

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092228** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.07.19

(51) Int. Cl. **C09B 23/01** (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.03.21

(54) **АЗАЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(86) **PCT/IB2018/000390**

(87) **WO 2019/180475 2019.09.26**

(71) Заявитель:
**ЭКОЛЬ ПОЛИТЕКНИК ФЕДЕРАЛЬ
ДЕ ЛОЗАНН (ЭПФЛ) (CH)**

(72) Изобретатель:

**Синиси Риккардо, Моралес Моралес
Алма Роза, Гоун Елена А., Сингх
Раджендра (CH)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к флуоресцентным красителям, которые представляют собой цианиновые красители, включающие дополнительные аза-фрагменты в гетероцикле индолена и/или в соединяющих их цепях метина. Симметричные и несимметричные химически реакционноспособные азацианиновые красители описаны для конъюгации, а также описаны их биоконъюгаты для *in vitro* и *in vivo* анализов и флуоресцентной визуализации.

202092228

A1

A1

202092228

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565058EA/023

АЗАЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящая заявка относится к флуоресцентным красителям, которые представляют собой цианиновые красители, включающие дополнительные аза-фрагменты в индоленовых гетероциклах и/или в соединяющих их цепях метина. Описаны симметричные и несимметричные химически активные азацианиновые красители для конъюгации, а также их биоконъюгаты для *in vitro* и *in vivo* анализов и флуоресцентной визуализации.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Флуоресцентные красители образуют структурные блоки многих реагентов, которые используются во многочисленных биоаналитических приложениях, таких как обнаружение и секвенирование нуклеиновых кислот, проточная цитометрия для характеристики клеток, флуоресцентная микроскопия, ферментные анализы и в последнее время все чаще в области оптической визуализации в качестве зондов для обнаружения больных тканей и органов *in vivo*. Существует большое количество флуоресцентных красителей, доступных для применения в микроскопии, иммуногистологии и других высокотехнологичных исследованиях. Эти красители имеют длинные углеродные цепи с сопряженными связями, встроенные в их химические структуры. Молекулы способны поглощать световую энергию и излучать свет другого цвета. Длины испускаемых волн органических красителей обычно настраивают таким образом, чтобы они излучали свет большей длины волны за счет включения в молекулу акцептора электронов, который позволяет делокализовать π -электроны вдоль ненасыщенной цепи. Несмотря на то, что красители ближней инфракрасной области спектра (БИК, NIR) разрабатывались в течение многих лет для использования в областях высоких технологий, лишь немногие из них нашли применение в *in vivo* приложениях.

Оптическая визуализация, в частности флуоресценция, предлагает несколько преимуществ, которые делают ее мощным методом молекулярной визуализации как в исследовательских, так и в клинических условиях. В частности, помимо того, что оптическая визуализация является быстрой, безопасной, рентабельной и высокочувствительной, ее можно адаптировать как для диагностики, так и для получения терапевтических результатов. Органические красители, обычно используемые в качестве репортеров для визуализации, можно модифицировать, используя различные линкеры, химические соединения, с целью включения одного или более нацеливающих мотивов. Флуоресцентную визуализацию можно перенести с доклинической стадии, проводимой на мелких животных, на людей, поскольку можно использовать тот же самый агент без изменения биологической мишени. Хотя такой чувствительностью обладает и биолюминесценция, она не может быть перенесена с доклинической визуализации, используемой для мелких животных, на человека. Система люциферин/люцифераза также не может быть мультиплексирована для изучения многорежимного механизма связывания

с клеточной поверхностью или рецептором в опухолях, например, в онкологических приложениях. Таким образом, методы, основанные на флуоресценции, являются естественным выбором, позволяющим объединить указанный перенос реагентов визуализации, одновременно используемых, с общепринятыми методами ПЭТ, ОФЭКТ, МРТ и рентгенографии, поскольку оптические репортерные красители пригодны для переноса одинаковых или разных мотивов распознавания с помощью нескольких линкеров. Молекулярная визуализация включает использование “молекулярного” зонда или агента, который избирательно нацеливается на конкретный клеточный рецептор, последовательности нуклеиновых кислот гена, аминокислотные последовательности и посттрансляционные мотивы в белке, эпигенетические модификации, клеточную функцию и пути для определения отсутствия, наличия или уровня конкретной мишени, являющейся показателем конкретного болезненного состояния.

Разработка БИК флуоресцентных красителей сыграла решающую роль в области оптической визуализации, что позволило увеличить ее вклад в науку о визуализации. В отличие от классического применения флуоресцентных красителей в других методах; при разработке флуоресцентных красителей для применения *in vivo* необходимо учитывать несколько важных критериев, включая (1) растворимость в воде, (2) структурную и химическую стабильность, (3) флуоресценцию в ближнем ИК-диапазоне, (4) высокий квантовый выход и, что не менее важно, (5) функциональную группу для биоконъюгации.

Среди флуоресцентных красителей, доступных для оптической визуализации, семейство цианиновых красителей является предпочтительным классом, поскольку они обеспечивают диапазон длин волн для возбуждения и излучения флуоресценции *in vivo*, на который не влияют оптические свойства представляющей интерес ткани. Гемоглобин имеет сильное поглощение при длинах волн ниже 600 нм, а значительная фоновая флуоресценция от эндогенных биомолекул может быть обнаружена при длинах волн вплоть до 650 нм. Гептаметинцианиновые красители, которые поглощают и излучают за пределами 750 нм, относятся к группе красителей ближней инфракрасной области спектра (БИК, NIR) и являются предпочтительными метками для визуализации *in vivo*, поскольку свет в ближнем инфракрасном диапазоне может преодолеть ограничения, связанные с биологической оптической интерференцией, за счет более глубокого проникновения в ткань.

Цианиновые красители характеризуются наличием двух гетероциклических фрагментов, действующих как доноры и акцепторы электронов, и присоединены одним или нечетным числом метиновых групп, в которых $(n+1)^2$ электронов распределены по n атомам, образуя делокализованный катион вдоль метиновой цепи. Благодаря этой уникальной особенности цианиновые красители имеют более широкий диапазон поглощения, чем любой другой известный класс красителей. Известно, что большое количество синтетических цианинов поглощают в диапазоне между видимой и инфракрасной областями электромагнитного спектра. Кроме того, цианины демонстрируют узкие полосы поглощения и имеют высокие коэффициенты экстинкции. Благодаря этим свойствам цианиновые красители широко используются в различных приложениях, таких как

фотографические процессы, лазерная печать, нелинейно-оптические материалы, а в последнее время - флуоресцентные зонды для мечения биомолекул. Например, в патенте США 5,571,388 описаны примеры способов идентификации цепей ДНК с помощью цианиновых красителей. Совсем недавно они были использованы для оптической визуализации *in vivo* или *in vitro* биомолекул, меченных красителями (патент США № 7,597,878 и др.). Цианиновые красители являются предпочтительными метками в биологических приложениях, потому что, помимо прочего, многие из этих красителей флуоресцируют в ближней инфракрасной (БИК, NIR) области спектра (600-1000 нм).

Разработка полиметинцианиновых красителей, поглощающих более длинные волны, для применения для визуализации *in vivo* была сосредоточена на полиенах, поскольку каждое усиление двойной связи в этой области увеличивает батохромный сдвиг на ~100 нм. Эта особенность демонстрирует преимущество цианинов по сравнению с другими красителями, настройка которых зависит от увеличения ароматических колец. Результаты нескольких типов исследований показали, что добавление ароматического 6-членного кольца может сместить оптическую плотность примерно на 20 нм. Главным недостатком этого подхода является повышенная гидрофобность полученного соединения.

Преимущества цианиновых красителей включают, например: 1) сильные поперечные сечения поглощения и способность флуоресцировать после возбуждения; 2) они не обесцвечиваются быстро под флуоресцентным микроскопом или источниками возбуждения планшетного ридера; 3) производные могут использоваться как эффективные связывающие агенты без потери фотохимических свойств; 4) за последние шестьдесят лет были разработаны многие структуры и синтетические процедуры, а класс красителей представляет собой универсальные реагенты; 5) цианиновые красители относительно малы (типичная молекулярная масса составляет примерно 1000 дальтон), поэтому они не создают заметных стерических помех, которые могли бы снизить способность меченой биомолекулы достигать своего участка связывания или выполнять свою функцию и 6) при соответствующей дериватизации не чувствительны к pH.

Однако многие из известных цианиновых красителей имеют ряд недостатков, таких как химическая нестабильность в присутствии определенных реагентов, которые обычно встречаются в биопробах. Такие реагенты включают гидроксид аммония, дитиотреитол (DTT), первичные и вторичные амины и персульфат аммония (APS). Кроме того, некоторые цианиновые красители не обладают термостойкостью и фотостабильностью, которые необходимы для биологических применений, таких как секвенирование ДНК и генотипирование. Помимо фотостабильности, которая возникает из-за цис-транс-аддитивности или нарушения расширенной конъюгации, иногда для более широкого применения в области биомедицины необходимы растворимость в воде и модификация заряда.

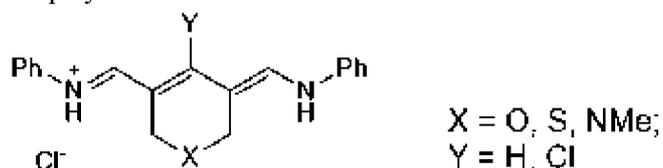
По этим причинам все еще существует потребность в стабильных цианиновых красителях, которые можно использовать для мечения биомолекул, а также для визуализации *in vivo* с целью диагностики и прогнозирования таких заболеваний, как рак,

визуализации инфекционных заболеваний и метаболической активности. Такие композиции и методы могут помочь в анализе ответов на различные виды лечения.

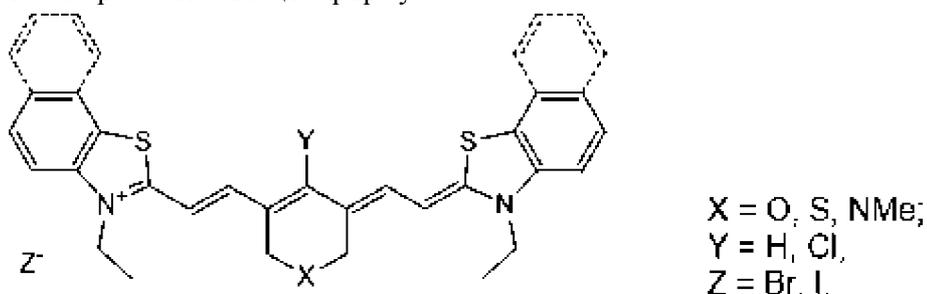
В US 5,217,846 описаны фотополимеризуемые композиции, содержащие системы инициаторов, которые поглощают в более длинноволновой области видимого спектра. Фотополимеризуемая композиция содержит по меньшей мере один этилен-ненасыщенный мономер, способный к инициированной свободными радикалами аддитивной полимеризации, и систему инициатора, активируемую актиничным излучением, при этом указанная система инициатора включает гексаарилбисимидазол, соинициатор и сенсибилизатор.

Толмачев и др. в своем докладе “Химия гетерологических соединений”, (TOLMACHEV et al. “CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS”, LATVIJSKIJ INSTITUT ORGANICESKOGO SINTEZA, RIGA, LV) описал синтез производных гидрохлорида дианила глутаконового альдегида общей формулы I, где атомы α, α' -углерода включены в дигидропиран, дигидротиопиран и N-метилтетрагидропиридиновый цикл.

Формула I:

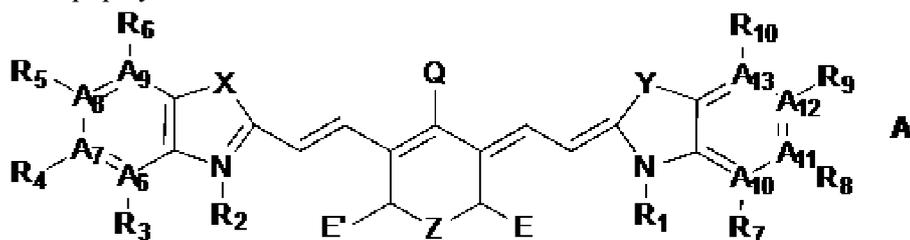


Показано, что при нагревании в основных условиях (ацетат натрия или триэтиламин в сухом этаноле) синтезированные дианилы образуют при взаимодействии с тозилатами 2-метил-3-этилбензотиазолия или 2-метил-3-этилнафтотиазолия соответствующие цианиновые красители общей формулы:



СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к флуоресцентному красителю формулы A:



или его соли, где

Z выбирают из группы, состоящей из NR¹⁷ и ⁺NR¹⁷R¹⁸;

ИЗМЕНЕННАЯ СТРАНИЦА

Q независимо представляет собой H или выбирают из групп а), b) и с), состоящих из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{19}U$, $-OR^{19}U$, $-SR^{19}U$ и $-NR^{19}R^{20}U$, где R^{19} представляет собой единичную связь; или где каждый из R^{19} и R^{20} независимо может представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим C_5 -, C_6 - или C_7 ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и причем R^{32} и R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и причем в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N, и причем во всех указанных выше случаях R^{34} независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила,

б) $R^{21}L$, $-OR^{21}L$, $-SR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$, где каждый из R^{21} и R^{22} независимо может представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где каждый из R^{19} и R^{20} независимо может представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, где указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или

гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N, к которому они присоединены образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1-C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазином;

R^1 и R^2 отсутствуют, представляют собой H или независимо выбирают из:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, где указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5- , C_6- или C_7- арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

в) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил, где m является целым числом

от 0 до 6;

R^{17} и R^{18} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{20} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6;

A^6 , A^7 , A^8 , A^9 , A^{10} , A^{11} , A^{12} и A^{13} представляют собой C, N или ^+N , и либо:

А)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N, и причем система азаиндола может

содержать всего 2 атома N;

$R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9$ и R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{25}H$ и $OR^{25}H$, где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{25}L$ и $OR^{25}L$, где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

с) $R^{25}U$ и $OR^{25}U$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32}, R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6; и где $OR^{25}H, OR^{25}L$ и $OR^{25}U$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C;

либо

В)

A^6, A^7, A^8, A^9 и $A^{10}, A^{11}, A^{12}, A^{13}$ представляют собой C, N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе

индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3, R^4, R^5, R^6 или R^7, R^8, R^9, R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1, 2 или 3 атома С могут быть замещены N или ^+N и которые могут быть замещены $R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$;

$R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}$ и R^{15}, R^{16} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{26}N$ и $OR^{26}N$, где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{26}L$ и $OR^{26}L$, где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5- , C_6- или C_7- арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, гомоциклических или гетероциклических C_5- , C_6- или C_7- ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

в) $R^{26}U$ и $OR^{26}U$, где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; и

д) $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32}, R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил;

X и Y выбирают из группы, состоящей из:

$CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C_1-C_6

алкила;

Е и Е' независимо выбирают из Н, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического С₁-С₆ алкила.

Специалисту в данной области известно, что в случае любой из групп R¹ - R³⁶, где группа R¹, ... R³⁶ ... соединена с другой группой, например L или U, термин "алкил" относится к алкильной группе, в которой по меньшей мере один атом Н замещен L, U или любым атомом или функциональной группой. В одном из вариантов осуществления изобретения соединение формулы А содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В случае, если соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1, модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки, то R¹⁹ в -OR¹⁹ не является Н.

В другом варианте осуществления изобретения R¹⁹ в -OR¹⁹ не является Н во всех соединениях формулы А.

В одном из вариантов осуществления допустимо, чтобы в любой алкиленокси группе -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, которая упоминается в контексте R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅, R₁₆, R₁₇, R₁₈, R₁₉, R₂₀, R₂₁, R₂₂, R₂₃, R₂₃, R₂₄, R₂₅, R₂₆, где x является целым числом от 1 до 50, x представлял собой 2500.

В наиболее общем варианте осуществления настоящего изобретения линкеры L выбирают из группы, состоящей из: -NH₂, -OH, -SH, -C(O)O-, -C(O)Cl, -(CO)O(CO)R²⁷, -C(O)NHNH₂, -C(O), -C(O)OR²⁸, где R²⁷ выбирают из группы, состоящей из Н, алкила и арила; где R²⁸ происходит из замещенного и незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через -O-; азида N₃⁻, -NCO, -NCS, -CHO, -COCH₂I, фосфорамидитила, фталамидида, малеимида, алкиновой группы, в частности -C≡CR³¹, где R³¹ представляет собой Н или С₁-С₈ алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пропаргилглицина, пентаноильной группы, в частности пентаноилхлорида, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина.

Дополнительные аспекты, цели и преимущества объекта настоящего изобретения станут очевидными после изучения подробного описания и чертежей, которые приведены ниже.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

На фиг. 1a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции, а также квантовый выход QY соединения I.

На фиг. 2a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения II.

На фиг. 3a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения III

На фиг. 4a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения IV

На фиг. 5a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения V

На фиг. 6a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VI
На фиг. 7a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VII
На фиг. 8a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VIII
На фиг. 9a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения IX

Фиг. 10 Трех типичным мышам с установленной опухолью 4T1-luc2, подкожно имплантированной в правый бок, инъецировали указанный агент визуализации. (a) Получали изображения мышей с помощью устройства IVIS Spectrum, чтобы показать локализацию опухоли, и (b) БИК флуоресцентные изображения, чтобы показать обнаружение специфических биомаркеров после внутривенного введения 0,7 нмоль конъюгата антитела XXVIII.

На фиг. 11 представлены БИК флуоресцентные изображения мышей с опухолью 4T1-luc2, полученные в указанные моменты времени после внутривенной инъекции зонда XXI, IntegriSense™750, и RGD-ICG.

На Фиг.12 показано оптимальное соотношение фон/шум, рассчитанное для представляющей интерес области у мышей с опухолью 4T1 (a) через 2 часа после инъекции зонда XXI и (b) через 24 часа после инъекции IntegriSense™750.

На фиг.13 показана (a) внутривенная катетерная инъекция 180 нмоль/кг зонда XXI собаке весом 30 кг за 6 часов до операции и (b) локализация опухоли мастоцитомы в правой ноге собаки.

На фиг.14 показана (a) хирургическая процедура резекции опухоли мастоцитомы, корректируемая по флуоресцентному изображению. Опухоль мастоцитомы (сплошная стрелка) четко идентифицируется по ободку вокруг опухоли *in vivo* через 6 часов после инъекции зонда XXI. Нормальная ткань (пунктирная стрелка) имеет незначительное фоновое поглощение зонда XXI. Повышенная способность визуализировать границы опухоли во время хирургической операции, корректируемой по флуоресцентному изображению, обеспечила более полную резекцию опухоли (круглая стрелка), и (b) показано скрытое злокачественное поражение.

На фиг. 15 показано: (a) отсутствие видимой флуоресценции остаточной опухоли после операции и (b) после корректируемой по флуоресценции резекции и получения среза того же образца ободок вокруг опухоли может быть визуализирован *ex vivo*.

На фиг.16 показаны (a) внутривенная катетерная инъекция 92 нмоль/кг зонда XXI собаке весом 33 кг за 10 часов до операции, и (b) локализация опухоли мастоцитомы в носу собаки.

На фиг.17 показаны (a) хирургическая процедура по удалению опухоли мастоцитомы у собаки, корректируемая по флуоресцентному изображению, и (b) после корректируемой по флуоресценции резекции и получения среза того же образца ободок вокруг опухоли может быть визуализирован *ex vivo*.

На фиг.18 показаны (a) криогенное повреждение ткани, отмеченное красителем VI, клетки в месте фокальной обработки сухим льдом показали сильный сигнал флуоресценции, тогда как от жизнеспособных клеток сигнал не был получен, и (b) общий

поток фотонов от обработанных клеток при разных концентрациях.

На фиг. 19 показаны (а) криогенное повреждение ткани, отмеченное красителем XIV, флуоресценция красителя XIV показала сильное накопление флуоресценции в криогенной ткани в месте фокальной обработки сухим льдом, (б) общий поток фотонов от обработанной ткани при различных концентрациях.

На фиг. 20 показан сигнал, измеренный после инъекции, в виде функции времени.

На фиг. 21 показаны сигнал и контроль в виде функции времени.

На фиг. 22 показано отношение сигнала к контролю в виде функции времени.

На фиг. 23 показан многолуночный планшет и уровень флуоресценции.

На фиг. 24 показаны спектры флуоресценции соединения VIII и соединения VI.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем описании, включены во всей своей полноте в виде ссылки. Обсуждаемые в настоящем описании публикации и заявки предназначены исключительно для их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничто в настоящем описании не должно быть истолковано как признание того, что объект изобретения не может быть датирован датой, более ранней чем указанная публикация, в силу наличия более раннего изобретения. Кроме того, материалы, методы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

В случае противоречия преимущественную силу имеет настоящее описание, включая определения. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, обычно понимаемые специалистом в данной области, к которой относится настоящее изобретение. Используемые в настоящем описании определения, приведенные ниже, предоставлены для облегчения понимания объекта изобретения, раскрытого в настоящей заявке.

Термин “содержать” обычно используется в смысле “включать”, т.е. допускает наличие одной или более функций или компонентов. Также, используемая в описании и формуле изобретения форма “содержащий” может включать аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах “состоящий из” и/или “по существу состоящий из”.

Используемая в описании и формуле изобретения форма единственного числа включает ссылки на множественное число, если из контекста в явном виде не следует иное.

Используемый в описании и формуле изобретения термин “и/или”, например во фразе, такой как “А и/или В”, включает “А и В”, “А или В”, “А” и “В”.

Красители формулы А могут содержать различные заместители в различных положениях. Специалистам в данной области известны некоторые принципиальные различия между этими заместителями, обусловленные их химическими свойствами и влиянием на физические и химические свойства соответствующего красителя, в котором они присутствуют. Квалифицированный специалист способен различить следующие типы заместителей:

Заместители, влияющие на оптические свойства красителя (группы модуляции

оптических свойств, группы, модифицирующие оптические свойства)

Заместители этого типа присоединены в положении Q красителя. В этом случае они присоединены по сопряженным двойным связям, отвечающим за оптические свойства, и, следовательно, будут оказывать на них влияние. Как правило, эти заместители представляют собой неорганические или органические группы, которые известны специалисту в данной области как модулирующие оптические свойства красителей, имеющих структурные характеристики красителей по настоящему изобретению, в частности, систему сопряженных двойных связей. В контексте настоящей заявки оптические свойства включают: поглощение, флуоресценцию, квантовый выход флуоресценции, стоксов сдвиг, время жизни, фотостабильность и другие свойства, известные специалисту в данной области. В контексте настоящего изобретения модуляция флуоресценции представляет собой изменение длины волны излучения красителя, содержащего такой модифицирующий флуоресценцию заместитель, по сравнению с красителем, не содержащим модифицирующего флуоресценцию заместителя.

Примеры заместителей этого типа (модифицирующей оптические свойства группы) включают: Cl, Br, I; R¹⁹, -OR¹⁹, -SR¹⁹ и -NR¹⁹R²⁰, где R¹⁹ и R²⁰ независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_{1-C₆} алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_{1-C₆} алкильной группой.

Приведенные выше определения не ограничены R¹⁹ и/или R²⁰, которые представляют собой органический остаток в заместителе гетероцикла, являющегося частью системы сопряженных двойных связей, и, конечно, применяются ко всем другим положениям и заместителям в молекуле, которые определены в отношении красителей согласно A, в общих и всех предпочтительных вариантах осуществления, к которым может быть присоединен модифицирующий оптические свойства заместитель и/или к такому положению, в котором этот заместитель оказывает влияние на оптические свойства.

В зависимости от обстоятельств модифицирующая оптические свойства группа, определенная выше, также может содержать модифицирующую физиохимию группу и/или линкер, см. ниже.

Кроме того, специалисту в данной области известно, что не все из упомянутых выше групп будут влиять на оптические свойства красителей по настоящему изобретению в каждом случае, поскольку это зависит от химического состава и/или флуоресцентных свойств соответствующего красителя.

Примеры предпочтительных модифицирующих оптические свойства групп включают: Cl, Br, I; 1-циклогексилпиперазин, фенил; -O-фенил; -S-фенил; -N(H)-фенил; и причем каждая из групп: фенил, -O-фенил, S-фенил, -N(H)-фенил, может быть однократно

или многократно замещена C_1 - C_6 алкилом; и причем фенильная группа может быть замещена модифицирующей физиохимией группой U, выбранной из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, т.е. 0, 1, 2, 3, 4, 5 и 6; и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8; более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; вышеупомянутые группы предпочтительны в комбинации с общими, предпочтительными и наиболее предпочтительными вариантами осуществления других заместителей Z, Q, R^1 - R^{30} , A^6 - A^{16} и X и Y.

Заместители, влияющие на физиохимические свойства красителя (“модификаторы физиохимии”, “модифицирующая физиохимию группа”, “модифицирующая физиохимические свойства группа”, “модулирующая физиохимию группа”)

Заместители этого типа, обычно обозначаемые в данной заявке U, влияют на различные свойства красителя. К этим свойствам, в частности, относятся: растворимость красителя, стабильность красителя и, в зависимости от обстоятельств, другие свойства, известные специалисту в данной области. Таким образом, в частности, эти заместители делают соответствующий краситель более водорастворимым или более диспергируемым, в частности, в средах для введения. Кроме того, и в зависимости от случая, модифицирующая физиохимию группа может увеличивать специфичность связывания, увеличивать или уменьшать суммарный молекулярный заряд, снижать иммуногенность или токсичность или изменять профили клеточного поглощения, фармакокинетические профили или профили биораспределения по сравнению с немодифицированными биоконъюгированными нацеливающими агентами или биоконъюгированными агентами визуализации.

Дополнительными эффектами модификаторов физиохимии могут быть повышение селективности связывания нацеливающего агента с рецепторами на клеточной поверхности, отрицательно заряженными апоптотическими клеточными поверхностями по сравнению с другими отрицательно заряженными эндогенными клеточными поверхностями, снижение неспецифической проницаемости клеточной мембраны для нацеливающего агента и уменьшение неспецифического накопления нацеливающего агента в тканях при введении живому животному.

Модификаторы физиохимии могут оказывать заметное влияние на биораспределение *in vivo* и выведение, в частности, при модуляции растворимости.

Как правило, модификаторы физиохимии представляют собой функциональные группы, которые известны специалисту в данной области как имеющие влияние на растворимость. Примеры включают группы: $-SO_3^-$; $-C(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем

R^{34} с образованием четвертичного атома N, и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила. В случае $-(CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_mNHR^{32}$ и $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$ содержат дополнительный заместитель R^{34} , соединенный с атомом N с образованием четвертичного атома N, этот заместитель R^{34} предпочтительно является идентичным указанным другим заместителям, т.е. по меньшей мере одному из них, если R^{32} и R^{33} являются разными, или обоим, когда R^{32} и R^{33} являются одинаковыми. Это означает, что R^{32} и R^{33} , и R^{34} являются идентичными и формируют группу $-(CH_2)_mN^+R^{32}R^{33}R^{34}$ или группу $-(CH_2)_mN^+H_3$, где m является целым числом от 0 до 6, причем R^{32} , R^{33} и R^{34} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил.

Вышеупомянутые функциональные группы могут быть присоединены непосредственно к атому C или N, который является частью основной структуры красителя согласно A, или эти группы могут быть присоединены к такому атому N или C через алкильную группу, как показано формулами $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, т.е. 1, 2, 3, 4, 5 и 6; и где R^{32} , R^{33} и R^{34} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8; более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; или эти группы могут быть присоединены к заместителю атома C или N, который является частью основной структуры красителя, выраженной $-R^{19}U$, $-OR^{19}U$, $-SR^{19}U$ и $-NR^{19}UR^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; или группы $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из групп, определенных выше. Группы, присоединенные к атому C или N красителя, с одной стороны, и модифицирующая физиохимию группа, с другой стороны, в контексте настоящего изобретения также называются “спейсером” или “спейсерной группой”. Приведенное выше определение не ограничено R^{19} , который представляет собой органический остаток в заместителе гетероцикла, являющегося частью системы сопряженных двойных связей, но, конечно, применяется ко всем другим положениям и заместителям в молекуле, которые определены в отношении красителей согласно S, в общем и всех предпочтительных вариантах осуществления, к которым может быть присоединена модифицирующая физиохимию группа.

Заместители, служащие в качестве “линкера” и превращающиеся в “связующую группу”

Заместители этого типа, обычно обозначаемые L в настоящей заявке, служат для связывания красителя с нацеливающим агентом. Как правило, эти линкеры представляют собой функциональные группы, которые известны специалисту в данной области как способные связывать молекулу с другой молекулой в результате химической реакции с образованием “связывающей группы” между красителями по изобретению и связывающим агентом. В результате химической реакции между красителем и связывающим агентом обычно образуется ковалентная связь. Примеры линкеров включают группы $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, $-(\text{CO})\text{O}(\text{CO})\text{R}^{27}$, где R^{27} выбирают из группы, состоящей из H, алкила и арила; $-\text{C}(\text{O})\text{NHNH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{28}$, где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через $-\text{O}-$; азида N_3^- ; $-\text{NCO}$, $-\text{NCS}$, $-\text{CHO}$, $-\text{COCH}_2\text{I}$, фосфорамидитила, фталамидила, малеимида, алкиновой группы, в частности $-\text{C}\equiv\text{CR}^{31}$, где R^{31} представляет собой H или C_1 - C_8 алкильную группу. Примеры дополнительных функциональных групп, которые могут служить в качестве линкера, включают сульфонатные эфиры, алкилгалогениды, ацилгалогениды, пропаргилглицин, пентаноильную группу (такую как в пентаноилхлориде), пентиноевую кислоту, пропиоловую кислоту, 6-аминобензо[d]тиазол-2-карбонитрил, 6-гидроксibenzo[d]тиазол-2-карбонитрил, 1,2-аминотиоловую группу, в частности L-цистеин или D-цистеин. Эти линкеры могут реагировать с комплементарными группами, присутствующими на нацеливающем агенте, в реакциях, известных специалистам в данной области.

Эти группы могут быть присоединены непосредственно к атому C или N, который является частью основной структуры красителя согласно A, или эти группы могут быть связаны с основной структурой через дополнительную группу, присоединенную к атому C или N, который является частью основной структуры красителя, выраженной R^{23}L , где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5 -, C_6 - или C_7 -арильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец; $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом. Группы, присоединенные к атому C или N красителя, с одной стороны, и линкер, с другой стороны, в данном контексте также называются “спейсером” или “спейсерной группой”. Приведенное выше определение не ограничено R^{23} , который представляет собой органический остаток в заместителе гетероцикла, являющегося частью системы сопряженных двойных связей, и, конечно, применяется ко всем другим положениям и заместителям в молекуле, которые определены в отношении красителей согласно S, в общем и всех предпочтительных вариантах осуществления, к которым может быть присоединена модифицирующая растворимость группа.

“Клик” химия представляет собой один из возможных способов связывания

флуоресцентных красителей по изобретению с нацеливающими агентами. В дополнительном варианте осуществления “клик-химию” можно использовать для связывания красителя с нацеливающим агентом посредством химической реакции с линкером. В “клик”-химии используются простые и надежные реакции, такие как катализируемое медью циклоприсоединение азидов и алкинов, для создания межмолекулярных связей. Описание “клик”-химии см. Kolb H.C; Finn, M.G.; Sharpless, K.W. *Angew. Chem.* 2001, 40, 2004. Присоединение (или лигирование) двух фрагментов с образованием более крупной молекулы или структуры часто осуществляют с помощью так называемой “клик-химии”, описанной Sharpless et al. *Angew. Chem, Int. Ed.* 40:2004 (2001). Этот термин используется для описания набора бимолекулярных реакций между двумя различными реагентами, такими как азиды и ацетилены. Образование 1,2,3-триазолов при 1,3-диполярном циклоприсоединении азидов по тройной связи известно специалисту в данной области, и также известно, что эта реакция осуществима даже в физиологических условиях, см. например, US 7,807,619, выданный на имя Bertozzi. Другая новая “клик” реакция на основе тиолов включает эффективную конденсацию между цианогруппой 2-циано-6-аминобензотиазола (CBT) (или 2-циано-6-гидроксibenзотиазола) и 1,2-аминотиоловой группой L-цистеина (или D-цистеина) с получением функционального тиазола, который можно контролировать с помощью pH, восстановления и фермента, о чем сообщают White, et al. *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963). На сегодняшний день эта клик-реакция конденсации успешно используется для разработки интеллектуальных оптических датчиков изображения.

Заместители других типов

В определении А упоминаются другие заместители, которые не обладают каким-либо из вышеперечисленных эффектов или обладают ими лишь в незначительной степени. Эти заместители другого типа могут, например, присутствовать в молекуле исходного коммерчески доступного соединения, или они могут облегчать синтез соответствующего красителя, или они присутствуют по другим причинам, известным специалисту в данной области. Группы, которые не обладают указанными выше эффектами и, следовательно, принадлежат к настоящей группе, известны специалисту.

В отличие от других областей, где небольшая модификация молекулы часто может оказывать выраженное влияние на свойства молекулы (например, в области фармацевтически активных соединений), молекулы по изобретению (красители) обеспечивают различные возможности для присоединения различных заместителей, которые не изменяют или, по существу, не изменяют свойства молекул. Предполагается, что заместитель Q является исключением из этого из-за близости его расположения к системе сопряженных двойных связей в заместителях Q, что означает, что модификация Q может оказывать влияние на оптические свойства молекулы. Однако это зависит от каждого отдельного случая.

В других положениях молекулы, в которых может присутствовать заместитель, влияние модификации заместителя на флуоресцентные свойства в большинстве случаев не

будет сильно выраженным. Как следствие, например, модифицирующая физиохимию группа и/или линкер могут быть присоединены в большом количестве положений в молекулах А, иногда на практике даже к любому положению, которые являются доступными с точки зрения синтеза и которые не оказывают отрицательного влияния на цель соответствующего заместителя. Например, линкер (служащий для прикрепления нацеливающего агента к красителю) не должен присоединяться в положении, которое является труднодоступным, например, из-за стерических препятствий. Другим примером является тот факт, что к красителям по изобретению часто могут быть присоединены инертные группы, такие как, например, алкильные группы разной длины, при этом краситель по-прежнему будет пригоден для применения по назначению относительно своего аналога, не имеющего заместителя в соответствующем положении, поскольку важные свойства, такие как растворимость и/или оптические свойства, остаются не затронутыми или по существу не затронутыми. Таким образом, квалифицированный специалист осведомлен о том, что большое количество групп может быть присоединено к различным участкам без (существенного) изменения свойств молекул (а именно физиохимии, растворимости, оптических свойств, например, флуоресцентных свойств).

Указанные выше группы часто служат в качестве “спейсера”.

Когда, как указано выше, “R” представляет собой единичную связь (например, в R²³U, где в отношении R²³ указано, что “R²³U представляет собой единичную связь”), это относится к случаю, когда группа U связана непосредственно с соответствующим участком красителя через химическую связь, как правило, через одинарную связь.

Квалифицированному специалисту понятно, что настоящая заявка включает не только случай, когда присутствует один линкер L (обычно присоединенный через спейсерную группу) или одна модифицирующая физиохимию группа U (которая может быть присоединена через спейсерную группу или без нее), но также и случай, когда в красителе присутствуют 2, 3, 4 или более групп U и 2, 3, 4 или более групп L. В предпочтительном варианте осуществления в красителях присутствуют 1 или 2 группы L по изобретению.

Специалисту в данной области известно, что красители по изобретению должны быть инертными и стабильными в физиологических условиях, поскольку во время мониторинга или диагностики заболевания любая реакция является нежелательной, в частности, когда мониторинг или диагностику осуществляют *in vitro*. Это означает, что следует избегать приготовления красителей, несущих группы, являющиеся реакционноспособными в условиях проведения мониторинга/диагностики (т.е., группы, подверженные химическим реакциям в типичных условиях, применяемых в процессе мониторинга или диагностики) в конкретных физиологических условиях. Как правило, группы, присоединенные к красителям по изобретению, если они не служат для модуляции физиохимических свойств и/или оптических свойств, представляют собой инертные группы, которые демонстрируют только низкую максимальную реакционную способность и которые в целом не влияют на физиохимические свойства и/или оптические свойства.

Часто эти группы служат в качестве “спейсера”, содержащего группу, модулирующую физикохимические свойства, и/или линкер в или на конце цепи. В частности, в случае линкера соответствующий линкер, присоединенный к цепи (где цепь часто представляет собой линейный или разветвленный, нециклический или циклический, замещенный или незамещенный C_{1-20} алкил, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и гомоциклические и гетероциклические 5-, 6- и 7-членные ароматические кольца, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, или группу $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50), не должен находиться слишком близко к основной структуре для предотвращения стерических взаимодействий между красителем и связывающим агентом, который должен быть присоединен.

Соответственно, спейсерная группа не должна проявлять или может иметь только низкую химическую активность (что также относится к основной структуре красителя) и не должна оказывать влияния или возможно только незначительное влияние, не имеющее практического значения, в частности, на оптические свойства получаемого красителя. Соответственно, в контексте настоящей заявки можно использовать огромное количество спейсеров, имеющих алкильные цепи различной длины и/или разного размера и ароматические группы разной природы, которые не изменяют оптические свойства красителя или изменяют их лишь в минимальной степени.

Что касается физикохимических свойств красителя, его отношение со спейсером может быть более тонким. Поскольку растворимость является компонентом физикохимических свойств, а растворимость красителя может изменяться в зависимости от длины и природы спейсера (алкильной, аралкильной или ароматической группы, алкиленокси группы; длины цепи в случае алкила, а также размера кольца и наличия гетероатомов в ароматическом кольце) эти параметры также могут влиять на физикохимические свойства. Как правило, алкиленокси группы повышают растворимость молекулы в воде, а ароматические группы обычно снижают растворимость в воде. Однако влияние этих параметров, как правило, проявляется в меньшей степени, чем в случае групп, модулирующих физикохимические свойства.

Из вышесказанного следует, что природа спейсеров может варьировать в широких пределах, указанных в соответствующих им определениях, без существенного влияния на оптические и/или физикохимические свойства красителя. Последние обычно регулируют путем выбора модуляторов оптических свойств и/или модуляторов физикохимических свойств. Специалисту в данной области известно, как регулировать требуемые свойства красителя путем выбора вышеуказанных параметров.

Термин “алкил” относится к алифатической насыщенной углеводородной группе, которая может быть линейной или разветвленной, включая метил (C_1 алкил), этил (C_2 алкил), *n*-пропил, изо-пропил (C_3 алкил), *n*-бутил, изо-бутил, втор-бутил и трет-бутил (C_4

алкил), н-пентил (амил), 2-пентил (втор-пентил), 3-пентил; 2-метилбутил, 3-метилбутил (изо-пентил или изо-амил), 3-метилбут-2-ил, 2-метилбут-2-ил; 2,2-диметилпропил (неопентил) (C_5 алкил), гексильную группу (C_6 алкил), включая все изомеры, гептильную группу (C_7 алкил), включая все изомеры, октильную группу (C_8 алкил), включая все изомеры, нонильную группу, включая все изомеры (C_9 алкил), децильную группу, включая все изомеры (C_{10} алкил), ундецильную группу, включая все изомеры (C_{11} алкил), додецильную группу, включая все изомеры (C_{12} алкил), тридецильную группу, включая все изомеры (C_{13} алкил), тетрадецильную группу, включая все изомеры (C_{14} алкил), пентадецильную группу, включая все изомеры (C_{15} алкил), гексадецильную группу, включая все изомеры (C_{16} алкил), гептадецильную группу, включая все изомеры (C_{17} алкил), октадецильную группу, включая все изомеры (C_{18} алкил), нонадецильную группу, включая все изомеры (C_{19} алкил), и C_{20} алкильную группу, включая все изомеры, известные специалисту в данной области.

Термин “алкил” также относится к алифатической насыщенной циклической углеводородной группе, которая может иметь алкильные заместители. Примеры включают циклопропил (C_3 циклоалкил), циклобутил (C_4 циклоалкил), циклопентил (C_5 циклоалкил), циклогексил (C_6 циклоалкил), циклогептил (C_7 циклоалкил) и циклооктил (C_8 циклоалкил). Каждый водород циклоалкильного углерода может быть замещен алкильным заместителем.

Термин “фенил” относится к группе $-C_6H_5$, известной специалисту в данной области. Ароматическая группа фенильной группы может быть замещена 1 или 2 C_1 - C_4 алкильными группами и/или 1 или 2 атомами Cl, Br, I.

Термин “гомоциклическая 5-, 6- или 7-членная ароматическая группа” известен специалисту в данной области. Ароматические группы известны специалисту в данной области, которому также известно, что типичные представители имеют 5, 6 или 7 членов в своем цикле и гетероатомы, которые могут присутствовать. Типичные примеры гетероатомов в контексте настоящей заявки представляют собой N, O и A. В контексте настоящей заявки N и O являются предпочтительными. Неограничивающие примеры включают фенил, пиридил (6-членные), пиррол, фурил, тиофен (5-членные), циклогептатриенил (7-членный). Ароматический гетероцикл может быть присоединен к соответствующему месту в красителе через гетероатом или через атом C.

Гомоциклическая 6-членная ароматическая группа представляет собой фенил или пиридил, предпочтительно фенил.

“Арил” или “Ar” или “ароматическая группа” относится к одновалентной ароматической карбоциклической группе, состоящей из 5-18 атомов углерода, имеющей одно кольцо, такое как C_6 в фениле, или анион, такой как C_5 циклопентадиенильный анион, или кольцевую систему, имеющую несколько конденсированных колец, таких как как в антрацениле, нафтиле, фенантрениле, причем конденсированные кольца могут быть связаны атомом или ионом переходного элемента, такого как железо, с двумя циклопентадиенильными анионами в ферроцене, конденсированные кольца могут быть или не быть ароматическими, при условии, что присоединение осуществляется через атом

ароматического кольца, такого как дигидроиндолил, дигидробензтиазолил, и других частично гидрированных ароматических групп. Если иное не ограничено определением арильного заместителя, который определен группами, подчиняющимися правилу Хюккеля относительно числа π -электронов: $4n+2$ (n - целое число), такие арильные группы могут быть необязательно замещены 1-5 заместителями или 1-3 заместителями.

“Амино” относится к группе $-\text{NH}_2$.

“Замещенный amino” относится к группе $-\text{NRR}$, в которой каждый R независимо выбирают из группы, состоящей из водорода, C_1 - C_8 алкила, который может быть замещенным или незамещенным, C_5 - C_7 циклоалкила, который может быть замещенным или незамещенным, и гомоциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группы, при условии, что по меньшей мере один R не является водородом.

“Азидо” относится к группе $-\text{N}_3$.

“Карбоксил”, “карбокси” или “карбоксилат” относится к $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ или его солям, происходящим из CO_2^- .

“Циано” или “нитрил” относится к группе $-\text{CN}$.

“Тиоционат” относится к группе $-\text{SCN}$.

“Изотиоционат” относится к группе $-\text{NCS}$.

“Гало”, “галогенид” или “галоген” относится к F, Cl, Br и I, предпочтительно к Cl, Br и I.

“Гидрокси” или “гидроксил” относится к группе $-\text{OH}$.

“Гетероарил” относится к ароматической группе, содержащей в кольце от 2 до 15 атомов углерода, например от 3 до 10 атомов углерода и от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота (называемой в настоящей заявке аза-) и серы. Такие гетероарильные группы могут иметь одно кольцо (например, пиррол, пиридил, имидазолил или фурил) или несколько конденсированных колец в кольцевой системе (например, как в группах, таких как, индолизинил, хинолинил, бензофуран, бензимидазолил или бензотиенил), где по меньшей мере одно кольцо в кольцевой системе является ароматическим, и по меньшей мере одно кольцо в кольцевой системе является ароматическим, при условии, что присоединение осуществляется через атом ароматического кольца. В некоторых вариантах осуществления атом(ы) азота и/или серы кольца гетероарильной группы не обязательно являются окисленными с образованием N-оксида ($\text{N}\rightarrow\text{O}$), сульфинильных или сульфонильных фрагментов. Этот термин включает, например, пиридинил, пирролил, индолил, тиофенил и фуранил. Если иное не ограничено определением гетероарильного заместителя, такие гетероарильные группы могут быть необязательно замещены 1-5 заместителями или 1-3 заместителями, выбранными из ацилокси, гидрокси, тиола, ацила, алкила, алкокси, алкенила, алкинила, циклоалкила, циклоалкенила, замещенного алкила, замещенного алкокси, замещенного алкенила, замещенного алкинила, замещенного циклоалкила, замещенного циклоалкенила, амина, замещенного амина, аминацила, ациламино, алкарила, арила, арилокси, азидо, карбоксила, карбоксилалкила, циано, галогена, нитро, гетероарила, гетероарилокси, гетероциклила,

гетероциклоокси, аминоксиксикс, оксикациламино, тиоалкокси, замещенного тиоалкокси, тиоарилокси, тиогетероарилокси, сульфидатных и сульфидатных эфиров-SO-алкила, -SO-замещенного алкила, -SO-арила, -SO-гетероарила, -SO₂-алкила, -SO₂-замещенного алкила, -SO₂-арила, -SO₂-гетероарила, -SO₃-M1, диэфиров фосфата, примеры которых включают -OPO₃-(M)алкил, -OPO₃-(M)арил, -OPO₃-(M)гетероарил, OPO₃-гетероарилокси, триэфиров фосфата, таких как -OPO₃-диалкил, -OPO₃-(алкил)арил, -OPO₃-диарил, -OPO₃-(алкил)гетероарил, -OPO₃-(арил)гетероарил, -OPO₃-дигетероарил, -OPO₃M2, -OPO₃-2M1, где M1 и M2 являются одновалентными и двухвалентными катионами.

“Гидроксикамино” относится к группе -NHON.

“Нитро” относится к группе -NO₂.

“Тиол” относится к группе -SH.

“Тиоксо” или термин “тиокето” относится к атому (=S).

“Уреидо” относится к группе NH-CO-NH-, и “тиоуреидо” относится к группе -NH-CS-NH-.

Термин “N-гидроксикасукцинимид” представляет собой N-гидрокси производное сукцинимиды.

Термин замещенный или незамещенный N-гидроксикасукцинимид относится к N-гидрокси производному сукцинимиды, которое замещено группой -SO₃⁻ в 5-членном цикле.

Термины “фосфорамидитил” и “фосфорамидит”, “фталамидил” и “фталамид” и “малеимид” известны специалисту в данной области техники.

Термин “сульфидатный эфир”, “алкилгалогенид” и “ацилгалогенид” являются активно используемыми терминами в данной области и известны квалифицированному специалисту.

Общие и предпочтительные варианты осуществления изобретения определены ниже.

В самом общем варианте осуществления флуоресцентного красителя по изобретению, Z выбирают из группы, состоящей из N, NR¹⁷, +NR¹⁷R¹⁸.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения Z представляет собой N или +N, NR¹⁷ или +NR¹⁷R¹⁸.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения Z представляет собой N или +N, NR¹⁷ или +NR¹⁷R¹⁸.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения Q независимо представляет собой H или выбирают из групп а), б) и с), состоящих из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R¹⁹U, -OR¹⁹U, -SR¹⁹U и -NR¹⁹R²⁰U, где R¹⁹ представляет собой единичную связь; или где R¹⁹ и R²⁰ независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим C₃-

C_6 - или C_7 ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимические свойства группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} и R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил; и где в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N , и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метила или этила;

б) $R^{21}L$, $-OR^{21}L$, $-SR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$, где R^{21} и R^{22} может представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H , линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H , линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N , к которому они присоединены образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N , причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1 - C_6 алкильной группой, в частности 4-

циклогексилпиперазинилом.

В одном из вариантов осуществления в пределах этого наиболее общего варианта осуществления изобретения R^{19} в $-OR^{19}$ не является H. Это, в частности, имеет место, если соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В предпочтительных вариантах осуществления Q независимо представляет собой H или выбирают из групп a), b) и c), состоящих из:

a) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{19}U$, $-OR^{19}U$, $-SR^{19}U$ и $-NR^{19}R^{20}U$; где R^{19} представляет собой единичную связь; или где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; и гомоциклических 6-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N, и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H, и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила;

b) $R^{21}L$, $-OR^{21}L$, $-SR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$, где R^{21} и R^{22} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

c) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно

замещена гомоциклической C_6 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; или где R^{19} и R^{20} , вместе с атомом N, к которому они присоединены образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1 - C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазином.

В одном из вариантов осуществления в пределах этого предпочтительного варианта осуществления изобретения R^{19} в $-OR^{19}$ не является H. Это, в частности, имеет место, если соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения, Q независимо представляет собой H или выбирают из групп a), b) и c), состоящих из:

a) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{19}U$, $-OR^{19}U$, $-SR^{19}U$ и $-NR^{19}R^{20}U$, где R^{19} представляет собой единичную связь; или где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклическими 6-членными ароматическими группами, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N, и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила,

b) $R^{21}L$, $-OR^{21}L$, $-SR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$, где R^{21} и R^{22} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и L

представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1-C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазинилом.

В одном из вариантов осуществления в пределах этого более предпочтительного варианта осуществления изобретения R^{19} в $-OR^{19}$ не является H. Это, в частности, имеет место, если соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В еще одном более предпочтительном варианте осуществления изобретения Q независимо представляет собой H или выбирают из групп a), b) и c), состоящих из:

a) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{19}U$, $-OR^{19}U$, и $-NR^{19}R^{20}U$, где R^{19} представляет собой единичную связь; или где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}U$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил, и где в случае $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $-(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N, и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H, алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила,

b) $R^{21}L$, $-OR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$, где R^{21} и R^{22} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-

членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическими в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 6; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{19} , $-OR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; или причем R^{19} и R^{20} , вместе с атомом N, к которому они присоединены образуют 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1-C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазином.

В одном из вариантов осуществления в пределах этого еще более предпочтительного варианта осуществления изобретения R^{19} в $-OR^{19}$ не является H. Это, в частности, имеет место, если соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения R^1 и R^2 не являются H или независимо выбирают из групп:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50;

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5 -, C_6 - or C_7 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения R^1 и R^2 отсутствуют, независимо являются H или выбирают из группы:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20;

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой

алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов, в частности метил или этил;

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения R^1 и R^2 отсутствуют, являются H или независимо выбирают из группы:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических колец; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20;

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил.

В еще более предпочтительном варианте осуществления R^1 и R^2 отсутствуют, представляют собой H или независимо выбирают из группы:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических колец; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6;

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 8; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-$

$(\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения R^{17} и R^{18} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50

б) R^{24}L , где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{20} не является ароматическим; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{24}U , где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более

предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения R^{17} и R^{18} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклической 6-членной ароматической группы, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

в) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения R^{17} и R^{18} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12;

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил.

В еще более предпочтительном варианте осуществления, R^{17} и R^{18} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6;

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; -

$(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой С, N или ^+N , и либо

А)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N, и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R^{25}H и OR^{25}H , где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50;

б) R^{25}L и OR^{25}L , где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

в) R^{25}U и OR^{25}U , где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где

R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6; и где OR^{25H} , OR^{25L} и OR^{25U} присутствуют только, когда О присоединен к атому С;

либо

В)

A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой С, N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3 , R^4 , R^5 , R^6 или R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1, 2 или 3 атомов С могут быть замещены N или ^+N и которые могут быть замещены R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} ; R^{18} ;

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R^{26H} и OR^{26H} , где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и

б) R^{26L} и OR^{26L} , где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5- , C_6- или C_7- арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических C_5- , C_6- или C_7- ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{26U} и OR^{26U} , где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом

от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой C, N, ^+N и либо

A)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

a) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R^{25}H и OR^{25}H , где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20;

b) R^{25}L и OR^{25}L , где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

c) R^{25}U и OR^{25}U , где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более

предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил; и где OR^{25H} , OR^{25L} и OR^{25U} присутствуют только, когда О присоединен к атому С;

либо

В)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3 , R^4 , R^5 , R^6 или R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , с образованием трехядерного кольца, в котором 1 или 2 атома С могут быть замещены N, и которые могут быть замещены R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} ;

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R^{26H} и OR^{26H} , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20;

б) R^{26L} и OR^{26L} , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

с) R^{26U} и OR^{26U} , где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил; и где OR^{26H} , OR^{26L} и OR^{26U} присутствуют только, когда О присоединен к атому С.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения, A_6, A_7, A_8, A_9 и $A_{10}, A_{11}, A_{12}, A_{13}$ представляют собой C, N или ^+N и либо

А)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N;

$R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}$ независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{25}N$ и $OR^{25}N$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$ где x является целым числом от 1 до 12;

б) $R^{25}L$ и $-OR^{25}L$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

с) $R^{25}U$ и $-OR^{25}U$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группы; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32}, R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; где $OR^{25}N$, $-OR^{25}L$ и $-OR^{25}U$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C;

либо

В)

A_6, A_7, A_8, A_9 и $A_{10}, A_{11}, A_{12}, A_{13}$ представляют собой C, N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3, R^4, R^5, R^6 или R^7, R^8, R^9, R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1 или 2 атома C могут быть замещены N, и которые могут быть замещены $R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}$ и R^{15}, R^{16}, R^{17} ;

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{26}H$ и $OR^{26}H$, где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12;

б) $R^{26}L$ и $OR^{26}L$, где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

в) $R^{26}U$, и $OR^{26}U$, где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил, и где $OR^{26}H$, $OR^{25}L$ и $OR^{25}U$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C;

В еще более предпочтительном варианте осуществления A_6 , A_7 , A_8 , A_9 и A_{10} , A_{11} , A_{12} , A_{13} представляют собой C, N или ^+N и либо:

А)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; $R^{25}H$ и $OR^{25}H$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 6;

б) $R^{25}L$ и $-OR^{25}L$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может

быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

с) R^{25}U и $-\text{OR}^{25}\text{U}$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил; и где OR^{25}H , $-\text{OR}^{25}\text{L}$ и $-\text{OR}^{25}\text{U}$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C ;

либо

В)

A_6 , A_7 , A_8 , A_9 и A_{10} , A_{11} , A_{12} , A_{13} представляют собой C , N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3 , R^4 , R^5 , R^6 или R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1 или 2 атома C могут быть замещены N , и которые могут быть замещены R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} ;

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl , Br , I ; R^{26}H и OR^{26}H , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6;

б) R^{26}L и OR^{26}L , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

с) R^{26}U и OR^{26}U , где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-

членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 6; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{C(O)O}^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{P(O)O}_2^{2-}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил, и где OR^{26}H , OR^{25}L и OR^{25}U присутствуют только, когда O присоединен к атому С;

В наиболее общем варианте осуществления изобретения X и Y выбирают из группы, состоящей из: $\text{CR}^{29}\text{R}^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H , незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкила.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения X и Y представляют собой $\text{CR}^{29}\text{R}^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H , незамещенного и замещенного нециклического линейного и разветвленного $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения X и Y представляют собой $\text{CR}^{29}\text{R}^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H , незамещенного и замещенного $\text{C}_1\text{-C}_2$ алкила.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения E и E' независимо выбирают из H , незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкила.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, E and E' независимо выбирают из H и незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения E и E' независимо выбирают из H , метила и этила, предпочтительно метила.

Алкиленокси группа $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, упоминаемая в контексте $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4, \text{R}_5, \text{R}_6, \text{R}_7, \text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}, \text{R}_{11}, \text{R}_{12}, \text{R}_{13}, \text{R}_{14}, \text{R}_{15}, \text{R}_{16}, \text{R}_{17}, \text{R}_{18}, \text{R}_{19}, \text{R}_{20}, \text{R}_{21}, \text{R}_{22}, \text{R}_{23}, \text{R}_{23}, \text{R}_{24}, \text{R}_{25}, \text{R}_{26}$, имеет длину, определенную x , где x является целым числом от 1 до 50, предпочтительно от 1 до 20, более предпочтительно от 1 до 12, еще более предпочтительно от 1 до 8, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8, или x может быть целым числом от 1 до 6.

В одном из вариантов осуществления в любой алкиленокси группе $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, упоминаемой в контексте $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4, \text{R}_5, \text{R}_6, \text{R}_7, \text{R}_8, \text{R}_9, \text{R}_{10}, \text{R}_{11}, \text{R}_{12}, \text{R}_{13}, \text{R}_{14}, \text{R}_{15}, \text{R}_{16}, \text{R}_{17}, \text{R}_{18}, \text{R}_{19}, \text{R}_{20}, \text{R}_{21}, \text{R}_{22}, \text{R}_{23}, \text{R}_{23}, \text{R}_{24}, \text{R}_{25}, \text{R}_{26}$, x может быть целым числом от 1 до 2500.

$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{R}^7, \text{R}^8, \text{R}^9, \text{R}^{10}, \text{R}^{11}, \text{R}^{12}, \text{R}^{13}, \text{R}^{14}, \text{R}^{15}, \text{R}^{16}, \text{R}^{17}, \text{R}^{18}, \text{R}^{19}, \text{R}^{20}, \text{R}^{21}, \text{R}^{22}, \text{R}^{23}, \text{R}^{24}, \text{R}^{25}, \text{R}^{26}$ имеют значения, определенные для общего, предпочтительного, более предпочтительного и еще более предпочтительного вариантов осуществления формулы А. В дополнительном варианте осуществления и в случае, когда указанные выше остатки могут представлять собой H , алкильную группу, ароматическую группу, алкиленокси

группу, любой из вышеупомянутых остатков может иметь любое из следующих предпочтительных значений: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₆ алкила (метила, этила, пропила, бутила, пентила или гексила), причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, предпочтительно фенилом; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, предпочтительно фенила, причем предпочтительно один из R¹⁹ и R²⁰ не является ароматическим в случае -NR²¹R²²; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 8, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8, или целым числом от 1 до 6. Для R¹⁹ и R²⁰ и случая, где R¹⁹ и R²⁰ вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл, этот гетероцикл может содержать один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C₁-C₆ алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазинилом. Каждый из указанных выше остатков R¹-R²⁶ может иметь указанные выше значения в комбинации с любым из общих, предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных значений любого из других заместителей, т.е. например, R¹⁹ может иметь указанное выше значение, и любой из других заместителей R¹-R¹⁸ и R²⁰-R²⁶ может иметь общие, предпочтительные, более предпочтительные, еще более предпочтительные и наиболее предпочтительные значения. Это включает случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, определенную в контексте настоящей заявки.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения линкеры L выбирают из группы, состоящей из: -NH₂, -OH, -SH, -C(O)O⁻, -C(O)Cl, -(CO)O(CO)R²⁷, -C(O)NHNH₂, -C(O), -C(O)OR²⁸, где R²⁷ выбирают из группы, состоящей из H, алкила и арила; где R²⁸ происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через -O-; азиды N₃⁻; -NCO, -NCS, -CHO, -COCH₂I, фосфорамидида, фталамидида, малеимида, алкиновой группы, в частности -C≡CR³¹, где R³¹ представляет собой H или C₁-C₈ алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пропаргилглицина, пентаноильной группы, в частности пентаноилхлорида, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[d]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[d]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина.

В наиболее общем варианте осуществления изобретения L имеет следующее значение:

L выбирают из группы, состоящей из: -NH₂, -OH, -SH, -C(O)O⁻, -C(O)Cl, -(CO)O(CO)R²⁷, -C(O)NHNH₂, -C(O) -C(O)OR²⁸, где R²⁷ выбирают из группы, состоящей из H, алкила и арила; где R²⁸ происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через -O-; азиды N₃⁻; -NCO, -NCS, -

СНО, $-\text{COCH}_2\text{I}$, фосфорамидитила, фталамидила, малеимида, алкиновой группы, в частности $-\text{C}\equiv\text{CR}^{31}$, где R^{31} представляет собой Н или $\text{C}_1\text{-C}_8$ алкильную группу, предпочтительно Н или $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пропаргилглицина, пентаноильной группы, в частности пентаноилхлорида, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, $\text{R}^1\text{-R}^{26}$ и $\text{R}^{29}\text{-R}^{33}$ и $\text{A}^6\text{-A}^{13}$ имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные, еще более предпочтительные или наиболее предпочтительные варианты осуществления, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-\text{OR}^{19}$ не является Н, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, определенную в контексте настоящей заявки.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения L имеет следующее значение:

L выбирают из группы, состоящей из: $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{28}$, где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через $-\text{O}-$; азида N_3^- , $-\text{NCO}$, $-\text{NCS}$, $-\text{CHO}$, фосфорамидитила, фталамидила, малеимида, алкиновой группы, в частности $-\text{C}\equiv\text{CR}^{31}$, где R^{31} представляет собой Н или $\text{C}_1\text{-C}_8$ алкильную группу, предпочтительно Н или $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, $\text{R}^1\text{-R}^{26}$ и $\text{R}^{29}\text{-R}^{33}$ и $\text{A}^6\text{-A}^{13}$ имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные, еще более предпочтительные или наиболее предпочтительные варианты осуществления, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-\text{OR}^{19}$ не является Н, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, определенную в контексте настоящей заявки.

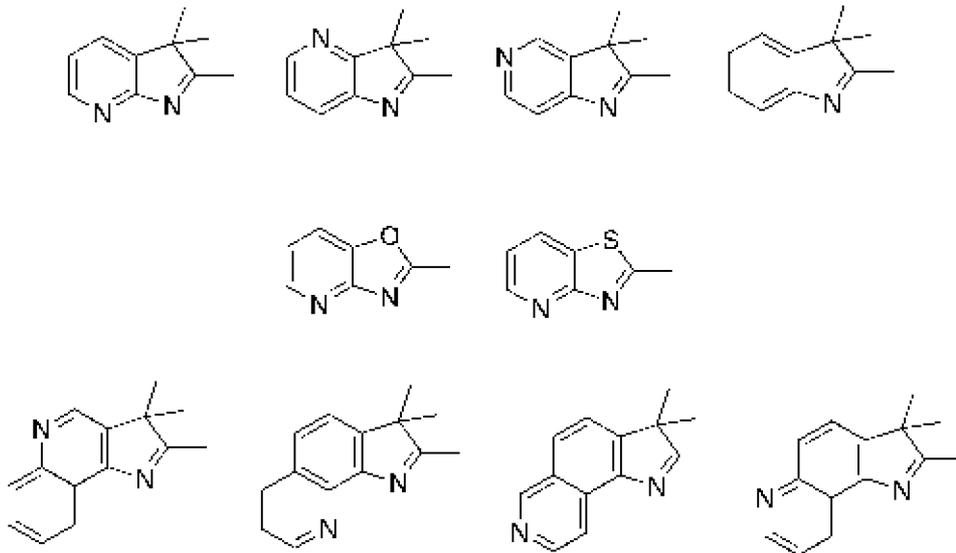
В более предпочтительном варианте осуществления изобретения L имеет следующее значение:

L выбирают из группы, состоящей из: $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{28}$, где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через $-\text{O}-$; азида N_3^- ; $-\text{NCS}$, $-\text{CHO}$, фосфорамидитила, фталамидила, малеимида, алкиновой группы, в частности $-\text{C}\equiv\text{CR}^{31}$, где R^{31} представляет собой Н или $\text{C}_1\text{-C}_8$ алкильную группу, предпочтительно Н или $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, L-цистеина, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, $\text{R}^1\text{-R}^{26}$ и $\text{R}^{29}\text{-R}^{33}$ и $\text{A}^6\text{-A}^{13}$ имеют общие, предпочтительные,

более предпочтительные, еще более предпочтительные или наиболее предпочтительные варианты осуществления, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, определенную в контексте настоящей заявки.

Что касается красителей по изобретению формулы A, любой из заместителей Q, Z, E', E, X, Y, R^1-R^{33} , A^6-A^{13} и L может иметь общее, предпочтительное, более предпочтительное или еще более предпочтительное значение, тогда как любой другой из заместителей Q, Z, E', E, X, Y, R^1-R^{33} , A^6-A^{13} и L, определенных выше, может иметь любое из значений, определенных для общих, предпочтительных, более предпочтительных или еще более предпочтительных вариантов осуществления. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности если соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки. Например, Q может иметь еще более предпочтительное значение, и любой из заместителей Q, Z, E', E, X, Y, R^1-R^{33} , A^6-A^{13} и L может иметь общее, предпочтительное, более предпочтительное, еще более предпочтительное или наиболее предпочтительное значение. В качестве другого примера, L может иметь более предпочтительное значение, и любой из заместителей Q, Z, E', E, X, Y, R^1-R^{33} , A^6-A^{13} и L может иметь общее, предпочтительное, более предпочтительное, еще более предпочтительное или наиболее предпочтительное значение.

В более предпочтительном варианте осуществления изобретения A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} являются такими, что вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют ароматическую систему, выбранную из:



В наиболее общем варианте осуществления X и Y выбирают из группы, состоящей из: $CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C_1-C_6 алкила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1-R^{33} и A^6-A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше.

Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В предпочтительном варианте осуществления X и Y выбирают из группы, состоящей из: $CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного нециклического линейного и разветвленного C_1 - C_4 алкила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1 - R^{33} и A^6 - A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В более предпочтительном варианте осуществления X и Y представляют собой $CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного нециклического линейного и разветвленного C_1 - C_4 алкила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1 - R^{33} и A^6 - A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В еще более предпочтительном варианте осуществления X и Y представляют собой $CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H и метила и этила, предпочтительно метила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1 - R^{33} и A^6 - A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления X и Y представляют собой $CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} представляет собой метил, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1 - R^{33} и A^6 - A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В наиболее общем варианте осуществления E и E' независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C_1 - C_6 алкила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R^1 - R^{33} и A^6 - A^{13} и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В предпочтительном варианте осуществления E и E' независимо выбирают из H и линейного и разветвленного C₁-C₆ алкила, и заместители Q, Z, E', E, X, Y, R¹-R³³ и A⁶-A¹³ и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

В более предпочтительном варианте осуществления E и E' независимо выбирают из H и метила и этила. В наиболее предпочтительном варианте осуществления E и E' оба являются метилом, заместители Q, Z, E', E, X, Y, R¹-R³³ и A⁶-A¹³ и L имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные или еще более предпочтительные значения, определенные выше. Это включает случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы A не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки.

Предпочтительными точками присоединения линкеров являются азот в (i) гетероциклах красителей формулы A, например, через R¹⁷ и/или R¹⁸, R¹ и/или R²; (ii) через любой из атомов A⁶-A¹⁹, если хотя бы один из них является N. Предпочтительно красители и нацеливающие агенты связаны через N гетероциклов, наиболее предпочтительно через R¹⁷ и/или R¹⁸, R¹ и/или R² или R³ и/или R⁷, если A⁶ и/или A¹⁰ представляют собой азот.

В предпочтительном варианте осуществления красители по изобретению имеют 1, 2, 3 или 4 линкера, предпочтительно 1, 2 или 3 линкера, более предпочтительно 1 или 2 линкера, в частности 2 линкера. Как правило, линкеры присоединены к основной структуре красителя через спейсерную группу, что, таким образом, является предпочтительным. Также предпочтительно присоединение линкеров в следующих положениях: положение R¹, R² или R¹ и R²; положение R¹⁷, R¹⁸ или R¹⁷ и R¹⁸; или, если кольцо, аннелированное со структурой пиррола, содержит атом N, то к этому атому N, например, в положениях R³, R⁴, R⁷ и/или R⁶, предпочтительно R³ и/или R⁷.

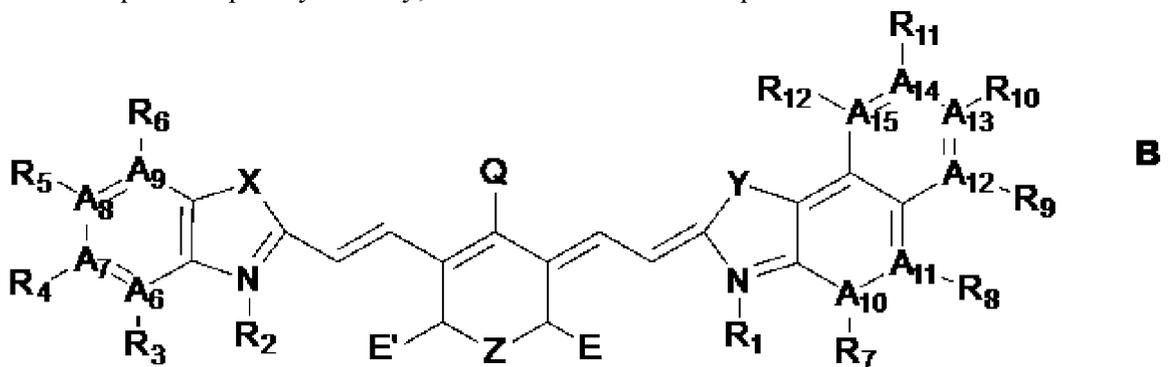
Вышеупомянутые общие, предпочтительные, предпочтительные, более предпочтительные и еще более предпочтительные варианты осуществления для соответствующих заместителей также применимы в отношении приведенных ниже формул B и C, показывающих соответственно биоконъюгированный агент визуализации, предшественник биоконъюгированного агента визуализации по изобретению.

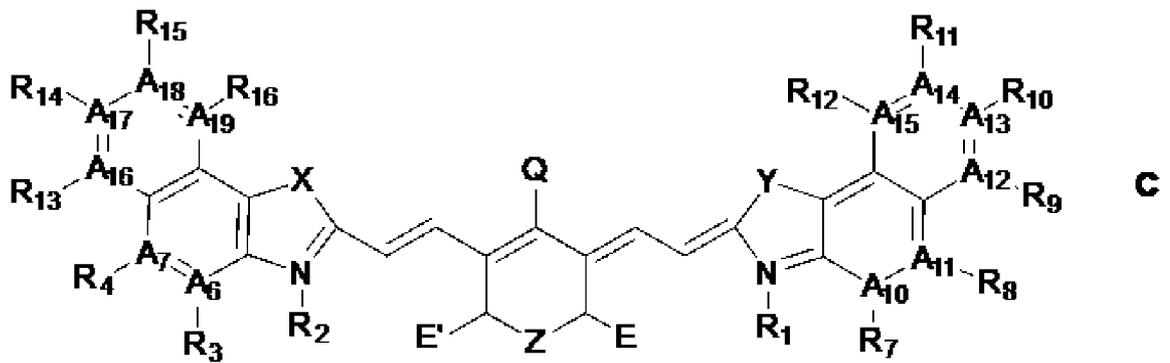
Группа, модулирующая оптические свойства, обычно включена в заместитель Q.

Группа, модулирующая физиохимические свойства, в принципе, может быть присоединена к любому положению в основной структуре красителя. Однако положения, указанные выше, часто будут заняты линкерами или группой, модулирующей оптические свойства. Как следствие, группа, модулирующая физиохимические свойства, часто будет присоединена в положениях R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅, R₁₆, R₁₇, R₁₈ и/или R₁₇. Количество модуляторов физиохимических свойств составляет предпочтительно 1, 2 или 3, более предпочтительно 1 или 2. Модулятор физиохимических свойств может

быть присоединен через спейсерную группу или без нее, часто без спейсерной группы.

Каждая из формул В и С представляет собой один вариант осуществления варианта, обозначенного В в определении формулы А. В формуле В радикалы Q, Z, E, E', X, Y и A⁶-A¹⁵ имеют значения, указанные для формулы А, включая общий, предпочтительный, более предпочтительный и еще более предпочтительный варианты осуществления, включая случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки; R¹-R¹⁴ и R¹-R¹⁶, соответственно, имеют значения, указанные для формулы В, включая общий, предпочтительный, более предпочтительный и еще более предпочтительные варианты осуществления, включая случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки, за исключением, когда дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R³, R⁴, R⁵, R⁶ или R⁷, R⁸ R⁹ R¹⁰, приводящее к образованию трехядерного кольца, не может быть аннелировано. В формуле С, Q, Z, E, E', X, Y и A¹-A¹⁹ имеют значения, указанные для формулы А, включая общий, предпочтительный, более предпочтительный и еще более предпочтительные варианты осуществления, включая случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки; R¹-R¹⁷ имеют значения, указанные для формулы А, включая общий, предпочтительный, более предпочтительный и еще более предпочтительные варианты осуществления, включая случаи, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, в частности, когда соединение формулы А не содержит по меньшей мере 1 линкер и/или 1 модифицирующую физиохимию группу, как определено в контексте настоящей заявки, за исключением, когда дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R³, R⁴, R⁵, R⁶ или R⁷, R⁸ R⁹ R¹⁰, приводящее к трехядерному кольцу, не может быть аннелировано.





В дополнительном аспекте настоящего изобретения красители по изобретению являются асимметричными в том смысле, что они не имеют симметрии C2. Одним из примеров группы таких асимметричных молекул является В. Асимметрия также может быть вызвана одним или более заместителями (линкерами, группами, модулирующими оптические свойства, и группами, модулирующими физиохимию), которые присутствуют только на одной стороне молекулы (т.е. на одной стороне оси, определяемой Q и Z).

В другом аспекте представлен биоконъюгированный агент визуализации, содержащий флуоресцентный краситель по изобретению, связанный по меньшей мере с одним нацеливающим агентом, см., например, формулу D ниже. Нацеливающий агент, как правило, присоединен к красителю через связующую группу, т.е. группу, которая образуется в результате реакции с комплементарной реакционной группой на нацеливающем агенте. В одном из вариантов осуществления заявки нацеливающий агент может содержать "якорную группу" (присоединенную к ней до реакции с красителем), причем якорная группа включает функциональные группы, способные реагировать с линкерной функциональной группой, или более легко вступать в реакцию с линкерной функциональной группой, чем функциональные группы, присутствующие в нацеливающем агенте. Неограничивающие примеры якорных групп включают аминокислоты и бифункциональные полиэтиленгликоли. В биоконъюгированных агентах визуализации по изобретению случай, когда R¹⁹ в -OR¹⁹ не является H, не применим. Конкретные примеры приведены ниже.

Специалист в данной области поймет, что суммарный заряд соединения должен быть равен нулю. Итак, когда соединение изображено как имеющее один или более отрицательных или положительных ионов, существуют противоионы, даже если они не показаны, обеспечивающие суммарный нулевой заряд соединения.

В другом аспекте изобретения предлагается применение флуоресцентных красителей по изобретению в качестве сенсоров pH.

В другом аспекте флуоресцентный краситель может быть использован в качестве контрастного реагента для оптического акустического/оптоакустического и "коротковолнового инфракрасного II (КВИК-II, SWIR-II)" диапазона (длины волн от 0,9 до 1,7 микрон), который только недавно стал применяться на практике благодаря разработке детекторов на арсениде галлия-индия (InGaAs).

В другом аспекте представлено соединение, которое можно использовать в качестве

флуоресцентного зонда (новый аза-цианиновый краситель), связанного с целевым фрагментом, таким как жирная кислота, так и зонда, который может быть обнаружен с помощью другого метода визуализации, такого как 19F-MPT. Это может быть достигнуто путем получения соединения, как описано в настоящей заявке, которое включает как фрагмент жирной кислоты, так и фрагмент фтора.

В другом аспекте предоставлен способ визуализации *in vitro*, включающий:

- (a) контактирование образца с биоконъюгированным агентом визуализации по изобретению;
- (b) предоставление агенту возможности связаться с биологической мишенью;
- (c) необязательно удаление несвязанного агента; и
- (d) обнаружение сигнала, испускаемого агентом, таким образом определяя, активирован ли агент или связан с биологической мишенью.

В другом аспекте представлен биоконъюгированный агент визуализации по изобретению для применения в способе визуализации *in vivo*, который включает:

- (a) введение субъекту биоконъюгированного агента визуализации по изобретению;
 - (b) предоставление возможности агенту распределиться внутри организма субъекта;
- и
- (c) обнаружение сигнала, испускаемого биоконъюгированным агентом визуализации.

В другом аспекте представлен биоконъюгированный агент визуализации по изобретению для применения в способе оптической визуализации *in vivo*, который включает:

- (a) введение субъекту биоконъюгированного агента визуализации по изобретению;
- (b) предоставление возможности агенту распределиться внутри организма субъекта;
- (c) облучение субъекта светом с длиной волны, поглощаемой флуоресцентным красителем; и
- (d) обнаружение сигнала, испускаемого агентом.

В контексте настоящего описания “эффективное количество” относится к количеству соединения, достаточному для достижения благоприятных или требуемых результатов. Если не указано иное, эффективное количество можно вводить, используя одно или несколько введений, применений или доз, и оно не ограничено конкретным составом или путем введения. В контексте настоящего описания термин “лечение” включает любой эффект, например уменьшение, снижение, модуляцию, облегчение или устранение, приводящий к улучшению состояния, ослаблению заболевания, расстройства и т.п. или облегчению симптомов.

В контексте настоящего описания “животное” обычно относится к млекопитающему, не являющемуся человеком, включая, без ограничения, сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, овцы, свиньи, козы и лошади; домашние млекопитающие, такие как собаки и кошки; лабораторные животные, включая грызунов, таких как мыши, крысы и морские свинки; птицы, включая домашних,

диких и промысловых птиц, таких как куры, индейки и другие представители куриных, утки, гуси и т.п. Этот термин не относится к конкретному возрасту. Таким образом, он включает как взрослых, так и новорожденных. Термин “доклинические” обычно используется для описания тестов, проводимых на таких лабораторных животных, преимущественно на грызунах.

В контексте настоящего описания термины “пациент” и “субъект” относятся к организмам, подверженным воздействию или получающим лечение способами по изобретению. Такие организмы предпочтительно включают, без ограничения, млекопитающих (например, мышей, обезьян, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, собак, кошачьих и т.п.), и предпочтительно включает людей. Термин “клинический” обычно означает тесты, проводимые на более крупных позвоночных млекопитающих и преимущественно на людях.

“Алкин” относится к линейной или разветвленной углеводородной цепи, содержащей от 2 до 10 атомов углерода, например от 2 до 4 атомов углерода; и содержащей по меньшей мере 1, например от 1 до 2, участок ненасыщенной двойной или тройной связи. Этот термин включает, например, би-винил, аллил и бут-3-ен-1-ил. Этот термин включает цис- и транс-изомеры или смеси этих изомеров.

“Галогеналкил” или “алкилгалогенид” относится к замещенной алкильной группе, в которой один или более атомов водорода на алкильной группе замещены группой галогена. Примеры таких групп включают, без ограничений, фторалкильные группы, такие как трифторметил, дифторметил, трифторэтил и т.п.

“Ацил” относится к группам Н-С(О)-, алкил-С(О)-, замещенный алкил-С(О)-.

“Карбоксил”, “карбокси” или “карбоксилат” относится к $-\text{CO}_2\text{H}$ или его солям, полученным из CO_2 .

“Гетероарил” относится к ароматической группе, содержащей в кольце от 2 до 15 атомов углерода, например от 3 до 10 атомов углерода, и от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота (называемой в настоящей заявке аза) и серы. Такие гетероарильные группы могут иметь одно кольцо (например, пиррол, пиридил, имидазолил или фурил) или несколько конденсированных колец в кольцевой системе (например, как в группах, таких как индолизинил, хинолинил, бензофуран, бензимидазолил или бензотиенил), где по меньшей мере одно кольцо в кольцевой системе является ароматическим, и по меньшей мере одно кольцо в кольцевой системе является ароматическим, при условии, что присоединение осуществляется через атом ароматического кольца.

“Гетероцикл”, “гетероциклический”, “гетероциклоалкил” и “гетероциклил” относятся к насыщенной или ненасыщенной группе, имеющей одно или более конденсированных колец, включая слитые мостиковые и спиро кольцевые системы и содержащие от 3 до 20 атомов кольца, включая от 1 до 10 гетероатомов. Эти атомы кольца выбирают из группы, состоящей из азота (называемые в настоящей заявке аза), серы или кислорода.

В контексте настоящего описания термин “аминокислота” означает органическое

соединение, содержащее как основную аминогруппу, так и кислотную карбоксильную группу. Этот термин включает природные аминокислоты (например, L-аминокислоты), модифицированные и необычные аминокислоты (например, D-аминокислоты), а также аминокислоты, о которых известно, что биологически они встречаются в свободном состоянии или в комбинированной форме, но обычно не встречаются в белках. Природные аминокислоты включают, без ограничения, аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновую кислоту, цистеин, глутаминовую кислоту, глутамин, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, тирозин, триптофан, пролин и валин. Другие аминокислоты включают, без ограничения, аргиносукциновую кислоту, цитруллин, цистеинсульфиновую кислоту, 3,4-дигидроксифенилаланин, гомоцистеин, гомосерин, орнитин, карнитин, селеноцистеин, селенометионин, 3-моноидотирозин, 3,5-диидотирозин, 3,5,5'-триидотиронин и 3,3,5,5'-тетраидотиронин. Модифицированные или необычные аминокислоты, которые можно использовать для реализации изобретения включают, без ограничения, аминокислоты, полученные в результате посттрансляционных модификаций, таких как фосфорилирование и гликирование, например фосфосерин, фосфореонин, фосфотирозин и другие, такие как гидроксипролин, гамма-арбоксиглутамат; гиппуровая кислота, индолилуксусная кислота, стати́н, пеницилламин, орнитин, цитрулин и селеноцистеин, D-аминокислоты, гидроксизин, дегидроаланин, пирролизин, 2-аминоизомаляновая кислота, гамма-аминоасляная кислота, 5-гидрокситриптофан, S-аденозилметионин, S-аденозилгомоцистеин, 4-гидроксипролин, N-Cbz-защищенная аминокислота, 2,4-диаминоасляная кислота, гомоаргинин, норлейцин, N-метиламиноасляная кислота, нафтилаланин, фенилглицин, β -фенилпролин, трет-лейцин, 4-аминоциклогексилаланин, N-метилнорлейцин, 3,4-дегидропролин, N, N-диметиламиноглицин, N-метиламиноглицин, 4-аминопиперидин-4-карбоновая кислота, 6-аминокапроновая кислота, транс-4-(аминометил)-циклогексанкарбоновая кислота, 2-, 3- и 4-(аминометил)-бензойная кислота, 1-аминоциклопентанкарбоновая кислота, 1-аминоциклопропанкарбоновая кислота и 2-бензил-5-аминопентановая кислота. Также включены защищенные аминокислоты, и на аминоконце могут присутствовать репрезентативные защитные группы, такие как карбобензилокси, (CbZ) и другие, известные специалисту в данной области техники (см., например, Greene, T.W.; Wuts, P.G. M., *Protecting Groups In Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, Inc., New York (1999)).

Термин "пептид" описывает последовательность от 2 до 50 аминокислот, предпочтительно от 3 до 20 аминокислот или пептидильные остатки. Последовательность может быть линейной, разветвленной, циклической, например, образованной за счет внутримолекулярных дисульфидных связей цистеинильных остатков. Пептидные последовательности, специально перечисленные в настоящем описании, представлены или изображены таким образом, что амино-конец находится слева, а карбокси-конец - справа. Включены также D и L аминокислоты, а также защитные группы, такие как ацетил, ацетоксиметил, карбобензилокси, трет-бутилокси, и посттрансляционные модификации, такие как метилирование аргинина и лизина, фосфорилирование и гликирование "ОН"

групп серина, треонина и тирозина.

В контексте настоящего описания “псевдопептид” или “пептидомиметик” представляет собой соединение, которое имитирует структуру аминокислотного остатка или пептида, например, путем использования линкеров, отличных от амидных связей (псевдопептидных связей), и/или путем использования неаминокислотных заместителей и/или модифицированного аминокислотного остатка. “Остаток псевдопептида” означает ту часть псевдопептида или пептидомиметика, которая присутствует в пептиде. Термин “псевдопептидные связи” включает изостеры пептидных связей, которые можно использовать вместо или в качестве замены нормальной амидной связи. Эти замены или амидные “эквивалентные” связи образуются из комбинаций атомов, которые обычно не встречаются в пептидах или белках, которые имитируют пространственные требования амидной связи и которые должны стабилизировать молекулу от ферментативного разложения. В настоящем описании используются следующие стандартные трехбуквенные обозначения аминокислот: Ala=аланин; Aca=аминокапроновая кислота, Ahx=6-аминогексановая кислота, Arg=аргинин; Asn=аспарагин; Asp=аспарагиновая кислота; Cha=циклогексилаланин; Cit=цитруллин; Cys=цистеин; Dap=диаминопропионовая кислота; Gln=глутамин; Glu=глутаминовая кислота; Gly=глицин; H=гистидин; Ile=изолейцин; Leu=лейцин; Lys=лизин; Met=метионин; NaI=нафтилаланин; Nle=норлейцин; Orn=орнитин; Phe=фенилаланин; Phg=фенилглицин; Pro=пролин; Sar=саркозин; Ser=серин; Thi=тиенилаланин; Thr=треонин; Trp=триптофан; Tyr=тирозин; и Val=валин. Применение префикса D- указывает на D-изомер такой аминокислоты; например, D-лизин представлен как D-Lys.

Термин "сахарид" относится к сахару или другому углеводу, который может быть получен или может быть результатом восстановления и/или окисления простого сахара. Сахарид может быть C₆-полигидрокси-соединением с 2-6 гидроксигруппами на звено, которые могут быть циклическими или ациклическими. Сахариды включают инозитолы и их фосфорилированные производные. Сахариды включают простые сахара, т.е. C₆-звенья (мономерные сахара) и их производные, а также полисахариды с двумя или более моносахаридными остатками. Сахарид может включать защитные группы на гидроксильных группах, как описано выше в определении аминокислот. Гидроксильные группы сахара могут быть замещены одной или более гало- или аминогруппами. Кроме того, один или более атомов углерода могут быть окислены, например, до кето- или карбоксильных групп. Термины гликилирование и гликозилирование относятся к добавлению молекул сахара к соответствующим остаткам, таким как гидроксильные и аминогруппы в пептидах и белках.

Как известно специалистам в данной области техники, “соли” соединений по изобретению могут быть производными неорганических или органических кислот и оснований. Примеры кислот включают, без ограничения, соляную, бромистоводородную, серную, азотную, хлорную, фумаровую, малеиновую, фосфорную, гликолевую, молочную, салициловую, янтарную, толуол-пара-сульфонную, винную, уксусную, лимонную,

муравьиную, бензойную, малоновую, нафталин-2-сульфоновую, бензолсульфоновую кислоту и т.п. Примеры оснований включают, без ограничения, гидроксиды щелочных металлов (например, натрия), щелочноземельных металлов (например, магния), аммиак и соединения формулы NW_4^+ , где W представляет собой C_{1-4} алкил, и т.п.

В тексте описания, где композиции и наборы описаны как имеющие, включающие или содержащие определенные компоненты, или где процессы и способы описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные этапы, предполагается, что дополнительно существуют композиции и наборы по изобретению, которые состоят или по существу состоят из перечисленных компонентов, и что существуют процессы и способы по изобретению, которые состоят или по существу состоят из перечисленных этапов обработки.

Некоторые раскрытые в настоящем описании соединения могут существовать в конкретных геометрических или стереоизомерных формах. Настоящее изобретение предусматривает все такие соединения, включая цис- и транс-изомеры, R- и S-энантиомеры, диастереомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, их рацемические смеси и другие их смеси, входящие в объем настоящего изобретения. В заместителях, таких как алкильная группа, могут присутствовать дополнительные ассиметричные атомы углерода. Все такие изомеры, а также их смеси включены в объем настоящего изобретения.

Цианиновые красители, полученные из гетероциклов, связанных полиметинами, такие как агенты визуализации на основе индоцианинового зеленого (ICG), представляют собой подходящие химические вещества, которые используются для обеспечения контраста или сигнала флуоресценции и которые обнаруживаются методами оптической визуализации. Использование флуоресцентных БИК цианиновых красителей для визуализации *in vivo* началось с красителя индоцианинового зеленого (ICG) благодаря его доступности, хорошей чистоте и требуемым БИК оптическим свойствам. Важно отметить, что это единственный известный БИК флуоресцентный краситель, одобренный Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) для мониторинга сердечного выброса, функции печени и ангиографии сетчатки у людей. Что касается оптической визуализации, различные исследования показали, что ICG накапливается в опухолях за счет повышенной проницаемости и удерживающих эффектов, а также успешно используется для визуализации опухолей и лимфатических узлов. Многие производные или аналоги ICG были разработаны и синтезированы для различных целей, таких как улучшение растворимости в воде или добавление реакционноспособных функциональных групп для дальнейшей биоконъюгации. Например, гидрофильный индоцианин, дериватизированный глюкамидом, демонстрирует повышенную гидрофильность и улучшает контраст между опухолью и нормальной тканью по сравнению с ICG. Появился новый класс флуорофоров, которые включают несколько атомов азота, примером которых являются красители PPSu, синтезированных в результате взаимодействия дикетопирролпиррола с гетероарилацетонитрилами. Несмотря на то, что их отнесли к классу цианиновых красителей, они структурно отличаются от последних. Однако они

демонстрируют признаки, используемые для оптической визуализации, такие как высокий квантовый выход ($> 0,50$), низкое фотообесцвечивание и длительное время жизни флуоресценции (от 2,5 до 3,8 нс).

Настоящее изобретение относится к цианиновым соединениям, которые включают дополнительные атомы азота, также называемые аза, в гетероциклах, соединенных полиметиновым мостиком, а также полиметиновой связью с целью добавления дополнительных зарядов и линкеров в качестве модификаций, которые используются для модуляции фотохимических, биологических свойств, растворимости, и также применимы для других режимов исследования, например в оптоакустических методах. Включение аза-фрагмента (азота) в дополнительные бензольные кольца помимо азота индола также позволяет получить, при соответствующем замещении, рН-чувствительные соединения. Для определения значений рН можно использовать ратиометрическое измерение спектроскопического поведения красителей, которые различаются по чувствительности к кислой или щелочной среде. Преимущества ратиометрических методов заключаются в том, что некоторые параметры, такие как длина пути, локальная концентрация зонда, фотообесцвечивание и утечка из клеток, не важны. По этим причинам стабильные цианиновые красители необходимы для применения при мечении биомолекул, а также для *in vivo* визуализации для диагностики и прогнозирования таких заболеваний, как рак, визуализации инфекционных заболеваний и метаболической активности. Такие композиции и способы могут помочь в анализе ответов на различные виды лечения. Настоящее изобретение позволяет удовлетворить эти и другие потребности.

Изобретение относится к новому классу флуоресцентных красителей, принадлежащих к семейству цианинов (азацианиновые красители), их производным для биоконъюгации и полученным из них агентам визуализации. Флуоресцентные красители служат метками и включают аза-замещение в гетероциклах, а также мостиковую полиметиновую связь.

Синтез

Флуоресцентные красители по изобретению обычно содержат от двух до восьми атомов азота в гетероциклах, а также полиметиновую связь, соединяющую эти гетероциклы. Замещение СН-фрагмента азотом дает гетероатом, который улучшает растворимость в воде, облегчает присоединение групп путем алкилирования указанного азота, уменьшает π -стэкинг, что снижает квантовый выход в соответствующих СН-аналогах. Азот, далее именуемый аза, обеспечивает производные на основе заряда, которые могут быть специфически настроены на биологический признак. Цианины азабензолия предшествующего уровня техники, разработанные в качестве интеркалирующих агентов нуклеиновых кислот, также показали сопутствующий сдвиг длины волны в сторону красного цвета по сравнению со своими СН-аналогами (схема 1).

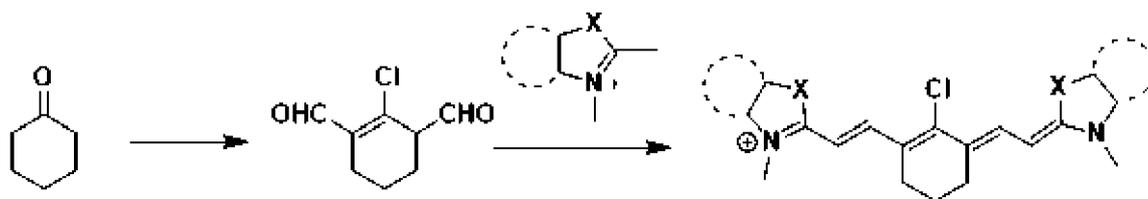


Схема 1 - Типичный синтез БИК красителя

Доступность аза-фрагмента, позволяющего добавление различных химических модификаторов, облегчает выполнение оптических методов, требующих создания молекулярных зондов для обнаружения и отслеживания представляющих интерес молекулярных процессов или биомаркеров. Разработка новых молекулярных зондов привлекала внимание исследователей на протяжении многих десятилетий в связи с широким спектром их применения в химии, биологии и медицине. В последние годы оптическая визуализация молекулярных процессов в живых организмах стимулировала интерес к разработке многочисленных молекулярных зондов для использования в ближней инфракрасной области (БИК, NIR) (700-900 нм), и количество которых в базе данных MICAD оставляет примерно 6100 и более.

Молекулярные БИК зонды имеют два основных преимущества относительно зондов, излучающих в видимом диапазоне длин волн. Во-первых, биологические ткани имеют более низкое поглощение БИК-света, чем видимого света. Это обеспечивает более глубокое проникновение БИК света по сравнению с видимым светом, что позволяет оценивать информацию, получаемую из более глубоких структур. Во-вторых, в БИК области присутствует меньше автофлуоресценции по сравнению с длинами волн видимого света, что обеспечивает более высокое отношение сигнал/шум. Ожидается, что молекулярные зонды, излучающие свет в БИК области, будут подходящими для *in vivo* визуализации, а замена СН-фрагмента атомом N обеспечит структурно аналогичные красители с другими фотофизическими, фотохимическими свойствами и биосовместимостью, которые будут превосходить таковые углеродных аналогов. Производные предшествующего уровня техники обычно получают из производных бензоиндоления и нафтоиндоления с мостиковыми метиновыми связями, обычно полностью углеродными (Схема 1), а согласно настоящей заявке их получают из производных пиридоиндоления и хинолиноиндолиния, мостик которых содержит гетероатом или азот (схема 2).

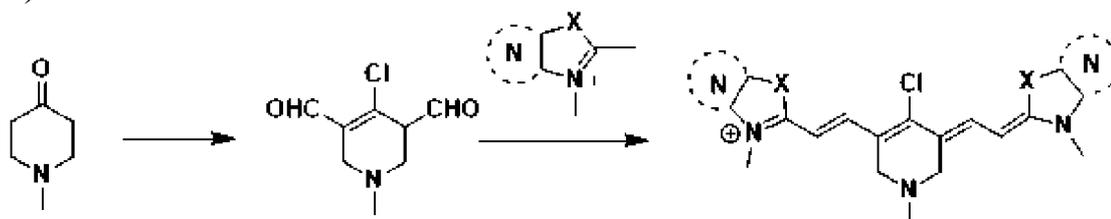
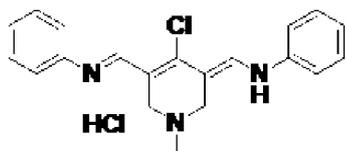


Схема 2 - Аза в гетероцикле и метиновая цепь (соединения по изобретению)

Как правило, соединения по изобретению можно синтезировать следующим образом. Сначала получают кватернизованный гетероцикл (например, пиридоиндолений и

хинолиноиндолиний) путем присоединения солубилизирующих групп или линкеров. Кватернизованные гетероциклические частицы затем соединяют с бисимином (мостиком), который представляет собой электрофильный реагент, полученный формилированием производного пиперидона согласно методу Вильсмайера-Хаака-Арнольда. Затем к атому азота в центральном гетероцикле (мостике) присоединяют заместитель, после чего образующийся центральный гетероцикл подвергают кватернизации. Бисимин реагирует с другим четвертичным гетероциклом с получением в результате симметричного или асимметричного соединения.

Бисимины представлены в приведенной ниже формуле и также могут быть описаны как $\text{PhNH-PMB-CH=NPh.HCl}$.



В некоторых вариантах осуществления соль флуоресцентного красителя по изобретению может быть образована с любым подходящим противоионом. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления противоион выбирают из группы, содержащей, без ограничения, хлорид, бромид, йодид, трифлат, тозилат, формиат, ацетат, трифтор ацетат, бензоат, оксалат, цианид, цианат, тиоцианат, гидрокарбонат, карбонат, арсенат, арсенит, фосфат, гидрофосфат, дигидрофосфат, нитрит, нитрат, сульфат, гидросульфат, тиосульфат, сульфит, перхлорат, хлорат, бромат, йодат, хлорит, гипохлорит, гипобромит, хромат, дихромат, перманганат, гексафторфосфат, тетрафенилборат, тетрафторборат.

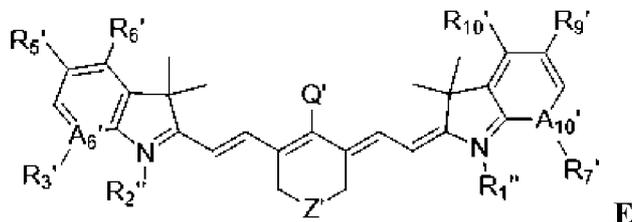
В некоторых предпочтительных вариантах осуществления флуоресцентный краситель по изобретению поглощает в диапазоне от 530 до 880 нм и имеет флуоресцентное излучение в диапазоне 540-900 нм при возбуждении в диапазоне 530-880 нм.

В дополнительных вариантах осуществления Q представляет собой Cl.

Когда гетероцикл индоления с 6,5-конденсированной системой не слит с дополнительными кольцами и с одной двойной связью, максимальное поглощение полученного “индокарбоцианинового” красителя обычно наблюдается при примерно 550 нм. Когда присутствуют две двойные связи, “индокарбоцианины” обычно имеют максимальное поглощение при примерно 650 нм. “Индокарбоцианиновые” красители, в которых присутствуют три двойные связи, обычно имеют максимальное поглощение при примерно 750 нм. Добавление дополнительного кольца, как в 6,6,5-гетероцикле бензоиндоления, добавляет примерно 15-20 нм к поглощению основного индолена, описанного ранее. Диапазон поглощения производных азиндоцианина зеленого, предпочтительного красителя по изобретению, имеющих три двойные связи и два гетероцикла бензоиндоления, соединенные мостиковой полиметиновой цепью, обычно составляет 750-850 нм в зависимости от дополнительных заместителей, называемых химическими модификаторами (СМ), полярности растворителя и рН.

Азацианиновые красители демонстрируют высокую растворимость в PBS буфере, pH 7,4. Это более чем на 20 мМ больше, чем у коммерческих красителей, таких как ICG, 1,2 мМ (1 мг/мл) в воде, но он плохо растворяется в физиологическом растворе.

В некоторых вариантах осуществления флуоресцентный краситель по изобретению представляет собой соединение формулы E:



где

Q' представляет собой Cl, Br, I, $-OR^{19'}$, $-SR^{19'}$, or $-NR^{19'}R^{20'}$, $R^{19'}$ и $R^{20'}$ независимо представляют собой H или фенил, причем фенил может быть замещенным C_{1-6} алкилом, C_{1-6} фторалкилом, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$ -щелочным металлом, $-(CH_2)_{0-3}COOH$, $-(CH_2)_{0-3}COO^-$ -щелочным металлом, $-NCO$, $-NCS$, $-(CH_2)_{0-3}NH_2$, или $-(CH_2)_{0-3}N^+H_3$, или $R^{19'}$ и $R^{20'}$ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_{1-6} алкильной группой;

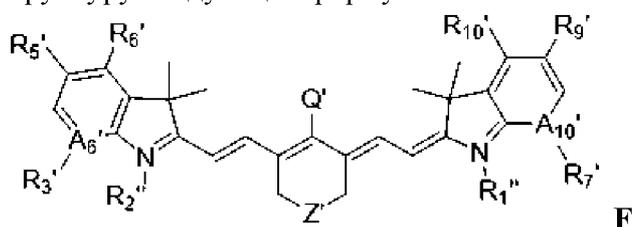
R_1'' , R_2'' , R_3' и R_7' независимо отсутствуют или представляют собой H, C_{1-6} алкил, или $-(CH_2)_{1-6}L'$, где L' представляет собой $-COOH$, $-COO-C_{1-6}$ алкил, $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-COO^-$, SO_3^- , SO_3^- -щелочной металл, $-COO$ -сукцинимид, $-COO$ -сульфосукцинимид, $-NCO$, $-NCS$, $-COO$ -нитрофенил или $-COO$ -фторфенил;

A_6' и A_{10}' независимо представляют собой C, N или N^+ ;

R_5' , R_6' , R_9' и R_{10}' независимо представляют собой H, или R_5' и R_6' вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют бензол, или R_9' и R_{10}' вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют бензол, причем бензол может быть замещен $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$ -щелочным металлом, $-(CH_2)_{0-3}COOH$ или $-(CH_2)_{0-3}COO^-$ -щелочным металлом;

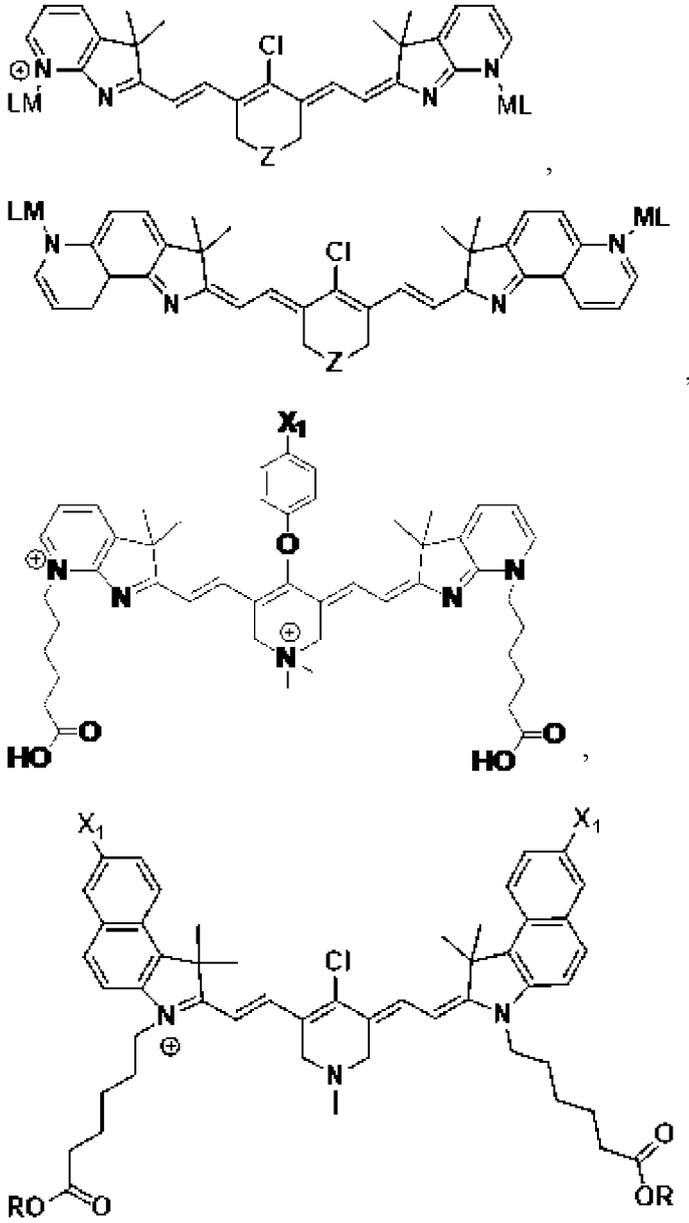
Z' представляет собой $NR^{17'}$ или $^+NR^{17'}R^{18'}$, где $R^{17'}$ и $R^{18'}$ независимо представляют собой C_{1-6} алкил, $-(CH_2)_{1-3}$ этинил, $-(CH_2)_{1-6}L'$, где L' представляет собой $-COOH$, $-COO-C_{1-6}$ алкил, $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-COO^-$, SO_3^- , SO_3^- -щелочной металл, $-COO$ -сукцинимид, $-COO$ -сульфосукцинимид, $-COO$ -нитрофенил или $-COO$ -фторфенил.

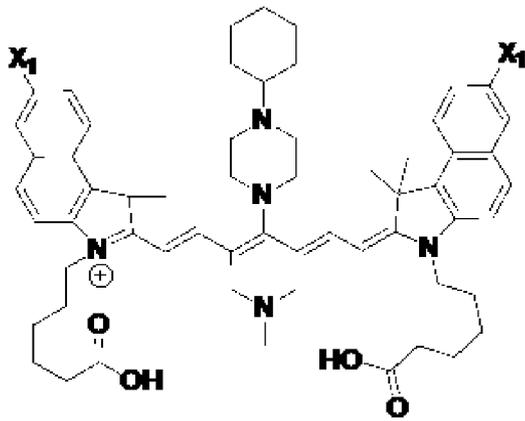
В некоторых вариантах осуществления зонд для мультимодальной визуализации имеет структуру следующей формулы F:



где R_1'' , R_2'' , R_3' , R_5' , R_6' , R_7' , R_9' , R_{10}' , A_6' , A_{10}' и Z' являются такими, как определены для формулы E, Q' представляет собой $-OR^{19'}$ или $-SR^{19'}$, где $R^{19'}$ представляет собой фенил, замещенный $-NHCSNH-R'''$ или $-NHCONH-R'''$, где R''' представляет собой фенил или 5-, 6- или 7-членный ароматический гетероцикл, замещенный $-(CH_2)_{10-30}COOH$ и по меньшей мере одной группой, выбранной из F и C_{1-6} фторалкила.

В некоторых вариантах осуществления флуоресцентные красители по изобретению выбирают из группы, содержащей:





где

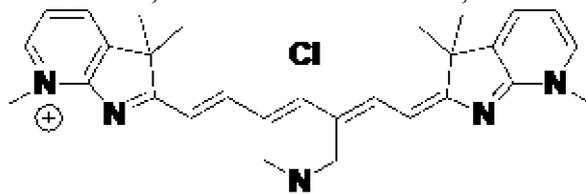
X_1 выбирают из H, SO_3R или CO_2R ,

Z выбирают из CH_2 , N- C_{1-6} алкила (например, NMe), $N^+(C_{1-6}$ алкила) $_2$ (например, N^+Me_2), N-ML, N^+Me-ML ,

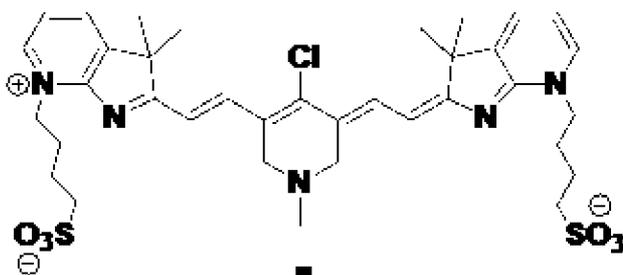
ML выбирают из $(CH_2)_{1-6}COOR$ (например, $(CH_2)_5COOR$) и $(CH_2)_{1-5}SO_3R$ (например, $(CH_2)_4SO_3R$),

R представляет собой H, катион металла, аммоний, замещенный или незамещенный N-сукцинимид.

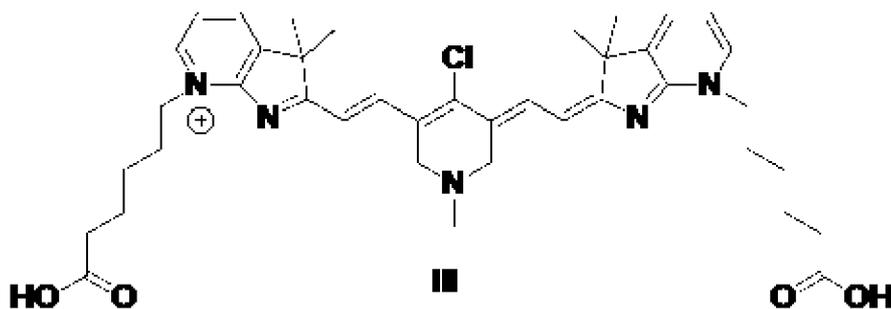
Примеры предпочтительных красителей по изобретению включают следующие соединения I-XIX, XXIII и XXV-XXVIII,



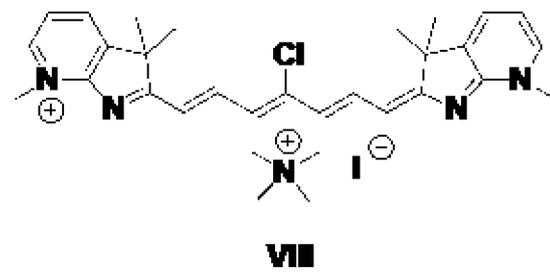
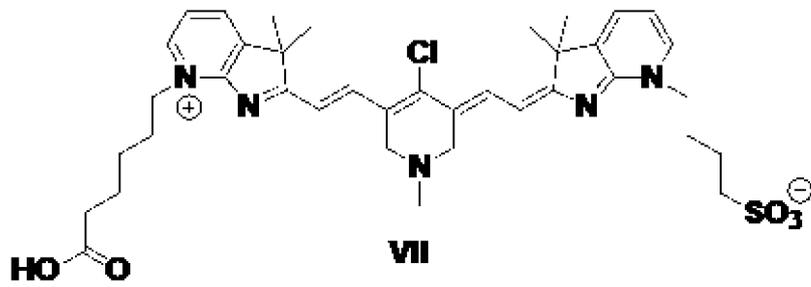
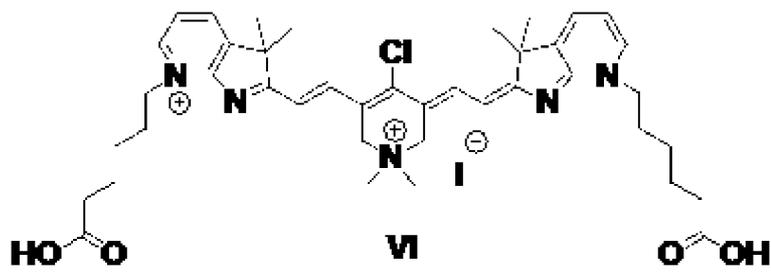
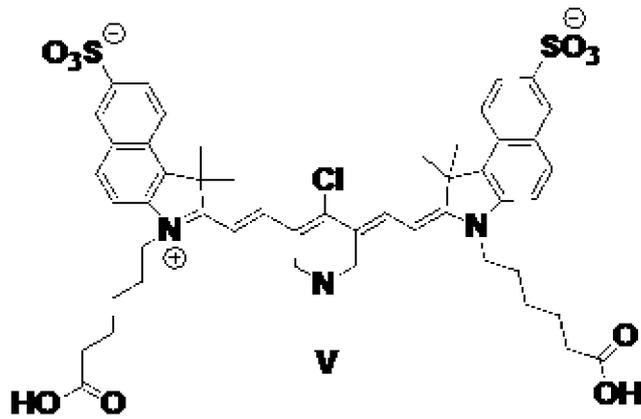
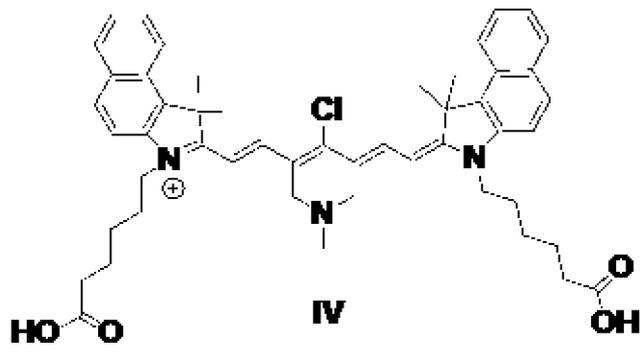
I

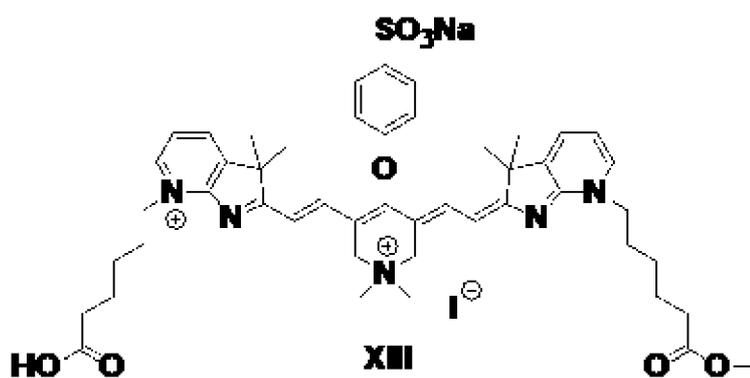
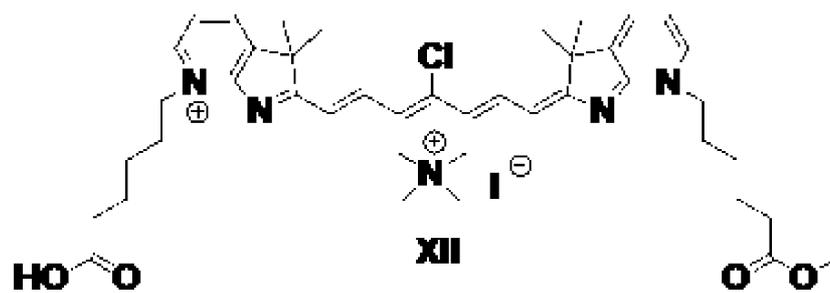
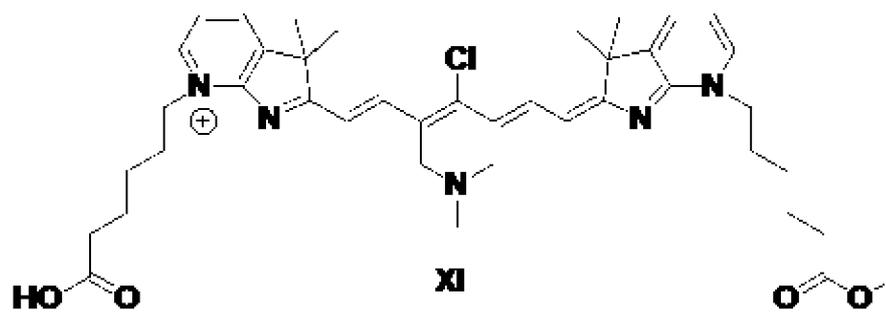
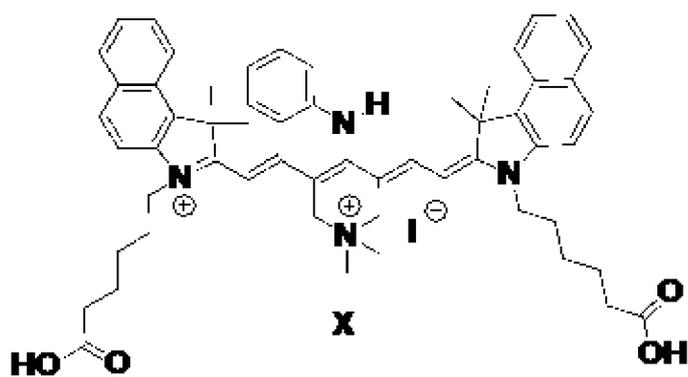
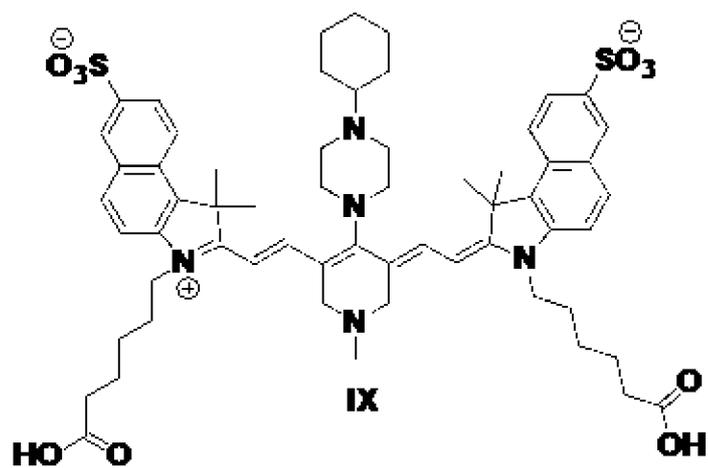


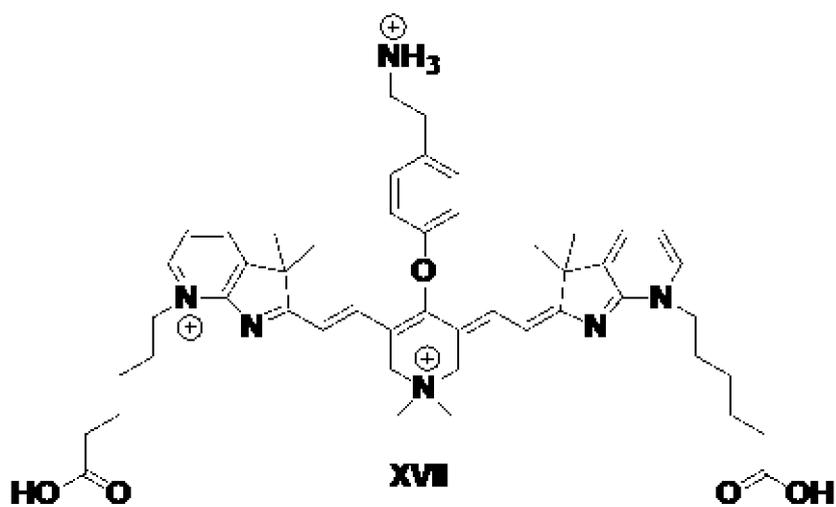
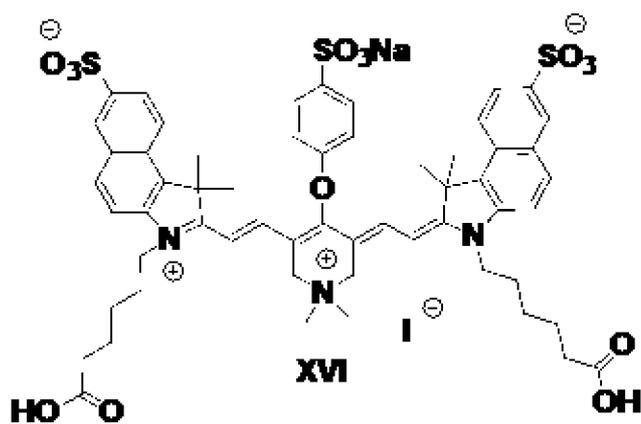
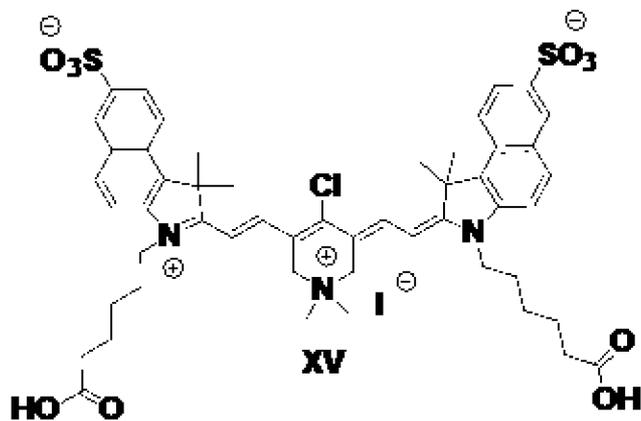
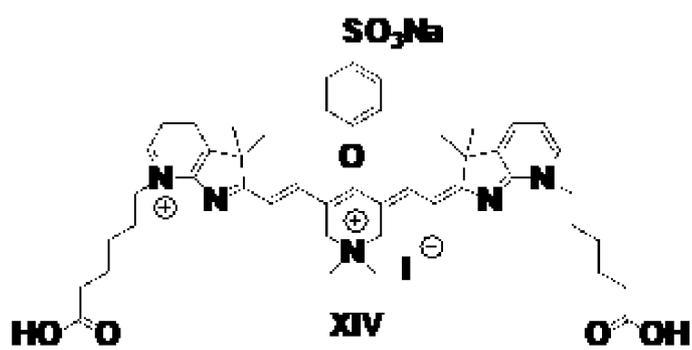
II

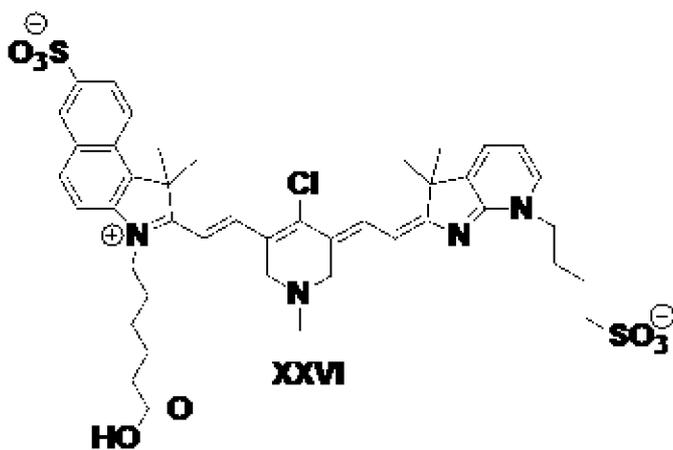
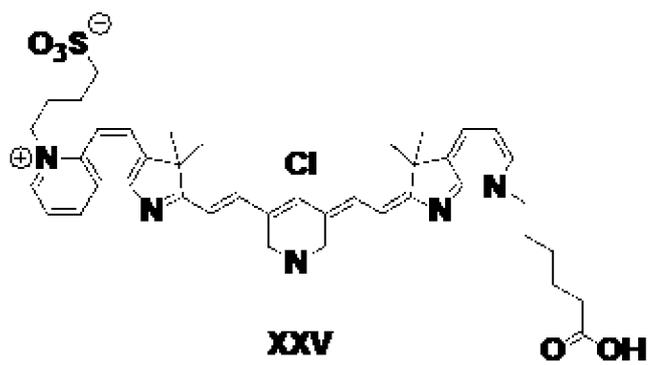
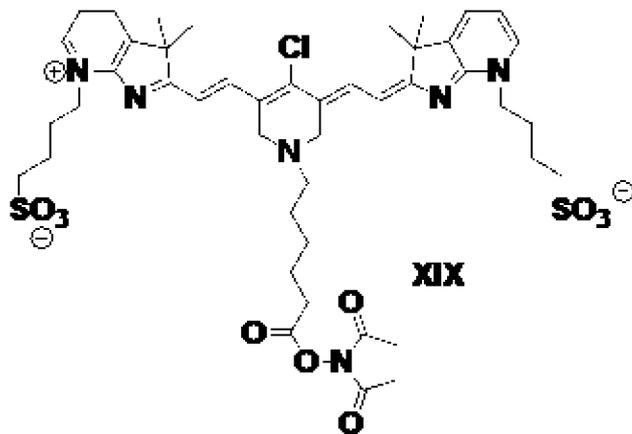
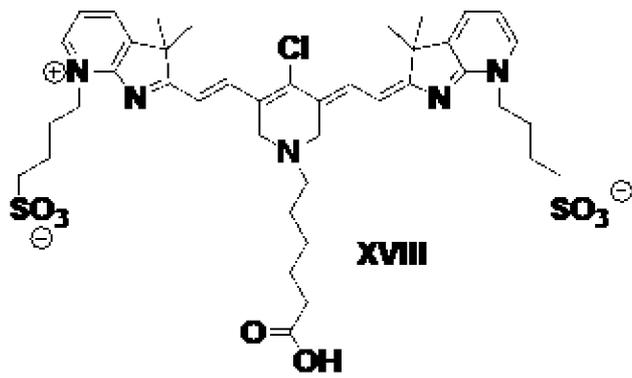


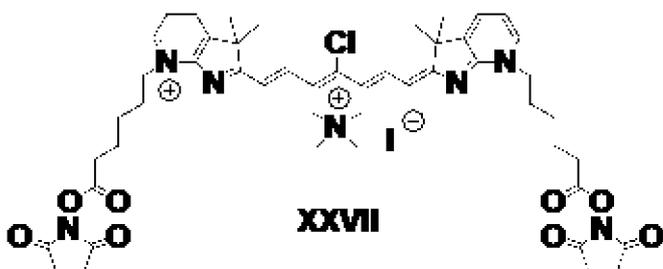
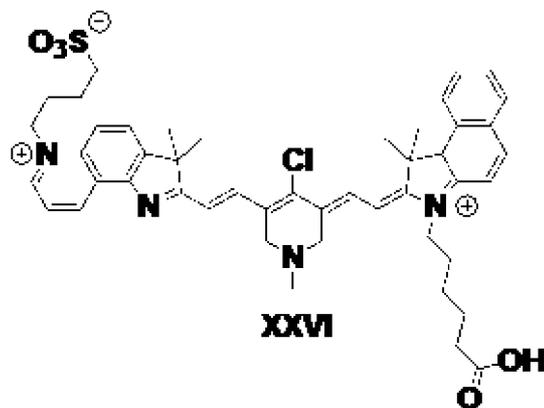
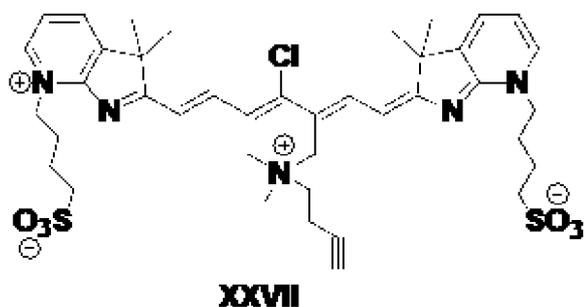
III











В другом аспекте изобретение относится к биоконъюгированному агенту визуализации, содержащему флуоресцентный краситель по изобретению. В одном из вариантов осуществления биоконъюгированный агент визуализации содержит флуоресцентный краситель по изобретению, связанный по меньшей мере с одним нацеливающим агентом (необязательно с помощью якорной группы или различных якорных групп, т.е. 2, 3, 4 или 5 якорных групп).

Термин “связанный” или “химически связанный”, как правило через связывающую группу, означает химическую связь между атомами. Химические связи известны специалисту в данной области. В контексте настоящей заявки химическая связь представляет собой предпочтительно ионную связь или ковалентную связь, наиболее предпочтительно ковалентную связь.

Свойства биоконъюгированного агента визуализации можно регулировать путем модификации заряда и молекулярной массы флуоресцентного красителя (флуорофора), нацеливающих агентов и, в некоторых случаях, якорной группы. Кроме того, свойства биоконъюгированного агента визуализации можно регулировать с помощью различных заместителей, как определено выше в описании (модуляторов физиохимических свойств и модуляторов оптических свойств).

Нацеливающий агент представляет собой фрагмент, который специфически

распознает мишень, обычно *in vivo* или *in vitro* биологическую мишень, такую как рецептор или другой фрагмент клеточного распознавания. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий агент выбирают из группы, содержащей пептиды (например, пептид RGD, который специфически связывается с интегрином $\alpha_v\beta_3$), малые молекулы, аптамеры, включая пептидные аптамеры и ДНК- и РНК-аптамеры, антитела, углеводы, сахараиды и нуклеиновые кислоты. Дальнейшее определение нацеливающих агентов и их предпочтительные варианты осуществления приведены ниже.

Часто модификация нацеливающих агентов ставит под угрозу avidность связывания нацеливающего фрагмента с его предполагаемым рецептором на целевом образце или вызывающем заболевание организме или aberrантных сигнальных клетках.

В некоторых вариантах осуществления нацеливающие агенты содержат флуорофоры по изобретению, связанные с фрагментами, распознающими рецепторы клеточной поверхности или сообщающими об окружающей среде клетки, например рН.

В некоторых вариантах осуществления нацеливающий агент представляет собой пептид, который представляет собой ферментный субстрат, такой, что при конъюгации с флуоресцентным красителем по изобретению практически не возникает флуоресценции. При расщеплении пептида определенным ферментом флуоресцентный краситель диссоциирует, вызывая увеличение флуоресценции. Увеличение флуоресценции свидетельствует о присутствии активирующего фермента.

В некоторых вариантах осуществления нацеливающие агенты, либо принадлежащие все одной и той же группе, либо их комбинация связаны с флуоресцентным красителем либо непосредственно, либо через связывающие группы. Предпочтительными точками присоединения связывающих групп являются азот на (i) гетероциклах красителей по изобретению, например, через R¹⁷ и/или R¹⁸, и/или R²⁰, R¹, и/или R²; (ii) через любой из атомов A6-A19, если хотя бы один из них является N. Предпочтительные соединения связаны через N гетероциклов (наиболее предпочтительно через R¹⁷ и/или R¹⁸ или R²⁰, R¹ и/или R²), или если кольцо, аннелированное со структурой пиррола, содержит атом N, то с этим атомом N, например, в положениях R³, R⁴, R⁷ и/или R⁶, предпочтительно R³ и/или R⁷.

Якорная группа представляет собой любую функциональную группу, которую можно использовать для связывания по меньшей мере одного нацеливающего агента с флуоресцентным красителем по изобретению, как правило, через линкер. Якорная группа будет прикреплена к нацеливающей группе перед ее связыванием с красителем по изобретению.

Подходящие якорные группы включают как природные, так и неприродные аминокислоты, олигопептиды, например линейные или циклические олигопептиды, нуклеиновые кислоты, пептиды или пептидные фрагменты, такие как глицин, β -аланин, γ -аминомасляная кислота или аминокaproновая кислота, а также синтетические линкерные молекулы, такие как аминоэтил малеимида или аминметил бензойной кислоты. В других вариантах осуществления якорная группа представляет собой полимер, такой как гомобифункциональный или гетеробифункциональный полиэтиленгликоль (ПЭГ, PEG).

Несколько производных ПЭГ являются коммерчески доступными от нескольких поставщиков (например, Quanta Biodesign, Merck). Когда якорная группа представляет собой пептид, пептид необязательно может включать сайт протеолитического расщепления, который может быть расщеплен различными агентами, например ферментом. Понятно, что для данного линкера нет конкретных ограничений по структуре, размеру или содержанию. Якорные группы могут включать, например, множество функциональных групп, таких как малеимид, дитиопиридил, тиол, азид, алкен или алкин, которые позволяют собирать молекулы различной архитектуры. Якорные группы могут быть гомофункциональными линкерами или гетерофункциональными линкерами. Например, функционализированные по амину (NH_2) фрагменты могут взаимодействовать с бифункциональными сшивающими агентами, предназначенными для взаимодействия с аминоклуппами. Особенно полезные реагенты для конъюгации, которые могут способствовать ковалентному связыванию, например, между флуоресцентным красителем (флуорофором) и ферментативно расщепляемым олигопептидом, могут включать сложный эфир N-гидроксисукцинимиды (NHS) и/или малеимида. Сложный эфир NHS может реагировать с аминоклуппой, например, пептида или флуорофора. Малеймид может реагировать с сульфгидрильной группой другой молекулы. Другими особенно полезными якорными группами являются бифункциональные сшивающие агенты, такие как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP), длинноцепочечный SPDP, сложный эфир N-гидроксисукцинимиды малеймидобензойной кислоты (MBS), сукцинимидил транс-4-(малеимидилметил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), сукцинимидил-йодацетат (SIA).

В некоторых вариантах осуществления якорная группа может быть разветвленной, например глутаминовая кислота или 5- (аминометил)изофталеваья кислота, или может представлять собой дендример, такой как дендример лизина или глутаминовой кислоты, с несколькими группами M, связанными с одним участком на флуоресцентном красителе (флуорофоре).

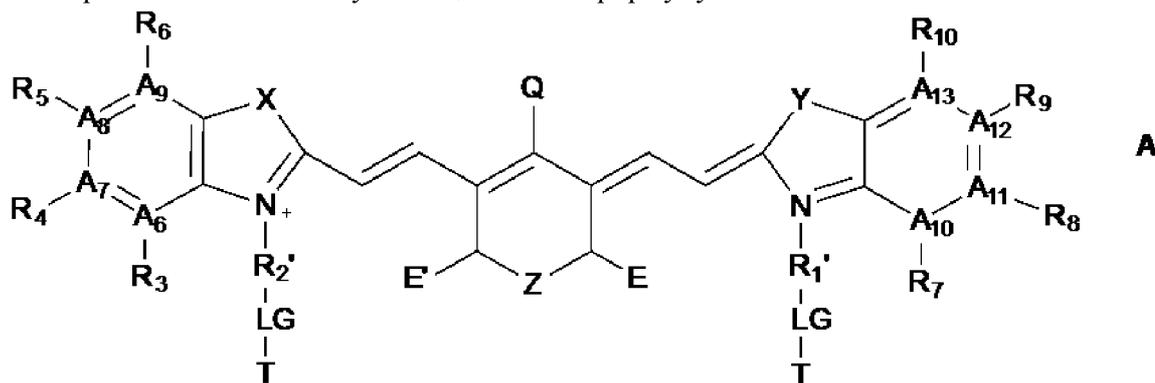
В некоторых вариантах осуществления биологический модификатор или модификатор физиохимии может представлять собой фрагмент ПЭГ, который имеет молекулярную массу, например, от примерно 0,1 кДа до примерно 50 кДа, от примерно 5 кДа до примерно 35 кДа или от примерно 10 кДа до примерно 30 кДа. Альтернативно, ПЭГ может представлять собой dPEG, функционализированный при дискретной молекулярной массе, например, примерно 1100 дальтон. В некоторых вариантах осуществления ПЭГ представляет собой метоксиПЭГ(5000)-сукцинимидилпропионат (mPEG-SPA), метоксиПЭГ(50000)-сукцинимидилсукцинат (mPEG-SS). Такие ПЭГ являются коммерчески доступными от Nektar Therapeutics SunBiowest или LaysanBio или NOF. Фрагмент ПЭГ может быть конъюгирован с реакционноспособными аминами флуоресцентного красителя через функциональную карбоксылную группу. Альтернативно, модификатор ПЭГ или модификатор физиохимии можно конъюгировать с флуоресцентным красителем с помощью тиол-реактивного сшивающего линкера, а затем осуществить взаимодействие с тиоловой группой на ПЭГ. В одном из вариантов

осуществления ПЭГ может быть разветвленным или Y-образным, доступным от Nektar Therapeutics Ca, JenKem USA или Quanta Biodesign, или гребенчатым, или может быть синтезирован путем связывания двух или более ПЭГ с малой молекулой, такой как глутаминовая кислота.

В другом варианте осуществления химический модификатор или модификатор физиохимии могут представлять собой дендримеры различных поколений для обеспечения нескольких точек присоединения, например, полученные из полиамидо(амина) ПАМАМ и характеризующиеся в зависимости от поколения числом функциональных групп и мультипликативных излучающих цепей. Дендримеры можно приобрести у компаний Merck, Dendritech and Polymer (Sweden).

В других вариантах осуществления биологический химический модификатор или модификатор физиохимии могут представлять собой полимеры типа поливинилпирролидона (ПВП). Биологический или химический модификатор или модификатор физиохимии может представлять собой функционализированный поливинилпирролидон, например, функционализированный по карбокси- или аминогруппе на одном (или обоих) концах полимера (доступные от Polymersource) или внутри полимерной цепи. В качестве альтернативы, биологический химический модификатор или модификатор физиохимии может включать поли N-(2-гидроксипропил)метакриламид (HPMA) или функционализированный HPMA (амин, карбокси и т.д.), поли(N-изопропилакриламид) или функционализированный поли(N-изопропилакриламид).

Соответственно, дополнительным аспектом настоящего изобретения является биоконъюгированный агент визуализации, содержащий нацеливающий агент, как описано выше, связанный с красителем основной структуры, изображенной в формуле A. Биоконъюгированный агент визуализации имеет формулу D.



D

где R^3 - R^{10} , A^6 - A^{13} , X, Y, Q, Z, E и E' имеют общие, предпочтительные, более предпочтительные, еще более предпочтительные и наиболее предпочтительные значения, как определено в связи с формулой A,

R^1 и R^2 независимо друг от друга имеют значение R^{23} определенное в связи с $R^{23}L$ для формулы A, в общих, предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных значениях, определенных в связи с формулой A; где присутствуют оба R^1 и R^2 ; или присутствует только один из R^1 и R^2 ,

ИЗМЕНЕННАЯ СТРАНИЦА

будучи присоединенным к Т через LG, в этом случае другой заместитель $R^{1'}$ или $R^{2'}$ отсутствует или представляет собой Н, или имеет значение R^1 или R^2 , определенное в связи с формулой А, в общих, предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных значениях, определенных в связи с формулой А.

Биоконъюгированный агент визуализации также может иметь формулу G, которая имеет ту же формулу, что и формула А, за исключением того, что Q представляет собой R^{21} -LG-T, $-O-R^{21}$ -LG-T, $-SR^{21}$ -LG-T или $-NR^{21}R^{22}$ -LG-T, R^{21} и R^{22} имеют такое же значение, что и R^{21} и R^{22} , определенное в связи с $R^{21}L$, $-OR^{21}L$, $-SR^{21}L$ и $-NR^{21}R^{22}L$ для формулы А.

LG в обеих формулах D и G представляет собой связывающую группу, образованную в результате реакции линкера, как определено в общих, предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных значениях для формулы А, с комплементарной группой на нацеливаемом агенте, как определено в общих, предпочтительных, более предпочтительных и еще более предпочтительных значениях, определенных в связи с формулой А;

T в формулах D и G представляет собой нацеливающий агент, независимо выбранный из рецепторов, лигандов, антител, в частности моноклональных и поликлональных антител, и фрагментов этих антител, антигенов, пептидов (например, пептида RGD, который специфически связывается с интегрином $\alpha_v\beta_3$), субстратов ферментов, ферментов, (специфических) белков и фрагментов белков, биотина, авидина, стрептавидина, антибиотина, углеводов, сахаридов, лектина, ДНК и ее фрагментов, РНК и ее фрагментов, адНК и ее фрагментов, аРНК и ее фрагментов, гормонов, фолиевой кислоты, аптамеров, включая пептидные аптамеры и ДНК- и РНК-аптамеры, ферментных субстратов и малых молекул, таких как фрагменты, содержащие жирную кислоту (например, аминокислотную жирную кислоту) или фрагмента, содержащего амин (например, замещенный или незамещенный анилин). Нацеливающий агент, как показано в формуле D, образуется в результате реакции соответствующего линкера, как определено в общих, предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных значениях для формулы А, с комплементарной группой на нацеливаемом агенте, как определено в общих, предпочтительных, более предпочтительных и еще более предпочтительных значениях, определенных в связи с формулой А.

В контексте настоящей заявки нацеливающий агент в предпочтительном варианте осуществления изобретения представляет собой лиганд, который способен специфически взаимодействовать со специфическими для клетки молекулами через координационные связи, приводя к образованию сайт-специфичного комплекса со специфичной молекулой клетки. В контексте настоящей заявки координационная связь представляет собой межмолекулярную силу, такую как ионные связи, водородные связи и силы Ван-дер-Ваальса. В физиологических условиях нацеливающий агент обычно действует как

ингибитор или активатор после образования координационной связи с молекулой, специфичной для клетки.

Нацеливающие агенты, которые образуют эти сайт-специфические комплексы с молекулами, специфичными для клетки, известны специалисту в данной области или доступны из недавно опубликованных статей. Например, эти нацеливающие агенты хорошо описаны в “CourseSmart International E-Book for Principles of Biochemistry” (D. L. Nelson and M. M. Cox, Eds. Palgrave Macmillan, 13.02.2013) and “Illustrated Dictionary of Immunology. Third Edition” (J. M. Cruse and R. E. Lewis, Eds. CRC Press, 20.04.2009).

В зависимости от типа клетки и доступности целевой молекулы, специфичной для клетки, нацеливающий агент независимо выбирают из указанной выше группы.

Малая молекула представляет собой низкомолекулярное органическое соединение с массой <900 дальтон, способствующее регулировке биологического процесса, имеющее размер порядка 10-9 мкм. В предпочтительном варианте осуществления малая молекула представляет собой молекулу, которая связывается с конкретной биологической мишенью, такой как конкретный белок или нуклеиновая кислота, и действует как эффектор, изменяя активность или функцию мишени.

В контексте настоящей заявки рецептор представляет собой молекулу, обычно белок, которая получает химические сигналы от связывающегося с ней лиганда. Обычно рецепторы представляют собой молекулы, которые встроены в мембрану клетки и известны специалисту в данной области. Их также можно использовать без трансмембранной части. Термин рецептор также включает другие белки, которые являются мишенями для лекарственных веществ, в частности ферменты, переносчики и ионные каналы.

В контексте настоящей заявки лиганд представляет собой вещество, которое образует комплекс с рецептором, обычно белком, в результате связывания со своим участком межмолекулярными силами, такими как ионные связи, водородные связи и силы Ван-дер-Ваальса. Лиганд может представлять собой малую молекулу, ион или белок, субстрат, ингибитор, активатор, нейротрансмиттер.

В контексте настоящей заявки антиген представляет собой молекулу, которая связывается с Ag-специфическими рецепторами, включая антигены, и представляет собой любую молекулу или фрагмент молекулы, который может распознаваться высоко вариабельными рецепторами антигена. Антигены обычно представляют собой пептиды, полисахариды или липиды.

В контексте настоящей заявки термин “антитело” относится к иммуноглобулинам, которые представляют собой класс растворимых белков, обнаруживаемых в жидкостях организма человека и других позвоночных. Их также называют “антителами”, и они играют ключевую роль в процессах распознавания, связывания и адгезии клеток. Антитела представляют собой олигомерные гликопротеины, которые играют первостепенную роль в иммунной системе путем распознавания и устранения антигенов, в основном бактерий и вирусов.

Полимерная цепь антител построена таким образом, что они содержат так

называемые тяжелые и легкие цепи. Основная единица иммуноглобулина состоит из двух идентичных тяжелых и двух идентичных легких цепей, соединенных дисульфидными мостиками. Существует пять типов тяжелых цепей (α , γ , δ , ϵ , μ), которые определяют классы иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgD, IgE, IgM). Группа легкой цепи включает два подтипа, λ и κ . IgG представляют собой растворимые антитела, которые можно найти в крови и других жидкостях организма. Они продуцируются плазматическими клетками, происходящими из В-клеток, в ответ на бактериальные или другие патогены и нейтрализуют их. Два концевых карбокси-домена тяжелых цепей образуют Fc-фрагмент (“константный фрагмент”), аминоконцевые домены тяжелой и легкой цепей узнают антиген и называются Fab-фрагментом (“антигенсвязывающий фрагмент”). Fc-слитые белки образуются путем объединения Fc-фрагмента антитела с белком или доменом белка, который обеспечивает специфичность по отношению к заданной мишени лекарственного средства. Другие Fc-слитые белки представляют собой комбинации Fc-фрагмента с любым типом терапевтических белков или белковых доменов. Считается, что Fc-часть увеличивает стабильность и облегчает доставку белкового лекарственного средства. Терапевтические антитела и Fc-слитые белки используются для лечения различных заболеваний, яркими примерами которых являются ревматоидный артрит, псориаз, рассеянный склероз и многие формы рака. Терапевтические антитела могут быть моноклональными или поликлональными антителами.

В настоящем изобретении могут использоваться все типы иммуноглобулинов (антител) IgA, IgG, IgD, IgE, IgM. IgM является предпочтительным, и этот термин включает природные, моноклональные и поликлональные антитела, Fc-слитые белки и терапевтические антитела (поликлональные и моноклональные).

Общие, предпочтительные, более предпочтительные и еще более предпочтительные варианты осуществления, приведенные в связи с формулой A, также применимы по отношению к приведенной выше формуле (D). Однако в биоконъюгированных агентах визуализации согласно формуле (D) случай, когда R^{19} в $-OR^{19}$ не является H, не применяется.

Что касается приведенной выше формулы D, соответствующий биоконъюгат может содержать две нацеливающие группы, присоединенные к скелету красителя через LG, $R^{1'}$ и $R^{2'}$, или присутствует только один из $R^{1'}$ и $R^{2'}$ для присоединения T через LG, что означает, что биоконъюгированный нацеливающий агент содержит только одну нацеливающую группу. В этом последнем случае другой заместитель $R^{1'}$ или $R^{2'}$ отсутствует, представляет собой H или имеет значение R^1 или R^2 , как определено в связи с формулой A, в общем, предпочтительном, более предпочтительном, еще более предпочтительном и наиболее предпочтительном значении, определенном в связи с формулой A; или один из $R^{1'}$ и $R^{2'}$ имеет значение $R^{23}L$, как определено в связи с формулой A, в общем, предпочтительном, более предпочтительном, еще более предпочтительном и наиболее предпочтительном значениях, что означает, что линкер L связан со скелетом красителя через R^{23} ; или один из $R^{1'}$ и $R^{2'}$ имеет значение $R^{23}U$, как определено в связи с формулой A, в общем, предпочтительном, более предпочтительном и еще более предпочтительном значениях, что

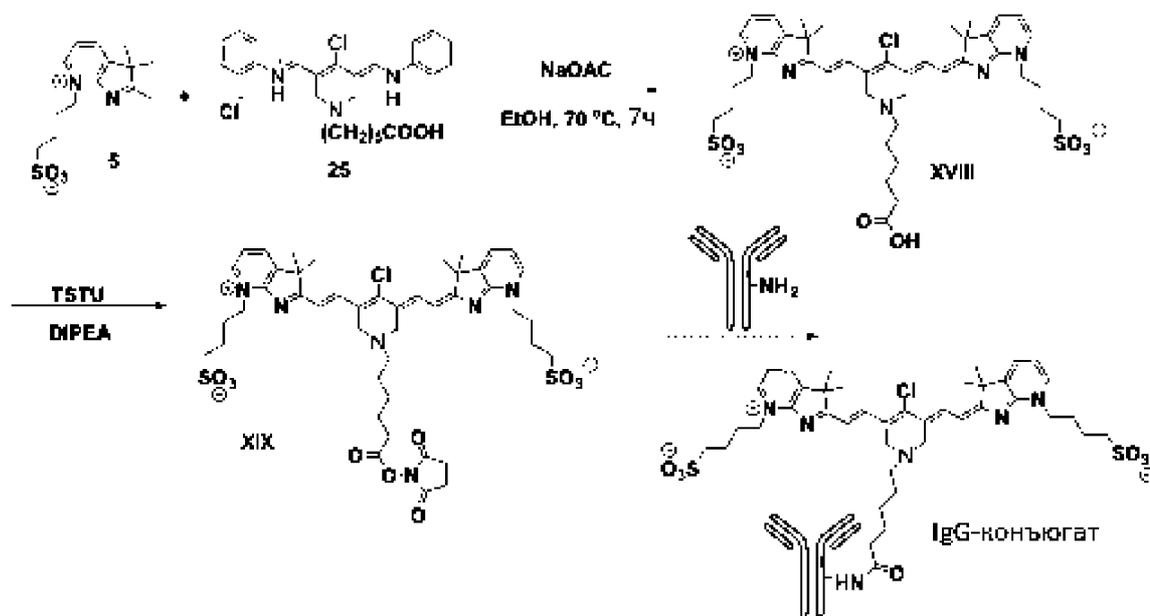
означает, что модифицирующая физиохимия группа U связана со скелетом красителя через R²³.

В предпочтительном варианте осуществления нацеливающие агенты представляют собой лиганды, которые связываются с рецепторами, сверхэкспрессируемыми на раковых клетках. Однако рецепторы, сверхэкспрессируемые на раковых клетках, также экспрессируются на незлокачественных клетках в меньших количествах. Следовательно, лиганд должен обладать сродством и специфичностью к сверхэкспрессируемому рецептору на поверхности клетки. Существует несколько нацеливающих агентов для известных биологических мишеней. Эти мишени включают, например, трансферрин, моноклональные антитела (MAb), поликлональные антитела, пептиды, EGF (эпидермальный фактор роста), фолат и аптамеры.

Нацеливающие агенты T могут быть одинаковыми или разными. Если T различны, то связующие группы LG, как правило, будут отличаться друг от друга, но также могут быть одинаковыми.

Независимо от того, являются ли нацеливающие агенты разными или нет, агенты визуализации биомолекул в соответствии с приведенной выше формулой могут быть симметричными или асимметричными в том смысле, что они не имеют симметрии C₂.

Примерами биоконъюгированных агентов визуализации по изобретению являются соединения XX, XXI, XXII и XXVIII, как показано в примерах. Другим примером биоконъюгатов по изобретению для визуализации изображений является следующее соединение:



Где молекула IgG представляет собой моноклональное или поликлональное антитело.

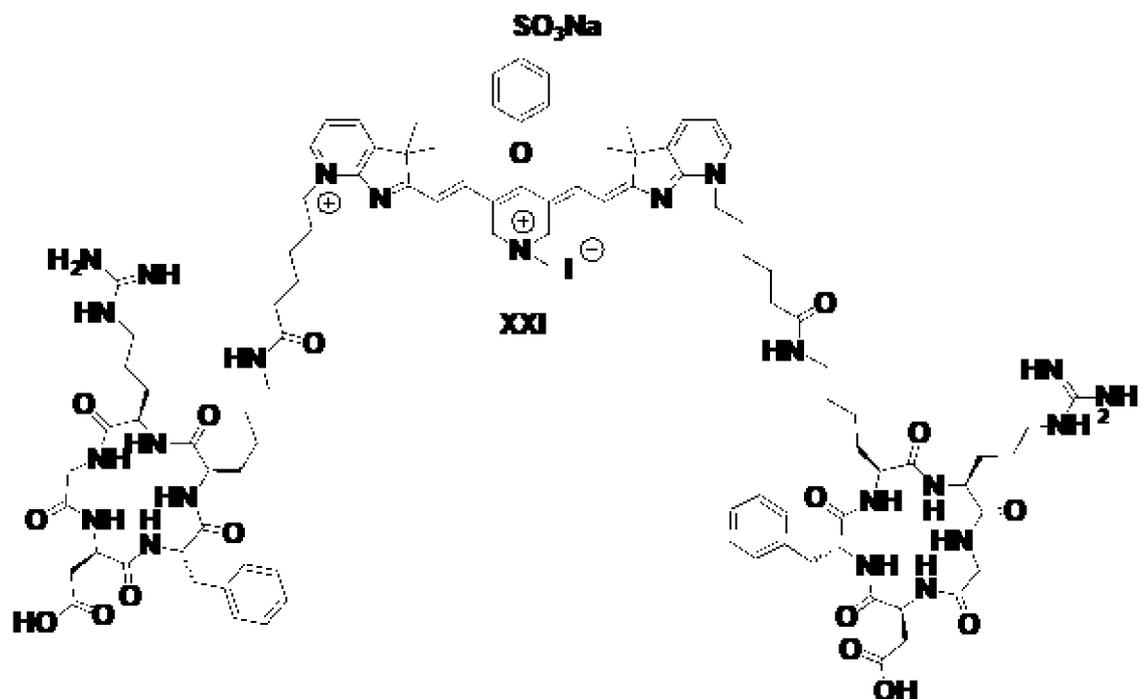
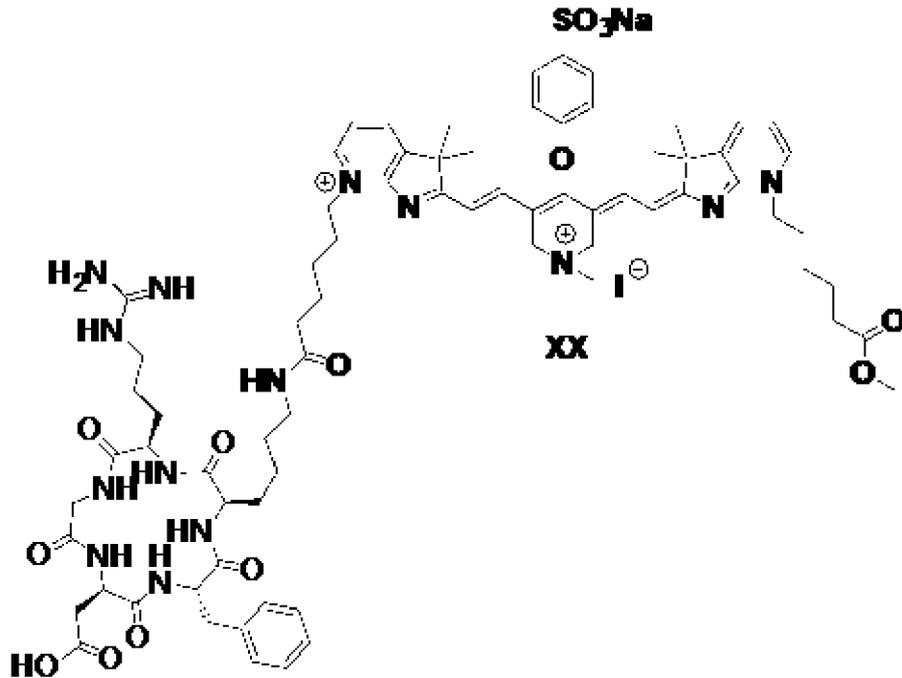
В данной области известны примеры групп, реагирующих друг с другом с образованием ковалентной связи, используемой для связывания двух молекул. В некоторых вариантах осуществления приведенные ниже реакции подходят для присоединения

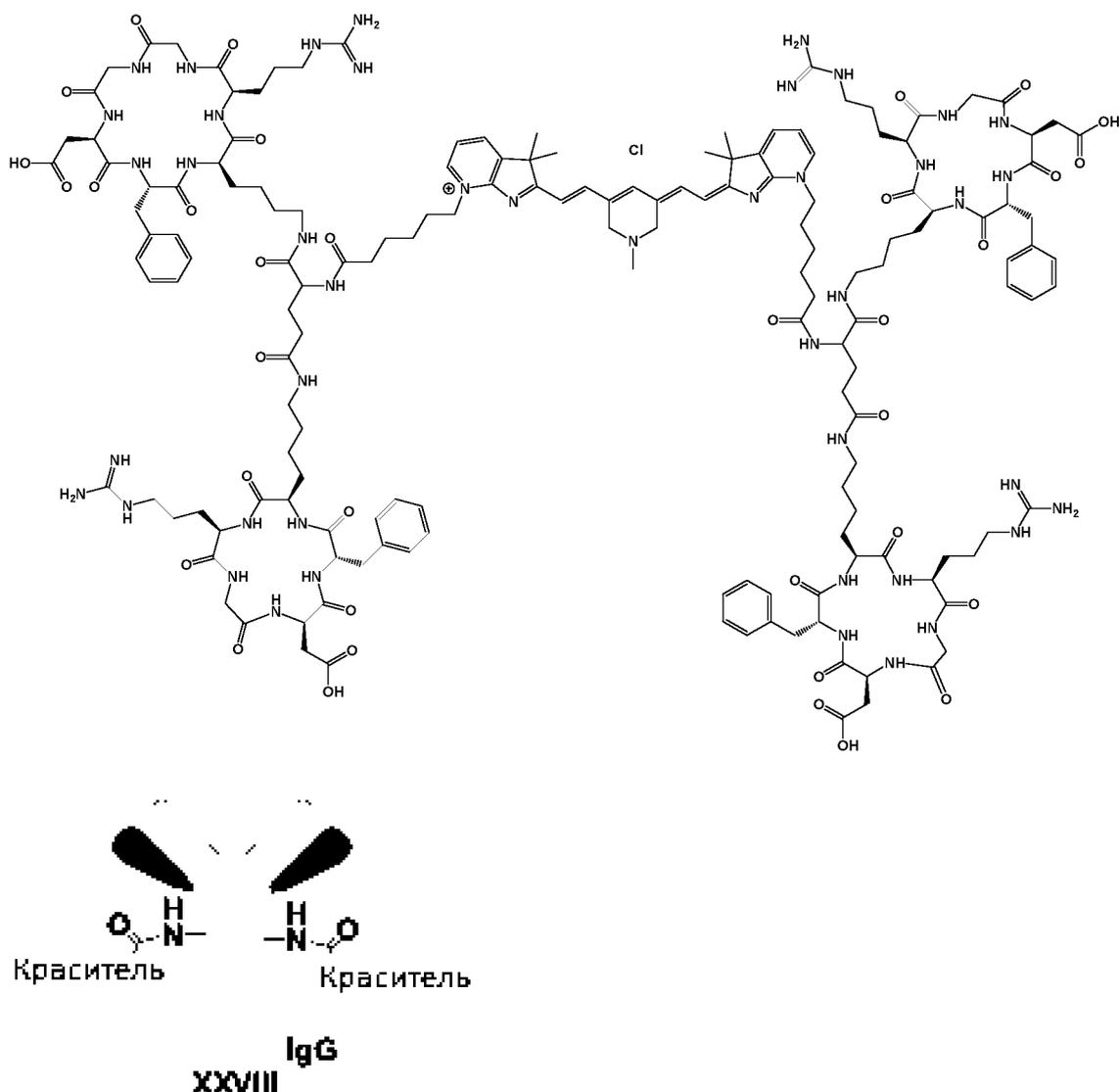
нацеливающей группы к красителю по изобретению.

Электрофильная группа	Нуклеофильная группа	Получаемая ковалентная связь
Активированные сложные эфиры*	амины/анилины	карбоксамиды
ацилазиды**	амины/анилины	карбоксамиды
ацилгалогениды	амины/анилины	карбоксамиды
ацилгалогениды	спирты/фенолы	сложные эфиры
ацилнитрилы	спирты/фенолы	сложные эфиры
ацилнитрилы	амины/анилины	карбоксамиды
альдегиды	амины/анилины	имины
альдегиды или кетоны	гидразины	гидразоны
альдегиды или кетоны	гидроксиламины	оксимы
алкилгалогенидов	амины/анилины	алкиламины
алкилгалогенидов	карбоновые кислоты	сложные эфиры
алкилгалогенидов	тиолы	тиоэфиры
алкилгалогенидов	спирты/фенолы	сложные эфиры
алкилсульфонаты	тиолы	тиофиры
алкилсульфонаты	карбоновые кислоты	сложные эфиры
алкилсульфонаты	спирты/фенолы	сложные эфиры
ангидриды	спирты/фенолы	сложные эфиры
ангидриды	амины/анилины	карбоксамиды
арилгалогениды	тиолы	тиофенолы
арилгалогениды	амины	ариламины
азиридины	тиолы	тиоэфиры
боронаты	гликоли	сложные эфиры боронатов
карбоновые кислоты	амины/анилины	карбоксамиды
карбоновые кислоты	спирты	сложные эфиры
карбоновые кислоты	гидразины	гидразиды
карбодиимиды	карбоновые кислоты	N-ацилмочевины или ангидриды
диазоалканы	карбоновые кислоты	сложные эфиры
эпоксиды	тиолы	тиоэфиры
галогенацетомиды	тиолы	тиоэфиры
галогентриазины	амины/анилины	аминотриазины
галогентриазины	спирты/фенолы	Триазиниловые сложные эфиры
Имидо сложные эфиры	амины/анилины	амидины
изоцианаты	амины/анилины	мочевины
изоцианаты	спирты/фенолы	уретаны
изотиоцианаты	амины/анилины	тиомочевины
малеимиды	тиолы	тиоэфиры
фосфорамидиты	спирты	Сложные эфиры фосфитов

силилгалогениды	спирты	Силил-сложные эфиры
сульфонатные эфиры	амины/анилины	алкиламины
сульфонатные эфиры	тиолы	тиоэфиры
сульфонатные эфиры	карбоновые кислоты	сложные эфиры
сульфонатные эфиры	спирты	эфиры
сульфонил галогениды	амины/анилины	сульфонамиды
сульфонил галогениды	фенолы/спирты	сульфонатные эфиры

Примеры предпочтительных биоконъюгированных агентов визуализации по изобретению включают следующие соединения XX, XXI, XXII и XXVIII. В биоконъюгате XXVIII “краситель” представляет собой XXVII.





Другим аспектом изобретения является чувствительность флуоресцентного красителя по изобретению к рН, когда атом азота в гетероцикле замещен, а другой атом N доступен для протонирования или депротонирования. Длины волн возбуждения и излучения зависят от рН, что позволяет отслеживать лизосомы, поскольку окружающая среда является кислой. При низком рН азот индола протонируется, и красители по изобретению смещаются в сторону более длинных волн при депротонировании по мере расширения конъюгации. Такие красители являются сенсорами рН, так как их поглощение и, следовательно, флуоресценция изменяются в зависимости от рН окружающей среды. Флуоресцентные красители по изобретению являются сенсорами рН и отличаются способностью изменять свойства поглощения и излучения флуоресценции в результате протонирования некваaternизованного азота в системе. Таким образом, изобретение относится к применению флуоресцентных красителей по изобретению в качестве сенсоров рН. Изобретение также относится к способу измерения рН раствора, в котором используются флуоресцентные красители по изобретению.

В дополнительном варианте осуществления изобретения биоконъюгированный агент визуализации по изобретению связывается с биологической мишенью. В этом

варианте осуществления биоконъюгированный агент визуализации позволяет обнаруживать наличие биологической мишени, предпочтительно путем визуализации, и заболевания или пораженной ткани, экспрессирующей или презентирющей биологическую мишень.

Полученный в результате биоконъюгированный агент визуализации может иметь высокое сродство связывания с мишенью, например, благодаря взаимодействию между биомолекулой и мишенью, например, через взаимодействие рецептор-лиганд, взаимодействие антитело-антиген, взаимодействие пептид-пептидный рецептор, взаимодействие фермент-субстрат-фермент, взаимодействие белок-белковый рецептор, взаимодействие биотин-авидин (или стрептавидин, или анти-биотин), взаимодействие углеводов-лектин (или углеводный рецептор), взаимодействие ДНК(РНК)-аДНК(аРНК), взаимодействие гормон-гормональный рецептор.

Т представляет собой нацеливающий агент, независимо выбранный из рецепторов, лигандов, моноклональных и поликлональных антител и фрагментов этих антител, антигенов, пептидов, субстратов ферментов, ферментов, (специфических) белков и фрагментов белков, биотина, авидина, стрептавидина, антибиотина, углеводов, сахаридов, лектина, ДНК и ее фрагментов, РНК и ее фрагментов, аДНК (антисмысловой ДНК) и ее фрагментов, аРНК (антисмысловой РНК) и ее фрагментов, гормонов, фолиевой кислоты, аптамеров и субстратов ферментов.

В одном из вариантов осуществления изобретения нацеливающий агент связывается с мишенями, сверхэкспрессируемыми раковыми клетками. Однако мишени, сверхэкспрессируемые раковыми клетками, также экспрессируются на незлокачественных клетках в меньших количествах. Следовательно, нацеливающий агент, используемый по изобретению, обладает сродством и специфичностью в отношении сверхэкспрессируемых мишеней на клеточной поверхности. Неограничивающие примеры включают фолат, трансферрин, моноклональные антитела (MAb), пептиды, EGF (эпидермальный фактор роста) и аптамеры.

Соответственно, нацеливающий агент может представлять собой рецептор, лиганд, антитело, предпочтительно моноклональное антитело, антиген, пептид, субстрат фермента, фермент, белок, биотин, авидин, стрептавидин, антибиотин, углеводов, сахарид, лектин, углеводов, ДНК, РНК, аДНК, аРНК, гормон.

Одно из преимуществ биоконъюгированных агентов визуализации по изобретению состоит в том, что они не демонстрируют никакого связывания с живыми клетками или поглощения ими и избирательно связываются только с некротическими клетками. Это показано на примерах.

В следующем варианте осуществления настоящего изобретения флуоресцентный краситель и биоконъюгированные агенты визуализации по настоящему изобретению модифицированы таким образом, что они несут хелатирующий агент (в дальнейшем обозначаемый как "СА"). Хелатирующий агент пригоден для различных целей, например для связывания с металлом, предпочтительно радиоактивным металлом. Связывание

металла с хелатом обычно происходит через координационные связи (хелатный эффект), при которых 2 или более атомов в хелатирующем агенте связываются с одним атомом, обычно с атомом металла. Координационные связи обычно образуются в реакции между атомом металла (ионом) и свободной электронной парой на атоме хелатирующего агента.

Хелатирующие агенты хорошо известны специалисту в данной области. В контексте настоящего изобретения предпочтительно использование хелатирующих агентов, которые связываются с металлами, в частности радиоактивными металлами и/или известными радиоактивными изотопами известных металлов, в частности радиоактивными металлами или радиоактивными изотопами металлов, которые могут использоваться в качестве агентов визуализации опухолей и/или в качестве контрастного агента для МРТ.

В настоящем изобретении предпочтительно используется 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (ДОТА), 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота (НОТА), триэтиленetetрамин (ТЕТА), этилендиаминтетрауксусная кислота (ЕDТА), 1,4,7-триазациклононан-1-глутаровая кислота-4,7-диуксусная кислота (НОDАGА), диэтиленetriаминпентауксусная кислота (DТРА).

Хелатирующие агенты, используемые в настоящем изобретении, в частности, указанные выше хелатирующие агенты, могут использоваться для связывания радиоактивных металлов или радиоактивных изотопов металлов, предпочтительно в виде ⁶⁸галлия (⁶⁸Ga), ⁶⁴меди (⁶⁴Cu) для визуализации опухоли методом ПЭТ или ¹¹¹индия (¹¹¹In) или любого другого металла, предпочтительно Gd³⁺ в качестве контрастного агента для МРТ на основе гадолиния, что делает этот конъюгат полезным для различных типов методов визуализации, таких как ПЭТ, ОФЭКТ и МРТ.

Хелатирующие агенты, в частности хелатирующие агенты, указанные выше, могут быть присоединены в любом подходящем положении в молекулах красителя по изобретению, т.е. хелатирующий агент может находиться в положении любого из заместителей Q, E, E' и R¹-R¹⁶. “Находиться в любом положении” в настоящем контексте означает, что хелатирующий агент может заменять соответствующий заместитель или может быть присоединен к соответствующему заместителю. “Присоединенный к” означает, что хелатирующий агент присоединен к химическому соединению, как определено относительно соответствующего заместителя, в предпочтительном, более предпочтительном, еще более предпочтительном или наиболее предпочтительном варианте осуществления, как определено выше. Например, это означает, что если хелатирующий агент SA находится в положении Q, R¹ и/или R², SA может быть присоединен (в самом общем варианте осуществления) к группе, выбранной из линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые

могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50. "Присоединенный к" также относится к варианту осуществления, в котором SA присоединен к атому группы U или L или даже модифицирующей оптические свойства группы. Здесь SA может быть присоединен к соответствующей группе в результате реакции, преобразующей реакционноспособные единицы в различные функциональные группы. В этом варианте осуществления для достижения желаемых свойств полученного красителя и биоконъюгированного агента визуализации по изобретению может потребоваться введение в флуоресцентный краситель или биоконъюгированный агент визуализации дополнительной группы U, L или модифицирующей оптические свойства группы.

В случае, если хелатирующий агент заменяет соответствующий заместитель в соответствующем положении, тогда хелатирующий агент может быть присоединен непосредственно к соответствующему атому. В первом варианте осуществления SA присоединен к соответствующему атому на красителе через атом, который ранее присутствовал в хелатирующем агенте, или через атом в функциональной группе, которая ранее была присоединена к SA. Это показано на примерах.

Во втором варианте осуществления SA присоединен к химической единице, связывающей его с соответствующим атомом в соответствующем участке флуоресцентного красителя. Как правило, эти химические единицы являются такими, как они определены для Q, альтернативы b) в связи с формулой A, в общем, предпочтительном, более предпочтительном, еще более предпочтительном и наиболее предпочтительном значениях, как определено в настоящей заявке. Указанные химические единицы перед присоединением хелатирующего агента могут быть связаны с хелатирующим агентом или с флуоресцентным красителем до связывания хелатирующего агента с красителем.

Соответственно, в общем значении и в случае, если SA присоединен к атому химической единицы, связывающей его с соответствующим атомом, являющимся частью флуоресцентного красителя по изобретению, единица, содержащая SA, в самом общем значении определена как: $R^{35}CA$, $-OR^{35}CA$, $-SR^{35}CA$ и $-NR^{35}R^{36}CA$, где R^{35} и R^{36} независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{35} и R^{36} не является ароматическим в случае $-NR^{35}R^{36}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 50; и SA является хелатирующим агентом, определенным выше.

Каждая из указанных выше групп, имеющих R^{35} и R^{36} , может представлять собой модифицирующую оптические свойства группу.

Предпочтительные, более предпочтительные, еще более предпочтительные и наиболее предпочтительные значения СА, присоединенного к химическому объекту представляют собой, соответственно, значения, которые определены для Q b) в каждом из предпочтительных, более предпочтительных, еще более предпочтительных и наиболее предпочтительных вариантах осуществления, с R²¹ и R²², которые заменены R³⁵ и R³⁶.

Хелатирующий агент может находиться в любом положении Q, E, E' и R¹-R¹⁶, как указано выше. Предпочтительно хелатирующий агент находится в положении Q, R¹ и/или R². Наиболее предпочтительно СА находится в положении Q.

Количество хелатирующих групп, присоединенных к флуоресцентным красителям (и, следовательно, также к биоконъюгированным агентам визуализации) по изобретению, может меняться от 1 до 4, предпочтительно от 1 до 3, более предпочтительно от 1 до 2. В одном из конкретных предпочтительных вариантов осуществления это количество равно 1. В другом предпочтительном варианте осуществления это количество равно 2.

В приведенной ниже таблице 1 представлены различные предпочтительные хелатирующие агенты и соответствующие радиоактивные металлы/изотопы, которые связываются с агентом. Приведенная ниже таблица не предназначена для ограничения.

Хелатирующий агент	Хелатированные металлы
1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (DOTA)	индий-111, галлий-67/68, медь-64, иттрий-86
1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота (NOTA)	индий-111, галлий-67/68
триэтилентетрамин (ТЕТА)	медь-64
этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA)	галлий-68, медь-64
1,4,7-триазациклононан-1-глутаровая кислота-4,7-диуксусная кислота (NODAGA)	галлий-68, индий-111, медь-64
диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA)	индий-111, галлий-67/68, медь-64, иттрий-86, цирконий-89

Ниже показан синтез флуоресцентного красителя по настоящему изобретению, к которому присоединен хелатирующий агент (здесь: DOTA) в результате химической реакции. Реакция начинается с соединения VIII

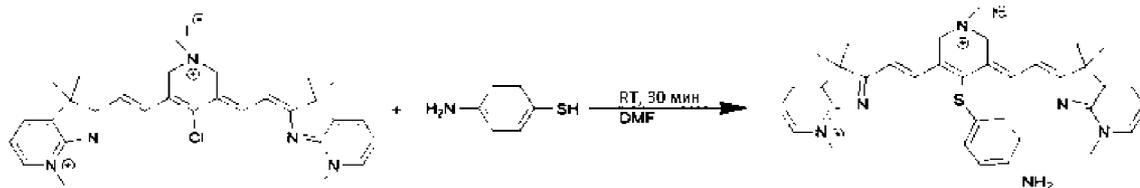


Схема реакции 1: Замещение центрального атома хлора на S-R

Функционализированное по амину соединение VIII может быть затем связано с различными хелатирующими агентами, такими как 1,4,7,10-тетра-азациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (DOTA), которые были модифицированы таким образом, чтобы они содержали N-гидроксисукцинимидную функциональную группу, как показано на схеме реакции 2. Эта реакция завершается с использованием функционализированного соединения VIII и формы сложного эфира N-гидроксисукцинимид DOTA, которая коммерчески доступна, в присутствии 4 эквивалентов N, N-диизопропилэтиламина (DIPEA) при комнатной температуре в атмосфере азота.

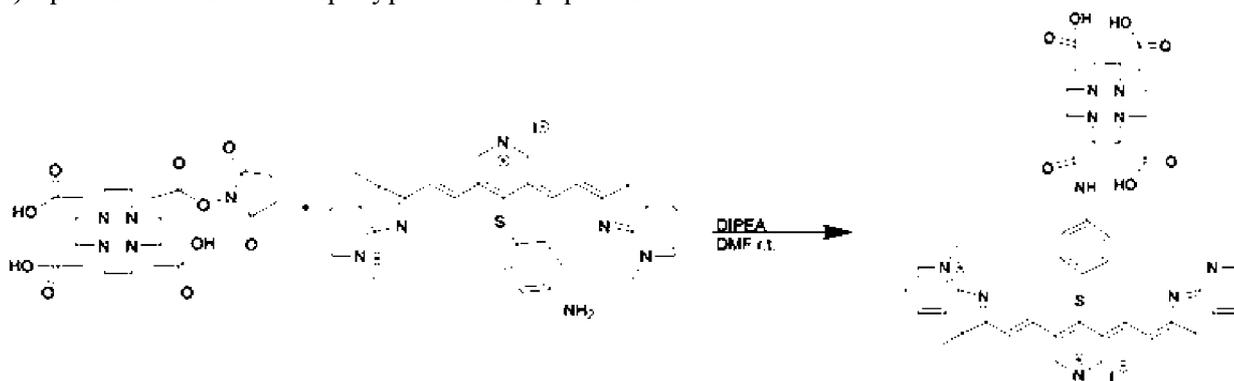


Схема реакции 2: Конъюгация соединения VIII с DOTA

Радиомечение конъюгата DOTA-соединение VIII осуществляется с использованием 0,25 М буфера ацетата аммония, pH 7,0, при 37°C и индия-111, который добавляют к раствору в 0,4 н соляной кислоте и перемешивают в течение 45 минут. Другие хелаты металлов ведут себя аналогичным образом при хелатировании. Реакция с индием-111 показана на схеме 3.

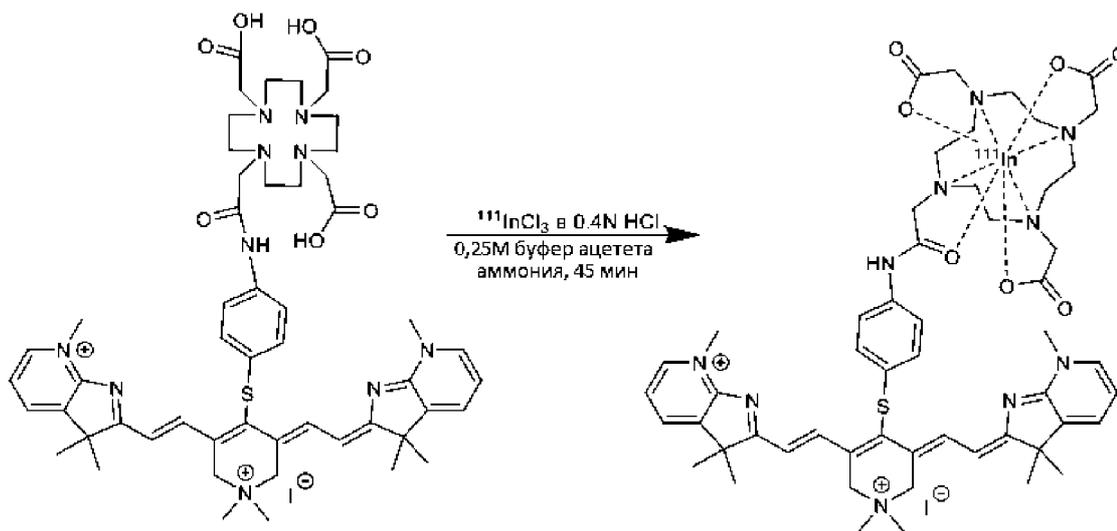


Схема реакции 3: хелатирование индия-111 в DOTA-соединении VIII

На схеме реакции 4 показана альтернативная исходная структура для конъюгации и хелатирования соединения VIII.

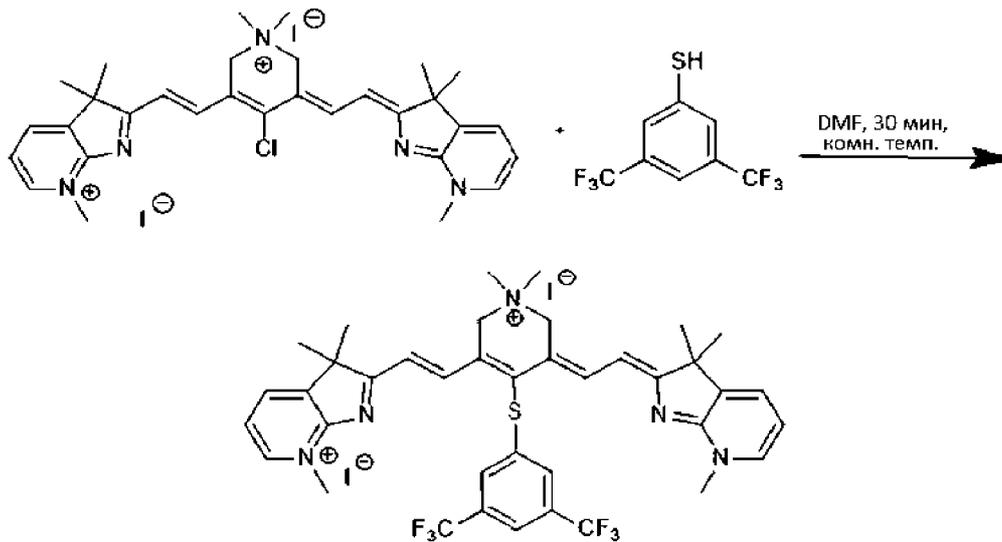


Схема реакции 4

На схеме реакции 5 показана альтернативная исходная структура (карбоксовая) для конъюгации и хелатирования соединения VIII.

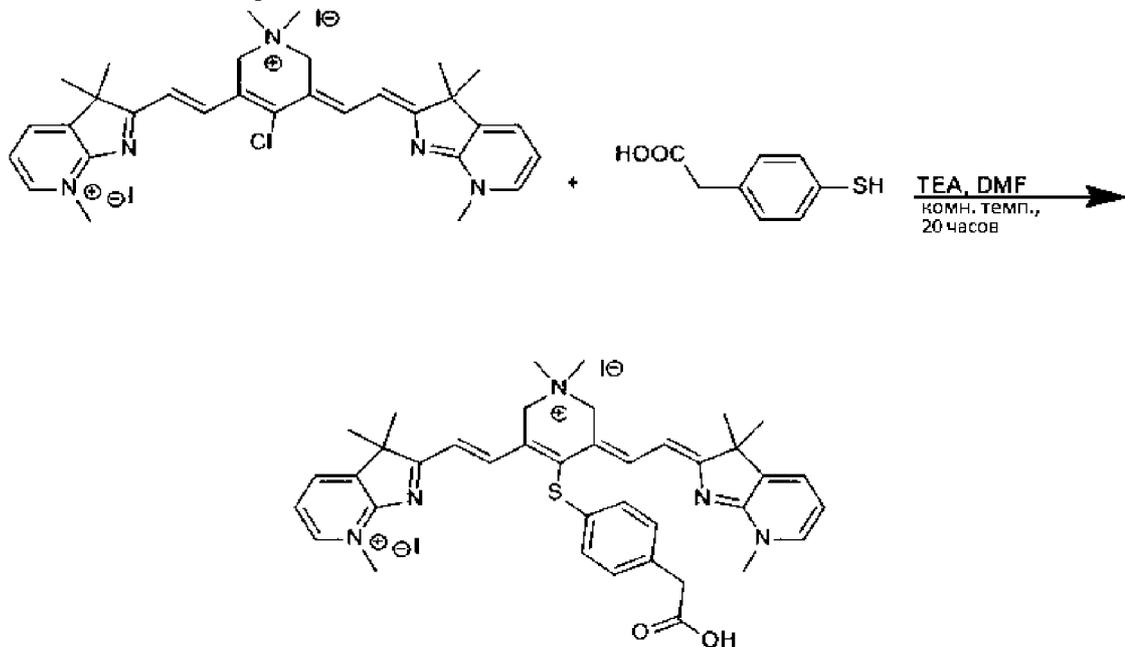


Схема реакции 5

На схеме реакции 6 показана альтернативная структура соединения VIII с изотиоцианатной функциональной группой для конъюгации с модифицированным соединением DOTA.

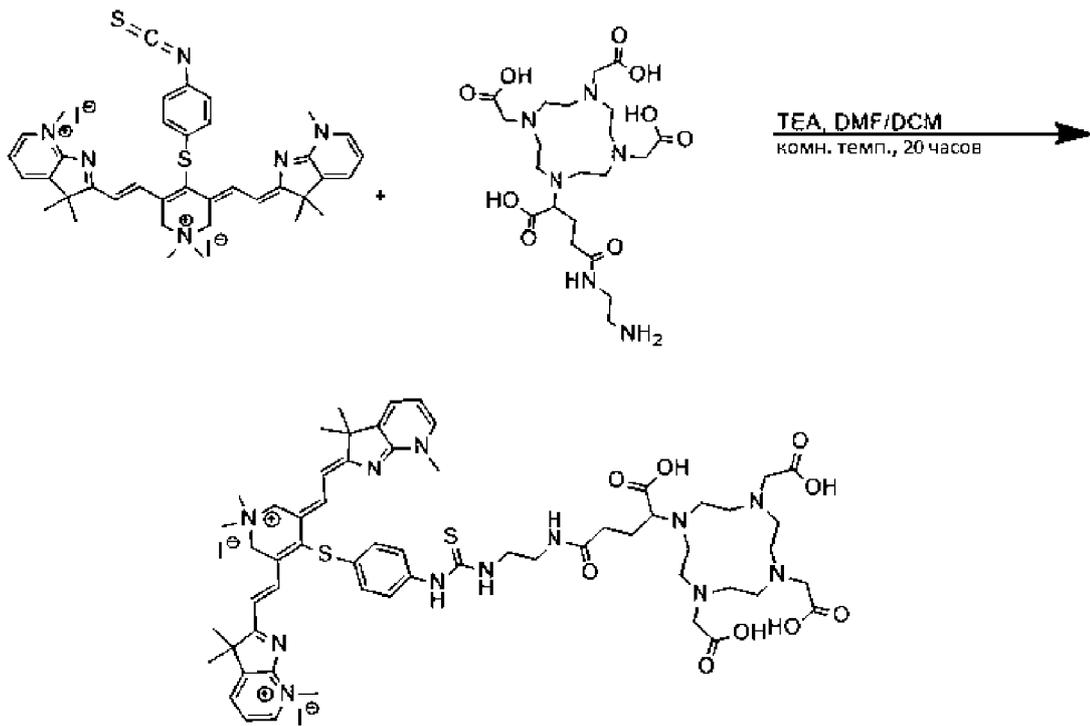
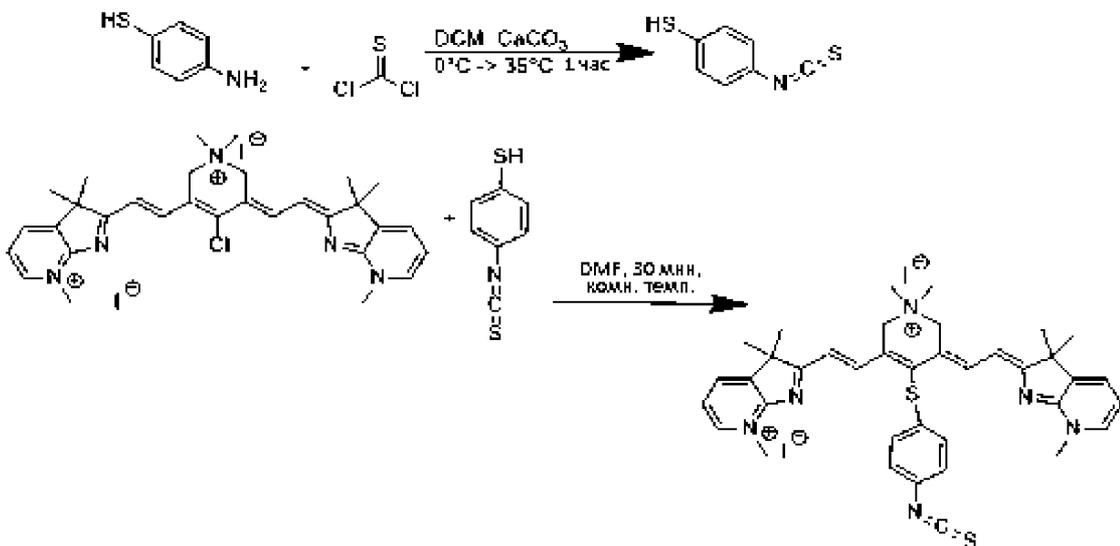


Схема реакции 6

На схеме реакции 7 показана дополнительная структура соединения VIII с изотиоцианатной группой в качестве исходного соединения для конъюгации с модифицированным соединением DOTA.



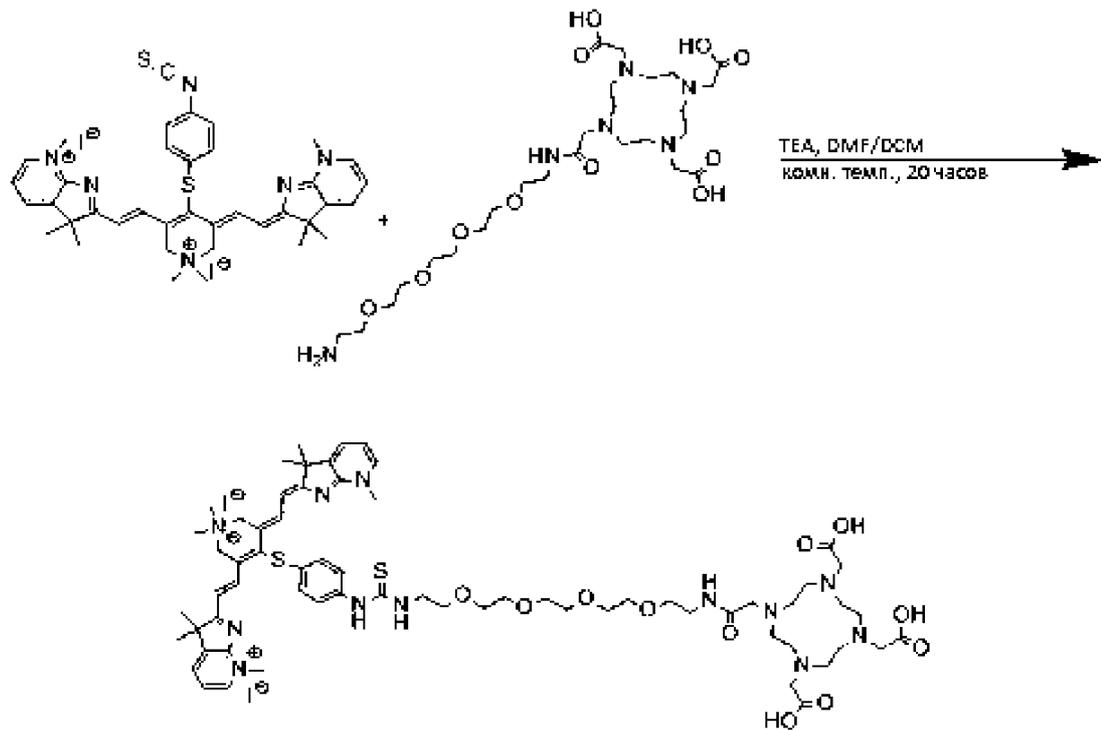


Схема реакции 7

Известно, что DOTA (и другие хелатирующие агенты) связывают радиоактивные изотопы, такие как 68 галлий (^{68}Ga), 64 медь (^{64}Cu), для визуализации опухоли методом ПЭТ или 111 индий (^{111}In) или любой другой металл, такой как Gd^{3+} , в случае контрастного агента на основе гадолиния, используемого в МРТ, что делает этот конъюгат полезным для различных типов методов визуализации, таких как ПЭТ, ОФЭКТ и МРТ. Соответствующие соединения также являются эффективными флуоресцентными реагентами, конъюгаты можно использовать для оптоакустической визуализации, визуализации в ближнем инфракрасном (600-900 нм) и коротковолновом инфракрасном (КВИК II) диапазоне длин волн от 0,9 до 1,7 микрон (подробнее см. ниже). Молекула также может быть использована в лучевой терапии для местного облучения опухолей в случае хелатирования с радиоизотопами, такими как лютеций или иттрий (^{177}Lu , ^{90}Y).

Фрагмент карбоновой кислоты в этой молекуле также можно использовать для связывания с любым другим нацеливающим лигандом, таким как фолиевая кислота, циклическими пептидами RGD (для нацеливания на рецептор альфа-v бета-3) или антителом по выбору (например, трастузумаб или ТЕМ-1), или любыми другими типами антител, такими как протела ("маскированные" антитела), нанотела и т.д.

На схеме реакции 8 показан зонд на основе аза-жирной кислоты, который можно использовать в хирургии, корректируемой по изображению, поскольку некоторые опухоли демонстрируют преимущественное поглощение жирных кислот по сравнению с нормальной тканью:

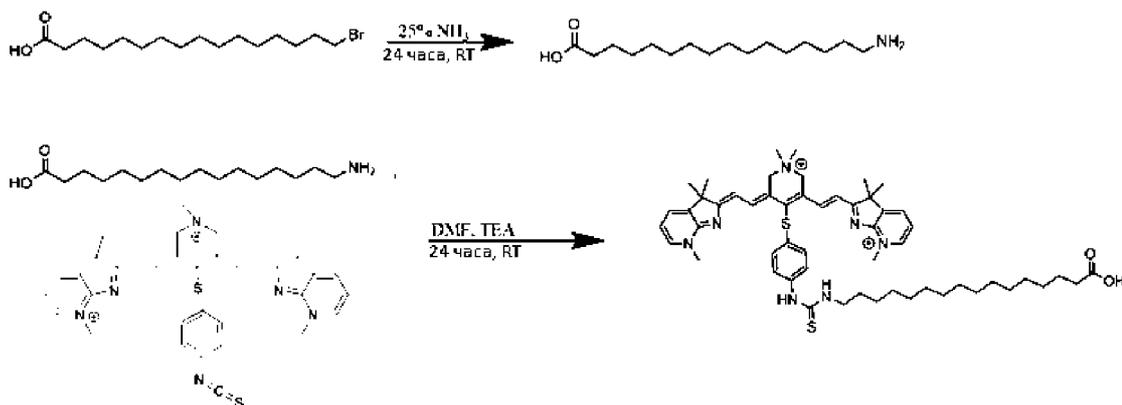


Схема реакций 8

На схеме реакции 9 показан зонд для мультимодальной визуализации:

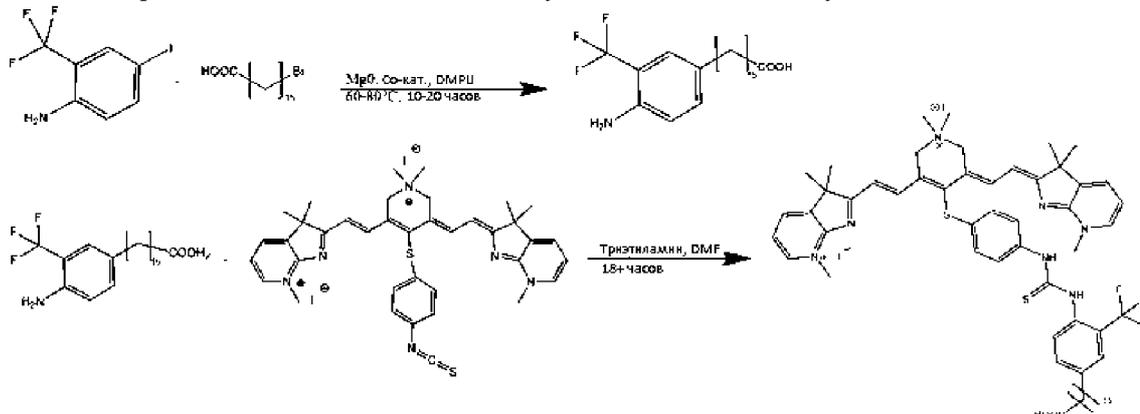


Схема реакции 9

Конечное соединение на схеме реакции 9 может быть как флуоресцентным зондом, так и зондом для визуализации с помощью такого метода визуализации, как ^{19}F -МРТ.

Вышеописанный вариант осуществления изобретения, в котором флуоресцентный краситель и биоконъюгированные агенты визуализации по изобретению модифицированы таким образом, что они несут хелатирующий агент, и в котором указанный хелатирующий агент связан с ионом металла, в основном с радиоактивным металлом/изотопом, могут быть использованы во всех вариантах осуществления изобретения, описанных выше и ниже, которые относятся к флуоресцентным красителям и/или биоконъюгированным агентам визуализации, включая соответствующие наборы.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к набору для флуоресцентного мечения биологического образца, содержащему краситель, как описано выше, или его соль, предпочтительно раствор красителя или соли, или биоконъюгированный агент визуализации по любому из пп. 7-9 и, возможно, подходящий буфер.

Другой аспект изобретения относится к способам визуализации *in vitro* и *in vivo* с использованием флуоресцентных красителей по изобретению, включая красители, функционализированные хелатирующим агентом, включая вариант осуществления с хелатными металлами в биоконъюгированных агентах визуализации. Оптическая визуализация включает все методы, от прямой визуализации без использования каких-либо устройств до использования таких устройств, как различные приборы наблюдения,

катетеры и оборудование для оптической визуализации, например компьютерное оборудование для томографических презентаций. Агенты визуализации полезны в контексте возможностей оптической визуализации. Методы измерения известны специалисту в данной области и включают, например, эндоскопию, флуоресцентную эндоскопию и другие методы, известные специалисту в данной области. Система визуализации, полезная в практическом применении, обычно включает три основных компонента: (1) соответствующий источник света для возбуждения агента визуализации, (2) систему разделения или различения излучения от света, используемого для возбуждения флуорофора (флуоресцентного красителя) и (3) систему обнаружения. Примеры систем обнаружения включают эндоскоп, катетер, томографическую систему, ручную систему визуализации, интраоперационный микроскоп или флуоресцентный микроскоп.

В другом аспекте изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, включающему: (a) введение субъекту биоконъюгированного агента визуализации по изобретению, содержащего флуоресцентный краситель по изобретению; (b) предоставление агенту возможности распределиться внутри организма субъекта; и (c) обнаружение сигнала, испускаемого биоконъюгированным агентом визуализации.

В другом аспекте изобретение относится к способу оптической визуализации *in vivo*, включающему: (a) введение субъекту биоконъюгированного агента визуализации по изобретению, содержащего флуоресцентный краситель по изобретению; (b) предоставление агенту возможности распределиться внутри организма субъекта; (c) облучение субъекта светом с длиной волны, поглощаемой флуоресцентным красителем, и (d) обнаружение сигнала, испускаемого агентом.

В другом аспекте изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, в котором сигнал, излучаемый биоконъюгированным агентом визуализации, используется для получения изображения. В других вариантах осуществления изображение представляет собой томографическое изображение. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения оптического изображения *in vivo*, в котором этапы (a)-(c) повторяются с заранее определенными интервалами времени, что позволяет оценить излучаемые сигналы целевого агента у субъекта с течением времени. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения оптического изображения *in vivo*, в котором этапы (a)-(d) повторяются с заранее заданными интервалами времени, что позволяет оценить излучаемые сигналы биоконъюгированных агентов визуализации у субъекта с течением времени. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, где субъектом является животное или человек. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, где на этапе (a) субъекту вводят два или более биоконъюгированных агентов визуализации, сигнальные свойства которых отличаются друг от друга, при этом по меньшей мере один из биоконъюгированных агентов визуализации содержит нацеливающий агент. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения

оптического изображения *in vivo*, в котором этапы облучения и обнаружения выполняют с помощью эндоскопа, катетера, томографической системы, переносной оптической системы визуализации или интраоперационного микроскопа.

В другом аспекте изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, в котором наличие, отсутствие или уровень излучаемого сигнала указывает на болезненное состояние. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, используемому для обнаружения и/или мониторинга заболевания. В некоторых вариантах осуществления заболевание выбирают из группы, состоящей из заболевания костей, рака, сердечно-сосудистого заболевания, нейрогенеративного заболевания, заболевания, вызываемого загрязнением окружающей среды, дерматологического заболевания, заболевания костей, травмы (например, повреждения), гибели клеток, аутоиммунного заболевания, иммунологического заболевания, наследственного заболевания, инфекционного заболевания, воспалительного заболевания, нарушения обмена веществ и офтальмологического заболевания. Можно контролировать любой тип клеток, ткань или орган, включая, например, печень, почки, поджелудочную железу, сердце, кровь, мочу, плазму, глаза, ЦНС (мозг), ПНС, кожу, твердые опухоли и т.д.

Во всех вышеупомянутых аспектах/вариантах осуществления изобретения термины “флуоресцентные красители по изобретению” и “биоконъюгированные агенты визуализации” включают красители и биоконъюгированные системы визуализации, функционализированные хелатирующим агентом, включая вариант осуществления, в котором металлы хелатированы путем химически присоединенного хелатирующего агента. Сказанное выше также применимо к любому из следующих вариантов осуществления.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения описанный выше способ по изобретению может быть использован для определения степени гибели клеток. В этом варианте осуществления даже более предпочтительно, если гибель клеток является результатом механизма, выбранного из апоптоза, некроза и некроптоза.

В способах по изобретению субъектом является человек или животное. В случае животного, животное предпочтительно представляет собой млекопитающее.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления вышеупомянутых способов по изобретению соединение, краситель по изобретению связан с одним или более из следующего:

- (a) радиоактивный индикатор,
- (b) контрастное вещество для МРТ,
- (c) наночастица и
- (d) биологически активное соединение.

В другом аспекте изобретение относится к способу визуализации *in vivo*, в котором на этапе (a) субъекту вводят клетки, меченные биоконъюгированным агентом визуализации. В других вариантах осуществления сигнал, излучаемый агентом, используется для отслеживания движения и локализации клеток.

Что касается оптической визуализации *in vivo*, такой способ обычно включает (a)

введение субъекту одного или более биоконъюгированных агентов визуализации, раскрытых в настоящем описании, (b) предоставление достаточного времени, чтобы позволить агенту распределиться в организме субъекта, и (c) обнаружение сигнала, испускаемого биоконъюгированными агентами визуализации. Сигнал, излучаемый агентом, можно использовать для получения изображения, например томографического изображения. Вышеупомянутые этапы могут повторяться через заранее определенные интервалы времени, обеспечивая возможность оценивать излучаемые сигналы целевых агентов у субъекта с течением времени. Субъектом может быть позвоночное животное, например млекопитающее, например человек. Субъект также может быть беспозвоночным.

Информация, предоставляемая такими подходами к визуализации *in vivo*, например наличие, отсутствие или уровень излучаемого сигнала, может использоваться для обнаружения и/или мониторинга заболевания у субъекта. Примеры заболеваний включают, без ограничений, аутоиммунное заболевание, заболевание костей, рак, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание, вызываемое загрязнением окружающей среды, дерматологическое заболевание, иммунологическое заболевание, наследственное заболевание, инфекционное заболевание, метаболическое заболевание, нейродегенеративное заболевание и офтальмологическое заболевание.

Кроме того, визуализацию *in vivo* можно использовать для оценки воздействия соединения или терапии с использованием биоконъюгированных агентов визуализации, при этом субъекта визуализируют до и после лечения соединением или терапией, и сравнивают соответствующие сигналы/изображения.

В одном из вариантов осуществления изобретения красители и конъюгаты с нацеливающим агентом и конъюгаты с нацеливающими молекулами можно использовать для оптоакустической визуализации.

Красители по изобретению также можно использовать в качестве гасителей.

Способы и композиции (флуоресцентные красители и/или биоконъюгированные агенты визуализации по изобретению) по изобретению также можно использовать для обнаружения, характеристики и/или определения локализации заболевания, включая раннюю стадию заболевания, тяжесть заболевания или связанное с заболеванием состояние, стадию заболевания, и/или для мониторинга заболевания. Наличие, отсутствие или уровень излучаемого сигнала может указывать на болезненное состояние. Применительно к вышеуказанному, примеры такого заболевания или болезненных состояний, которые можно выявлять или контролировать (до, во время или после терапии), включают воспаление (например, воспаление, вызванное артритом, например, ревматоидный артрит), рак (например, колоректальный рак, рак яичников, легкого, груди, простаты, шейного отдела, яичка, кожи, мозга, желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, печени, почки, мочевого пузыря, желудка, лейкемия, рак ротовой полости, пищевода, костей), сердечно-сосудистые заболевания (например, атеросклероз и воспалительные состояния кровеносных сосудов, ишемия, инсульт, тромбоз, диссеминированное внутрисосудистое свертывание), дерматологические заболевания

(например, саркома Капоши, псориаз, аллергический дерматит), офтальмологические заболевания (например, дегенерация желтого пятна, диабетическая ретинопатия), инфекционные заболевания (например, вирусные, грибковые и паразитарные инфекции, включая синдром приобретенного иммунодефицита, малярия, болезнь Шагаса, шистосомоз), иммунологические заболевания (например, аутоиммунное заболевание, лимфома, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сахарный диабет, красная волчанка, миастения, болезнь Грейвса), заболевание центральной нервной системы (например, нейродегенеративное заболевание, такое как болезнь Паркинсона или болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз, прионная болезнь), наследственные заболевания, метаболические заболевания, заболевания, вызываемые загрязнением окружающей среды (например, отравление свинцом, ртутью и радиоактивное отравление), рак кожи, заболевания, связанные с костями (например, остеопороз, первичные и метастатические опухоли костей, остеоартрит), нейродегенеративные заболевания и осложнения, связанные с операцией (такие как отторжение трансплантата, отторжение органа, изменения в заживлении ран, фиброз или другие осложнения, связанные с хирургическими имплантатами).

Следовательно, способы и композиции по настоящему изобретению могут быть использованы, например, для обнаружения и/или количественной оценки наличия и/или локализации повышенных положительно заряженных клеточных поверхностей у субъекта, включая людей, например, в инфицированных или апоптотических клетках, и для обнаружения и/или количественной оценки наличия и/или локализации инфекции и гибели клеток, включая наличие инфицированных или апоптотических областей внутри органа. Способы и композиции по настоящему изобретению также могут быть использованы для обнаружения и/или количественной оценки апоптоза, связанного с заболеваниями, расстройствами и состояниями, включая без ограничения предопухолевые/неопластические заболевания, включая области с риском острой окклюзии (т.е. уязвимые бляшки) в коронарных и периферических артериях, области расширяющихся аневризм, нестабильной бляшки в сонных артериях и ишемические области. Способы и композиции по изобретению также могут быть использованы для идентификации и оценки гибели, повреждения, апоптоза, некроза и гипоксии клеток. Способы и композиции также можно использовать для доставки лекарственных веществ и для контроля доставки лекарственных веществ, особенно когда лекарственные вещества или молекулы, подобные лекарственным веществам, химически присоединены к флуоресцентным зондам. Примеры молекул лекарственных веществ включают химиотерапевтические и цитостатические агенты и фотодинамические агенты, включая без ограничения фотофрин, лютрин, антрин, аминоклевулиновую кислоту, гиперидин, производное бензопорфирина и порфирины.

Кроме того, описанные способы и композиции можно использовать для визуализации инфекции у субъекта. Способ включает введение субъекту (например, человеку или животному) одного или более биоконъюгированных агентов визуализации, раскрытых в настоящем описании, в количестве, достаточном для облегчения визуализации

in vivo и *ex vivo*. По прошествии достаточного времени, чтобы позволить агенту распределиться в организме животного или области, предназначенной для визуализации, определяют наличие и/или количество агента. Наличие и/или количество агента затем можно использовать для получения изображения, например томографического изображения, представляющего клеточные поверхности с увеличенным положительным зарядом в тканях субъекта.

Кроме того, способы и композиции, раскрытые в настоящем описании, можно использовать для визуализации инфекций у субъекта, таких как туберкулез, болезнь Лайма, бруцеллез, коклюш, пневмония, столбняк, дифтерия, брюшной тиф, менингит, целлюлит, импетиго, ботулизм, орнитоз, уретрит, энтерит, колит, сибирская язва, болезнь легионеров, сифилис, туляремия, бронхит, язвы, фурункулы, лептоспироз, листериоз, гонорея, шигеллез, сальмонеллез, холера, цистит, септицемия, токсикозы, эндокардит, эндотоксический шок и пятнистая лихорадка Скалистых гор.

В другом аспекте изобретение относится к способу визуализации *in vitro*, включающему: (a) приведение образца в контакт с биоконъюгированным агентом визуализации по изобретению; (b) предоставление агенту возможности связаться с биологической мишенью; (c) необязательное удаление несвязанного агента; и (d) обнаружение сигнала, испускаемого агентом, таким образом определяя, был ли агент активирован или связан с биологической мишенью. В других вариантах осуществления образец представляет собой биологический образец.

Что касается визуализации *in vitro*, агенты визуализации можно использовать в многочисленных *in vitro* анализах. После разработки и синтеза и, необязательно, приготовления состава агента визуализации, он может быть протестирован *in vitro* специалистом в данной области для оценки биологических и эксплуатационных характеристик. Например, для оценки биологических и эксплуатационных характеристик агента можно использовать различные типы клеток, выращенные в культуре. Поглощение клетками, связывание или локализацию агента в клетке можно оценить с помощью методов, известных в данной области, включая, например, флуоресцентную микроскопию, анализ FACS, иммуногистохимию, иммунопреципитацию, гибридизацию *in situ* и Ферстеровский резонансный перенос энергии (FRET) или флуоресцентный резонансный перенос энергии. Например, можно позволить агентам контактировать с образцом в течение определенного периода времени, а затем промыть для удаления любых свободных агентов. Затем образец можно рассмотреть с помощью подходящего устройства обнаружения, такого как флуоресцентный микроскоп, оснащенный соответствующими фильтрами, соответствующими оптическим свойствам флуоресцентного агента. Флуоресцентная микроскопия клеток в культуре или сцинтилляционный счетчик также являются удобными средствами для определения того, произошло ли поглощение и связывание. Ткани, срезы тканей и другие типы образцов, такие как образцы цитоспина, также могут быть использованы аналогичным образом для оценки биологических и эксплуатационных характеристик агентов. Также можно использовать другие методы обнаружения, включая,

без ограничения, проточную цитометрию, иммуноанализы, гибридизационные анализы и микроматричный анализ.

В другом аспекте изобретение относится к клиническому применению соединений (флуоресцентный краситель и биоконъюгированные агенты визуализации) по изобретению. Некоторые из биоконъюгированных агентов визуализации, раскрытых в настоящем описании, например агенты, содержащие оптическую или радиоактивную метку и молекулу лекарственного вещества, можно использовать для облегчения симптома или лечения конкретного заболевания или расстройства. Способ включает (а) введение одного или более агентов, раскрытых в настоящем описании, в количестве, достаточном для достижения терапевтического эффекта у субъекта; и (b) предоставление агенту достаточного времени для распределения внутри организма субъекта или иным образом локализации в области организма субъекта, подлежащей лечению, и затем, (c) в зависимости от терапевтического агента, необязательно, активацию агента для обеспечения терапевтического эффекта. Например, если терапевтический агент представляет собой радиоактивную метку, последующая активация не требуется. Однако, если терапевтический агент представляет собой фотореактивный агент, например краситель, используемый в фотодинамической терапии, агент можно активировать воздействием на него светом с длиной волны, активирующей этот агент. В результате агенты можно использовать для лечения представляющего интерес состояния, например рака, иммунного расстройства, воспалительного расстройства, сосудистого расстройства и т.п. Кроме того, агенты можно использовать для уменьшения опухолевой нагрузки, подавления инфекции в органе или другой представляющей интерес области у субъекта или уменьшения пролиферации апоптотических клеток у субъекта.

В другом аспекте изобретение относится к зондам, которые являются агентами молекулярной визуализации, причем сами молекулярные агенты могут быть флуоресцентными красителями по изобретению в конкретной среде, такой как растворитель или носитель, в котором его вводят, или могут представлять собой биоконъюгаты определенных агентов, состоящими из флуорохрома (флуоресцентного красителя) по изобретению, конъюгированного через связывающую группу с целевым агентом, как определено выше. Обычно субъекту вводят или доставляют агенты молекулярной визуализации, при этом излучаемый агентом сигнал используется для получения изображения, как описано ниже.

Раскрытые в настоящем описании биоконъюгированные агенты визуализации могут быть приготовлены в виде состава с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (добавками) и/или разбавителями для получения фармацевтической композиции. Типичные фармацевтические композиции содержат один или более агентов и один или более фармацевтически приемлемых носителей. Как подробно описано ниже, фармацевтические композиции могут быть приготовлены в виде специального состава для введения в твердой или жидкой форме. Примеры введения включают пероральное введение, парентеральное введение, местное применение и трансдермальное введение.

Термин “фармацевтически приемлемый” используется в настоящем описании для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые, в рамках здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями людей и животных, не вызывая чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений при соразмерном разумном соотношении польза/риск.

Фармацевтически приемлемые носители включают жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, производственную добавку (например, смазку, тальк, магний, стеарат кальция или цинка или стериную кислоту) или инкапсулирующий растворитель материал, участвующий в переносе или транспортировке представляющего интерес соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть “приемлемым” в смысле совместимости с другими ингредиентами препарата и не причинять вреда пациенту. Также могут присутствовать смачивающие агенты, эмульгаторы и лубриканты, а также красители, агенты, обеспечивающие высвобождение, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты. Материалы, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, известны специалисту в данной области и включают типичные материалы.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к фармацевтически приемлемой композиции, подходящей для введения субъекту, содержащей биоконъюгированный агент визуализации и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В некоторых вариантах осуществления изобретения флуоресцентный краситель, содержащийся в композиции, может быть приготовлен следующим образом:

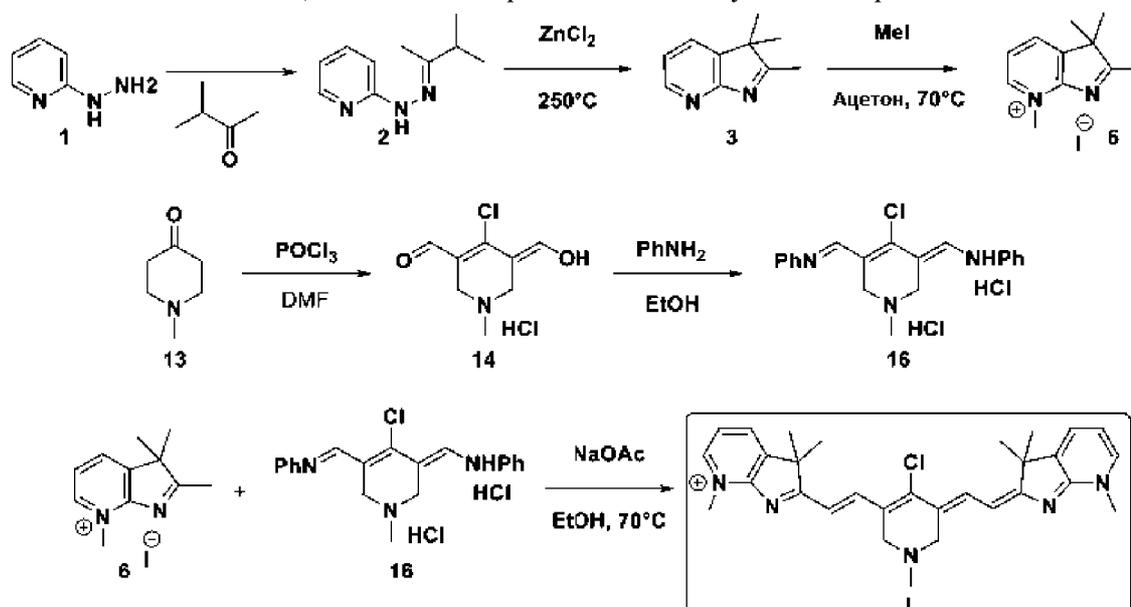


Схема 3

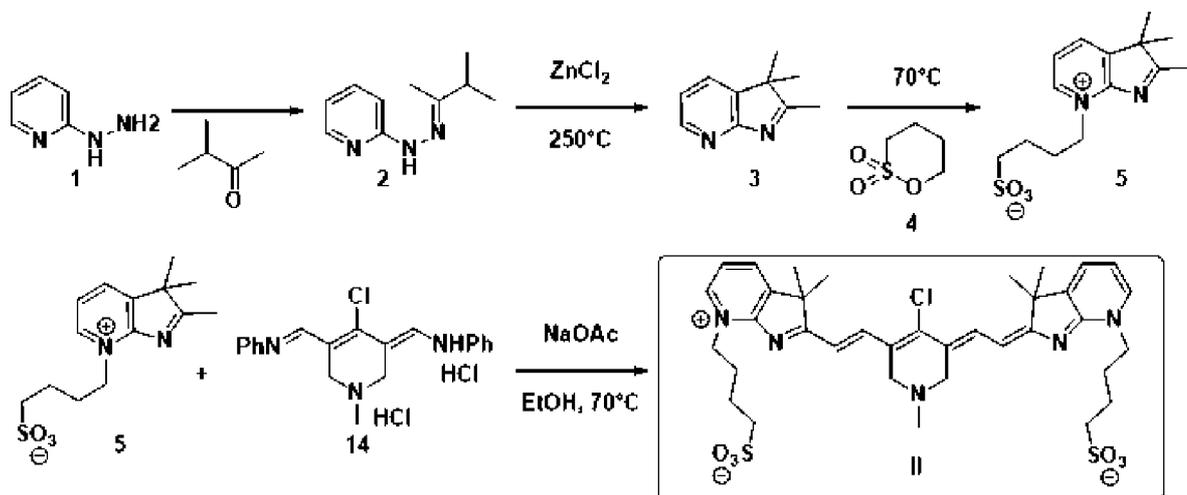


Схема 4

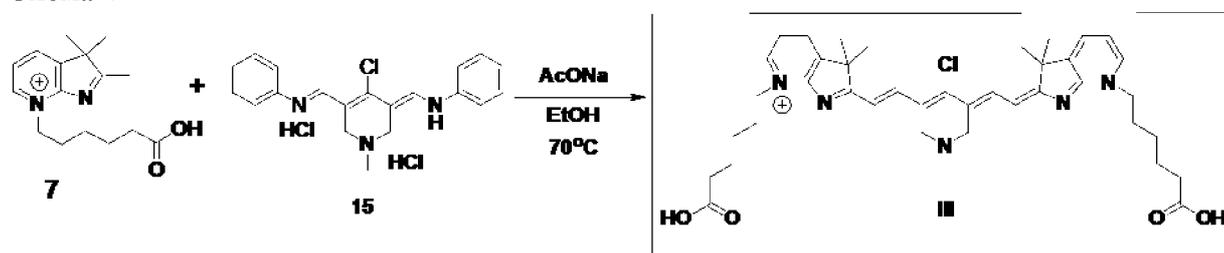


Схема 5

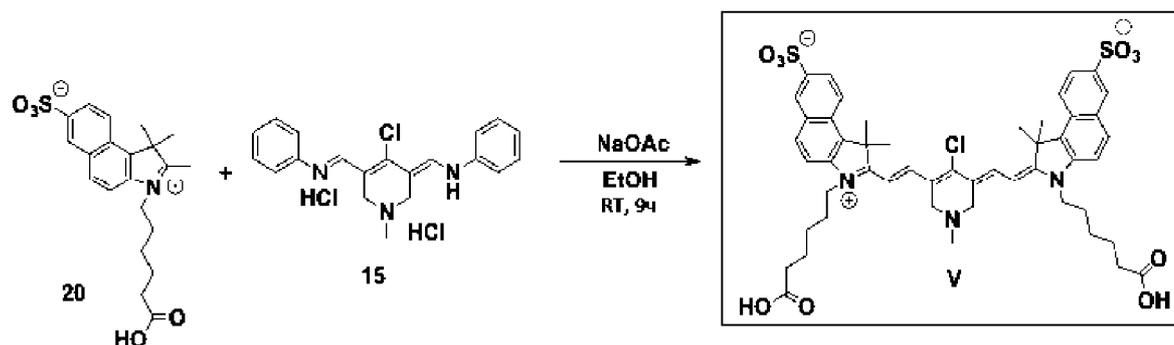


Схема 6

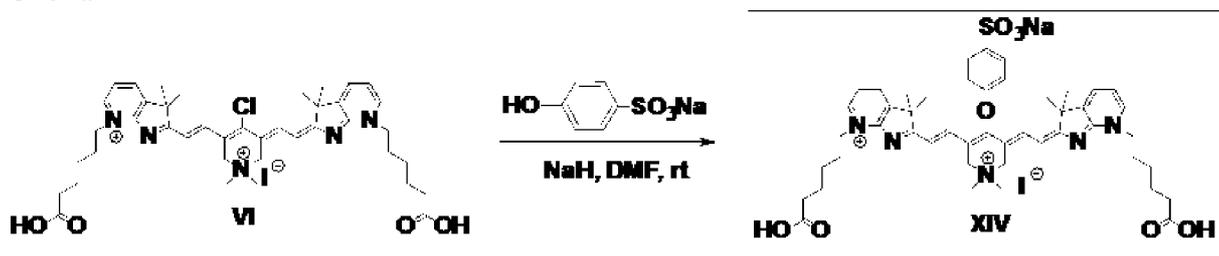


Схема 7

Биоконъюгированные агенты визуализации, содержащие флуоресцентный краситель по изобретению, получают по следующей схеме:



Схема 8

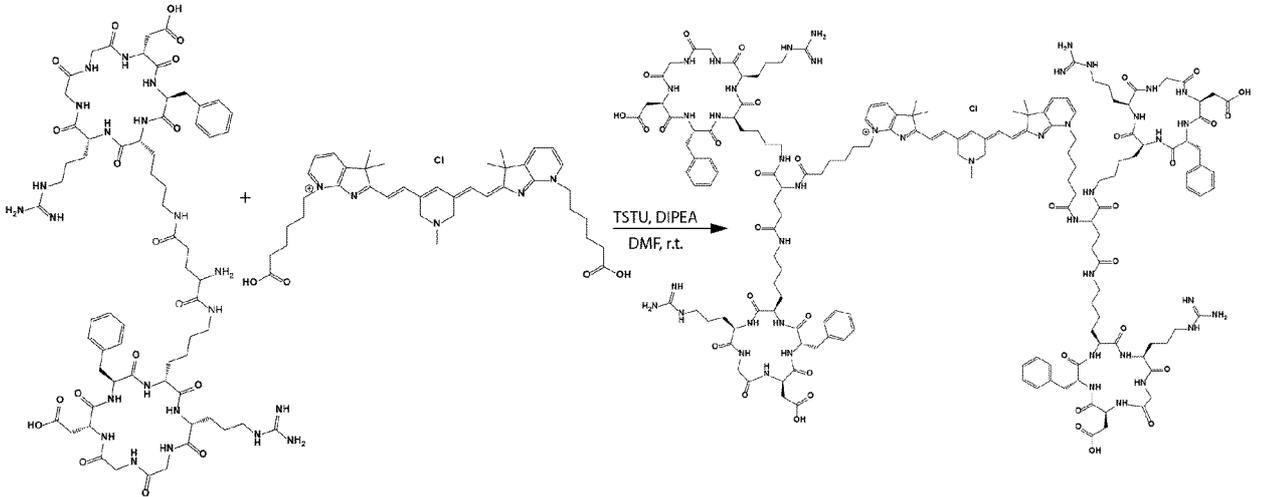


Схема 9

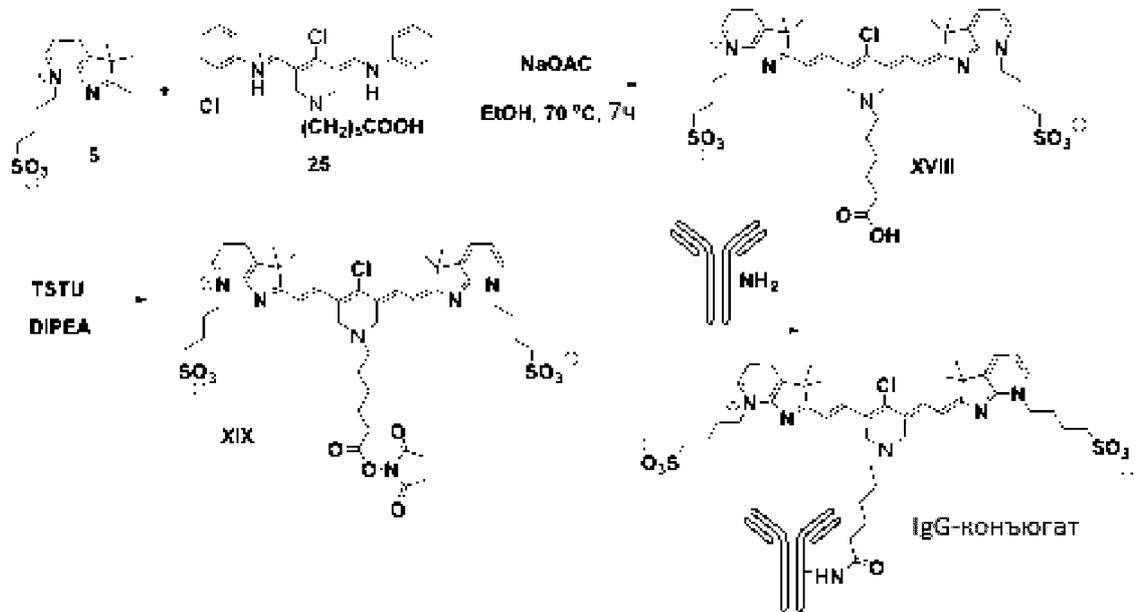


Схема 10

Настоящее изобретение относится к новым азацианиновым красителям, полученным из пиридоиндоления, содержащим гетероатомный мостик, предпочтительно азот. Включение пиридоиндоления в эти цианиновые красители приводит к значительному увеличению растворимости как в фосфатно-солевом буфере, так и в водных растворах по сравнению с существующими коммерчески доступными цианиновыми красителями ICG и IRDye800. Новые азацианиновые красители XIII, XIV, XV и II имеют значения $c\text{LogP}$ - 2,423, -3,545, -6,518 и -13,277, соответственно, демонстрируя гораздо более высокую

гидофильность по сравнению с коммерчески доступными красителями ICG и IRDye800 со значениями $c\text{LogP}$, равными 5,74 и -1,86

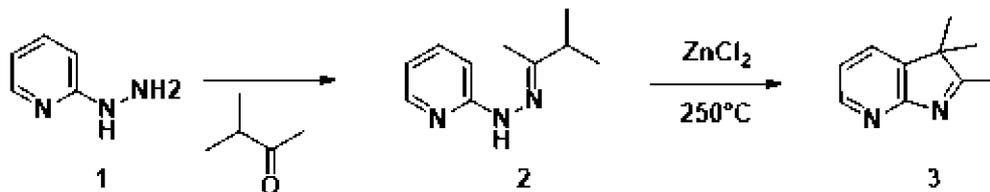
Несколько цианиновых красителей, включая зонд XXI, конъюгат RGD-ICG и InegriSense™750 (Perkin Elmer) оценивали на направленное воздействие на подкожные опухоли у мышей. Зонд XXI демонстрирует более быстрое и более специфическое поглощение опухолью с оптимальным соотношением фон/шум, достигаемым через 2 часа после инъекции. Для сравнения InegriSense™750, успешно применяемый коммерчески доступный низкомолекулярный БИК зонд антагониста интегрин $\alpha_V\beta_3$, имеет оптимальное соотношение фон/шум через 24 часа. Конъюгат RGD-ICG показал кинетику поглощения опухолью, аналогичную зонду XXI, но он также продемонстрировал большое количество неспецифического связывания с различными тканями животных, возможно, из-за случайной преципитации гидрофобного красителя ICG. Более быстрая кинетика связывания зонда XXI с опухолью наблюдалась также у более крупных животных, таких как собаки, у которых наибольшее накопление в опухолевой ткани было обнаружено через 6 часов после инъекции по сравнению с 36 часами для InegriSense™750 (см. Фиг. 11 и 12).

Специалистам в данной области техники будет понятно, что раскрытое в настоящем описании изобретение может быть изменено и модифицировано, дополнительно к конкретно описанному. Следует понимать, что изобретение включает все варианты и модификации, не выходящие за рамки его сущности или существенных характеристик. Изобретение также включает все этапы, признаки, композиции и соединения, упомянутые или указанные в настоящем описании, по отдельности или вместе, и любые комбинации или любые два или более из указанных этапов или признаков. Таким образом, настоящее раскрытие следует рассматривать в качестве иллюстрации всех аспектов, а не в качестве ограничения, при этом объем изобретения определен прилагаемой формулой изобретения, и все изменения, которые охвачены значением и диапазоном эквивалентности, включены в этот объем.

Вышеизложенное описание станет более понятным со ссылкой на приведенные ниже примеры. Такие примеры, однако, являются иллюстративными методами практической реализации настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема изобретения.

ПРИМЕРЫ

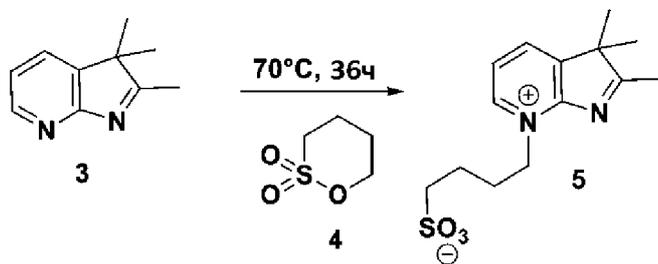
Синтез соединения 3



2-Гидразинопиридин (1) (10,0 г), изопропилметилкетон (10 мл) загружали при 80°C и перемешивали в течение 2 часов. Избыток изопропилметилкетона упаривали с водой при пониженном давлении. Гидразон 2 нагревали при 250°C с безводным хлоридом цинка (250

мг) пока не прекратилось выделение аммиака (1 час). Темно-коричневый продукт фракционировали при пониженном давлении с получением 3 в виде бесцветных игл. Выход за 2 этапа: 19% МСВР(HRMS) вычисл.: 161,1079; найденный 161,1085.

Синтез соединения 5



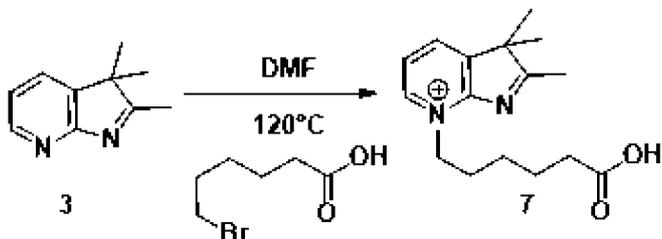
Соединения 3 (130 мг) и 4 (500 мкл) помещали в герметично закрытую пробирку при 70°C и перемешивали в течение 36 часов. Реакционную смесь охлаждали, и добавляли этилацетат, что привело к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи ультразвука и центрифугировали для выделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением бледно-розового твердого вещества. Выход 77%. МСВР вычисл.: 297,1273; найденное 297,1281.

Синтез соединения 6



Соединение 3 (180 мг) и метилиодид (210 мкл) помещали в ацетон в двухгорлой колбе, нагревая с обратным холодильником, и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь охлаждали, и добавляли этилацетат, что приводило к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи ультразвука и центрифугировали для отделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением бледно-желтого твердого вещества 6. Выход 93%. МСВР вычисл.: 175,1235; найденное 175,1236.

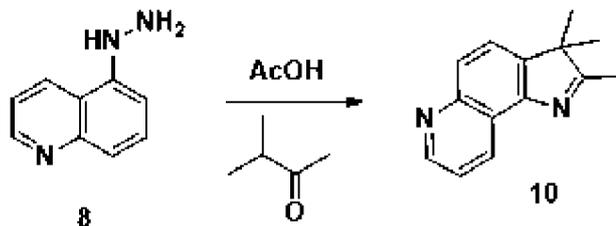
Синтез соединения 7



Соединение 3 (200 мг) и 6-бромгексановую кислоту (731 мг) растворяли в DMF (1 мл) в герметично закрытой пробирке и нагревали до 120°C в течение 2 часов. Реакционную смесь охлаждали, и добавляли этилацетат, что приводило к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи

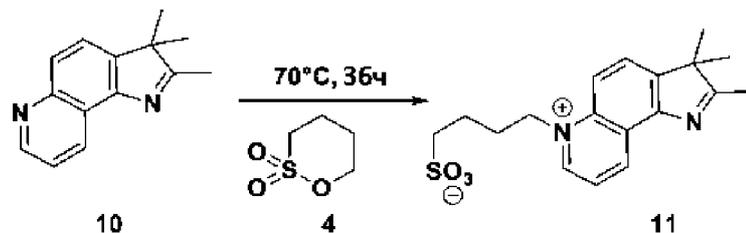
ультразвука и центрифугировали для выделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением красного твердого вещества. Выход 95%. МСВР вычисл.: 275,1760; найденное 275,1766.

Синтез соединения 10



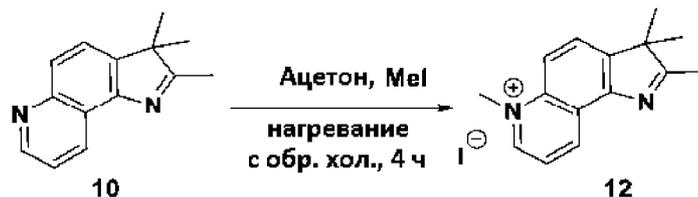
Производное гидразина (8) (1,0 г), изопропилметилкетон (540 мг) загружали при 130°C и перемешивали в течение 4 часов в атмосфере азота. Смесь разбавляли водой и декантировали. 1М NaOH добавляли до значения pH=8 и образования коричневатого осадка. Твердое вещество экстрагировали этилацетатом 3 раза. Выход 37%. МСВР вычисл.: 211,1235; найденное 211,1236.

Синтез соединения 11

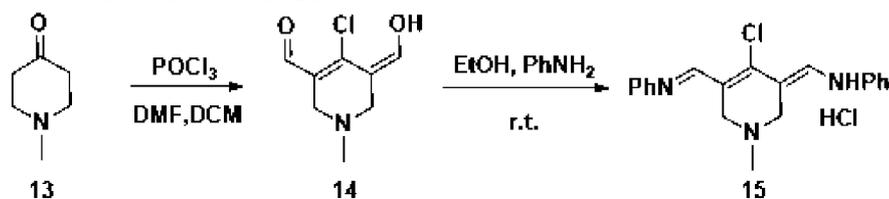


Соединения 10 (130 мг) и 4 (500 мкл) помещали в герметично закрытую пробирку при 70°C и перемешивали в течение 36 часов. Реакционную смесь охлаждали, и добавляли этилацетат, что приводило к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи ультразвука и центрифугировали для выделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением бледно-серого твердого вещества. Выход 55%. МСВР вычисл.: 347,1431; найденное 347,1431.

Синтез соединения 12

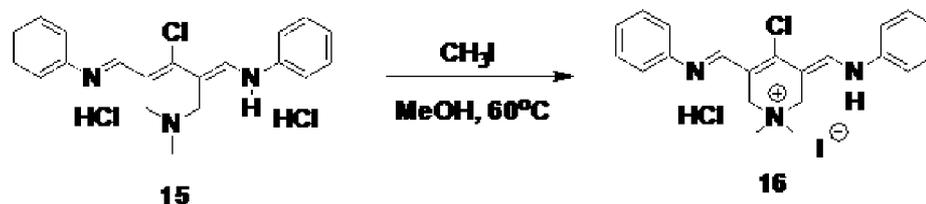


Соединение 10 (180 мг) и метилиодид (210 мкл) помещали в ацетон в двухгорлой колбе, нагревая с обратным холодильником, и перемешивали в течение 4 часов. Реакционную смесь охлаждали, и добавляли этилацетат, что приводило к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи ультразвука и центрифугировали для отделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением красного твердого вещества 12. Выход 71%. МСВР вычисл.: 225,1392; найденное 225,1394.

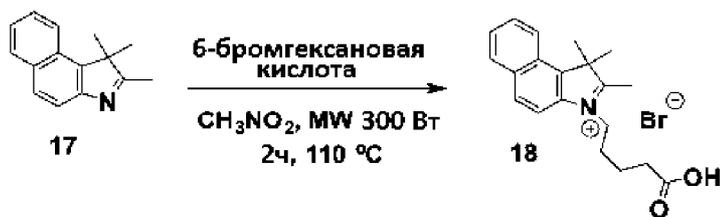
Синтез соединения 15

Раствор DMF (1,8 мл, 23,39 ммоль) и дихлорметан (1,8 мл) охлаждали на льду, перемешивая в атмосфере азота. В течение 10 мин по каплям добавляли оксихлорид фосфора (2,68 г, 17,50 ммоль) в дихлорметане (1,8 мл). В течение 10 мин по каплям добавляли 1-метилпиперидин-4-он 13 (0,5 г, 4,41 ммоль). Раствор приобретал желтый цвет. Смесь нагревали при 70°C в течение 3 часов, и она приобретала оранжевый цвет. Реакционную смесь охлаждали и заливали холодной водой (10 мл). Раствор концентрировали под вакуумом, и желтый остаток дважды промывали эфиром и сушили на воздухе с получением соединения 14. Выход: 0,52 г, (62%). ^1H ЯМР (400 МГц, оксид дейтерия) 8,89 (с, 1H), 5,38 (с, 1H), 4,30 (д, $J=14,9$ Гц, 2H), 3,83 (д, $J=14,9$ Гц, 2H), 2,94 (с, 3H).

Раствор этанола (2,8 мл) с анилином (0,56 мл, 6,11 ммоль) медленно добавляли к раствору 14 (0,5 г, 2,66 ммоль) в DMF (1,84 мл) и HCl (0,69 мл). Во время добавления анилина температуру реакции поддерживали, равной примерно $10-15^\circ\text{C}$, при помощи водяной бани со льдом. Затем реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 20 минут, выливали при перемешивании в 75 мл диэтилового эфира. Темно-пурпурное вещество собирали фильтрованием и дважды промывали холодной водой, дважды промывали эфиром и затем сушили под вакуумом при температуре окружающей среды в течение ночи. Продукт 15 получали в виде твердого вещества пурпурного цвета с 75% выходом (0,79 г). ^1H ЯМР (400 МГц, оксид дейтерия) δ : 8,08 (с, 1H), 7,77-6,87 (м, 10H), 4,42 (д, $J=13,7$ Гц, 1H), 4,23 (д, $J=15,0$ Гц, 1H), 3,98 (д, $J=13,8$ Гц, 1H), 3,80 (д, $J=14,9$ Гц, 1H), 2,98 (с, 3H). ESI-QTOF MS m/z ($\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_3$) вычисл.: 373,1113, найденное: $[\text{M}-\text{Cl}]^- = 338,1424$. МСВР вычисл.: 338,1424; найденное 338,1422.

Синтез соединения 16

Соединение 15 (0,075 г, 0,20 ммоль) и метилиодид (0,433 г, 3,05 ммоль) помещали в герметично закрытую пробирку в сухом метаноле (6 мл) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь нагревали при 40°C в течение 28 часов. Растворитель удаляли под вакуумом, и продукт дважды промывали эфиром и осаждали из смеси метанол/эфир. Продукт 16 получали в виде твердого вещества красного цвета как бургундское вино с 84% выходом (0,086 г). ESI-QTOF MS m/z ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{IN}_3$) вычисл.: 515,0392, найденное $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{Cl}$ $[\text{M}]^+ = 352,1581$.

Синтез соединения 18

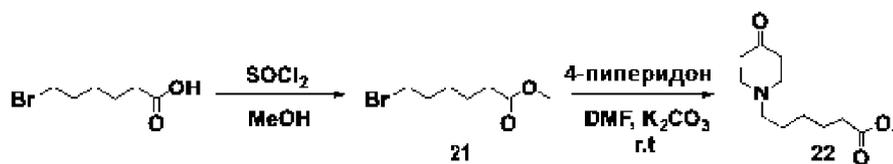
Соединение 17 (1 г) и 6-бромгексановую кислоту (1 г) помещали в атмосфере азота в колбу для микроволновой печи и растворяли в нитрометане (2 мл). Реакционную смесь обрабатывали в микроволновой печи в течение 2 часов при 110°C, 300 Вт. Добавляли этилацетат, что приводило к выпадению осадка. Твердое вещество отделяли центрифугированием. Твердое вещество ресуспендировали при помощи ультразвука и центрифугировали для отделения твердого вещества. Процедуру повторяли 3 раза с получением серого твердого вещества 18. Выход 95%. ^1H ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ : 8,35 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 8,27 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 8,19 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 8,03 (д, $J=8,9$ Гц, 1H), 7,79 (дт, $J=34,2, 7,5$ Гц, 2H), 4,66 (т, $J=7,8$ Гц, 2H), 2,38 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 2,19-1,96 (м, 2H), 1,87 (с, 6H), 1,75 (п, $J=7,3$ Гц, 2H), 1,60 (тт, $J=9,7, 6,1$ Гц, 2H). МСВР вычисл.: 324,1985; найденное 324,1983.

Синтез соединения 20

Соединение 19 (0,5 г, 1,72 ммоль) растворяли в метаноле (45 мл), затем к смеси добавляли раствор KOH (0,145 г, 2,59 ммоль) в 2-пропанол. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре (г.т., RT) в атмосфере N_2 . Растворитель упаривали при пониженном давлении без осушки, и твердое вещество фильтровали и сушили в вакууме, получая розоватое твердое вещество (0,5 г, 90%). Продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

1,1,2-Триметил-1H-бензо[e]индол-7-сульфонат калия (0,5 г, 1,52 ммоль) и 6-бромгексановую кислоту (0,38 г, 1,98 ммоль) в 1,2-дихлорбензоле (5 мл) нагревали при 110°C в атмосфере азота в течение 48 часов. Затем смесь охлаждали, растворитель декантировали, и твердое вещество растирали с 2-изопропанолом (50 мл). Твердое вещество собирали при помощи фильтрования, промывали EtOAc (3×25 мл) и сушили под вакуумом в течение ночи с получением 0,48 г серого твердого вещества (78%) соединения 20. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ : 8,54-8,25 (м, 3H), 8,13 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,96 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 4,57 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 2,93 (с, 3H), 2,24 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 1,91 (п, $J=7,8$ Гц, 2H), 1,75 (с, 6H), 1,66-1,36 (м, 4H).

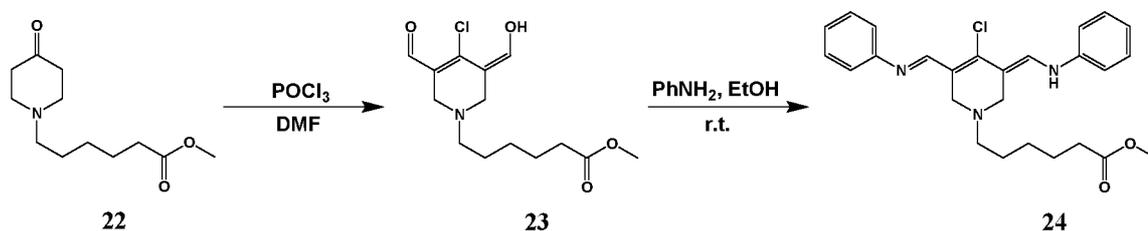
Синтез соединения 22



Тионилхлорид (2,8 мл, 38,45 ммоль) медленно добавляли к метанолу на ледяной бане. К раствору тионилхлорида добавляли раствор бромгексановой кислоты (1,5 г, 7,69 ммоль) в метаноле. Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 6 часов. Растворитель выпаривали, получая метил-6-бромгексаноат (1,5 г, 94%) в виде желтого масла. Продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ: 3,69 (с, 3H), 3,42 (т, *J*=6,7 Гц, 2H), 2,35 (т, *J*=7,4 Гц, 2H), 1,89 (п, *J*=7,0 Гц, 2H), 1,68 (п, *J*=7,5 Гц, 2H), 1,58-1,39 (м, 2H).

К смеси добавляли раствор 4-пиперидона (0,125 г, 1,26 ммоль) в безводном DMF (2 мл), K₂CO₃ (0,2 г, 1,51 ммоль), соединение 21 (0,52 г, 2,48 ммоль) и KI (0,015 г, 0,090 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при r.t. в течение 36 часов в атмосфере N₂. Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали и сушили под вакуумом, получая белое твердое вещество (0,29 г, 98%) соединения 22. Продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ: 3,64 (д, *J*=2,0 Гц, 3H), 3,38 (т, *J*=6,7 Гц, 2H), 2,70 (т, *J*=6,2 Гц, 2H), 2,42 (т, *J*=6,8 Гц, 4H), 2,30 (т, *J*=7,4 Гц, 4H), 1,85 (п, *J*=7,0 Гц, 2H), 1,70-1,56 (м, 4H).

Синтез соединения 24

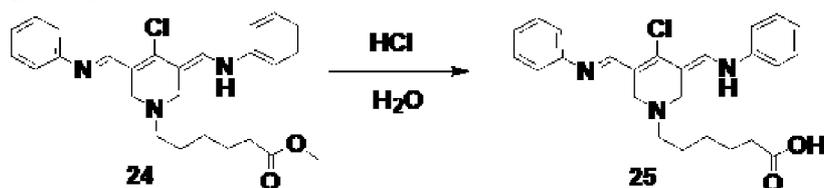


Оксихлорид фосфора (0,1 мл) добавляли к холодному N, N-диметилфрмамиду (0,12 мл) при 0°C. Температуру поддерживали равной 0°C. Перемешивание продолжали еще в течение 30 минут перед добавлением соединения 22 (0,12 г, 0,52 ммоль). Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов перед тем, как вылили ее в воду (5 мл), концентрировали и дважды промывали эфиром с получением желтого масла (0,16 г, 88%). После сушки под вакуумом в течение ночи неочищенный продукт использовали сразу на следующем этапе без дополнительной очистки.

Раствор, содержащий анилин (0,062 г, 0,66 ммоль), растворяли в этаноле (0,32 мл) и медленно добавляли в раствор, содержащий соединение 23 (0,09 г, 0,29 ммоль) в DMF (0,2 мл) и концентрированную соляную кислоту (0,075 мл). При добавлении анилина температуру реакции поддерживали равной примерно 10-15°C при помощи водяной бани со льдом. Затем реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 минут, выливали при перемешивании в 75 мл эфира. Темно-коричневое твердое вещество отделяли фильтрованием и дважды промывали холодной водой, и затем сушили под вакуумом при температуре окружающей среды в течение ночи. Выход: 0,12 г, 80%. ESI-QTOF MS *m/z*

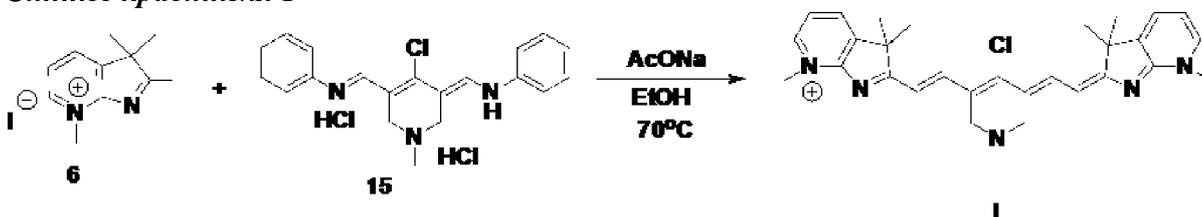
(C₂₆H₃₁Cl₂N₃O₂) вычисл.: 487,1793 найденное: [M-Cl]⁺ = 452,2104.

Синтез соединения 25



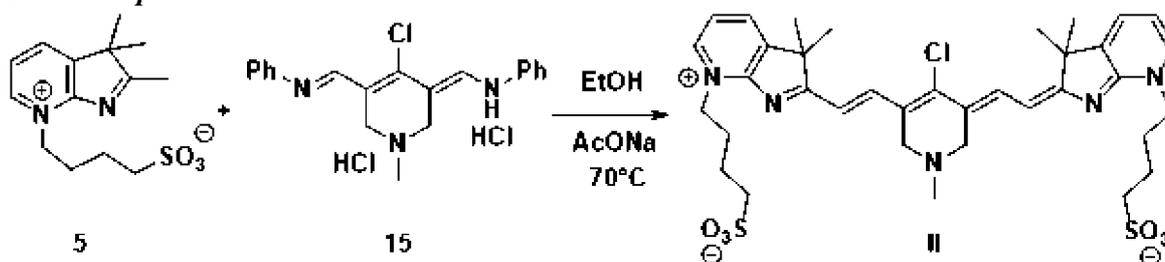
Соединение 24 (0,07 г, 0,137 ммоль) растворяли в воде, и к смеси добавляли HCl. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Раствор концентрировали до сухого состояния, и остаток промывали несколько раз ацетоном с получением красного твердого вещества соединения 25. ESI-QTOF MS m/z (C₂₅H₂₉C₁₂N₃O₂) вычисл.: 473,1637, найденное [M-Cl]⁻ = 438,1956. Выход: 0,045 г.

Синтез красителя I



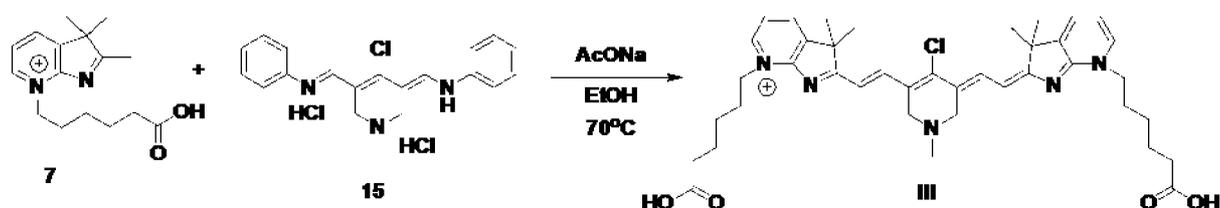
Соединения 6 (10 мг) и 15 (2,8 мг) помещали в герметично закрытую пробирку и растворяли в этаноле. Добавляли ацетат натрия (5,4 мг), и реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при 70°C. Растворитель удаляли при помощи роторного испарителя, и неочищенный продукт отделяли с помощью полупрепаративной ВЭЖХ на колонке C4 Agilent. Выделяли темно-сине-зеленый осадок. Соединение I получали с 91% выходом. МСВР вычисл.: 500,2579; найденное 500,2576.

Синтез красителя II



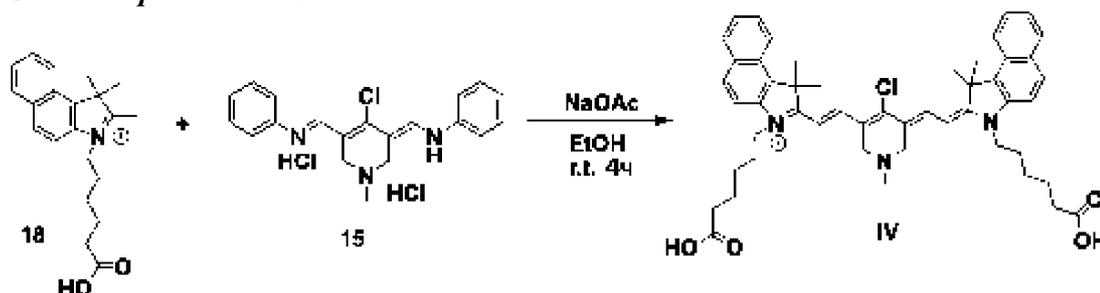
Соединения 5 (10 мг) и 15 (2,8 мг) помещали в герметично закрытую пробирку и растворяли в этаноле. Добавляли ацетат натрия (5,4 мг), и реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при 70°C. Растворитель удаляли при помощи роторного испарителя, и неочищенный продукт отделяли с помощью полупрепаративной ВЭЖХ на колонке C18 Agilent. Выделяли темно-сине-зеленый осадок. Соединение II получали с 83% выходом. МСВР вычисл.: 742,2500; найденное 742,2515.

Синтез красителя III



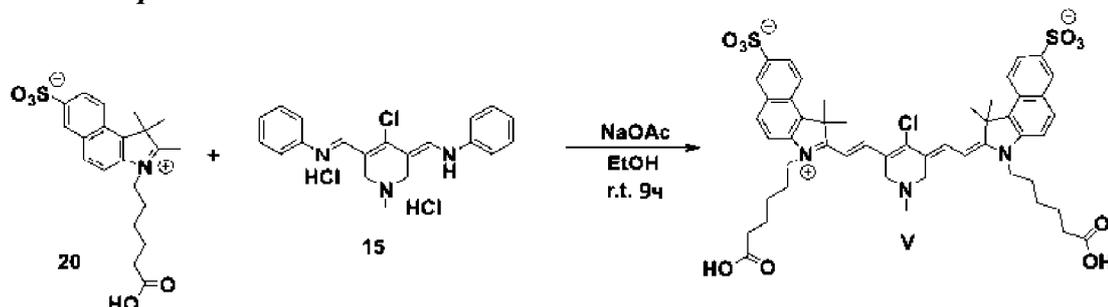
Соединения 7 (16,7 мг) и 15 (5 мг) помещали в герметично закрытую пробирку и растворяли в этаноле. Добавляли ацетат натрия (9,8 мг), и реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при 70°C. Растворитель удаляли при помощи роторного испарителя, и неочищенный продукт отделяли с помощью полупрепаративной ВЭЖХ на колонке С4 Agilent. Выделяли темно-сине-зеленый осадок. Соединение III получали с 75% выходом. МСВР вычисл.: 700,3641; найденное 700,3624.

Синтез красителя IV

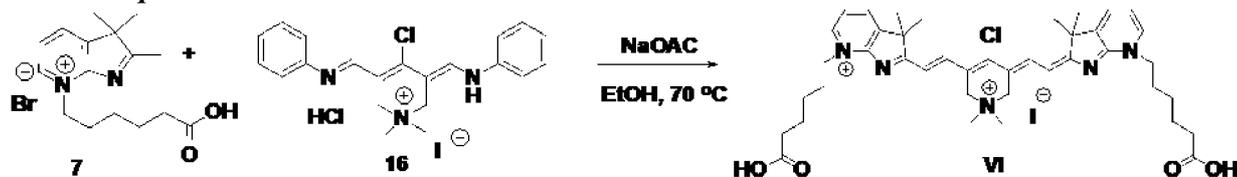


Смесь соединений 18 (43 мг, 0,10 ммоль) и 15 (20 мг, 0,053 ммоль) и ацетата натрия (15 мг, 0,19 ммоль) растворяли в 6 мл этанола. После перемешивания при комнатной температуре в течение 4 часов в атмосфере N₂ растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в дихлорметане и фильтровали для удаления избытка ацетата натрия с получением темно-зеленого твердого вещества. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения IV в виде зеленого твердого вещества (10 мг, 25%). ESI-QTOF MS m/z (C₅₀H₅₇ClN₃O₄) вычисл.: 798,4032, найденное: [M]⁺ = 798,4037.

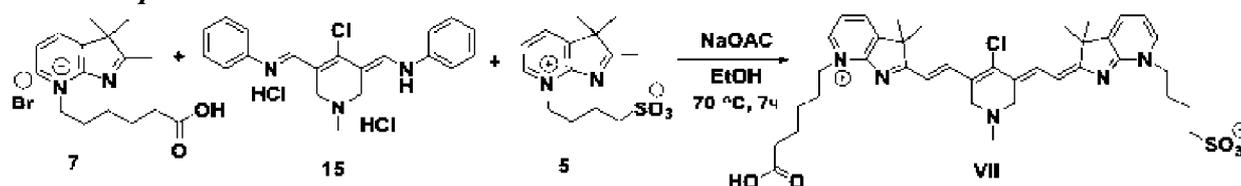
Синтез красителя V



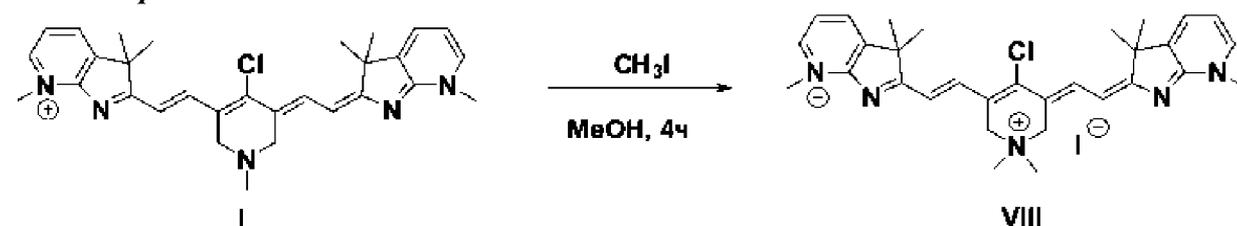
Смесь соединений 20 (40 мг, 0,09 ммоль) и 15 (17 мг, 0,045 ммоль) и ацетата натрия (18 мг, 0,22 ммоль) растворяли в 6 мл этанола. После перемешивания при комнатной температуре в течение 9 часов в атмосфере N₂ растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения V в виде твердого зеленого вещества (9 мг, 25%). ESI-QTOF MS m/z (C₅₀H₅₅ClN₃O₁₀S₂) вычисл.: 956,3023, найденное: [M]⁺ = 956,2997.

Синтез красителя VI

Смесь соединений 7 (40 мг, 0,11 ммоль) и 16 (15 мг, 0,029 ммоль) и ацетата натрия (24 мг, 0,28 ммоль) растворяли в этаноле (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 7 часов в атмосфере N₂, растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения VI в виде твердого зеленого вещества (6 мг, 25%). ESI-QTOF MS m/z (C₄₁H₅₄ClN₅O₄) вычисл.: 842,2904, найденное: [M-I/2]⁺ = 357,6933

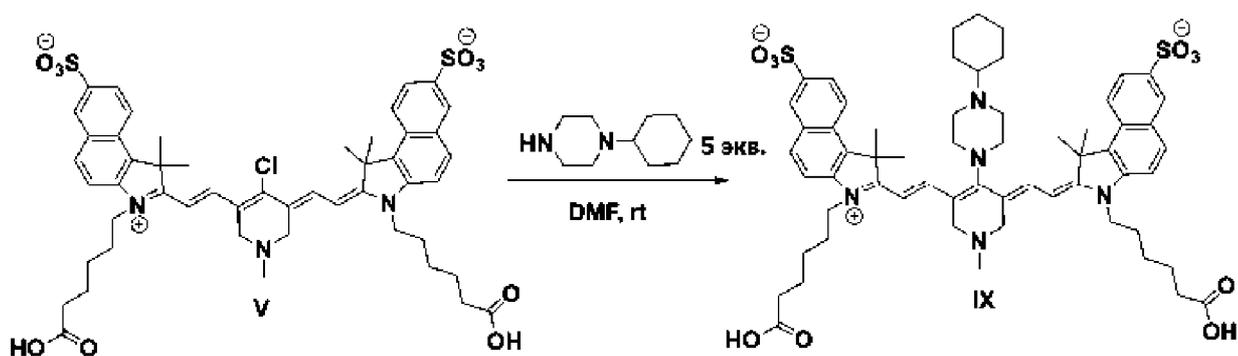
Синтез красителя VII

Соединения 7 (42 мг, 0,12 ммоль) и 5 (35 мг, 0,12 ммоль) сначала растворяли в этаноле (5 мл) в атмосфере N₂ и перемешивали в течение 5 мин, затем к раствору добавляли соединение 15 (20 мг, 0,048 ммоль) и ацетат натрия (39 мг, 0,48 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 7 часов в атмосфере N₂, растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения VII в виде твердого зеленого вещества (8 мг, 24%). Наблюдали образование симметричных красителей, которые не выделяли. ESI-QTOF MS m/z (C₃₈H₄₈ClN₅O₅S) вычисл.: 721,3065, найденное: [M]⁺ = 722,3134

Синтез красителя VIII

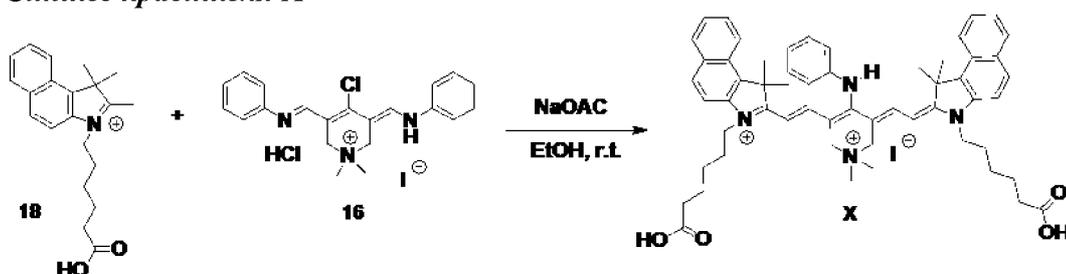
Краситель I (20 мг, 0,038 ммоль) и метилиодид (0,22 г, 1,6 ммоль) помещали в герметично закрытую пробирку в сухом метаноле (4 мл) в атмосфере азота N₂. Реакционную смесь нагревали при 40°C в течение 3 часов. Растворитель удаляли под вакуумом, и продукт дважды промывали эфиром. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения в виде твердого зеленого вещества (6,5 мг, 29%). ESI-QTOF MS m/z (C₃₁H₃₈ClN₅) вычисл.: 642,1855, найденное: [M-I/2]⁺ = 257,6408

Синтез красителя IX



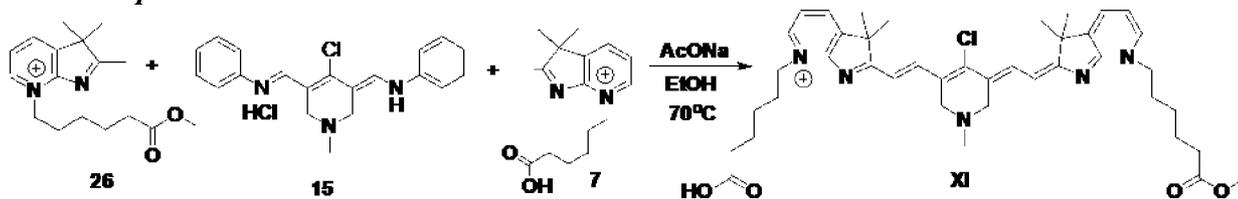
Краситель V (5 мг, 0,005 ммоль) и 1-циклогексилпиперазин (4,5 мг, 0,026 ммоль) растворяли в сухом DMF (0,5 мл), и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Цвет раствора постепенно менялся с зеленого на темно-синий. Растворитель удаляли под вакуумом, и продукт дважды промывали диэтиловым эфиром и осаждали из смеси метанол/эфир. Очистку осуществляли при помощи ВЭЖХ C8 (Agilent), получая соединение IX в виде твердого вещества темно-синего цвета (2,2 мг, 39%). ESI-QTOF MS m/z ($C_{60}H_{74}N_5O_{10}S_2$) вычисл.: 1088,4883 915,5783, найденное: $[M]^+ = 1088,5243$.

Синтез красителя X



Смесь соединений 18 (40 мг, 0,099 ммоль) и 16 (20 мг, 0,048 ммоль) и ацетата натрия (20 мг, 0,24 ммоль) растворяли в 6 мл этанола. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов в атмосфере N_2 растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в дихлорметане и фильтровали для удаления избытка ацетата натрия с получением твердого вещества темно-зеленого цвета. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения в виде твердого зеленого вещества (8 мг, 21%). ESI-QTOF MS m/z ($C_{57}H_{66}IN_4O_4$) вычисл.: 997,4123, найденное: $[M-I]^+ = 871,1780$.

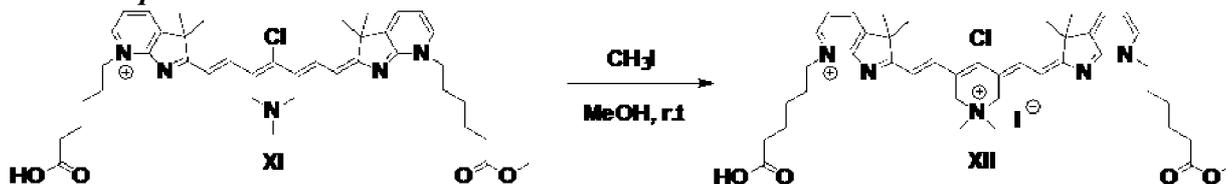
Синтез красителя XI



Соединения 26 (365 мг, 1,33 ммоль) и 15 (100 мг, 0,2,65 ммоль) и ацетат натрия (209 мг, 2,65 ммоль) помещали в герметично закрытую пробирку в сухом этаноле (8 мл) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь нагревали при $110^\circ C$ в течение 30 мин. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт выделяли при помощи ВЭЖХ (Waters 2998, Photodiode Array Detector, колонка: XTerra® Prep MS C₁₈OBD™ колонка, 5

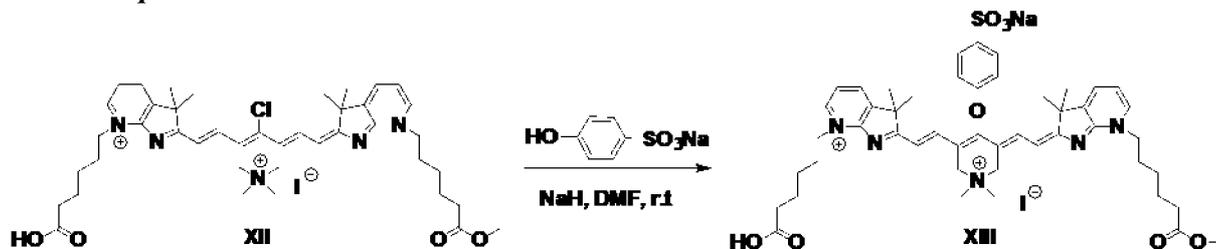
мкм, 19×50 мм). Соединение XI получали с 20% выходом (26 мг). МСВР вычисл.: 714,3781; найденное 357,185.

Синтез красителя XII



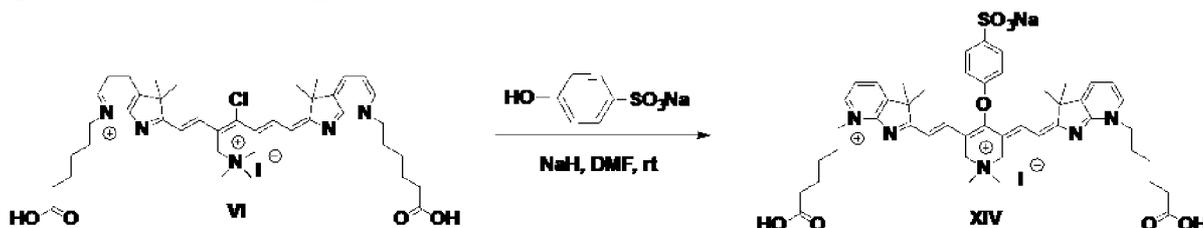
Краситель XI (13 мг, 0,018 ммоль) и метилиодид (0,1 мл, 1,6 ммоль) помещали в герметично закрытую пробирку в сухом метаноле (2 мл) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при rt в течение 2 часов. Растворитель удаляли под вакуумом, и продукт дважды промывали эфиром с получением твердого вещества зеленого цвета. Чистоту и образование соединения XII подтверждали ЖХ-МС (LCMS). Неочищенный продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. LRMS m/z ($C_{42}H_{56}ClIN_5O_4$) вычисл.: 856,306, найденное: $[M-I/2]^+ = 364,70$

Синтез красителя XIII



В сухой 25 мл флакон в атмосфере N_2 добавляли 4-гидроксibenзол сульфонат (17,2 мг, 0,087 ммоль) и гидрид натрия (4,2 мг, 0,175 ммоль) в безводном DMF (0,8 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 часов в атмосфере N_2 . Хлор-содержащий краситель XII (15,0 мг, 0,017 ммоль) растворяли в безводном DMF (1,0 мл), затем добавляли к реакционной смеси и перемешивали в течение ночи в атмосфере N_2 . За ходом реакции наблюдали при помощи ЖХ-МС. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters 2998, Photodiode Array Detector, колонка: XTerra® Prep MS $C_{18}OBD^TM$ колонка, 5 мкм, 19×50 мм) с получением красителя 5,09 мг чистого красителя XIII (32% выход). FTMS m/z ($C_{48}H_{60}IN_5NaO_8S$) вычисл.: 1016,3099, найденное: $[M-I/2]^+ = 444,7026$.

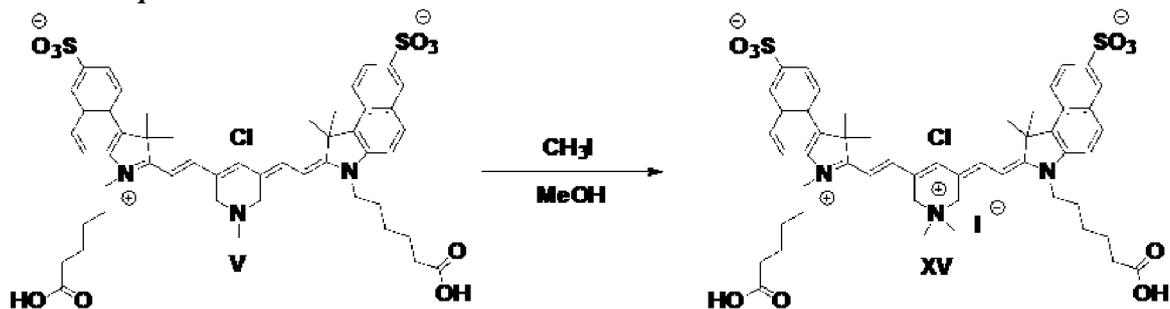
Синтез соединения XIV



В сухой 25 мл флакон в атмосфере N_2 добавляли 4-гидроксibenзол сульфонат (18 мг, 0,094 ммоль) и гидрид натрия (4,5 мг, 0,188 ммоль) в безводном DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 часов в

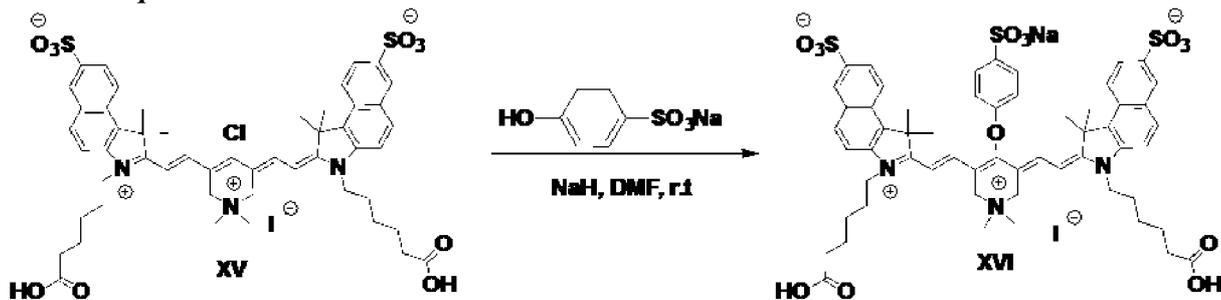
атмосфере N_2 . Хлор-содержащий краситель VI (16,0 мг, 0,018 ммоль) растворяли в безводном DMF (1,5 мл) и затем добавляли к реакционной смеси, которую перемешивали в течение 3 дней в атмосфере N_2 . За ходом реакции наблюдали при помощи ЖХ-МС. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters 2998, Photodiode Array Detector, колонка: XTerra® Prep MS C₁₈OBD™ колонка, 5 мкм, 19×50 мм) с получением 6,5 мг чистого красителя XIV (32% выход). ESI-QTOF-MS m/z (C₄₇H₅₈IN₅NaO₈S) вычисл.: 1002,29, найденное: [M-I-Na/2]⁺ = 426,7054

Синтез красителя XV

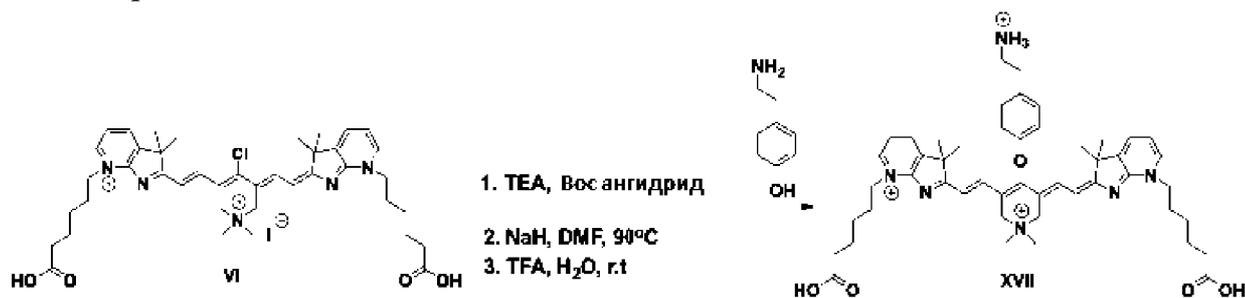


Краситель V (8 мг, 0,0083 ммоль) и метилиодид (0,05 мл) помещали в герметично закрытую пробирку в сухом метаноле (2 мл) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при rt в течение 4 часов. Растворитель удаляли под вакуумом, и продукт дважды промывали эфиром с получением твердого вещества зеленого цвета. Чистоту и образование соединения подтверждали XV при помощи ЖХ-МС. Продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. LRMS m/z (C₅₁H₅₈ClIN₃O₁₀S₂) вычисл.: 1098,230, найденное: [M-I/2]⁺ = 971,33

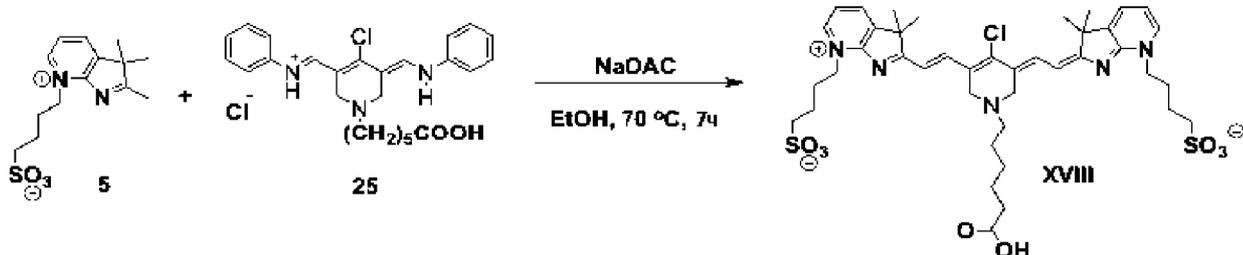
Синтез красителя XVI



В сухой 25 мл флакон в атмосфере N_2 добавляли 4-гидроксibenзол сульфонат (30 мг, 0,152 ммоль) и гидрид натрия (7,4 мг, 0,308 ммоль) в безводном DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 часов в атмосфере N_2 . Хлор-содержащий краситель XV (17,0 мг, 0,015 ммоль) растворяли в безводном DMF (1,5 мл), затем добавляли к реакционной смеси, и перемешивали в течение ночи в атмосфере N_2 . За ходом реакции наблюдали при помощи ЖХ-МС. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters 2998, колонка: XTerra® Prep MS C₁₈OBD™ колонка, 5 мкм, 19×50 мм) с получением 5,8 мг чистого красителя XVI (30% выход). LRMS m/z (C₅₇H₆₂IN₃NaO₁₄S₃) вычисл.: 1258,23, найденное: [M-I-Na] = 1109,33

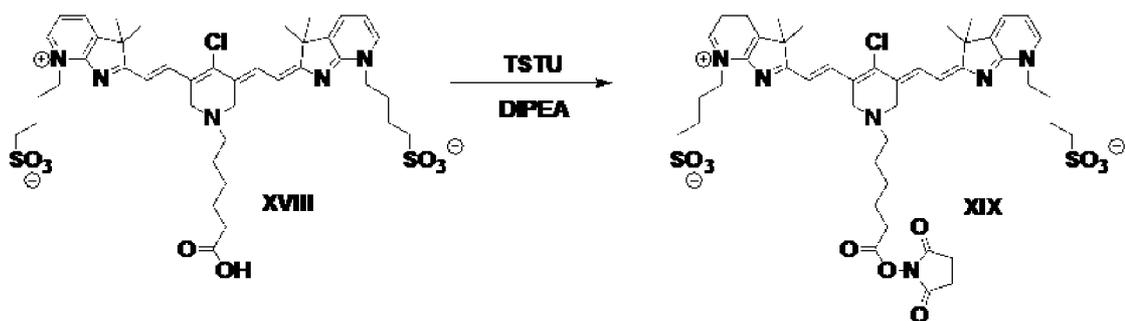
Синтез красителя XVII

К раствору тирамина (15 мг, 0,1 ммоль) в DMF (1 мл) в атмосфере N₂ добавляли TEA (22 мл, 0,159 ммоль) с последующим добавлением Вос ангидрида (35 мг, 0,159 ммоль), и реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов. Затем к указанному выше раствору в атмосфере азота N₂ добавляли NaN (2,4 мг, 0,1 ммоль), и смесь перемешивали в течение 1 часа. Наконец, к реакционной смеси в атмосфере N₂ добавляли хлорсодержащий краситель VI, и смесь перемешивали в течение 48 часов. За ходом реакции наблюдали при помощи ЖХ-МС, пока не исчез хлорсодержащий краситель. Растворители упаривали из реакционной смеси при 60°C, и остаток повторно растворяли в смеси DCM/TFA (0,6 мл, 1:1). Реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 часов и затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный образец очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением 3 мг XVII в виде твердого зеленого вещества (44% выход). LRMS m/z (C₄₉H₆₅IN₆O₅) вычисл.: 944,4050, найденное: [M-I/2] = 408,70.

Синтез красителя XVIII

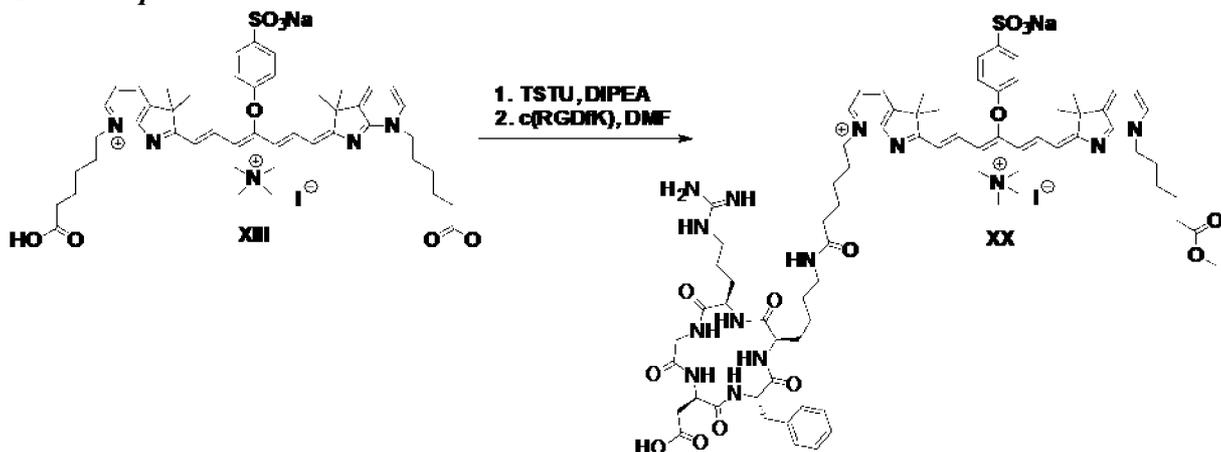
Соединение 5 (46 мг, 0,158 ммоль) растворяли в этаноле (3 мл) в атмосфере N₂ и перемешивали в течение 5 мин, затем к раствору добавляли соединение 25 (15 мг, 0,031 ммоль) и ацетат натрия (25 мг, 0,31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 7 часов в атмосфере N₂, растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения в виде твердого вещества темно-зеленого цвета (6 мг, 25%). ESI-QTOF MS m/z (C₄₁H₅₃ClN₅O₈S₂) вычисл.: 842,3030, найденное: [M]⁺ = 843,3156

Синтез красителя XIX



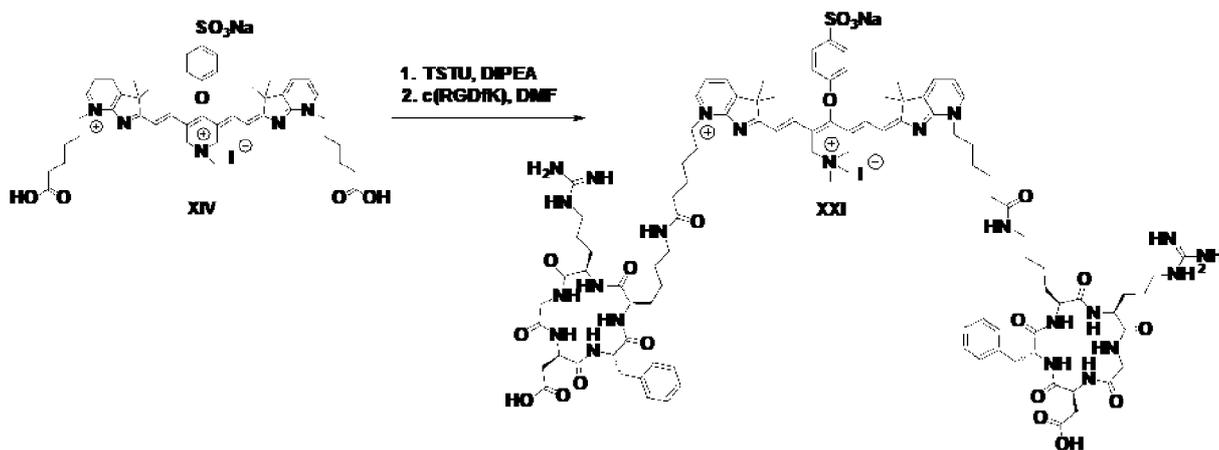
Добавляли краситель XVIII (3 мг, 0,0035 ммоль), сухой DMF (1 мл) и DIPEA (1,5 мкл, 0,0070 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂, затем добавляли TSTU (1,6 мг, 0,0053 ммоль), полученную смесь защищали от света и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Завершение реакции подтверждали при помощи ОФ-ВЭЖХ (Waters), и получали сложный эфир сукцинимидила XIX. LRMS = (C₄₅H₅₆ClN₆O₁₀S₂) вычисл.: 939,3193, найденное MS: 939,4.

Синтез красителя XX



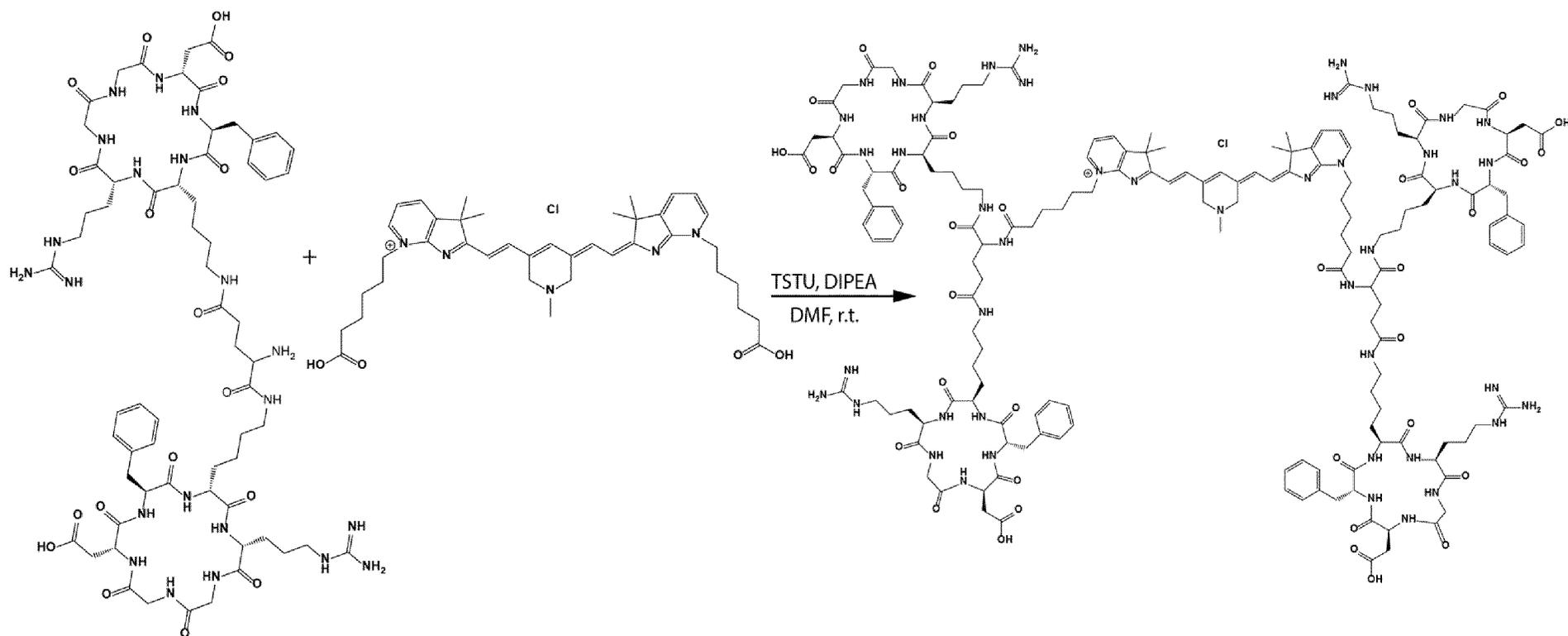
Краситель XIII (3,0 мг, 0,0029 ммоль) растворяли в сухом DMF (1 мл) в атмосфере N₂, и к раствору добавляли DIPEA (2,52 мкл, 0,014 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем к указанному выше раствору в атмосфере N₂ добавляли TsTU (2,27 мг, 0,0074 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и контролировали при помощи ЖХ-МС для подтверждения образования NH-сложного эфира. Через 3 часа к реакционной смеси добавляли пептид c(RGDfK) (6,24 мг, 0,01 ммоль) в DMF (0,4 мл) и DIPEA. Реакционную смесь перемешивали в течение 18 часов, при этом контролируя при помощи ЖХ-МС. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters 2998, Photodiode Array Detector, колонка: XTerra® Prep MS C₁₈OBDD™ колонка, 5 мкм, 19×50 мм) с получением чистого целевого продукта XX с 60% выходом (2,48 мг). FTMS m/z (C₇₅H₉₉IN₁₄NaO₁₄S) вычисл.: 1601,6123, найденное: [M-I-Na+H/2]⁺ = 726,3640

Синтез красителя XXI



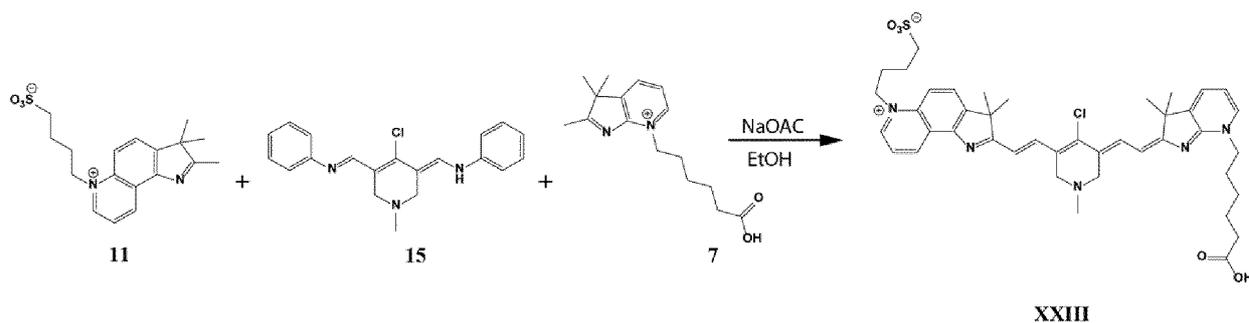
Краситель XIV (3,0 мг, 0,003 ммоль) растворяли в сухом DMF (1 мл) в атмосфере N₂, и к раствору добавляли DIPEA (2,55 мкл, 3,5 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К указанному выше раствору в атмосфере N₂ добавляли TsTU (3,1 мг, 0,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и контролировали при помощи ЖХ-МС S для подтверждения образования NH-сложного эфира. Через 4,5 часа к реакционной смеси добавляли производное пептида c(RGDfK) (9 мг, 0,015 ммоль) в DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов, контролируя при помощи ЖХ-МС. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и продукт очищали с помощью ВЭЖХ (Waters 2998, Photodiode Array Detector, колонка: XTerra® Prep MS C₁₈OBDD™ колонка, 5 мкм, 19×50 мм) с получением чистого целевого продукта XXI с 62% выходом (4 мг). FTMS m/z (C₁₀₁H₁₃₆IN₂₃NaO₂₀S) вычисл.: 2172,8990, найденное: [M-I-Na/2]⁺ = 1012,5097

Синтез красителя XXII



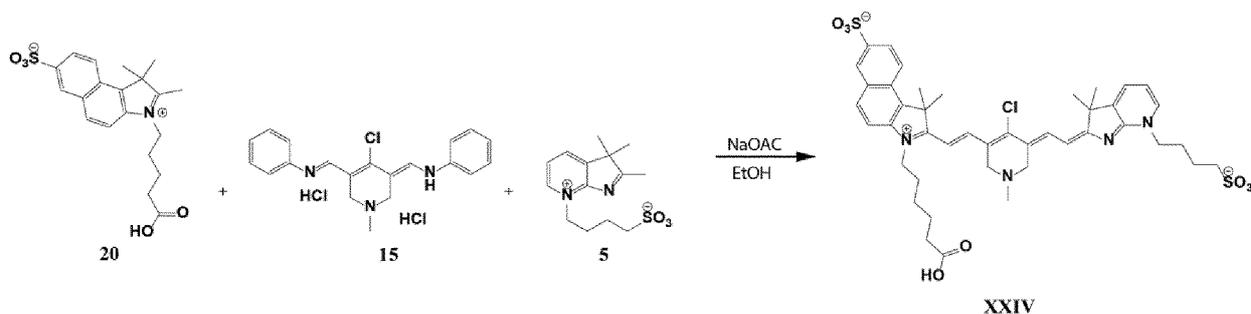
Добавляли краситель III (2 мг, 0,0028 ммоль) в сухом DMF (1 мл) и DIPEA (3 мкл, 0,014 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂, затем добавляли TSTU (1,9 мг, 0,0063 ммоль), полученную смесь защищали от света и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Завершение реакции подтверждали при помощи ВЭЖХ-МС (Agilent). Добавляли производное 2RGD (7,8 мг, 0,00589 ммоль) и DIPEA (3 мкл, 0,014 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂. Завершение реакции проверяли с помощью ВЭЖХ-МС (Agilent). Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ (Waters RP-C18) с получением соответствующего соединения XXII в виде твердого вещества темно-зеленого цвета (5 мг, 53%).

Синтез соединения XXIII



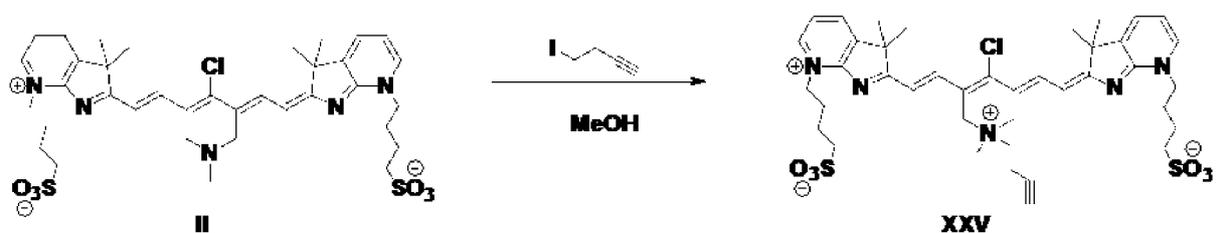
Соединения 11 и 7 растворяли в этаноле в атмосфере N₂, затем к раствору добавляли соединение 15 и ацетат натрия. Реакционную смесь нагревали при 70°C в атмосфере N₂. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ с получением соответствующего несимметричного соединения XXIII.

Синтез соединения XXIV



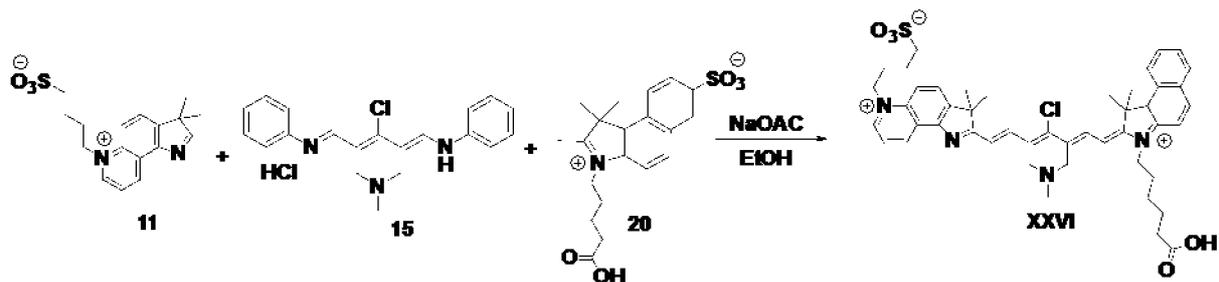
Соединения 20 и 5 растворяли в этаноле в атмосфере азота N₂, затем к раствору добавляли соединение 15 и ацетат натрия. Реакционную смесь нагревали при 70°C в атмосфере N₂. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ с получением соответствующего несимметричного соединения XXIV.

Синтез соединения XXV



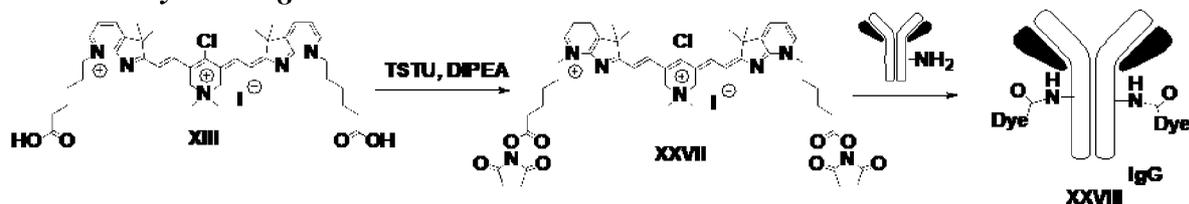
Краситель II и 4-иодбут-1-ин помещали в герметично закрытую пробирку в сухом метаноле в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при r.t. Растворитель удаляли под вакуумом, и неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ с получением соответствующего соединения XXV.

Синтез соединения XXVI



Соединения 11 и 20 растворяли в этаноле в атмосфере N_2 , и затем к раствору добавляли соединение 15 и ацетат натрия. Реакционную смесь нагревали при $70^\circ C$ в атмосфере N_2 . Растворитель удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали при помощи ВЭЖХ с получением соответствующего несимметричного соединения XXVI.

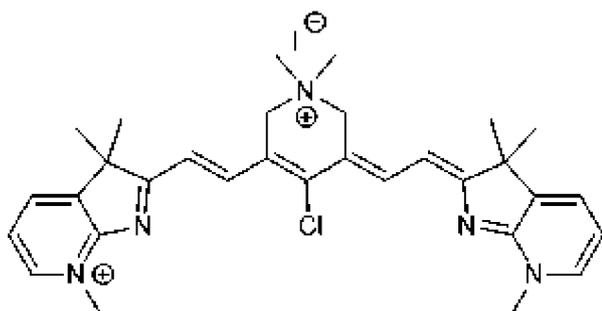
Получение IgG-биоконъюгата XXVIII



Соответствующее антитело разбавляли 2х объемом 0,1 М $NaHCO_3$ (рН 8,5). К раствору антитела добавляли 25 эквивалентов флуоресцентного NHS красителя XXVII (из 10 мМ маточного раствора в DMSO) и осторожно встряхивали в темноте при комнатной температуре в течение 2 часов. После инкубации антитело очищали фильтрующим центрифугированием, используя спин-обессоливающую колонку Zeba 7К и хранили в PBS при $4^\circ C$ с получением биоконъюгата XXVIII. Количество флуорофоров на антитело определяли с помощью спектрофотометрического анализа, которое составило приблизительно 2-3 молекулы флуоресцентного красителя на антитело.

Синтез соединения XXVII

DOTA присоединяли в результате химической реакции к соединению VIII, показанному ниже. Реакцию начинали, используя соединение VIII, показанное ниже на фиг. XXXX.



Соединение VIII

Соединение VIII можно функционализировать с помощью группы, содержащей бензолтиол, например 4-аминобензолтиол, или 2-(4-меркаптофенил)уксусной кислоты, показанные на Фиг. 2.



4-аминобензолтиол 2-(4-меркаптофенил)уксусная кислота

Эти соединения легко вступают в реакцию в диметилформамиде (DMF) при комнатной температуре в атмосфере азота, как показано на схеме реакции ниже. Краситель А растворяли в сухом DMF и помещали в атмосферу азота при перемешивании. В сухую пробирку добавляли соответствующий тиол и растворяли в сухом DMF перед добавлением к раствору.¹ Результаты ВЭЖХ-МС показали, что полученные соединения имеют значения m/z , равные 302 и 324, соответствующие значениям $[M^+/2]$ для аминокфункционализированных и карбоксилатных соединений, соответственно.

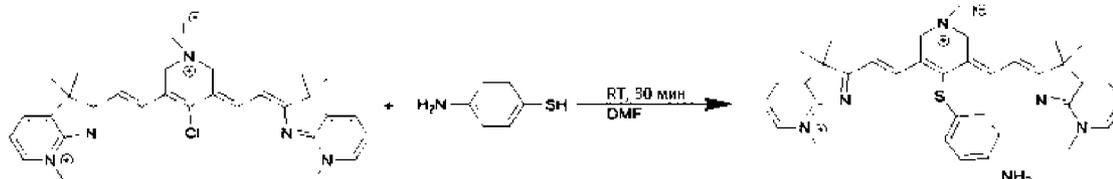


Схема реакции 1

Функционализированное по аминогруппе соединение VIII связывали с 1,4,7,10-тетра-азациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислотой (DOTA), модифицированной таким образом, чтобы она содержала N-гидроксисукцинимидную функциональную группу, как показано на схеме реакции 2. Эту реакцию завершали с использованием функционализированного соединения VIII и коммерчески доступной формы сложного эфира N-гидроксисукцинимида DOTA в присутствии 4 эквивалентов N, N-диизопропилэтиламина (DIPEA) при комнатной температуре в атмосфере азота.

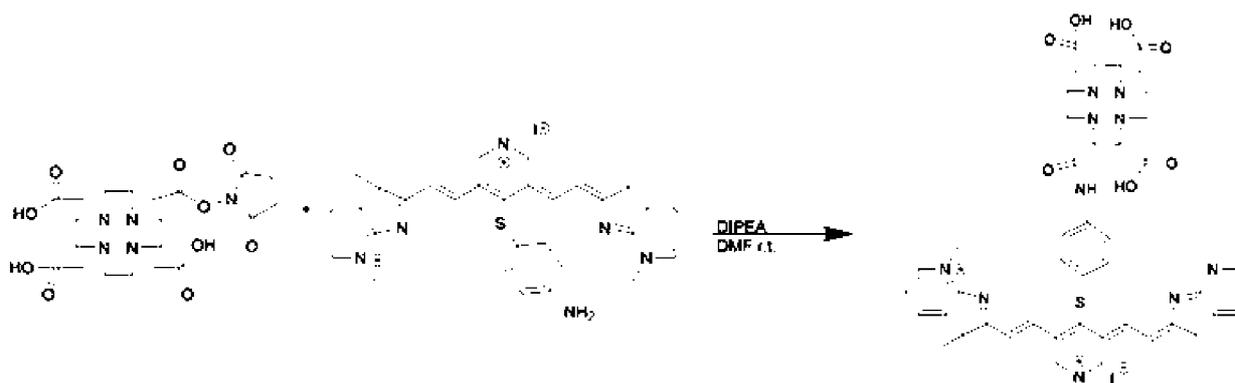


Схема реакций 2: Конъюгация соединения VIII с DOTA

Радиоактивное мечение конъюгата DOTA-соединение VIII может быть выполнено в соответствии с литературными данными², используя 0,25 М буфер ацетата аммония с pH 7,0 при 37°C для индия-111, который добавляют к раствору в 0,4 н. соляной кислоте и перемешивают в течение 45 минут. Другие хелаты металлов ведут себя при хелатировании аналогичным образом. Пример хелатирования индия-111 показан на схеме реакции 3.

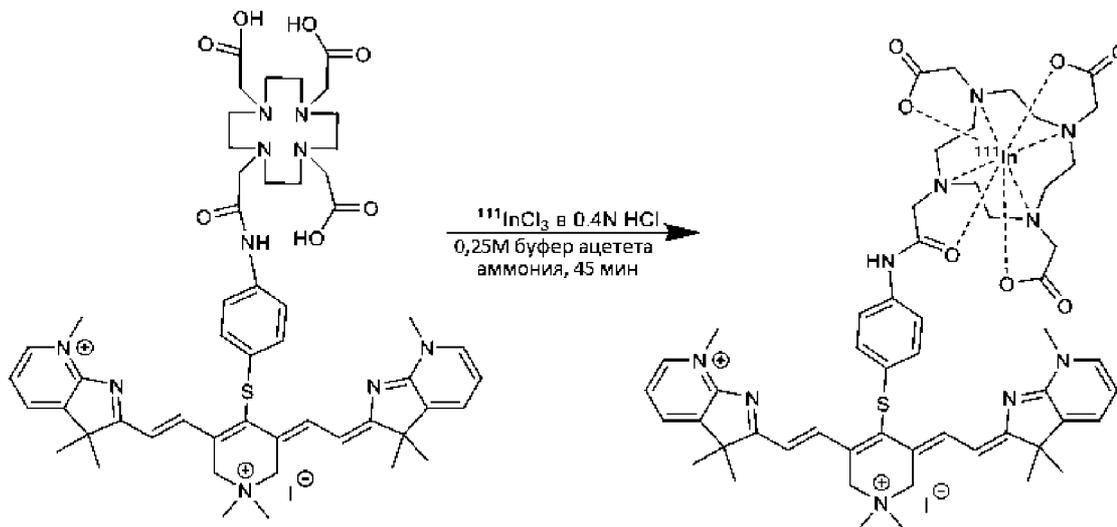


Схема реакций 3: Хелатирование индия-111 в конъюгате DOTA-соединение VIII

Поскольку соединение VIII также является эффективным флуоресцентным реагентом, этот конъюгат можно использовать для оптоакустической визуализации, визуализации в ближнем инфракрасном (600-900 нм) и коротковолновом инфракрасном (КВИК II, SWIR II) диапазонах длин волн от 0,9 до 1,7 микрон (более подробную информацию см. ниже). Эта молекула также может быть использована в лучевой терапии для местного облучения опухолей при хелатировании с радиоизотопами, такими как лютеций или иттрий (¹⁷⁷Lu, ⁹⁰Y).

Анализ оптических свойств

Все оптические измерения проводили при 37°C в метаноле в 10-миллиметровых кварцевых кюветах для спектрофотометрии с $C \sim 10^{-6}M$. Для записи спектров в УФ/видимой/ближней ИК-области использовали лямбда-спектрофотометр Perkin Elmer. Для измерений квантового выхода флуоресценции (QY) использовали ICG в метаноле (QY 7,8%) в качестве калибровочного стандарта в условиях согласованного поглощения при 770

нм. Как показано на фиг.1-9 было обнаружено, что ряд соединений демонстрирует существенное поглощение на длине волны 800 нм. Эти соединения имели несколько длин волн излучения в диапазоне от примерно 800 до примерно 900 нм. В частности,

на фиг.1a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции, а также квантовый выход QY соединения I:

на фиг.2a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения II;

на фиг.3a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения III;

на фиг.4a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения IV;

на фиг.5a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения V;

на фиг. 6a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VI;

на фиг. 7a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VII;

на фиг. 8a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения VIII;

на фиг. 9a-b показаны спектры поглощения и флуоресценции и QY соединения IX.

Оценка XXVIII для флуоресцентной визуализации in vivo

Самкам бестимусных мышей в возрасте 6-8 недель вводили 1М клеток 4T1 в 100 мкл PBS подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли размера приблизительно 0,5 см³, животным внутривенно вводили 0,7 нмоль конъюгата антитело-XXVIII в 100 мкл PBS. Затем мышей визуализировали в разные моменты времени с помощью прибора IVIS Spectrum (Perkin Elmer) при рекомендуемых настройках возбуждения/испускания 745/810 нм. Трех типичным мышам с установленной опухолью 4T1-luc2, подкожно имплантированной в правый бок, инъецировали указанный агент визуализации. (a) Получали изображения мышей с помощью устройства IVIS Spectrum, чтобы показать локализацию опухоли, и (b) БИК флуоресцентные изображения, чтобы показать обнаружения специфических биомаркеров после внутривенного введения 0,7 нмоль конъюгата антитело-XXVIII (фиг. 10).

Оценка XXI для флуоресцентной визуализации in vivo

Самкам бестимусных мышей в возрасте 6-8 недель вводили 1М клеток 4T1 в 100 мкл PBS подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли размера примерно 0,5 см³, животным внутривенно вводили 20 нмоль зонда XXI для визуализации в 100 мкл PBS. Затем мышей визуализировали в разные моменты времени с помощью имиджера IVIS Spectrum (Perkin Elmer) при рекомендуемых настройках возбуждения/испускания 745/810 нм. На фиг.11 показаны изображения БИК флуоресценции мышей с опухолью 4T1-luc2 в указанные моменты времени после внутривенной инъекции зонда XXI, IntegriSenseTM750 и RGD-ICG. На фиг. 12 показано оптимальное соотношение фон/шум, рассчитанное для представляющей интерес области мышей с опухолью 4T1 (a) через 2 часа после инъекции зонда XXI и (b) через 24 часа после инъекции IntegriSenseTM750.

Оценка XXI для хирургии, корректируемой по флуоресцентному изображению

Пример 1: Для изучения проведения хирургической операции, корректируемой по изображению, использовали собаку кувас (кобель, 30 кг) с диагнозом мастоцитомы в правой ноге. Все исследования на собаках проводили в Veterinair Verwijscentrum Gouda,

Нидерланды. За 6 часов до операции собаке вводили флуоресцентный зонд XXI (180 нмоль/кг) с помощью катетера, введенного в головную вену. Перед операцией собака получала общую анестезию. Хирургическую операцию по удалению рака, корректируемую по изображению, выполняли с помощью системы флуоресцентной визуализации Solaris Open-air Fluorescence Imaging System (Perkin Elmer), оснащенной четырьмя флуоресцентными каналами (470 нм, 660 нм, 750 нм и 800 нм) для визуализации опухоли в реальном времени при освещении окружающей среды. На фиг. 13 показана (а) IV катетерная инъекция 180 нмоль/кг зонда XXI собаке массой 30 кг за 6 часов до операции и (b) локализация опухоли мастоцитомы в правой ноге собаки. На фиг. 14 показана (а) хирургическая процедура резекции опухоли мастоцитомы, корректируемая по флуоресцентному изображению. Опухоль мастоцитомы (сплошная стрелка) четко идентифицируется по ободку вокруг опухоли *in vivo* через 6 часов после инъекции зонда XXI. Нормальная ткань (пунктирная стрелка) показывает незначительное фоновое поглощение зонда XXI. Повышенная способность визуализировать границы опухоли во время хирургической операции, корректируемой по флуоресцентному изображению, обеспечила более полную резекцию опухоли (круглая стрелка), и (b) показано скрытое злокачественное поражение. На фиг. 15 показано, что (а) после операции не наблюдалось явной флуоресценции остаточной опухоли и (b) после корректируемой по флуоресценции резекции и получения среза того же образца ободок вокруг опухоли может быть визуализирован *ex vivo*.

Пример 2: Для изучения возможности проведения хирургической операции, корректируемой по изображению, использовали собаку-лабрадор (кобель, 33 кг) с диагнозом мастоцитомы в носу. Все исследования на собаках проводили в Veterinair Verwijscentrum Gouda, Нидерланды. За 10 ч до операции собаке вводили флуоресцентный зонд XXI (92 нмоль/кг) в головную вену с помощью катетера. Перед операцией собака получала общую анестезию. Хирургию рака, корректируемую по изображению, выполняли с помощью системы флуоресцентной визуализации Solaris Open-air (Perkin Elmer), оснащенной четырьмя флуоресцентными каналами (470 нм, 660 нм, 750 нм и 800 нм) для визуализации опухоли в режиме реального времени при освещении окружающей среды. На фиг. 16 показана (а) IV катетерная инъекция 92 нмоль/кг зонда XXI собаке весом 33 кг за 10 ч до операции и (b) локализация опухоли мастоцитомы в носу собаки. На фиг. 17 показаны (а) хирургическая процедура по удалению опухоли мастоцитомы у собаки, корректируемая по флуоресцентному изображению, и (b) после корректируемой по флуоресценции резекции и получения срезов того же образца, ободок вокруг опухоли может быть визуализирован *ex vivo*.

Визуализация некроза

Ex vivo анализ гибели клеток в отношении соединений VI и XIV изучали с помощью метода криогенного повреждения ткани. Вкратце, в чашке Петри к срезанной ткани кожи недавно умерщвленной голый мыши на 60 секунд прикладывали кусок сухого льда. Затем образцы ткани кожи инкубировали с различными концентрациями красителя VI и XIV (1

мкМ, 5 мкМ и 10 мкМ) в течение 10 мин при комнатной температуре. После осторожной промывки PBS образцы сканировали на наличие флуоресценции с помощью системы визуализации IVIS Spectrum. На фиг. 18 показано (а) криогенное повреждение ткани, отмеченное красителем VI, клетки в месте фокальной обработки сухим льдом показали сильный сигнал флуоресценции, тогда как в живых клетках сигнал отсутствовал, и (б) общий поток фотонов от обработанных клеток при различных концентрациях. На фиг.19 показано (а) криогенное повреждение ткани, отмеченное красителем XIV, флуоресценция красителя XIV показала сильное накопление флуоресценции в криогенной ткани в месте фокальной обработки сухим льдом, (б) общий поток фотонов от обработанной ткани при различных концентрациях.

Оценка VIII для визуализации некроза:

Показано, что соединение VIII избирательно воздействует на некротическую ткань *in vivo*. Кардиотоксин (10 мкМ в 50 мкл PBS) вводили в правое бедро мыши и 50 мкл PBS вводили в левое бедро. Через 24 часа после инъекции токсина в хвост мыши внутривенно вводили соединение VIII (40 мкмоль в 100 мкл PBS). Результаты показывают, что краситель избирательно воздействует на некротические участки и выводится через почки, а не накапливается в печени. Результаты показаны ниже на фиг. 20-22. Яркости изображений не соответствуют друг другу. На том же графике показана количественная оценка. Значительные отношения сигнал/фон, возникающие в результате накопления красителя в областях некроза, наблюдаемые уже через 10 минут после инъекции соединения VIII, делают его идеальным для перехода к клиническому применению.

Поглощение клетками:

Важно, чтобы нацеленное на некроз соединение не показывало никакого связывания или поглощения живыми клетками и избирательно связывалось только с некротическими клетками. Это должно существенно минимизировать нежелательные побочные эффекты при применении на пациентах.

Поэтому такие эксперименты с соединением VIII были проведены на живых клетках. Поглощение соединения VIII не наблюдали в живых клетках A431 даже при длительных периодах инкубации (30 мин) при довольно высоких концентрациях (25 мкМ). Использовали следующую процедуру:

Клетки выращивали в 96-луночных планшетах до конфлюэнтного уровня. Среду удаляли, клетки промывали PBS, инкубировали в течение заданного времени (5, 15 или 30 минут) при различных концентрациях красителя (5 мкМ, 10 мкМ и 25 мкМ) в PBS. Краситель удаляли, клетки дважды промывали PBS, затем добавляли PBS для визуализации.

Значения для каждой лунки соответствовали значениям контрольной группы лунок, которые не подвергались воздействию красителя в лунках A1-A3. Яркая лунка на F12 представляет собой раствор соединения VIII в концентрации 5 мкМ в PBS для гарантии того, что происходит визуализация красителя. Лунки от B1-C10 представляют собой клетки, которые инкубировали с красителем; эти лунки отбирали индивидуально, и яркость

сравнивали с яркостью контроля, при этом существенная разница между группами не наблюдалась. Изображение, полученное на IVIS Spectrum, показано ниже на фиг. 7.

Значения для каждой лунки также показаны в таблице ниже.

Изображение	Avg Radiant Efficiency [p/s/cm ² /sr] / [μW/cm ²]	Среднее значение [п/с/см ² /sr]/[мкВт/см ²]
Контроль	1,40E+07	1,46E+07
	1,57E+07	
	1,42E+07	
5 мкМ, 5 минут	1,64E+07	1,49E+07
	1,47E+07	
	1,36E+07	
10 мкМ, 5 минут	1,50E+07	1,39E+07
	1,39E+07	
	1,28E+07	
25 мкМ, 5 минут	1,39E+07	1,33E+07
	1,34E+07	
	1,27E+07	
5 мкМ, 15 минут	1,29E+07	1,24E+07
	1,23E+07	
	1,19E+07	
10 мкМ, 15 минут	1,24E+07	1,20E+07
	1,18E+07	
	1,17E+07	
25 мкМ, 15 минут	1,22E+07	1,20E+07
	1,20E+07	
	1,19E+07	
5 мкМ, 30 минут	1,18E+07	1,17E+07
	1,16E+07	
	1,17E+07	
10 мкМ, 30 минут	1,16E+07	1,15E+07
	1,15E+07	
	1,13E+07	
25 мкМ, 30 минут	1,20E+07	1,20E+07
	1,20E+07	
	1,20E+07	
5 мкМ раствора красителя	3,33E+07	3,33E+07

Таблица 1: Инкубация соединения VIII в клетках A431

Использование аза-красителей в качестве флуоресцентного зонда для коротковолнового инфракрасного излучения/БИК II:

Азакрасители также продемонстрировали потенциал для использования в коротковолновой инфракрасной (КВИК, SWIR) области между 1000-2000 нм. Эта область также известна как ближняя инфракрасная область II (БИК, NIR-II), хотя ее обычно определяют как область между 1000-1700 нм. Она важна для визуализации *in vivo* благодаря

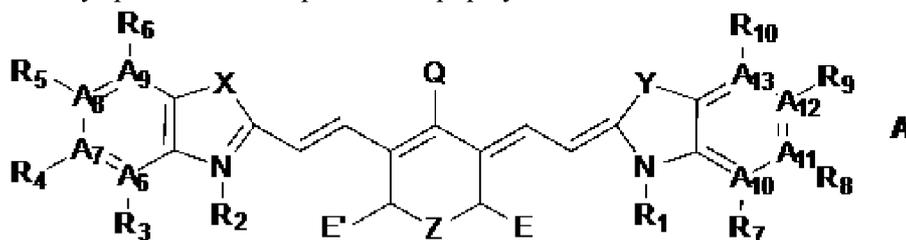
более низкому рассеянию и автофлуоресценции в ткани, чем в области БИК I (700-1000 нм). Это привело к тому, что КВИК/БИК-II был назван зоной “прозрачной ткани”.

Недавно с помощью системы камер InGaAs SWIR3 было показано, что некоторые цианиновые красители, включая ICG и CW-800, также имеют излучение в КВИК области, которая находится в диапазоне от 1000 до 1700 нм. Уже было показано, что в области БИК-II величина поглощения меньше, и отсутствует рассеяние, что позволяет получать изображения в 2 раза более глубокие и с гораздо более высоким разрешением, соответственно. В настоящем описании показано, что новые NIRF аза-цианиновые соединения, такие как соединение VIII и соединение VI, также поглощают в БИК-II диапазоне и могут быть визуализированы с помощью коммерческой системы камер SWIR. Результаты показаны на фиг. 8 ниже. Камера, использованная для получения данных, имеет следующие характеристики: "Детектор Princeton NIRvana, спектрометр IsoPlane SCT320, инвертированный микроскоп Nikon, источники света 658 нм, 785 нм и ксеноновая лампа/монохроматор".

Другие производные азацианиновых аналогов, охватываемые настоящим изобретением, в настоящее время проходят испытания, направленные на поиск оптимального красителя для визуализации в КВИК (SWIR) диапазоне.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Флуоресцентный краситель формулы А



или его соль, где

Z выбирают из группы, состоящей из NR¹⁷ и ⁺NR¹⁷R¹⁸;

Q независимо представляет собой H или выбирают из групп а), б) и с), состоящих из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R¹⁹U, -OR¹⁹U, -SR¹⁹U и -NR¹⁹R²⁰U, где R¹⁹ представляет собой единичную связь; или где R¹⁹ и R²⁰ независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим C₅-, C₆- или C₇-ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой, причем предпочтительно один из R¹⁹ и R²⁰ не является ароматическим в случае -NR¹⁹R²⁰U; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: -(CH₂)_mSO₃⁻; -(CH₂)_mC(O)O⁻; -(CH₂)_mP(O)O₂²⁻; -(CH₂)_mNH₂; -(CH₂)_mNHR³²; -(CH₂)_mNR³²R³³, где m является целым числом от 0 до 6, и где R³² и R³³ независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где в случае -(CH₂)_mNH₂; -(CH₂)_mNHR³²; -(CH₂)_mNR³²R³³ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R³⁴ с образованием четвертичного атома N, и где R³⁴ во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила,

б) R²¹L, -OR²¹L, -SR²¹L и -NR²¹R²²L, где R²¹ и R²² независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или

разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклическим или гетероциклическим 5-, 6- или 7-членным ароматическим кольцом, которое может быть замещено линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; и гомоциклических и гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{19}R^{20}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N, к которому они присоединены образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1 - C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазинилом;

L выбирают из группы, состоящей из: $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-C(O)O^-$, $-C(O)Cl$, $-(CO)O(CO)R^{27}$, $-C(O)NHNH_2$, $-C(O)-C(O)OR^{28}$, где R^{27} выбирают из группы, состоящей из H, алкила и арила; где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через $-O-$; азида N_3^- ; $-NCO$, $-NCS$, $-CHO$, $-COCH_2I$, фосфорамидида, фталамидида, малеимида, алкиновой группы, в частности $-C\equiv CR^{31}$, где R^{31} представляет собой H или C_1 - C_8 алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пропаргилглицина, пентаноильной группы, в частности пентаноилхлорида, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина;

R^1 и R^2 отсутствуют, представляют собой H или независимо выбирают из группы:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного,

нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5 -, C_6 - или C_7 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6;

R^{17} и R^{20} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- и 7-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{20} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может

формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6;

A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой C , N или $+N$, и либо

A)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N , и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N ;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

a) галогенида, выбранного из Cl , Br , I ; $R^{25}H$ и $OR^{25}H$, где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

b) $R^{25}L$ и $OR^{25}L$, где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер,

который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) $R^{25}U$ и $OR^{25}U$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил, где m является целым числом от 0 до 6; и где $OR^{25}H$, $OR^{25}L$ и $OR^{25}U$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C ;

либо

В)

A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой C , N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R^3 , R^4 , R^5 , R^6 или R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1, 2 или 3 атома C могут быть замещены N или ^+N , и которые могут быть замещены R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} ; R^{18} ;

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl , Br , I ; $R^{26}H$ и $OR^{26}H$, где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 50,

б) $R^{26}L$ и $OR^{26}L$, где R^{26} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-20} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической C_5 -, C_6 - или C_7 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_6 алкильной группой; гомоциклических

или гетероциклических C₅-, C₆- или C₇-ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 50; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) R²⁶U и OR²⁶U, где R²⁶ представляет собой единичную связь; или где R²⁶ выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C₁₋₂₀ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической или гетероциклической 5-, 6- или 7-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; гомоциклических или гетероциклических 5-, 6- или 7-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁-C₆ алкильной группой; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 50; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: -(CH₂)_mSO₃⁻; -(CH₂)_mC(O)O⁻; и

d) -(CH₂)_mP(O)O₂²⁻; -(CH₂)_mNR₂; -(CH₂)_mNH₂; -(CH₂)_mNHR³²; (CH₂)_mNR³²R³³, где m является целым числом от 0 до 6, и где R³², R³³ независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил;

X и Y выбирают из группы, состоящей из CR²⁹R³⁰, где каждый из R²⁹ и R³⁰ независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C₁-C₆ алкила,

E и E' независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C₁-C₆ алкила.

2. Флуоресцентный краситель формулы A, в котором заместители имеют следующие значения:

в гетероцикле, являющемся частью углеродной цепи с сопряженной двойной связью, Z представляет собой NR¹⁷ или ⁺NR¹⁷R¹⁸,

Q выбирают из групп a), b) и c), состоящих из:

a) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R¹⁹U, -OR¹⁹U, -SR¹⁹U и -NR¹⁹R²⁰U; где R¹⁹ представляет собой единичную связь; или где R¹⁹ и R²⁰ независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H, линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₁₂ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁-C₄ алкильной группой; и гомоциклических 6-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁-C₄ алкильной группой, причем предпочтительно один из R¹⁹ и R²⁰ не является ароматическим в случае -NR¹⁹R²⁰U; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: -(CH₂)_mSO₃⁻; -(CH₂)_mC(O)O⁻; -(CH₂)_mP(O)O₂²⁻; -(CH₂)_mNR₂, -

$(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил; и где в случае $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R^{34} с образованием четвертичного атома N, и где R^{34} во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метила или этила,

б) R^{21}L , $-\text{OR}^{21}\text{L}$, $-\text{SR}^{21}\text{L}$ и $-\text{NR}^{21}\text{R}^{22}\text{L}$, где R^{21} и R^{22} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой; $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и гомоциклических 6-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-\text{NR}^{21}\text{R}^{22}$; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

в) R^{19} , $-\text{OR}^{19}$, $-\text{SR}^{19}$ и $-\text{NR}^{19}\text{R}^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -арильной группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1 - C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-\text{NR}^{19}\text{R}^{20}$; $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1 - C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазинилом;

L выбирают из группы, состоящей из: $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{28}$, где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через -O-; азида N_3^- ; $-\text{NCO}$, $-\text{NCS}$, $-\text{CHO}$, фосфорамидида, фталамидида, малеимида, алкиновой группы, в частности $-\text{C}\equiv\text{CR}^{31}$, где R^{31} представляет собой H или C_1 - C_8 алкильную группу, предпочтительно H или C_1 - C_4 алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, пентиноевой кислоты, пропиоловой кислоты, 6-аминобензо[d]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксibenzo[d]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, в частности L-цистеина или D-цистеина;

R^1 и R^2 отсутствуют, независимо представляют собой H или выбирают из группы:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20;

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической C_6 -ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 -ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

в) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических C_6 -ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил;

R^{17} и R^{18} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20,

б) $R^{24}L$, где R^{24} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклической 6-членной ароматической группы, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из

R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L является линкером, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

с) $R^{24}U$, где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$, $-(CH_2)_mC(O)O^-$, $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$, $-(CH_2)_mNR_2$, $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил;

A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} представляют собой C , N , ^+N и либо

A)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N , и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N ;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl , Br , I ; $R^{25}H$ и $OR^{25}H$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20,

б) $R^{25}L$ и $OR^{25}L$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-12} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C_1-C_4 алкильной группой; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

с) $R^{25}U$ и $OR^{25}U$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают

из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₁₂ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: -(CH₂)_mSO₃⁻, -(CH₂)_mC(O)O⁻, -(CH₂)_mP(O)O₂²⁻, -(CH₂)_mNR₂, -(CH₂)_mNH₂; -(CH₂)_mNHR³²; (CH₂)_mNR³²R³³, где m является целым числом от 0 до 6, и где R³², R³³ независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где OR²⁵H, OR²⁵L и OR²⁵U присутствуют только, когда O присоединен к атому C;

либо

В)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, которое образовано по меньшей мере двумя из заместителей R³, R⁴, R⁵, R⁶ или R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ с образованием трехядерного кольца, в котором 1 или 2 атома C могут быть замещены N, и которые могут быть замещены R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴ и R¹⁵, R¹⁶, R¹⁷;

R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴ и R¹⁵, R¹⁶, R¹⁷ независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R²⁶H и OR²⁶H, где R²⁶ выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₁₂ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 20;

б) R²⁶L и OR²⁶L, где R²⁶ выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₁₂ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; гомоциклических C₆-ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁₋₄ алкильной группой; -(CH₂-O-CH₂)_xCH₂-, где x является целым числом от 1 до 20; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом; и

с) R²⁶U и OR²⁶U, где R²⁶ представляет собой единичную связь; или где R²⁶ выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₁₂ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно или многократно замещена

гомоциклической 6-членной ароматической группой, которая может быть замещена линейной или разветвленной C₁-C₄ алкильной группой; гомоциклических C₆-ароматических колец, которые могут быть замещены линейной или разветвленной C₁-C₄ алкильной группой; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 20; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C(O)O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P(O)O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R³², R³³ независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где OR²⁶H, OR²⁶L и OR²⁶U присутствуют только, когда O присоединен к атому C;

X и Y выбирают из группы, состоящей из:

CR²⁹R³⁰, где каждый из R²⁹ и R³⁰ независимо выбирают из H, незамещенного и замещенного нециклического линейного и разветвленного C₁-C₄ алкила;

E и E' независимо выбирают из H и незамещенного и замещенного линейного или разветвленного, циклического или нециклического C₁-C₄ алкила.

3. Флуоресцентный краситель по п.1 или п.2, где заместители имеют следующие значения:

в гетероцикле, являющемся частью сопряженной углеродной цепи, Z представляет собой NR¹⁷ или ⁺NR¹⁷R¹⁸,

Q выбирают из групп а), b) и c), состоящих из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R¹⁹U, -OR¹⁹U, -SR¹⁹U и -NR¹⁹R²⁰U, где R¹⁹ представляет собой единичную связь; или где R¹⁹ и R²⁰ независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₈ алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R¹⁹ и R²⁰ не является ароматическим в случае -NR¹⁹R²⁰U; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C(O)O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P(O)O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R³², R³³ независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метил или этил; и где в случае $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$ атом N может быть связан с дополнительным заместителем R³⁴ с образованием четвертичного атома N, и где R³⁴ во всех указанных выше случаях независимо выбирают из H и алкильной группы, имеющей 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C, в частности метила или этила;

b) R²¹L, -OR²¹L, -SR²¹L и -NR²¹R²²L, где R²¹ и R²² независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C₁₋₈ алкила,

причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{21} и R^{22} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-L$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом;

с) R^{19} , $-OR^{19}$, $-SR^{19}$ и $-NR^{19}R^{20}$, где R^{19} и R^{20} независимо могут представлять собой модифицирующую оптические свойства группу и независимо выбирают из группы, состоящей из: H; линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; и гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{19} и R^{20} не является ароматическим в случае $-NR^{21}R^{22}$; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; или где R^{19} и R^{20} вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_1-C_6 алкильной группой, в частности 4-циклогексилпиперазином;

L выбирают из группы, состоящей из: $-OH$, $-SH$, $-C(O)O-$, $-C(O)OR^{28}$, где R^{28} происходит из замещенного или незамещенного N-гидроксисукцинимиды, замещенного или незамещенного N-гидроксисульфосукцинимиды, нитрофенола, фторфенола, каждый из которых связан через $-O-$; азида N_3- ; $-NCS$, $-CHO$, фосфорамидитила, фталамидила, малеимида, алкиновой группы, в частности $-C\equiv CR^{31}$, где R^{31} представляет собой H или C_1-C_8 алкильную группу, предпочтительно H или C_1-C_4 алкильную группу, сульфонатных эфиров, алкилгалогенидов, ацилгалогенидов, 6-аминобензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 6-гидроксибензо[*d*]тиазол-2-карбонитрила, 1,2-аминотиоловой группы, L-цистеина;

R^1 и R^2 отсутствуют, представляют собой H или независимо выбирают из группы:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических колец; и $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 20,

б) $R^{23}L$, где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группы; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

с) $R^{23}U$, где R^{23} представляет собой единичную связь; или где R^{23} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой

модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}_2$, $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил;

R^{17} и R^{18} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; и $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12,

б) R^{24}L , где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп, причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

с) R^{24}U , где R^{24} представляет собой единичную связь; или где R^{24} выбирают из группы: линейного или разветвленного, нециклического или циклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; причем предпочтительно один из R^{17} и R^{18} не является ароматическим; $-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов С, в частности метил или этил;

A_6 , A_7 , A_8 , A_9 и A_{10} , A_{11} , A_{12} , A_{13} представляют собой С, N или ^+N , и либо

А)

образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, причем система индола может содержать всего 1 атом N, и причем система азаиндола может содержать всего 2 атома N;

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} независимо представляют собой Н или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl, Br, I; R^{25}H и OR^{25}H , где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной

ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12,

б) R^{25}L и $-\text{OR}^{25}\text{L}$, где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать ковалентную связь с нацеливающим агентом,

с) R^{25}U и $-\text{OR}^{25}\text{U}$, где R^{25} представляет собой единичную связь; или где R^{25} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклической 6-членной ароматической группы; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_3^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{O}^-$; $-(\text{CH}_2)_m\text{P}(\text{O})\text{O}_2^{2-}$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_m\text{NHR}^{32}$; $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{32}\text{R}^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил; где OR^{25}H , $-\text{OR}^{25}\text{L}$ и $-\text{OR}^{25}\text{U}$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C ;

либо

В)

A_6 , A_7 , A_8 , A_9 и A_{10} , A_{11} , A_{12} , A_{13} представляют собой C , N или ^+N и образуют 6-членное ароматическое кольцо, которое вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют систему индола или азаиндола, и к такой системе индола или азаиндола аннелировано дополнительное 6-членное кольцо, образованное по меньшей мере двумя из заместителей R^3 , R^4 , R^5 , R^6 или R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} с образованием трехядерного кольца, в котором 1 или 2 атома C могут быть замещены N , и которые могут быть замещены R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} ,

R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} и R^{15} , R^{16} , R^{17} независимо представляют собой H или выбирают из группы, состоящей из:

а) галогенида, выбранного из Cl , Br , I ; R^{26}H и OR^{26}H , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12,

б) R^{26}L и OR^{26}L , где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_x\text{CH}_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и L представляет собой линкер, который может формировать

ковалентную связь с нацеливающим агентом, и

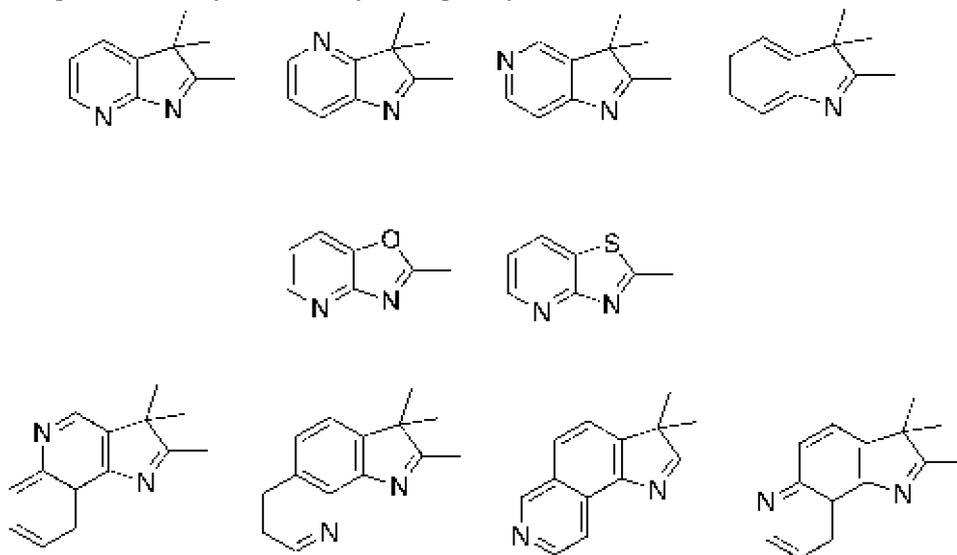
с) $R^{26}U$ и $OR^{26}U$, где R^{26} представляет собой единичную связь; или где R^{26} выбирают из группы: линейного, нециклического, замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила, причем указанная алкильная группа может быть однократно замещена гомоциклической 6-членной ароматической группой; гомоциклических 6-членных ароматических групп; $-(CH_2-O-CH_2)_xCH_2-$, где x является целым числом от 1 до 12; и U представляет собой модифицирующую физиохимию группу, выбранную из группы, состоящей из: $-(CH_2)_mSO_3^-$; $-(CH_2)_mC(O)O^-$; $-(CH_2)_mP(O)O_2^{2-}$; $-(CH_2)_mNR_2$; $-(CH_2)_mNH_2$; $-(CH_2)_mNHR^{32}$; $(CH_2)_mNR^{32}R^{33}$, где m является целым числом от 0 до 6, и где R^{32} , R^{33} независимо друг от друга представляют собой алкильную группу, имеющую 1-12, предпочтительно 1-8, более предпочтительно 1-4 атомов C , в частности метил или этил, и где $OR^{26}H$, $OR^{25}L$ и $OR^{25}U$ присутствуют только, когда O присоединен к атому C ;

X и Y выбирают из группы, состоящей из:

$CR^{29}R^{30}$, где каждый из R^{29} и R^{30} независимо выбирают из H , незамещенного и замещенного C_{1-2} алкила,

E и E' независимо выбирают из H и метила и этила, предпочтительно метила.

4. Краситель по любому из пп.1-3, где A^6 , A^7 , A^8 , A^9 и A^{10} , A^{11} , A^{12} , A^{13} являются такими, что вместе с кольцом, производным пирролина, к которому они присоединены, образуют ароматическую систему, выбранную из:



5. Краситель по любому из пп.1-4, имеющий 1, 2, 3 или 4 линкера, предпочтительно 1, 2 или 3 линкера, более предпочтительно 1 или 2 линкера, которые присоединены в следующих положениях: положении R^1 , R^2 или R^1 и R^2 ; в положении R^{17} , R^{18} или R^{17} и R^{18} ; или, если кольцо, аннелированное со структурой пиррола, содержит атом N , к этому атому N , предпочтительно в положениях R^3 , R^4 , R^7 и/или R^6 .

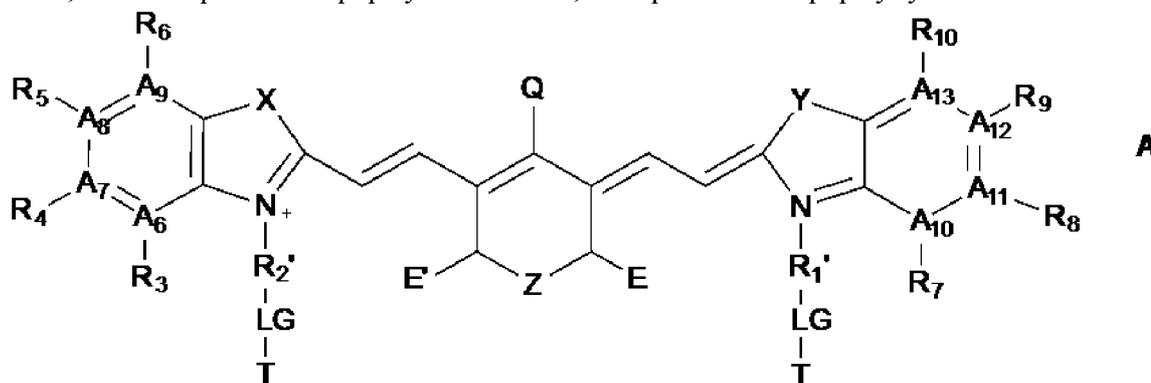
6. Краситель по любому из пп.1-5, который является асимметричным и не имеет симметрии C_2 из-за различных кольцевых систем или одного или более заместителя, которые присутствуют только на одной стороне молекулы.

7. Краситель по любому из пп.1-6, в котором по меньшей мере один хелатирующий

агент присоединен к красителю или агенту визуализации в положении любого из заместителей Q, E, E' и R¹-R¹⁶.

8. Флуоресцентный краситель формулы А, в котором ион металла, в частности радиоактивного металла, или ион изотопа металла химически связан с хелатирующим агентом.

9. Краситель по п.8, дополнительно содержащий нацеливающий агент, связанный с красителем, как изображено в формуле А по п.1, который имеет формулу D:



D

где R³-R¹⁰, A⁶-A¹³, X, Y, Q, Z, E и E' имеют значения, определенные в любом из предыдущих пунктов,

R^{1'} и R^{2'} независимо друг от друга имеют значение R²³ как определено в связи с R²³L для формулы А; и где присутствуют оба R^{1'} и R^{2'}; или присутствует только один из R^{1'} и R^{2'}, будучи присоединенным к Т через LG, в этом случае другой заместитель R^{1'} или R^{2'} либо отсутствует, представляет собой H, либо имеет значение R¹ или R², как определено в связи с формулой А;

LG представляет собой связывающую группу, образованную в результате реакции линкера L, как определено в любом из предыдущих пунктов формулы изобретения, с комплементарной группой на Т,

Т представляет собой нацеливающий агент, независимо выбранный из группы, состоящей из рецепторов, лигандов, моноклональных и поликлональных антител и фрагментов этих антител, антигенов, пептидов, субстратов ферментов, ферментов, (специфических) белков и фрагментов белков, пептидов RGD, которые специфически связываются с интегрином α_vβ₃, биотина, авидина, стрептавидина, антибиотина, углеводов, сахаридов, лектина, ДНК и ее фрагментов, РНК и ее фрагментов, аДНК и ее фрагментов, аРНК и ее фрагментов, гормонов, фолиевой кислоты, аптамеров, включая пептидные аптамеры и аптамеры ДНК и РНК, субстратов ферментов и малых молекул.

10. Биоконъюгированный агент визуализации по п.9, в котором нацеливающие агенты Т являются одинаковыми или разными.

11. Биоконъюгированный агент визуализации по п.9 или п.10, в котором по меньшей мере один хелатирующий агент присоединен к красителю или агенту визуализации в положении любого из заместителей Q, E, E' и R¹-R¹⁶.

12. Биоконъюгированный агент визуализации по п.11, в котором ион металла,

предпочтительно ион радиоактивного металла, или изотоп металла химически связан с хелатирующим агентом.

13. Биоконъюгированный агент визуализации по любому из пп.9-12, связанный с биологической мишенью, предпочтительно из группы трансферрина, белков, моноклональных антител (MAb) и их фрагментов, поликлональных антител и их фрагментов, нанотел, пептидов и белков, малых молекул, лекарственных веществ и аптамеров.

14. Набор для флуоресцентного мечения биологического образца, содержащий краситель по любому из пп.1-8 или его соль, предпочтительно раствор красителя или соли, или биоконъюгированный агент визуализации по любому из пп.9-12 и, необязательно, подходящий буфер.

15. Способ визуализации *in vitro*, включающий

(а) приведение образца в контакт с биоконъюгированным агентом визуализации по любому из пп.9-12;

(b) необязательное удаление несвязанного агента; и

(с) обнаружение сигнала, испускаемого агентом, таким образом определяя, был ли агент активирован или связан с биологической мишенью.

16. Способ оптической визуализации *in vivo*, включающий:

(а) введение субъекту биоконъюгированного агента визуализации по п.7 или пп.9-12;

(b) обеспечение возможности агенту распределиться внутри организма субъекта или вступить во взаимодействие с биологической мишенью;

(с) необязательное облучение субъекта светом с длиной волны, поглощаемой флуоресцентным красителем; и

(d) обнаружение сигнала, испускаемого биоконъюгированным агентом визуализации после связывания с биологической мишенью.

17. Способ по п.15 или п.16, в котором определяют степень гибели клеток, причем гибель клеток предпочтительно является результатом механизма, выбранного из апоптоза, некроза и некроптоза.

18. Способ по любому из пп.15-17, в котором субъект является животным или человеком.

19. Способ по одному из пп.10-18, в котором соединение по любому из пп.1-8 связывают с одним или более из следующего:

(а) радиоактивный индикатор,

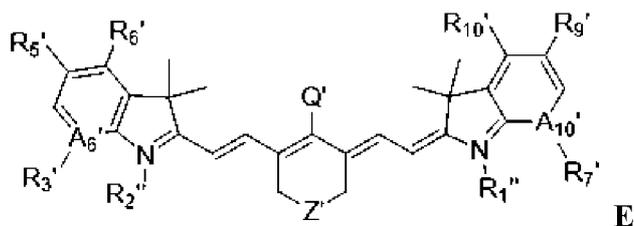
(b) контрастное вещество для МРТ,

(с) наночастица и

(d) биологически активное соединение.

20. Флуоресцентный краситель по п.1, представляющий собой соединение формулы

E:



где

Q' представляет собой Cl, Br, I, $-OR^{19'}$, $-SR^{19'}$ или $-NR^{19'}R^{20'}$, $R^{19'}$ и $R^{20'}$ независимо представляют собой H или фенил, где фенил может быть замещен C_{1-6} алкилом, C_{1-6} фторалкилом, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$ -щелочным металлом, $-(CH_2)_{0-3}COOH$, $-(CH_2)_{0-3}COO^-$ -щелочным металлом, $-NCO$, $-NCS$, $-(CH_2)_{0-3}NH_2$ или $-(CH_2)_{0-3}N^+H_3$, или $R^{19'}$ и $R^{20'}$ вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий один дополнительный гетероатом, выбранный из O и N, причем гетероцикл может быть замещен линейной или разветвленной, циклической или нециклической C_{1-6} алкильной группой;

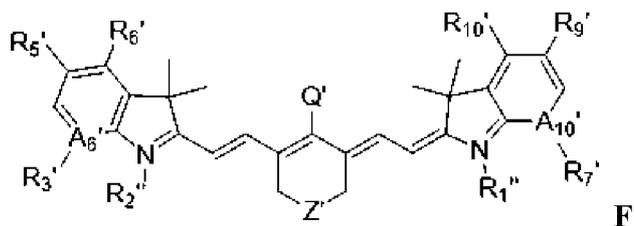
R_1'' , R_2'' , R_3' и R_7' независимо отсутствуют, представляют собой H, C_{1-6} алкил или $-(CH_2)_{1-6}L'$, где L' представляет собой $-COOH$, $-COO-C_{1-6}$ алкил, $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-COO^-$, SO_3^- , SO_3^- -щелочной металл, $-COO$ -сукцинимид, $-COO$ -сульфосукцинимид, $-NCO$, $-NCS$, $-COO$ -нитрофенил или $-COO$ -фторфенил;

A_6' и A_{10}' независимо представляют собой C, N или N^+ ;

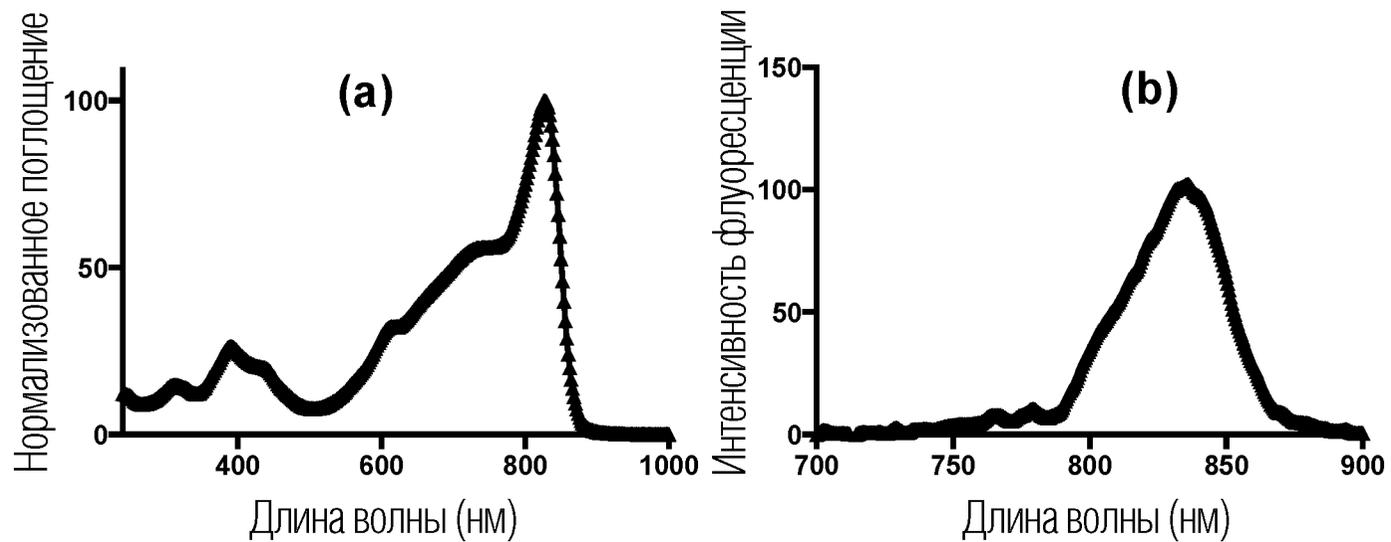
R_5' , R_6' , R_9' и R_{10}' независимо представляют собой H, или R_5' и R_6' вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют бензол, или R_9' и R_{10}' вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют бензол, причем бензол может быть замещен $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$, $-(CH_2)_{0-3}SO_3^-$ -щелочным металлом, $-(CH_2)_{0-3}COOH$ или $-(CH_2)_{0-3}COO^-$ -щелочным металлом;

Z' представляет собой $NR^{17'}$ или $^+NR^{17'}R^{18'}$, где $R^{17'}$ и $R^{18'}$ независимо представляют собой C_{1-6} алкил, $-(CH_2)_{1-3}$ этинил, $-(CH_2)_{1-6}L'$, где L' представляет собой $-COOH$, $-COO-C_{1-6}$ алкил, $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-COO^-$, SO_3^- , SO_3^- -щелочной металл, $-COO$ -сукцинимид, $-COO$ -сульфосукцинимид, $-COO$ -нитрофенил или $-COO$ -фторфенил.

21. Зонд для мультимодальной визуализации, имеющий структуру следующей формулы F:

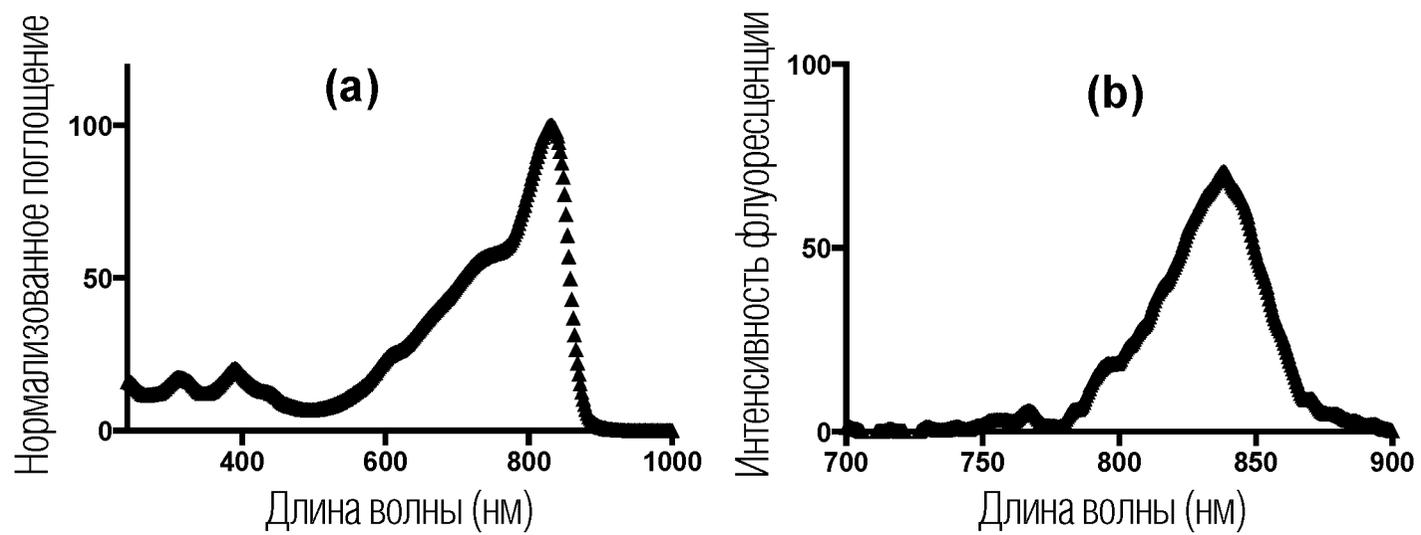


где R_1'' , R_2'' , R_3' , R_5' , R_6' , R_7' , R_9' , R_{10}' , A_6' , A_{10}' и Z' являются такими, как определены для формулы E, Q' представляет собой $-OR^{19'}$ или $-SR^{19'}$, где $R^{19'}$ представляет собой фенил, замещенный $-NHCSNH-R'''$ или $-NHCONH-R'''$, где R''' представляет собой фенил или гетероциклическое 5-, 6- или 7-членное ароматическое кольцо, замещенное $-(CH_2)_{10-30}COOH$ и по меньшей мере одной группой, выбранной из F и C_{1-6} фторалкила.



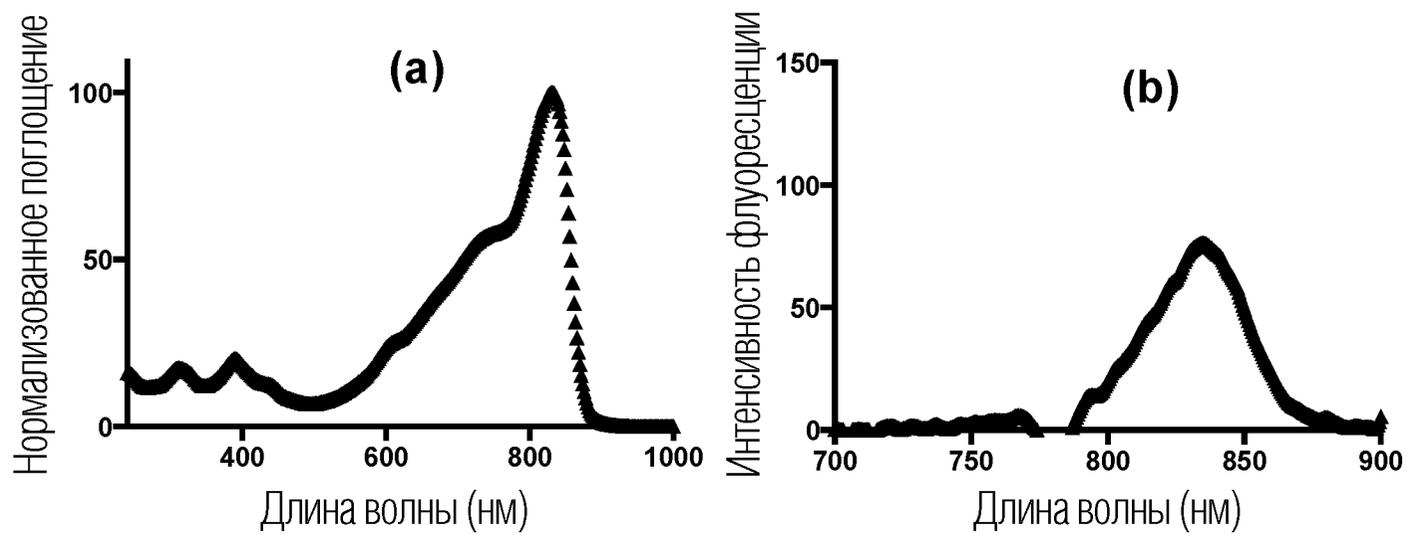
$QY = 0,0021$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 1



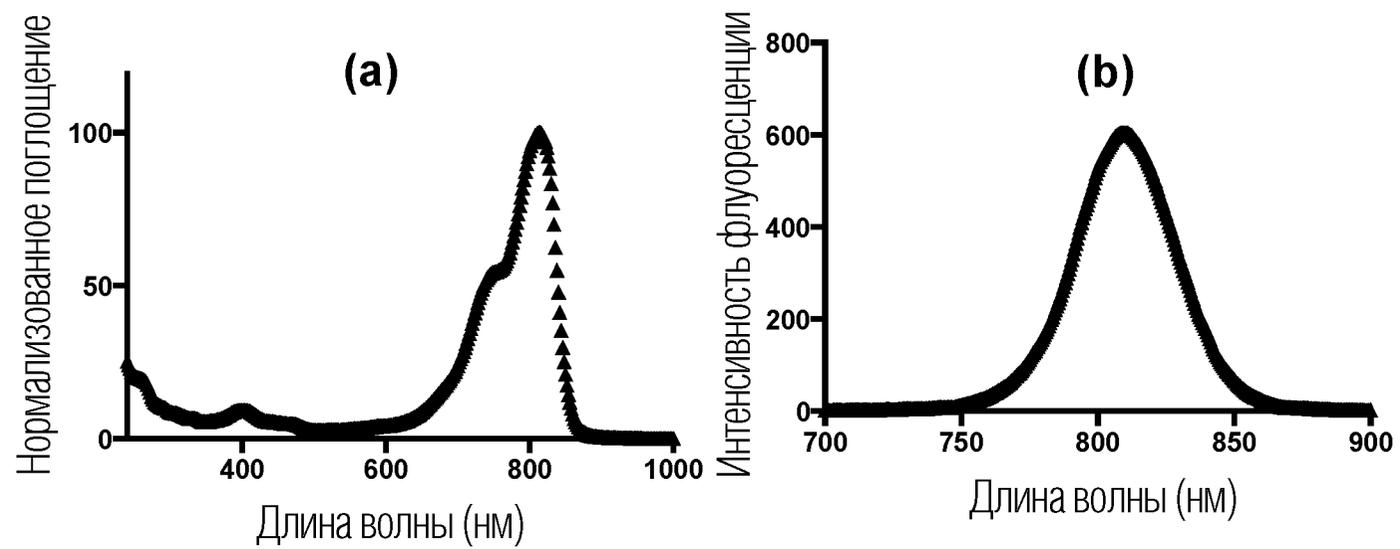
$QY = 0,014$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 2



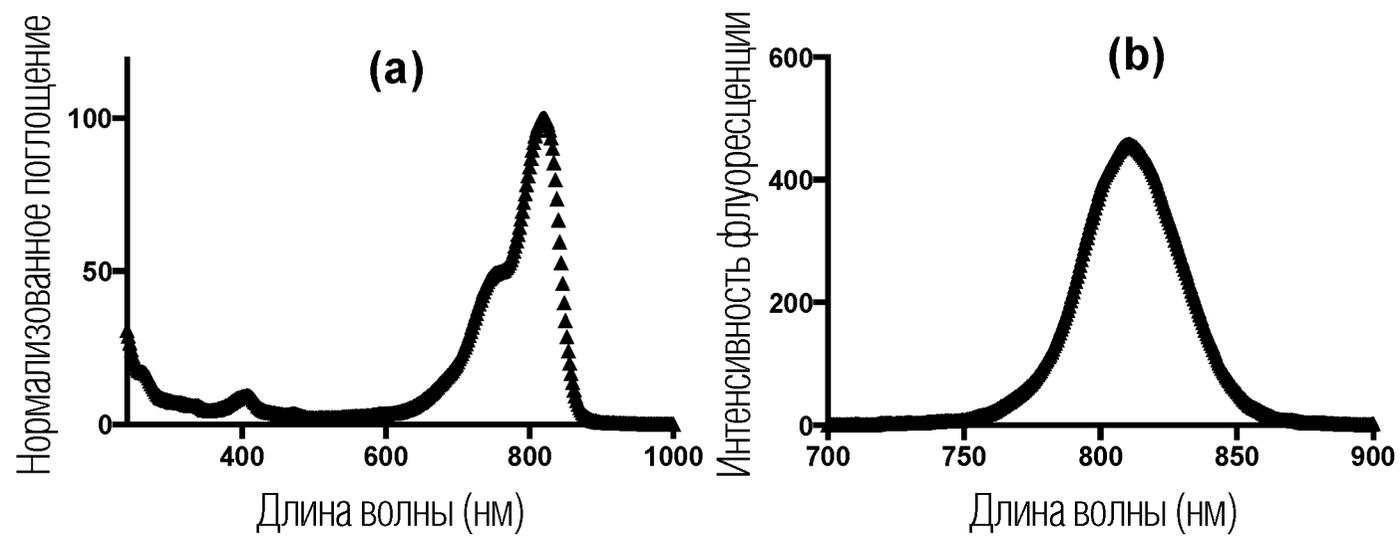
$QY = 0,0010$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 3



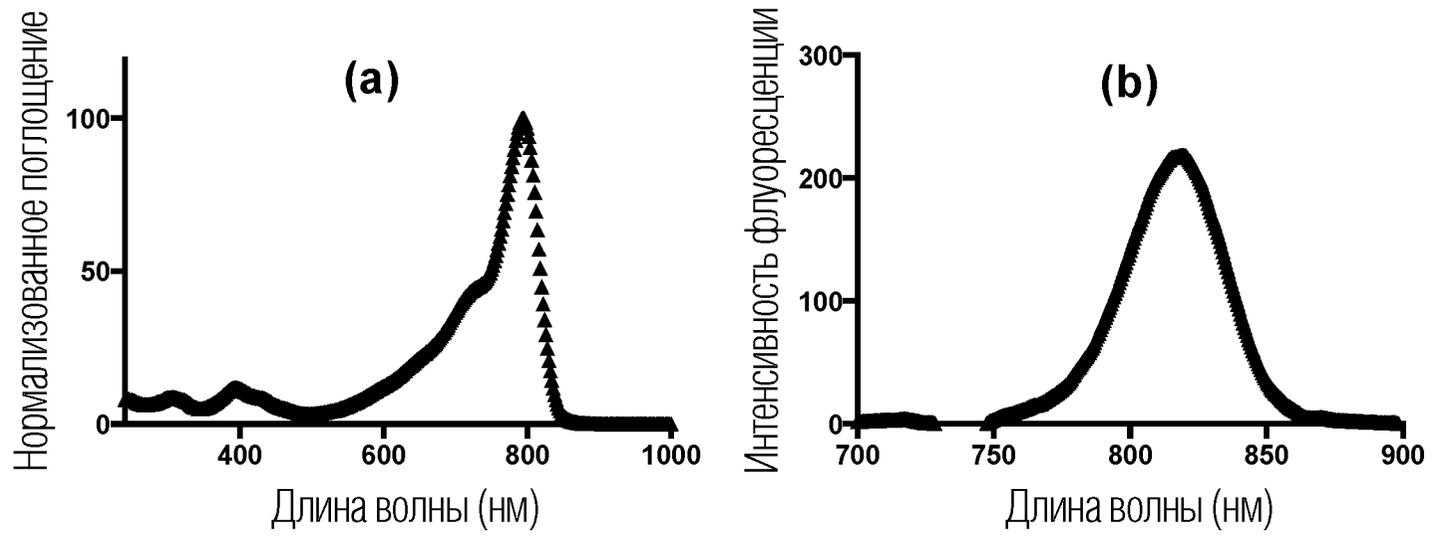
$QY = 0,08$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 4



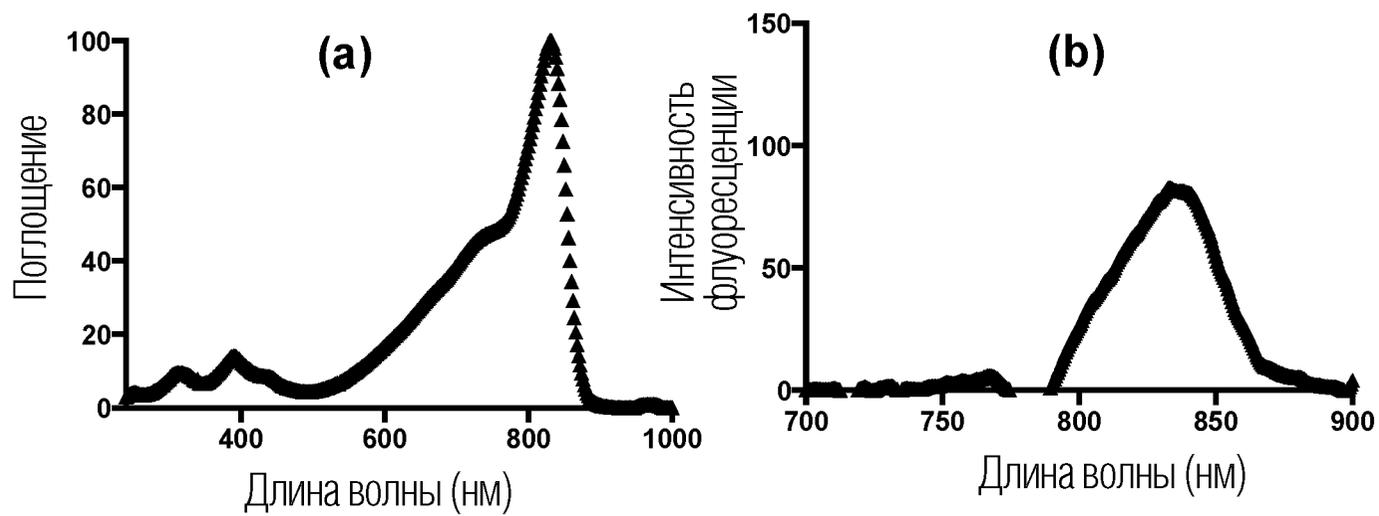
$QY = 0,071$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 5



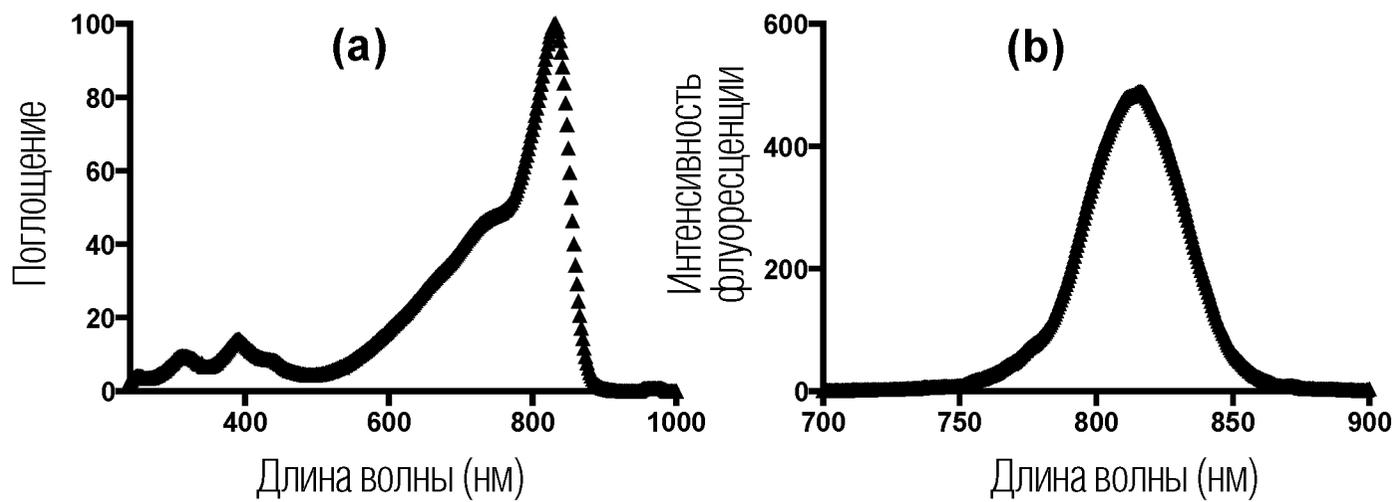
$QY = 0,038$ в MeOH при 735 нм

ФИГ. 6



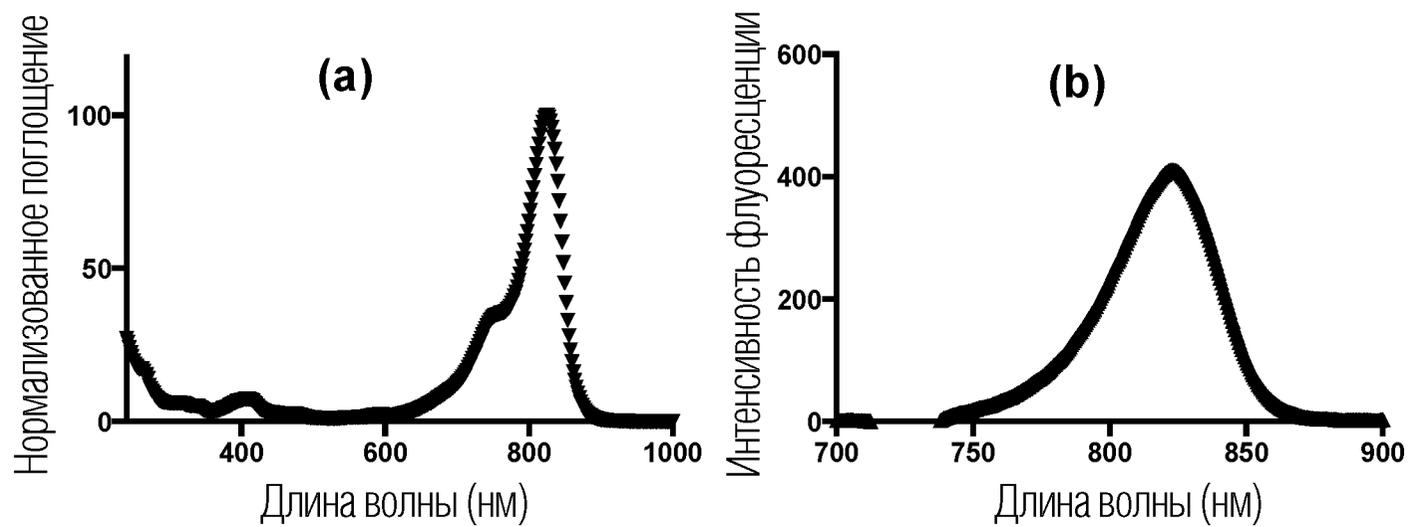
$QY = 0,012$ в MeOH при 800 нм

ФИГ. 7



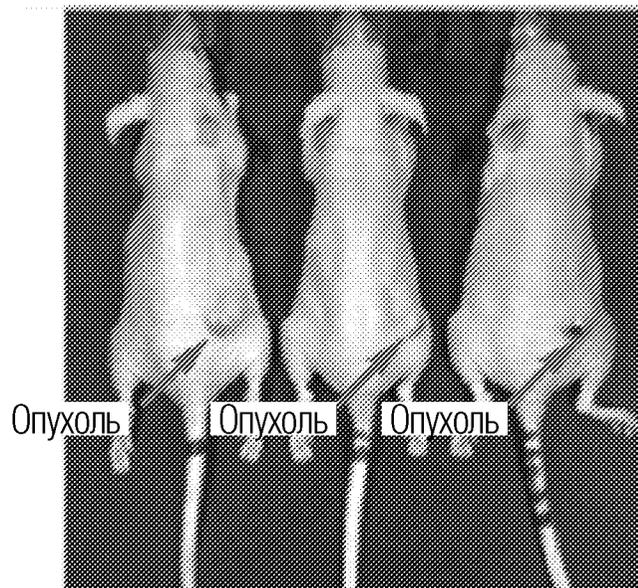
$QY = 0,063$ в MeOH при 793 нм

ФИГ. 8

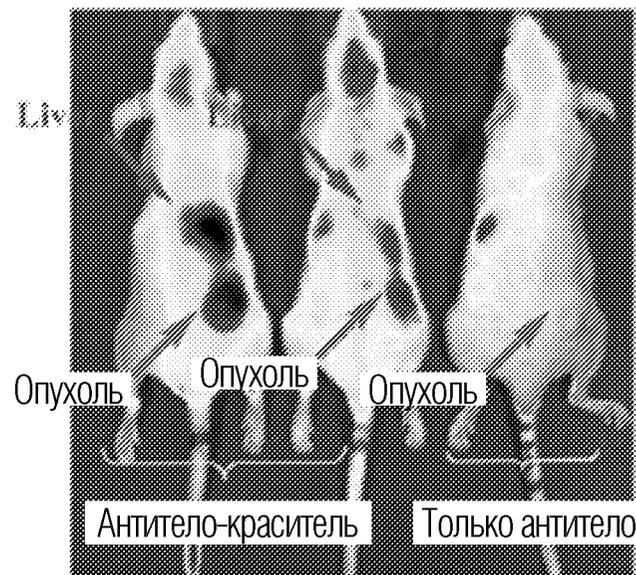


$QY = 0,06$ в MeOH при 725 нм

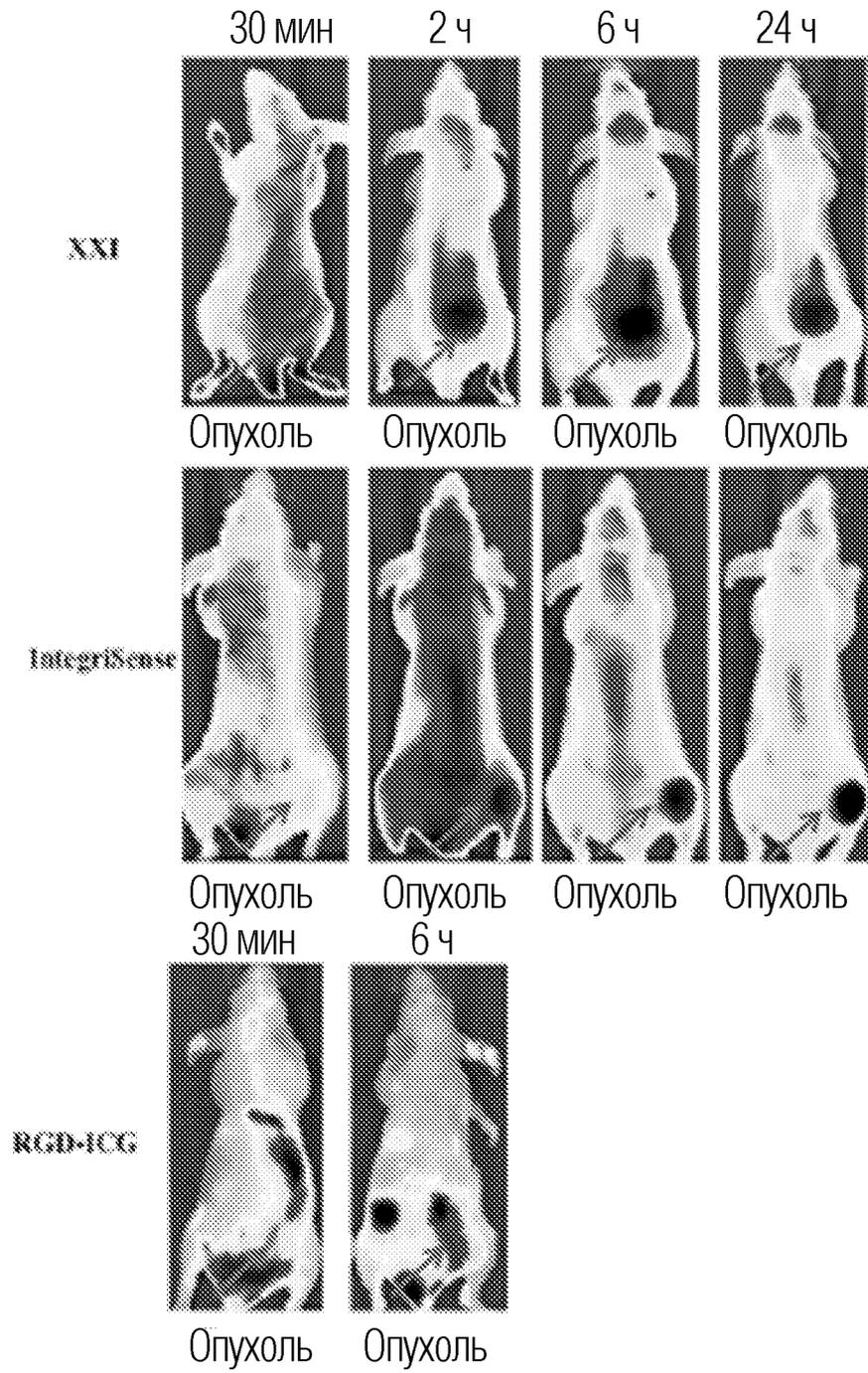
ФИГ. 9



ФИГ. 10А

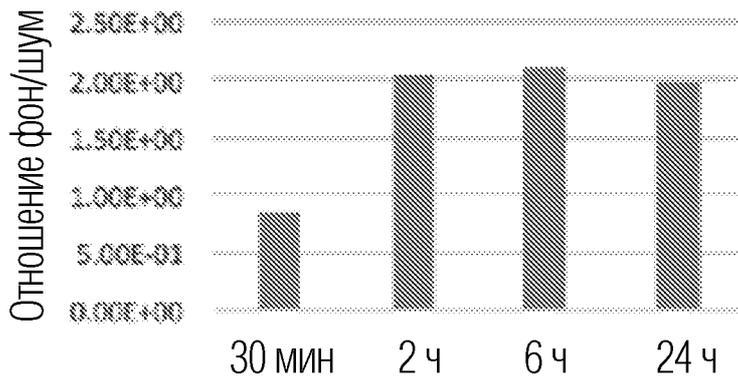


ФИГ. 10В



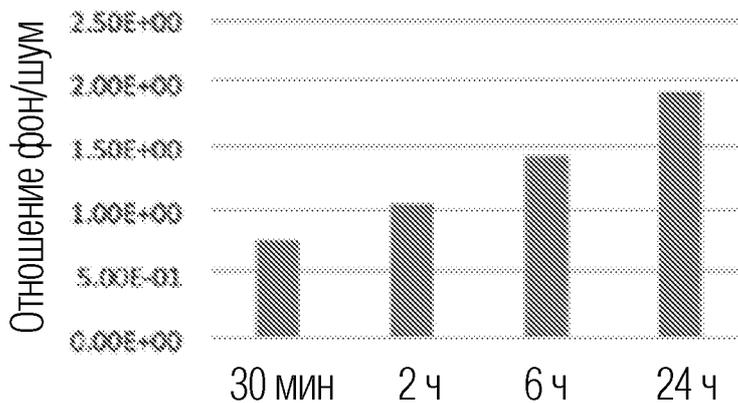
ФИГ. 11

XXI



ФИГ. 12А

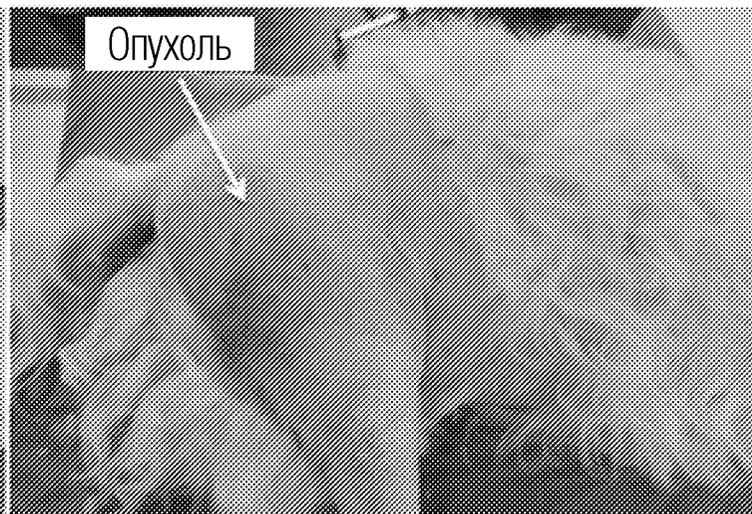
IntegriSense



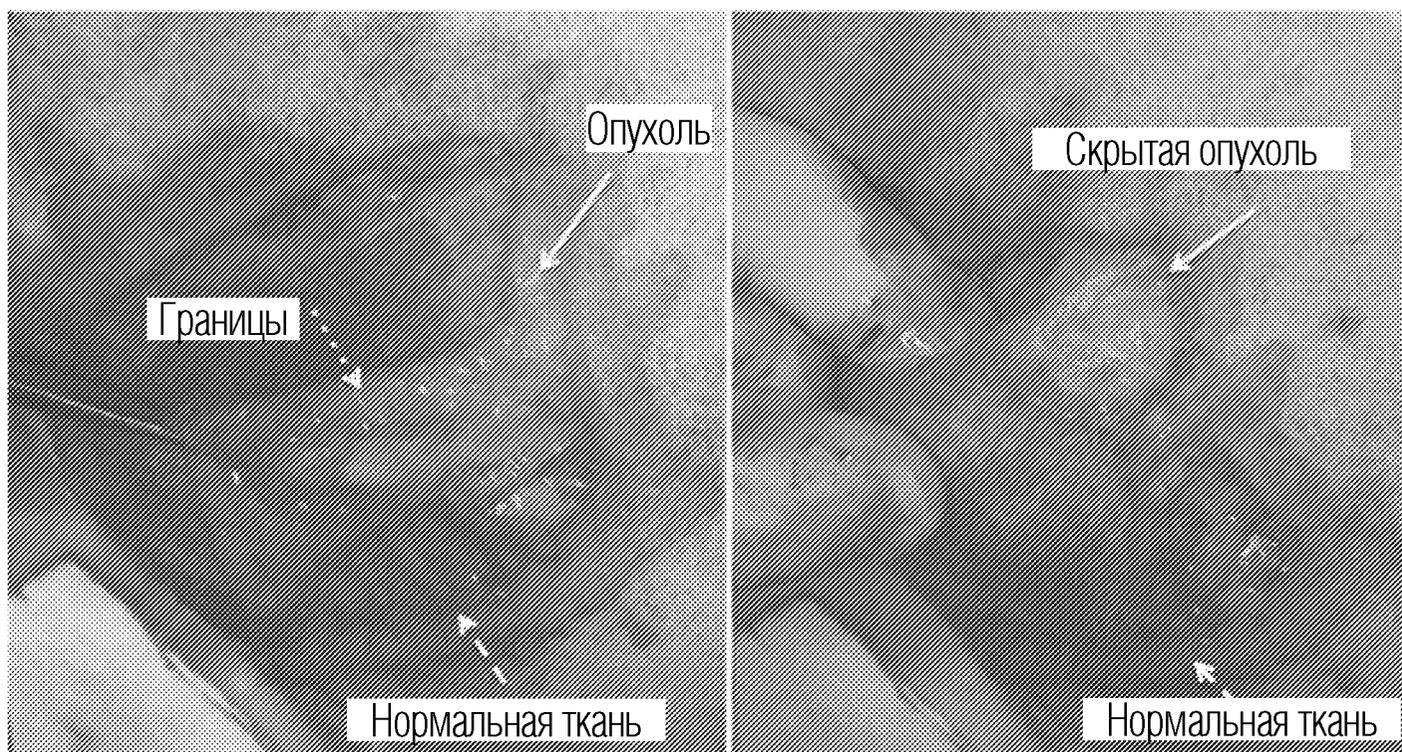
ФИГ. 12В



ФИГ. 13А



ФИГ. 13В

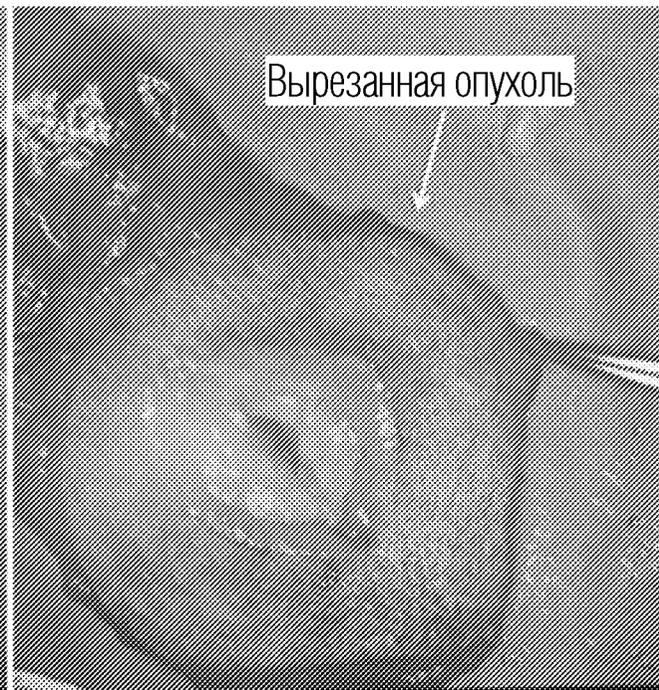


ФИГ. 14А

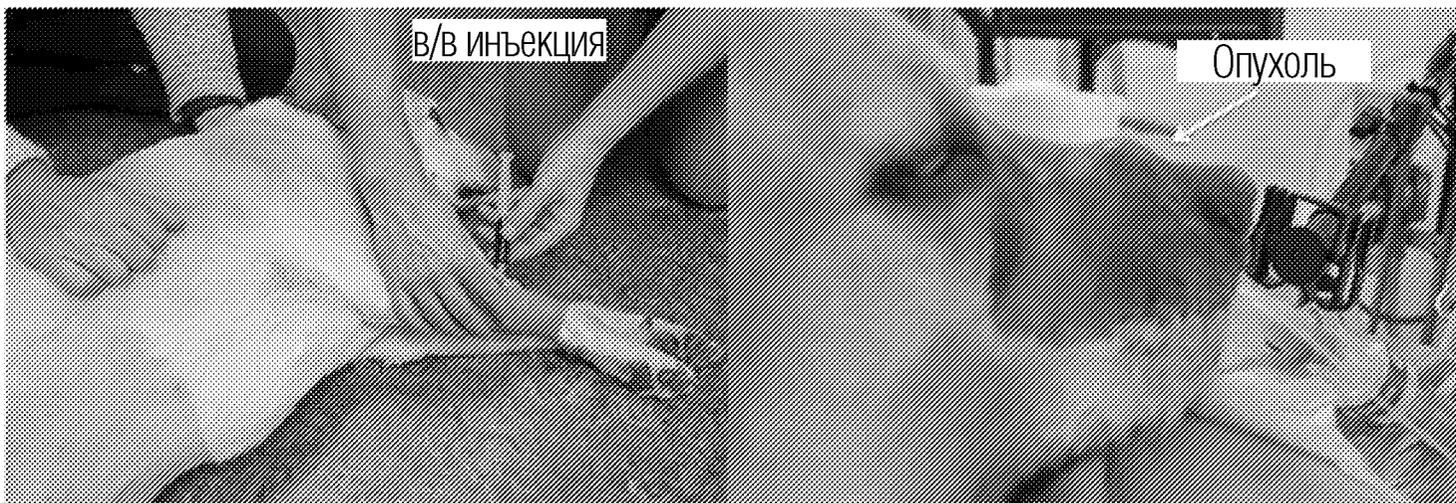
ФИГ. 14В



ФИГ. 15А

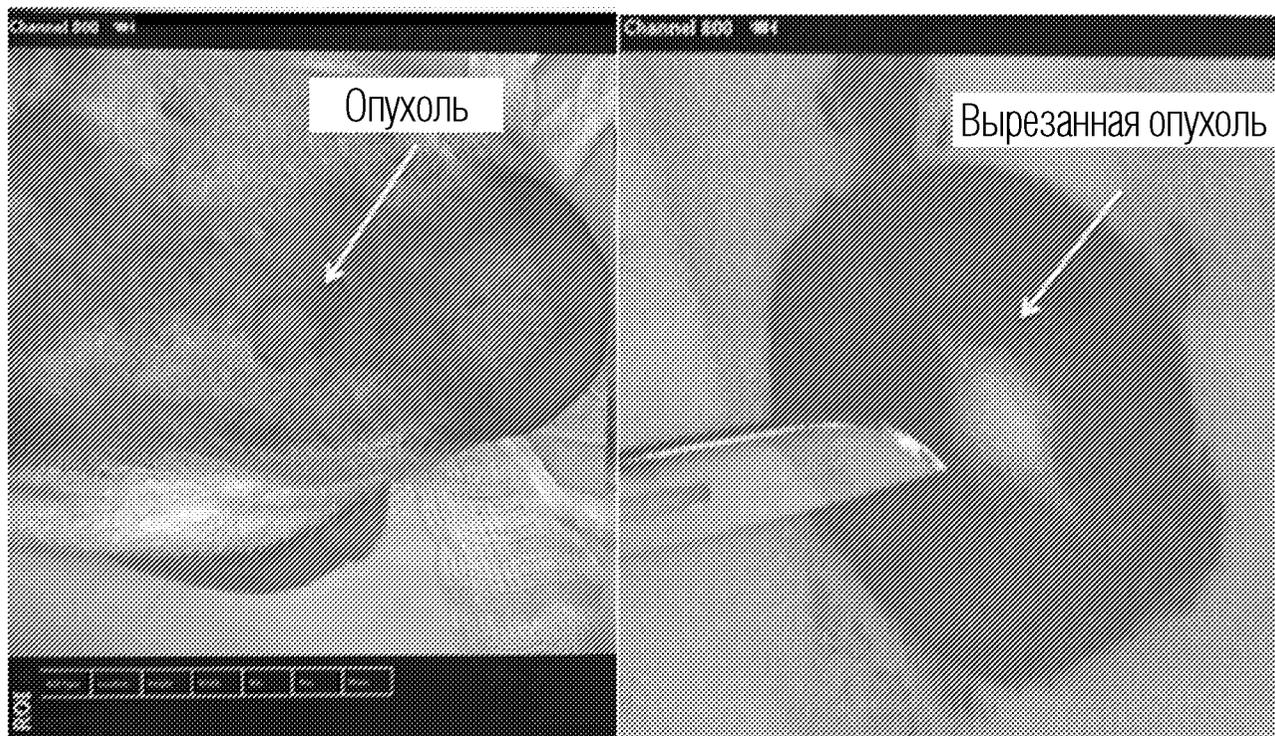


ФИГ. 15В



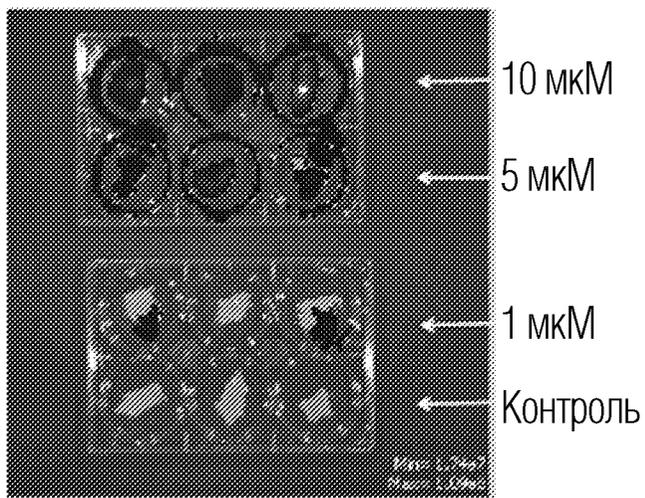
ФИГ. 16А

ФИГ. 16В

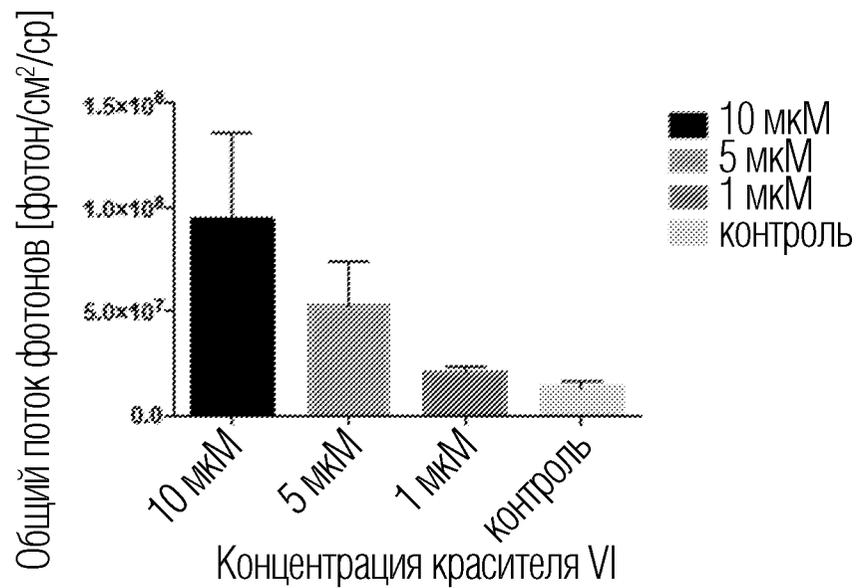


ФИГ. 17А

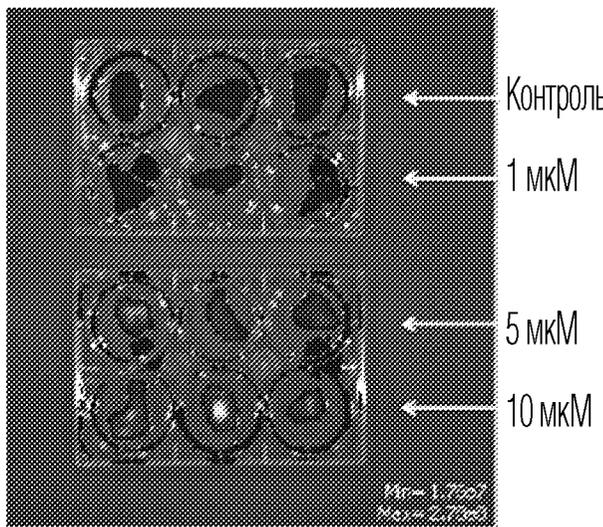
ФИГ. 17В



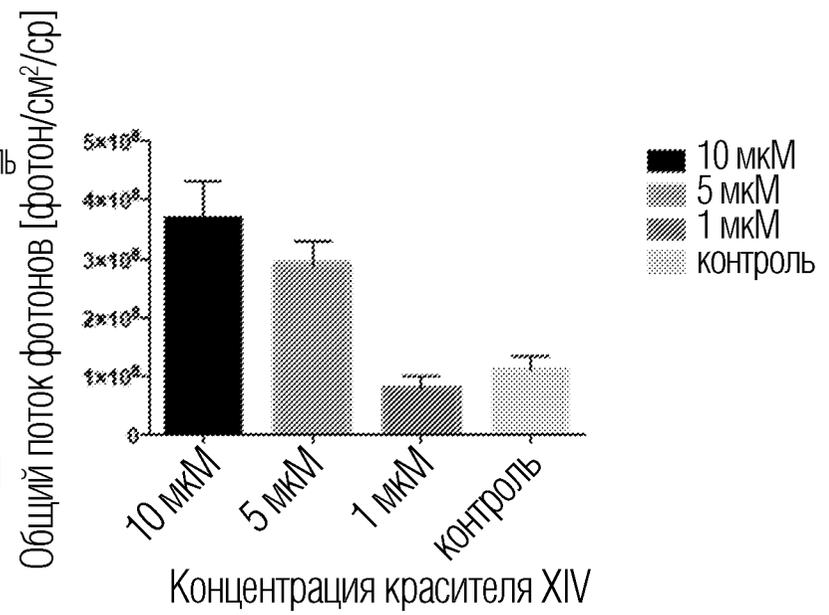
ФИГ. 18А



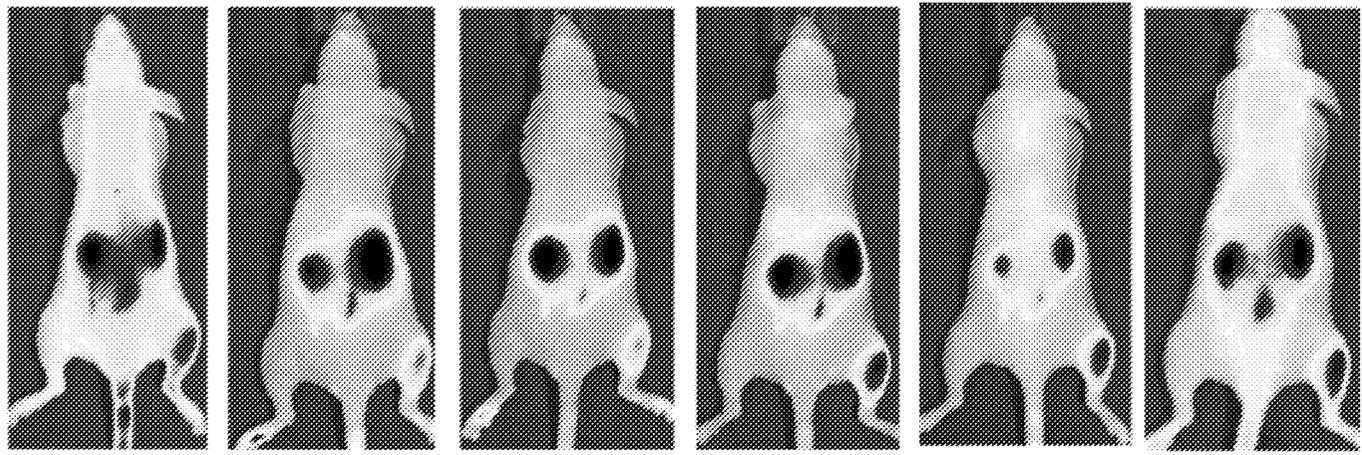
ФИГ. 18В



ФИГ. 19А

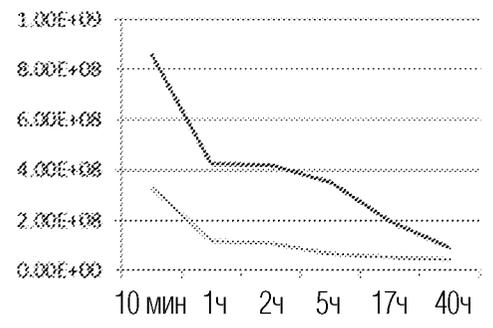


ФИГ. 19В

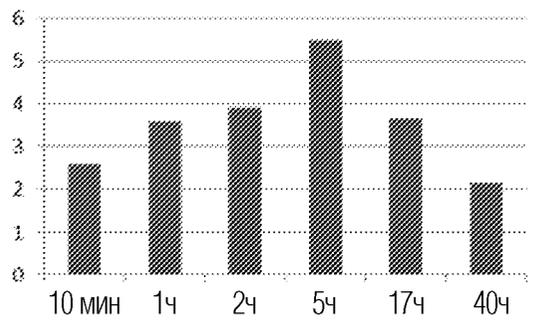


Время после
инъекции

10 мин 1 ч 2 ч 5 ч 17 ч 40 ч



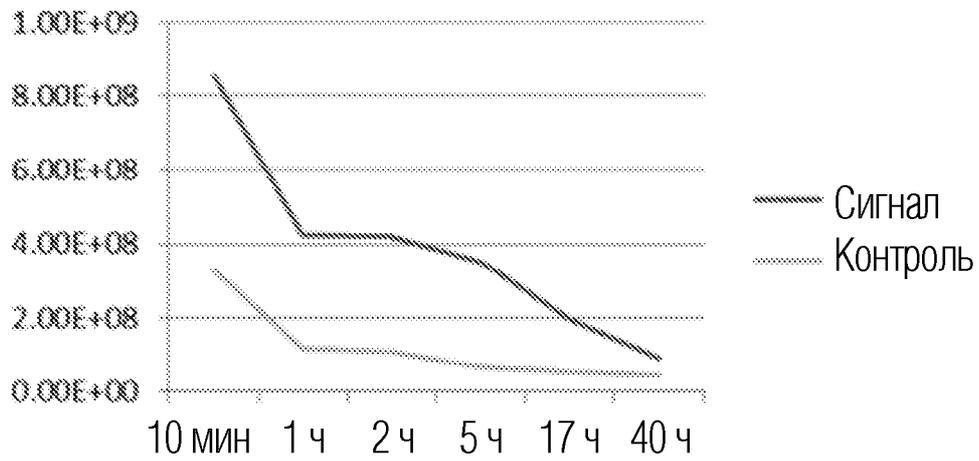
— Сигнал
— Контроль



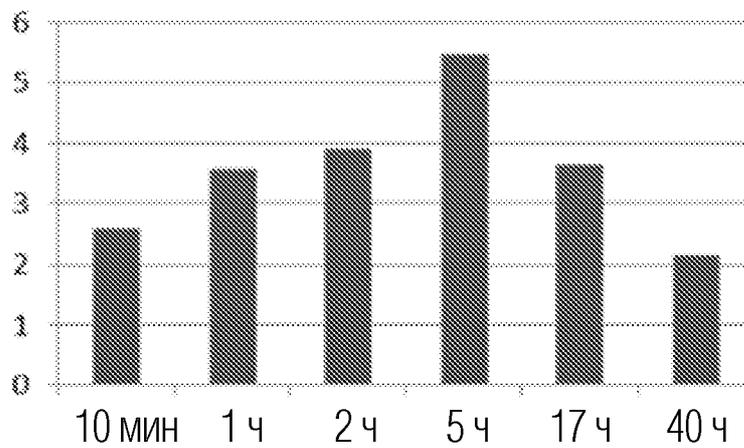
Отношение сигнал (правое бедро)/
контроль (левое бедро)

ФИГ. 20

21/22

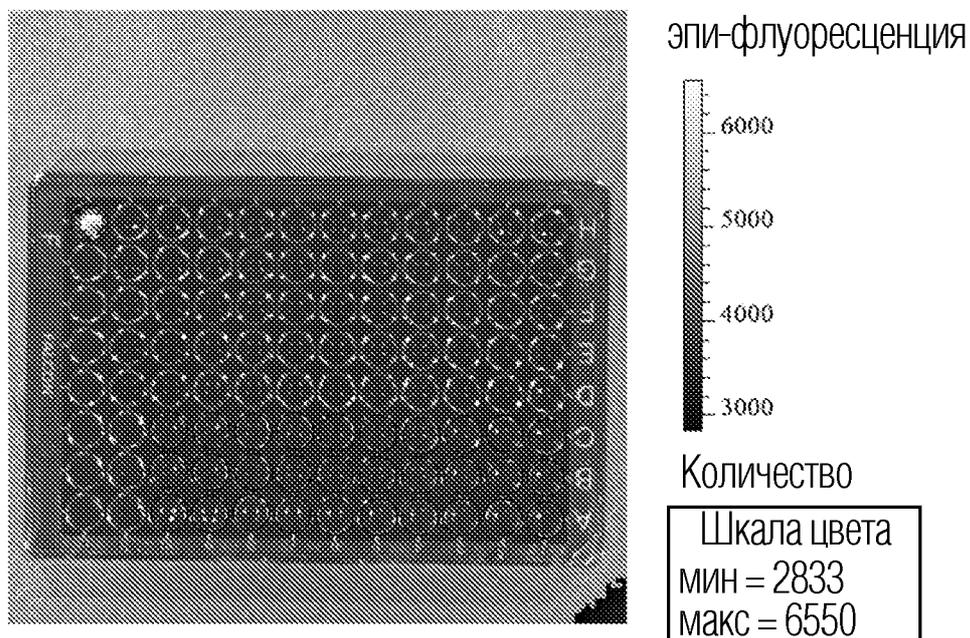


ФИГ. 21

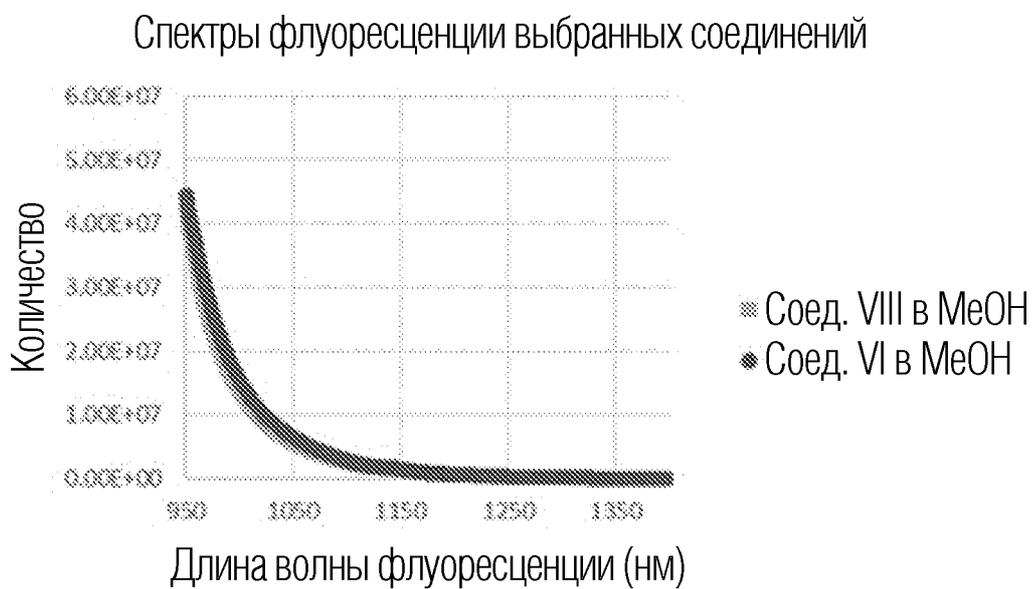


Отношение сигнал (правое бедро)/контроль (левое бедро)

ФИГ. 22



ФИГ. 23



ФИГ. 24