法P2将反应混合物进行纯化,以得到呈白色固体的7 (0.040g, 0.082mmol, 100%产率)。ESI-MS: $m/z = 463.1 [\text{M}+2\text{H}]^+$; 计算值: 463.1。

[0615] C.N-((3-乙氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-3-乙酯) (10)的合成



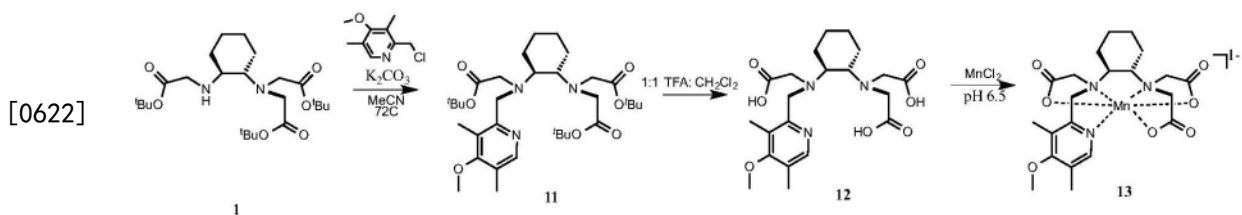
[0617] 方案3

[0618] N-((3-乙氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(8)。将一批0.042g (0.092mmol) 1与在5mL MeCN中的0.152g 2-(溴甲基)烟酸乙酯(0.661mmol)和0.120g K_2CO_3 (8.70mmol)合并,并加热至50℃持续1h。然后将粗反应混合物浓缩至干燥并通过快速色谱法(硅胶,30:70己烷:EtOAc)纯化。将8分离为含有杂质的粗油状物,并直接进入下一个反应(没有表征)。

[0619] N-((3-乙氧基羰基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-3-甲酯)(9)。将0.092g (0.148mmol) 8溶于2mL TFA中并搅拌16h。在真空中除去TFA,将粗产物溶于 CH_2Cl_2 中并在真空中浓缩。通过使用C18柱和方法P3的RP-HPLC纯化产物,以得到24mg (0.053mmol, 36%产率)。 1H NMR (500MHz, D_2O , δ 来自质子溶剂): 8.67 (d, 1H), 8.41 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 4.90 (br s, 1H), 4.33 (q, 2H), 4.16 (d, 1H), 3.80-3.30 (m, 6H), 3.08 (brm, 2H), 2.28 (br m, 1H), 2.11 (br m, 1H), 1.84 (br m, 1H), 1.76 (br m, 1H), 1.57 (brm, 1H), 1.35 (t, 3H), 1.35-1.21 (m, 3H)。 1H NMR (125.7MHz, d_6 -DMSO): 174.7, 169.6, 166.4, 154.0, 152.6, 144.1, 126.4, 124.8, 66.3, 63.2, 61.9, 54.1, 50.4, 26.2, 26.2, 15.9, 25.6, 14.6。ESI-MS: $m/z = 452.2 [M+H]^+$; 计算值: 452.1。

[0620] $Na[Mn(PyC3A-3-乙酯)]$ (10)。一批9 (0.024g, 0.053mmol), 并将pH调节至6.5。将 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0.015g, 0.076mmol)在1.5mL水中合并,并将pH调节至6.5。将反应混合物通过使用C18柱和方法P4的RP-HPLC进行纯化,以得到呈白色固体的10 (0.020g, 0.031mmol, 58%产率)。ESI-MS: $m/z = 505.0 [M+2H]^+$; 计算值: 505.1。

[0621] D.N-((4-甲氧基-3,5-二甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-2-甲氧基,3,5-二甲基)(13)的合成



[0623] 方案4

[0624] N-((4-甲氧基-3,5-二甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(11)。将一批1 (0.127g, 0.278mmol)与在10mL MeCN中的2-(氯甲基)-4-甲氧基-3,5-二甲基吡啶(0.052g, 0.280mmol)和 K_2CO_3 (0.103g, 0.746mmol)合并,并加热到72℃持续24h。然后将粗反应混合物浓缩至干燥。将11分离为含有杂质的粗油状物,并直接进入下一个反应(没有表征)。

[0625] N-((4-甲氧基-3,5-二甲基)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-2-甲氧基,3,5-二甲基)(12)。将粗11在1mL TFA中搅拌16h,然后浓缩成黄色油并通过使用C18柱和方法P3的RP-HPLC进行纯化。将12分离为白色固体(0.022g, 0.050mmol, 18%产率来自1)。ESI-MS: $m/z = 438.2 [M+H]^+$; 计算值: 438.2。

[0626] $Na[Mn(PyC3A-4-甲氧基-3,5-二甲基)]$ (13)。一批12 (0.022g, 0.050mmol), 并将pH调节至6.5。将 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0.012g, 0.061mmol)在1.2mL水中合并,并将pH调节至6.5。将反应混合物通过使用C18柱和方法P4的RP-HPLC进行纯化,以得到呈白色固体的13 (0.021g, 0.041mmol, 82%产率)。ESI-MS: $m/z = 491.1 [M+2H]^+$; 计算值: 491.1。

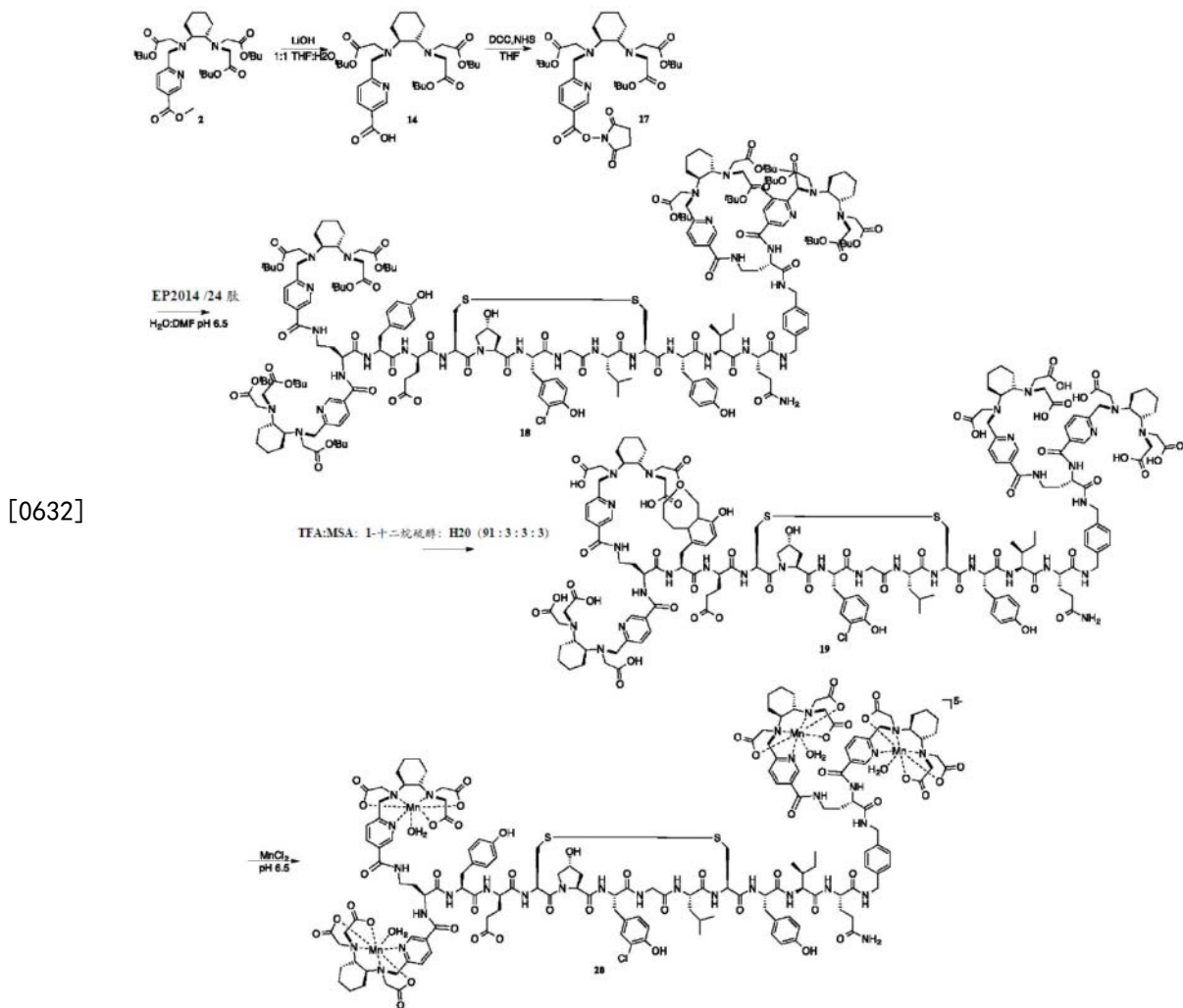
[0627] N'-(6-甲基)烟酰基-,N',N'',N'''反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(14):将氢氧化锂(0.044g,1.84mmol)和2(1.02g,1.69mmol)在16mL的1:1THF:H₂O中合并,并在室温下搅拌3h。然后将反应物浓缩至干燥,并通过使用C18柱和方法P5的制备型RP-HPLC纯化。将含有纯净产物的级分冷冻干燥,以得到呈白色固体的产物(0.670g,1.13mmol,67%)。¹H NMR(500MHZ,D₂O,δ来自质子溶剂,经K₂CO₃搅拌):9.09(s,1H),8.15(d,1H),7.07(d,1H),3.95(d,1H),3.63(d,1H),3.28(d,1H),3.14-3.06(m,5H),2.33(br t,2H),1.94(m,2H),1.68(m,2H),1.43(9H),1.38(18H),1.18-0.99(m,4H)。¹³C NMR(125.7MHZ,CDCl₃,δ来自质子溶剂,经K₂CO₃搅拌):172.2,171.9,170.8,158.2,151.1,1380,131.1,122.9,81.8,81.5,62.1,59.5,55.9,53.0,52.6,29.8,28.1,28.0,25.9,25.7,25.4,24.8。ESI-MS:m/z=592.3[M+H]⁺;计算值:592.4。

[0628] E.N-((5-甲酸)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-甲酸)(15)的合成。

[0629] N-((5-甲酸)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-甲酸)(15)。将一批14(0.140g,0.237mmol)在5mL TFA中搅拌16h,然后浓缩,以得到呈白色固体的TFA加合物的15(0.12g,0.223mmol,94%产率)。ESI-MS:m/z=424.2[M+H]⁺;计算值:424.2。

[0630] Na[Mn(PyC3A-5-甲酸)(16)。向调节至pH 6.5的一批15(0.12g,0.223mmol)中添加MnCl₂·4H₂O(0.047g,0.237mmol)并将pH重新调节至pH6.5。将一部分反应混合物使用方法P7进行纯化,以得到纯15。ESI-MS:m/z=477.0[M+2H]⁺;计算值:477.1。

[0631] 实例2:Mn(II)的纤维蛋白靶向螯合物-金属络合物的合成。



[0633] 方案5

[0634] N-(6-甲基)-N-羟基琥珀酰亚胺基烟酰基-,N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三叔乙酸丁酯(^tBu-PyC3A-NHS) (17):将(0.471g,0.797mmol) 14与二环己基碳化二亚胺(0.167g,0.809mmol)和N-羟基琥珀酰亚胺(0.109g,0.947mmol)在10mL THF中搅拌。在几秒钟内形成白色沉淀。搅拌16h后,LC-MS证实完全转化。通过过滤除去沉淀,将澄清的母液浓缩成淡的无色油状物。产物可以直接进入下一步骤,或者通过使用C18柱和方法P5的RP-HPLC纯化。¹H NMR(500MHZ,D₂O,δ来自质子溶剂):9.15(s,1H),8.32(d,1H),8.21(d,1H),4.33(d,1H),4.15(d,1H),3.55-3.25(m,6H),2.91(s,4H),2.73(t,1H),2.50(t,1H),1.91(m,2H),1.81(m,2H),1.45(18H),1.38(9H),1.18-1.02(m 4H)。¹³C NMR(125.7MHZ,CDCl₃,δ来自质子溶剂):171.5,169.3,169.2,161.3,150.3,138.2,124.29,119.7,108.0,98.5,80.7,80.6(两个一致的峰),68.6,63.9,62.2,54.0,52.8,49.3,34.0,28.2(两个一致的峰),29.3,25.9,25.9(两个一致的峰),25.8,25.7。ESI-MS:m/z=689.3[M+H]⁺;计算值:689.4。

[0635] ^tBu保护的FBP-CyP3A₄ (18):将油状物溶于2mL DMF中,并添加到L-2,4-二氨基-N-丁酰胺-[Tyr-dGlu-Cys-Hyp-Typ(3-Cl)-Leu-Cys-Ile-Gln(3→8)二硫化物]-1-(4-[(L-2,4-二氨基-丁酰基氨基)-甲基]-苄基酰胺(EP2104/24:0.211g,0.123mmol)和4-二甲基氨基吡啶(0.016g,0.131mmol)中(在2mLDMF中搅拌)。用DIPEA将反应物调节至pH 6.5并在室温

下搅拌。在搅拌16h之后,向反应混合物中滴加250mL的饱和NaCl溶液,以沉淀白色固体。通过使用C5柱和方法P6的RP-HPLC纯化^tBu保护的FBP-CyP3A₄。将含有产物的级分冷冻干燥,以得到呈白色固体的产物(0.177g,0.0441mmol,35%)。ESI-MS: $m/z=1004.0[M+4H]^+$;计算值.1004.0。 $m/z=1338.4[M+3H]^+$;计算值.1338.4。 $m/z=2007.6[M+2H]^+$;计算值.2007.6。

[0636] FBP-CyP3A₄ (19):将化合物18(0.177g,44.1μmol)在5mL TFA:甲磺酸:正十二烷硫醇:水的91:3:3:3混合物中搅拌90min,然后用50mLEt₂O稀释。将絮状白色固体离心成固体沉淀,并倾析上清液。用Et₂O洗涤若干次后,将固体干燥以得到呈白色粉末的纯净产物(0.147g,44.0μmol,100%)。ESI-MS: $m/z=1113.6[M+3H]^+$;计算值.1113.8。ESI-MS: $m/z=1670.1[M+2H]^+$;计算值.1670.2。

[0637] Mn-FBP (20):将19(0.018g,5.4μmol)的10mL溶液调节pH至6.5,添加MnCl₂·4H₂O(0.0053g,27.0μmol)。将溶液重新调节至pH 6.5,并通过使用C5柱和方法P7的RP-HPLC进行纯化。将含有产物的级分冷冻干燥,以得到呈白色粉末的纯净产物(0.0080g,2.2μmol,41%)。ESI-MS: $m/z=1184.6[M+8H]^+$;计算值.1184.4。 $m/z=1776.4[M+6H]^+$;计算值.1776.5。

[0638] 实例3:Mn(II)的胶原蛋白靶向螯合物-金属络合物的合成。

[0639] ^tBu保护的CBP-PyC3A₄ (21)。向一批EP-3533肽(参见Caravan,P.,Biplab,D.,Dumas,S.,Epstein,F.H.,Helm,P.A.,Jacques,V.,Koerner,S.,Kolodziej,A.,Shen,L.,Sun,W.-C.,Zhang,Z.Angew.Chem.Int.Ed.[德国应用化学]2007,46,8171)(0.154g,0.067mmol)(在3mL DMF/1mL H₂O中搅拌,并用DIPEA(湿pH试纸)调节至pH 9)中分批加入17(0.280g,0.407mmol)。搅拌16h后,将溶液用100mL水稀释并冷冻干燥为粗白色残余物。化合物21无需进一步纯化就可进入下一步骤。ESI-MS: $m/z=1337.0[M+3H]^+$;计算值.1337.0

[0640] CBP-PyC3A₄ (22)。将化合物21在4mL 91:3:3:3TFA:甲磺酸:1-十二烷硫醇:H₂O中搅拌2h。然后将反应混合物添加到100mL冷Et₂O中以沉淀产物。通过离心将固体收集在50mL锥形管的底部并通过倾析分离。化合物22无需进一步纯化就可进入下一步骤。ESI-MS: $m/z=1168.0[M+3H]^+$;计算值.1167.8

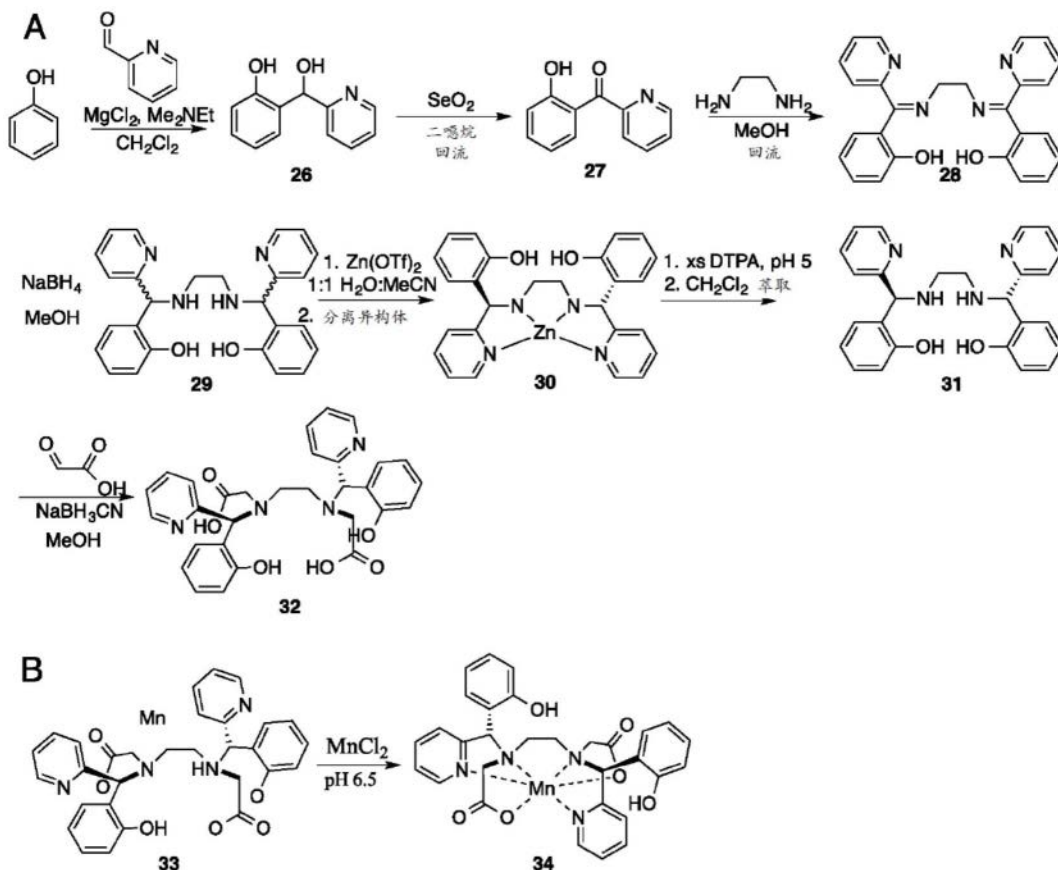
[0641] Mn-CBP (23)。将一批MnCl₂·4H₂O(0.047g,0.237mmol)添加到粗22中以形成23,然后将其通过HPLC纯化。ESI-MS: $m/z=1221.0[M+6H]^+$;计算值.1221.1。

[0642] 实例4:Mn(II)的氧化胶原蛋白靶向螯合物-金属络合物的合成。

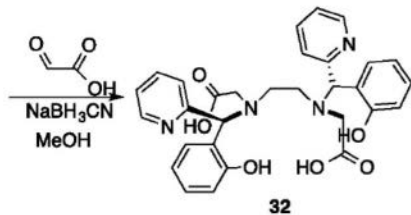
[0643] N-((5-酰肼)-吡啶-2-基)甲基-N,N',N'-反式-1,2-亚环己基二胺三乙酸酯(PyC3A-5-酰肼)(24)。将一批17(0.180g,0.262mmol)和肼基甲酸叔丁酯(0.070g,0.606mmol)在5mL MeOH/2mL THF中搅拌。将反应混合物的pH调节至约9(湿pH试纸)。搅拌2h后,将反应混合物浓缩至干燥并溶于5mL的6M HCl中。搅拌2h后,将反应混合物浓缩成白色固体并溶于H₂O中。将任何固体通过过滤除去。将该反应混合物的小量等分试样除去并通过方法P7纯化,以得到呈白色粉末的24。ESI-MS: $m/z=438.2[M+H]^+$;计算值:438.2。

[0644] Na[Mn(PyC3A-5-酰肼)] (25)。原位制备化合物25。将24在pH 7.4Tris缓冲液中的溶液(50mM)用MnCl₂·4H₂O滴定。通过HPLC监测Mn的螯合。ESI-MS: $m/z=491.2[M+2H]^+$;计算值:491.1。

[0645] 实例5:过氧化物酶反应性复合物的合成



[0646]



[0647] 方案6

[0648] 2-((羟基(吡啶-2-基)甲基)苯基)苯酚(26)。将在50mL CH_2Cl_2 中的一批10.4g (111mmol) 苯酚与18.4g (193mmol) 氯化镁和8.42g (115mmol) N,N-二甲基乙胺一起搅拌30min。在3h的过程内向该混合物中滴加在25mL CH_2Cl_2 中的5.85g (55.0mmol) 2-吡啶甲醛溶液。添加完成后,将所得的非均相亮橙色混合物在室温下搅拌72h。向反应物中添加100mL H_2O ,并将混合物用浓HCl滴定至pH 1,然后经由添加浓 Na_2CO_3 将pH调节至9。将有机层分离,并将水性部分再次用100mL CH_2Cl_2 洗涤。将有机部分合并、经 Na_2SO_4 干燥并浓缩成橙色糖浆。通过快速色谱法(硅胶,己烷:EtOAc,0-60%EtOAc)纯化产物,以得到呈白色固体的7.08g (35.2mmol, 64%产率) 26。 ^1H NMR (500MHZ, CDCl_3 , δ 来自TMS): 8.47 (d, 1H), 7.72 (t, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.21 (m, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.89 (t, 1H), 6.96 (s, 1H)。 ^{13}C NMR (125.7MHZ, CD_3Cl , δ 来自TMS): 161.7, 155.3, 147.6, 138.2, 129.5, 128.3, 127.0, 123.0, 120.4, 120.2, 118.5, 74.4。ESI-MS: $m/z = 202.0 [\text{M}+\text{H}]^+$; 计算值.: 202.0。

[0649] 2-皮考基苯酚(27)。向一批在40mL二噁烷中的1.41g (7.01mmol) 2-((羟基(吡啶-2-基)甲基)苯基)苯酚中添加0.418g (3.77mmol) 二氧化硒(IV)。将混合物加热回流并搅拌90min。然后冷却反应物,并且通过硅藻土过滤除去黑色不溶物,并将母液浓缩成黄绿色油状物。通过快速色谱法(硅胶,己烷:EtOAc,0-70%EtOAc)纯化油状物,并分离为1.190g (0.597mmol, 85.2%) 浅黄色油状物。

[0650] 2,2'-((1Z,1'Z)-(乙烷-1,2-二基双(氮烷基亚基))双(吡啶-2-基甲基亚基))二苯酚(28)。向一批在40mL MeOH中的0.168g (2.80mmol) 乙二胺中添加1.190g (5.98mmol) 27。将反应物加热至回流并搅拌30min,然后冷却至室温并搅拌16h。经由过滤来分离所得黄色

固体并在真空中干燥,得到分离为黄色固体的0.942g (2.22mmol, 79.6%产率) 28。¹H NMR (500MHZ, CDCl₃, δ来自TMS): 12.36 (s, 1H), 8.75 (d, 1H), 8.13 (d, 1H), 7.95 (m, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.07 (d, 1H), 6.92 (t, 1H)。¹³C NMR (125.7MHZ, CD₃Cl, δ来自TMS): 197.3, 163.6, 155.5, 148.4, 137.6, 136.8, 134.5, 126.3, 124.7, 119.3, 119.0, 118.6。ESI-MS: m/z = 200.0 [M+H]⁺; 计算值.: 200.1。

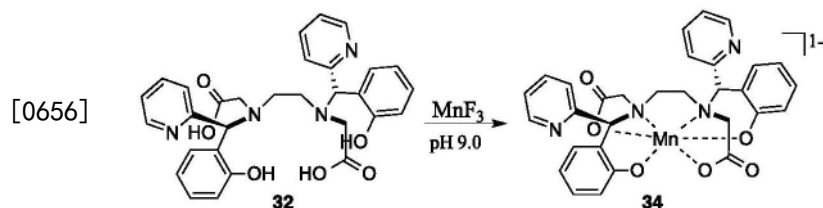
[0651] (+/-) (R,R/S,S) 2,2' - ((乙烷-1,2-二基双(氮烷二基))双(吡啶-2-基亚甲基))二苯酚 (31)。向一批在50mL MeOH中搅拌的2.90g (6.87mmol) 28中添加0.758g (20.0mmol) 硼氢化钠。当溶液的颜色从黄色脱色为清晰的米色时观察到泡腾。1h后,将反应用10mL水淬灭,并在真空中除去MeOH。然后将反应物在每个50mL饱和NaHCO₃ (水性)和CH₂Cl₂之间分配。分离各层,并用另外100mL CH₂Cl₂洗涤水性部分。将有机部分合并、经Na₂SO₄干燥并浓缩成2.92g的黄色油状物29 (6.85mmol, 100%转化为外消旋二胺)。将油状物溶解于30mL MeOH/10mL H₂O中,并添加2.490g Zn (OTf)₂ (6.85mmol)。通过添加固体乙酸铵将溶液调节至pH 6.5,并搅拌16h,然后浓缩至干燥。

[0652] 通过使用C18柱和方法P7的RP-HPLC分离Zn螯合的R,R/S,S和R,S/S,R异构体(30)。将一批0.075mmol(0.154mmol)R,R/S,S异构体溶于200mM二乙烯三胺五乙酸中,并将pH调节至5.0。搅拌2h后,将pH调节至>8.0,并用CH₂Cl₂萃取31、经Na₂SO₄干燥并在真空中干燥,得到0.066g(0.154mmol)分离的纯净产物。¹H NMR(500MHZ,CDCl₃, δ 来自TMS):8.57(d,2H),7.60(t,2H),7.21(m,4H),7.03(m,4H),6.84(m,4H),4.94(s,2H),2.94(s,4H)。

[0653] 两面神 (Janus) HBED/BPED"JED" (32)。向在20mL MeOH中的一批0.082g (0.192mmol) 31中添加1.03g (12.3mmol) NaHCO₃和0.889g (9.66mmol) 一水合乙醛酸)。在8h的过程内分批添加一批0.119g (1.89mmol) 氰基硼氢化钠。在室温下搅拌16h后,将反应混合物浓缩至干燥并通过使用C18柱和制备方法P8的RP-HPLC进行纯化。将纯32分离为0.104g (0.192mmol, 100%产率) 的白色固体。ESI-MS:m/z=543.0[M+H]⁺; 计算值.:543.2。

[0654] Mn(II) - JED (33): 向在各自4mL的H₂O:MeCN中搅拌的一批0.104g (0.192mmol) 32中
添加0.037g (0.187mmol) MnCl₂ · H₂O, 并通过添加固体乙酸铵将溶液调节至pH 6.5. 通过使用C18柱和方法P7的RP-HPLC纯化反应混合物. 将纯33分离为0.041g (0.069mmol, 35.9%产
率) 的白色固体. ESI-MS: m/z = 596.0 [M+H]⁺; 计算值.: 596.2.

[0655] 实例6:硫醇反应性络合物的合成。



[0657] 方案7

[0658] Mn(III) - JED(34):向在pH 9.1的10mL H₂O中搅拌的一批0.053g (0.098mmol) 32中添加0.009g (0.080mmol) 的MnF₃,并将溶液调节至pH 6.5。通过使用C18柱和方法P9的RP-HPLC纯化反应混合物。将纯34分离为0.018mmol (0.029, 36.3%产率) 的棕色固体。ESI-MS: m/z=595.0 [M+2H]⁺; 计算值.:595.1。

[0659] 实例7:在1.41T、37℃下靶向蛋白质的Mn(II)络合物的弛豫率。将亲脂性官能度掺

入螯合物-金属络合物促进与血浆蛋白(例如血清白蛋白)的结合。这种结合提供了与在PBS中测量的相比,在人血浆中测量的弛豫率的变化。在大多数情况下,观察到弛豫率(r_1 或 r_2)大幅(40%-170%)增加(表1)。

[0660]	螯合物-金属络合物	PBS 中的 r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	PBS 中的 r_2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	人血浆中的 r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	人血浆中的 r_2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
	4	3.1	6.9	2.1	7.8
[0661]	7	2.1	3.5	5.7	12.4
	10	2.7	5.6	5.8	16.8
	13	2.5	4.8	3.5	8.9
	25	3.4	8.7	5.2	14.6

[0662] 表1显示了四种蛋白质结合基于Mn(II)的螯合物-金属络合物的弛豫率。

[0663] 实例8.18对可溶性纤维蛋白降解产物DD(E)具有高亲和力。使用DD(E)荧光偏振置换测定(参见上文的方法)来评估探针的亲合力。通过观察荧光各向异性的相应变化(图1),检测来自DD(E)的纤维蛋白结合肽(称为TRITC-Tn6)的四甲基若丹明标记的衍生物作为18或EP-2104R浓度的函数的置换。RITC-Tn6探针的 K_d 是通过用DD(E)蛋白质滴定并如先前所述拟合所得的荧光数据来确定的(如Kolodziej所描述,Bioconjugate Chem.[结合物化学] 53:548-556)。18结合DD(E),其中 $K_d=110\text{nM}$;我们在相同的DD(E)制剂中记录了对于EP-2104R, $K_d=240\text{nM}$ 。

[0664] 实例9.20的Mn具有快速交换内部层水共配体。通过监测20的 H_2^{17}O 横向弛豫率的温度依赖性(图2)(参见上文的方法),建立了快速交换水共配体(交换率= 10^8s^{-1})的存在。

[0665] 实例10.在纤维蛋白的存在下,20表现出高弛豫率。在1.4T、37℃下,在pH 7.4的Tris缓冲液、牛血浆、4.5%wt/v BSA、人纤维蛋白原和人纤维蛋白凝胶中,记录20的弛豫率值(表2)。与人纤维蛋白原或丰富的血浆蛋白相比,在纤维蛋白凝胶的存在下18表现出更大的弛豫率。

[0666]	条件	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
	PBS	8.7
	血浆	10.7
	牛血清白蛋白	11.4
	纤维蛋白原	9.5
	纤维蛋白	13.5

[0667] 表2显示了在1.4T、37℃下,在pH 7.4的Tris缓冲液、牛血浆、4.5%wt/v BSA、人纤维蛋白原和人纤维蛋白凝胶中测量的20的 T_1 弛豫率。

[0668] 实例11.20检测颈动脉血栓形成。化合物20以高显著性提供了动脉血栓的可视化,并且成像得到了离体组织学的支持(图3)。令人惊讶的是,与已知具有更高弛豫率的基于Gd的血纤维蛋白成像探针EP-2104R相比,20提供了相当的血栓nSNR和血栓对肌肉的对比噪声比(CNR)(J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志] 2008,130:6025)(图4)。这些数据进一步强调了Mn产生MR造影的功效。

[0669] 实例12.静脉内注射的Mn-FBP在24h内完全清除。化合物20以 $22.6 \pm 6.8\text{min}$ 的半衰期从血液中清除(图5)。在肾和肌肉中发现Mn超过基线水平的唯一显著增加,其中分别保留

0.37±0.14和0.02±0.02%的注射剂量/克(表3)。

组织	内源 Mn		24h p.i		P * < 0.05
	nmol Mn/g	标准偏差	nmol Mn/g	标准偏差	
肺	4.48	2.62	4.90	0.51	0.76
肾	17.84	5.39	47.39	14.93	0.01*
脑	7.27	0.52	13.78	6.85	0.11
肝	50.75	2.97	54.88	7.84	0.36
心	7.72	1.01	8.84	0.80	0.13
脾	6.21	3.53	12.90	5.76	0.09
肌肉	1.77	0.42	4.30	1.58	0.02*
骨	7.97	0.57	7.32	2.21	0.59
血液	1.03	0.83	0.34	0.10	0.15

[0671] 表3显示了雄性Wistar大鼠中的内源Mn水平(N=4)和在静脉内注射0.01mmol/kg化合物20后24h的Mn水平(N=4)。在肾和肌肉中观察到统计学显著性差异(*, P<0.05), 并且分别表示0.37±0.14和0.02±0.02%的注射剂量/克组织。

[0672] 实例13. 化合物33和34之间的弛豫率差异非常大并且与场无关。在水和人血浆中测量化合物33和34的弛豫率(表4)。对于条件A-D, 在33至34氧化态之间切换, 观察到弛豫率变化分别为660%、900%、500%、和400%。

化合物	r1 (mM ⁻¹ s ⁻¹)			
	水		人血浆	
	1.41 T	11.7 T	1.41 T	11.7 T
33	0.5	0.5	0.9	0.5
34	3.3	2.5	8.1	1.9

[0674] 表4显示了基于Mn(II)的26表现出比其基于Mn(III)的姐妹络合物27高得多的弛豫率, 并且这种弛豫率差异在很大程度上与施加的磁场无关。

[0675] 实例14. 化合物33被过氧化物酶迅速转化为化合物34, 具有7倍的弛豫率变化。在由10U/mL葡萄糖氧化酶+8mM葡萄糖产生的稳定状态浓度的过氧化氢的存在下, 测量化合物33在PBS(1.41T, 37°C)中的弛豫率(图6)。测量在辣根过氧化物酶不存在或存在下进行。实心圆和空心圆分别描绘在过氧化物酶不存在和存在下的弛豫率。实线代表拟合至数据。

[0676] 图7显示了1h孵育期后的HPLC迹线。顶部迹线HPLC迹线对应于33的迹线, 底部迹线对应于与过氧化氢和过氧化物酶孵育1h后的迹线。34是唯一形成的产物。

[0677] 实例15. 在人血浆中, 通过添加L-半胱氨酸可将化合物34转化为化合物33。不具有或具有5mol当量的L-半胱氨酸的人血浆中34的作为时间的函数的r₁(1.4T, 37°C)分别由实心圆和空心圆表示(图8)。实线代表拟合至数据。L-半胱氨酸的添加触发了化合物34向化合物33的快速转化, 这引起r₁的大量增加。

[0678] 已经描述了本发明的许多实施例。然而, 应理解的是, 在不偏离本发明主旨和范围的情况下, 可做出诸多改变。因此, 其他实施例在以下权利要求书的范围内。

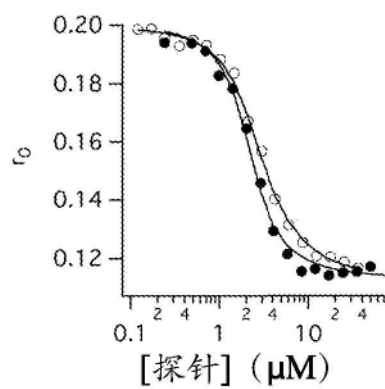


图1

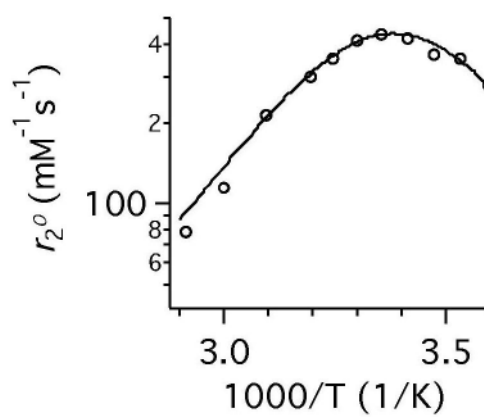


图2

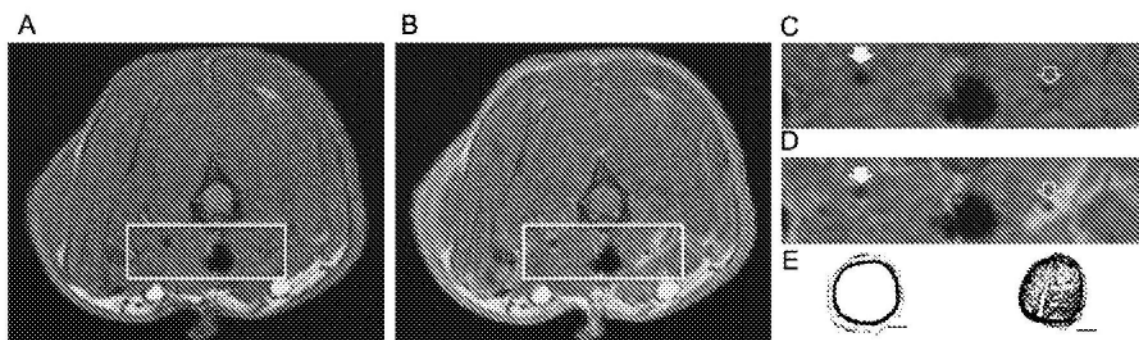


图3

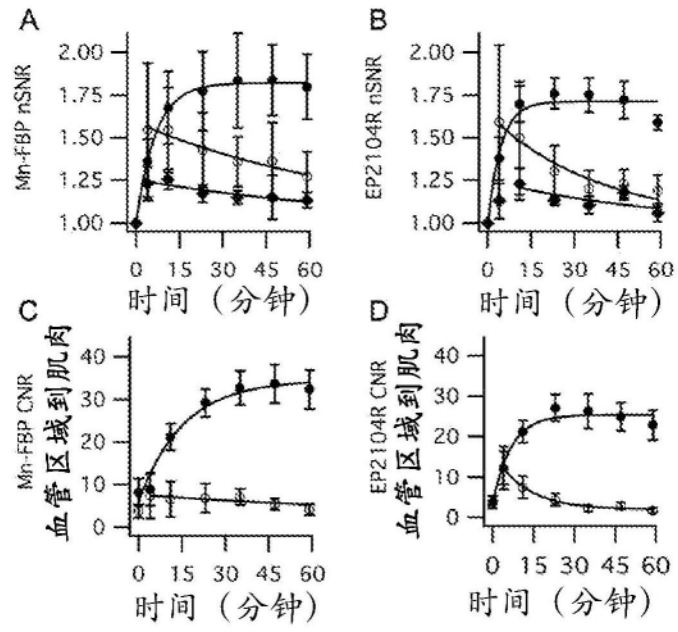


图4

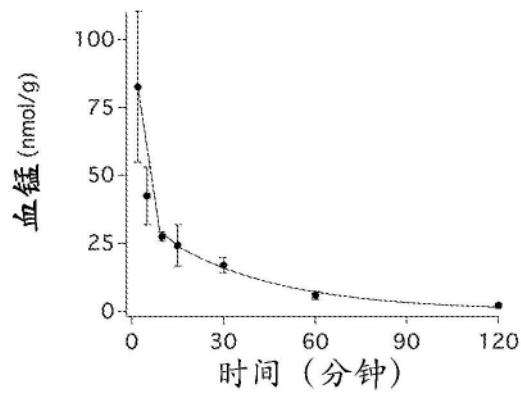


图5

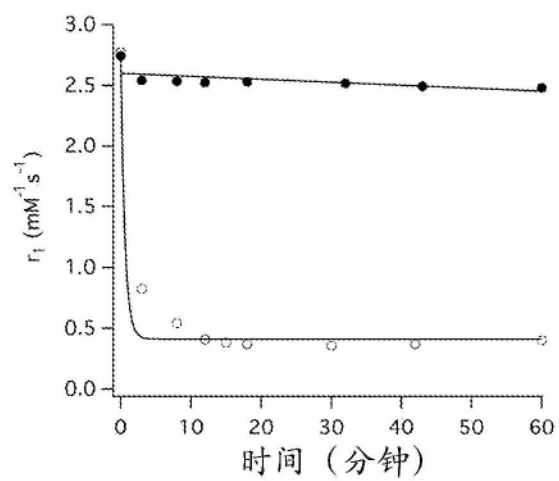


图6

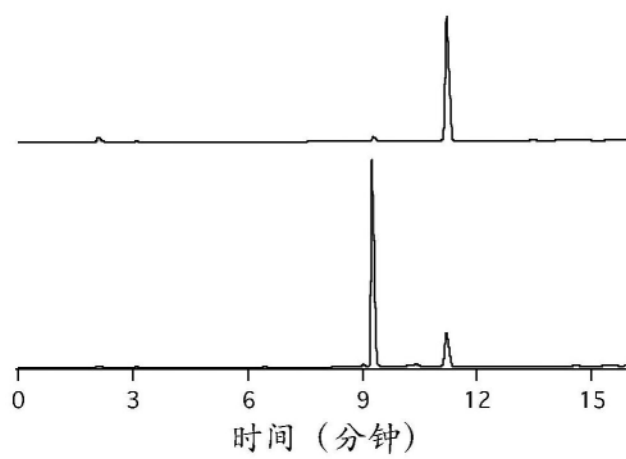


图7

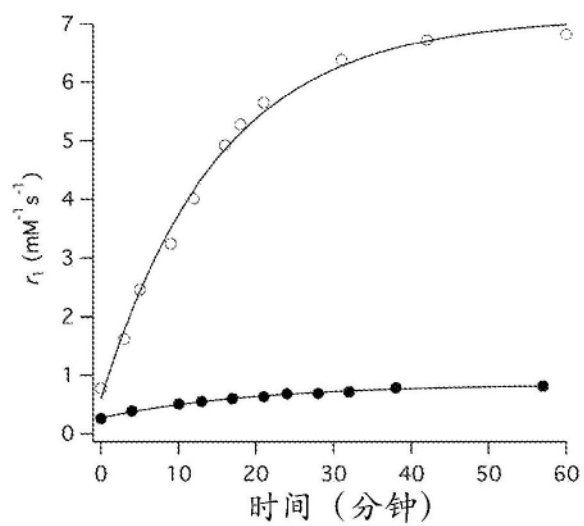


图8