

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
C07C229/16
A61K 49/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96191747.4

[45] 授权公告日 2004 年 12 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 1177806C

[22] 申请日 1996.1.16 [21] 申请号 96191747.4
 [30] 优先权
 [32] 1995. 2. 1 [33] US [31] 08/382,317
 [86] 国际申请 PCT/US1996/000164 1996. 1. 16
 [87] 国际公布 WO1996/023526 英 1996. 8. 8
 [85] 进入国家阶段日期 1997. 8. 1
 [71] 专利权人 EPIX 医学公司
 地址 美国马萨诸塞
 [72] 发明人 T·J·迈克穆里 H·萨吉金
 D·M·思考特 R·B·拉芙尔
 审查员 刘菊芳

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
 商标事务所
 代理人 郭建新

权利要求书 3 页 说明书 39 页

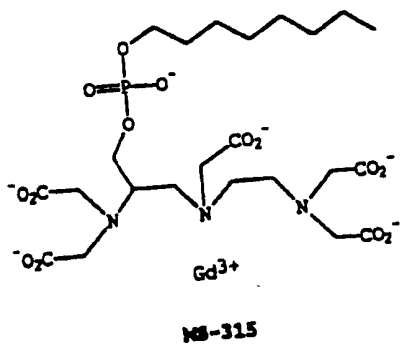
[54] 发明名称 可延长血液滞留的诊断成像用造影剂

[57] 摘要

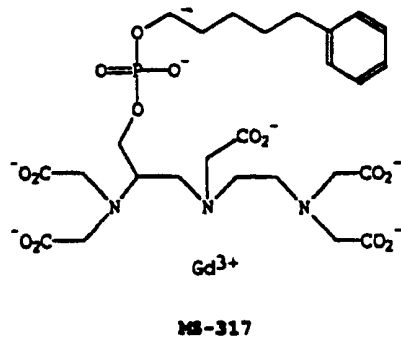
本发明提供显示更好的血液滞留的诊断成像用造影剂。该新型化合物包括：a) 图象增强(或信号产生)部分(IEM)；b) 血浆蛋白质结合部分(PPBM)；和c) 血液半衰期延长部分(BHEM)。本发明还涉及包括这些化合物的药物组合物和用这些化合物与组合物延长血液半衰期与增强诊断的成像对比度的方法。这些造影剂显示出肾的和肝细胞的摄入速率的降低且不被RE系统明显的摄入。这些药剂可被定向到血池(blood pool)或其它任何生物组分中。由于这些药剂从血流中消失速度较慢，所以在更高的安全限度下可用更低的剂量。本方法对大分子和小分子有普适性。

ISSN 1008-4274

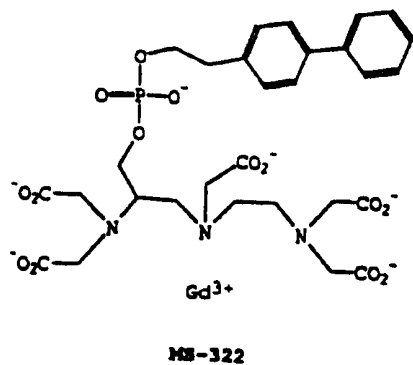
1. 下式的化合物:



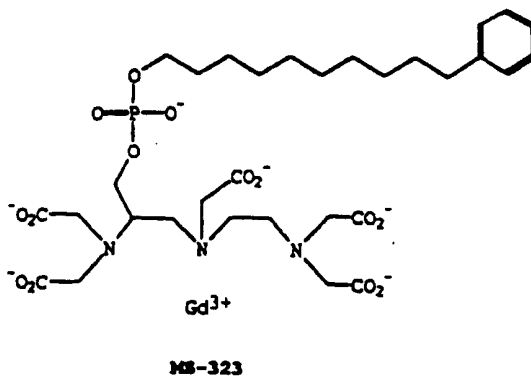
2. 下式的化合物:



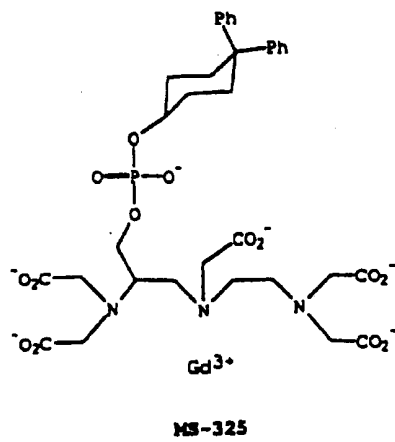
3. 下式的化合物:



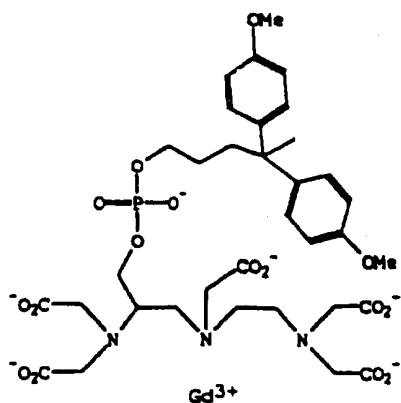
4. 下式的化合物:



5. 下式的化合物:

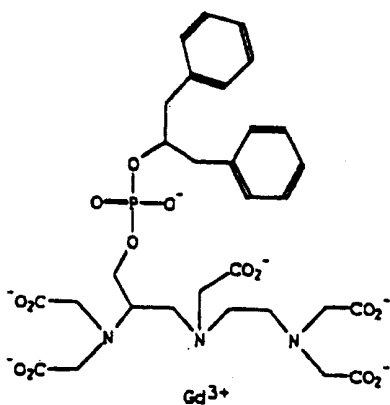


6. 下式的化合物:



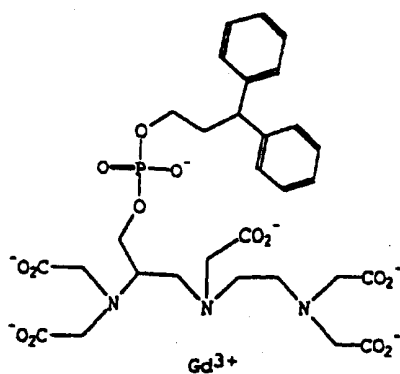
MS-328

7. 下式的化合物:



MS-326

8. 下式的化合物:



MS-327

可延长血液滞留的诊断成像用造影剂

本发明涉及用于诊断成像的造影剂。确切地说，本发明涉及显示更好的血液滞留的新型化合物，该类化合物包括：

- a) 图象增强（或信号产生）部分（IEM）；
- b) 血浆蛋白质结合部分（PPBM）；和
- c) 血液半衰期延长部分（BHEM）。

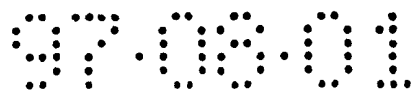
本发明还涉及包括这些化合物的药物组合物和使用这类化合物和组合物来延长血液半衰期与增强诊断的成像对比度的方法。

诊断用成像技术例如：磁共振成像（MRI）、X-射线、核放射性药物成像、紫外/可光/红外光、和超声波，被用于医疗诊断已有多年。在某些场合中，利用造影剂来改善图象质量或提供特定信息已有多年了。在其它场合中如用光或超声波成像时，迫切需要引入造影剂。

造影剂必须干扰用于成像技术中的电磁辐射线的波长，改变组织的物理性能而产生改变了的信号，或者在放射性药剂的场合中它自身提供放射源。常用的材料包括：有机分子、金属离子、盐或螯合物、微粒（尤其是铁微粒）、或标记的肽、蛋白质、聚合物或脂质体。施药后，在被代谢和/或被排泄之前，药剂可能会非特异地扩散遍及全身的腔室；这些药剂常被称为非特异性药剂。该药剂也可对特定的身体腔室、细胞、器官或组织产生特异亲和性，这些药剂可称为靶向药剂（targeted agent）。

至于注射用或被身体吸收和分布于血液中的药剂，要求有适当的血液半衰期。然而在临床成像场合中，特别长的半衰期（即数天或数周）没有必要且可能有危险（归因于毒性的可能性增大和代谢分解为毒性更大的分子），短的半衰期也不合要求。如果图象增强持续的时间太短，则很难获得病人的高质量图象。此外，靶向药剂的迅速清除会降低能与靶部位结合的药剂的量，于是减弱图象上靶部位的“亮度”。

延长成像剂的血液半衰期包括干扰下述清除机理的一项或多项：

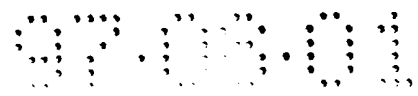


1) 肾的分泌。低于 60,000 道尔顿分子量的分子、尤其是小分子, 在肾中可通过非特异性肾小球的过滤作用而从血液中除去。如果分子表现出对血浆蛋白质或血液的其它成分的一定程度的结合, 则只有游离部分可供过滤, 于是肾的分泌速率就会相应地减慢。

2) 肝细胞的摄取。如果分子具有疏水性, 则配合物的某些部分被肝细胞摄取并被分泌入胆汁。一般地, 分子的疏水性越大, 则肝细胞的摄取速率越高。尽管疏水性也导致血浆蛋白质结合和分子的表现自由浓度的降低, 但肝细胞的摄取速率仍然会很高 (D. Sorrentino et al., Prog. Liver Disease, pp. 203-24 (1990), 于是减短血液的半衰期。血液半衰期的减短可能或不会伴随肝胆管的总的分泌物、即最终出现于粪便中的施药量部分的增多。除了肝细胞的摄取速率外, 后者的量还由很多因素决定, 它们包括: 肝细胞内胞质蛋白质结合的程度、对小管的 (肝细胞至胆汁) 输送系统的亲和性、胆汁流动和肠肝的再循环的效果。血液的半衰期的延长必须由血液或血浆样显示, 而不是简单地通过测定肝胆管的总分泌物的减少来确定。同样地, 仅仅得知和测定血浆蛋白质与设计的造影剂的有效结合不足以证实其血液半衰期因更少的肾的分泌物而延长。

3) 网状内皮的 (RE) 或其它的系统。大分子量物质如脂质体、聚合物、蛋白质和微粒, 可以被识别 (例如调理素作用, 或在细胞摄取前用蛋白质涂敷) 而被迅速从血液中清除并摄入细胞、尤其是肝的 RE 细胞 (枯否细胞), 脾和骨髓。

报道有两种一般的措施以延长成像剂的血液半衰期。一种方法是将成像剂通过强的或可代谢化学键共价键地连接到大分子量聚合物、蛋白质、脂质体或微粒上。例如, 二亚乙基三胺五乙酸钆 (Gd - DTPA) 已被连接到人血清白蛋白 (HSA)、聚 L - 赖氨酸或葡聚糖中 (A. N. Oksendalet al., J. Magn. Reson. Imaging, 3, pp. 157-165 (1993); S. M. Rocklage, "Contrast Agents," Magnetic Resonance Imaging, Mosby Year Book, pp. 372-437 (1992))。这样做是为了减小肾中肾小球的过滤速率和阻留血液中的药剂。但是, 这样会导致药剂的长期滞留。此外, 牢固地结合的成像剂在大分子的代谢部位有可能释放毒性副产物如游离的金属离子。还有, 大的轭合物可能会难于定准身体中的特定部位。



37

第二种方法已被应用于脂质体、聚合物、蛋白质和微粒，它们一般可通过 RE 系统或其它方法被迅速从循环中除去。在这些物质表面布置长链亲水性聚合物如聚乙二醇 (PEG)，会减少被 RE 或其它系统的摄取 (C. Tilcock et al., *Biochimica et Biophysica Acta*, 1148, pp. 77-84 (1993); A. A. Bogdanoy et al., *Radiology*, 187, pp. 701-706 (1993))。据假设该大的、强烈水合的聚合物基团干扰识别和摄取这些物质所需的分子过程。该方法的缺点包括: a) 高成本和麻烦的制备方法; b) 大的轭合物缺乏定向性; 和 c) 应用性似乎局限于大分子量物质。

强烈要求具有一定的亲脂性的靶向小分子。它们会遭受快速的肝细胞的摄取和血液清除，可能减弱靶部位的“亮度”。在要有亲脂性以达到对蛋白质或其它生物学靶的导向的情况中，这是一个特别的问题。

该问题的一个特例是小分子血池剂 (blood pool agents) 的显影。现有的小分子非特异性药剂如用于 MRI 的 Gd - DTPA，可相当快地从血液中清除，故不适于成像血管 (即 MR 血管造影术) 或监控流入心脏、大脑、肿瘤或其它器官或损伤的血流。以血浆蛋白质为目标的亲脂剂在本技术中已为人所知，参见美国专利号 4, 880, 008 和 5, 250, 285。尽管这药剂结合到血浆蛋白质、特别是人血清白蛋白上，它们也会遭到快速的肝细胞的摄取和缩短血液半衰期。

继续存在对可被血液滞留更长时间的造影剂的需求。

本发明提供显示更好的血液滞留的诊断成像用造影剂，该新型化合物包括:

- a) 图象增强 (或信号产生) 部分 (IEM);
- b) 血浆蛋白质结合部分 (PPBM); 和
- c) 血液半衰期延长部分 (BHEM)。

本发明还涉及包括这些化合物的药物组合物和用这些化合物与组合物延长血液半衰期与增强诊断成像对比度的方法。

这些造影剂显示出肾的和肝细胞的摄入速率的降低且不被 RE 系统明显的摄入。这些药剂可被定向到血池或其它任何生物组分中。由于这些药剂从血流中消失速度较慢，所以在更高的安全限度下可用更低的剂量。本方法对大分子和小分子有普适性。



34

为了使本文所述的发明可被更充分地理解，提出了下述更详细的说明。

术语“特异亲和性”或“分子亲和性”在本文中是指造影剂被吸收、被阻留或结合到特定的生物组分的能力达到远比其它组分大的程度。有该性能的造影剂被称为“靶向”到“靶”组分上。

本发明涉及增强诊断成像的对比度的新型化合物，这些化合物包括：

a) 图象增强（或信号产生）部分（IEM）；

b) 血浆蛋白质结合部分（PPBM）；和

c) 血液半衰期延长部分（BHEM）。

诊断用成像包括、但不局限于MRI、X-射线、核放射性药物成像、紫外/可见/红外光、和超声波。

图象增强部分（“IEM”）

按本发明，第一部分IEM可以是用于提供成像中的信号或对比度的任意化合物或物质。

信号增强部分可以是有机分子、金属离子、盐或螯合物、微粒（尤其是铁微粒）、或标记的肽、蛋白质、聚合物或脂质体。

一种特别有用的IEM是生理相容的金属螯合物，它包括与原子序数为21 - 29、42、44或57 - 83的一种或多种金属离子络合的一种或多种环状或无环的有机螯合剂。

至于X-射线成像，IEM可以包括碘化有机分子或原子序数为57 - 83的重金属离子的螯合物。合适的化合物实例被描述于M. Sovak, ed.,

“Radio contrast Agents,” Springer-Verlag, pp. 23-125(1984)和美国专利4, 647, 447。

至于超声波成像，IEM包括充气的泡如：Albunex、Echovist或Levovist、或微粒或其中金属离子的原子序数为21 - 29、42、44或57 - 83的金属螯合物。合适的化合物实例被描述于：Tyler et al., Ultrasonic Imaging, 3, pp. 323-29(1981)和D. D. Swanson,

“Enhancement Agents for Ultrasound: Fundamentals,” Pharmaceuticals in Medical Imaging, pp. 682-87(1990)。

至于核放射性药物成像或放射疗法，IEM包括放射性分子。优选的有

25

Tc、Re、Co、Cu、Au、Ag、Pb、Bi、In和Ga的螯合物，更优选的有Tc - 99m的螯合物。合适的化合物实例被描述于Rayudu GVS, Radiotracers for Medical Applications, I, pp. 201和D.P. Swanson et al., ed., Pharmaceuticals in Medical Imaging, pp. 279-644 (1990)。

至于紫外/可见/红外光成像，IEM包括任何有机或无机染料或任何金属螯合物。

至于MRI，IEM包括顺磁性金属离子的金属-配体络合物，金属原子序数为21-29、42、44或57-83。

为了有效地增强NMR成像，该配合物必须能提高水质子或其它成像或光谱核（包括其它生物分子或注射的生物标记物上的质子，P-31、C-13、Na-23或F-19）的松弛速率 $1/T_1$ （纵向的、或自旋晶格）和/或 $1/T_2$ （横向的、或自旋-自旋）。松弛率（Relaxivity） R_1 和 R_2 被定义为分别提高每mM的金属离子的 $1/T_1$ 或 $1/T_2$ 的能力；单位是 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。至于最常见形式的临床MRI、水质子MRI，结合有螯合配体的顺磁性离子还有一个或多个空的配位点用于水交换时这时的松弛率是最适宜的。（R.B. Lauffer, Chemical Reviews, 87, pp. 901-927(1987)）。但是，这必须与金属螯合物的稳定性平衡（见下文），它通常随空配位点数的增多而降低。所以，该配合物最好只含一个或二个空的配位点。

除了通过偶极间相互作用提高组织核的 $1/T_1$ 或 $1/T_2$ 之外，MRI剂可影响两种其它的磁性能，因而有临床应用性：

1) 铁微粒或磁敏感性强的金属螯合物，尤其是Dy、Gd或Ho的螯合物，可以通过产生微观的磁敏感梯度而改变组织的MRI信号强度（A. Villringer et al, Magn. Reson. Med. 6, pp. 164-174(1988)）。该应用中螯合物无需存在空的配位点。

2) 铁微粒或金属螯合物也可被用于改变水质子或其它成像或光谱核、包括其它生物分子或注射的生物标记物上的质子，P-31、C-13、Na-23或F-19的共振频率。此时，视所用的核和方法而定，可采用0-3个空的配位点。

优选的顺磁性金属选自Gd(III)、Fe(III)、Mn(II和III)、Cr(III)、Cu(II)、Dy(III)、Tb(III)、Ho(III)、Er

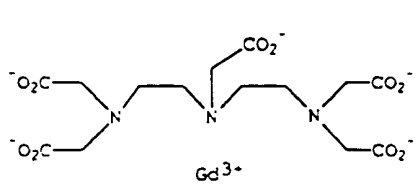
(III) 和 Eu (III) ， 最优选的是 Gd (III) 。

尽管顺磁性金属是用其络合的形式，但仍会产生毒性效果，它归因于金属离子从配合物中解离。有机整合配体应是生理相容的。整合配体的分子大小应与顺磁性金属的大小相匹配。这样，晶体离子半径为 $0.938 \times 10^{-10} \text{m}$ (0.938\AA) 的钆 (III) ， 要求比晶体离子半径为 $0.64 \times 10^{-10} \text{m}$ (0.64\AA) 的铁 (III) 更大的整合配体。

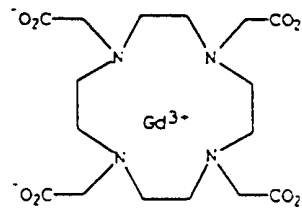
总体来说，金属整合物的毒性程度与排泄前它在体内解离的程度有关。毒性通常随着游离金属离子量的增多而增大。动力学稳定性低、热力学稳定性高 (形成常数至少是 10^{15}M^{-1} 且更优选至少是 10^{20}M^{-1}) 的配合物可望最大程度地减少解离和其伴随的毒性。至于动力学稳定性相对地更高的配合物，较低的形成常数即 10^{10}M^{-1} 或更高些可使解离降至最少。

毒性也是配合物中空配位点数的函数。配位点越少，则整合剂释放顺磁性物质的倾向一般越小。因此，配合物优选含 2 个、1 个或 0 个空的配位点。多于 2 个空配位点的存在通常会因在体内释放金属离子而不能接受地增大毒性。

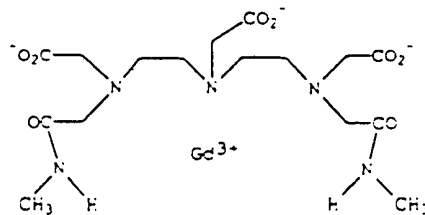
用作 MRI 剂的很多合适的整合配体在本技术中是已知的。它们也可用于其它形式的生物成像的金属整合物。至于 MRI 成像，优选的 IEMs 包括：



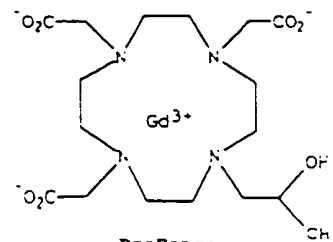
Magnevist
gadopentetate dimeglumine
DTPA



Dotarem
gadoterate meglumine
DOTA



Omniscan
gadodiamide
DTPA-BMA



ProHance
gadoteridol
HP-DO3A

血浆蛋白质结合部分 (“ PPBM ”)

按本发明, 本发明的造影剂的第二组分是 PPBM。化合物的该部分将造影剂与血浆蛋白质结合而降低肾的分泌速率。

感兴趣的血浆蛋白质包括: 白蛋白、尤其是人血清白蛋白 (HSA), 它结合有一定的亲脂部分的分子和或者在生理 pH 时带负电荷或者带部分负电荷的氧或硫或氟; α 酸糖蛋白, 其结合主要是带正电荷的分子; 球蛋白, 其结合类固醇分子; 和脂蛋白, 其结合亲脂性或脂肪酸型的分子。所以必须适当地选择 PPBM 以达到与合适的蛋白质的结合。由于 HSA 在血清中的浓度最高, 且具有高的亲和性和结合宽范围的分子的能力, 所以它是用于延长血液半衰期的优选的血浆蛋白质。HSA 也是优选的血浆蛋白质靶, 因为它与比带正电荷的分子毒性更小的带负电荷的分子结合。

为了结合 HSA, 宽范围的疏水性或两亲的物质作为 PPBM 将会很有用 (U. Kragh-Hansen, Pharm. Rev., 33, pp. 17-53(1981); X.M. He et al., Nature, 358, pp. 209-215(1992); D. C. Carter, Adv. Protein Chem., 45, pp. 153-203(1994))。这些物质包括、但不局限于: 含 1 - 60 个碳以及任意数的氮、氧、硫、卤素的脂族基或芳基, 烷基、酰胺、酯和磺酰胺取代基。PPBM 也可以是含疏水性氨基酸残基和/或有或无疏水性或亲水性端基取代基的肽。为达到在血浆中 10 % 的结合, 优选的 PPBM 具有至少 7 个碳原子, 更优选 13 个、且最优选 18 个碳原子。

如上所述, 要与 HSA 结合, 宽范围的疏水性物质可能作为 PPBM 很有用。一般地, 对 HSA 的和其它可能的蛋白质的结合亲和性将随 PPBM 疏水性的升高而增大。对于如 PPBM 的取代基的疏水性的理论估算可这样求得: 利用取代基的 Hansch π 常数计算 PPBM 在辛醇-水 (或辛醇-缓冲液) 中分配系数的 log 值 (log P) 的基值。参见 A. Leo and C. Hansch, “ Partition Coefficients and their Uses, ” Chemical Reviews, 71, pp. 525-616(1971); K. C. Chu, “ The Quantitative Analysis of Structure-Activity Relationships, ” Burger's Medicinal Chemistry, Part 1, pp.

393-418, (4th ed. 1980)。结合亲和性将随 log P 基值的增大而增大。例如对于脂族基上的取代基，可应用下述π常数：

<u>基团</u>	<u>π - 脂族的</u>
CH ₃	0.50
苯基	2.15

对于芳基上的取代基，可应用下述π常数：

<u>基团</u>	<u>π - 脂族的</u>
CH ₃	0.56
CH ₂ CH ₃	1.02
苯基	1.96

这样，连接在 IEM 上的对 - 甲基苄基的 log P 基值可计算如下（利用 CH₃ 的 π - 脂族的值估算 - CH₂ - 基）：

$$\log P \text{ 基值} = 0.50 + 2.15 + 0.56 = 3.21$$

要与 HSA 结合，达到有效结合所需的 log P 基值的极小值为 2（相当于 4 个 CH₃ 基或一个苯环）。更优选的 log P 基值为 3，甚至更优选的 log P 基值为 4。

HSA 结合可通过平衡透析或超滤作用利用 4.5 (wt./vol) % 的 HSA 在 pH 7.4 缓冲液中来测定。在生理相关浓度（对 MRI、X - 射线、光和超声波是 0.01-10mM 于血浆中；对放射性药物为 <1μM，优选至少 10 %、更优选至少 50 %、更优选至少 80 %、且最优选至少 95 % 的造影剂被结合在 HSA 上。本应用中，造影剂与 HSA 结合百分数的测定误差大约为 + / - 5 %。与其它蛋白质或血清结合的蛋白质可按类似方法估算。

在造影剂中加入亲脂基有可能降低该药剂的溶解性。为了在临床上有效的剂量值或更高值下保持造影剂的足够的溶解性，最好是将一个或多个氢键键合基（氧、氮等等）结合到 PPBM 中。

虽然可用纯脂族基作为 PPBMs，但它们不如混合的脂族 - 芳基或纯芳基好。尤其是当纯脂族基特别是相当长和柔性的基上带负电荷时，造影剂会干扰内源性分子如脂肪酸的代谢或膜蛋白质与类脂之间的相互作用。这就会增高该药剂的毒性。所以最好是 PPBM 含至少一个芳环。

至于用于血池、肿瘤或组织增强的 HSA 结合的 MRI 剂，尤为优选的造影剂含两个或更多个各不相同的亲脂基以充分固定与蛋白质结合的该药剂。这些基可以在一个 PPBM 上，或者作为两个或多个分离的化学基连接到造影剂上。由于其体积大和刚性，所以最好是两个或多个基各含一个芳环，使整个分子中的两个或多个环以刚性的、非平面取向排列。

当 MRI 剂的转动校正时间约等于 HSA 的时，该药剂磁效率或松弛率通常最高 (R. B. Lauffer, Chemical Reviws, 87, pp. 901-927 (1987))。而小分子如 Gd-DTPA 的转动校正时间约为 0.1 毫微秒 (nsec)，HSA 的转动校正时间大于 5 - 10nsec；如果某螯合物有该较长的校正时间，则顺磁性离子和水质子之间的磁脉动如同拉莫尔频率一样出现在相同的时间标度出现，产生最有效的可能纵向 (T_1) 弛豫以及最高的潜在松弛率。与蛋白质结合的螯合物的任意柔性有望减小有效转动校正时间，于是减小松弛率。由于对蛋白质的一个结合点在数个方向仍可产生柔性，所以另外的结合点会是优选的。

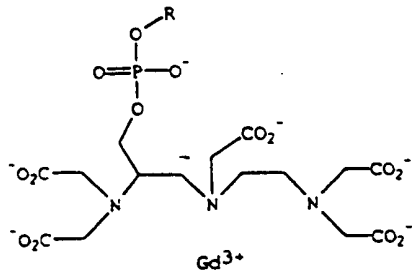
药剂被调至极大松弛率的程度可通过在 HSA 存在下测定结合的松弛率 (R_1 - 结合) 来估算。这就要求测定游离螯合物的松弛率 (R_1 - 游离) 和松弛率 (R_1 - 实测) 和在 4.5% HSA 中该药剂的结合百分数。“ R_1 - 实测”是“ R_1 - 游离”和“ R_1 - 结合”的摩尔分数权重平均值：

$$R_1 - \text{实测} = (\text{分数} - \text{游离} \times R_1 - \text{游离}) + (\text{分数} - \text{结合} \times R_1 - \text{结合})$$

因此：

$$R_1 - \text{结合} = \frac{[R_1 - \text{实测} - (\text{分数} - \text{游离} \times R_1 - \text{游离})]}{\text{分数} - \text{结合}}$$

将两个或多个芳基保持在刚性、非平面的形式，其优点可从下文的表中看出，表中给出了 MS - 322 ($56\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) 和 MS - 325 ($42\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) 对 MS - 317 ($34\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) 的松弛率 - 结合值。MS - 322 和 MS - 325 的联二苯或联苯基似乎限制 HSA - 结合的造影剂的活动性。本应用中，有关“松弛率 - 结合”值的测定的误差大约是 $\pm 5\%$ 。



R	R ₁ -结合, mM ⁻¹ s ⁻¹
MS-317	34
MS-322	56
MS-325	42

从上表中可看出，有两个环刚性地保持非平面取向的化合物有更高的“松弛率-结合”值。

从前述方程中可看出，实际的 R₁ - 实测可随分数-结合 (fraction-bound) 的增大、即药剂对 HSA 的亲水性的增大而增高。这也可导致更低的肾的分泌和更长的血液半衰期，因而是协同的。然而，为了利用最低剂量和达到最高的安全限度，通过将 R₁ - 结合极大化而使该药剂的效力极大化仍是重要的。

血液半衰期延长部分 (“BHEM”)

本发明的造影剂的第三部分，BHEM，减小肝细胞摄取造影剂的速率。亲水性和亲脂性的平衡以及分子的确切的分子结构决定其肝细胞摄取速率。

在本发明的造影剂中，本发明的 BHEMs 减小或消除肝细胞摄取而不会过度地干扰 PPBM 的效力。BHEMs 都是相当亲水的基，它们能与水形成氢键。在造影剂中存在亲水性 BHEM 会减少该药剂的肝细胞摄取。

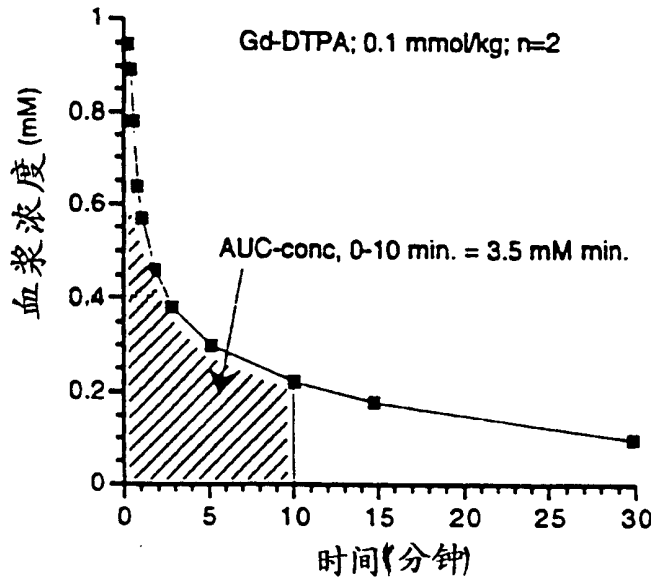
可用作 BHEM 的化学基的实例包括：碳、磷、钨、钼或硫原子，它们连有荷电的或中性的、具有两个或多个孤电子对（即全部或部分的负电荷）的杂原子如氧、氮、硫或卤素（尤其是氟）或者正电性的氢原子（即质子化胺）以便与水氢键键合。它们包括的基如：砜、醚、脲、硫脲、胺、氨基磺酰、氨基甲酸酯、肽、酯、碳酸酯和醛缩醇。优选的基包括那些在生理 pH 时的水溶液中带有一个或多个部分或全部负电荷，其中负电性的原子不能因共价键或配位共价键键合到 IEM 上而部分地或全部地被中和。这些优选的 BHEMs 的实例包括负电性的基如磷酸单酯、磷酸二酯、羧酸酯和磺酸酯。更优选的是那些有磷酸酯基或其任何酯的形式。甚至更优选的有磷酸二酯，因为：a) 它们是高度亲水性的，具有 4 个氢键键合的氧；b) 利用下述给出的技术它们较易于合成；c) 它们可用作 IEM 和 PPBM 之间的优良的连接物；和 d) 由于磷酸酯化合物存在于身体中且可被自然地代谢，所以含磷酸二酯的造影剂有望是无毒的。

所有的上述基反过来又可被连接到连接它们与或是 IEM、PPBM 或是二者的连接部分上。连接部分是不会干扰 IEM、PPBM 或 BHEM 的作用的任何生理相容的化学基。优选的连接物是易于合成而结合到造影剂中。它们还不能大到以至显示出其自身的不合乎需要的生物学功能或影响造影剂的导向。连接物的长度优选是 1 - 50 埃，更优选是 1 - 10 埃。

BHEM 结合入本发明的造影剂中导致该药剂的血液滞留延迟。血液滞留最好这样测定：在大鼠血浆药物动力学试验中，通过计算血浆浓度对时间的曲线在一定的时间段（例如：0 - 10 分钟、0 - 30 分钟、0 - 60 分钟、0 - 120 分钟或 0 - 无穷大）的面积（“Area Under the Curve”或“AUC-conc.”）而求算。血液滞留（如由 AUC - conc. 测定的）可通过将造影剂施药给大鼠、兔或高级哺乳动物而由实验估算。业已发现，在兔和高级哺乳动物中血液半衰期延长比在大鼠中更长。本应用中，由 AUC - conc. 测定的血液半衰期数据，代表在大鼠中的试验。有关该数据的误差大约为 + / - 10 %。

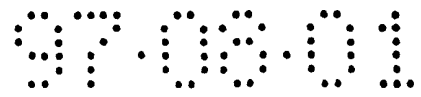
不采用半衰期测定法本身的原因是：该参量的数学定义通常不明确，而且所得估测结果随所用的药物动力学模型和获得的血样的时间长短而变化。

例如，在两只大鼠的尾静脉注射 0.1mmol/kg 的 Gd^{153} 标记的 Gd-DTPA 之后，观察到的平均血浆浓度如下所示。采用 the Macintosh program KaleidaGraph, 求得 0 - 10 分钟该 AU - concn. 为 3.5mMmin.



当往 IEM 和 PPBM 中加入 BHEM 后, 本发明的造影剂显示出 AUC - conc. 增大至少 20 %。它们优选显示 AUC - conc. 增大至少 40 %, 更优选至少 70 % 和甚至更优选至少 100 %。一般地, 当在血浆中结合显著例如 20 % - 50 % 或更多时, 由 BHEM 引起的 AUC - conc. 的增加会更大。计算的 AUC-conc. 的增大百分率可能不同于在不同的时间阶段 AUC-conc. 的测定值。通常地, 由 BHEM 引起的 AUC - conc. 增大百分率, 在更长的时间段求得的 AUC-conc. 的值更大, 例如 0 - 10min. 不如 0 - 30min.。

由于整个造影剂分子的结构和物理特性将决定其在血浆中的结合, 所以选择与所要求的结合相容的 IEMs 和 BHEMs 很重要。例如, 为达到与 HSA 上正电性的结合点结合, 最好是用纯中性的或带纯负电荷的 IEMs 和 BHEMs 以降低排斥的可能性并且也许甚至会提高结合亲和性。为了与 α - 酸性糖蛋白结合, 造影剂的某些部分至少应是正电性的。为了与球蛋白结合, 造影



63

剂的某些部至少应是类固醇性质的。为了与脂蛋白结合，造影剂的某些部分至少应是亲脂性的或脂肪酸类的。

本发明的造影剂一般可分为三类：

1) 血池剂。如果对血浆蛋白质的结合亲和性高（即高于 50 % 的结合，或优选高于 80 % 的结合，或更优选高于 95 % 的结合），则药剂倾向于主要起血池剂的作用。而药剂可进入毛细血管外的空隙（细胞之间的胞外区），与血浆相比，该空隙中相关的血浆蛋白质如 HSA 的浓度一般更低。所以，药剂的血浆浓度高于空隙中的浓度，因此身体中的如血管或含大量血管的组织这类结构比低血含量的结构增强更大。这类药剂的应用包括：血管造影术（血管的成像）、灌注法（利用快速成像测定血液流入组织或肿瘤的速率）、和血量的测定（例如辨别供血良好的恶性肿瘤与更低血量的良性肿瘤）。

2) 组织 - 或肿瘤 - 增强剂。某些情况下要求造影剂迅速进入空隙中与那里的血浆蛋白质结合。例如，在 MRI 中，希望注射后的组织或肿瘤尽可能快地达到最大可能的增强。因为蛋白质结合的 MRI 剂比游离药剂产生更大的增强作用，最佳药剂应是能进入空隙并与蛋白质结合的药剂。但是，如果该药剂在血浆中高度结合，比如说高于 95 % 的结合，则它穿过毛细血管的迁移速率（通过自由浓度测定）太慢，所以相当少的药剂进入空隙并导致组织的信号增强。同样地，如果只有 10 % 的结合，则药剂可自由进入空隙但具有小的信号增强能力。因此，需要迁移速率和结合亲和性的适当平衡。至于这些应用，药剂在血浆中的结合量应大于 10 % 和小于 95 %，或优选大于 50 % 和小于 95 %。

本方法对于用 MRI 的肿瘤成像尤为有用。恶性肿瘤中的血流量常比良性肿瘤中更多，所以肿瘤（和空隙的）摄取的迅速成像常可辨别这些肿瘤类别。然而，至于临床应用，则要求该两种组织之间存在最大的信号差别以便更清楚的辨别。通过蛋白质结合达到的信号增强在这点上会有所帮助。此外，恶性肿瘤的迅速生长的新毛细血管都是渗漏的，导致这些肿瘤的空隙中有更高浓度的血浆蛋白质。这可能导致恶性肿瘤中的信号增强比具有更少的可渗漏毛细血管的良性肿瘤更大。

3) 靶向药剂。当该药剂被定向到身体中特定的组织或损伤时，则应用

与上面两节中所述的类似的推理。需要平衡药剂对血浆蛋白质的相关的亲和性与靶部位使得药剂有一定的接触机会以与靶结合，而且同时与血浆蛋白质有一定的结合以延长血液半衰期。至于靶向应用，药剂在血浆中结合应大于 10 % 和小于 95 %，或优选大于 50 % 和小于 95 %。

导向部分可以是亲脂性物质、受体配体、抗体、或已知的、能在待成像的特定生物组分中聚集的其它生物分子。

结构的设置

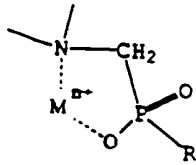
预计本发明的造影剂的三个部分彼此间可排列成多种位置。但是各部分的位置不能使某部分干扰其它部分的所需的功能。例如，在 HSA - 结合的造影剂中，BHEM 的设置不能阻挡 PPBM 将药剂与 HSA 结合的能力。由于 HSA 中的多数结合部位是短棒状的 (X.M.He et al., *Nature*, 358, pp. 209-215 (1992); D.C. Carter, *Adv. Protein Chem.*, 45, pp. 153-203 (1994))，它具有疏水性的内部 (尤其是“趾”区附近) 和正电性的“踝”区，如果使 PPBM 的末端部分成为极度亲水性的，则 PPBM 的结合亲和性就会降低。作为说明性的实例，如果 PPBM 是一个苯环，则环上最优选的 BHEM 位置是邻位，接着是间位。对位上的亲水基会降低 PPBM 对 HSA 的结合亲和性。

至于由金属螯合物构成的 IEMs，BHEMs 和 PPBMs 最好不与 IEM 连接，否则会显著降低金属离子和螯合配体间的结合强度。例如，如果螯合臂是乙酸根，那么 BHEM 或 PPBM 最好不连接在乙酸根的氧上。

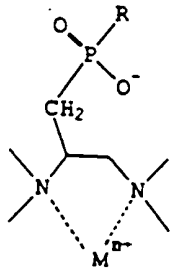
另一个位置要求是 BHEM 的负电性原子不能因共价或配位共价键合到 IEM 而被部分地或全部地中和；这就使得在水溶液体系中 BHEM 的高度亲水性的原子将被高度溶剂化。例如，如果 IEM 是金属螯合物，重要的是如何定位 BHEM 的负电性原子使得它们不会因通过配位共价键合而形成最稳定环的 5 元或 6 元螯合环而被 IEM 的正电性金属离子 (M^{n+}) 中和。由于 5 元螯合环是构成 IEMs 的重要金属离子 (如钆) 的最稳定形式，所以防止它们的形成尤为重要。因此，如下述图中所示，次磷酸根 ($-PO_2^-$) 或磷酸根 ($-PO_3^-$) BHEM 不能通过 $-CH_2-$ 连接物而被连接到氨基酸根整合剂的氮原子上，因为这样就会形成很稳定的 5 元螯合环。同样，磷酸二酯 ($-OPO_3^-$) BHEM 不应通过 $-CH_2-$ 连接物而被连接到氨基酸根整合剂的氮原子

上，否则就会形成 6 元整合环。但是，这两种 BHEMs 都可被连接在其它位置上如配位体的乙烯骨架上。可见在某些情况下，最好是增加连接基的长度以确保不形成 5 元或 6 元环。

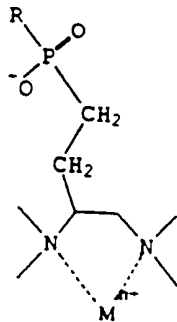
次膦酸盐



很不中意的
(5元整合环,
电中性的)



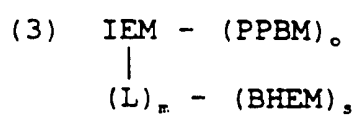
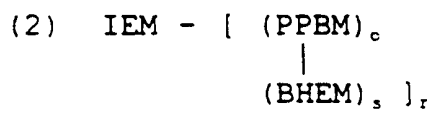
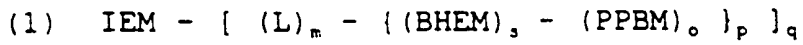
不中意的
(6元整合形,
电中性的)



更优选的
(不可能为5元或
6元整合环或
电中和)

预计可设置本发明的各部分在造影剂中的位置以得到下列结构:

[



其中 IEM 是指图象增强部分,

L 表示连接部分,

BHEM 是指血液半衰期延长部分,

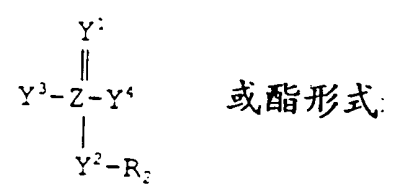
PPBM 表示血浆蛋白质结合部分,

m 可等于 0 - 4,

s、o、和 p 可以相同或不同, 且等于 1 - 4,

而 r 和 q 都至少是 1。

如果本发明的各部分在造影剂中被定位如上述的结构 (1), 则 BHEM 优选是砜、脲、硫脲、胺、磺酰胺、氨基甲酸酯、肽、酯、碳酸酯、醛缩醇, 且更优选是



其中 Z = P、W、Mo 或 S

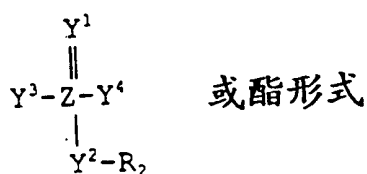
Y¹、Y² = O 或 S

Y³、Y⁴ = O、S 或不存在

R₂ = H、C₁₋₆ 烷基或不存在。

BHEM 最优选是磷酸基。

如果本发明的各部分在造影剂中被定位如上述的结构 (2), 则 BHEM 优选是砒、脲、硫脲、胺、磺酰胺、氨基甲酸酯、肽、酯、碳酸酯、醛缩醇, 且 BHEM 更优选具有下式:



其中 $Z = \text{P}$ 、 W 、或 Mo

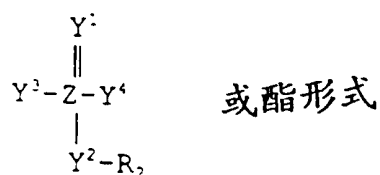
Y^1 、 $\text{Y}^2 = \text{O}$ 或 S

Y^3 、 $\text{Y}^4 = \text{O}$ 、 S 或不存在

$\text{R}_2 = \text{H}$ 、 C_1-6 烷基或不存在。

BHEM 最优选是磷酸基。

如果本发明的各部分在造影剂中被定位如上述的结构 (3), 则 BHEM 优选是 SO_3^- 或酯的形式、砒、脲、硫脲、胺、磺酰胺、氨基甲酸酯、肽、酯、碳酸酯、醛缩醇, 且更优选是:



其中 $Z = \text{P}$ 、 W 、 Mo 或 S

Y^1 、 $\text{Y}^2 = \text{O}$ 或 S

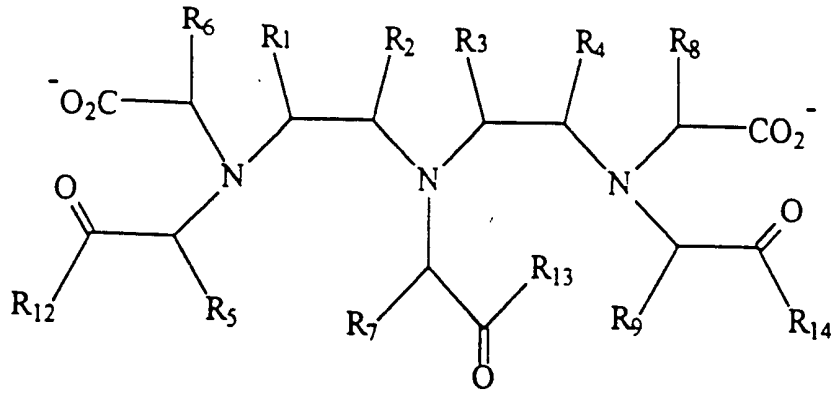
Y^3 、 $\text{Y}^4 = \text{O}$ 、 S 或不存在

$\text{R}_2 = \text{H}$ 、 C_1-6 烷基或不存在。

BHEM 最优选是磷酸基。

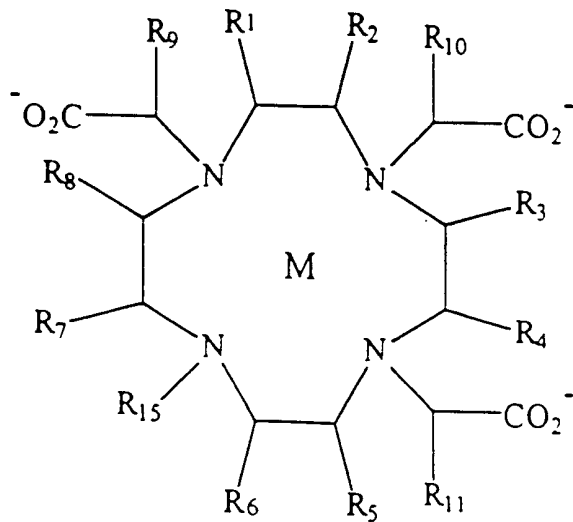
预计如果本发明的各部分在造影剂中被定位如上述的结构 (3), 则

优选的造影剂具有下式:



M

或



其中M表示原子序数为 21 - 29、42、44 或 57 - 83 的金属离子,

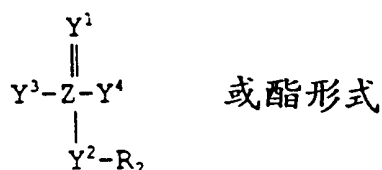
其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{16} 可以相同或不同，且选自 H、PPBM、BHEM 和 C_{1-6} 烷基，设定这些 R 中至少有一个是 PPBM 和至少另一个是 BHEM，

R_{12} 、 R_{13} 和 R_{14} 可以相同或不同，且选自 O 和 N (H) R_{17} ，

$R_{15} = H$ 、 $CH_2CH(OH)CH_3$ 、羟烷基或 $CH(R_{16})COR_{12}$ 和

$R_{17} = H$ 或 C_{1-6} 烷基。

至于包括上述所示的各式的造影剂，金属离子 M 更优选是 Gd (III)、Fe (III)、Mn (II)、Mn (III)、Cr (III)、Cu (II)、Dy (III)、Tb (III)、Ho (III)、Er (III) 或 Eu (III)，且最优选是 Gd (III)。BHEM 优选是砒、醚、脲、硫脲、胺、酰胺、磺酰胺、氨基甲酸酯、肽、酯、碳酸酯、醛缩醇且更优选是 COO^- 或酯形式、 SO_3^- 或酯的形式和



其中 $Z = P$ 、 W 、 Mo 或 S

Y^1 、 $Y^2 = O$ 或 S

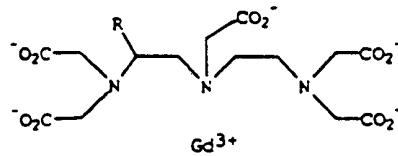
Y^3 、 $Y^4 = O$ 、 S 或不存在

$R_2 = H$ 、 C_{1-6} 烷基或不存在。

至于 HSA 结合的造影剂，BHEM 可被置于如上述结构 (1) 中所示的 IEM 和 PPBM 之间，或如上述结构 (3) 中所示的远离 PPBM 的 IEM 上。这样，有可能充分结合的疏水性 PPBM 基可被表达而不受亲水性 BHEM 基的干扰。

下述两对实例用于显示插入 IEM Gd - DTPA 和两个不同的 PPBMs (一个辛基 C_8 脂族基和一个萘甲基) 之间的磷酸根 BHEM 的优点。用 0.1mmol/kg 的 Gd^{153} 放射性标记的配合物对大鼠进行静脉内 (尾静脉) 注射。30 分钟后测定血浆浓度并配合标准的双指数二区室模型。给出了消除半衰期的结果和血浆浓度对时间的曲线 (AUC - conc.) 在第一个 10 分钟内的面积。此

外, 记录了血浆样的 $1/T_1$ s (在 20MHz, 37 °C) 以估测作为 MRI 剂的效果。这些值被表示为 $1/T_1$ 对时间的曲线 (AUC - $1/T_1$) 在第一个 10 分钟内的面积。



化合物	R	结合到 HSA 的 %	$t_{1/2}$, min	AUC-conc mM · min	AUC- $1/T_1$ s ⁻¹ · min
DTPA	H	0	15.0	3.5	27
MS-301	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -	44	6.2	2.7	59
MS-315		56	14.0	3.4	87
MS-310		30	6.8	1.8	29
MS-321		40	14.0	3.2	54

如上表中所示, 将磷酸根 BHEM 与 MS - 301 和 MS - 310 连接 (分别生成 MS - 315 和 MS - 321) 提高造影剂的血液半衰期 (用 AUC - conc. 测得) 分别达 26 % 和 78 %。

IEM Gd - DTPA 是相对亲水性的并表现出对 HSA 的结合很少或没有。所以, 它在血浆中的松弛率不太理想, 且它改变 $1/T_1$ (和基于 MRI 的血液信号) 对时间的能力是有限的 (参见相对低的 AUC - $1/T_1$ 值)。尽管它的血液半衰期相对较长, 为 15 分钟。

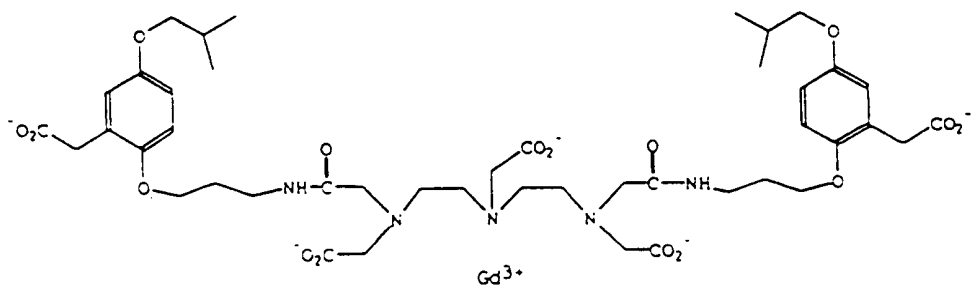
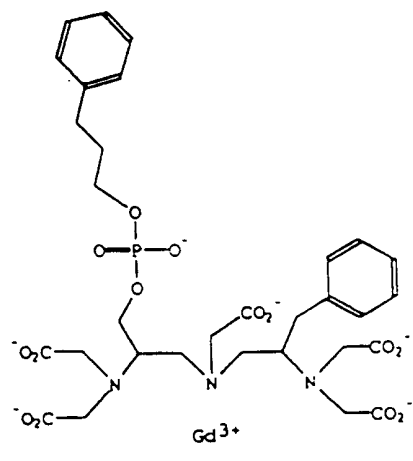
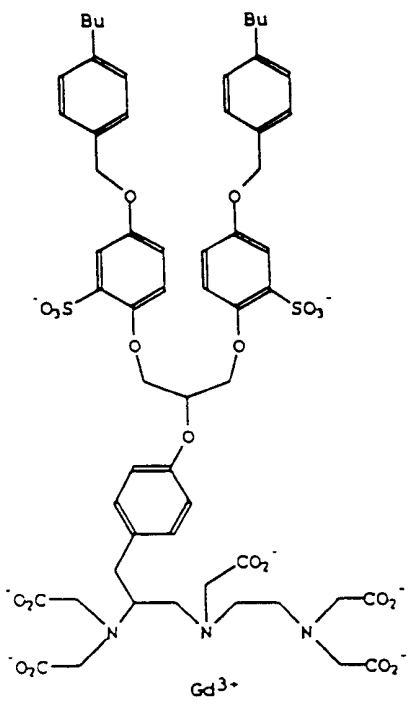
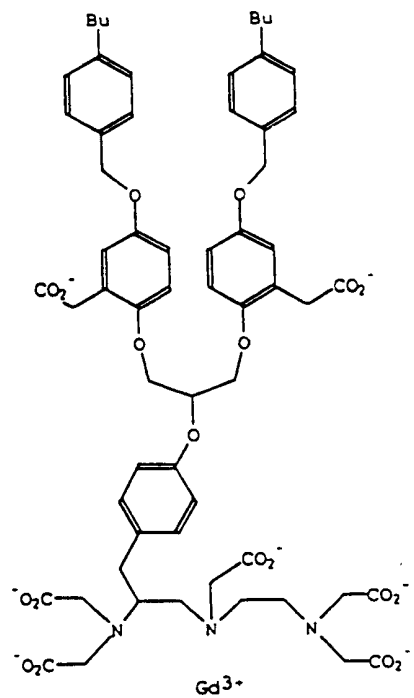
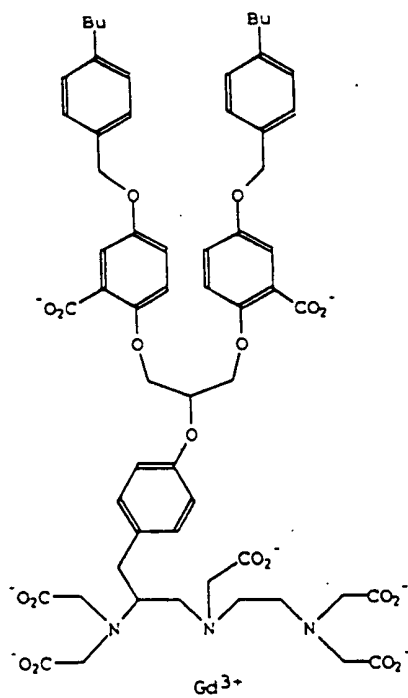
为改善 HSA 结合和松弛率, 可将 C₈ 辛基置于 DTPA 骨架的 1 位。尽管这样确实使 HSA 结合到螯合物上并引起血液信号的一定的改善, 但是亲脂

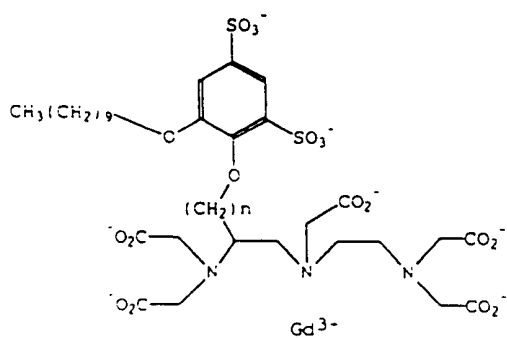
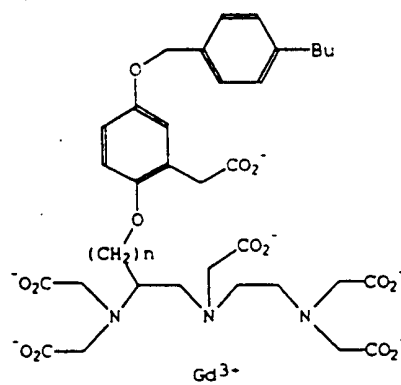
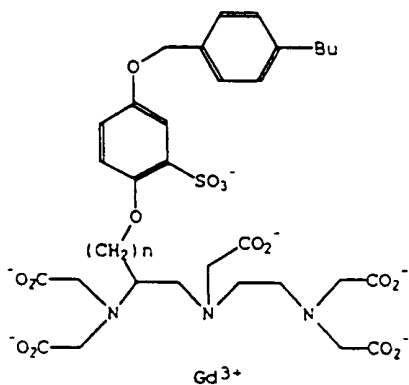
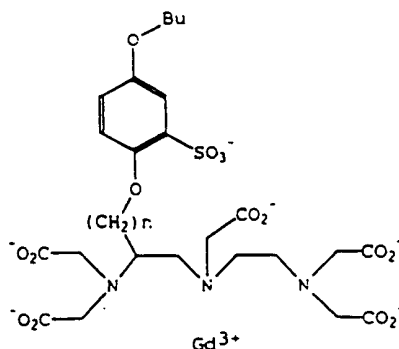
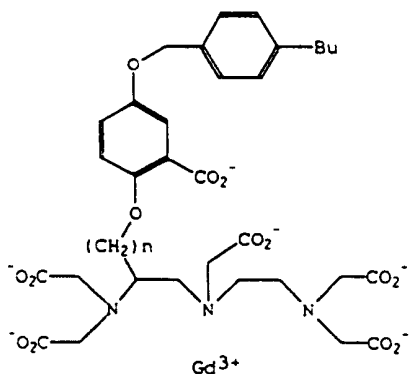
基独自就导致血浆半衰期的大为缩短。基于磷酸根的 BHEM 的插入实际上增强了 HSA 结合并使血浆半衰期恢复到接近于 Gd - DTPA 的值。因此，血液信号得以显著改善。

这些实例中对 BHEM 的合适的设置显示了本发明在这方面的重要性。将强亲水基连接到 MS - 301 和 MS - 310 上可增强结合至某程度。在 MS - 315 和 MS - 321 中将磷酸基设置在 IEM 和 PPBM 之间可使 PPBMs 的整个疏水性表面与 HSA 位点的内部相互作用，而且同时在该化合物和 HSA 位点的“踝”区之间产生新的有利的相互作用（例如静电的或氢键键合的）。特别地，有可能将负电性的磷酸基妥善地设置而与连接“踝”区的正电性残基相互作用。

如上所示，AUC-conc. 的增长百分数会依赖于进行测定的时间。例如，将磷酸根 BHEM 连接到 MS - 310 上而得 MS - 321，在 0 - 10min. 内使 AUC - conc. 从 1.8 增到 3.2mMmin.，增长 78 %。然而，在 0 - 30min. 内 AUC - conc. 从 2.46 增到 5.57mMmin.，增长 126 %。

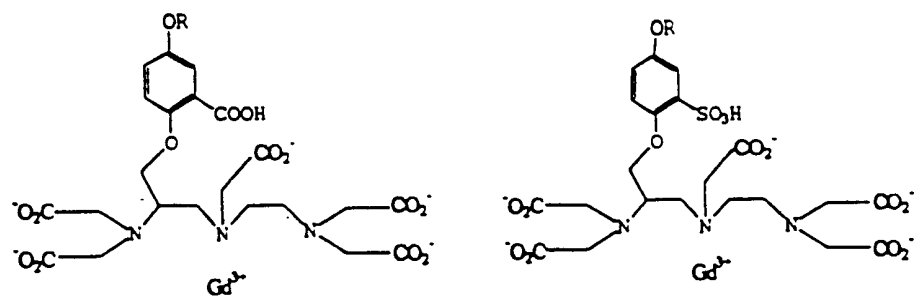
制备出下述造影剂：





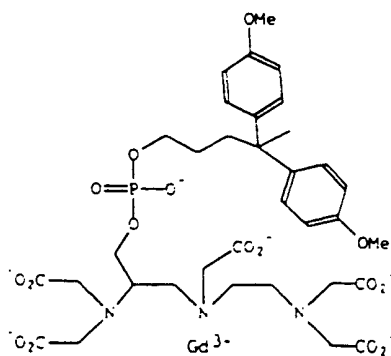
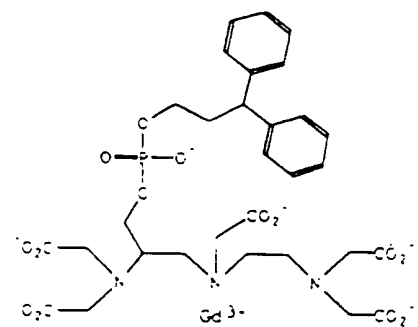
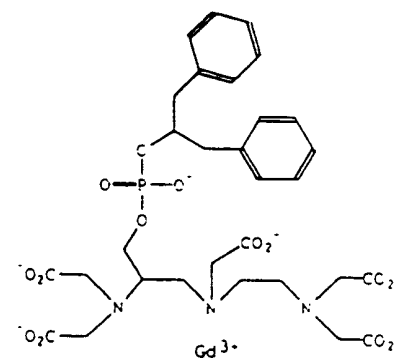
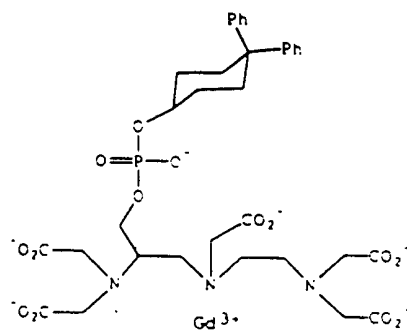
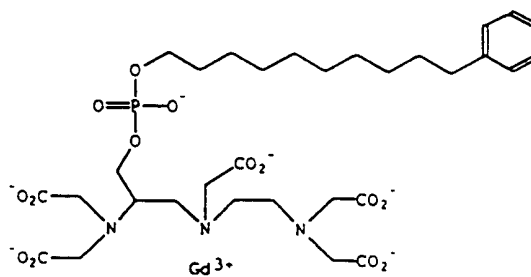
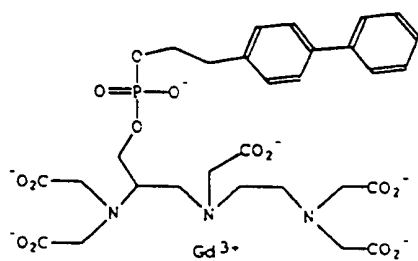
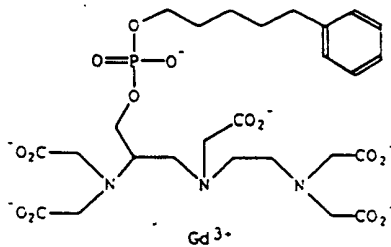
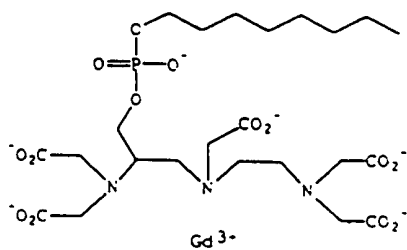
上述药剂中，n可等于1-4。

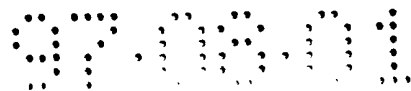
I



其中R包括一个脂族基和/或至少一个芳环，或包括含疏水性氨基酸残基和/或带有或没有疏水性或亲水性端基的取代基的肽。

本发明的优选的造影剂有：





本发明的更优选的造影剂有：MS - 317、MS - 322、MS - 325 和 MS - 328。最优选的是 MS - 325。

该造影剂的其它性能

由于药物或生物分子的不同手性形式会影响其体内性能，本发明的造影剂也不例外。对于每个给定的手性中心，某形式可能具有更高的松弛率、血液半衰期、更低的毒性、更少的代谢物、或某些其它的优点或这些优点的组合。这些手性形式将是优选的。

为便于施药和摄取，本发明的造影剂应具有良好的水溶性。在室温下的水中，造影剂应可溶至浓度至少为 1.0mM，且优选为 10mM，而更优选为 100mM。

用于注射时，配制的药剂应只有适度的粘度以达到迅速、方便的注射。该粘度应低于 $10.20 \times 10^{-4} \text{kg-s/m}^2$ (10 厘泊)，或优选低于 $5.10 \times 10^{-4} \text{kg-s/m}^2$ (5 厘泊)，或更优选低于 $2.04 \times 10^{-4} \text{kg-s/m}^2$ (2 厘泊)。

用于注射时，配制的药剂也应不具有过高的渗透度，否则会增大毒性。渗透度应小于 3000 毫渗克分子/kg，或优选小于 2500 毫渗克分子/kg，或最优选小于 900 毫渗克分子/kg。

造影剂的应用

还预期 IEM 可能包括药物上可接受的盐。本发明的药物上可接受的盐包括那些得自无机的或有机的酸和碱的盐。包括于其中的这种酸式盐如下：乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐(hemisulfate)、庚酸盐、己酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-乙烷磺酸盐、烟酸盐、草酸盐、pamoate、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐和十一烷酸盐。碱式盐包括：铵盐，碱金属盐如钠和钾盐，碱土金属盐如钙、镁盐和锌盐，有机碱的盐如二环己基胺盐，N-甲基-D-葡萄糖胺，和氨基酸如精氨酸、赖氨酸等等的盐。还有，碱性含氮基可被下列试剂季铵化：低级烷基卤化物如甲基、乙基、丙基和丁基的氯化物、溴化物和碘化物；二烷基硫酸盐如二甲基、二乙基、二丁基和二戊基的硫

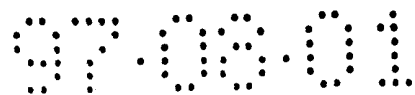
酸盐，长链卤化物如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂酰基的氯化物、溴化物和碘化物，芳烷基卤化物如苜基和苯乙基的溴化物及其它。由此得到水或油-溶性或可分散的产物。本发明的优选的盐有：N-甲基-D-葡萄糖胺、钙和钠盐。

本发明的药物组合物包括该发明的任意配合物，或其药物上可接受的盐，以及任何药物上可接受的载体、佐剂或介质。可用于本发明的药物组合物中的、药物上可接受的载体、佐剂和介质包括但不限于：离子交换剂，氧化铝，硬脂酸铝，卵磷脂，血清蛋白质如人血清白蛋白，缓冲物质如磷酸盐，甘氨酸，山梨酸，山梨酸钾，TRIS（三羟甲基氨基甲烷），饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物，水，盐或电解质如鱼精蛋白硫酸盐，磷酸氢二钠，磷酸氢钾，氯化钠，锌盐，胶态氧化硅，三硅酸镁，聚乙烯基吡咯烷酮，基于纤维素的物质，聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯，蜡，聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物，聚乙二醇和羊毛脂。

按本发明，药物组合物可以无菌的可注射制剂形式例如无菌的可注射水溶性的或含油的悬浮液。该悬浮液可按本技术中已知方法利用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来配制。该无菌的可注射制剂也可以是无菌可注射溶液或在无毒性的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的悬浮液，例如作为在1, 3-丁二醇中的溶液。可应用的能接受的介质和溶剂有：水、林格溶液和等渗压的氯化钠溶液。此外，无菌的固定油常被用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可被应用的任意温和的固定油包括合成的单-或二-甘油酯。脂肪酸如油酸及其甘油酯衍生物在制备可注射剂方面很有用，同样有用的还有天然的、药物上可接受的油如橄榄油或蓖麻油，尤其是以其聚氧乙烯化的形式。这些油溶液或悬浮液还可含有长链醇稀释剂或分散剂如 Ph. Helv 或类似的醇。

由于本发明的造影剂与血浆蛋白质结合，在某些情况下依赖于注射的剂量和速率，血浆蛋白质上的结合点会变得饱和。这就会导致该药剂结合量的减少并可能影响半衰期或耐受性。所以，最好是注射预先与无菌的白蛋白或血浆替换物溶液结合的该药剂。另外，可供使用的器具/注射器装有造影剂，将它与抽入注射器的血液混合后，再注入病人体内。

本发明的化合物和药物组合物可按如下方式施药：经口地、非肠道



地、用喷雾吸入法、局部地、经直肠地、经鼻地、向颊、经阴道地或经植入的贮源，以含有常用的非毒性药物上可接受的载体、佐剂和介质的剂量配方形式。本文中所用术语“非肠道的”包括：皮下的、静脉内的、肌内的、关节内的、滑膜内的、胸骨内的、鞘内的、肝内的、损伤内的和颅内的注射或输注法。

如果经口施药，则本发明的药物组合物可以任意的口腔可接受的制剂形式施药，它包括但不局限于：胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。至于口服的片剂，常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还加入润滑剂如硬脂酸镁。至于口服的胶囊剂，有用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。如果要求口服水性悬浮液，将活性成分与乳化剂和悬浮剂结合。需要的话，还可加入一些甜味剂、调味剂或着色剂。

另外，如果以栓剂形式对直肠施药，则本发明的药物组合物可通过将该药剂与合适的非刺激性赋形剂混合而制备，赋形剂在室温下是固态但在直肠的温度下是液态，因而它会在直肠内融化而释放出药物。这类原料包括：可可油、蜂蜡和聚乙二醇。

如前所述，本发明的药物组合物还可被局部施药，尤其是治疗部位包括局部施用易于进入的部位或器官时，后者包括眼、皮肤或下部的肠道。合适的局部剂型易于配制成适合这些部位或器官的药剂形式。

以直肠的栓剂剂型（参见上述）或合适的灌肠剂型对下部的肠道进行局部施药会是有效的。也可采用局部-经皮膏药。

至于局部的搽剂，该药物组合物可配制于合适的软膏中，它含悬浮于或溶于一种或多种载体的活性成分。用于将本发明的化合物局部施药的载体包括但不局限于矿物油、液态矿脂、白凡士林、丙二醇、聚环氧乙烷、聚氧化丙烯化合物、乳化蜡和水。另外，该药物组合物可被配制成合适的洗剂或乳膏，它含悬浮于或溶于一种或多种药物上可接受的载体的活性成分。合适的载体包括但不局限于：矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、多乙氧基醚 60 (polysorbate 60)、鲸蜡基酯蜡、十八烷醇 (cetaryl alcohol)、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。

至于眼的用药，该药物组合物可被配制成等渗压的、pH调节的无菌盐水的微粒化悬浮液，或优选是等渗压的、pH调节的无菌盐水的溶液，含

或不含有如 benzylalkonium chloride 的防腐剂。另外，至于眼的用药，该药物组合物可被配成如凡士林的软膏。

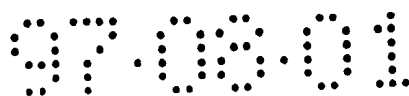
至于通过鼻的气雾剂或吸入剂施药，本发明的药物组合物可按药物制剂技术中人们熟知的方法配制，且可被配制成盐水溶液，用到苯甲醇或其它合适的防腐剂、助吸收剂以提高生物利用度、碳氟化合物、和/或其它常用的增溶剂或分散剂。

剂量依赖于诊断用成像测试仪器的灵敏度和造影剂的构成。例如，对于MRI成像，含高度顺磁性物质如钆 (III) 的造影剂，与含具有更低磁矩的顺磁性物质如铁 (III) 的造影剂相比，通常需要更低的剂量。优选的剂量可在约 0.001-1mmol 的活性金属-配体复合物/kg 体重/天的范围内；更优选的剂量可在约 0.005-约 0.05mmol/kg 体重/天的范围内。

然而应明白，对任何特定的病人的具体剂量方式还会依赖于多种因素，包括年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、施药的时间、排泄速率、药物结合、和治疗医师的意见。

如果本发明的应用是MRI成像，在施药适当剂量的造影剂之后，就进行MRI成像。脉冲序列(逆转恢复(inversion recovery), IR; 自旋回波, SE; 二维回波(echo planar), EPI; 飞行时间(time-of-flight), TOF; 透平-闪烁(turbo-flash); 梯度变化回波(gradient echo), GE) 和成像参数的值(回波时间(echo time), TE; 逆转时间(inversion time), TI; 重复时间, TR; 反转角(flip angle), 等等)的选择将由获取诊断用信息来控制。一般地，如果要获得T₁-加权图象(weighted images)，则TE应小于30毫秒(或极小值)以便使T₁-加权(T₁-weighting)达最大值。反之，如果要测定T₂，则TE应大于30毫秒以便将竞争性T₁效果减至最小。对于T₁-和T₂-加权图象二者，TI和TR应保持大致相同；TI和TR通常地分别在约5-1000和2-1000毫秒的数量级上。

本发明的MRI造影剂对于通常的肿瘤、血脑屏障损坏和其它损伤的成像很有用。此外，它们对于检查灌注液、即血液流入和流出组织(心脏、大脑、腿、肺、肾、肿瘤等等)和血管(MR血管造影术)非常有用。还有，该药剂可用于增强大脑出现认识故障(cognitive events)期间的信号变化(功能MRI)。



预计本发明的造影剂还可用于增强诊断用 X - 射线成像和超声成像与光成像。在这些场合中, 该药剂的剂量可约等于 MRI 中的剂量 (0.001-10mmol/kg)。然而, 至于核成像, 剂量应在示踪剂水平。对于所有这些技术, 造影剂的应用和施药以及在成像仪器上的设置在本技术中是已知的或利用通常认可的方法。

为了使本发明被更充分地理解, 提出了下述实施例。

实施例

实验方法

除非另有说明, 所有原料都是商购的且未进一步纯化而直接使用。THF 用前刚从二苯酮羧基钾中蒸馏过。二氯甲烷从氯化钙中蒸出。所有柱色谱是在氮气中按 Still 描述的快速法 (flash method) 用硅胶 (230 - 400 目, EM Separation) 进行操作。所有反应用薄层色谱法 (TLC) 监控, TLC 是在铝背硅胶 60F₂₅₄, 0.2mm 板 (EM Separation) 上操作的, 而化合物是在 UV 光 (254nm) 下检验, 接着是 Ninhydrin-Plus 试剂或 Dragendorff's 试剂 (都得自 Alltech) 加热。记录在 300MHz 下的 CDCl₃ 中以 TMS 作内标的常规质子 NMR 光谱, 在 D₂O 中记录的光谱除外。报告是以赫兹 (Hz) 表示的偶合常数 (J)。 ³¹P NMR 谱是在 121.4MHz 下获得的。

亚氨基磷酸酯 (Phosphoramidite) 中间物的制备

A. 丝氨酸乙二胺氯化物

将丝氨酸甲酯盐酸化物 (36.03g, 232mmol) 溶于 400ml 乙二胺, 在室温下搅拌 16 小时。减压蒸发除去乙二胺。将残余物溶于 80ml 4N NaOH, 再在减压下浓缩。将该物质溶于甲醇 (150ml), 过滤后浓缩二次。残余物被悬浮于二氯甲烷 (150ml) 中, 加入甲醇 (5 - 10ml) 并加热至油状残余物被溶解为止。将该溶液用 Na₂SO₄ 干燥, 通过硅藻土过滤并浓缩。该粘稠的油状产物未经进一步纯化而用于后续操作。

B. 2 - 羟甲基二亚乙基三胺三盐酸化物

将粗氯化物 (<230mmol) 溶于 100ml THF, 在搅拌下缓慢地加入甲硼烷 · THF (1150ml, 1.0M)。然后在 Ar 中回流反应 16 小时。在 0 °C 下小心地加入 250ml 甲醇使过量的甲硼烷骤冷。再减压浓缩该反应混合物, 冷

却下缓慢地加入浓 HCl (100ml), 然后将溶液回流 24 小时。减压浓缩该产物混合物, 再从 MeOH/EtOH 中结晶, 得 39.92g 白色固体 (71 % 按甲酯计)。

C. 1 - 羟甲基 - DTPA - 五叔丁酯 (1)

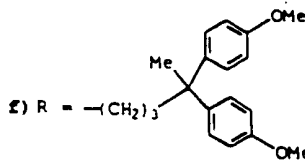
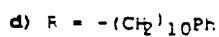
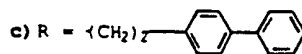
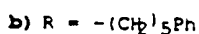
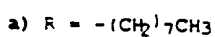
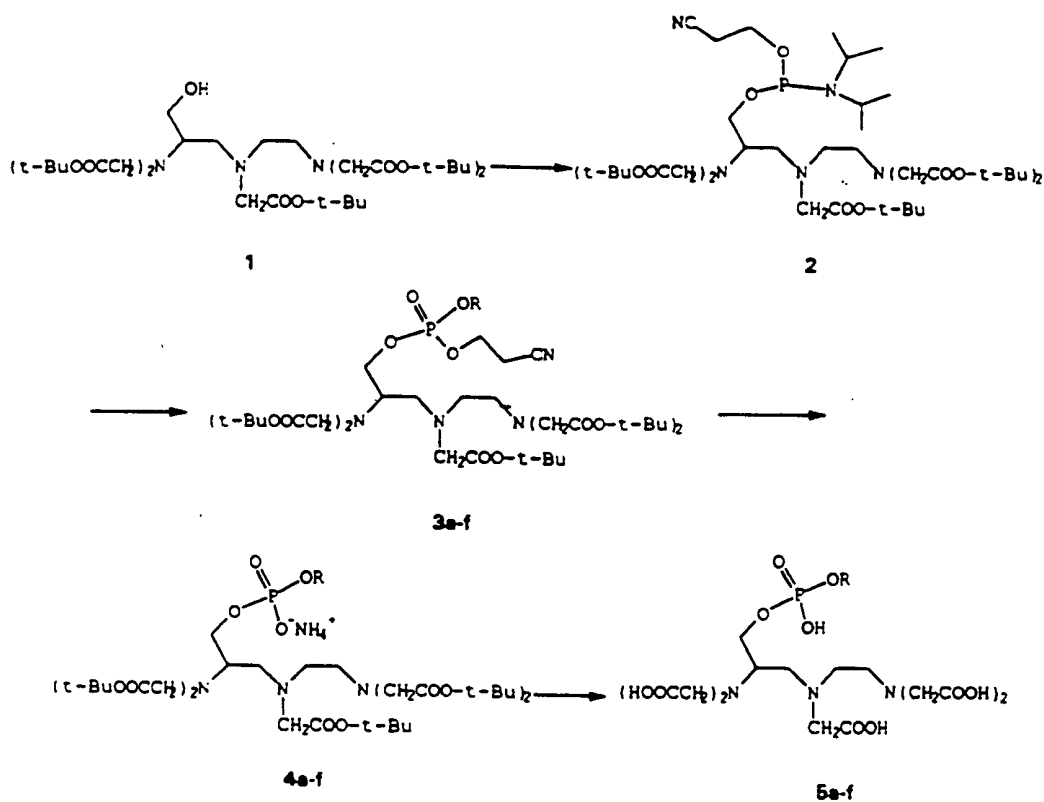
往羟甲基二亚乙基三胺三盐酸化物 (30.25g, 124.70mmol) 和二异丙基乙胺 (218ml, 1.25mol) 在室温时和 N₂ 中的 300ml 无水 DMF 溶液中, 加入溴乙酸叔丁酯 (126ml, 0.78mol) 并在室温下搅拌 24 小时。然后在真空中蒸发掉溶剂, 而残余物被溶于 EtOAc, 并用 H₂O、NaHCO₃、H₂O 和 NaCl (饱和) 提取。将该残余物用硅胶柱色谱法 (CHCl₃ only-CHCl₃: MeOH = 100:1) 纯化而得纯产物(油, 70.12g, 81.7 %): R_f (CHCl₃:MeOH=10:1) 0.54, (乙醚: 己烷 = 2:1) 0.23; ¹H - NMR (CDCl₃) δ 1.44 (brs, 45H), 2.44-3.06 (m, 6H), 3.24 和 3.29 (each d, each 1H, J=16.8), 3.34-3.58 (m, 10H), 3.66 (dd, 1H, J=11.2, 5.3), 4.20-4.70 (br, 1H)。

D. 亚氨基磷酸酯中间物 (2)

在室温搅拌下, 往五叔丁酯 (1) (12.88g, 18.72mmol) 和二异丙基乙胺 (4.55g, 36mmol) 的蒸馏过的 CH₂Cl₂ (100ml) 溶液中加入 N, N - 二异丙基氯化亚氨基磷酸 2 - 氰乙酯 (5.92g, 25mmol)。室温下搅拌混合物达 2 小时, 用 100ml CH₂Cl₂ 稀释该溶液, 再用冰冷的 10 % NaHCO₃ 溶液 (100ml)、H₂O (100ml) 和盐水 (100ml) 洗涤, 然后用 MgSO₄ 干燥。将有机层蒸发得淡黄色油状粗产物 (2)。该粗产物可不经进一步纯化而用于下述偶合反应。

下述实施例 1 - 6 给出按以下一般示意图合成本发明的一些优选的造影剂:

磷酸二酯配体的合成



实施例 1

MS - 315 - (2) - (3a) - (4a) - (5a) 的制备

A. 正辛氧基磷酸酯 (3a)

用对 (3d) 描述的同样方法从粗亚氨基磷酸酯中间物 (2) (用 4.40g, 6.40mmol 1-羟基甲基 - DTPA - 五叔丁酯 (1) 制备) 制得, 并用硅胶柱色谱法 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) 纯化 [2.71g, 基于 (2) 为 44.7 % 的总产率]。Rf ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=10:1$) 0.33。

B. 正辛基磷酸二酯 (4a)

用对 (4e) 描述的同样方法从磷酸酯 (3a) (2.70g, 2.84mmol)

制得 (2.17g, 85.1 %)

C. MS - 315 (5a)

将 (4a) (2.16g, 2.41mmol) 在三氟乙酸 (20ml) 中的溶液在室温下放置 1 小时。蒸发掉溶剂后将残余物溶于 5ml H₂O。用 C₁₈ 反相硅胶柱 (Sep-Pak 预填充的柱体, Waters) (H₂O only-CH₃CN: H₂O=1:4) 纯化该溶液而得纯产品 (5a) (1.13g, 76.2 %)。 ³¹P - NMR (D₂O) d2.3。

实施例 2

MS - 317 - (2) - (3b) - (4b) - (5b) 的制备

A. 5 - 苯基 - 1 - 戊氧基磷酸酯 (3b)

用对 (3d) 描述的同样方法从粗亚氨基磷酸酯中间物 (2) (用 2.72g, 3.96mmol 的 1 - 羟基 - DTPA - 五叔丁酯 (1) 制备) 制得, 只是粗产物 (3b) 未经硅胶柱色谱法纯化而被用于下一步反应 (4.28g 粗的)。 R_f (CHCl₃: MeOH=10:1) 0.26。

B. 5 - 苯基 - 1 - 戊基磷酸二酯 (4b)

用对 (4e) 描述的同样方法从磷酸酯 (3b) 制得, 但粗产品用 Sephadex LH20 色谱法纯化 (2.72g 粗的)。 R_f (CHCl₃: MeOH=10:1) 0.11。

C. MS - 317 (5b)

用对 (5a) 描述的同样方法从粗产物 (4b) (2.72g) 制得 [1.12g, 基于亚氨基磷酸酯中间物 (2) 为 43.5 % 的总产率]。 ³¹P - NMR (D₂O) d0.1。

实施例 3

MS - 322 - (2) - (3c) - (4c) - (5c) 的制备

A. 2 - (4 - 联苯基) - 1 - 乙氧基磷酸酯 (3c)

用对 (3d) 描述的同样方法从纯化了的亚氨基磷酸酯中间物 (2) (3.50g, 3.87mmol) 制得, 只是 (3c) 的粗产物 (4.13g 粗的) 未用硅胶柱色谱法纯化而被用于下一步反应。

64

B. 2 - (4 - 联苯基) - 1 - 乙基磷酸二酯 (4c)

用对 (4e) 描述的那样方法从磷酸酯 (3c) (4.13g 粗的) 制得, 但粗产物用 Sephadex LH20 色谱法纯化 (2.34g 粗的)。

C. MS - 322 (5c)

用对 (5a) 描述的那样方法从粗产物 (4c) (2.34g) 制得 [1.15g, 基于亚氨基磷酸酯中间物 (2) 为 43.5% 的总产率]。 ^{31}P -NMR (D_2O) d3.7。

实施例 4

MS - 323-(2)-(3d)-(4d)-(5d) 的制备

A. 10 - 苯基 - 1 - 癸氧基磷酸酯 (3d)

往纯化过的亚氨基磷酸酯 (2) (15.20g, 16.81mmol) 的蒸馏过的 CH_3CN (50ml) 的溶液中, 加入 10 - 苯基 - 1 - 癸醇 (9.00g, 38.39mmol) 和 1H - 四唑 (2.36g, 33.70mmol) 的蒸馏过的 CH_3CN (50ml) 中的溶液。加入叔丁基过氧化氢 (90%, 2.33ml, 21.00mmol) 进行反应并在室温下放置 1 小时。在真空中浓缩溶剂 (大约 10ml), 而残余物被分配于 AcOEt 和 H_2O 之间。有机层用 H_2O 和 NaCl (饱和) 洗涤, 在 MgSO_4 上干燥后蒸发。将残余物用硅胶柱色谱法 (hexanes only-hexanes: ether=1:1 然后 CHCl_3 : MeOH =100:1-50:1) 纯化得产物 (3d) (14.12g, 79.7%)。Rf (CHCl_3 : MeOH =10:1) 0.35。

B. 10 - 苯基 - 1 - 癸基磷酸二酯 (4d)

用与对 (4e) 相同的方法从磷酸酯 (3d) (12.27g, 11.65mmol) 制得 (10.52g, 90.3%)。Rf (CHCl_3 : MeOH =10:1) 0.15。

C. MS - 323 (5d)

将 (4d) (10.50g, 10.50mmol) 在 CHCl_3 (痕量金属级, 15ml) 和乙醚 (15ml) 中的混合物在室温下搅拌过夜, 然后在真空中蒸去乙醚。向所得水层 ($\text{pH} < 0$) 中加入 cNH_4OH 调节 pH 至 1.5。通过过滤收集沉淀出的白色固体并用蒸馏过的 HCl 溶液洗涤 (pH 1.5, 3 次, 每次 100ml) 和乙醚 (3 次, 每次 200ml) 洗涤。在室温下泵抽 24 小时干燥该白色固体而得纯

产物 (5d) (6.80g, 90.0%)。 ^{31}P -NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$, $\text{PH} = 13.5$) d4.9.

实施例 5

MS-325-(2)-(3e)-(4e)-(5e)的制备

A. 4, 4-二苯基环己氧基磷酸酯 (3e)

用对 (3d) 描述的同样方法从纯化了的亚氨基磷酸酯中间物 (2) (4.52g, 5.00mmol) 制得, 不同的是硅胶柱色谱溶剂 (CH_2Cl_2 only- $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=100:1$) (2.97g, 55.4%)。 R_f ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=10:1$) 0.47.

B. 4, 4-二苯基环己基磷酸二酯 (4e)

将 (3e) (2.14g, 2.00mmol) 在 2M $\text{NH}_3 - \text{MeOH}$ (30ml) 中的溶液在室温下搅拌 5 小时。蒸发掉溶剂, 而残余物 (4e) (2.00g, 98.3%) 未经进一步纯化直接用于后续反应。 R_f ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=10:1$) 0.12.

C. MS-325 (5e)

将 (4b) (2.00g, 1.96mmol) 在 CHCl_3 (痕量金属级, 5ml) 和乙醚 (5ml) 中的混合物于室温下搅拌过夜。蒸发掉溶剂, 将残余物与水 (100ml) 研制。过滤生成的沉淀并用 H_2O 洗涤 (5 次, 每次 10ml) 和乙醚 (5 次, 每次 50ml) 洗涤。室温下泵抽 24 小时干燥该固体产物而得纯产品 (5b) (1.18g, 81.5%)。 ^{31}P -NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$, $\text{PH} = 13.5$) d-0.3.

实施例 6

MS-328-(2)-(3f)-(4f)-(5f)的制备

A. 4, 4-双(4-甲氧苯基)戊基磷酸酯 (3f)

用对 (3d) 描述的同样方法从 32.5g (36mmol) 粗的亚氨基磷酸酯 (2) 和 4, 4-双(4-甲氧苯基)戊醇 (21.06g, 70mmol) 制得。在 50% EtOAc/己烷中操作色谱得 18.27g 被起始的醇严重污染的黄色油状物。 R_f (50% EtOAc/Hex) 0.4.

B. 4, 4 - 双 (4 - 甲氧苯基) 戊基磷酸二酯 (4f)

用对 (4e) (17.26g) 描述的同样方法制得 (3f) (18.27g) 的溶液。

C. MS - 328 (5f)

用对 (5a) 描述的方法从 (4f) (17.26g) 制备得 4.88g 白色固体 (4.87mmol, 基于亚氨基磷酸酯为 13% 的产率)。³¹P - NMR (D₂O) d2.3。
实施例 7

5a (MS-315) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制 (200mM, 5ml)

在试管中称量氧化钆 (Gd₂O₃) (0.181g, 0.5mmol)、化合物 (5a) (92wt. %, 0.703g, 1.05mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (4.1g, 3.6mmol)。加入去离子水 (3.5ml) 并在 95 °C 下搅拌混合物达 7 小时, 然后将该溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 5.0ml。用 2 × 10⁻⁶m (2 微米) 滤器过滤该溶液得标题化合物的水溶液。

实施例 8

5b (MS - 317) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制 (200mM, 4ml)

在试管中称量氧化钆 (Gd₂O₃) (0.145g, 0.4mmol)、化合物 (5b) (81wt. %, 0.706g, 0.84mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (0.60g, 8.1mmol)。加入去离子水 (3ml) 并在 95 °C 下搅拌该混合物达 6 小时, 然后将此溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 4.0ml。用 2 × 10⁻⁶m (2 微米) 滤器过滤该溶液得标题化合物的水溶液。

实施例 9

5c (MS - 322) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制 (200mM, 4ml)

在试管中称量氧化钆 (Gd₂O₃) (0.145g, 0.4mmol)、化合物 (5c) (79wt. %, 0.729g, 0.84mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (0.61g, 3.1mmol)。加入去离子水 (3ml) 并在 95 °C 下搅拌该混合物达 6 小时, 然后将此溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 4.0ml。用 2 × 10⁻⁶m (2

微米) 滤器过滤该溶液得标题化合物的水溶液。

实施例 10

5e (MS - 325) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制
(200mM, 5ml)

在试管中称量氧化钆 (Gd_2O_3) (0.181g, 0.5mmol)、化合物 (5e) (95wt. %, 0.820g, 1.05mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (0.68g, 3.5mmol)。加入去离子水 (3.5ml) 并在 95 °C 下搅拌该混合物达 6 小时, 然后将此溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 5.0ml。用 $2 \times 10^{-6}m$ (2 微米) 滤器过滤该溶液得标题化合物的水溶液。

实施例 11

5f (MS - 328) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制 (200mM, 5ml)

在试管中称量氧化钆 (Gd_2O_3) (0.181g, 0.5mmol)、化合物 (5e) (97wt. %, 0.850g, 1.05mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (0.62g, 3.2mmol)。加入去离子水 (3.5ml) 并在 95 °C 下搅拌该混合物达 6 小时, 然后将此溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 5.0ml。用 $2 \times 10^{-6}m$ (2 微米) 滤器过滤该溶液得标题化合物的水溶液。

实施例 12

5b (MS - 317) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制

在试管中称量氧化钆 (Gd_2O_3) (0.50g, 1.38mmol)、化合物 (5b) (87wt. %, 1.87g, 2.5mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (1.53g, 7.8mmol)。加入去离子水 (8ml) 并在 95 °C 下搅拌该混合物达 6 小时, 然后将溶液冷却至室温, 用去离子水调节体积至 9.0ml。该溶液被装在 10 - g Sep-Pak[®] 柱上, 再用水洗脱。减压下蒸发掉溶剂, 而固态、白色玻璃状残余物在高真空下干燥达 48 小时。产率: 3.50g (2.48mmol, 99%)。对 (NMGH⁺)₃[Gd(5e⁵⁻)(H₂O)] (C₄₇H₉₁GdN₆O₃₀P)

分析计算: C, 40.08; H, 6.51; N, 5.97; Gd, 11.16.

实测: C, 40.24; H, 6.69; N, 5.88; Gd, 10.11.

实施例 13

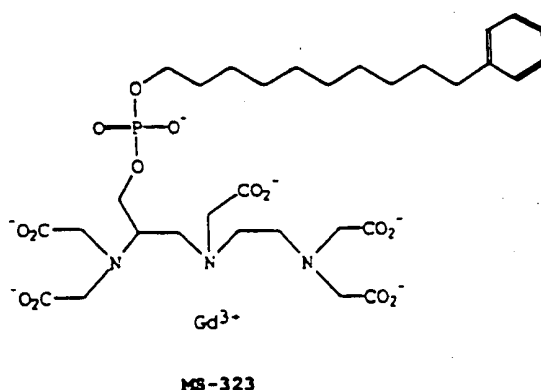
5d (MS - 323) 的钆配合物的 N - 甲基 - 葡糖胺盐的就地配制

在 50ml 圆底烧瓶中称量氯化钆六水合物 ($GdCl_3 \cdot 6H_2O$) (2.11g, 5.68mmol)、化合物 5d (74wt. % , 5.82g, 5.98mmol) 和 N - 甲基 - 葡糖胺 (NMG) (6.06g, 31mmol)。加入去离子水 (16ml)，然后在 95 $^{\circ}C$ 下搅拌该混合物达 4 小时, 再冷却至室温。将该溶液装在 C - 18 柱 (200g) 上, 用水 - 甲醇 1:1 混合物洗脱。减压蒸发掉溶剂得白色、玻璃状固体。

产率: 8.0g (5.41mmol, 95 %)。对 ($NMGH^+$)₃[$Gd(5d^{5-})(H_2O)$] ($C_{52}H_{100}GdN_6O_{30}P$) 的分析计算: C, 42.27; H, 6.82; N, 5.69; Gd, 10.64。实测: C, 42.04; H, 7.03; N, 5.83; Gd, 9.55。

实施例 14

下列造影剂与 HSA 的结合多于 95 %。



证实其 AUC - conc. (在 0 - 10 分钟内) 比下列类似物高 100 % 或更高:

