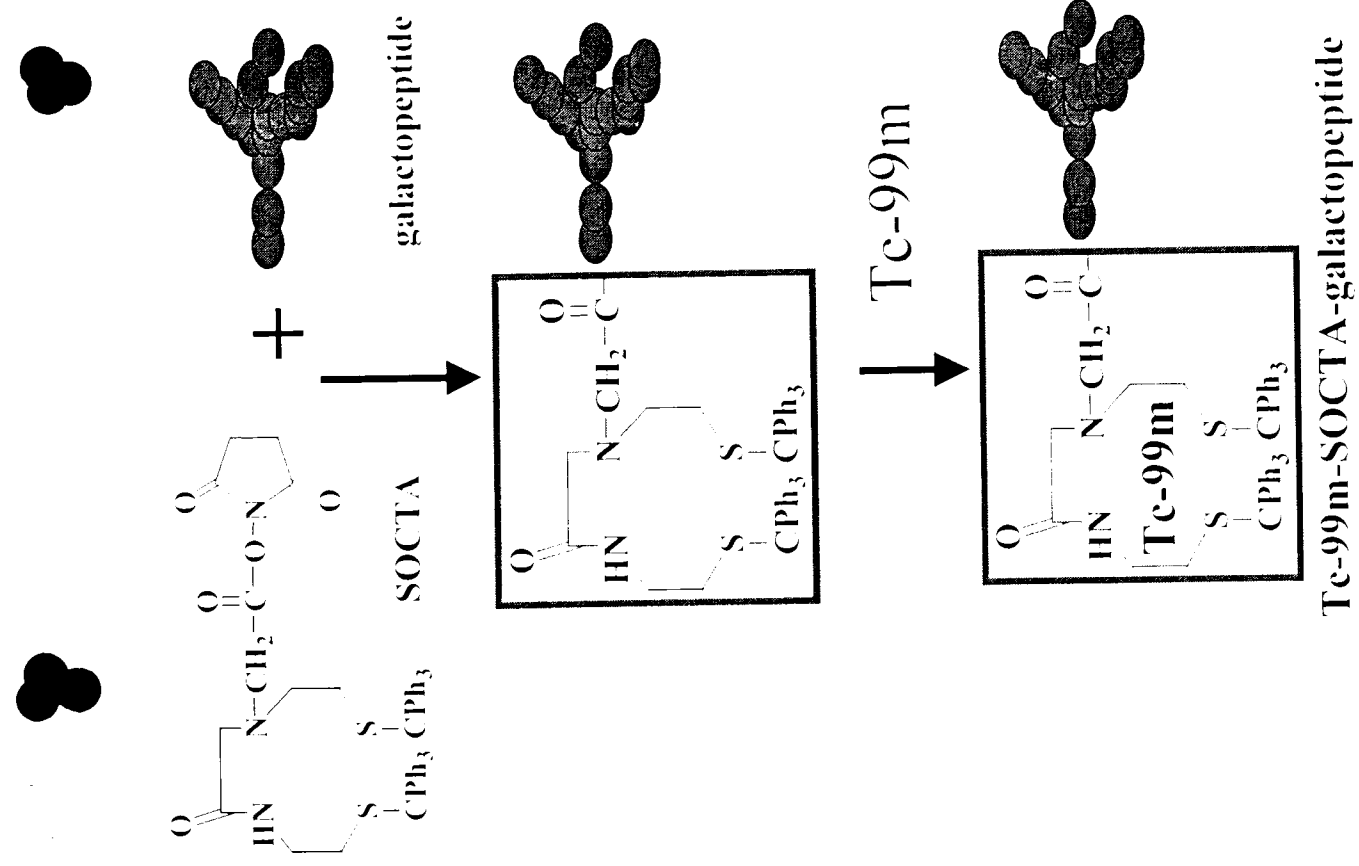
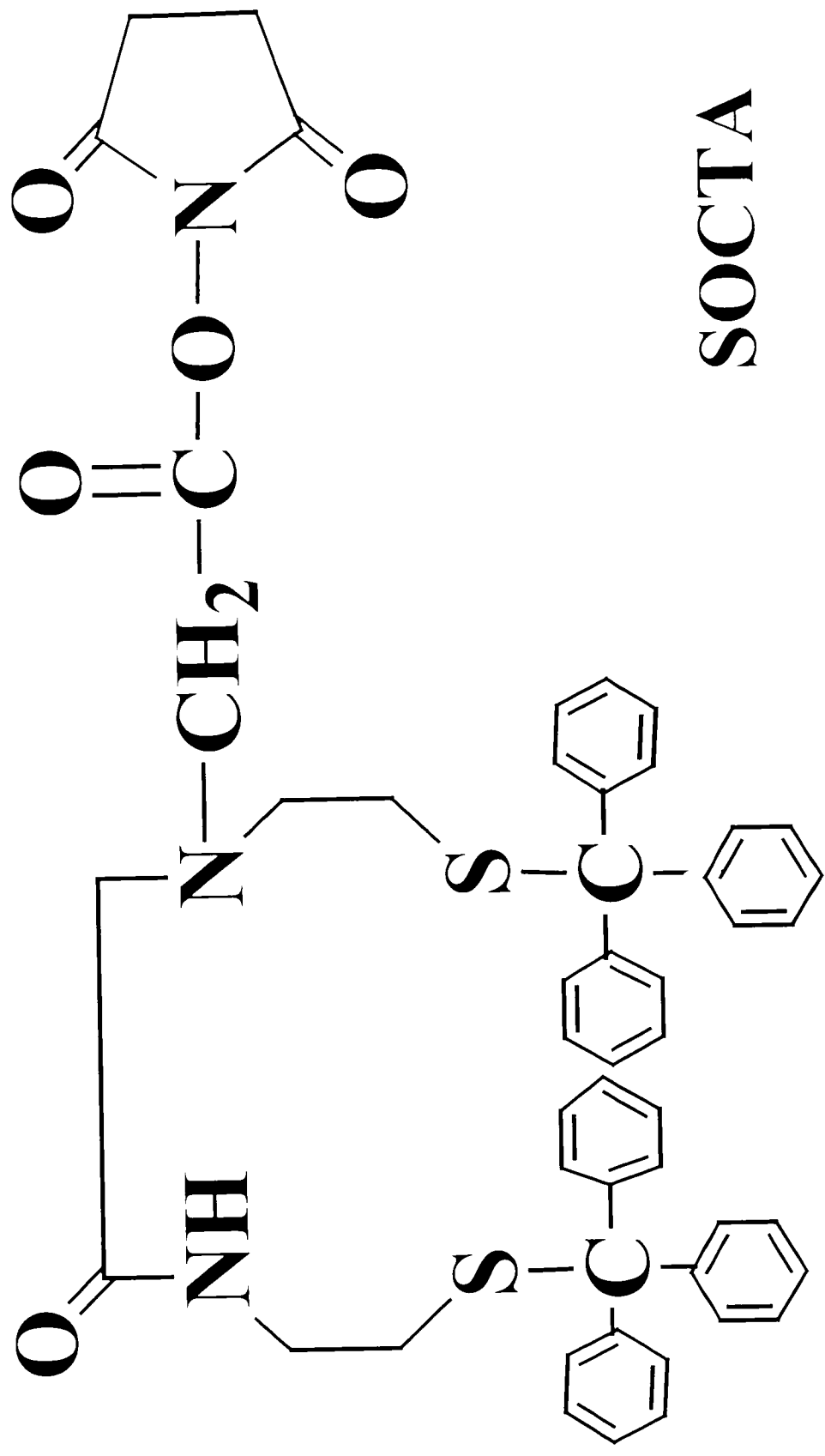


第二圖

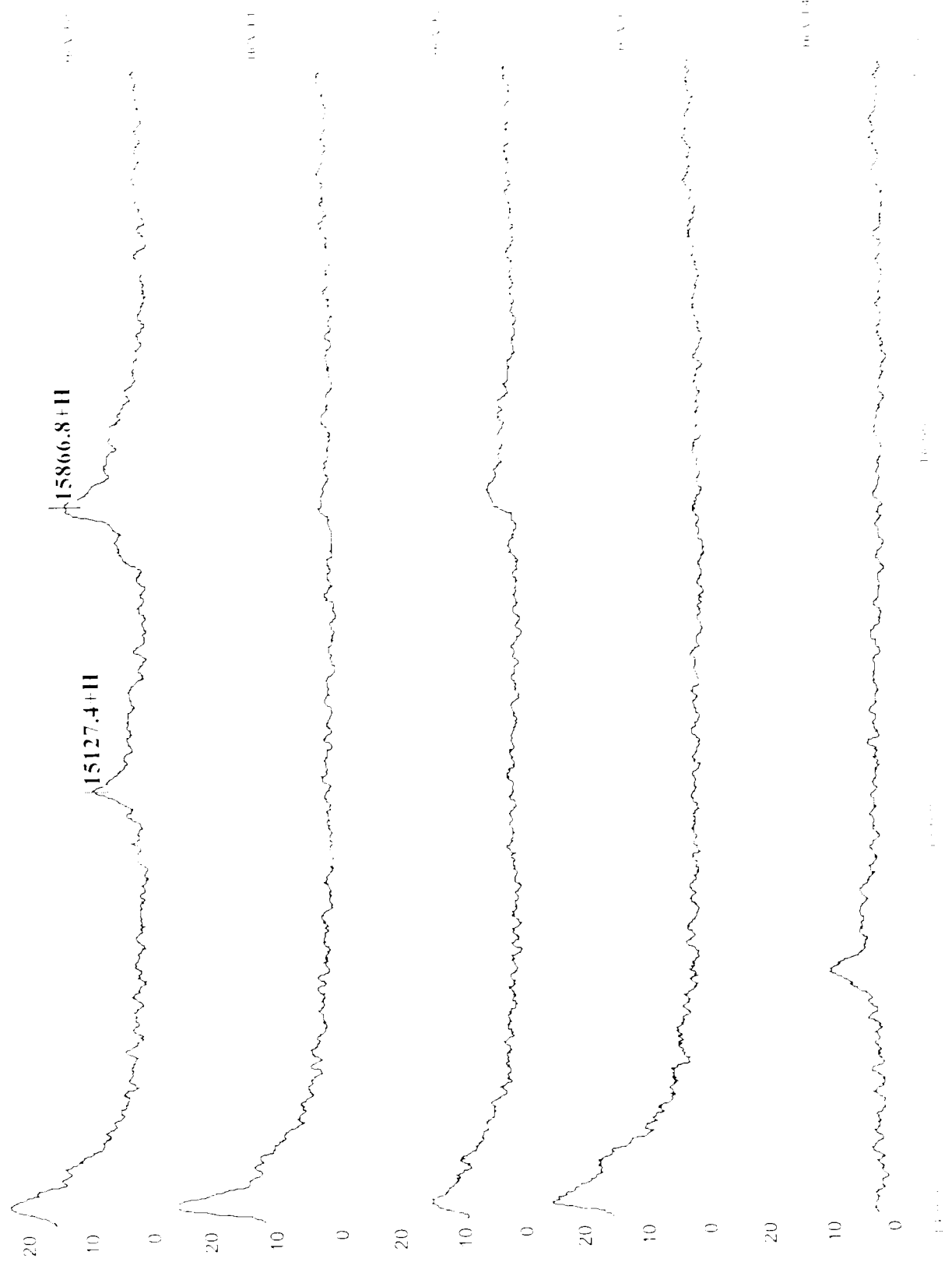


第三圖

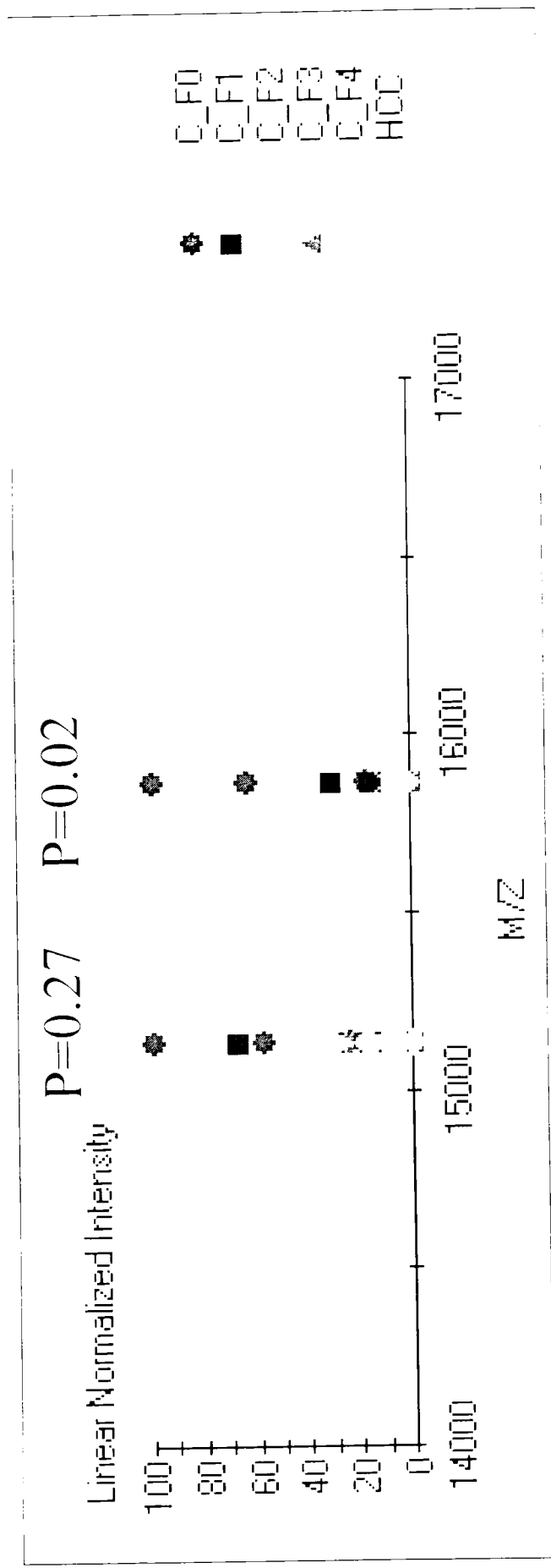


SOCTA

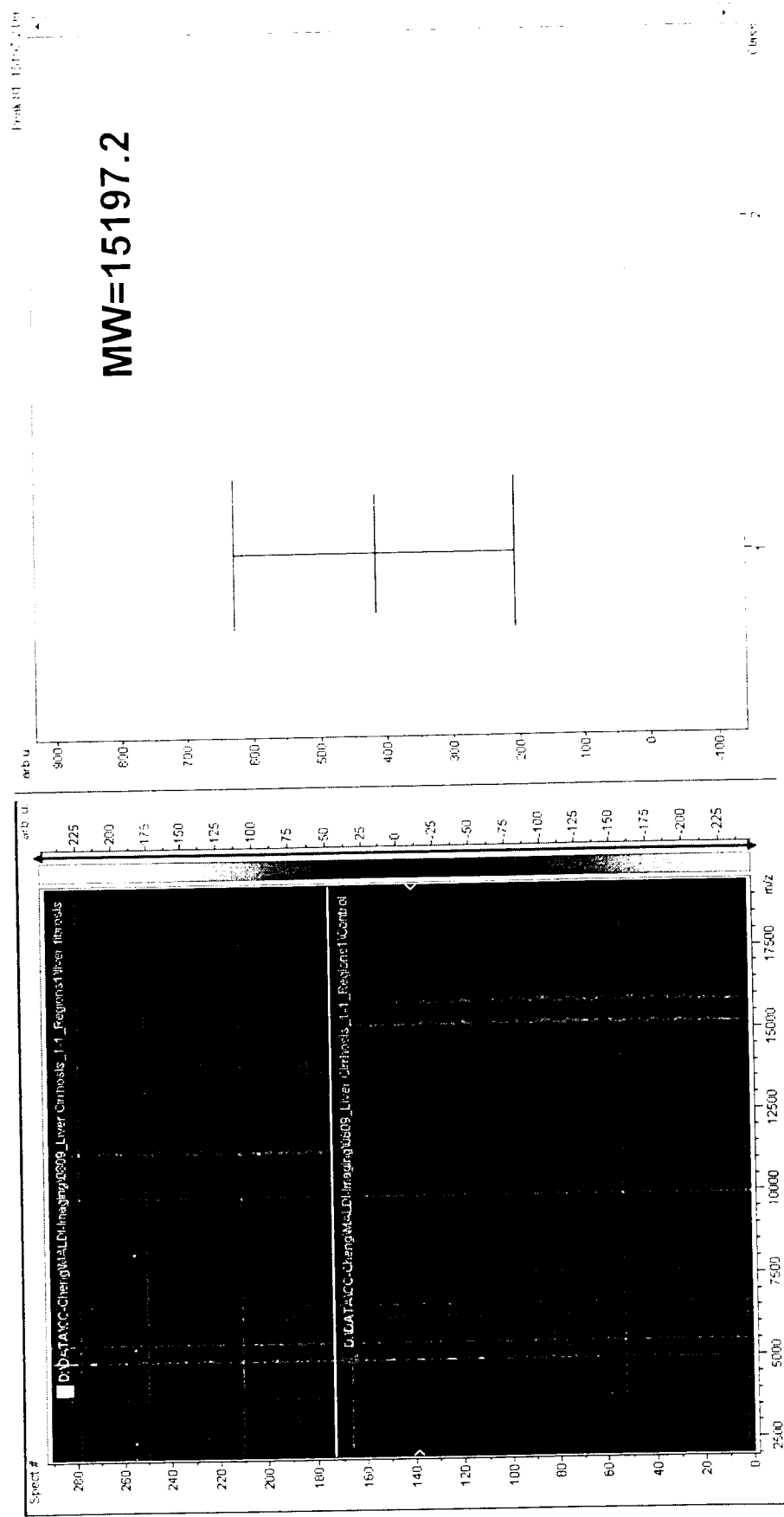
第四圖



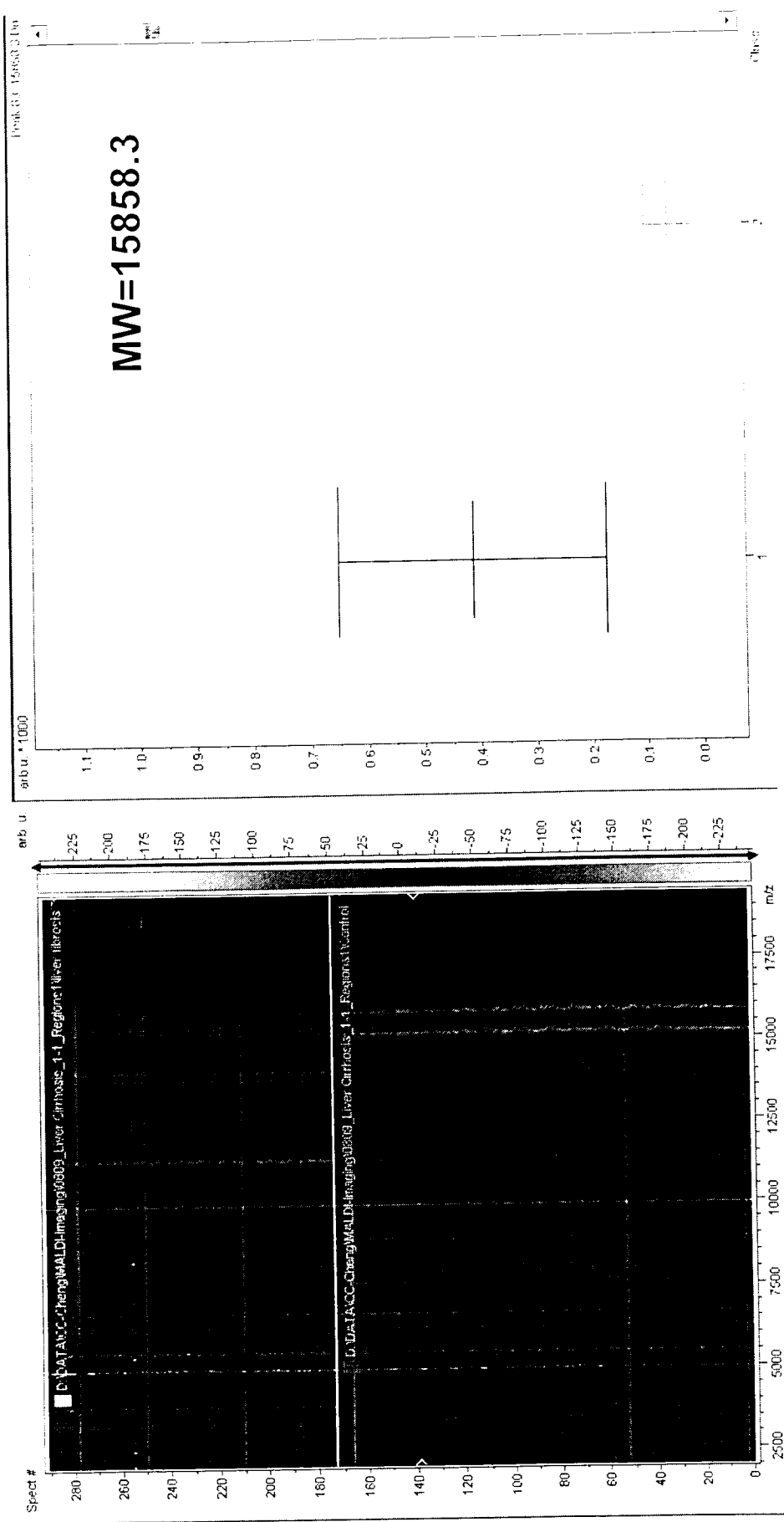
第五圖



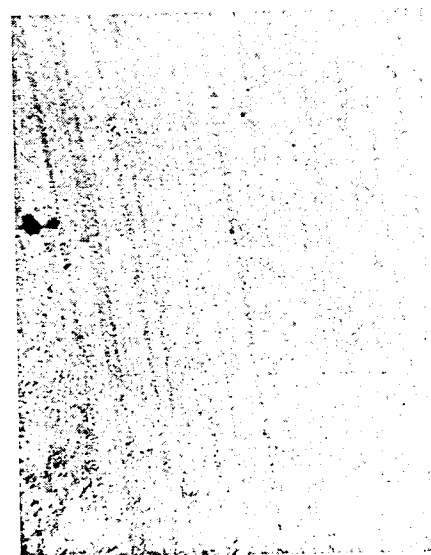
第六圖



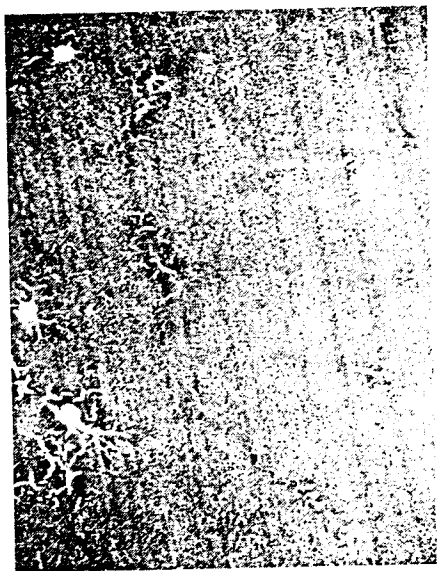
第七圖



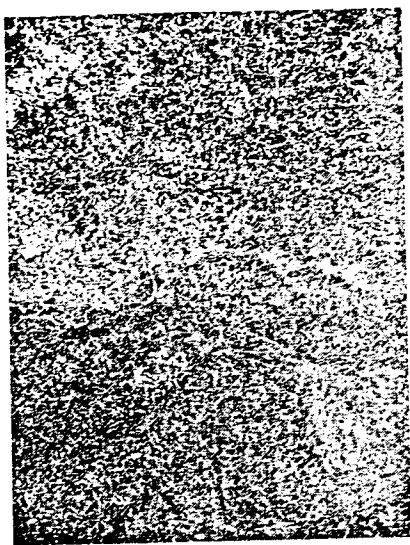
第八圖



F0



F1



F2



F3



F4

第九圖

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：96145532

※申請日期：96.11.30

※IPC 分類：A61K 49/06, 49/14, 51/08, 113/00

一、發明名稱：(中文/英文)

檢測肝殘餘功能之醣質醫學影像分子造影劑

GLYCO-MOLECULAR IMAGING AGENT FOR REMAINING
LIVER FUNCTION MEASUREMENT

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

行政院原子能委員會核能研究所

Institute of Nuclear Energy Research Atomic Energy Council, Executive Yuan

代表人：(中文/英文) 馬殷邦 MA, YIN-PANG

住居所或營業所地址：(中文/英文)

桃園縣龍潭鄉佳安村文化路1000號

NO. 1000, WENHUA ROAD, JIAAN VILLAGE, LONGTAN TOWNSHIP,

TAOYUAN COUNTY, TAIWAN, R.O.C.

國籍：(中文/英文) 中華民國 ROC

三、發明人：(共5人)

姓名：(中文/英文)

- | | |
|--------|-----------------|
| 1. 王美惠 | WANG, MEI-HUI |
| 2. 林武智 | LIN, WUU-JYH |
| 3. 李瑞成 | LEE, SHUI-CHENG |
| 4. 沈立漢 | SHEN, LIE-HANG |
| 5. 陳浩然 | CHEN, HAW-JAN |

國籍：(中文/英文) 1-5：中華民國/R.O.C.

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係為一種肝標靶醣質醫學影像分子造影醣質造影劑，尤其是指一種適用於定量與客觀檢測肝殘餘功能之醣質醫學影像分子造影劑。

【先前技術】

目前臨床肝纖維化的檢查，係以肝穿刺採取肝組織切片後，再由病理專家以肉眼加以分辨，如第九圖。這種侵襲性方法因為有潛在的危險性，患者多不願意做；而且診斷全憑主觀判斷，加上肝穿刺取樣誤差很大，所以這雖然是目前唯一方法，但是準確度並不高。

1983年 Lee 提出三鏈成串的半乳糖胺與肝細胞受體結合是單鏈半乳糖胺的 10^6 倍。半乳糖胺與受體結合後會被吞噬進入肝細胞。2004年 Kwon 提出缺血肝細胞膜上的半乳糖胺受體與內吞噬進去的半乳糖胺量都減少，且減少的量與缺血程度有正相關。

本發明即在突破肝纖維化檢驗方法之瓶頸，提供一種準確檢測殘餘功能之非侵襲性檢驗醣質造影劑，該造影劑配合肝標靶醣質醫學影像分子造影方法，可以定量與客觀檢測肝病變之程度，作為肝殘餘功能之依據，特別是適用於癒後療效追蹤之評估。

【發明內容】

本發明之目的在提供一種臨床準確檢測肝殘餘功能之方法，以肝標靶醣質醫學影像分子造影法完成，在檢測時無需進行任何肝穿刺等組織或體液之活體取樣。

在一實施例中，本發明提供一種可用於檢測肝殘餘功能之方法，其係應用肝標靶醣質醫學影像分子造影術，其係包括有下列步驟：(a)靜脈注射含半乳糖胺之醫學影像造影劑，該醫學影像造影劑可為 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 或 Tc-99m-DTPA-galactopeptide 搭配單光子放射電腦斷層儀來度量該造影劑與肝臟細胞結合所發出之 γ 射線訊號；以及(b)於一特定時間內以醫學影像儀器度量該造影劑與肝臟細胞結合所發出之醫學影像訊號。

在另一實施例中，本發明更提供一種適用評估肝殘餘功能之肝標靶醣質醫學影像分子造影劑，係由雙官能基螯合劑鍵結半乳糖胺後，與一醫學影像用金屬螯合而成之造影劑，該造影劑製備所需之雙官能基螯合劑，於室溫貯存不易潮解，前述之醫學影像造影劑能夠為 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide，其中該 SOCTA 為 (succinimidyl-3,6-diaza-5-oxo-3[2-((triphenylmethyl)thio)ethyl]-8-[(triphenylmethyl)-thio]octanoate)。

【實施方式】

為使 貴審查委員能對本發明之特徵、目的及功能有更進一步的認知與瞭解，下文特將本發明之系統的相關細部結構以及設計的理念原由進行說明，以使得 審查委員可以了解本發明之特點，詳細說明陳述如下：

請參閱圖一以及圖二所示，其中圖一係為本發明之可

用於檢測肝殘餘功能之方法流程示意圖；圖二為本發明之肝標靶醣質醫學影像分子造影概念之示意圖。在本實施例中該方法 1 係以以肝標靶醣質醫學影像分子造影術完成，在檢測時毋須進行任何肝穿刺組織或體液之活體取樣，其係包括有下列步驟：首先進行步驟 10，於一生物體上以靜脈注射含半乳糖胜肽之醫學影像造影劑 (Galactopeptide imaging agent for liver targeting)。接著進行步驟 11，於一特定時間內以醫學影像儀器度量該造影劑與肝臟細胞結合所發出之醫學影像訊號。其中該醫學影像造影劑可以選擇為放射性藥劑或者是磁性對比劑等類之試劑。在一實施例中，如果該醫學影像造影劑為 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 或 Tc-99m-DTPA-galactopeptide 的時候，該醫學影像儀器就以單光子放射電腦斷層儀來收集肝臟細胞之 γ 放射量，並度量出該造影劑與肝臟細胞結合所發出之 γ 射線訊號。在另一實施例中，如果該醫學影像造影劑為磁性對比劑，則搭配核磁共振儀來度量該造影劑與肝臟細胞結合所發出之電磁訊號。另外，在本實施例之步驟 11 中，該特定時間長度為六小時內。

本發明提出之 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 具有檢測肝殘餘功能之用途，其基礎為肝纖維化的肝是處於缺血狀況，而缺血肝細胞吞噬進去的醫學影像造影劑劑量會隨缺血程度加劇而減少，因此如第三圖之 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 造影劑配合如第二圖之肝標靶醣質醫學影像分子造影的概念，是可以用來檢測肝殘

餘功能。至於醫學影像分子造影的檢測技術係屬於習用之技術，在此不作贅述。

在圖三之實施例中，SOCTA 為 succinimidyl-3,6-diaza-5-oxo-3-[2-((triphenylmethyl)thio)ethyl]-8-[(triphenylmethyl)-thio]octanoate 之縮寫，其結構如第四圖所示。

在圖二中，檢測時無需進行任何肝穿刺等組織或體液之活體取樣，若以放射性藥劑 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 或 Tc-99m-DTPA-galactopeptide 靜脈注射進入人體，或 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 或 Tc-99m-DTPA-galactopeptide 會標靶式地與肝臟細胞受體 (Hepatic lectin) 或稱之 (hepatic GalNAc receptor) 結合，以核子醫學單光子放射電腦斷層儀，可以度量肝臟細胞中 Tc-99m 所放射出來之 γ 射線量與肝臟體積，並算出單位肝臟體積所放出之 γ 射線量，以這個單位體積的醫學影像數值可以用來區辨肝殘餘功能，作為肝病變程度之依據。若以磁性對比劑比如 Mn-DTPA-galactopeptide 或 Gd-DTPA-galactopeptide 靜脈注射進入人體，以核磁共振儀可以度量出單位肝臟體積所發出之電磁信號。同樣可以以此數值用來檢測肝病變的程度，作為肝殘餘功能之依據。

第三圖說明 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 的製備流程，第一步是將半乳糖胜肽加入凍晶 SOCTA 中，SOCTA 會以 imidazole ester bond 與半乳糖胜肽胺基鍵結，第二步由於 SOCTA 具 N_2S_2 結構所以可直接螯合 Tc-99m，如此即完

成 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 之製備。該凍晶 SOCTA 不易潮解，室溫貯存可達一年以上。

就學理面來探討，肝纖維化係由於膠原纖維(collagen)異常增生，膠原纖維會由肝門脈朝中央靜脈逐步增生，如此進入肝細胞血流量預期會減少，肝細胞將因此處於缺血狀態。可以預期的是膠原纖維增生越嚴重，缺血程度也就越嚴重。由於肝纖維化時肝是處於缺血狀況，根據習知技術『缺血肝細胞膜上的半乳糖胺受體與內吞噬進去的半乳糖胺量都減少，且減少的量與缺血程度有正相關』，因此可以推知其肝纖維化時肝細胞膜上的半乳糖胺受體理當會因而減少，同時吞噬入肝細胞的 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 也會較少，因此如第三圖之 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 配合如第二圖之肝標靶糖質醫學影像分子造影的概念與技術是可以用來區辨肝纖維化的嚴重程度的。

就實驗結果來評析，當缺血時，血紅素蛋白 α chain (分子量 15.1kD) 與血紅素蛋白 β chain (分子量 15.9kD) 都應減少。為此鎖定觀察 15.1kD(血紅素蛋白 α chain) 和 15.9kD(血紅素蛋白 β chain) 這兩個蛋白峰，以 SELDI-TOF (表面加強雷射脫附游離飛行時間) 質譜術分析正常人與肝纖維化患者之血清蛋白圖譜的變化，結果證實肝纖維化患者 15.1kD 和 15.9kD 這兩個蛋白峰的確減少或消失，如第五圖及第六圖。

由第五圖可以看到 F0 級的正常肝，和其它 F1~F4 之肝纖維化患者，在 15.1kD 和 15.9kD 這兩個蛋白峰有顯著差

異。

第六圖是 40 位肝纖維化患者於 15.1kD 和 15.9kD 這兩個蛋白峰之數值統計分析，也可很明顯看出 F0 級的正常肝和其它 F1~F4 之肝纖維化患者在 15.1kD 和 15.9kD 這兩個蛋白峰有顯著差異。

除了分析正常人與肝纖維化患者之血清蛋白圖譜，本發明也分析正常鼠肝與纖維化鼠肝之組織蛋白圖譜，鼠肝經冷凍切片固定在玻片，噴灑質譜分析用的能量吸收物質，同時於組織原位萃取組織蛋白，使之與能量吸收物質混合，進行 MALDI-TOF 分析，同樣鎖定觀察 15.1kD(血紅素蛋白 α chain)和 15.9kD(血紅素蛋白 β chain)之變化。結果同樣證實纖維化鼠肝的 15.1kD 和 15.9kD 這兩個蛋白峰的確大幅減少，如第七圖及第八圖。

由第七圖可以看到正常鼠肝與纖維化鼠肝於分子量 15197.2 蛋白之表現有顯著差異，纖維化鼠肝明顯減少。

由第八圖可以看到正常鼠肝與纖維化鼠肝於分子量 15858.3 蛋白之表現有顯著差異，纖維化鼠肝明顯減少很多。

血紅素蛋白量減少，說明肝纖維化確係存在缺血現象。肝標靶醣質分子影像技術可以提供影像空間分佈及量化數據，若能將半乳糖胺接上影像醫學用之金屬，靜脈注射，將可以準確區辨肝病變的嚴重程度，作為肝殘餘功能定量癒後療效追蹤的檢驗方法。

早期發現肝纖維化，適當投藥，肝纖維化是可以好轉甚至完全復原，肝標靶醣質醫學影像分子造影可以提供影

像空間分佈與定量數據，提供準確區辨肝殘餘功能之檢驗方法。

在造影劑方面，本發明之實施例係採用 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 作為定量與檢測肝殘餘功能之肝標靶糖質醫學影像分子造影劑。蓋因 galactopeptide 與肝細胞具強結合力，而 SOCTA 的貯存安定性明顯優於 DTPA。傳統使用的雙官能基螯合劑多用 DTPA anhydride (DTPA: diethylene-triamine-penta-acetic acid)，這個雙官能基螯合劑在弱鹼水溶液中與胺基反應很快，2 小時內可完成反應，但它遇空氣極不安定，很容易潮解，保存不易；相對地 SOCTA 穩定度佳，凍晶的 SOCTA 放置室溫一年，仍能用來與胺基鍵結，雖然它與胺基的鍵結反應比較久，通常要 16 小時，但它不易潮解，遇空氣較為安定，作為一個藥廠的原料之一，保存期長反而才是優勢。

第四圖是 SOCTA 的化學結構，SOCTA 是以末端的 imidazole ester bond 與半乳糖胺的胺基鍵結，因為 SOCTA 具 N_2S_2 結構，因而可螯合 Tc-99m 成為肝標靶糖質醫學影像分子造影劑。

唯以上所述者，僅為本發明之較佳說明實例，當不能以之限制本發明範圍。即大凡依本發明申請專利範圍所做之均等變化及修飾，仍將不失本發明之要義所在，故都應視為本發明的進一步實施狀況。在前述之實例說明中，雖然以 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 作為說明，但並不以此作為本發明之限制，舉凡不易潮解、具 N_2S_2 結構、末端具 ester bond，皆可與半乳糖胺的胺基鍵結且螯合

Tc-99m 成為肝標靶醣質醫學影像分子造影劑。而雖然 DTPA anhydride 易於潮解，若能完成 Mn-DTPA-galactopeptide 與 Tc-99m-DTPA-galactopeptide 之製備，也可以實施本發明之精神，作為肝殘餘功能定量之肝標靶醣質醫學影像分子造影劑。

【圖式簡單說明】

第一圖係為本發明之可用於檢測肝殘餘功能之方法流程示意圖。

第二圖為本發明之肝標靶醣質醫學影像分子造影概念之示意圖。

第三圖為本發明之 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide 製備流程圖。

第四圖為本發明之 SOCTA 之結構示意圖。

第五圖為本發明以 SELDI-TOF 分析之血清蛋白質譜示意圖。

第六圖為本發明以 SELDI-TOF 分析之血清蛋白質譜統計分析圖。

第七圖為本發明之組織蛋白質圖譜顯示於 15.1kD 之蛋白質表現量。

第八圖為本發明之組織蛋白質圖譜顯示於 15.9kD 之蛋白質表現量。

第九圖為目前臨床肝纖維化組織病理切片分級的結果圖。

【主要元件符號說明】

1-檢測肝殘餘功能之方法

10~11 步驟

五、中文發明摘要：

一種適用於檢測肝殘餘功能之肝標靶醣質分子造影劑。該造影劑配合肝標靶醣質醫學影像分子造影方法可用以評估肝殘餘功能以及癒後肝是否好轉之療效評估。

六、英文發明摘要：

The invention discloses one glyco-molecular imaging agent for remaining liver function measurement. The agent combining with glyco-molecular imaging method for liver targeting could be used to measure the remaining function of liver and follow-up evaluation of the therapeutic effect.

十、申請專利範圍：

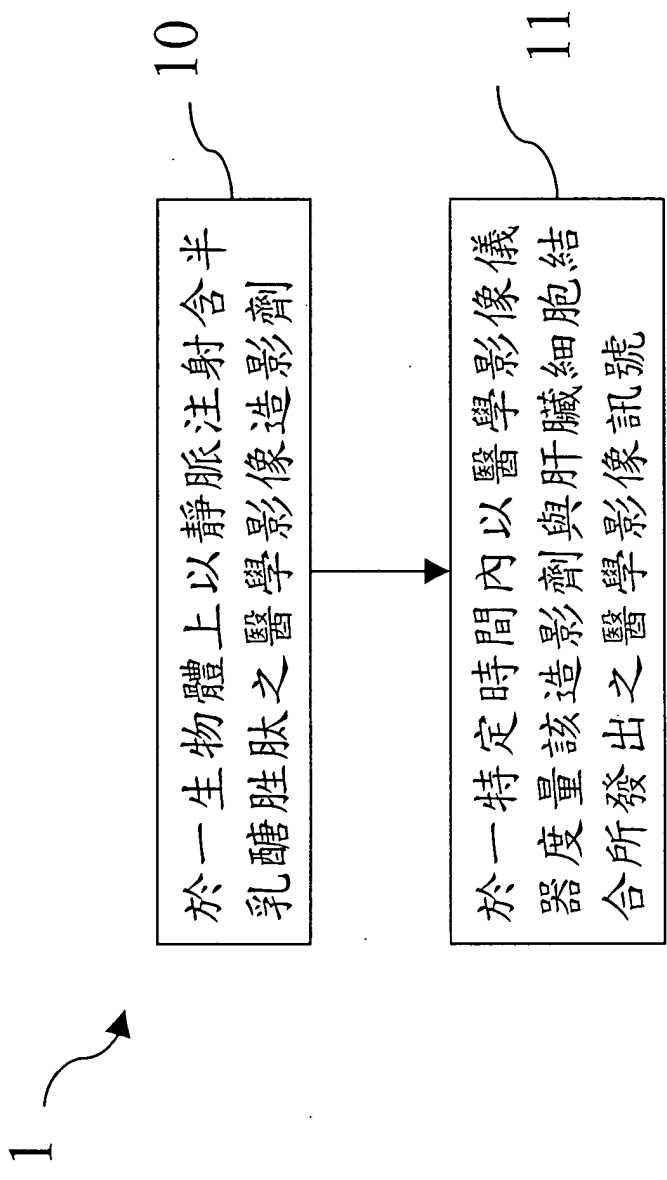
1. 一種適用評估肝殘餘功能之肝標靶醣質醫學影像分子造影劑，係由雙官能基螯合劑鍵結半乳糖胺後，與醫學影像用金屬螯合而成之醫學影像造影劑，該造影劑製備所需之雙官能基螯合劑，於室溫貯存不易潮解，前述之醫學影像造影劑為 Tc-99m-SOCTA-galactopeptide，其中該 SOCTA 為 (succinimidyl-3,6-diaza-5-oxo-3[2-((triphenylmethyl)thio)ethyl]-8-[(triphenylmethyl)-thio]octanoate)。

2. 根據專利範圍第 1 項所述之適用評估肝殘餘功能之醫學影像分子造影劑，其中該造影劑的半乳糖胺係為三鏈成串的半乳糖。

十一、圖式：

10年2月3日 修正 補充 頁

公告本



第一圖

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(一)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

1-檢測殘餘功能之方法

10~11 步驟

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：