



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104245954 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 24

(21) 申请号 201380018658. 9

*G01N 33/58* (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 03. 15

(30) 优先权数据

61/618, 291 2012. 03. 30 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/032126 2013. 03. 15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/148319 EN 2013. 10. 03

(71) 申请人 文森医学公司

地址 美国马塞诸塞州

(72) 发明人 G·霍

(74) 专利代理机构 北京泛诚知识产权代理有限

公司 11298

代理人 吴立 文琦

(51) Int. Cl.

*C12Q 1/04* (2006. 01)

*G01N 33/534* (2006. 01)

权利要求书10页 说明书53页 附图4页

(54) 发明名称

细菌成像剂及其使用方法

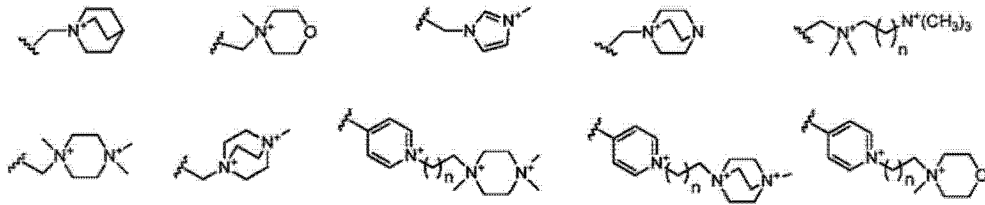
(57) 摘要

本发明提供了一类靶向细菌感染的试剂, 其可用作成像剂或治疗剂。所述试剂可用于对受试者中的细菌感染位点以及其他生理过程进行成像。

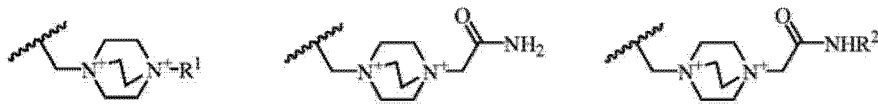
1. 一种细菌靶向剂, 包含:

- a. 细菌靶向组成部分, 该细菌靶向组成部分包含任选地被脂族、芳香族或杂芳族组成部分取代的带正电荷的组成部分; 以及
- b. 成像报告物, 该成像报告物任选地通过连接物 (L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分。

2. 如权利要求 1 的所述试剂, 其中所述带正电荷的组成部分由下式表示:



3. 如权利要求 1 的所述试剂, 其中所述细菌靶向组成部分带有双重正电荷, 并由下式表示:

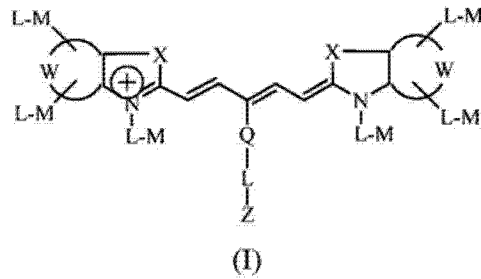


其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 在每次出现时独立地是取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基或低聚或多聚乙二醇。

4. 如权利要求 1 的所述试剂, 其中所述成像报告物选自包含荧光组成部分、磁性组成部分和放射性同位素的组。

5. 如权利要求 1-3 任一项的所述试剂, 其中所述成像报告物带有多个化学修饰的组成部分。

6. 一种式 (I) 的细菌靶向剂或其盐:



其中:

Z 是细菌靶向组成部分, 包含:



- (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分, 其每个任选地被取代; 以及
- (c) 如果需要的话, 一个或多个阴离子, 以获得电荷中性的化合物;

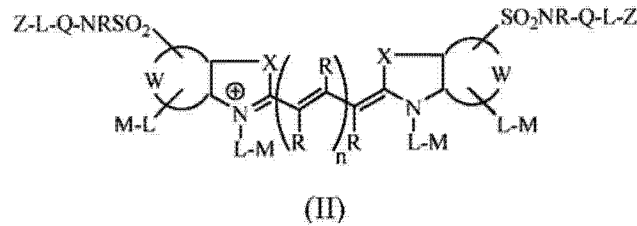
L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分;

Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基所组成的组, 或者不存在;

W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环;

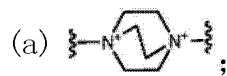
X 在每次出现时独立地是选自由 C(CH<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>)(CH<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>)、O、S 和 Se 所组成的组；  
Y<sub>1</sub> 和 Y<sub>2</sub> 独立地选自由 H 和任选地被 L-M 取代的 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 脂族基团所组成的组；  
M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰的组成部分。

7. 一种式 (II) 的细菌靶向剂或其盐：



其中：

Z 在每次出现时独立地表示细菌靶向组成部分，包含：



- (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分，其每个任选地被取代；以及  
(c) 如果需要的话，一个或多个阴离子，以获得电荷中性的化合物；

L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分；

Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基所组成的组，或者不存在；

R 在每次出现时独立地表示氢、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基，其每个任选地被 L-M 取代；

n 是 1、2 或 3；

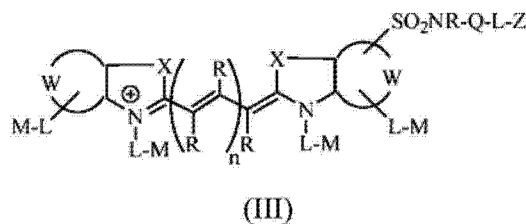
W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环；

X 在每次出现时独立地是选自由 C(CH<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>)(CH<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>)、O、S 和 Se 所组成的组；

Y<sub>1</sub> 和 Y<sub>2</sub> 独立地是氢或烷基；并且

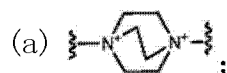
M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰的组成部分。

8. 一种式 (III) 的细菌靶向剂或其盐：



其中：

Z 是细菌靶向组成部分，包含：



- (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分，其每个任选地被取代；以及  
(c) 如果需要的话，一个或多个阴离子，以获得电荷中性的化合物；

L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分；

Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧

基或硫烷基所组成的组,或者不存在;

R 在每次出现时独立地表示氢、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、 $C_1-C_{18}$  烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基,其每个任选地被 L-M 取代;

n 是 1、2 或 3;

W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环;

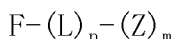
X 在每次出现时独立地是选自  $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、S 和 Se 所组成的组;

$Y_1$  和  $Y_2$  独立地是氢或烷基;并且

M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰的组成部分。

9. 如权利要求 1-3 任一项的所述试剂,其中所述试剂在远红或近红外波长中发荧光。

10. 一种式 (IV) 的细菌靶向剂或其盐:



(IV)

其中:

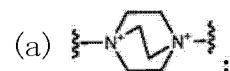
$n = 1-8$

$m = 1, 2, 3$  或 4

F 是远红或近红外荧光染料;

L 是任选的连接物;并且

Z 在每次出现时独立地表示细菌靶向组成部分,包含:



(b) 脂族、芳香族、杂芳族或 PEG 组成部分,其每个任选地被取代;以及

(c) 如果需要的话,一个或多个阴离子,以获得电荷中性的化合物。

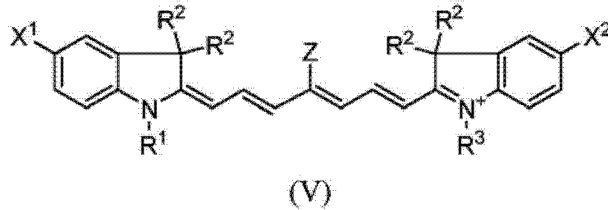
11. 如权利要求 1-7 任一项的所述试剂,其中 M 选自氢、醇、磺酸盐、聚磺酸盐、半胱氨酸、磺酰胺、亚砷、砷、羧酸盐、酮、膦酸盐、磷酸盐、亚氨基二乙酸盐、乙二胺四乙酸、二乙三胺五乙酸、四氮杂环十二烷四乙酸、氨基酸或聚氨基酸、寡聚或多聚乙二醇、胺、季铵离子、糖、葡萄糖胺、半乳糖胺、甘露糖胺、聚乙二醇 (PEG) 及其衍生物例如烷氧基聚乙二醇 (例如甲氧基聚乙二醇、乙氧基聚乙二醇等)、支链聚丙二醇、聚丙二醇、聚赖氨酸和甲氧基聚乙二醇的接枝共聚物、肽类、脂类、脂肪酸、棕榈酸盐、磷脂类、磷脂-PEG 缀合物、糖类 (例如葡聚糖、氨基葡聚糖、羧甲基葡聚糖)、氧化铁纳米粒子、萘基丙氨酸、苯丙氨酸、3, 3-二苯基丙胺、牛磺酸、膦酸盐、磷酸盐、羧酸盐和聚羧酸盐。

12. 如权利要求 1-7 任一项的所述试剂,其中 L 包含选自下列的组成部分的二价自由基:甘氨酸,丙氨酸,β-丙氨酸, $-NH-(CH_2)_n-C(=O)-$ ,其中  $n = 1-8$ , 4-氨基甲基苯甲酸,半胱氨酸,谷氨酸,氨基-聚乙二醇-羧酸,氨基-聚乙二醇胺,乙二胺,丙二胺,亚精胺,精胺,己二胺,和二胺-氨基酸例如高赖氨酸、赖氨酸、鸟氨酸,二氨基丁酸和二氨基丙酸,琥珀酸,戊二酸,辛二酸,己二酸,酰胺,三唑,脲或硫脲。

13. 如权利要求 1-8 任一项的所述试剂,其中所述化学修饰剂 M 降低所述试剂的非特异性细胞膜渗透性。

14. 如权利要求 1-8 任一项的所述试剂,其中所述化学修饰剂 M 降低所述试剂在给药于活的动物时的非特异性组织积累。

15. 一种细菌靶向剂,其是由式 V 表示的化合物或其盐:

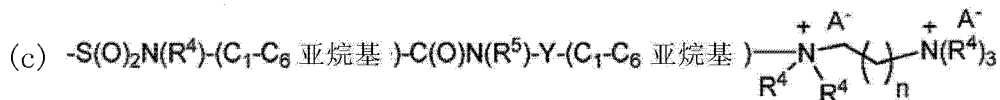


其中:

$X^1$  和  $X^2$  各自独立地表示氢或下列基团之一,前提是  $X^1$  和  $X^2$  不都是氢:

(a)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(\text{含有一个四元环氮原子的取代的杂环基})-A$

(b)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(\text{含有两个四元环氮原子的取代的杂环基})-(A)_2$ ;或者



n 是 1、2、3 或 4;

A 是单价阴离子或不存在;

Y 是下列之一:

(a)  $\psi$ -亚烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚芳基-亚烷基-;或

(b)  $\psi$ -亚杂烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚芳基-亚烷基-;

$\psi$  是连接到酰胺氮原子的键;

Z 是氢或  $-S-$  烷基;

$R^1$  和  $R^3$  各自独立地表示烷基或亚烷基  $-SO_3M^+$ ;

$R^2$  和  $R^4$  在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基;

$R^5$  在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基;并且

M 是单价阳离子或不存在。

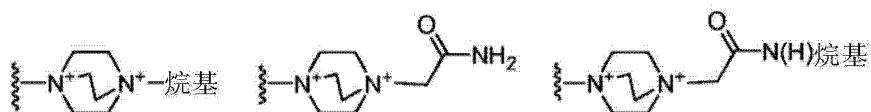
16. 如权利要求 15 的所述试剂,其中  $X^1$  是氢。

17. 如权利要求 15 或 16 的所述试剂,其中  $X^2$  是  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(\text{含有两个四价环氮原子的取代的杂环基})-(A)_2$ 。

18. 如权利要求 15 的所述试剂,其中  $X^1$  和  $X^2$  是  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(\text{含有两个四价环氮原子的取代的杂环基})-(A)_2$ 。

19. 如权利要求 15-18 任一项的所述试剂,其中所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是含有两个四价环氮原子的 5-6 元饱和杂环,其中所述环被 1、2 或 3 个独立地选自烷基、亚烷基  $-C(O)NH_2$  和亚烷基  $-C(O)N(H)-$  烷基的取代基取代。

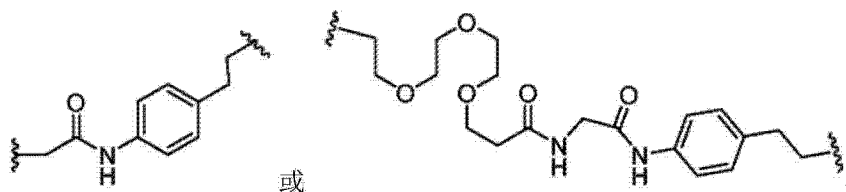
20. 如权利要求 15-18 任一项的所述试剂,其中所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一:



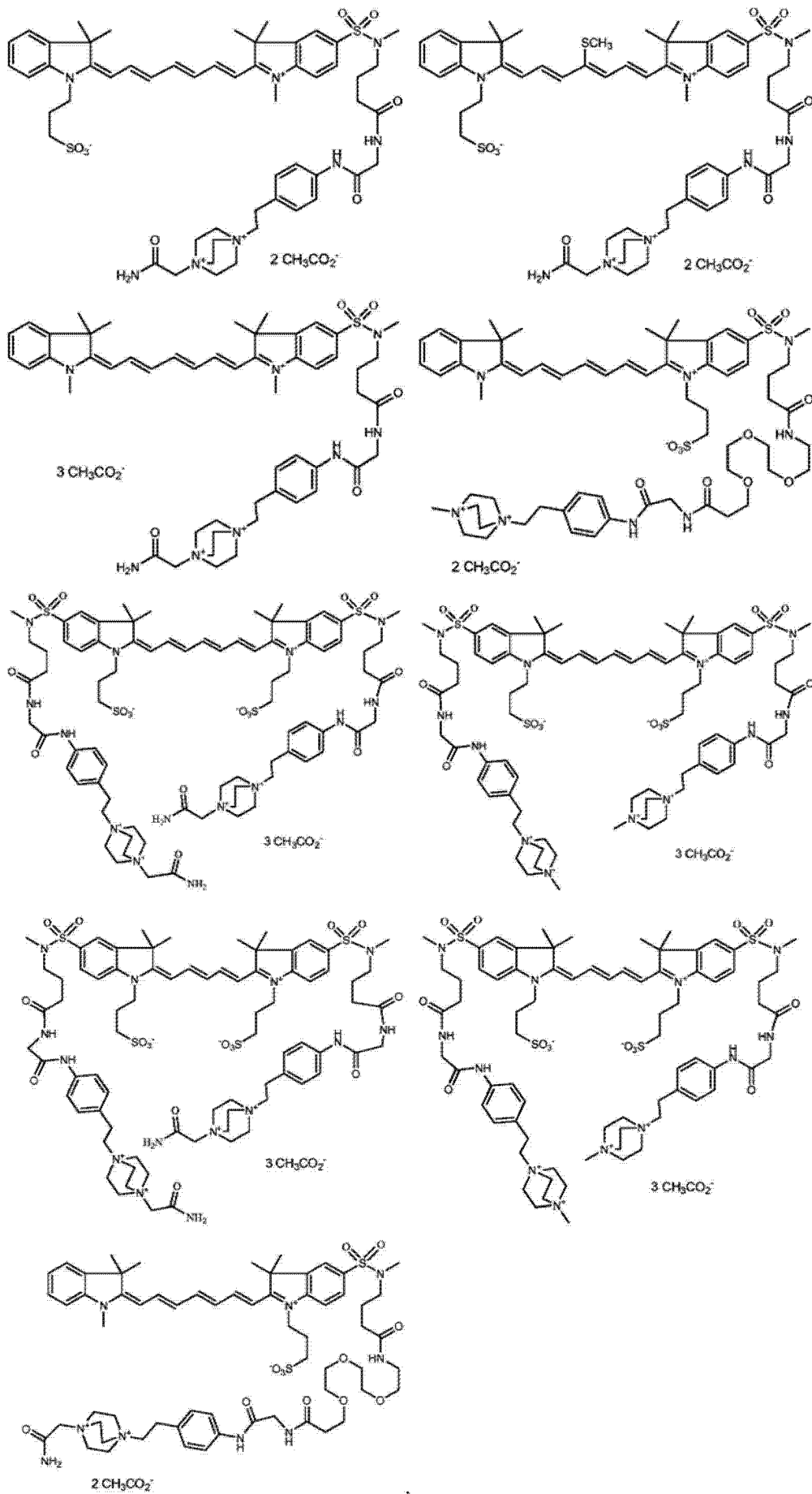
21. 如权利要求 15-20 任一项的所述试剂,其中 Y 是下列之一:

- (a)  $\psi$ -CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)亚烷基-;或  
 (b)  $\psi$ -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-4</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)亚烷基-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)亚烷基。

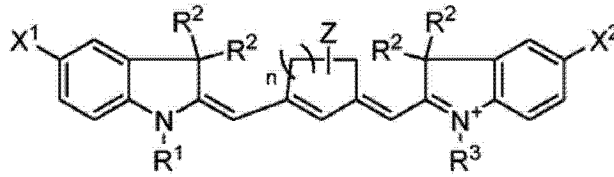
22. 如权利要求 15-20 任一项的所述试剂,其中 Y 是下列之一:



23. 如权利要求 15-22 任一项的所述试剂,其中 R<sup>1</sup> 是亚烷基-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。  
 24. 如权利要求 15-23 任一项的所述试剂,其中 R<sup>3</sup> 是烷基。  
 25. 如权利要求 15-22 任一项的所述试剂,其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 是亚烷基-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。  
 26. 如权利要求 15-22 任一项的所述试剂,其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 是-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。  
 27. 如权利要求 15-26 任一项的所述试剂,其中 R<sup>2</sup> 是甲基。  
 28. 如权利要求 15-27 任一项的所述试剂,其中 R<sup>4</sup> 是甲基。  
 29. 如权利要求 15-28 任一项的所述试剂,其中 Z 是氢。  
 30. 如权利要求 15-29 任一项的所述试剂,其中 A 是烷基-CO<sub>2</sub><sup>-</sup>。  
 31. 如权利要求 15 的所述试剂,其中所述试剂是下列之一或其盐:



32. 一种细菌靶向剂,其是由式 VI 表示的化合物或其盐:



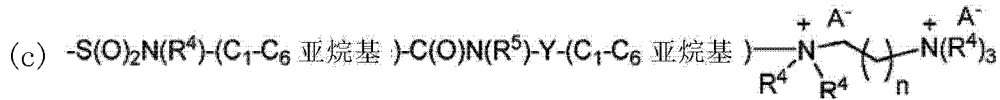
(VI)

其中:

X<sup>1</sup> 和 X<sup>2</sup> 各自独立地表示氢或下列基团之一,前提是 X<sup>1</sup> 和 X<sup>2</sup> 不都是氢:

(a) -S(O)<sub>2</sub>N(R<sup>4</sup>)-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(R<sup>5</sup>)-Y-(含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)-A

(b) -S(O)<sub>2</sub>N(R<sup>4</sup>)-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(R<sup>5</sup>)-Y-(含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)-(A)<sub>2</sub>;或者



n 在每次出现时独立地表示 1、2、3 或 4;

A 是单价阴离子或不存在;

Y 是下列之一:

(a) ψ-亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-;或

(b) ψ-亚杂烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-;

ψ 是连接到酰胺氮原子的键;

Z 是氢或烷基;

R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自独立地表示烷基或亚烷基-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>;

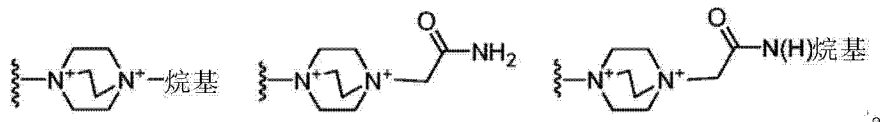
R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基;

R<sup>5</sup> 在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基;并且

M 是单价阳离子或不存在。

33. 如权利要求 32 的所述试剂,其中 X<sup>1</sup> 是 -S(O)<sub>2</sub>N(R<sup>4</sup>)-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(R<sup>5</sup>)-Y-(含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)-(A)<sub>2</sub>。

34. 如权利要求 32 或 33 的所述试剂,其中所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一:



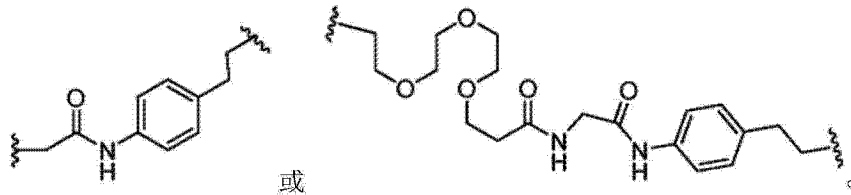
35. 如权利要求 32-34 任一项的所述试剂,其中 X<sup>2</sup> 是氢。

36. 如权利要求 32-35 任一项的所述试剂,其中 Y 是下列之一:

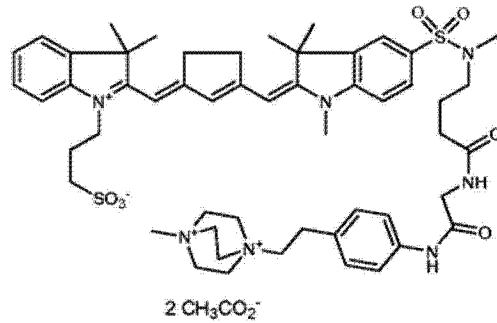
(a) ψ-CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) 亚烷基-;或

(b) ψ-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-4</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>) 亚烷基-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) 亚烷基。

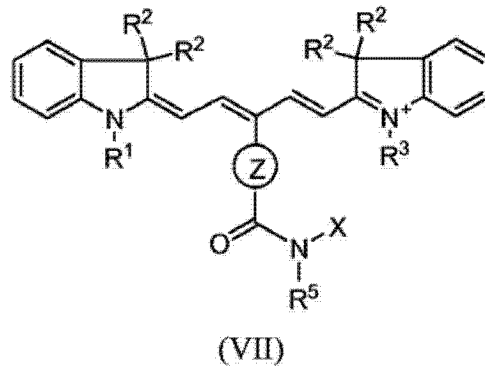
37. 如权利要求 32-36 任一项的所述试剂,其中 Y 是下列之一:



38. 如权利要求 32-37 任一项的所述试剂,其中 R<sup>1</sup> 是烷基。  
 39. 如权利要求 32-38 任一项的所述试剂,其中 R<sup>3</sup> 是亚烷基 -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>。  
 40. 如权利要求 32 的所述试剂,其中所述试剂是下列试剂或其盐:



41. 一种细菌靶向剂,其是由式 VII 表示的化合物或其盐:

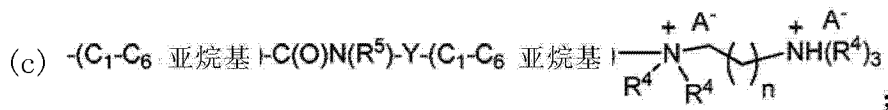


其中:

X 是下列之一:

- (a) -(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(R<sup>5</sup>)-Y-(含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)-A  
 (b) -(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(R<sup>5</sup>)-Y-(含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)-(A)<sub>2</sub>;

或者



n 是 1、2、3 或 4;

A 是单价阴离子或不存在;

Y 是下列之一:

- (a) ψ-亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-;或  
 (b) ψ-亚杂烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-;

ψ 是连接到酰胺氮原子的键;

Z 是亚芳基;

R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自独立地表示烷基或亚烷基 -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup>;

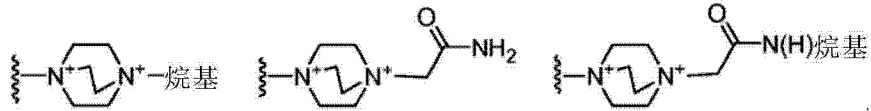
R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基；

R<sup>5</sup> 在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基；并且

M 是单价阳离子或不存在。

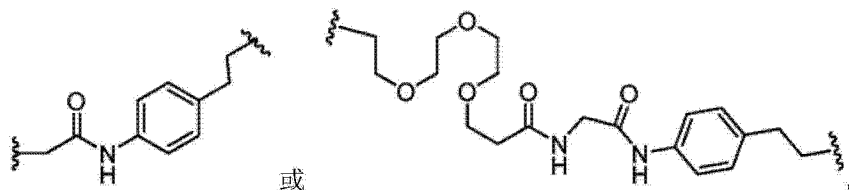
42. 如权利要求 41 的所述试剂, 其中 X 是  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(\text{含有两个四价环氮原子的取代的杂环基})-(A)_2$ 。

43. 如权利要求 41 或 42 的所述试剂, 其中所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一:

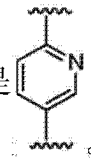


44. 如权利要求 41-43 任一项的所述试剂, 其中 Y 是  $\psi-CH_2-C(O)N(H)-\text{苯基}-(C_1-C_4 \text{ 亚烷基})-$ 。

45. 如权利要求 41-43 任一项的所述试剂, 其中 Y 是下列之一:



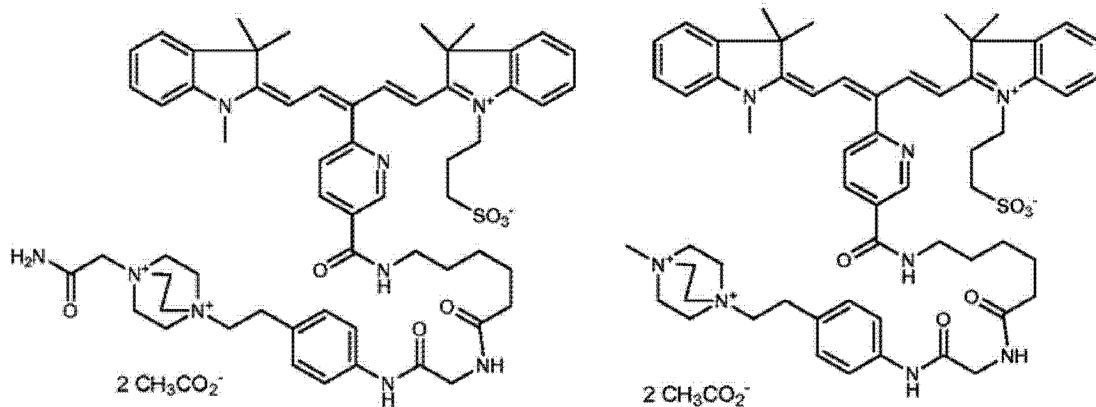
46. 如权利要求 41-45 任一项的所述试剂, 其中 Z 是



47. 如权利要求 41-46 任一项的所述试剂, 其中 R<sup>1</sup> 是烷基。

48. 如权利要求 41-47 任一项的所述试剂, 其中 R<sup>3</sup> 是亚烷基  $-SO_3^+M^+$ 。

49. 如权利要求 41 的所述试剂, 其中所述试剂是下列之一或其盐:



50. 一种适合于给药到受试者的药物组合物, 其包含权利要求 1-49 任一项的试剂和可药用赋形剂。

51. 一种体内成像的方法, 所述方法包括:

- (a) 向受试者给药权利要求 1-49 任一项的试剂;
- (b) 使所述试剂在所述受试者中分布; 以及
- (c) 检测由所述试剂发射的信号。

52. 一种体内光学成像的方法,所述方法包括:
- (a) 向受试者给药权利要求 1-49 任一项的试剂,其中所述试剂包含荧光染料;
  - (b) 使所述试剂在所述受试者中分布;
  - (c) 将所述受试者暴露于可以被所述荧光染料吸收的波长的光;以及
  - (d) 检测由所述试剂发射的信号。
53. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中由所述试剂发射的所述信号被用于构建图像。
54. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中所述图像是断层扫描图像。
55. 如权利要求 52 的所述方法,其中步骤 (a) 至 (c) 以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估所述试剂的发射信号随时间的变化。
56. 如权利要求 52 的所述方法,其中步骤 (a) 至 (d) 以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估所述试剂的发射信号随时间的变化。
57. 如权利要求 51-56 任一项的所述方法,其中所述受试者是动物或人类。
58. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中在步骤 (a) 中,将信号性质可以彼此区分开的两种或更多种成像探针给药于受试者,其中至少一种所述成像探针是细菌靶向剂。
59. 如权利要求 52 的所述方法,其中所述照射和检测步骤使用内窥镜、导管、断层扫描系统、手持光学成像系统或术中显微镜来进行。
60. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中发射信号的存在、不存在或水平指示了疾病状态。
61. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中所述方法被用于检测和 / 或监测疾病。
62. 如权利要求 61 的所述方法,其中所述疾病选自骨病、癌症、心血管疾病、环境疾病、皮肤病、免疫疾病、遗传病、传染病、炎性疾病、代谢疾病、眼科疾病和呼吸道疾病。
63. 如权利要求 51 或 52 的所述方法,其中在步骤 (a) 中,向所述受试者给药用所述试剂标记的细胞。
64. 如权利要求 63 的所述方法,其中使用由所述试剂发射的信号来监测所述细胞的运输和定位。
65. 一种对受试者中的细菌感染进行成像的方法,所述方法包括:
- (a) 向受试者给药权利要求 1-49 任一项的试剂;以及
  - (b) 检测所述试剂的存在,
  - (c) 产生代表细菌感染的图像,由此对细菌感染进行成像。
66. 一种在受试者中治疗疾病的方法,所述方法包括向受试者给药权利要求 1-49 任一项的试剂,其中所述试剂包含定位于所述疾病区域中并发出有效剂量的辐射的放射性标记物。
67. 一种体外成像方法,所述方法包括:
- (a) 将样品与权利要求 1-49 任一项的试剂相接触;
  - (b) 使所述试剂结合于生物靶;以及
  - (c) 检测从所述试剂发射的信号,由此确定所述试剂是否已被所述生物靶激活或结合。
68. 如权利要求 67 的所述方法,其中所述样品是生物样品。

## 细菌成像剂及其使用方法

[0001] 与相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2012 年 3 月 30 日提交的美国临时专利申请 No. 61/618, 291 的利益和优先权, 所述临时申请的内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明提供了用于在受试者中检测细菌的组合物和方法。所述组合物一般含有细菌靶向组成部分和成像报告物, 所述成像报告物可以是荧光团。

[0004] 发明背景

[0005] 用于在某些疾病中评估分子终点的当前方法通常需要组织和血液取样、外科手术, 并且在实验动物的情形中, 需要在不同时间点处死。尽管对非侵入性成像进行改进, 但仍需要更灵敏且更特异的成像剂和方法。能够可视化特定分子靶和 / 或整个通路的成像技术, 将显著提高我们诊断和评估治疗性干预对许多不同疾病状态的治疗效果的能力。大多数当前的成像技术主要报告解剖学或生理学信息 (例如磁共振成像 (MRI)、计算机断层扫描 (CT) 和超声)。诸如光学成像的更新的模态和新的分子成像探针, 具有革新检测、治疗和监测疾病的方式的潜力。

[0006] 分子成像的常见范例包括使用选择性靶向特定基因、蛋白质、受体或细胞功能的“分子”探针或试剂, 其中特定靶的不存在、存在或水平指示了特定疾病状态。

[0007] 特别是, 光学成像提供了几种优点, 使其在研究和临床两种环境中成为强有力的分子成像方法。具体来说, 光学成像可以是快速、安全、成本效益高和高度灵敏的。扫描时间在数秒至数分钟的量级上, 不需要电离辐射, 并且成像系统可以相对简单地使用。此外, 光学探针可以被设计成动态分子成像剂, 其可以在体内改变它们的报告情况 (profiles), 以实时提供分子和功能信息。为了在体内获得最大穿透和灵敏度, 对于生物系统中的大多数光学成像来说, 选择红和近红外 (NIR) 光谱区域 (600–900nm) 范围内, 尽管也可以使用可见光区域中的其他波长。在 NIR 波长范围内, 生理丰富的吸收剂例如血红蛋白或水的吸收、以及组织的自发荧光被降至最低。

[0008] 革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌是感染例如假体周围、关节、骨骼、血管假体移植、腹股沟、脐带或切口疝气片感染的最常见病因, 并且是具有挑战性的手术并发症之一。依赖于从疑似位点回收的培养细菌的分析的常规诊断方法是耗时、不灵敏的, 并且不总是可行。诸如 MRI 和 CT 的解剖学成像技术不能始终都分辨感染和无菌炎症, 因此是不可靠的。最近, 已经研究了指向特定生物体的放射性标记的抗生素和肽类的使用, 但是临床使用受到限制, 部分是因为次优的特异性或敏感性。

[0009] 细菌感染的早期检测与更好的完全恢复的预后相关。细菌独特的细胞结构体系存在用于检测和标记感染位点的大量不同手段。细胞膜、DNA 和细胞壁是三种充分研究的细菌结构。细菌的细胞表面带有高度负电荷, 远高于健康哺乳动物。与健康哺乳动物细胞相比, 带正电荷的阳离子探针可用于选择性靶向并结合细菌细胞的阴离子表面。

[0010] 经历细胞凋亡或细胞程序性死亡的哺乳动物细胞也表现出比正常细胞高得多的

负电荷。此外,靶向细菌或被细菌感染 (compromised) 的细胞的带正电荷的阳离子探针,也可以识别并结合不健康的凋亡的哺乳动物细胞。

[0011] 使用这样的方法,特异性针对诸如在细菌和凋亡细胞中存在阴离子表面的阳离子分子,可以连接到荧光分子并用于探测细菌感染和 / 或细胞凋亡的位点 / 区域。

[0012] 更准确有效地检测和定量细菌感染和细胞凋亡位点的能力,有助于对生物现象例如发病机理、感染和细胞死亡的理解,并有助于确定最适合的治疗方案。

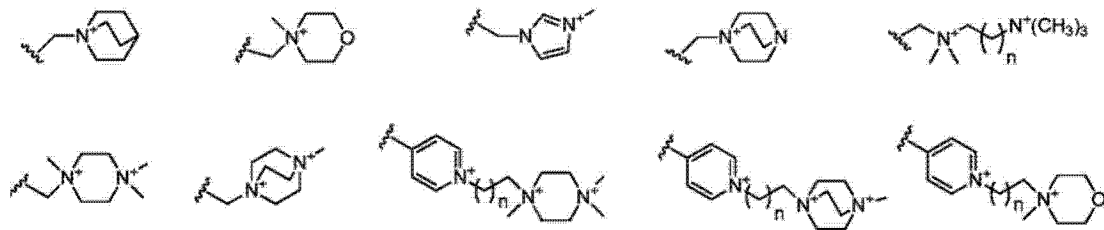
[0013] 发明简述

[0014] 本发明提供了一类新的荧光成像剂,其结合细菌和凋亡的细胞的阴离子表面,并且可用于各种体外和体内应用,包括但不限于细菌细胞、例如在微生物感染中发现的细菌细胞的鉴定中。还提供了在远红或近红外区域中发荧光的阳离子试剂 / 配体,其对于活的动物中的细菌体内成像特别有用。此外,提供了独立地包含远红或近红外荧光团的试剂,所述荧光团已被大量可用于优化所述试剂的体外和体内性质的化学修饰基团修饰。

[0015] 在某些实施方式中,所述细菌靶向剂包括:细菌靶向组成部分,其包含任选地被脂族、芳香族或杂芳族组成部分取代的带正电荷的组成部分;以及成像报告物,其任选地通过连接物 (L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分。

[0016] 在某些实施方式中,所述细菌靶向剂的带正电荷的组成部分是下列之一:

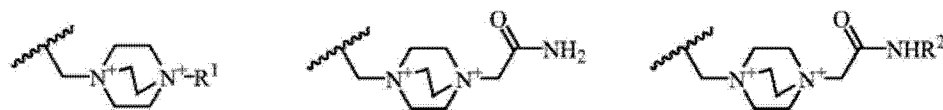
[0017]



[0018] 其中  $n$  是 1、2、3、4、5 或 6。

[0019] 在某些实施方式中,所述带正电荷的组成部分带有双重正电荷,并由下式之一表示:

[0020]



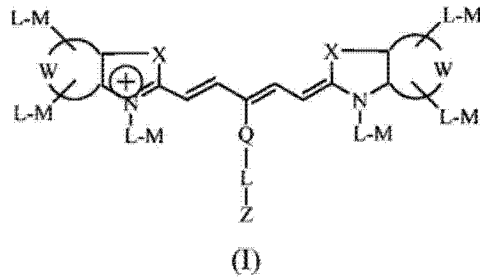
[0021] 其中  $R^1$  和  $R^2$  在每次出现时独立地是取代或未取代的芳基、 $C_1$ - $C_{18}$  烷基、低聚或多聚乙二醇。在某些实施方式中, $R^1$  和  $R^2$  在每次出现时独立地是取代或未取代的杂芳基。

[0022] 在其他实施方式中,所述细菌靶向剂包括:细菌靶向组成部分,其包含任选地被脂族、芳香族或杂芳族组成部分取代的带正电荷的 1,4-二氮杂双环 [2.2.2] 辛烷 (DABCO) 组成部分;以及成像报告物,其任选地通过连接物 (L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分。

[0023] 在某些实施方式中,所述成像报告物选自包含荧光组成部分、磁性组成部分和放射性同位素的组。此外,所述成像报告物带有多个化学修饰的组成部分。

[0024] 本发明的另一方面提供了式 (I) 的化合物或其盐:

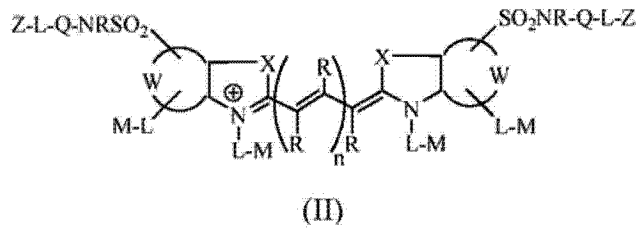
[0025]



[0026] 其中变量如详细描述中所定义。

[0027] 本发明的另一方面提供了式 (II) 的化合物或其盐：

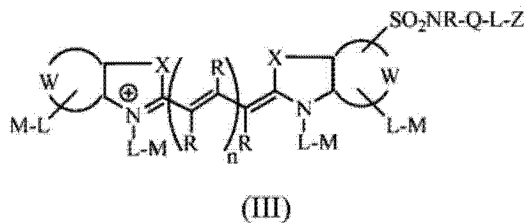
[0028]



[0029] 其中变量如详细描述中所定义。

[0030] 本发明的另一方面提供了式 (III) 的化合物或其盐：

[0031]



[0032] 其中变量如详细描述中所定义。

[0033] 在某些实施方式中,所述细菌靶向剂(例如式 I、II 或 III 的化合物)在远红或近红外波长中发荧光。

[0034] 本发明的另一方面提供了式 (IV) 的化合物或其盐：

[0035]  $F-(L)_n-(Z)_m$

[0036] (IV)

[0037] 其中变量如详细描述中所定义。

[0038] 在某些实施方式中,所述化学修饰的组成部分(M)选自氢、醇、磺酸盐、聚磺酸盐、半胱氨酸、磺酰胺、亚砷、砷、羧酸盐、酮、膦酸盐、磷酸盐、亚氨基二乙酸盐、乙二胺四乙酸、二乙三胺五乙酸、四氮杂环十二烷四乙酸、氨基酸或聚氨基酸、寡聚或多聚乙二醇、胺、季铵离子、糖、葡萄糖胺、半乳糖胺、甘露糖胺、聚乙二醇(PEG)及其衍生物例如烷氧基聚乙二醇(例如甲氧基聚乙二醇、乙氧基聚乙二醇等)、支链聚丙二醇、聚丙二醇、聚赖氨酸和甲氧基聚乙二醇的接枝共聚物、肽类、脂类、脂肪酸、棕榈酸盐、磷脂类、磷脂-PEG 缀合物、糖类(例如葡聚糖、氨基葡聚糖、羧甲基葡聚糖)、氧化铁纳米粒子、萘基丙氨酸、苯丙氨酸、3,3-二苯基丙胺、牛磺酸、膦酸盐、磷酸盐、羧酸盐和聚羧酸盐。在其他实施方式中,所述化学修饰剂M降低所述试剂的非特异性细胞膜渗透性。在其他实施方式中,所述化学修饰剂M减少所述试剂在给药于活的动物时的非特异性组织积累。

[0039] 在某些实施方式中,所述连键或连接物组成部分(L)包含选自下列的组成部分的二价自由基:甘氨酸,丙氨酸, $\beta$ -丙氨酸, $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-$ ,其中 $n=1-8$ ,4-氨基甲基苯甲酸,半胱氨酸,谷氨酸,氨基-聚乙二醇-羧酸,氨基-聚乙二醇胺,乙二胺,丙二胺,亚精胺,精胺,己二胺,和二胺-氨基酸例如高赖氨酸、赖氨酸、鸟氨酸,二氨基丁酸和二氨基丙酸,琥珀酸,戊二酸,辛二酸,己二酸,酰胺,三唑,脲或硫脲。

[0040] 其他示例性细菌靶向剂包括由详细描述中所描述的式V、VI和VII所涵盖的化合物。

[0041] 本发明的另一方面提供了适合于给药到受试者的药物组合物,其包含本文中描述的化合物(例如细菌成像剂)和可药用赋形剂。

[0042] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,所述方法包括:(a)向受试者给药本文中描述的试剂(例如细菌成像剂);(b)使所述试剂在所述受试者中分布;以及(c)检测由所述试剂发射的信号。

[0043] 本发明的另一方面提供了一种体内光学成像方法,所述方法包括:(a)向受试者给药本文中描述的试剂(例如细菌成像剂),其中所述试剂包含荧光染料;(b)使所述试剂在所述受试者中分布;(c)将所述受试者暴露于可以被所述荧光染料吸收的波长的光;以及(d)检测由所述试剂发射的信号。

[0044] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,其中由所述试剂发射的所述信号被用于构建图像。在某些实施方式中,所述图像是断层扫描图像。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内光学成像的方法,其中步骤(a)-(c)以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估所述试剂(例如细菌成像剂)的发射信号随时间的变化。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内光学成像的方法,其中步骤(a)-(d)以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估所述试剂(例如细菌成像剂)的发射信号随时间的变化。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内成像方法,其中所述受试者是动物或人类。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内成像方法,其中在步骤(a)中,将信号性质可以彼此区分开的两种或更多种成像探针给药于受试者,其中至少一种所述成像探针是本文中描述的试剂(例如细菌成像剂)。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内光学成像的方法,其中所述照射和检测步骤使用内窥镜、导管、断层扫描系统、手持光学成像系统或术中显微镜来进行。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内成像方法,其中发射信号的存在、不存在或水平指示了疾病状态。在某些实施方式中,本发明提供了一种体内成像方法,其中所述方法被用于检测和/或监测疾病。在某些实施方式中,所述疾病选自骨病、癌症、心血管疾病、环境疾病、皮肤病、免疫疾病、遗传病、传染病、炎性疾病、代谢疾病、眼科疾病和呼吸道疾病。

[0045] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,其中在步骤(a)中,向所述受试者给药本文中描述的试剂(例如细菌成像剂)标记的细胞。在其他实施方式中,使用由所述试剂(例如细菌成像剂)发射的信号来监测所述细胞的运输和定位。

[0046] 本发明的另一方面提供了一种对受试者中的细菌感染进行成像的方法,所述方法包括:向受试者给药试剂;以及(b)检测所述试剂的存在,由此产生代表细菌感染的图像。在某些实施方式中,本发明提供了一种在受试者中治疗疾病的方法,所述方法包括系统或局部地向受试者给药试剂,其中所述试剂包含定位于所述疾病区域中并发出有效剂量的辐

射的放射性标记物。

[0047] 本发明的另一方面提供了一种体外成像方法,所述方法包括:(a)将样品与试剂相接触;(b)使所述试剂结合于生物靶;(c)任选地除去未结合的试剂;以及(d)检测从所述试剂发射的信号,由此确定所述试剂是否已被所述生物靶激活或结合。在其他实施方式中,所述样品是生物样品。

[0048] 本文描述的化合物有效地结合阴离子表面,特别是细菌的细胞膜,并且对细菌的体外和体内荧光成像有效,因此可用于治疗性和诊断性应用两者。

[0049] 本发明的另一方面提供了使用所述荧光细菌成像剂进行体外和体内成像的方法。对于光学体内成像来说,所述方法包括(a)向受试者给药本发明的细菌靶向剂;(b)使所述细菌靶向剂在所述受试者中分布;(c)将所述受试者暴露于可以被所述细菌靶向剂的荧光团吸收的波长的光;以及(d)检测由所述细菌靶向剂发射的光信号。由所述试剂发射的所述信号可用于构建图像。在某些实施方式中,某些所述图像是断层扫描图像。此外,应该理解,上述步骤可以以预定时间间隔重复,从而允许对所述受试者评估随时间的变化。

[0050] 所述细菌靶向剂可以配制成适合于向受试者例如动物和/或人类受试者给药的药物组合物。所述药物组合物可以在生理上可接受的载体中包括一种或多种所述细菌靶向剂和一种或多种稳定剂。

[0051] 所述受试者可以是脊椎动物,例如哺乳动物,例如人类。所述受试者也可以是用于实验室研究的非脊椎动物(例如秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)、果蝇或其他研究用模式生物等)。

[0052] 所述细菌靶向剂可以包括例如1至5个细菌靶向结合组成部分(例如2至5个、3至5个或4至5个细菌靶向结合组成部分),其各自化学连接到所述成像报告物。所述试剂可以包含多个细菌靶向组成部分,其各自化学连接到所述成像报告物。

[0053] 成像报告物可以例如选自荧光团报告物、荧光染料报告物、光学报告物、磁报告物、放射性标记物、X-射线报告物、超声成像报告物、基于纳米粒子的报告物或其组合。所述细菌成像剂还可以包含化学连接到所述细菌靶向组成部分或所述成像报告物的生物修饰剂。

[0054] 此外,本发明的另一方面提供了使用所述细菌靶向剂进行体外和体内成像的方法。对于光学体内成像来说,一种示例性方法包括(a)向受试者给药一种或多种本文描述的技术的上述细菌靶向剂,其中所述试剂包含一种或多种荧光染料;(b)使所述试剂在所述受试者中分布;(c)将所述受试者暴露于可以被所述至少一种荧光染料吸收的波长的光;以及(d)检测由所述细菌靶向剂发射的信号。由所述试剂发射的所述信号可用于构建图像,例如断层扫描图像。此外,应该理解,上述步骤可以以预定时间间隔重复,从而允许对所述受试者评估随时间的变化。

[0055] 所述细菌靶向剂可用于在受试者中测量细菌细胞数量(细菌感染)或其他生理过程例如细胞死亡。一种示例性方法包括(a)向受试者给药一种或多种上述细菌靶向剂;(b)检测所述试剂的存在,由此产生表示所述受试者中细菌感染的位点的图像。

[0056] 在每种上述方法中,所述受试者可以是脊椎动物,例如哺乳动物,例如人类。所述受试者也可以是用于实验室研究的非脊椎动物(例如秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)、果蝇或其他研究用模式生物等)。

[0057] 此外,可以将所述细菌靶向剂合并到试剂盒中,例如具有任选的在体内或体外成像方法中使用所述细菌靶向剂的说明书的试剂盒。所述试剂盒任选地可以包括有助于所述细菌靶向剂使用的组分,例如缓冲液和其他配制剂。或者,所述试剂盒可以包括有助于所述细菌靶向剂向受试者的给药和/或检测的医学装置。

[0058] 从下面的图、详细描述和权利要求书,本发明的其他特点和优点将显而易见。

[0059] 附图简述

[0060] 图 1 示出了细菌靶向剂(化合物 A7)与细菌物种大肠杆菌(*Escherichia coli*)和表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)之间的体外结合研究。图 1A 是使用流式细胞术比较未结合和结合到细菌靶向剂的细菌的一系列散点图。图 1B 是图 1A 中示出的由流式细胞术得到的未被或被细菌靶向剂结合的细菌之间的荧光的柱状图。

[0061] 图 2 示出了使用细菌靶向剂(化合物 A7)在小鼠中检测到的表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*)细菌感染位点的断层扫描图像和总荧光。图 2A 示出了感染后 1、2 和 3 小时的小鼠的断层扫描图像。图 2B 是比较在感染后 1、2 和 3 小时时,小鼠的被感染腿和对照(未感染)腿之间的荧光的柱状图。

[0062] 图 3 示出了使用细菌靶向剂(化合物 A7)在小鼠中检测到的大肠杆菌(*E. coli*)细菌感染位点的断层扫描图像。图 3 示出了感染后 1、2、和 3 小时的小鼠的断层扫描图像。

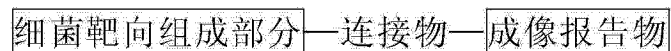
[0063] 详细描述

[0064] 本发明提供了用于在受试者中检测细菌的组合物和方法。本文中描述的技术是部分地基于发现了可以生产荧光细菌靶向剂,该荧光细菌靶向剂是稳定、生物相容的,表现出低的体外非特异性细胞摄入和低的体内非特异性组织摄入,并且可用于各种体外和体内试验和成像应用以及各种治疗应用中。在以下部分中描述所述细菌靶向剂以及它们的用途的各个方面。在一个特定部分中描述的本发明的方面不限制于任何特定部分。此外,如果变量未伴有定义,则以所述变量的前一个定义为准。

[0065] I. 细菌靶向剂

[0066] 本发明的另一方面提供了细菌靶向剂。一般来说,所述细菌靶向剂包含:(i) 细菌靶向组成部分和(ii) 成像报告物,所述成像报告物可以是荧光团。细菌靶向组成部分可以通过连接物连接到成像报告物,正如由下式所表示的:

[0067]



[0068] 通过选择成像报告物组成部分、连接物和细菌靶向剂的具体类型,可以调整细菌靶向剂的性质。此外,通过结合(attach)一个或多个化学修饰基团(M),可以调整细菌靶向剂的性质。在以下子部分中更详细地描述细菌靶向组成部分、连接物、成像报告物和化学修饰的组成部分。

[0069] “成像报告物”或“IR”可以是在成像中用于提供对比或信号并且可以通过成像技术检测的任何适合的化学品或物质。在某些实施方式中,成像报告物包含一个或多个荧光团、光致发光纳米粒子、放射性同位素、超顺磁剂、X-射线造影剂和超声剂。应该理解,IR 也可以包含治疗性报告物,例如在光动力学疗法中使用的卟啉和在放射治疗中使用的放射性核素。

[0070] 术语“化学修饰基团”或“M”被理解为是指可用于改变细菌靶向剂的物理、化学或

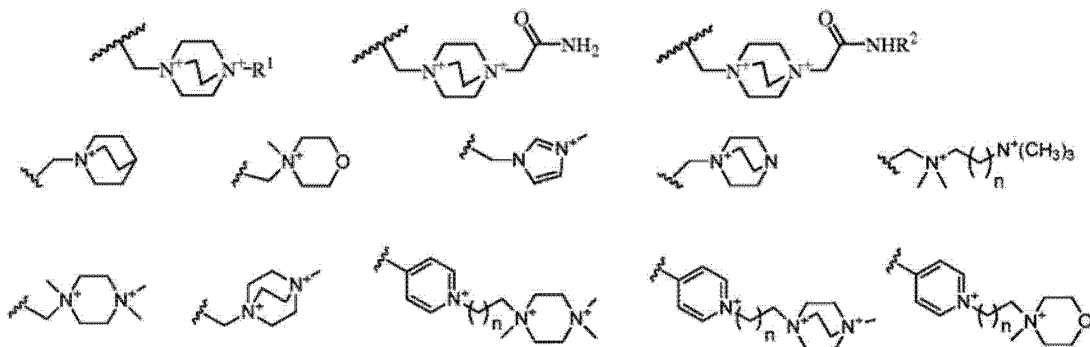
生物性质的任何组成部分,所述性质改变例如但不限于使其与未用 M 修饰的细菌靶向剂相比更加水溶或在给药用介质中更加可分散,提高结合特异性,增加或降低分子净电荷,降低免疫原性或毒性,或者改变细胞摄入、药物动力学或生物分布情况。

[0071] 与细菌靶向剂相关的其他信息可以在例如美国专利 No. 7, 833, 737、以及国际申请公布 Nos. W02006/137092、W02008/124703、W02010/147666 和 W02010/065906 中找到,所有上述文献以其全部内容通过引用并入本文。

[0072] A. 细菌靶向组成部分

[0073] 细菌靶向组成部分一般来说是含有至少一个铵基的有机官能团。示例性的细菌修饰组成部分包含:(i) 含有一个四价环氮原子的取代杂环基,(ii) 含有两个四价环氮原子的取代杂环基,以及(iii) 铵取代杂烷基。在某些实施方式中,细菌靶向组成部分是下列之一:

[0074]



[0075] 其中  $R^1$  是烷基,  $R^2$  是烷基或 - 亚烷基  $-C(O)N(R^3)_2$ , 其中  $R^3$  在每次出现时独立地表示氢、烷基, 或者两个  $R^3$  与它们所结合的氮合在一起形成杂环。

[0076] 在某些其他实施方式中,细菌靶向组成部分是下列之一:(a) 含有一个四价环氮原子的取代杂环基,例如烷基取代哌嗪或烷基取代 DABCO,(b) 含有两个四价环氮原子的取代杂环基,例如烷基取代哌嗪或烷基取代 DABCO,或(c)  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-N^+(R')_3$ , 其中  $R'$  在每次出现时独立地表示烷基或氢; $n$  是 1、2、3 或 4;并且  $A$  在每次出现时独立地表示阴离子,例如烷基  $-CO_2^-$ 。

[0077] 被设想适用于本发明的其他示例性的细菌靶向组成部分包括在例如美国专利 No. 7, 833, 737、以及国际专利申请公布 Nos. W02006/137092、W02008/124703、W02010/147666 和 W02010/065906 中所描述的那些,所有上述文献以其全部内容通过引用并入本文。

[0078] B. 成像报告物

[0079] 各种成像报告物例如荧光和非荧光报告物,被设想适用于本发明。描述在下文中示例性的成像报告物,包括具有荧光组成部分、磁性组成部分或放射性同位素的成像报告物。所述成像报告物可以用多个化学修饰的组成部分取代。

[0080] (a) 荧光报告物

[0081] 在某些实施方式中,成像报告物是荧光团分子。“荧光团”包括但不限于荧光染料、荧光染料淬灭剂分子、任何有机或无机染料、金属螯合物或任何荧光酶底物,包括可用蛋白

酶激活的酶底物。

[0082] 在某些实施方式中,细菌靶向剂包含荧光团。在某些实施方式中,荧光团是在约 600 至约 1200nm 之间,更优选地在约 600nm 至约 900nm 之间具有最大吸收和发射的远红和近红外荧光染料 (NIRF)。应该认识到,在其他光谱中具有激发和发射波长的荧光染料的使用,也可用于本发明的组合物和方法中。示例性的荧光染料包括但不限于羧花青荧光染料和靛青荧光染料。

[0083] 近红外荧光染料优选地在水性介质中具有每个荧光染料分子至少  $50,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  的消光系数。近红外荧光染料优选地还具有体内和人体使用所需的 (1) 高量子产率 (即,在水性介质中量子产率高于 5%), (2) 窄幅激发 / 发射光谱,在光谱上分离的吸收和发射光谱 (即,最大激发和发射值相隔至少 15nm), (3) 高的化学和光稳定性, (4) 无毒性, (5) 良好的生物相容性、生物可降解性和可排泄性,以及 (6) 商业可行性和大批量 (即克和千克级的量) 的大规模生产。

[0084] 某些羧花青或聚甲炔荧光染料可用于生产本发明的细菌靶向剂,并包括例如在美国专利 No 6,747,159、美国专利 No 6,448,008、美国专利 No 6,136,612、美国专利 No 4,981,977、5,268,486、美国专利 No 5,569,587、美国专利 No 5,569,766、美国专利 No 5,486,616、美国专利 No 5,627,027、美国专利 No 5,808,044、美国专利 No 5,877,310、美国专利 No 6,002,003、美国专利 No 6,004,536、美国专利 No 6,008,373、美国专利 No 6,043,025、美国专利 No 6,127,134、美国专利 No 6,130,094、美国专利 No 6,133,445 以及 WO 97/40104、WO 99/51702、WO 01/21624 和 EP 1065250A1 以及 Tetrahedron Letters 41,9185-88(2000) 中所描述的。

[0085] 各种荧光染料是可商购的,并可用于构建本发明的细菌靶向剂。示例性的荧光染料包括例如 Cy5.5、Cy5 和 Cy7 (GE Healthcare); AlexaFluor660、AlexaFluor680、AlexaFluor750 和 AlexaFluor790 (Invitrogen); VivoTag680、VivoTag-S680 和 VivoTag-S750 (VisEn Medical); Dy677、Dy682、Dy752 和 Dy780 (Dyomics); DyLight547、DyLight647 (Pierce); HiLyte Fluor 647、HiLyte Fluor 680 和 HiLyte Fluor750 (AnaSpec); IRDye 800CW、IRDye 800RS 和 IRDye 700DX (Li-Cor); 以及 ADS780WS、ADS830WS 和 ADS832WS (American Dye Source) 和 Kodak X-SIGHT 650、Kodak X-SIGHT 691、Kodak X-SIGHT 751 (Carestream Health)。

[0086] 表 1 列出了可用于本发明的实践的许多示例性可商购荧光染料及其光谱性质。

[0087] 表 1

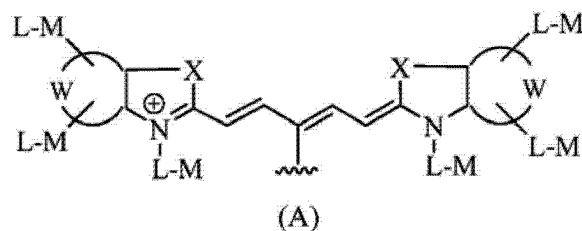
[0088]

荧光染料	$\epsilon_{\text{max}}\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	最大吸收波长 (nm)
Cy5	250,000	649
Cy5.5	250,000	675
Cy7	250,000	743
AlexaFluor660	132,000	663

AlexaFlour680	184,000	679
AlexaFlour750	280,000	749
VivoTag680(VT680)	100,000	670
VivoTag-S680	220,000	674
VivoTag-S750	100,000	750
Dy677	180,000	673
Dy682	140,000	690
Dy752	270,000	748
Dy780	170,000	782
DyLight547	150,000	557
DyLight647	250,000	653
IRDye800CW	240,000	774
IRDye800RS	200,000	767
IRDye700DX	165,000	689
ADS780WS	170,000	782
ADS830WS	240,000	819
ADS832WS	190,000	824

[0089] 在某些实施方式中, 荧光团被多个化学修饰基团取代。在一种实施方式中, 荧光团由式 A 或者其盐表示:


[0090]

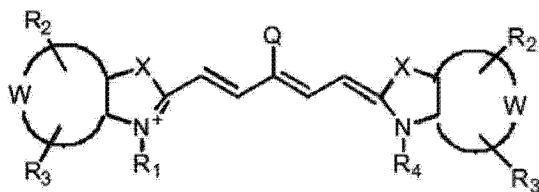


[0091] 其中:

[0092] W 表示苯并稠合、萘并稠合或吡啶并稠合的环;

[0093] X 在每次出现时独立地是选自  $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、S 和 Se;

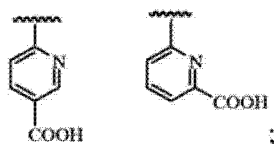
- [0094]  $Y_1$  和  $Y_2$  独立地是选自由 H 和任选地被 L—M 取代的  $C_1$ - $C_{20}$  脂族基团所组成的组；  
 [0095] L 在每次出现时独立地表示连接键或连接物组成部分；  
 [0096] M 在每次出现时独立地表示化学修饰组成部分；并且  
 [0097]  表示荧光染料结合到连接物或成像报告物的点。  
 [0098] 在一种实施方式中，荧光染料由式 B 或者其盐表示；  
 [0099]



(B)

- [0100] 其中：  
 [0101] X 独立地是选自由  $C(CH_2Y_1)(CH_2Y_2)$ 、O、S 和 Se 所组成的组；  
 [0102]  $Y_1$  和  $Y_2$  独立地是选自由 H、 $C_1$ - $C_{20}$  脂族基团和被  $-OR^*$ 、 $N(R^*)_2$  或  $-SR^*$  取代的  $C_1$ - $C_{20}$  脂族基团所组成的组；  
 [0103] W 表示苯并稠合、萘并稠合或吡啶并稠合的环；  
 [0104]  $R^*$  是烷基；  
 [0105]  $R_1$  是选自由  $(CH_2)_xCH_3$ 、 $(CH_2)_nSO_3^-$  和  $(CH_2)_nSO_3H$  所组成的组，其中 x 是选自 0 到 6 的整数，且 n 是选自 2 到 6 的整数；  
 [0106]  $R_4$  是选自由  $(CH_2)_xCH_3$ 、 $(CH_2)_nSO_3^-$  和  $(CH_2)_nSO_3H$  所组成的组，其中 x 是选自 0 到 6 的整数，n 是选自 2 到 6 的整数；  
 [0107]  $R_2$  和  $R_3$  独立地是选自由 H、羧酸盐、羧酸、羧酸酯、胺、酰胺、磺酰胺、羟基、烷氧基、磺酸组成部分和磺酸酯组成部分所组成的组；并且  
 [0108] Q 是选自由被羧基取代的杂芳基环和被羰基取代的 6 元杂芳基环所组成的组；或者 Q 是选自由 (i) 羧基功能化的杂环，(ii) 羧基功能化的含氮杂环，(iii) 羧基功能化的含氮 6 元杂环例如吡啶、嘧啶酮、吡嗪和哒嗪，(iv) 羧基功能化的含氮 6 元杂环例如吡啶，(v) 羰基功能化的含氮 6 元杂环例如吡啶，以及 (vi) 异烟酸、烟酸和吡啶甲酸所组成的组，以及选自由下列之一的基团：

[0109]

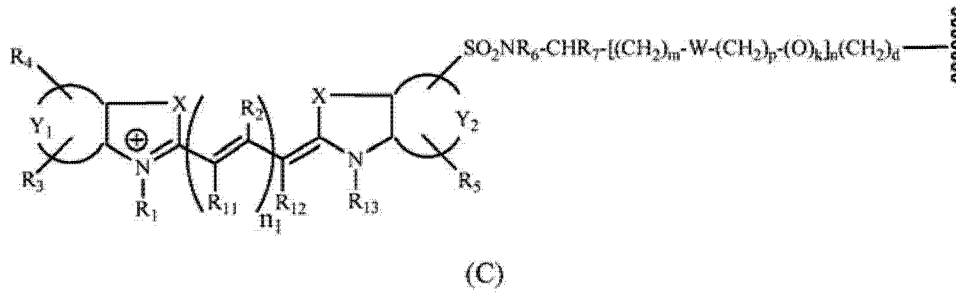


[0110] 其中，羧基也以能够与亲核试剂反应的酯、活性酯或羰基卤化物的形式，并且可以是例如  $-C(O)-O-$  苯并三唑基、 $-C(O)-O-$  (N-羟基琥珀酰亚胺基)、 $-C(O)-O-$  四氟苯基、 $-C(O)-O-$  五氟苯基、 $-C(O)-O-$  咪唑和  $-C(O)-O-$  对硝基苯基。

[0111] 由式 B 表示的荧光染料的游离基可以键合到连接物或直接键合到成像报告物。在某些实施方式中，式 B 的游离碱是其中一个或多个可变的  $R_2$  基团是  $-S(O_2)N(\text{烷基})-$  的游离基。

[0112] 在另一种实施方式中, 荧光染料由式 C 或者其盐表示:

[0113]



[0114] 其中:

[0115]  $X_1$  和  $X_2$  独立地是选自  $C(CH_2K_1)(CH_2K_2)$ 、O、S 和 Se 所组成的组;

[0116]  $K_1$  和  $K_2$  独立地是 H 或  $C_1-C_{20}$  脂族基团; 或者  $K_1$  与  $K_2$  一起是取代或未取代的碳环或杂环的一部分;

[0117]  $Y_1$  和  $Y_2$  各自独立地是苯并稠合的环、萘稠合的环或吡啶并稠合的环;

[0118]  $n_1$  为 1、2 或 3;

[0119]  $R_2$ 、 $R_{11}$  和  $R_{12}$  独立地是 H、卤素、烷基、烷氧基、芳氧基、芳基、磺酸盐、亚胺离子, 或者任何两个相邻的  $R_{12}$  和  $R_{11}$  取代基当组合在一起时, 形成任选地被  $C_1-C_6$  烷基或卤素取代一次或多次的 4、5 或 6 元碳环;

[0120]  $R_1$  和  $R_{13}$  是  $(CH_2)_xCH_3$ , 其中  $x$  是选自 0 至 6 的整数; 或者  $R_1$  和  $R_{13}$  独立地是  $(CH_2)_nSO_3^-$  或  $(CH_2)_nSO_3H$ , 其中  $n$  是选自 2 至 6 的整数;

[0121]  $R_3$ 、 $R_4$  和  $R_5$  独立地是选自 H、羧酸盐、羧酸、羧基酯、胺、酰胺、磺酰胺、羟基、烷氧基、磺酸组成部分和磺酸酯组成部分所组成的组;

[0122]  $R_6$  是未取代的  $C_1-C_{20}$  脂族基团、未取代的芳基或未取代的烷基芳基;

[0123]  $R_7$  是 H、未取代的  $C_1-C_{20}$  脂族基团、未取代的芳基或未取代的烷基芳基, 其中  $R_7$  是任选地被卤素取代; 或者

[0124]  $R_6$  和  $R_7$  合在一起形成任选地被卤素取代的 4、5、6 或 7 元杂环;

[0125] W 不存在, 或者是选自  $-SO_2NR_6-Q-CHR_7-$ 、 $-O-$ 、 $-C(O)O-$  和  $-C(O)N(H)-$  所组成的组的基团;

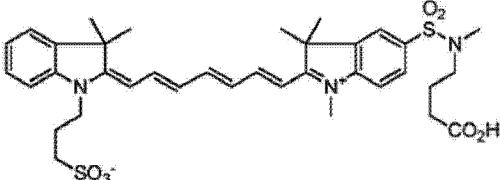
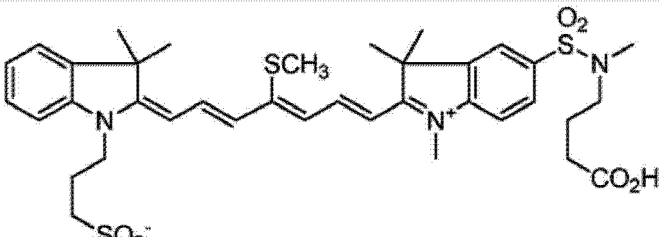
[0126]  $h = 0-70$ ;  $k = 0$  或  $1$ ;  $d = 0-12$ ;  $m = 0-12$ ;  $p = 0-12$ ; 并且

[0127] 表示荧光染料结合到连接物或成像报告物的点。

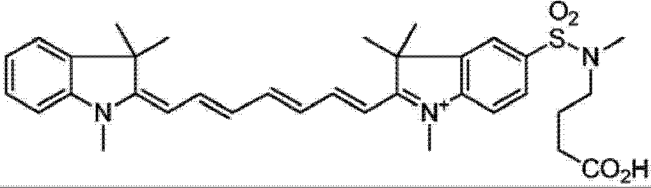
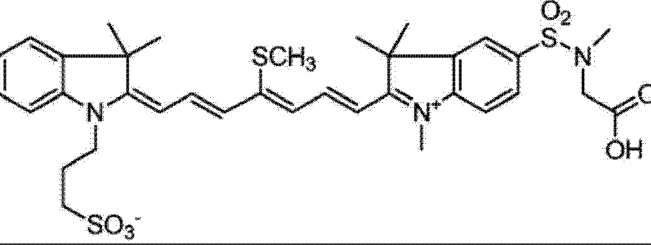
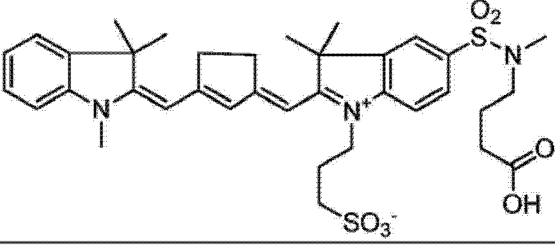
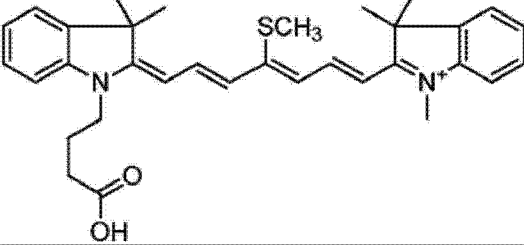
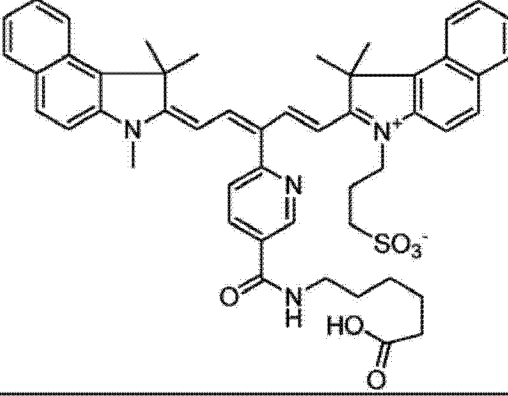
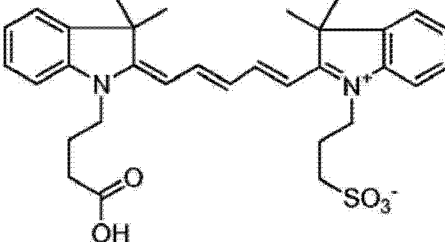
[0128] 可用于本发明的细菌靶向剂的合成的一些示例性化学修饰荧光团, 包括例如在表 2 中列出的这些荧光团。

[0129] 表 2

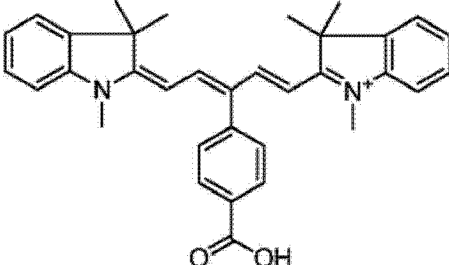
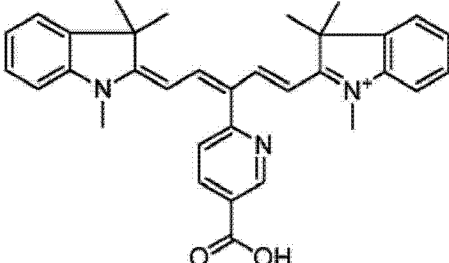
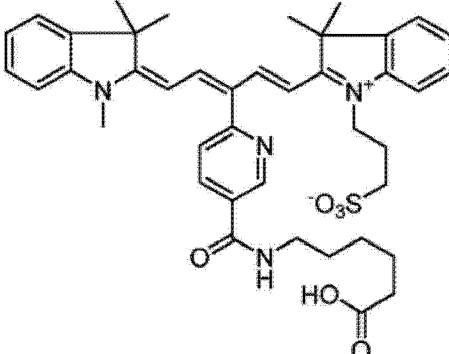
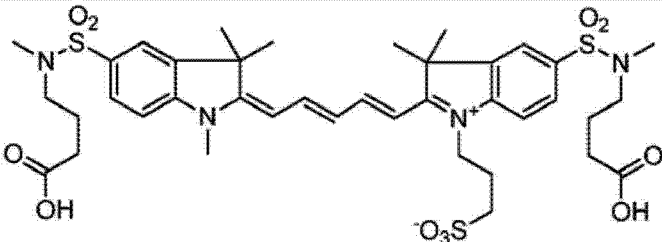
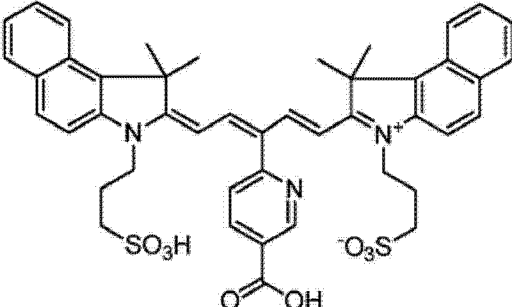
[0130]

No.	荧光团
F1	 <p>Chemical structure of fluorescent dye F1. It consists of two indole rings connected by a long polyene chain. The left indole ring has a propylsulfonate group (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) attached to the nitrogen atom. The right indole ring has a propylsulfonamide group (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-SO<sub>2</sub>-) attached to the nitrogen atom. The polyene chain is a heptatriene derivative.</p>
F2	 <p>Chemical structure of fluorescent dye F2. It consists of two indole rings connected by a long polyene chain. The left indole ring has a propylsulfonate group (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) attached to the nitrogen atom. The right indole ring has a propylsulfonamide group (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-SO<sub>2</sub>-) attached to the nitrogen atom. The polyene chain is a heptatriene derivative with a methylsulfanyl group (-SCH<sub>3</sub>) attached to the central carbon of the chain.</p>

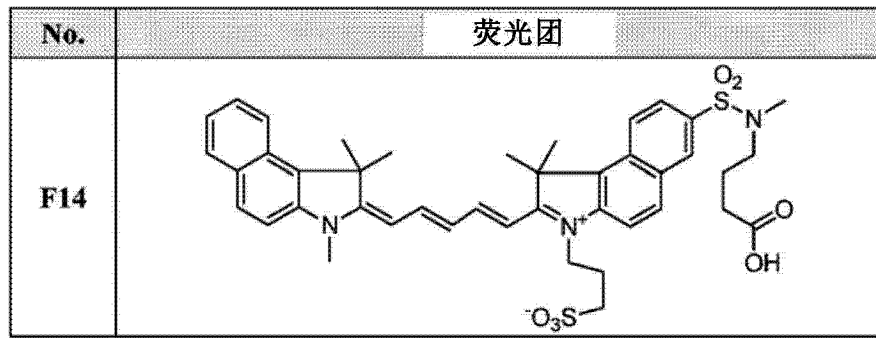
[0131]

No.	荧光团
F3	
F4	
F5	
F6	
F7	
F8	

[0132]

No.	荧光团
F9	
F10	
F11	
F12	
F13	

[0133]



[0134] 在某些实施方式中,可以将一种或多种荧光染料分子化学连接到细菌靶向组成部分以产生荧光细菌靶向剂。

[0135] 在成像报告物是荧光染料分子的情形中,细菌靶向剂的消光系数可以使用公式  $\epsilon = A/cl$  计算为在 1cm 光程比色皿中,染料在其最大吸收波长(例如对于 VivoTag 680 来说~670nm)处的吸收值与粒子的浓度之比,其中 A 是吸收值,c 是摩尔浓度,l 是以 cm 为单位的光程。

[0136] 应该理解,可以将细菌靶向剂连接到纳米粒子(例如,含硅纳米粒子)以产生荧光或发光纳米粒子。晶体硅的聚集体(作为硅的多晶体或单晶体)、多孔硅或无定形硅或这些形式的组合,能够形成纳米粒子。优选的荧光硅纳米粒子具有约 0.5nm 至约 25nm 之间、更优选地约 2nm 至约 10nm 之间的直径。纳米粒子大小可以通过激光散射或通过原子力显微技术或其他适合的技术来确定。

[0137] 荧光硅纳米粒子可能具有 200 至 2000nm 的激发和发射光谱,然而,优选的荧光硅纳米粒子具有约 400nm 至约 1200nm(优选地 500nm-900nm,例如 500nm-600nm、600nm-700nm、700nm-800nm 或 800nm-900nm)之间的最大激发和发射值。优选的荧光硅纳米粒子还在水性介质中具有至少  $50,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  的消光系数。尽管具有在 400nm 至 1200nm 之间的最大激发和发射值的荧光硅纳米粒子是优选的,但应该认识到,激发和发射波长在其他光谱中的荧光硅纳米粒子的使用,也可用于本发明的组合物和方法中。例如,在某些实施方式中,粒子可能具有近似约 300-350nm 的激发值和近似约 400-450nm 的发射值。

[0138] 荧光硅纳米粒子可能还具有体内和人体使用的下列性质:(1) 高量子产率(即,在水性介质中量子产率高于 5%),(2) 窄幅发射光谱(即,小于 75nm,更优选地小于 50nm),(3) 在光谱上分离的吸收和发射光谱(即,相隔超过 20nm,更优选地相隔超过 50nm),(3) 具有高的化学稳定性和光稳定性(即,在暴露于光后保留发光性质),(4) 是生物相容的(参见下文)或可以被制造得更生物相容的,(5) 在用于成像方案的剂量下对细胞或受试者无毒性或毒性极小(通过例如  $\text{LD}_{50}$  或刺激性试验或本领域已知的其他类似方法来测量),和/或(6) 商业可行性和大批量(即克和千克级的量)的大规模生产。

[0139] 其他示例性荧光团包括产荧光并可用于各种体外和体内应用的金属氧化物纳米粒子。在一种实施方式中,细菌靶向组成部分缀合到具有一种或多种下列特点的荧光金属氧化物纳米粒子:(1) 适合于结合多个荧光染料、从而获得大的消光系数(超过  $1,000,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )的聚合物涂层,(2) 适合于每个粒子结合约 10 至约 300 个荧光染料的非交联聚合物涂层,(3) 适合于以不显著损害(compromise)荧光染料的量子产率(例如,当在相同条件下测试时,纳米粒子保留由大体上相同数量的游离荧光染料产生的至少 50%的

荧光信号)的方式结合多个荧光染料的聚合物涂层,以及(4)适合于生物分子的高效化学连接并保留它们的生物性质以产生分子成像剂的聚合物涂层。在荧光染料和细菌靶向剂的化学连接之前和之后两种情况下,荧光金属氧化物纳米粒子在体外是高度稳定的分子成像剂,但是在体内仍然不稳定和/或可降解。

[0140] 细菌靶向组成部分可以连接到荧光量子点例如胺 T2MP EviTags (Evident Technologies) 或 Qdot 纳米晶体 (Invitrogen)。一般来说,荧光量子点是含有几种半导体材料原子的纳米晶体,包括但不限于含有镉和硒、硫化物或碲、硫化锌、镉-铟、硒化铅、碲化镓和二氧化硅或有机改性硅酸盐的这些纳米晶体,其已用硫化锌涂覆以改进这些荧光剂的性质。

[0141] 此外,细菌靶向组成部分可以缀合于能够引发光动力治疗的分子。这些分子包括但不限于 Photofrin、Lutrin、Antrin、氨基乙酰丙酸、金丝桃素、苯并卟啉衍生物和选择性卟啉。

[0142] (b) 非荧光报告物

[0143] 当在本文中使用时,术语“非荧光报告物”是指不发荧光但是可用于在成像中提供对比或信号,并且可以通过非荧光成像技术检测的化学组成部分。在某些实施方式中,其他非荧光报告物可以与成像剂化学连接,或者可以与本发明的成像剂同时或相继给药于受试者。这样的报告物可以包括光致发光纳米粒子、放射性同位素、超顺磁性剂、X-射线造影剂和超声剂。报告物还可以包含在光动力疗法中使用的治疗性报告物例如卟啉类、**Photofrin®**、**Lutrin®**、**Antrin®**、氨基乙酰丙酸、金丝桃素、苯并卟啉衍生物以及用于放射疗法的放射性核素。

[0144] (i) 放射活性报告物

[0145] 试剂可以包括一种或多种放射活性标记物。金属例如铜、镓、铟、镉、钇和镧的放射性同位素形式可以化学连接到金属成像剂,并可用于核成像或治疗应用。示例性的放射活性标记物包括但不限于  $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{64}\text{Cu}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{177}\text{Lu}$  和  $^{67}\text{Cu}$ 。

[0146] 其他示例性标记物包括例如  $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$  和  $^{18}\text{F}$ 。其他示例性标记物可以是治疗性放射药物,包括例如  $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{149}\text{Pm}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{103}\text{Pd}$ 、 $^{109}\text{Pd}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ 、 $^{140}\text{La}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{199}\text{Au}$ 、 $^{169}\text{Yb}$ 、 $^{175}\text{Yb}$ 、 $^{165}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Dy}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{105}\text{Rh}$ 、 $^{111}\text{Ag}$  和  $^{192}\text{Ir}$ 。

[0147] 还设想了用于诊断和治疗性放射药物的螯合剂或键合组成部分,并且它们可以与成像剂化学联结。可以选择示例性的螯合剂,以与具有可成像的  $\gamma$  射线或正电子发射的放射性同位素例如  $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{64}\text{Cu}$  和  $^{67}\text{Ga}$  形成稳定复合物。示例性螯合剂包括二胺二硫醇、单胺-单酰胺二硫醇、三酰胺-单硫醇、单胺-二酰胺-单硫醇、二胺二肟和胍。螯合剂一般是四配位的,具有选自氮、氧和硫的供体原子,并且可以包括例如环和非环聚氨基羧酸盐例如二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)、(D03A)、2-苯甲基-DOTA、 $\alpha$ -(2-苯乙基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-乙酰胺-4,7,10-三(甲基乙酰)酸、2-苯甲基-环己基二亚乙基三胺五乙酸、2-苯甲基-6-甲基-DTPA 和 6,6''-双[N,N,N'',N''-四(羧甲基)氨基甲基]-4'-(3-氨基-4-甲氧基苯基)-2,2':6',2''-三联吡啶。

[0148] (ii) 磁性报告物

[0149] 其他示例性报告物可以包括用于磁共振剂的螯合剂。这样的螯合剂可以包括例如

可以化学连接到试剂的聚胺-聚羧酸盐螯合剂或亚氨基乙酸螯合剂。

[0150] 可以选择用于磁共振成像剂的螯合剂, 以与顺磁性金属离子例如 Gd(III)、Dy(III)、Fe(III) 和 Mn(II) 形成稳定的复合物, 所述螯合剂选自环和非环聚氨基羧酸盐例如 DTPA、DOTA、DO3A、2-苯甲基-DOTA、 $\alpha$ -(2-苯乙基)1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1-乙酰-4,7,10-三(甲基乙酰)酸、2-苯甲基-环己基二亚乙基三胺五乙酸、2-苯甲基-6-甲基-DTPA 和 6,6''-双[N,N'',N''-四(羧甲基)氨基甲基]-4'-(3-氨基-4-甲氧基苯基)-2,2':6',2''-三联吡啶。

[0151] 在一种实施方式中, 细菌靶向剂缀合于超顺磁性金属氧化物纳米粒子, 所述纳米粒子是 (a) 非荧光的或 (b) 荧光的, 并且可用于各种体外和体内应用。还具有磁性质的荧光金属氧化物纳米粒子可用于 MRI, 因此提供了多模态成像剂。

[0152] 在某些实施方式中, 成像剂可以包括具有一个或多个下述特点的荧光和/或非荧光超顺磁性金属氧化物纳米粒子: (1) 适合于结合多个试剂的聚合物涂层, (2) 适合于每个粒子结合约 10 至约 300 个试剂的非交联聚合物涂层, 以及 (3) 适合于试剂的高效化学连接并保留它们的生物性质以产生分子成像剂的聚合物涂层。试剂修饰的金属氧化物纳米粒子在化学连接试剂之前和之后两种情况下, 在体外可以是高度稳定的分子成像剂, 但是在体内仍然不稳定和/或可降解。

[0153] 细菌靶向剂缀合的金属氧化物纳米粒子可以配制成适合于给药到受试者例如动物和/或人类受试者的药物组合物。

[0154] (iii) 超声报告物

[0155] 为了进行超声成像, 成像报告物可以包括充气的泡例如 Levovist、Albunex 或 Echovist 或粒子或金属螯合剂, 其中金属离子具有 21-29、42、44 或 57-83 的原子序数。这样的化合物的实例描述在 Tyler 等, Ultrasonic Imaging, 3, pp. 323-29 (1981) 和 D. P. Swanson, “用于超声的增强剂: 基础” (Enhancement Agents for Ultrasound: Fundamentals), Pharmaceuticals in Medical Imaging, pp. 682-87 (1990) 中。

[0156] (iv) X-射线报告物

[0157] 示范性报告物可以包含碘化有机分子或原子序数为 57 至 83 的重金属离子的螯合剂。这样的化合物的实例描述在 M. Sovak 主编的《放射性造影剂》(Radiocontrast Agents), Springer-Verlag, pp. 23-125 (1984) 和美国专利 No. 4, 647, 447 中。

[0158] C. 连接物

[0159] 连接物或间隔物组成部分 (L) 可用于将一种或多种化学修饰剂 (M) 化学连接到荧光团, 和/或将细菌靶向组成部分连接到 Q, 或者如果 Q 不存在, 直接连接到本发明试剂的荧光团。有用的连接物组成部分包括天然和非天然两类氨基酸和核酸、肽, 例如甘氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸或氨基己酸, 以及合成的连接物分子例如氨基乙基马来酰亚胺或氨基苯甲酸, 或聚合物例如同型或异性双功能聚乙二醇 (PEG)。当连接物是肽时, 所述肽可以任选地包括蛋白水解切割位点, 其可以用各种试剂例如酶来切割。

[0160] 应该理解, 对给定连接物没有特别的结构、尺寸或内含物的限制。连接物可以包括例如各种官能团例如马来酰亚胺、二硫代吡啶基、硫醇、叠氮化物、烯炔或炔, 其允许分子集体具有多样化结构。

[0161] 连接物可以是同型功能连接物或异性功能连接物。例如,胺(NH<sub>2</sub>)功能化组成部分可以与被设计与氨基反应的双功能交联剂反应。可以促进连接物形成或促进例如荧光团与可酶切割的寡肽之间的共价连接的特别有用的偶联试剂,可以包括N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯和/或马来酰亚胺。NHS酯可以与例如肽或荧光团的胺基反应。马来酰亚胺可以与另一个分子的巯基反应。其他特别有用的连接物组成部分是双功能交联剂例如N-琥珀酰亚胺基3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)、长链SPDP、马来酰亚胺基苯甲酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、琥珀酰亚胺基反式-4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)、琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)。

[0162] 在某些实施方式中,连接物如果存在,可以是二胺的衍生物。二胺组成部分或衍生物,可以通过任选地用羧酸衍生,为化学连接的分子提供不同长度和化学性质的连接物臂。二胺的非限制性实例包括乙二胺(EDA)、丙二胺、亚精胺、精胺、己二胺和二胺-氨基酸例如高赖氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸和二氨基丙酸。在其他实施方式中,成像剂组成部分可以化学连接到二羧酸,例如琥珀酸、戊二酸、辛二酸或己二酸。在一种实施方式中,连接物是氨基乙基马来酰亚胺。

[0163] 在某些实施方式中,连接物可以分支,例如谷氨酸或5-(氨基甲基)间苯二酸,或者是树枝状聚合物,例如赖氨酸或谷氨酸树枝状聚合物,具有连接到荧光团上的单一位点的多个M基团。

[0164] 在某些实施方式中,L是功能化的取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基。在其他实施方式中,L是功能化的取代或未取代的芳香族或杂芳族环。在其他实施方式中,L不存在。

[0165] 在某些实施方式中,连接物可以从叠氮化物组成部分形成,所述叠氮化物组成部分可以在叠氮化物-乙炔偶极(Huisgen)[3+2]环加成反应中与取代的炔反应。在某些实施方式中,叠氮化物或炔连接物可以将聚乙二醇(PEG)组成部分连接到例如可酶切割的寡肽。其他设想的连接物包括炔丙基甘氨酸、戊酰基、戊炔酸、丙炔酸和/或炔丙胺组成部分。

[0166] 在某些实施方式中,使用与氨基功能化的细菌靶向组成部分的胺基反应的反应性NHS酯基团,将成像报告物直接化学连接到细菌靶向组成部分。在某些其他实施方式中,可以通过本领域已知的活化剂例如2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸盐(HBTU)、1-乙基-3-(3'-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐(EDC)、N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)、N,N'-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(DSC),将IR上的羧酸基团在原位活化。在其他实施方式中,可以通过具有能够与巯基(硫醇)基团反应的第二组成部分的双功能交联剂,将含有巯基或硫醇基的IR化学连接到细菌靶向组成部分。这样的交联剂包括例如并且如上所述的SPDP、长链SPDP、SIA、MBS、SMCC和本领域中公知的其他交联剂。

[0167] 有用的连接物组成部分包括天然和非天然两类氨基酸、寡肽例如直链或环状寡肽以及核酸。连接物可以是肽或肽组成部分。连接物可以任选地包括蛋白水解或非蛋白水解切割位点,例如可以由pH变化在所需位点处切开的酯键。

[0168] 当在本文中使用时,术语“氨基酸”被理解是指含有碱性氨基和酸性羧基两者的有机化合物。在该术语中包括天然氨基酸(例如L-氨基酸),修饰和不常见氨基酸(例如D-氨基酸),以及已知以游离或结合形式在生物中存在但是通常不存在于蛋白质中的氨基酸。天然氨基酸包括但不限于丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨

酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、酪氨酸、色氨酸、脯氨酸和缬氨酸。其他氨基酸包括但不限于精氨酸琥珀酸、瓜氨酸、半胱亚磺酸、3,4-二羟基苯丙氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸、肉毒碱、硒代半胱氨酸、硒代蛋氨酸、3-单碘代酪氨酸、3,5-二碘代酪氨酸、3,5,5'-三碘代甲腺原氨酸和3,3',5,5'-四碘代甲腺原氨酸。

[0169] 可用于实践本发明的修饰或不常见氨基酸包括但不限于D-氨基酸、羟基赖氨酸、脱氧丙氨酸、吡咯赖氨酸、2-氨基异丁酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、5-羟基色氨酸、S-腺苷甲硫氨酸、S-腺苷高半胱氨酸、4-羟基脯氨酸、N-Cbz-保护的氨基酸、2,4-二氨基丁酸、高精氨酸、正亮氨酸、N-甲基氨基丁酸、萘基丙氨酸、苯甘氨酸、 $\beta$ -苯基脯氨酸、叔亮氨酸、4-氨基环己基丙氨酸、N-甲基-正亮氨酸、3,4-脱氧脯氨酸、N,N-二甲基氨基甘氨酸、N-甲基氨基甘氨酸、4-氨基哌啶-4-羧酸、6-氨基己酸、反式4-(氨基甲基)-环己烷羧酸、2-,3-和4-(氨基甲基)-苯甲酸、1-氨基环戊烷羧酸、1-氨基环丙烷羧酸和2-苯甲基-5-氨基戊酸。

[0170] 当在本文中使用时,“伪肽”或“肽模拟物”是例如通过使用除酰胺键之外的连接基团(伪肽键)和/或通过使用非氨基酸替代物和/或修饰的氨基酸残基来模拟氨基酸残基或肽的结构化合物。“伪肽残基”是指伪肽或肽模拟物的存在于肽中的部分。术语“伪肽键”包括可用于代替正常酰胺键或作为其替代物的肽键等排物。这些替代物或酰胺“等同”连键由通常不存在于肽或蛋白中的模拟酰胺键的空间要求并且使分子对酶降解稳定的原子组合而形成。在本文中使用时下列常规三字母氨基酸缩写:Ala = 丙氨酸, Aca = 氨基己酸, Ahx = 6-氨基己酸, Arg = 精氨酸, Asn = 天冬酰胺, Asp = 天冬氨酸, Cha = 环己基丙氨酸, Cit = 瓜氨酸, Cys = 半胱氨酸, Dap = 二氨基丙酸, Gln = 谷氨酰胺, Glu = 谷氨酸, Gly = 甘氨酸, His = 组氨酸, ile = 异亮氨酸, Leu = 亮氨酸, Lys = 赖氨酸, Met = 蛋氨酸, Nal = 萘基丙氨酸, Nle = 正亮氨酸, Orn = 鸟氨酸, Phe = 苯丙氨酸, Phg = 苯甘氨酸, Pro = 脯氨酸, Sar = 肌氨酸, Ser = 丝氨酸, Thi = 噻吩丙氨酸, Thr = 苏氨酸, Trp = 色氨酸, Tyr = 酪氨酸, Val = 缬氨酸。前缀D-的使用表示所述氨基酸的D-异构体,例如D-赖氨酸表示为D-Lys。

[0171] 肽可以使用溶液相化学或固相化学或两者的组合来合成(Albericio, Curr. Opin. Cell Biol., 8, 211-221(2004); M. Bodansky, 《肽化学:实用教材》(Peptide Chemistry: A Practical Textbook), Springer-Verlag; N. L. Benoiton, 《肽合成化学》(Chemistry of Peptide Synthesis), 2005, CRC Press)。

[0172] 为了制备本发明的试剂,可能需要选择性或正交的胺保护基团。当在本文中使用时,术语“胺保护基团”是指有机合成领域中已知的用于保护胺基的任何基团。这样的胺保护基团包括在Greene, 《有机合成中的保护基团》(Protective Groups in Organic Synthesis), John Wiley & Sons, New York(1981)和《肽:分析、合成、生物学》(The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology), Vol. 3, Academic Press, New York(1981)中列出的那些。可以使用本领域中已知的任何胺保护基团。胺保护基团的实例包括但不限于下列:1) 酰基类型,例如甲酰基、三氟乙酰基、邻苯二甲酰基和对甲苯磺酰基;2) 芳香族氨基甲酸酯类型,例如苯甲氧基羰基(Cbz或Z)和取代的苯甲氧基羰基、1-(对联苯基)-1-甲基乙氧基羰基和9-苄基甲氧基羰基(Fmoc);3) 脂族氨基甲酸酯类型,例如叔丁氧基羰基(Boc)、乙氧基羰基、二异丙基甲氧基羰基和烯丙氧基羰基;4) 环烷基氨基甲酸酯类型,例如环戊氧

基羰基和金刚烷氧基羰基;5) 烷基类型,例如三苯基甲基和苯甲基;6) 三烷基硅烷,例如三甲基硅烷;以及7) 含硫醇类型,例如苯基硫羰基和二硫琥珀酰基。在术语“胺保护基团”中还包括酰基例如叠氨基苯甲酰基、对苯甲酰基苯甲酰基、邻苯甲基苯甲酰基、对乙酰基苯甲酰基、丹酰基、甘氨酸基-对苯甲酰基苯甲酰基、苯基苯甲酰基、间苯甲酰基苯甲酰基、苯甲酰基苯甲酰基。

[0173] 在某些实施方式中,可酶切割的寡肽可以包括寡聚-L-精氨酸、寡聚-L-赖氨酸、寡聚-L-天冬氨酸或寡聚-L-谷氨酸。

[0174] 可酶切割的寡肽可以被选自下列的至少一种酶切割:水解酶,弹性蛋白酶,组织蛋白酶,基质金属蛋白酶,肽酶,外肽酶,内肽酶,羧肽酶,糖苷酶,脂肪酶,核酸酶,裂解酶,淀粉酶,磷脂酶,磷酸酶,磷酸二酯酶,硫酸酯酶,丝氨酸蛋白酶,枯草杆菌蛋白酶,胰凝乳蛋白酶,胰蛋白酶,苏氨酸蛋白酶,半胱氨酸蛋白酶,钙蛋白酶,木瓜蛋白酶,半胱天冬酶,天冬氨酸蛋白酶,胃蛋白酶,凝乳酶,谷氨酸蛋白酶,肾素,还原酶,以及寄生虫、病毒和细菌的酶。

[0175] D. 化学修饰剂

[0176] 取决于目标应用,细菌靶向剂可以包含一种或多种化学修饰剂(M),其可以改变细菌靶向剂的物理、化学或生物性质。具体来说,可以将多个M化学连接到试剂的荧光团组成部分。M在每次出现时可以是相同的,或者可以是不同的。例如,M可能使细菌靶向剂对于生物成像来说更加有用,也就是说例如与未取代或取代较少的荧光团组成部分相比,更易溶于水或者在用于给药的介质中更易分散,具有增加的结合特异性或更少的免疫原性或更少毒性,或具有减少的非特异性结合、改变的生物学分布和药物动力学。

[0177] 例如,甲氧基聚乙二醇(mPEG)或多肽或多个阴离子性M的合并,可以起到调整细菌靶向剂在体内的药物动力学和血液清除率的作用。其他M可以被选择成加速细菌靶向剂从背景组织例如肌肉或肝脏和/或从血液的清除,从而降低背景干扰并提高图像质量。此外,M可用于促成特定排泄路线,例如通过肾脏而不是通过肝脏。M也可以协助将探针配制在药物组合物中,或者可用于改变或保留细菌靶向剂的信号报告性质。具体来说,聚乙二醇(PEG)或其衍生物与细菌靶向剂的化学连接可以引起更长的血液停留时间(更长的循环)和降低免疫原性。

[0178] 示例性的修饰剂包括聚乙二醇(PEG)及其衍生物(例如烷氧基聚乙二醇(例如甲氧基聚乙二醇、乙氧基聚乙二醇等))、支链聚丙二醇、聚丙二醇、聚赖氨酸与甲氧基聚乙二醇的接枝共聚物、氨基酸、肽、脂类、脂肪酸、棕榈酸盐、磷脂、磷脂-PEG缀合物、糖类(例如葡聚糖、氨基葡聚糖、羧甲基葡聚糖)、氧化铁纳米粒子、磺酸盐、聚磺酸盐、磺基丙氨酸、萘基丙氨酸、苯基丙氨酸和3,3-二苯基丙胺牛磺酸、膦酸盐、磷酸盐、羧酸盐和聚羧酸盐。

[0179] 在某些实施方式中,化学修饰剂M是选自由羧酸盐、膦酸盐、磷酸盐、亚氨基二乙酸盐、磺基丙氨酸或牛磺酸所组成的组的阴离子性组成部分。

[0180] 在某些实施方式中,化学修饰剂M是磺酸盐或聚磺酸盐。

[0181] 在某些实施方式中,化学修饰剂M是氢、醇、磺酰胺、亚砷、砷、酮、氨基酸例如谷氨酸或牛磺酸、聚氨基酸例如聚磺基丙氨酸、低聚或聚乙二醇、胺、季铵离子或糖类例如葡萄糖胺、半乳糖胺或甘露糖胺。

[0182] 在某些实施方式中,化学修饰剂M是金属螯合剂例如乙二胺四乙酸(EDTA)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)或四氮杂环十二烷四乙酸(DOTA)。在本发明的另一方面,一个或多

个金属螯合性 M 基团配位于金属离子。

[0183] 在某些实施方式中,正如上面讨论的,生物修饰剂可以是分子量例如约 0.1kDa 至约 50kDa、约 5kDa 至约 35kDa 或约 10kDa 至约 30kDa 的 PEG 组成部分。或者,PEG 可以是 dPEG,其以例如约 1100 道尔顿的离散分子量被功能化。

[0184] 在某些实施方式中,PEG 是甲氧基 PEG(5000)-琥珀酰亚胺基丙酸酯 (mPEG-SPA)、甲氧基 PEG(5000)-琥珀酰亚胺基琥珀酸酯 (mPEG-SS)。这样的 PEGs 可以从 Nektar Therapeutics 或 SunBiowest 或 LaysanBio 或 NOF 商购。

[0185] PEG 组成部分可以通过羧基官能团缀合到细菌靶向剂上的反应性胺。或者,可以使用硫醇反应性交联剂,然后与 PEG 上的硫醇基团反应,将 PEG 修饰剂缀合到细菌靶向剂。

[0186] 在一种实施方式中,PEG 可以是分支的或 Y 形的,正如可以从 JenKem USA 或 NOF 获得的,或者是梳形的,或者通过将两个或更多 PEGs 偶联到小分子例如谷氨酸来合成。

[0187] 在其他实施方式中,生物修饰剂可以是聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 类型的聚合物。生物修饰剂可以是功能化的聚乙烯吡咯烷酮,例如在聚合物的一个(或两个)末端上(正如可以从 Polymersource 获得的)或在聚合物链内被功能化的羧基或胺。

[0188] 或者,生物修饰剂可以包括聚 N-(2-羟基丙基)甲基丙烯酰胺 (HPMA) 或功能化的 HPMA(胺、羧基等)、聚(N-异丙基丙烯酰胺)或功能化的聚(N-异丙基丙烯酰胺)。

[0189] 生物修饰剂可以包括:直链或支链酰基,例如戊酰基;酸性基团,例如琥珀酰基;低级烷基,例如甲基、乙基、丙基等;羧基烷基,例如羧乙基;卤代烷基,例如三氟甲基等。

[0190] 一般来说,M 的化学连接对细菌靶向剂的亲和性和/或结合性质没有不利影响。

[0191] E. 第一类示例性细菌靶向剂

[0192] 上面描述的细菌靶向组成部分、成像报告物、连接物和任选的化学修饰的组成部分可以以不同的排列方式组合,以获得各种细菌靶向剂。示例性的细菌靶向剂如下所述。

[0193] 本发明的一个方面提供了一种细菌靶向剂,其包含化学连接到荧光团的至少一个细菌靶向组成部分,其中多个化学修饰组成部分(M)化学连接到荧光团。任选地,可以使用一个或多个连接物(L)组成部分将细菌靶向组成部分化学连接到荧光团或将 M 化学连接到荧光团。

[0194] 在某些实施方式中,细菌靶向剂将对带负电荷的细胞表面例如细菌和凋亡细胞表面、包括细菌细胞膜具有亲和性。在其他实施方式中,对细菌和凋亡细胞表面的亲和性高于对健康哺乳动物细胞表面的亲和性。正如本文中定义的,“细菌靶向组成部分”是与带负电荷的细菌细胞表面特异性结合的分子。细菌靶向组成部分与带负电荷的细胞表面之间的结合可以是共价或非共价的(例如静电相互作用、疏水相互作用、范德华相互作用、氢键结合、偶极相互作用等)。细菌靶向组成部分与带负电荷的细胞表面之间的结合优选地是非共价的。

[0195] “荧光团”(F) 可以是用于在成像中提供荧光信号或对比、并且可以通过成像技术检测的任何适合的化学品或物质。在某些实施方式中,F 包含例如花青染料、羰花青染料、靛青染料或聚甲炔荧光染料。在某些实施方式中,F 包含对称的花青染料。在其他实施方式中,F 包含不对称的花青染料。在其他实施方式中,F 也可以用多种化学修饰基团修饰,以使试剂的体外和体内性质优化,并最终优化试剂作为荧光成像剂的性能。

[0196] 细菌靶向剂可以对细菌例如革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌的细胞表面具有亲和

性。一种实施方式中,细菌靶向剂还对带负电荷的凋亡细胞具有亲和性。在某些实施方式中,细菌靶向剂结合于在感染和凋亡期间上调的带负电荷的细胞。

[0197] 本发明的另一方面提供了细菌靶向剂,其包含:

[0198] (i) 细菌靶向组成部分,其包含任选地被脂族、芳香族或杂芳族组成部分取代的带正电荷的组成部分;以及

[0199] (ii) 成像报告物,其任选地通过连接物(L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分;以及荧光报告物,其任选地通过连接物(L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分,其中荧光组成部分带有多个化学修饰基团。

[0200] 术语“化学连接”被理解为是指通过原子之间的吸引力连接,所述吸引力强得足以允许合并的聚集体作为一个单位起作用。这包括但不限于化学键例如共价键、非共价键例如离子键、金属键和桥键、疏水相互作用、氢键和范德华相互作用。

[0201] 本发明的另一方面提供了一种细菌靶向剂,其包含:

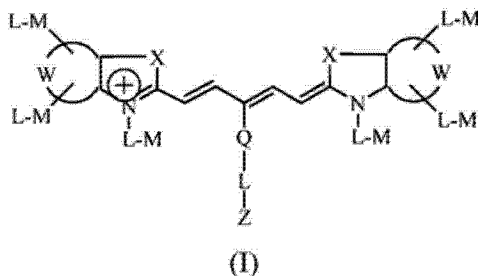
[0202] (i) 细菌靶向组成部分,其包含任选地被脂族、芳香族或杂芳族组成部分取代的带正电荷的 1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(DABCO) 组成部分;以及

[0203] (ii) 成像报告物,其任选地通过连接物(L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分;以及荧光报告物,其任选地通过连接物(L) 组成部分化学连接到所述细菌靶向组成部分,其中荧光组成部分带有多个化学修饰基团。

[0204] F. 第二类示例性细菌靶向剂

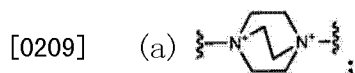
[0205] 本发明的另一方面提供了一种细菌靶向剂,其是式(I) 的化合物或其盐:

[0206]



[0207] 其中:

[0208] Z 是细菌靶向组成部分,包含:



[0210] (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分,其每个任选地被取代;以及

[0211] (c) 如果需要的话,一个或多个阴离子,以获得电荷中性的化合物;

[0212] L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分;


[0213] Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、 $C_1$ - $C_{18}$  烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基所组成的组,或者不存在;

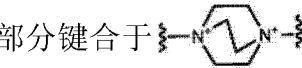
[0214] W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环;

[0215] X 在每次出现时独立地是选自由  $C(CH_2Y_1)$  ( $CH_2Y_2$ )、O、S 和 Se 所组成的组;

[0216]  $Y_1$  和  $Y_2$  独立地是选自由 H 和任选地被 L-M 取代的  $C_1$ - $C_{20}$  脂族基团所组成的组;并且

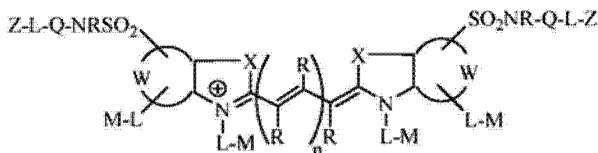
[0217] M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰组成部分。

[0218] 在某些实施方式中, Z 是键合于各自任选地被取代的脂族、芳香族或杂芳族组成部分的 ; 以及如果需要的话, 一个或多个阴离子, 以获得电荷中性的化合物。所述

脂族, 芳香族或杂芳族组成部分键合于  中的一个氮原子。在某些实施方式中, L 是连键并且 M 是氢。

[0219] 本发明的另一方面提供了一种细菌靶向剂, 其是式 (II) 的化合物或其盐:


[0220]



(II)

[0221] 其中:

[0222] Z 在每次出现时独立地表示细菌靶向组成部分, 包含:

[0223] (a) ;

[0224] (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分, 其每个任选地被取代; 以及

[0225] (c) 如果需要的话, 一个或多个阴离子, 以获得电荷中性的化合物;

[0226] L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分;

[0227] Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基所组成的组, 或者不存在;

[0228] R 在每次出现时独立地表示氢、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基, 其每个任选地被 L-M 取代;


[0229] n 是 1、2 或 3;


[0230] W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环;

[0231] X 在每次出现时独立地是选自由 C(CH<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>)(CH<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>)、O、S 和 Se 所组成的组;

[0232] Y<sub>1</sub> 和 Y<sub>2</sub> 独立地是氢或烷基; 并且

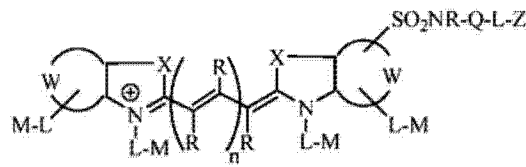
[0233] M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰组成部分。

[0234] 在某些实施方式中, 化学片段“SO<sub>2</sub>NR-Q-L-Z”是 -S(O)<sub>2</sub>N(烷基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(H)-亚烷基-C(O)N(H)-亚芳基-亚烷基-(含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)。在某些实施方式中, 所述化合物在需要时含有一个或多个阴离子(例如烷基-CO<sub>2</sub><sup>-</sup>阴离子), 以获得电荷中性的化合物。在某些实施方式中, R 是氢或甲基。在某些实施方式中, X 是 C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。在某些实施方式中, Z 是键合于各自任选地被取代的脂族、芳香族或杂芳族组成部分的 ; 以及如果需要的话, 一个或多个阴离子, 以获得电荷中性的化合物。所

述脂族, 芳香族或杂芳族组成部分键合于  中的一个氮原子。在某些实施方式中, L 是连键并且 M 是氢。

[0235] 本发明的另一方面提供了一种细菌靶向剂,其是式 (III) 的化合物或其盐:

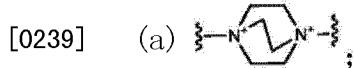
[0236]



(III)

[0237] 其中:

[0238] Z 是细菌靶向组成部分,包含:



[0240] (b) 脂族、芳香族或杂芳族组成部分,其每个任选地被取代;以及

[0241] (c) 如果需要的话,一个或多个阴离子,以获得电荷中性的化合物;

[0242] L 在每次出现时独立地是连键或连接物组成部分;

[0243] Q 是选自由取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基所组成的组,或者不存在;

[0244] R 在每次出现时独立地表示氢、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> 烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基,其每个任选地被 L-M 取代;

[0245] n 是 1、2 或 3;

[0246] W 表示苯并稠合的、萘并稠合的或吡啶并稠合的环;

[0247] X 在每次出现时独立地选自由 C(CH<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>)(CH<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>)、O、S 和 Se 所组成的组;

[0248] Y<sub>1</sub> 和 Y<sub>2</sub> 独立地是氢或烷基;并且

[0249] M 在每次出现时独立地是氢或化学修饰的组成部分。

[0250] 在某些实施方式中,化学片段“SO<sub>2</sub>NR-Q-L-Z”是 -S(O)<sub>2</sub>N(烷基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基)-C(O)N(H)-亚烷基-C(O)N(H)-亚芳基-亚烷基-(含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)。在某些实施方式中,所述化合物在需要时含有一个或多个阴离子(例如烷基-CO<sub>2</sub><sup>-</sup> 阴离子),以获得电荷中性的化合物。在某些实施方式中,Z 是键合于各自任选地被取代的脂族、芳香族或杂芳族组成部分的 以及如果需要的话,一个或多个阴

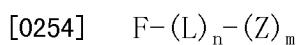
离子,以获得电荷中性的化合物。所述脂族、芳香族或杂芳族组成部分键合于 中

的一个氮原子。在某些实施方式中,L 是连键并且 M 是氢。

[0251] 在某些实施方式中,R 是氢或甲基。在某些实施方式中,X 是 C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0252] 在某些实施方式中,所述试剂在远红或近红外波长中发荧光。

[0253] 本发明的另一方面提供了一种细菌靶向剂,其是式 (IV) 的化合物或其盐:



[0255] (IV)

[0256] 其中:

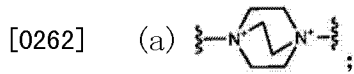
[0257] n = 1-8

[0258]  $m = 1, 2, 3$  或  $4$

[0259] F 是远红或近红外荧光染料；

[0260] L 是任选的连接物；并且

[0261] Z 在每次出现时独立地表示细菌靶向组成部分，包含：



[0263] (b) 脂族、芳香族、杂芳族或 PEG 组成部分，其每个任选地被取代；以及

[0264] (c) 如果需要的话，一个或多个阴离子，以获得电荷中性的化合物。

[0265] 在某些实施方式中，化学修饰组成部分 (M) 选自氢、醇、磺酸盐、聚磺酸盐、半胱氨酸、磺酰胺、亚砷、砷、羧酸盐、酮、膦酸盐、磷酸盐、亚氨基二乙酸盐、乙二胺四乙酸、二乙三胺五乙酸、四氮杂环十二烷四乙酸、氨基酸或聚氨基酸、寡聚或多聚乙二醇、胺、季铵离子、糖、葡萄糖胺、半乳糖胺、甘露糖胺、聚乙二醇 (PEG) 及其衍生物例如烷氧基聚乙二醇 (例如甲氧基聚乙二醇、乙氧基聚乙二醇等)、支链聚丙二醇、聚丙二醇、聚赖氨酸和甲氧基聚乙二醇的接枝共聚物、肽类、脂类、脂肪酸、棕榈酸盐、磷脂类、磷脂-PEG 缀合物、糖类 (例如葡聚糖、氨基葡聚糖、羧甲基葡聚糖)、氧化铁纳米粒子、萘基丙氨酸、苯丙氨酸、3, 3-二苯基丙胺、牛磺酸、膦酸盐、磷酸盐、羧酸盐和聚羧酸盐。

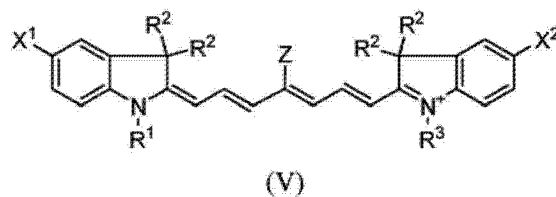
[0266] 在其他实施方式中，化学修饰剂 M 降低所述试剂的非特异性细胞膜渗透性。在其他实施方式中，化学修饰剂 M 减少所述试剂在给药于活的动物时的非特异性组织积累。

[0267] 在某些实施方式中，所述连键或连接物组成部分 (L) 包含选自下列的组成部分的二价自由基：甘氨酸，丙氨酸， $\beta$ -丙氨酸， $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-$ ，其中  $n = 1-8$ ，4-氨基甲基苯甲酸，半胱氨酸，谷氨酸，氨基-聚乙二醇-羧酸，氨基-聚乙二醇胺，乙二胺，丙二胺，亚精胺，精胺，己二胺，和二胺-氨基酸例如高赖氨酸、赖氨酸、鸟氨酸，二氨基丁酸和二氨基丙酸，琥珀酸，戊二酸，辛二酸，己二酸，酰胺，三唑，脲或硫脲。

[0268] G. 第三类示例性细菌靶向剂

[0269] 本发明的一个方面提供了一种由式 V 表示的化合物或其盐：

[0270]

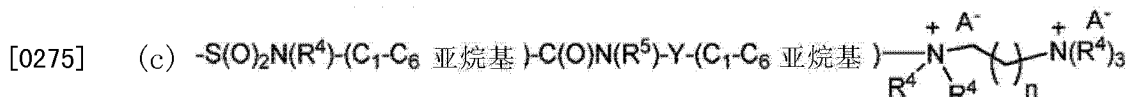


[0271] 其中：

[0272]  $X^1$  和  $X^2$  各自独立地表示氢或下列基团之一，前提是  $X^1$  和  $X^2$  不都是氢：

[0273] (a)  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-$  (含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)-A

[0274] (b)  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)- $(\text{A})_2$ ；或者



[0276] n 是 1、2、3 或 4；

[0277] A 是单价阴离子或不存在；

[0278] Y 是下列之一：

[0279] (a)  $\psi$ -亚烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚芳基-亚烷基-；或

[0280] (b)  $\psi$ -亚杂烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚烷基  $-C(O)N(R^5)$ -亚芳基-亚烷基-；

[0281]  $\psi$  是连接到酰胺氮原子的键；

[0282] Z 是氢或  $-S-$  烷基；

[0283]  $R^1$  和  $R^3$  各自独立地表示烷基或亚烷基  $-SO_3 M^+$ ；

[0284]  $R^2$  和  $R^4$  在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基；

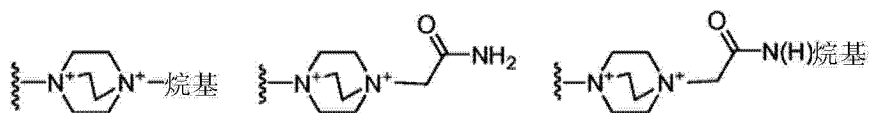
[0285]  $R^5$  在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基；并且

[0286] M 是单价阳离子或不存在。

[0287] 在某些实施方式中， $X^1$  是氢。在某些实施方式中， $X^2$  是  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6$  亚烷基  $)-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$ 。在某些实施方式中， $X^1$  和  $X^2$  是  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6$  亚烷基  $)-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$ 。

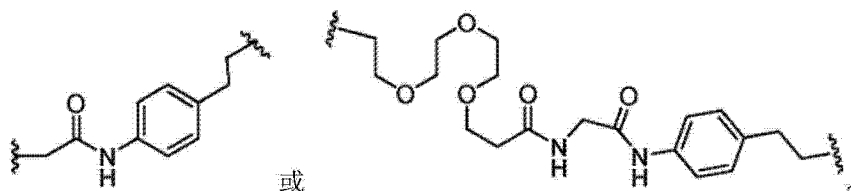
[0288] 在某些实施方式中，所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是含有两个四价环氮原子的 5-6 元饱和和杂环，其中所述环被 1、2 或 3 个独立地选自烷基、亚烷基  $-C(O)NH_2$  和亚烷基  $-C(O)N(H)-$  烷基的取代基取代。在某些实施方式中，所述含有一个四价环氮原子的取代的杂环基是含有一个四价环氮原子的 5-6 元芳香族杂环，其中所述环被 1、2 或 3 个独立地选自烷基、亚烷基  $-C(O)NH_2$  和亚烷基  $-C(O)N(H)-$  烷基的取代基取代。在某些实施方式中，所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一：

[0289]



[0290] 在某些实施方式中，Y 是下列之一：(a)  $\psi-CH_2-C(O)N(H)-$  苯基  $-(C_1-C_4)$  亚烷基-；或 (b)  $\psi-(CH_2CH_2-O)_{2-4}-CH_2CH_2-C(O)N(H)-$   $(C_1-C_2)$  亚烷基  $-C(O)N(H)-$  苯基  $-(C_1-C_4)$  亚烷基。在某些实施方式中，Y 是下列之一：

[0291]

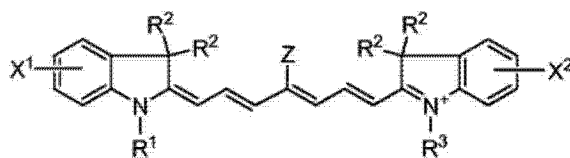


[0292] 在某些实施方式中， $R^1$  是亚烷基  $-SO_3 M^+$ 。在某些实施方式中， $R^3$  是烷基。在某些实施方式中， $R^1$  和  $R^3$  是亚烷基  $-SO_3 M^+$ 。在某些实施方式中， $R^1$  和  $R^3$  是  $-(CH_2)_3-SO_3 M^+$ 。在某些实施方式中， $R^2$  是甲基。在某些实施方式中， $R^4$  是甲基。在某些实施方式中，Z 是氢。在某些实施方式中，M 不存在。

[0293] 在某些实施方式中，A 是烷基  $-CO_2^-$ 。在某些其他实施方式中，A 是卤素、卤代烷基  $-CO_2^-$ 、烷基  $-SO_3^-$  或芳基  $-SO_3^-$ 。

[0294] 本发明的另一方面提供了由式 V-I 表示的化合物或其盐：

[0295]



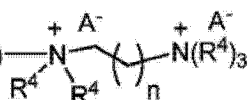
(V-I)

[0296] 其中：

[0297]  $X^1$  和  $X^2$  各自独立地表示氢或下列基团之一，前提是  $X^1$  和  $X^2$  不都是氢：

[0298] (a)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-A$

[0299] (b)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$ ；或者

[0300] (c)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-$  

[0301]  $n$  在每次出现时独立地表示 1、2、3 或 4；

[0302]  $A$  是单价阴离子或不存在；

[0303]  $Y$  是下列之一：

[0304] (a)  $\psi$ -亚烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚芳基-亚烷基-；或

[0305] (b)  $\psi$ -亚杂烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚芳基-亚烷基-；

[0306]  $\psi$  是连接到酰胺氮原子的键；

[0307]  $Z$  是氢或  $-S-$  烷基；

[0308]  $R^1$  和  $R^3$  各自独立地表示烷基或亚烷基  $-SO_3 M^+$ ；

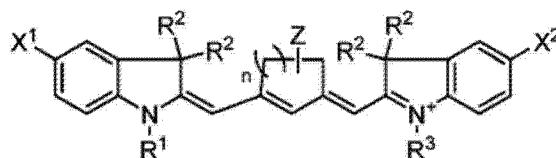
[0309]  $R^2$  和  $R^4$  在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基；

[0310]  $R^5$  在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基；并且

[0311]  $M$  是单价阳离子或不存在。

[0312] 本发明的另一方面提供了由式 VI 表示的化合物或其盐：

[0313]



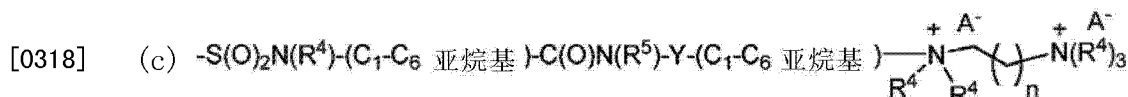
(VI)

[0314] 其中：

[0315]  $X^1$  和  $X^2$  各自独立地表示氢或下列基团之一，前提是  $X^1$  和  $X^2$  不都是氢：

[0316] (a)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-A$

[0317] (b)  $-S(O)_2N(R^4)-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$ ；或者



[0319] n 在每次出现时独立地表示 1、2、3 或 4；

[0320] A 是单价阴离子或不存在；

[0321] Y 是下列之一：

[0322] (a)  $\psi$ -亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-；或

[0323] (b)  $\psi$ -亚杂烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚烷基-C(O)N(R<sup>5</sup>)-亚芳基-亚烷基-；

[0324]  $\psi$  是连接到酰胺氮原子的键；

[0325] Z 是氢或烷基；

[0326] R<sup>1</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自独立地表示烷基或亚烷基-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>；

[0327] R<sup>2</sup> 和 R<sup>4</sup> 在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基；

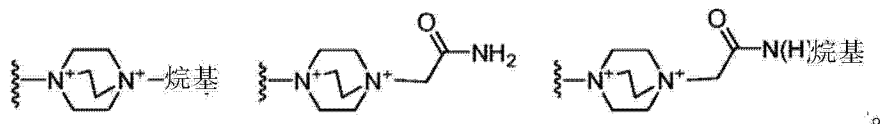
[0328] R<sup>5</sup> 在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基；并且

[0329] M 是单价阳离子或不存在。

[0330] 在某些实施方式中，X<sup>1</sup> 是  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-$ （含有两个四价环氮原子的取代的杂环基）-(A)<sub>2</sub>。

[0331] 在某些实施方式中，所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是含有两个四价环氮原子的 5-6 元饱和杂环，其中所述环被 1、2 或 3 个独立地选自烷基、亚烷基-C(O)NH<sub>2</sub> 和亚烷基-C(O)N(H)-烷基的取代基取代。在某些实施方式中，含有一个四价环氮原子的取代的杂环基是含有一个四价环氮原子的 5-6 元芳香族杂环，其中所述环被 1、2 或 3 个独立地选自烷基、亚烷基-C(O)NH<sub>2</sub> 和亚烷基-C(O)N(H)-烷基的取代基取代。在某些实施方式中，所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一：

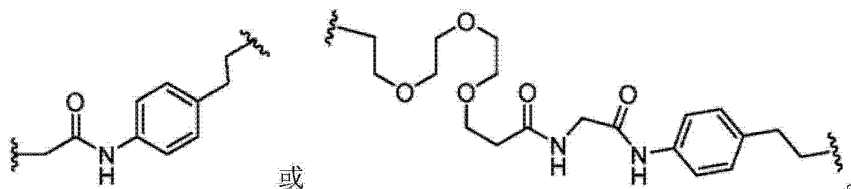
[0332]



[0333] 在某些实施方式中，其中 X<sup>2</sup> 是氢。

[0334] 在某些实施方式中，Y 是下列之一：(a)  $\psi$ -CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)亚烷基-；或 (b)  $\psi$ -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O)<sub>2-4</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)N(H)-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)亚烷基-C(O)N(H)-苯基-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)亚烷基。在某些实施方式中，Y 是下列之一：

[0335]



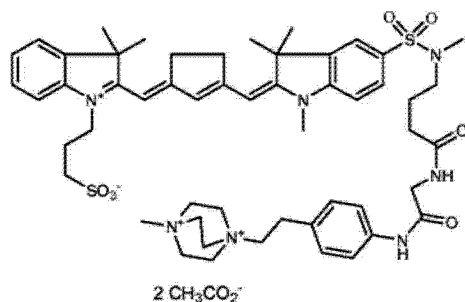
[0336] 在某些实施方式中，R<sup>1</sup> 是烷基。在某些实施方式中，R<sup>3</sup> 是亚烷基-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。在某些实施方式中，R<sup>3</sup> 是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。在某些实施方式中，R<sup>2</sup> 是甲基。在某些实施方式中，R<sup>4</sup> 是甲基。在某些实施方式中，Z 是氢。在某些实施方式中，M 不存在。

[0337] 在某些实施方式中，A 是烷基-CO<sub>2</sub><sup>-</sup>。在某些其他实施方式中，A 是卤素、卤代烷

基  $-\text{CO}_2^-$ 、烷基  $-\text{SO}_3^-$  或芳基  $-\text{SO}_3^-$ 。

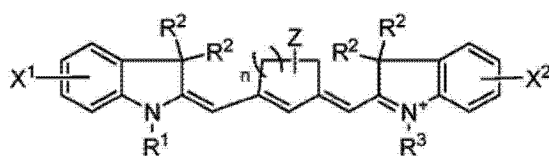
[0338] 在某些实施方式中,所述化合物是下列化合物或其盐:

[0339]



[0340] 本发明的另一方面提供了由式 VI-I 表示的化合物或其盐:

[0341]



(VI-I)

[0342] 其中:

[0343]  $X^1$  和  $X^2$  各自独立地表示氢或下列基团之一,前提是  $X^1$  和  $X^2$  不都是氢:

[0344] (a)  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-$ (含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)-A

[0345] (b)  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-$ (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)- $(\text{A})_2$ ;或者

[0346] (c)  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^4)-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-\text{Y}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ 亚烷基})-$  

[0347] n 在每次出现时独立地表示 1、2、3 或 4;

[0348] A 是单价阴离子或不存在;

[0349] Y 是下列之一:

[0350]  $\psi-$  亚烷基  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-$  亚芳基-亚烷基-;或

[0351]  $\psi-$  亚杂烷基  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-$  亚烷基  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^5)-$  亚芳基-亚烷基-;

[0352]  $\psi$  是连接到酰胺氮原子的键;

[0353] Z 是氢或烷基;

[0354]  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^3$  各自独立地表示烷基或亚烷基  $-\text{SO}_3\text{M}^+$ ;

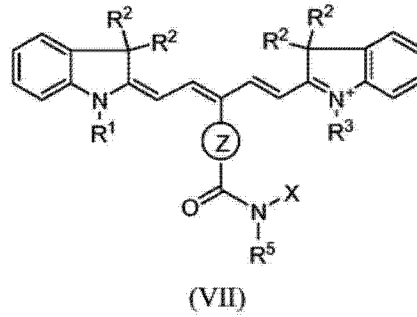
[0355]  $\text{R}^2$  和  $\text{R}^4$  在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基;

[0356]  $\text{R}^5$  在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基;并且

[0357] M 是单价阳离子或不存在。

[0358] 本发明的另一方面提供了由式 VII 表示的化合物或其盐:

[0359]



[0360] 其中：

[0361] X 是下列之一：

[0362] (a)  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有一个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-A$

[0363] (b)  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$  ; 或者

[0364] (c)  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-$  ;

[0365] n 是 1、2、3 或 4；

[0366] A 是单价阴离子或不存在；

[0367] Y 是下列之一：

[0368]  $\psi$  - 亚烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚芳基 - 亚烷基 - ; 或

[0369]  $\psi$  - 亚杂烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚烷基  $-C(O)N(R^5)-$  亚芳基 - 亚烷基 - ;

[0370]  $\psi$  是连接到酰胺氮原子的键；

[0371] Z 是亚芳基；

[0372]  $R^1$  和  $R^3$  各自独立地表示烷基或亚烷基  $-SO_3 M^+$ ；

[0373]  $R^2$  和  $R^4$  在每次出现时各自独立地表示甲基、乙基或丙基；

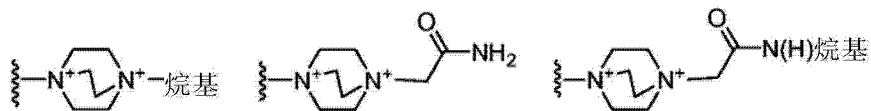
[0374]  $R^5$  在每次出现时独立地表示氢、甲基、乙基或丙基；并且

[0375] M 是单价阳离子或不存在。

[0376] 在某些实施方式中, X 是  $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-C(O)N(R^5)-Y-$  (含有两个四价环氮原子的取代的杂环基)  $-(A)_2$ 。

[0377] 在某些实施方式中, 所述含有两个四价环氮原子的取代的杂环基是下列之一：

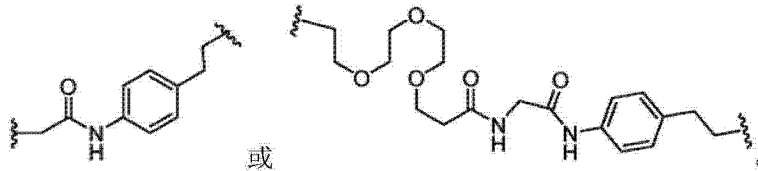
[0378]



[0379] 在某些实施方式中, Y 是  $\psi$  -  $CH_2-C(O)N(H)-$  苯基  $-(C_1-C_4 \text{ 亚烷基})-$ 。

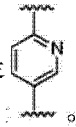
[0380] 在某些实施方式中, Y 是下列之一：

[0381]



或

[0382] 在某些实施方式中, Z 是

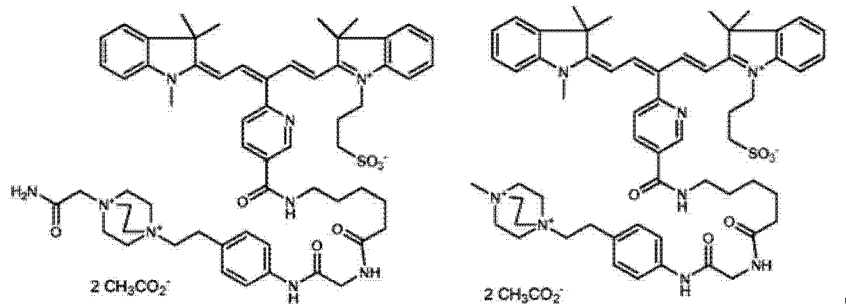


[0383] 在某些实施方式中, R<sup>1</sup> 是烷基。在某些实施方式中, R<sup>3</sup> 是亚烷基 -SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。在某些实施方式中, R<sup>3</sup> 是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-SO<sub>3</sub>M<sup>+</sup>。在某些实施方式中, R<sup>2</sup> 是甲基。在某些实施方式中, R<sup>4</sup> 是甲基。在某些实施方式中, M 不存在。

[0384] 在某些实施方式中, A 是烷基 -CO<sub>2</sub><sup>-</sup>。在某些其他实施方式中, A 是卤素、卤代烷基 -CO<sub>2</sub><sup>-</sup>、烷基 -SO<sub>3</sub><sup>-</sup> 或芳基 -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。

[0385] 在某些实施方式中, 所述化合物是下列之一或其盐:

[0386]



[0387] H. 具体的示例性细菌靶向剂

[0388] 有用的细菌靶向剂, 可以使用上文中描述的一种或多种细菌靶向组成部分、成像报告物、生物修饰剂和连接物, 使用本领域已知的标准化学手段来产生。取决于具体应用, 细菌靶向剂可以被设计成水溶性或水可分散的 (即在水性或生理介质溶液中足够可溶或可悬浮)。细菌靶向剂优选地不具有任何不想要的光毒性性质和 / 或表现出低的血清蛋白结合亲和性。具体的示例性细菌靶向剂列于表 4 中。在某些实施方式中, 细菌靶向剂是表 4 中列出的细菌靶向剂或其盐。

[0389] 表 4

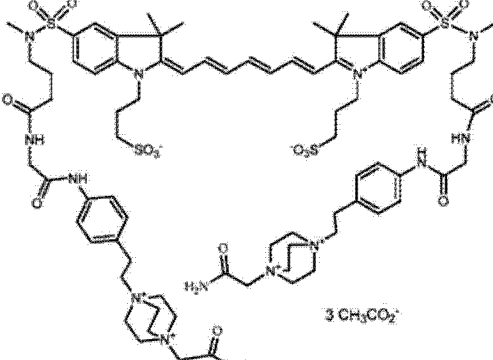
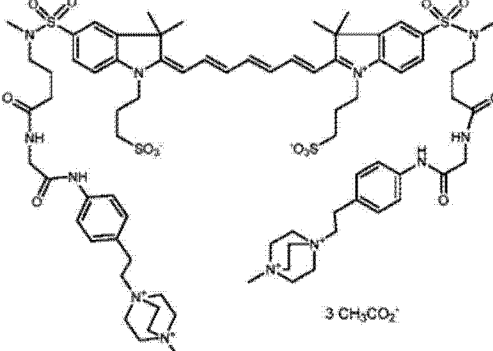
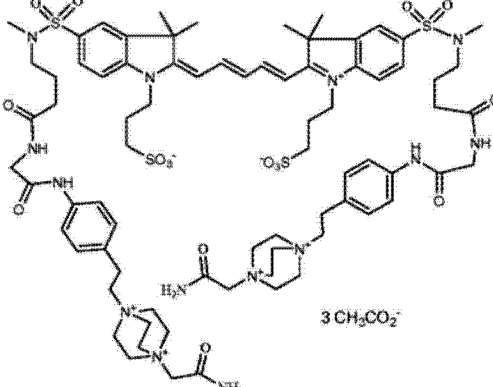
[0390]

化合物号	化学结构	化学名称
A1		3-((E)-2-((2E,4E,6E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-1,3,3-三甲基-3H-吡啶-1-鎗-2-基)庚-2,4,6-三烯-1-亚基)-3,3-二甲基吡啶啉-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐
A2		3-((E)-2-((2E,4Z,6E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-1,3,3-三甲基-3H-吡啶-1-鎗-2-基)-4-(甲基硫基)庚-2,4,6-三烯-1-亚基)-3,3-二甲基吡啶啉-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐
A3		1-(2-氨基-2-氧乙基)-4-(4-(2-(4-(N,1,3,3-四甲基-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(1,3,3-三甲基吡啶啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3H-吡啶-1-鎗-5-磺酰胺基)丁氨酰基)乙氨酰基)苯乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗三乙酸盐

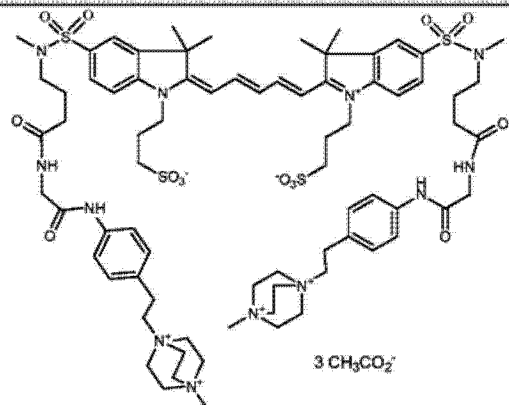
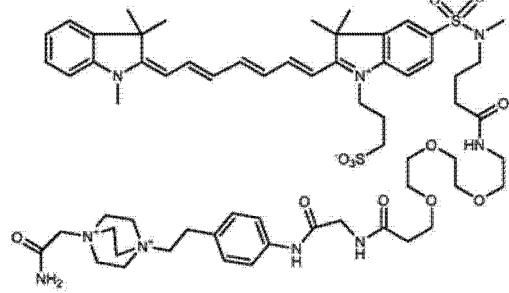
[0391]

化合物号	化学结构	化学名称
A4		3-(2-((1E,3Z,5E)-3-(5-((6-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-6-氧己基)氮甲酰基)吡啶-2-基)-5-(1,3,3-三甲基咪唑啉-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-咪唑-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐
A5		3-(3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(1,3,3-三甲基咪唑啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3H-咪唑-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐
A6		3-(3,3-二甲基-2-((E)-(3-((E)-(1,3,3-三甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)咪唑啉-2-亚基)甲基)环戊-2-烯-1-亚基)甲基)-3H-咪唑-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐
A7		3-(3,3-二甲基-2-((1E,3Z,5E)-3-(5-((6-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-6-氧己基)氮甲酰基)吡啶-2-基)-5-(1,3,3-三甲基咪唑啉-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3H-咪唑-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐

[0392]

化合物号	化学结构	化学名称
A8	 <p style="text-align: center;">3 CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup></p>	<p>3-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-3,3-二甲基-1-(3-磺酰丙基)吡啶啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-吡啶啉-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐</p>
A9	 <p style="text-align: center;">3 CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup></p>	<p>3-((E)-2-((2E,4E,6E)-7-(3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)-1-(3-磺酰丙基)-3H-吡啶啉-1-鎗-2-基)庚-2,4,6-三烯-1-亚基)-3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)吡啶啉-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐</p>
A10	 <p style="text-align: center;">3 CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup></p>	<p>3-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-2-((1E,3E,5E)-5-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基磺氨酰基)-3,3-二甲基-1-(3-磺酰丙基)吡啶啉-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-吡啶啉-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐</p>

[0393]

化合物号	化学结构	化学名称
A11		3-((E)-2-((2E,4E)-5-(3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)-1-(3-磺酰丙基)-3H-吡啶-1-鎓-2-基)戊-2,4-二烯-1-亚基)-3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)磺氨酰基)吡啶啉-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐
A12		3-(5-(N-(1-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-1,4,17-三氧基-7,10,13-三氧杂-3,16-二氮杂二十烷-20-基)-N-甲基磺氨酰基)-3,3-二甲基-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(1,3,3-三甲基吡啶啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3H-吡啶-1-鎓-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐

[0394] 本文中公开的成像剂可以配制成适合于给药到受试者例如动物和 / 或人类的药物组合物。药物组合物可以在生理相关载体中包括一种或多种成像剂和一种或多种赋形剂例如稳定剂。

[0395] 对于体内应用来说,本发明的组合物可以提供在适合于给药到受试者例如动物或人类的制剂中。因此,制剂包括试剂连同适合于所需给药形式和 / 或剂量的生理相关载体。术语“生理相关载体”被理解为是指试剂在其中分散、溶解、悬浮、混合,并且在生理上可耐受,即可以给药于受试者的身体、身体中或身体上而没有过度不适或刺激或毒性的载体。优选的载体是流体,优选地是液体,更优选地是水性溶液;然而,在本发明的范围之内也考虑用于固体制剂、局部制剂、吸入制剂、眼用制剂和透皮制剂的载体。

[0396] 考虑到了试剂可以口服或肠胃外给药,对于肠胃外给药来说,试剂可以静脉注射、肌肉注射、皮肤给药、经皮给药、皮下注射、直肠给药、经鼻给药、阴道给药和眼部给药。因此,组合物可以采取例如固体片剂、胶囊、丸剂、粉剂包括冻干粉、胶体悬液、微球体、脂质体颗粒、悬液、乳液、溶液、凝胶包括水凝胶、糊剂、软膏、霜剂、硬膏剂、灌洗溶液、灌服剂、渗透递送装置、栓剂、灌肠剂、注射剂、植入物、喷剂或气溶胶的形式。药物组合物可以按照常规制药实践来配制(参见例如《Remington:药学科学与实践》(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)第20版,2000,A.R.Germaro主编,Lippincott Williams & Wilkins,Philadelphia和《制药技术百科全书》(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology),J.Swarbrick和J.C.Boylan主编,1988-1999,Marcel Dekker,New York)。

[0397] 应该理解,试剂的制剂、给药方式的选择、给药于受试者的试剂剂量以及试剂给药与成像之间的时间安排,都在本领域技术人员的技术范围之内。

[0398] II. 应用

[0399] 应该理解,细菌靶向剂可以用于各种成像和治疗性应用。

**[0400] A. 通用成像方法**

**[0401]** 本发明提供了使用本文公开的成像剂进行体外和体内成像的方法。对于光学成像技术的综述来说,参见例如 Alfano 等, *Ann. NY Acad. Sci.* 820:248-270(1997); Weissleder, *Nature Biotechnology* 19, 316-317(2001); Ntziachristos 等, *Eur. Radiol.* 13:195-208(2003); Graves 等, *Curr. Mol. Med.* 4:419-430(2004); Citrin 等, *Expert Rev. Anticancer Ther.* 4:857-864(2004); Ntziachristos, *Ann. Rev. Biomed. Eng.* 8:1-33(2006); Koo 等, *Cell Oncol.* 28:127-139(2006); 以及 Rao 等, *Curr. Opin. Biotechnol.* 18:17-25(2007)。

**[0402]** 光学成像包括来自于不使用任何装置的直接可视化和使用诸如各种窥镜、导管和光学成像设备例如用于断层扫描呈现的基于计算机的硬件的所有方法。成像剂可用于光学成像模式和测量技术,其包括但不限于:内窥镜,荧光内窥镜,发光成像,时间分辨透射成像,透射成像,非线性显微技术,共聚焦成像,声学-光学成像,光声成像,反射光谱技术,光谱技术,相干干涉测量法,干涉测量法,光学相干断层成像技术,扩散光学断层成像技术和荧光介导的分子断层成像技术(连续波、时域频域系统和早期光子),以及光散射、吸收、偏振、发光、荧光寿命、量子产率和淬灭的测量。

**[0403]** 可用于本发明的实践的成像系统通常包括三个基本组件:(1) 用于诱导成像剂的激发的适合光源,(2) 将发射与用于荧光团激发的光分离或分辨开的系统,以及(3) 检测系统。检测系统可以是手持的或并入在其他有用的成像装置例如术中显微镜中。示例性的检测系统包括内窥镜、导管、断层扫描系统、手持式成像系统或术中显微镜。

**[0404]** 优选地,光源提供单色的(或基本上单色的)光。光源可以是适当过滤过的白光,即来自于宽谱光源的带通光。例如,可以将来自于 150 瓦卤素灯的光通过可以从 Omega Optical (Brattleboro, VT) 商购的适合的带通滤光片。取决于系统,光源可以是激光器。参见例如 Boas 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:4887-4891, 1994; Ntziachristos 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:2767-2772, 2000; 和 Alexander, *J. Clin. Laser Med. Surg.* 9:416-418, 1991。关于用于成像的激光器的信息,可以在例如 Imaging Diagnostic Systems, Inc., Plantation, FL 和各种其他来源处找到。高通或带通滤光片可用于将光学发射从激发光分离开。适合的高通或带通滤光片可以从 Omega Optical, Burlington, VT 商购。

**[0405]** 一般来说,光检测系统可以被视为包括聚光/图像形成组件和光/信号检测/图像记录组件。尽管光检测系统可以是合并有两种组件的单一集成装置,但聚光/图像形成组件和光检测/图像记录组件被分开讨论。

**[0406]** 特别有用的聚光/图像形成组件是内窥镜。已用于大量组织和器官包括腹膜 (Gahlen 等, *J. Photochem. Photobiol. B* 52:131-135, 1999)、卵巢癌 (Major 等, *Gynecol. Oncol.* 66:122-132, 1997)、结肠和直肠 (Mycek 等, *Gastrointest. Endosc.* 48:390-394, 1998; 和 Stepp 等, *Endoscopy* 30:379-386, 1998)、胆管 (Izuishi 等, *Hepatogastroenterology* 46:804-807, 1999)、胃 (Abe 等, *Endoscopy* 32:281-286, 2000)、膀胱 (Kriegmair 等, *Urol. Int.* 63:27-31, 1999; 和 Riedl 等, *J. Endourol.* 13:755-759, 1999)、肺 (Hirsch 等, *Clin Cancer Res* 7:5-220, 2001)、脑 (Ward, *J. Laser Appl.* 10:224-228, 1998)、食管和头颈部的体内光学成像的内窥装置和技

术,可用于本发明的实践中。

[0407] 其他类型的聚光组件是基于导管的装置,包括光纤装置。这样的装置特别适合于血管内成像。参见例如 Tearney 等, *Science* 276:2037-2039, 1997 和 *Circulation* 94:3013, 1996。

[0408] 还有其他成像技术,包括相控阵技术 (Boas 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:4887-4891, 1994 ;Chance, *Ann. NY Acad. Sci.* 838:29-45, 1998)、光学断层扫描技术 (Cheng 等, *Optics Express* 3:118-123, 1998; 和 Siegel 等, *Optics Express* 4:287-298, 1999)、活体显微镜技术 (Dellian 等, *Br. J. Cancer* 82:1513-1518, 2000 ; Monsky 等, *Cancer Res.* 59:4129-4135, 1999 ;和 Fukumura 等, *Cell* 94:715-725, 1998)、共聚焦成像 (Korlach 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:8461-8466, 1999 ;Rajadhyaksha 等, *J. Invest. Dermatol.* 104:946-952, 1995 ;和 Gonzalez 等, *J. Med.* 30:337-356, 1999) 以及荧光分子断层扫描技术 (FMT) (Nziachristos 等, *Nature Medicine* 8:757-760, 2002, 美国专利 No. 6, 615, 063, PCT W003/102558 和 PCT WO 03/079015) 可以与本发明的成像剂一起使用。相似地,成像剂可用于各种不同成像系统,例如 (1) **IVIS®**成像系统:100 系列,200 系列 (Xenogen, Alameda, CA), (2) SPECTRUM 和 LUMINA (Xenogen, Alameda, CA), (3) **SoftScan®** 或 **eXplore Optix™** (GE Healthcare, United Kingdom), (4) **Maestro™** 和 **Nuance™-2** 系统 (CRi, Woburn, MA), (5) 来自于 Carestream Molecular Imaging, Rochester, NY (以前的 Kodak Molecular Imaging Systems) 的 Image Station In-Vivo FX, (6) OV100, IV100 (Olympus Corporation, Japan), (7) Cellvizio (Mauna Kea Technologies, France), (8) NanoSPECT/CT 或 HiSPECT (Bioscan, Washington, DC), (9) **CTLM®** 或 **LILA™** (Imaging Diagnostic Systems, Plantation, FL), (10) DYNOT™ (NIRx Medical Technologies, Glen Head, NY), 以及 (11) 由 Berthold Technologies, Germany 制造的 NightOWL 成像系统。

[0409] 各种光检测 / 成像记录组件例如电荷耦合元件 (CCD) 系统或感光胶片,可以用于这样的系统。光检测 / 图像记录的选择取决于多种因素,包括所使用的聚光 / 图像形成组件的类型。然而,应该理解,适合的组件的选择、将它们装配到光学成像系统中以及操作所述系统是在本领域的普通技术范围之内的。

[0410] 对于具有磁性质的试剂来说,本领域公知的 MRI 成像也可应用于本发明的实践。对于 MRI 技术的综述,参见 Westbrook, 《MRI 技术手册》(Handbook of MRI Technique) 第二版, 1999, Blackwell Science。有可能可以将通过例如光学成像和磁共振成像获得的图像共同配准或彼此融合,以提供关于待成像物体的附加信息。此外,多模态成像系统 (即组合的光学和 MR 成像系统) 可用于产生联合的光学 MR 图像。

[0411] 另外,本发明的组合物和方法可用于其他成像组合物和方法。例如,本发明的试剂可以通过其他成像模式例如 X-射线、计算机断层扫描技术 (CT)、MR 成像、超声、正电子发射断层扫描技术 (PET) 和单光子计算机断层扫描技术 (SPECT) 来成像。

[0412] 另外,本发明的组合物和方法可以与其他成像组合物和方法联合使用。例如,本发明的试剂可以通过光学成像方案单独地或与其他传统成像模式联合地成像,所述其他成像模式例如 X-射线、计算机断层扫描技术 (CT)、MR 成像、超声、正电子发射断层扫描技术 (PET) 和单光子计算机断层扫描技术 (SPECT)。例如,本发明的组合物和方法可以与 CT 或 MRI 联合使用,以例如通过与由另一种成像模式产生的图像共注册,同时获得解剖学和分子

信息两者。本发明的组合物和方法也可以使用 X- 射线、CT、PET、超声、SPECT 以及其他光学和 MR 造影剂联合使用,或者本发明的试剂也可以包括成像剂例如碘、钆原子和放射活性同位素,其可以使用 CT、PET、SPECT 和 MR 成像模式与光学成像的联合来检测。成像剂可以连接于或并入到试剂中。

[0413] (i) 体内成像方法

[0414] 对于体内光学成像来说,这样的方法包括 (a) 向受试者给药一种或多种本文描述的细菌靶向剂,(b) 提供足够时间以使试剂在受试者内分布,以及 (c) 检测由细菌靶向剂发出的信号。由试剂发出的信号可用于构建图像,例如断层扫描图像。上述步骤可以以预定时间间隔重复,从而允许在受试者体内评估细菌靶向剂的发射信号随时间的变化。

[0415] 在另一种体内成像方法中,所述方法包括 (a) 向受试者给药一种或多种本文描述的含有荧光染料的细菌靶向剂;(b) 提供足够时间以使细菌靶向剂在受试者内分布;(c) 将受试者暴露于可以被荧光染料吸收的波长的光;以及 (d) 检测由细菌靶向剂发出的信号。上述步骤可以以预定的时间间隔重复,从而允许在受试者体内评估细菌靶向剂的发射信号随时间的变化。照射和 / 或检测步骤(分别为步骤 (c) 和 (d)) 可以使用内窥镜、导管、断层扫描系统、平面系统、手持式成像系统、护目镜或术中显微镜来进行。

[0416] 在这些步骤之前或期间,检测系统可以位于受试者(例如动物或人类)周围或附近,以检测从受试者发出的信号。可以处理发射的信号以构建图像,例如断层扫描图像。另外,处理过的信号可以显示为单独的图像或融合(联合)的图像。

[0417] 另外,可以同时实践一种体内成像方法,该方法选择性地检测并成像一种、两种或更多种包括细菌靶向剂的分子成像探针。在这样的方法中,例如,在上面提到的步骤 (a) 中,将信号性质可以彼此区分开的两种或更多种成像探针同时或相继地给药于受试者,其中至少一种分子成像探针是细菌靶向剂。多种探针的使用允许记录多个生物过程、功能或靶。

[0418] 受试者可以是脊椎动物,例如哺乳动物,例如人类。受试者也可以是用于实验室研究的非脊椎动物(例如秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*)、果蝇或其他研究用模式生物等)。

[0419] 由这样的体内成像方法提供的信息,例如发射信号的存在、不存在或水平,可用于在受试者体内检测和 / 或监测疾病。示例性疾病包括但不限于自体免疫疾病、骨病、癌症、心血管疾病、环境疾病、皮肤病、免疫疾病、遗传病、传染病、代谢病、神经退行性疾病、眼科疾病和呼吸道疾病。另外,体内成像可用于通过使用成像剂来评估化合物或疗法的效果,其中在用化合物或疗法治疗之前和之后对受试者进行成像,并比较相应的信号 / 图像。

[0420] 细菌靶向剂还可用于将用细菌靶向剂标记的细胞给药于受试者的体内成像方法。细胞可以用细菌靶向剂在体内或离体标记。在离体方法中,细胞可以直接源自于受试者或源自于其他来源(例如来自于其他受试者、细胞培养物等)。可以将细菌靶向剂与细胞混合以有效地标记细胞,并将得到的标记细胞在步骤 (a) 中给药于受试者。然后如上所述进行步骤 (b) - (d)。这种方法可用于监测某些细胞类型包括 T- 细胞、肿瘤细胞、免疫细胞和干细胞以及其他细胞类型的运输和定位。特别是,这种方法可用于监测基于细胞的疗法。

[0421] 应该理解,细菌靶向剂的配制、给药方式的选择、给药于受试者的细菌靶向剂的剂量以及细菌靶向剂给药与成像之间的时间安排是在本领域技术人员的技术水平范围内的。

[0422] 上述方法可用于确定多种标记,包括在受试者体内随时间追踪细菌靶向剂的定位,或者在受试者体内随时间评估细菌靶向剂的代谢和 / 或排泄的变化或改变。通过对用于这样的疾病的疗法所调节的分子事件和生物通路进行成像,所述方法还可用于跟踪这样的疗法,包括但不限于确定疗效、最适时间安排、最适剂量水平(包括对于个体患者或试验受试者)以及疗法联合的协同效果。

[0423] 本发明的方法和组合物可用于帮助医生或外科医生识别和表征疾病区域,例如感染和细胞死亡,以将患病和 / 或感染组织与正常组织区分开,例如检测器官或其他组织内使用常规成像技术难以检测的特定细菌感染区域,并对所述组织作为特定治疗方式的候选者进行进一步评估,或评估预后例如脓毒症的可能性。此外,所述方法和组合物可用于对经历增加的细胞凋亡的位点进行成像,所述增加的细胞凋亡正如内源的非感染细胞具有增加的带正电荷的细胞表面所表明的。

[0424] 本发明的方法和组合物也可用于疾病的检测、定性和 / 或位置确定,包括早期疾病、疾病或疾病相关病症的严重性、疾病的阶段和 / 或监测疾病。发射信号的存在、不存在或水平可以指示疾病状态。

[0425] 本发明的方法和组合物也可用于监测和 / 或指导各种治疗性干预例如手术程序,以及监测药物治疗,包括基于细胞的疗法。本文描述的方法也可用于评估各种治疗方式的疗效,所述疗效方式包括但不限于被设计用于降低肿瘤酸中毒和转移或各种放射疗法。本发明的方法还可用于疾病或疾病病症的预后。

[0426] 对于上述每种情况来说,可以检测或监测(在疗法之前、期间或之后)的这样的疾病或疾病病症的实例包括炎症(例如由关节炎例如类风湿关节炎引起的炎症),癌症(例如结肠直肠、卵巢、肺、乳腺、前列腺、宫颈、睾丸、皮肤、脑、胃肠、胰腺、肝、肾、膀胱、胃、白血病、口、食管和骨癌),心血管疾病(例如动脉粥样硬化和血管的炎性病症、局部缺血、中风、血栓症和弥散性血管内凝血)、皮肤病(例如卡波西氏肉瘤、银屑病和过敏性皮炎)、眼科疾病(例如黄斑部变性和糖尿病性视网膜病)、传染病(例如细菌、病毒、真菌和寄生虫感染,包括获得性免疫缺陷综合征、疟疾、锥虫病和血吸虫病)、免疫疾病(例如自体免疫障碍、淋巴瘤、多发性硬化症、类风湿性关节炎、糖尿病、红斑狼疮、重症肌无力和格雷夫斯病)、中枢神经系统疾病(例如神经退行性疾病如帕金森氏病或阿兹海默氏病、亨廷顿舞蹈症、肌萎缩侧索硬化和朊病毒疾病)、遗传病、代谢病、环境疾病(例如铅、汞和放射活性物质中毒,以及皮肤癌)、骨相关疾病(例如骨质疏松症、原发和转移骨肿瘤和骨关节炎)、神经退行性疾病和手术相关并发症(例如移植物排斥、器官排斥、创伤愈合改变、纤维化或与外科植入物相关的其他并发症)。

[0427] 因此,本文中描述的方法和组合物可用于例如检测和 / 或定量在受试者例如人类、例如感染或凋亡的细胞内正电荷增加的细胞表面的存在和 / 或定位,以及检测和 / 或定量感染和细胞死亡的存在和 / 或定位,包括器官内感染或凋亡区域的存在。本文描述的方法和组合物还可用于检测和 / 或定量与疾病、障碍和病症、包括但不限于肿瘤前 / 肿瘤疾病相关的细菌和凋亡,包括在冠状和外周动脉中处于急性阻塞风险(即易损斑块)的区域、动脉瘤扩大的区域、颈动脉中的不稳定斑块和局部缺血区域。本发明的方法和组合物还可用于细胞死亡、损伤、凋亡、坏死和组织缺氧的鉴定和评估。所述方法和组合物还可用于药物释放和监测药物释放,特别是当药物或类药分子被化学连接到荧光探针时。示例性

的药物分子包括化学治疗剂和细胞生长抑制剂以及光动力试剂,包括但不限于 Photofrin、Lutrin、Antrin、氨基乙酰丙酸、金丝桃素、苯并卟啉衍生物和卟啉类。

[0428] 另外,本文描述的方法和组合物可用于成像受试者体内的细菌感染。所述方法包括给药于受试者(例如人类或动物)足以促进细菌成像的量的一种或多种本文描述的细菌靶向剂。在经过足够时间以允许试剂在动物体内分布或在待成像区域内分布后,确定试剂的存在和/或量。然后可以使用试剂的存在和/或量来产生表示受试者组织内的正电荷增加的细胞表面的图像,例如断层扫描图像。

[0429] 此外,本文描述的方法和组合物可用于成像受试者中的细菌感染,例如结核病、莱姆病、布鲁氏菌病、百日咳、肺炎、破伤风、白喉、伤寒症、脑膜炎、蜂窝组织炎、脓疱病、肉毒杆菌、鹦鹉热、尿道炎、肠炎、结肠炎、炭疽、军团病、梅毒、兔热病、支气管炎、溃疡、疮、钩端螺旋体病、李斯特菌病、淋病、志贺氏菌病、沙门氏菌病、霍乱、膀胱炎、败血症、toxinoses、心内膜炎、坏死性肺炎、中毒性休克综合征、猩红热、风湿热、坏死性筋膜炎和落基山斑疹热。

[0430] (ii) 体外成像方法

[0431] 对于体外成像来说,成像剂可用于各种体外测定法中。例如,示例性的体外成像方法包括:(a) 将样品例如生物样品与一种或多种本文描述的细菌靶向剂相接触;(b) 使试剂与样品中的生物靶相互作用;(c) 任选地,移除未结合的试剂;以及(d) 检测从试剂发出的信号,从而确定试剂是否已被生物靶激活或结合于生物靶。当细菌靶向剂包含荧光染料时,步骤(d)还包括用可以被荧光染料吸收的波长的光照射样品,以产生发射信号。

[0432] 在试剂已被设计、合成并任选地配制后,可以由本领域技术人员在体外对其进行测试,以评估它的生物学和性能特征。例如,可以使用在培养基中生长的不同类型的细胞来评估试剂的生物学和性能特征。试剂的细胞摄入、结合或细胞定位,可以使用本领域中已知的技术包括例如荧光显微技术、FACS 分析、免疫组织化学、免疫沉淀、原位杂交和 Forster 共振能量转移(FRET)或荧光共振能量转移进行评估。例如,可以将试剂与样品接触一段时间,然后清洗以除去任何游离的试剂。然后可以使用适合的检测装置,例如装备有与荧光试剂的光学性质匹配的适合的滤光片的荧光显微镜来观察样品。培养中的细胞的荧光显微技术或闪烁计数也是用于确定是否发生摄入和结合的常规手段。组织、组织切片和其他类型的样品例如细胞离心涂片样品也可以以类似方式,用于评估试剂的生物学和性能特征。也可以使用其他检测方法,包括但不限于流式细胞术、免疫测定法、杂交测定法和微阵列分析。

[0433] B. 示例性成像方法

[0434] 本发明的一个方面提供了一种体内成像方法,所述方法包括:(a) 向受试者给药本文中描述的化合物(例如细菌成像剂);(b) 使所述试剂在受试者中分布;以及(c) 检测由细菌成像剂发射的信号。

[0435] 本发明的另一方面提供了一种体内光学成像的方法,所述方法包括:(a) 向受试者给药本文中描述的化合物(例如细菌成像剂),其中所述试剂包含荧光染料;(b) 允许使所述试剂在受试者中分布;(c) 将所述受试者暴露于可以被所述荧光染料吸收的波长的光;以及(d) 检测由所述试剂发射的信号。

[0436] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,其中由所述试剂发射的信号被用于

构建图像。在其他实施方式中,所述图像是断层扫描图像。在某些实施方式中,本发明是一种体内光学成像方法,其中步骤(a)-(c)以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估细菌靶向剂的发射信号随时间的变化。在某些实施方式中,本发明是一种体内光学成像方法,步骤(a)-(d)以预定时间间隔重复,从而允许在所述受试者体内评估细菌靶向剂的发射信号随时间的变化。在某些实施方式中,本发明是一种体内成像方法,其中所述受试者是动物或人类。在某些实施方式中,本发明是一种体内成像方法,其中在步骤(a)中,将信号性质可以彼此区分开的两种或更多种成像探针给药于受试者,其中至少一种所述成像探针是细菌靶向剂。在某些实施方式中,本发明是一种体内光学成像方法,其中所述照射和检测步骤使用内窥镜、导管、断层扫描系统、手持光学成像系统或术中显微镜来进行。

[0437] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,其中发射信号的存在、不存在或水平指示了疾病状态。在某些实施方式中,本发明是一种体内成像方法,其中所述方法被用于检测和/或监测疾病。在某些实施方式中,所述疾病选自骨病、癌症、心血管疾病、环境疾病、皮肤病、免疫疾病、遗传病、传染病、炎性疾病、代谢疾病、眼科疾病和呼吸道疾病。

[0438] 本发明的另一方面提供了一种体内成像方法,其中在步骤(a)中,向所述受试者给药用本文中描述的化合物(例如细菌靶向剂)标记的细胞。在其他实施方式中,使用由所述试剂发射的信号来监测细胞的运输和定位。

[0439] 本发明的另一方面提供了一种对受试者中的细菌感染进行成像的方法,所述方法包括下列步骤:(a)向受试者给药试剂;以及(b)检测所述试剂的存在,由此产生代表细菌感染的图像。在某些实施方式中,本发明是一种在受试者中治疗疾病的方法,所述方法包括系统或局部地向受试者给药试剂,其中所述试剂包含定位于所述疾病区域中并发出有效剂量的辐射的放射性标记物。

[0440] 本发明的另一方面提供了一种体外成像方法,所述方法包括:(a)将样品与试剂相接触;(b)使所述试剂结合于生物靶;(c)任选地除去未结合的试剂;以及(d)检测从所述试剂发射的信号,由此确定所述试剂是否已被所述生物靶激活或结合。在其他实施方式中,样品是生物样品。

[0441] 在某些实施方式中,化学修饰基团包含生物活性分子,例如药物或放射治疗组成部分。在某些实施方式中,生物活性分子通过连接物连接到试剂,所述连接物可通过生物或物理机制包括但不限于酶、热、酸催化或光化学切割来切开。

[0442] 在某些优选实施方式中,Q可以选自(i)取代或未取代的芳基,(ii)功能化的取代或未取代的杂芳基,(iii)功能化的取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>烷基、烯基、炔基、烷氧基或硫烷基。在其他实施方式中,Q不存在。

[0443] 在某些实施方式中,与其他带负电荷的内源细胞表面相比,化学修饰组成部分M提高细菌靶向剂对带负电荷的细菌和凋亡细胞表面的结合选择性。

[0444] 在某些实施方式中,化学修饰组成部分M降低细菌靶向剂的非特异性细胞膜渗透性。此外,在其他实施方式中,化学修饰组成部分M减少细菌靶向剂在给药于活的动物时的非特异性组织积累。

[0445] 在本发明的一个方面,细菌靶向剂在远红或近红外光谱范围中发荧光。

[0446] 在某些实施方式中,细菌靶向剂还包含一个或多个化学修饰剂,其独立地化学连接到DABCO、L和/或F或其任何组合。

### [0447] C. 治疗性应用

[0448] 本文描述的某些细菌靶向剂例如含有放射性标记物和药物分子的试剂,可用于改善特定疾病或障碍的症状或治疗特定疾病或障碍。所述方法包括 (a) 给药足以在受试者中体内提供疗效的量的一种或多种本文描述的试剂;以及 (b) 提供足够时间以允许试剂在受试者中体内分布或以其他方式定位在待治疗的受试者区域中,然后 (c) 取决于治疗剂,任选地激活试剂以提供疗效。例如,当治疗剂是放射性标记物时,不需随后的激活。然而,当治疗剂是光反应性试剂例如在光动力疗法中使用的染料时,可以通过将试剂暴露于具有激活试剂的波长的光来激活试剂。结果,试剂可用于治疗目标病症,例如癌症、免疫障碍、炎症障碍、血管障碍等。此外,试剂可用于在受试者中体内抑制器官或其他目标区域中的感染,或者降低受试者内细菌和凋亡细胞的增殖。

[0449] 现在将利用下面的实施例来说明本发明,提供所述实施例的目的仅仅是示例性的,并且没有任何限制本发明范围的意图。

### [0450] III. 药物组合物

[0451] 本文中描述的试剂可以与一种或多种可药用载体(添加剂)和/或稀释剂配制,以获得药物组合物。示例性的药物组合物包含一种或多种试剂和一种或多种可药用载体。正如在下面详细描述,药物组合物可以被特别配制,用于以固体或液体形式给药,包括适用于下列给药的形式:(1) 口服给药,例如浸液(水性或非水性溶液或悬液),片剂例如旨在用于颊、舌下和全身吸收的片剂,丸剂,粉剂,颗粒剂,用于施用到舌的糊剂;(2) 肠胃外给药,例如通过皮下、肌肉内、静脉内或硬膜外注射,作为例如无菌溶液或悬液或持续释放制剂;(3) 表面施用,例如作为施用到皮肤的霜剂、软膏或受控释放贴剂或喷剂;(4) 阴道内或直肠内,例如作为药栓、霜剂或泡沫;(5) 舌下给药;(6) 眼部给药;(7) 透皮给药;或(8) 经鼻给药。

[0452] 短语“可药用的”在本文中用于指称那些在健全的医学判断范围内,适合用于与人类和动物的组织相接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的利益/风险比相称的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0453] 可药用载体包括液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、制造助剂(例如润滑剂,滑石粉,硬脂酸镁、钙或锌,或硬脂酸)或溶剂包封剂,它们参与将目标化合物从一个器官或身体部分携带或运输到另一个器官或身体部分。每种载体必须在与制剂的其他成分相容并且不损伤患者的意义上是“可接受的”。可以用作可药用载体的材料的一些实例包括:(1) 糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2) 淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3) 纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4) 粉状黄耆树胶;(5) 麦芽;(6) 明胶;(7) 滑石;(8) 赋形剂,例如可可脂和栓剂用蜡;(9) 油类,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10) 二醇类,例如丙二醇;(11) 多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;(12) 酯类,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13) 琼脂;(14) 缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;(15) 藻酸;(16) 无热原水;(17) 等渗盐水;(18) 林格氏溶液;(19) 乙醇;(20) pH缓冲溶液;(21) 聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐;以及(22) 在制药配制中使用的其他无毒性相容物质。

[0454] 润湿剂、乳化剂和润滑剂例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、脱膜剂、涂层剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂,也可以存在于组合物中。

[0455] 本发明的适合于肠胃外给药的药物组合物包含一种或多种本发明的试剂与一种或多种可药用无菌等渗水性或非水性溶液、分散系、悬液或乳液的组合,或包含可以在即将使用之前在无茵可注射溶液或分散系中重构的无茵粉剂,所述无茵溶液或分散系可以含有糖类、醇、抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、赋予制剂以与目标受体的血液等渗的溶质或悬浮或增稠剂。

[0456] 在某些实施方式中,本发明提供了适合给药于受试者的可药用组合物,其包含细菌成像剂和可药用赋形剂。

[0457] IV. 定义

[0458] 为了便于本发明的理解,下面定义了许多术语和短语。

[0459] 当在本文中使用时,除非上下文不适合,否则没有具体数量的指称意味着“一个或多个”并包括复数形式。

[0460] 当在本文中使用时,术语“有效量”是指化合物的足以实现有益或所需结果的量。除非另有陈述,否则有效量可以在一次或多次给药、施用或剂量中给药,并且不打算限制于特定制剂或给药途径。当在本文中使用时,术语“治疗”包括引起病症、疾病、障碍等的改善或其症状改善的任何效果,例如缓解、减轻、调节、改善或消除。

[0461] 当在本文中使用时,术语“患者”和“受试者”是指将要经历本发明的方法或用其治疗的生物体。这样的生物体包括但不限于哺乳动物(例如鼠、猴、马、牛、猪、狗、猫等),最优选地包括人类。

[0462] 本文中描述的某些化合物可以以特定几何或立体异构体形式存在。本发明设想了落于本发明的范围之内内的所有这样的化合物,包括顺式和反式异构体、R-和S-对映异构体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体、其消旋混合物及其其他混合物。在取代基例如烷基中可能存在其他不对称碳原子。所有这样的异构体及其混合物,意图被包含在本发明中。

[0463] 当在本文中使用时,术语“亲和性”是指细菌靶向剂结合于带负电荷的细胞和/或被所述细胞保持的能力。

[0464] 当在本文中使用时,术语“官能团”是被理解为指反应性功能基团,其可以被其他分子进一步修饰或衍生。一方面,反应性功能基团是胺、羧酸、羧酸酯、卤素、肼、羟胺、腈、异腈、异氰酸酯、异硫氰酸酯、硫醇、马来酰亚胺、叠氮化物、炔、四唑基、磷酸酯、烯炔、硝基或亚硝基。

[0465] 术语“烷基”是本领域公知的,并包括饱和的脂族基团,包括直链烷基和支链烷基。此外,术语“烷基”(或“低级烷基”)包括“取代的烷基”,其是指具有代替烃类骨架的一个或多个碳上的氢的取代基的烷基组成部分。这样的取代基可以包括例如羟基、羰基(例如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫羰基(例如硫酯、硫乙酸酯或硫甲酸酯)、烷氧基、磷酸酯、亚磷酸酯、氨基、氨酰基、脒、亚氨基、氰基、硝基、叠氨基、巯基、烷基巯基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳族组成部分。本领域技术人员应该理解,如果适合的话,在烃链上取代的组成部分本身可以被取代。例如,取代的烷基的取代基,可以包括取代和未取代形式的氨基、叠氨基、亚氨基、氨酰基、磷酸酯(包括磷酸酯和亚磷酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基,以及醚、烷基巯基、羰基(包括酮、醛、羧酸和酯)、-CN等。在某些实施方式中,烷基是未


取代的。

[0466] 术语“亚烷基”是指烷基的二价自由基。示例性的亚烷基包括  $-\text{CH}_2-$  和  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

[0467] 术语“杂烷基”在本领域中是公知的，并且是指饱和脂族基团、包括直链烷基和支链烷基，其中一个骨架碳原子已被杂原子例如 O、S 或 N 代替。示例性的杂烷基包括  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$  和  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 。

[0468] 术语“亚杂烷基”是指杂烷基的二价自由基。示例性的亚杂烷基包括  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$  和  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 。

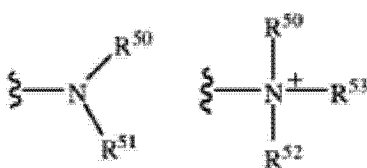
[0469] 术语“芳基”在本领域中是公知的，并且是指 5、6 和 7 元单环芳香族基团，其可以包括 0 至 4 个杂原子，例如苯、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。在环结构中具有杂原子的该芳基也可以被称为“杂芳基”或“杂芳族”。芳香环可以在一个或多个环位置处被如上所述的那些取代基取代，例如卤素、叠氮化物、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、烷氧基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、氨酰基、磷酸酯、亚磷酸酯、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷基硫基、磺酰基、磺酰胺基、酮、醛、酯、杂环基、芳香族或杂芳族组成部分、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CN}$  等。术语“芳基”还包括具有两个或更多环状环的多环状环系统，其中两个或更多碳为两个相邻环所共有（所述环是“稠合环”），其中所述环中的至少一个是芳香族的，其他的环状环可以是例如环烷基、环烯基、环炔基、芳基和 / 或杂环基。

[0470] 当在本文中使用时，术语“亚芳基”是指芳香族基团的二价自由基。亚芳基可以如芳基所述或如另外所指示的任选地被取代。示例性的亚芳基是 

[0471] 当在本文中使用时，术语“杂环”和“杂环基”是指含有一个或多个杂原子的芳香族或非芳香族环。杂原子可以彼此相同或不同。杂原子的实例包括但不限于氮、氧和硫。芳香族和非芳香族杂环在本领域中是公知的。芳香族杂环的一些非限制性实例包括吡啶、嘧啶、咪唑、嘌呤、喹啉和异喹啉。非芳香族杂环化合物的非限制性实例包括哌啶、哌嗪、吗啉、吡咯烷和吡唑烷。含氧杂环的实例包括但不限于呋喃、环氧乙烷、2H-吡喃、4H-吡喃、2H-色烯和苯并呋喃。含硫杂环的实例包括但不限于噻吩、苯并噻吩和对帕拉噻吩。含氮环的实例包括但不限于吡咯、吡咯烷、吡唑、吡唑烷、咪唑、咪唑啉、咪唑烷、吡啶、哌啶、吡嗪、哌嗪、嘧啶、咪唑、嘌呤、苯并咪唑、喹啉、异喹啉、三唑和三嗪。含有两个不同杂原子的杂环的实例包括但不限于吩噻嗪、吗啉、对帕拉噻嗪、噁唑、噻唑和噻吩。杂环（或杂环基）的环任选地在环位置处进一步被例如卤素、叠氮化物、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、烷氧基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、氨酰基、羧基、 $-\text{C}(\text{O})$  烷基、 $-\text{CO}_2$  烷基、羰基、羧基、烷基硫基、磺酰基、磺酰胺基、磺酰胺、酮、醛、酯、芳基或杂芳基组成部分、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CN}$  等取代。

[0472] 术语“胺”和“氨基”在本领域内是公知的，并且是指未取代和取代的胺两者，例如可以由下列通式表示的组成部分：

[0473]



[0474] 其中  $\text{R}^{50}$ 、 $\text{R}^{51}$ 、 $\text{R}^{52}$  和  $\text{R}^{53}$  各自独立地表示氢、烷基、烯基、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}^{61}$ ，或者  $\text{R}^{50}$  和  $\text{R}^{51}$

与它们结合的 N 原子合在一起,完成在环结构中具有 4 至 8 个原子的杂环; $R^{61}$  表示芳基、环烷基、环烯基、杂环或多环;并且  $m$  是 0 或 1 至 8 范围内的整数。在某些实施方式中, $R^{50}$  或  $R^{51}$  中只有一个可以是羰基,例如  $R^{50}$ 、 $R^{51}$  和氮一起不形成酰亚胺。在其他实施方式中, $R^{50}$  和  $R^{51}$  (以及任选地  $R^{52}$ ) 各自独立地表示氢、烷基、烯基或  $-(CH_2)_m-R^{61}$ 。

[0475] 术语“烷氧基 (alkoxy)”或者“烷氧基 (alkoxy)”在本领域中是公知的,并且是指其上结合有氧基团的如上定义的烷基,代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。“醚”是由氧共价连接的两个烃。因此,烷基的使所述烷基成为醚的取代基是或类似于烷氧基,例如可以由  $-O-$  烷基、 $-O-$  烯基、 $-O-$  炔基、 $-O-(CH_2)_m-R^{61}$  表示,其中  $m$  和  $R^{61}$  在上文中定义。

[0476] 术语“取代的”是指基团中的一个或多个氢原子独立地被相同或不同的取代基代替。示例性的取代基包括但不限于卤素、烷基、卤代烷基、氧基、烷氧基、巯基、硫醚基、氰基、酯、酮、酰胺、磺酰胺、羧酸酯、羧酸、芳基、芳烷基、烯基、炔基、亚烷基-酰胺基等。

[0477] 当在本文中使用时,术语“可药用盐”是指本发明的化合物的任何药学上可接受的盐(例如酸或碱),其在给药于受试者后,能够提供本发明的化合物或其活性代谢物或残留物。正如本领域技术人员已知的,本发明的化合物的“盐”可以源自于无机或有机酸和碱。酸的实例包括但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、延胡索酸、马来酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、乙磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、苯磺酸等。其他酸例如草酸,尽管本身不是可药用的,但是可用于在获得本发明的化合物及其可药用酸加成盐中可用作中间体的盐的制备中。

[0478] 碱的实例包括但不限于碱金属(例如钠)氢氧化物、碱土金属(例如镁)、氢氧化物、氨和式  $NW_4^+$  的化合物,其中  $W$  是  $C_{1-4}$  烷基等。

[0479] 盐的实例包括但不限于:乙酸盐,己二酸盐,藻酸盐,天冬氨酸盐,苯甲酸盐,苯磺酸盐,硫酸氢盐,丁酸盐,柠檬酸盐,樟脑酸盐,樟脑磺酸盐,环戊烷丙酸盐,二葡萄糖酸盐,十二烷基硫酸盐,乙磺酸盐,延胡索酸盐,氟庚酸盐,甘油磷酸盐,半硫酸盐,庚酸盐,己酸盐,盐酸盐,氢溴酸盐,氢碘酸盐,2-羟基乙磺酸盐,乳酸盐,马来酸盐,甲磺酸盐,2-萘磺酸盐,烟酸盐,草酸盐,棕榈酸盐,果胶酸盐,过硫酸盐,苯基丙酸盐,苦味酸盐,新戊酸盐,丙酸盐,琥珀酸盐,酒石酸盐,硫氰酸盐,甲苯磺酸盐,十一烷酸盐等。盐的其他实例包括与适合的阳离子例如  $Na^+$ 、 $NH_4^+$  和  $NW_4^+$  (其中  $W$  是  $C_{1-4}$  烷基)等化合的本发明的化合物的阴离子。

[0480] 对于治疗性应用来说,设想了本发明的化合物的盐是可药用的。然而,不可药用的酸和碱的盐也可以在例如可药用化合物的制备或纯化中发现用途。

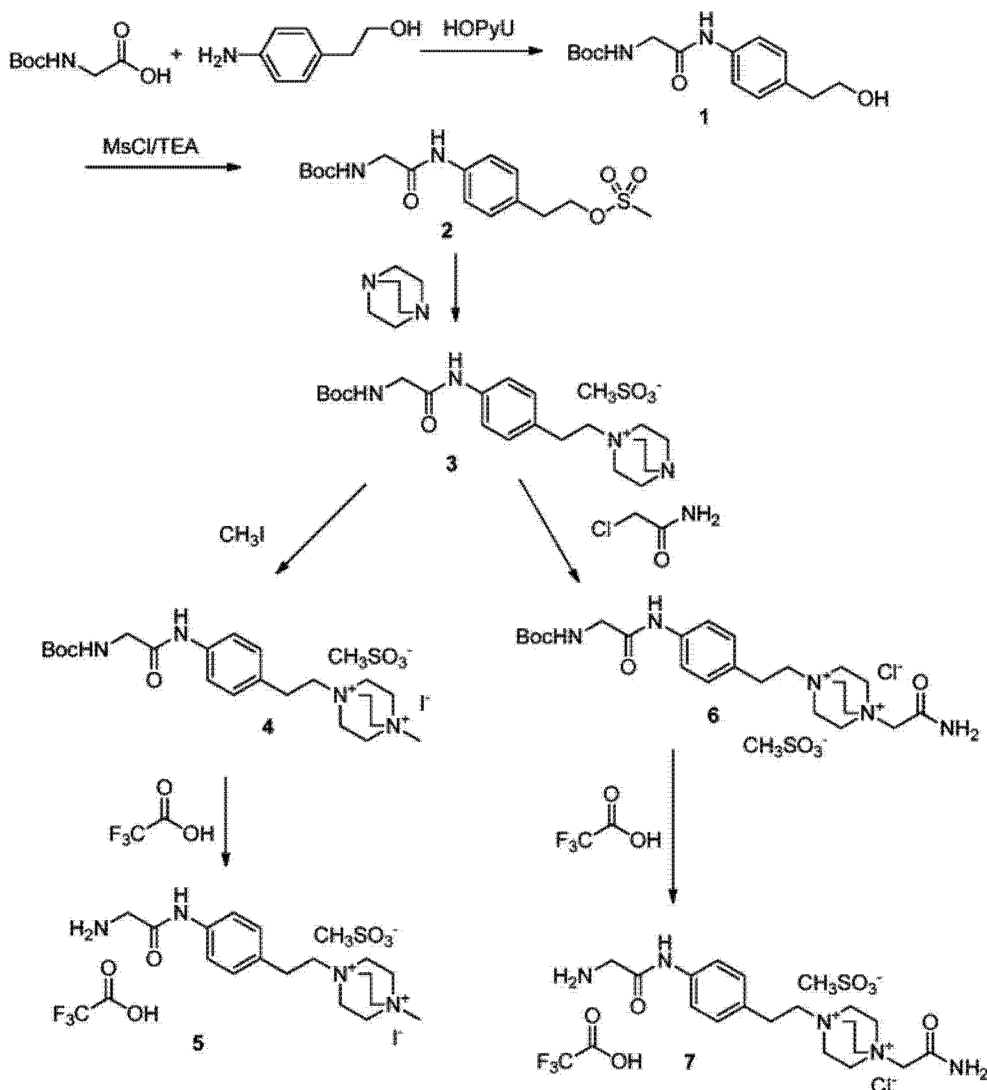
[0481] 在整个本说明书中,当组合物和试剂盒被描述成具有、包括或包含特定组分时,或者当过程和方法被描述成具有、包括或包含特定步骤时,还设想了另外存在基本上由所叙述的组分构成或由其构成的本发明的组合物和试剂盒,并且存在基本上由所叙述的过程步骤构成或由其构成的本发明的过程和方法。

#### [0482] V. 实施例

[0483] 本发明的化合物可以按照标准方法和程序,从容易获得的起始材料合成。下面的非限制性实例演示了示例性荧光细菌靶向剂的合成。可用于制备本发明的材料的代表性材料和方法在下面进一步描述。除非另有陈述,否则所有化学品和溶剂(试剂级)以其商购时的状态使用,没有进一步纯化。合成的化合物通过 HPLC 进行表征和纯化。

[0484] 结合组成部分的合成示出在下面的反应图式中。

[0485]



[0486] 中间体 1。向 Boc-甘氨酸 (770mg, 4.4mmol)、4-氨基苯乙醇 (550mg, 4.0mmol)、NEM (90  $\mu$  L) 在 20mL 乙腈中的溶液加入 0-(2-氧基-1(2H)吡啶基)-N,N,N',N' 四甲基四氟硼酸脒 (1.28g, 4.4mmol)。

[0487] 4 小时后, 将溶液浓缩至  $\sim$  0.5mL 并加入乙酸乙酯 (15mL), 然后加入 8mL 0.1M NaHCO<sub>3</sub> 水溶液。将有机层用 5mL 0.1M NaHCO<sub>3</sub> 和 2x 5mL 去离子水洗涤。蒸发至干, 得到作为灰白色固体的产物 1。

[0488] 中间体 2。向 1 (120mg, 0.4mmol) 在 3mL 无水 MeCN 中的悬液加入 TEA (130  $\mu$  L, 0.93mmol), 并将混合物在冰浴中冷却。在 5min 内缓慢加入甲磺酰氯 (MsCl, 48  $\mu$  L, 0.62mmol) 在 1.5mL 无水 MeCN (1.5mL) 中的溶液, 并在添加后将混合物升温至  $\sim$  20 $^{\circ}$ C 并老化 1 小时。通过 speedvac 除去 MeCN, 并将残留物在 8mL 乙酸乙酯与 2mL 0.05N HCl 水溶液之间萃取。将有机层用 2mL 去离子水和 2x 2mL 饱和盐水洗涤。在无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上干燥后, 将溶液蒸发至干, 以获得作为固体的 2。

[0489] 中间体 3。向 2 (50mg, 134  $\mu$  mol) 在 1mL MeCN 中的溶液加入 DABCO (45mg, 400  $\mu$  mol), 并将混合物在  $\sim$  60-70 $^{\circ}$ C 加热 6-8 小时。通过 speedvac 将溶液浓缩至浓稠油状

物,并溶解在 1.5mL 1:9 的 MeCN/TEAA 缓冲液 (25mM HOAc, 12.5mM TEA) 中。粗品不完全溶解,但是可以将其原样装载在树脂上。在装载到苯基树脂的短柱 (~4mL 床体积) 之后,将树脂用 10mL TEAA 洗脱,收集为 F-1,然后用 10mL 5:95MeCN/TEAA (F-2)、10mL 10:90MeCN/TEAA (F-3)、10mL 15:85MeCN/TEAA (F-4) 和 10mL 20/80MeCN/TEAA (F-5) 洗脱。将所述组分通过 HPLC 进行分析,将 F-2 和 F-3 合并并浓缩至干。

[0490] 中间体 4。将中间体 3 (53mg, 118  $\mu$ mol) 溶解在 1mL DMF 中,并加入碘代甲烷 (25  $\mu$ L, 400  $\mu$ mol)。将溶液在 20°C 老化 40 分钟。将溶液浓缩至干。将固体溶解在 3mL DMF 中,并分成两个部分 (2 和 1mL 在玻璃试管中)。蒸发至干,获得了作为胶状固体的 4 (分别为 70mg 和 29mg)。

[0491] 中间体 5。向含有 70mg 4 (70w%, 83  $\mu$ mol) 的试管中加入 TFA (400  $\mu$ L), 将混合物混合并在 20°C 老化 20 分钟。在反应期间胶状固体变成悬液。将混合物用 1mL MeCN 稀释,通过 speedvac 不加热干燥 ~20 分钟。将产物通过超声/离心用 3x 2mL MTBE 洗涤,并且不加热干燥 10 分钟。将固体溶解在含有 100  $\mu$ L DMSO 的 1.9mL 0.1N NaHCO<sub>3</sub> 水溶液中,并立即用于与荧光团活性酯反应。

[0492] 中间体 6。将中间体 3 (50mg, 110  $\mu$ mol) 溶解在 1mL DMF 中,并加入 2-氯乙酰胺 (22mg, 236  $\mu$ mol)。将溶液在 70°C 加热 16 小时。将溶液用 3mL 乙腈稀释并沉淀产物。将固体用 3x 2mL 乙腈洗涤,并在真空下干燥。

[0493] 中间体 7。向含有 70mg 6 (20mg) 的试管中加入 TFA (400  $\mu$ L), 将混合物混合并在 20°C 老化 20 分钟。在反应期间胶状固体变成悬液。将混合物用 1mL MeCN 稀释,通过 speedvac 不加热干燥 ~20 分钟。将产物通过超声/离心用 3x 2mL MTBE 洗涤,并且不加热干燥 10 分钟。将固体溶解在含有 100  $\mu$ L DMSO 的 1.9mL 0.1N NaHCO<sub>3</sub> 水溶液中,并立即用于与荧光团活性酯反应。

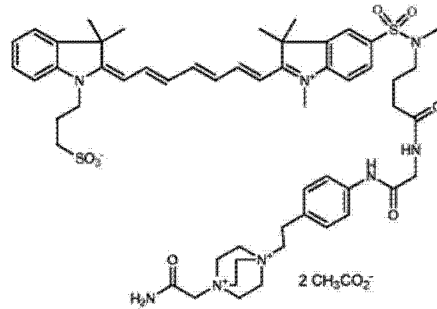
[0494] 细菌靶向剂的合成

[0495] 方法 1。向 DABCO-Me 或 DABCO-酰胺 (~20  $\mu$ mol) 在 1mL 0.1M 碳酸氢钠水溶液中的溶液加入荧光团 NHS 酯 (~4  $\mu$ mol) 在 1mL DMSO 中的溶液。30 分钟后,将溶液用水稀释,通过将溶液装载到苯基树脂 (2g) 上,并用混合的三乙胺乙酸盐水溶液 (三乙胺:12.5mM, 乙酸:25mM) 与乙腈 (含有 12.5mM TEA 和 25mM 乙酸, 10/90-50/50) 的梯度洗脱,来分离产物。收集 ~5mL 的组分并通过 HPLC 进行分析。

[0496] 方法 2。向荧光团 (~4  $\mu$ mol) 和 DABCO-Me 或 DABCO-酰胺 (40  $\mu$ mol) 在含有 20  $\mu$ L N-乙基吗啉的 1:1DMF/水 (1mL) 中的溶液加入 0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N, N', N'-四甲基六氟磷酸脲 (20  $\mu$ mol)。2 小时后,将溶液用 5mL 水稀释,并装载到 2g 苯基树脂上。将树脂用混合的三乙胺乙酸盐水溶液 (三乙胺:12.5mM, 乙酸:25mM) 与乙腈 (含有 12.5mM TEA 和 25mM 乙酸, 10/90-30/70) 的梯度洗脱。

[0497] 实施例 1: 示例性化合物 3-((E)-2-((2E, 4E, 6E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1, 4-二氮杂双环 [2.2.2] 辛烷-1, 4-二鎗-1-基) 乙基) 苯基) 氨基)-2-氧乙基) 氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-1, 3, 3-三甲基-3H-吡啶-1-鎗-2-基) 庚-2, 4, 6-三烯-1-亚基)-3, 3-二甲基吡啶-1-基) 丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A1 的合成:

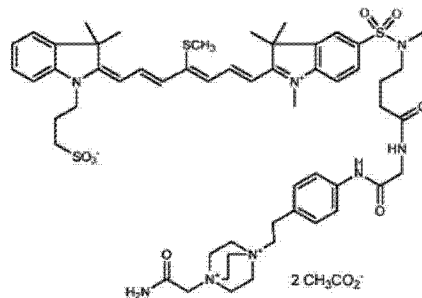
[0498]



[0499] 化合物 A1 使用方法 1 制备。将具有 >95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0500] 实施例 2: 示例性化合物 3-((E)-2-((2E, 4Z, 6E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-1,3,3-三甲基-3H-吡啶-1-鎓-2-基)-4-(甲基硫基)庚-2,4,6-三烯-1-亚基)-3,3-二甲基吡啶啉-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A2 的合成

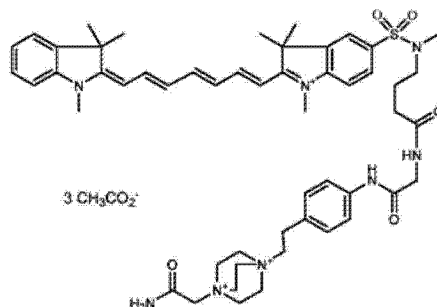
[0501]



[0502] 化合物 A2 使用方法 1 制备。将具有 >95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0503] 实施例 3: 示例性化合物 1-(2-氨基-2-氧乙基)-4-(4-(2-(4-(N,1,3,3-四甲基-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(1,3,3-三甲基吡啶啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3H-吡啶啉-1-鎓-5-磺酰胺基)丁氨酰基)乙氨酰基)苯乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓三乙酸盐——化合物 A3 的合成:

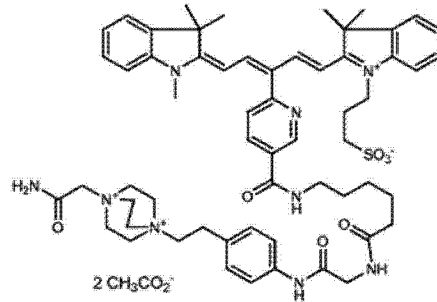
[0504]



[0505] 化合物 A3 使用方法 1 制备。将具有 >95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0506] 实施例 4: 示例性化合物 3-(2-((1E, 3Z, 5E)-3-(5-((6-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-6-氧己基)氨甲酰基)吡啶-2-基)-5-(1,3,3-三甲基吡啶啉-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-吡啶啉-1-鎓-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A4 的合成:

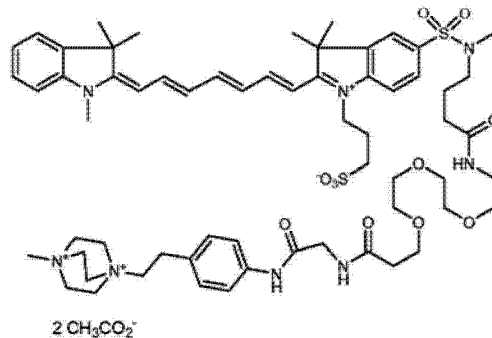
[0507]



[0508] 化合物 A4 使用方法 2 制备。将具有 &gt;95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0509] 实施例 5: 示例性化合物 3-(3, 3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1, 4-二氮杂双环 [2. 2. 2] 辛烷-1, 4-二鎓-1-基) 乙基) 苯基) 氨基)-2-氧乙基) 氨基)-4-氧丁基) 氨磺酰基)-2-((1E, 3E, 5E, 7E)-7-(1, 3, 3-三甲基吡啶-2-亚基) 庚-1, 3, 5-三烯-1-基)-3H-吡啶-1-鎓-1-基) 丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A5 的合成:

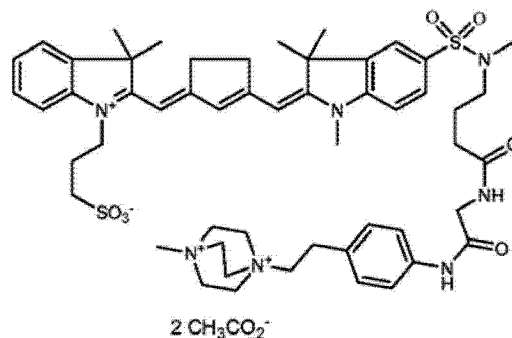
[0510]



[0511] 化合物 A5 使用方法 1 制备。将具有 &gt;95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0512] 实施例 6: 示例性化合物 3-(3, 3-二甲基-2-((E)-(3-((E)-(1, 3, 3-三甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1, 4-二氮杂双环 [2. 2. 2] 辛烷-1, 4-二鎓-1-基) 乙基) 苯基) 氨基)-2-氧乙基) 氨基)-4-氧丁基) 氨磺酰基) 吡啶-2-亚基) 甲基) 环戊-2-烯-1-亚基) 甲基)-3H-吡啶-1-鎓-1-基) 丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A6 的合成:

[0513]

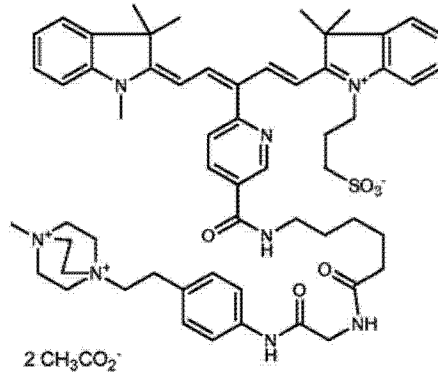


[0514] 化合物 A6 使用方法 1 制备。将具有 &gt;95% @650nm 的组分合并并干燥成固体。

[0515] 实施例 7: 示例性化合物 3-(3, 3-二甲基-2-((1E, 3Z, 5E)-3-(5-((6-((2-((4-(2-

-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-6-氧己基)氨磺酰基)吡啶-2-基)-5-(1,3,3-三甲基吡啶-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3H-吡啶-1-鎓-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A7 的合成：

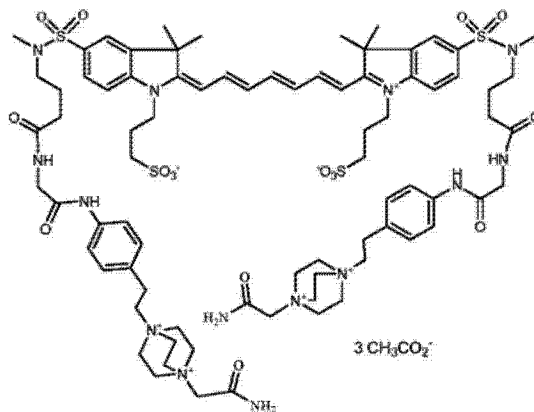
[0516]



[0517] 化合物 A7 使用方法 1 制备。将具有 >95% @635nm 的组分合并并干燥成固体。

[0518] 实施例 8：示例性化合物 3-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-3,3-二甲基-1-(3-磺酰丙基)吡啶-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-吡啶-1-鎓-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐——化合物 A8 的合成：

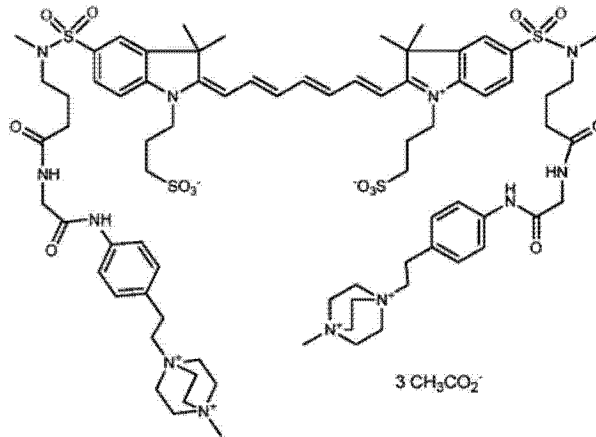
[0519]



[0520] 化合物 A8 使用方法 2 制备。将具有 >95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0521] 实施例 9：示例性化合物 3-((E)-2-((2E,4E,6E)-7-(3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)氨磺酰基)-1-(3-磺酰丙基)-3H-吡啶-1-鎓-2-基)庚-2,4,6-三烯-1-亚基)-3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)氨磺酰基)吡啶-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐——化合物 A9 的合成：

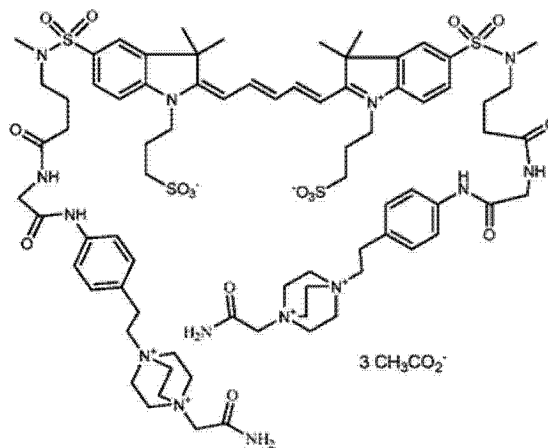
[0522]



[0523] 化合物 A9 使用方法 2 制备。将具有 >95% @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0524] 实施例 10：示例性化合物 3-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-2-((1E,3E,5E)-5-(5-(N-(4-((2-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)-N-甲基氨磺酰基)-3,3-二甲基-1-(3-磺酰丙基)吡啶-2-亚基)戊-1,3-二烯-1-基)-3,3-二甲基-3H-吡啶-1-鎗-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐——化合物 A10 的合成：

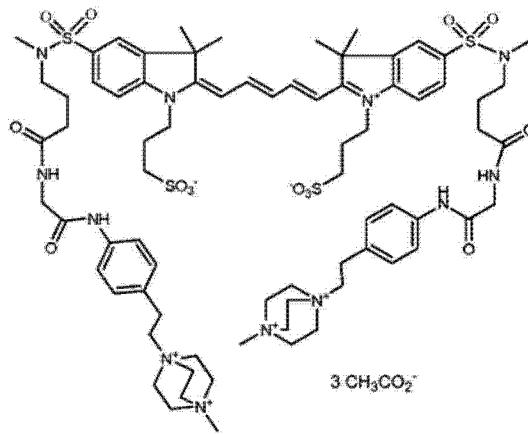
[0525]



[0526] 化合物 A10 使用方法 2 制备。将具有 >95% @635nm 的组分合并并干燥成固体。

[0527] 实施例 11：示例性化合物 3-((E)-2-((2E,4E)-5-(3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)氨磺酰基)-1-(3-磺酰丙基)-3H-吡啶-1-鎗-2-基)戊-2,4-二烯-1-亚基)-3,3-二甲基-5-(N-甲基-N-(4-((2-((4-(2-(4-甲基-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎗-1-基)乙基)苯基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-4-氧丁基)氨磺酰基)吡啶-1-基)丙烷-1-磺酸盐三乙酸盐——化合物 A11 的合成：

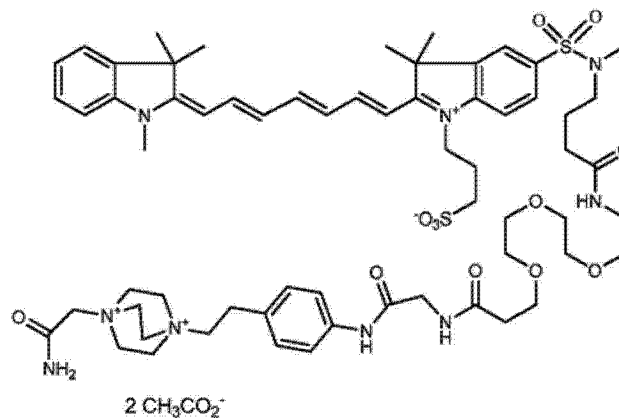
[0528]



[0529] 化合物 A11 使用方法 2 制备。将具有  $>95\%$  @635nm 的组分合并并干燥成固体。

[0530] 实施例 12 : 示例性化合物 3-(5-(N-(1-((4-(2-(4-(2-氨基-2-氧乙基)-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷-1,4-二鎓-1-基)乙基)苯基)氨基)-1,4,17-三氧基-7,10,13-三氧杂-3,16-二氮杂二十烷-20-基)-N-甲基氨磺酰基)-3,3-二甲基-2-((1E,3E,5E,7E)-7-(1,3,3-三甲基吲哚啉-2-亚基)庚-1,3,5-三烯-1-基)-3H-吲哚-1-鎓-1-基)丙烷-1-磺酸盐二乙酸盐——化合物 A12 的合成:

[0531]



[0532] 化合物 A12 使用方法 1 制备。将具有  $>95\%$  @750nm 的组分合并并干燥成固体。

[0533] 实施例 13- 细菌靶向剂在体外结合于细菌

[0534] 本实施例证实了本文描述的细菌靶向剂在体外结合于各种细菌物种。将细菌在  $37^{\circ}\text{C}$  下生长至  $\text{OD}_{600} = 0.3-0.5$ , 并以 3500rpm 离心 4 分钟, 然后将得到的沉淀物重新悬浮在 TES 缓冲液中。含有或不含靶向剂的细菌在相同条件下生长。将细菌靶向剂化合物 A7 以  $10\ \mu\text{M}$  的终浓度与细菌沉淀物在 TES 缓冲液中, 在室温下温育 1 小时。如图 1A 中看到的, 将含有试剂的细菌离心, 重悬浮在 TES 缓冲液中并通过流式细胞术进行分析。

[0535] 在本实验中, 在本文中描述的细菌靶向剂存在下, 荧光仅与细菌相关。图 1B 显示了比较单独的细菌和与示例性细菌靶向剂化合物 A7 温育的细菌之间的平均荧光的柱状图。如图 1A 和 1B 中所示, 结果证实了细菌靶向剂例如化合物 A7 与大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 两者的体外结合。

[0536] 实施例 14- 使用细菌成像剂的表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 的体内成像

[0537] 使用  $10^8\text{CFU}$  (菌落形成单位) 的表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*),

对 6-8 周龄的 SKH1-E 雌性小鼠的左大腿进行肌肉注射。在初始细菌接种后约 24 小时,给小鼠静脉注射 5nM 细菌靶向剂化合物 A7。正如在图 2A 中看到的,在试剂注射后 1、2 和 3 小时的时间点,将小鼠在 FMT2500 (PerkinElmer, Inc., Waltham, MA) 上成像,重点在大腿上。如图 2B 在所示,在所有时间点观察到了感染与未感染区域之间的统计上的显著差异,其中最适成像时间在 1 小时时间点处。

[0538] 实施例 15- 使用细菌成像剂的大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的体内成像

[0539] 使用  $10^5$ - $10^8$ CFU 的不同浓度的大肠杆菌 (*Escherichia coli*),对 6-8 周龄的 SKH1-E 雌性小鼠的左大腿进行肌肉注射。在初始细菌接种后约 24 小时,给小鼠静脉注射 5nM 细菌靶向剂化合物 A7。正如在图 3 中看到的,在试剂注射后 1 小时,将小鼠在 FMT2500 (PerkinElmer, Inc., Waltham, MA) 上成像,重点在大腿上。图像示出了细菌靶向剂在感染位点处的显著摄取。

[0540] 通过引用并入

[0541] 本文中引用的所有出版物、专利和专利申请,以其全部内容并出于所有目的明确地通过引用并入本文,程度等同于对其每个单独地进行这样的表述。

[0542] 等同性

[0543] 本发明可以在不背离其精神和本质特征的情况下体现为其他特定形式。因此,上述实施方式在所有方面被视为说明性的,而不是对本文描述的发明的限制。因此,本发明的范围由附加的权利要求书而不是由前面的描述指明,并且意图将进入权利要求书的意义和等同性范围之内所有变化涵盖在其中。

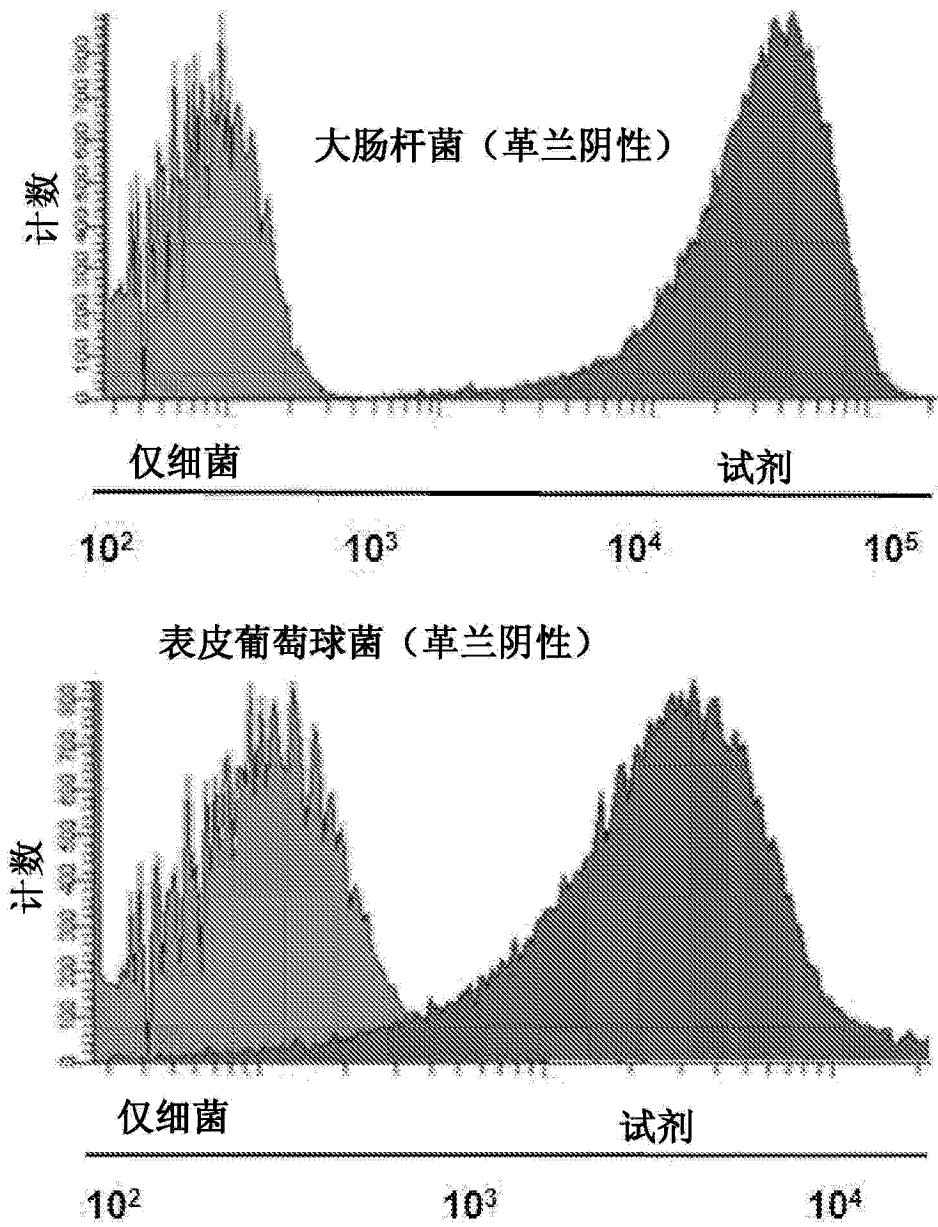


图 1A

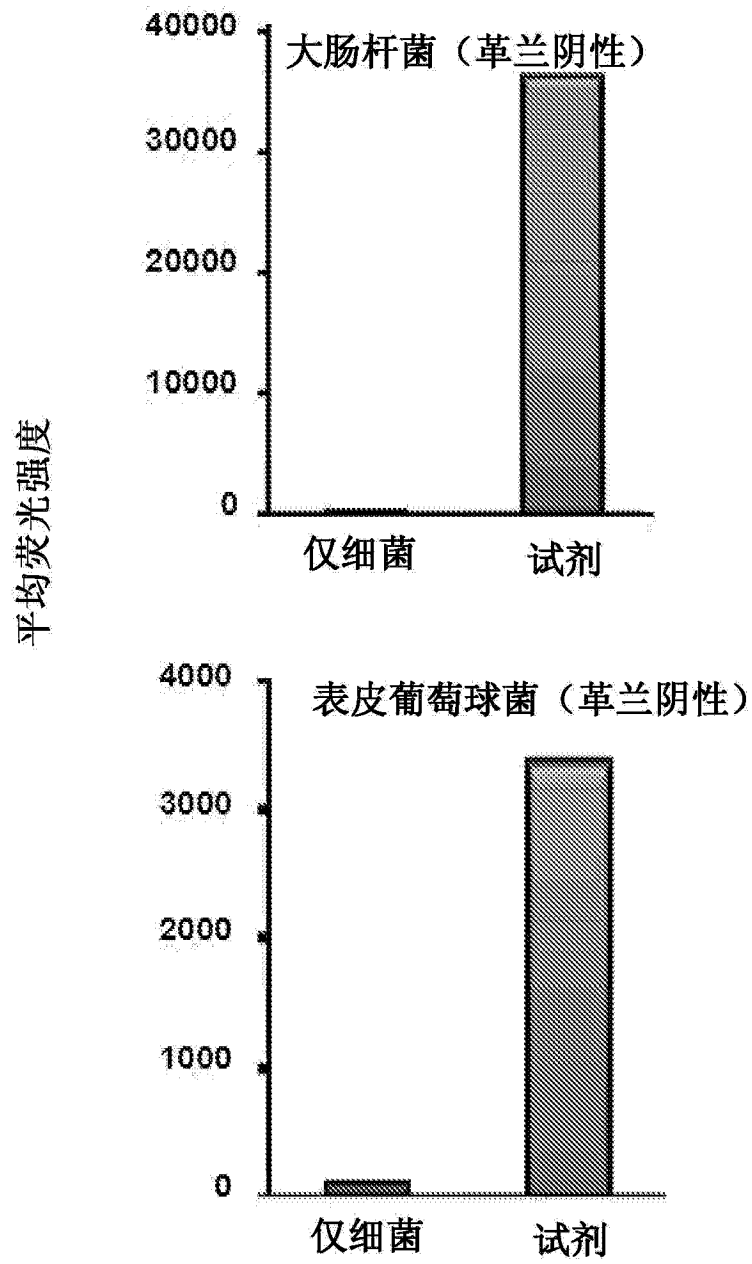


图 1B

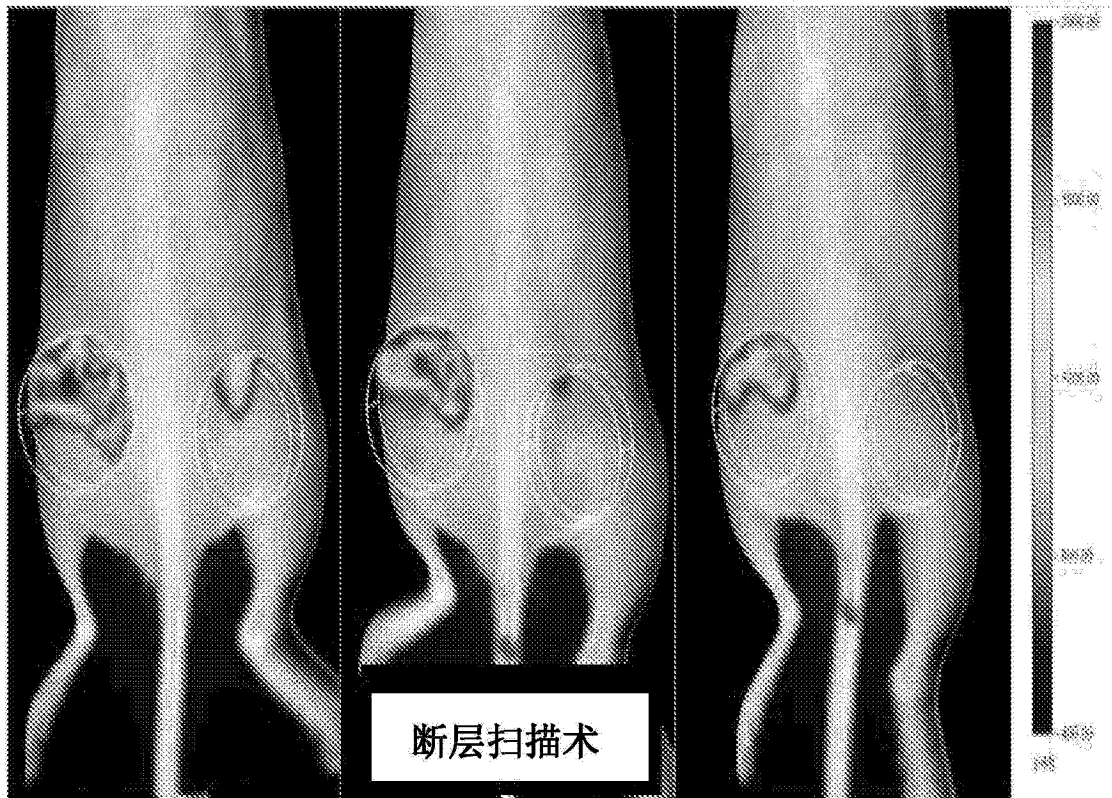


图 2A

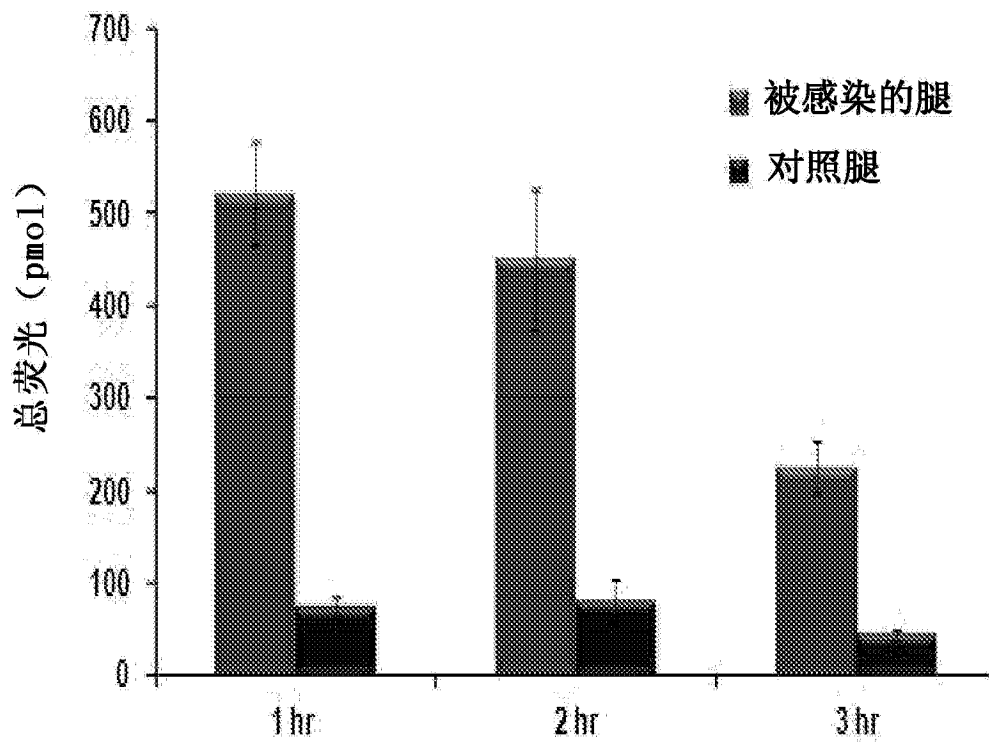


图 2B

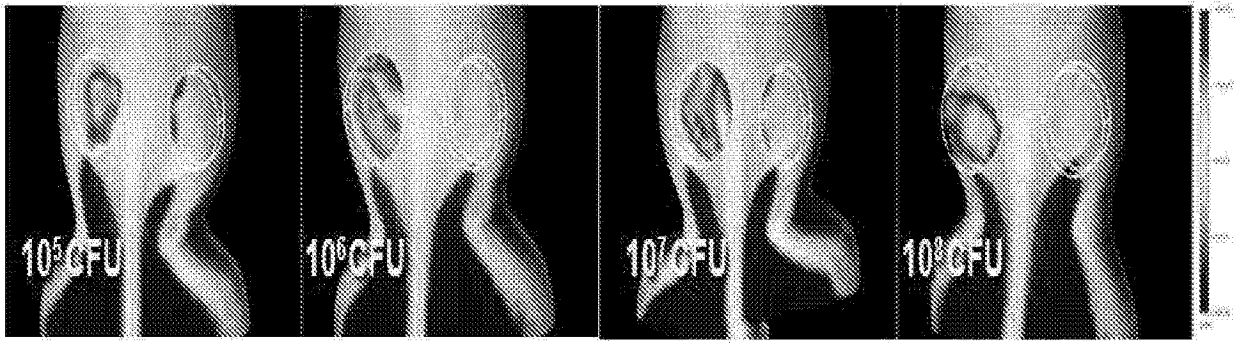


图 3

专利名称(译)	细菌成像剂及其使用方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN104245954A</a>	公开(公告)日	2014-12-24
申请号	CN201380018658.9	申请日	2013-03-15
[标]申请(专利权)人(译)	文森医学公司		
申请(专利权)人(译)	文森医学公司		
当前申请(专利权)人(译)	文森医学公司		
[标]发明人	G·霍		
发明人	G·霍		
IPC分类号	C12Q1/04 G01N33/534 G01N33/58		
CPC分类号	A61K49/0002 A61K49/0017 C07C53/10 C07D487/08 C12Q1/04 G01N21/6486 G01N33/534 G01N33/58		
代理人(译)	吴立 文琦		
优先权	61/618291 2012-03-30 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一类靶向细菌感染的试剂，其可用作成像剂或治疗剂。所述试剂可用于对受试者中的细菌感染位点以及其他生理过程进行成像。

