

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 49/00

A61K 49/08



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03822648.0

[43] 公开日 2005 年 10 月 19 日

[11] 公开号 CN 1684710A

[22] 申请日 2003.8.11 [21] 申请号 03822648.0

[30] 优先权

[32] 2002.9.23 [33] US [31] 10/252,311

[86] 国际申请 PCT/US2003/025184 2003.8.11

[87] 国际公布 WO2004/026344 英 2004.4.1

[85] 进入国家阶段日期 2005.3.23

[71] 申请人 通用电气公司

地址 美国纽约州

[72] 发明人 利娜·汉卡 莫汉·M·阿马拉滕加

德尼塞·K·威克特

帕里托什·达瓦尔 内迪姆·艾沙克

费萨尔·A·斯尤德

布鲁斯·F·约翰逊

埃米·C·威廉斯

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 封新琴 巫肖南

权利要求书 5 页 说明书 14 页 附图 13 页

[54] 发明名称 包括荧光染料和 MRI 造影剂的双功能造影剂

[57] 摘要

本发明涉及用于提供活生物体内生物化学活性的高分辨率、体内成像的双功能检测剂。使用这些双功能检测剂的方法可以包括：将其给药于活生物体，然后使用一种模式（即 MRI）估计检测剂的定位，同时使用第二模式（即光学成像）估计生物化学活性的水平。一种双功能检测剂包括磁共振成分和光学成像成分。该磁共振成分包括总是活化或“打开”的造影剂。该光学成像成分包括可活化的造影剂或染料，该可活化的造影剂或染料仅仅在特定事件存在时被活化或“打开”。例如，该光学成像成分可以被以下事件活化：存在预定波长的光，和（1）存在特定的生物化学标记，（2）酶裂解，或（3）周围介质的温度或 pH 改变。这些双功能检测剂使得能够同时获得解剖学和功能/代谢信息。

1. 一种双功能检测剂，其包括：

磁共振成像成分；和

5 可活化的光学成像成分，

其中磁共振成像成分和光学成像成分含在单一双功能检测剂中，并且其中可活化的光学成像成分仅仅在预定事件存在时被活化。

2. 权利要求 1 的双功能检测剂，其中磁共振成像成分包括顺磁性材料和超顺磁性材料中的至少一种。

10 3. 权利要求 2 的双功能检测剂，其中顺磁性材料包括以下中的至少一种：螯合的钆络合物、顺磁性离子的螯合物和被覆的铁纳米颗粒。

4. 权利要求 3 的双功能检测剂，其中顺磁性离子包括以下中的至少一种：锰(Mn)、镨(Pr)、钕(Nd)、钐(Sm)、铕(Eu)、铽(Tb)、镝(Dy)、钬(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、镱(Yb)和镱(Lu)。

15 5. 权利要求 2 的双功能检测剂，其中超顺磁性材料包括超顺磁性离子的螯合物。

6. 权利要求 5 的双功能检测剂，其中超顺磁性离子包括以下中的至少一种：锰(Mn)、镨(Pr)、钕(Nd)、钐(Sm)、铕(Eu)、铽(Tb)、镝(Dy)、钬(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、镱(Yb)和镱(Lu)。

20 7. 权利要求 1 的双功能检测剂，其中可活化的光学成像成分包括至少一种光学染料。

8. 权利要求 7 的双功能检测剂，其中可活化的光学成像成分还包括至少一种猝灭剂。

9. 权利要求 1 的双功能检测剂，其中磁共振成像成分共价键合到可活
25 化的光学成像成分。

10. 权利要求 1 的双功能检测剂, 其中预定事件包括存在预定波长的光和以下中的至少一种: 存在预定的酶、在荧光活化部位酶裂解、当温度超过预定值时、当温度低于预定值时、当 pH 超过预定值时和当 pH 低于预定值时。
- 5 11. 权利要求 1 的双功能检测剂, 其中磁共振成像成分总是活化的。
12. 权利要求 1 的双功能检测剂, 其中磁共振成像成分能够使增强的解剖信息从活生物体获得。
13. 权利要求 1 的双功能检测剂, 其中可活化的光学成像成分能够使增强的功能信息从生物体获得。
- 10 14. 权利要求 13 的双功能检测剂, 其中功能信息包括代谢信息。
15. 一种双功能检测剂, 包括:
- 能够在活生物体内增强解剖信息的第一成分; 和
- 能够在活生物体内增强功能信息的可活化的第二成分, 其中第一和第二成分含在单一的双功能检测剂中, 并且其中可活化的第二成分仅仅在预
- 15 定事件存在时被活化。
16. 权利要求 15 的双功能检测剂, 其中第一成分总是活化的。
17. 权利要求 15 的双功能检测剂, 其中功能信息包括代谢信息。
18. 权利要求 15 的双功能检测剂, 其中通过计算机化断层现像、正电子成像术、和磁共振成像中的至少一种获得增强的解剖信息。
- 20 19. 权利要求 15 的双功能检测剂, 其中通过近红外荧光成像获得增强的功能信息。
20. 权利要求 15 的双功能检测剂, 其中预定情况包括存在预定波长的光和以下中的至少一种: 存在预定的酶、在荧光活化部位酶裂解、当温度超过预定值时、当温度低于预定值时、当 pH 超过预定值时和当 pH 低于预
- 25 定值时。

21. 一种获得活生物体中生物化学活性的高分辨率、生物体内成像的方法，包括以下步骤：

获得活生物体的解剖信息的图像；和

5 获得活生物体的功能信息的图像，其中在活生物体内存在双功能检测剂，其中双功能检测剂包括能够增强活生物体的解剖信息的第一成分和能够增强活生物体的功能信息的可活化的第二成分，并且其中可活化的第二成分仅仅在预定事件存在时被活化。

22. 权利要求 21 的方法，其中功能信息包括代谢信息。

10 23. 权利要求 21 的方法，其中在获得步骤进行前将双功能检测剂给药于生物体。

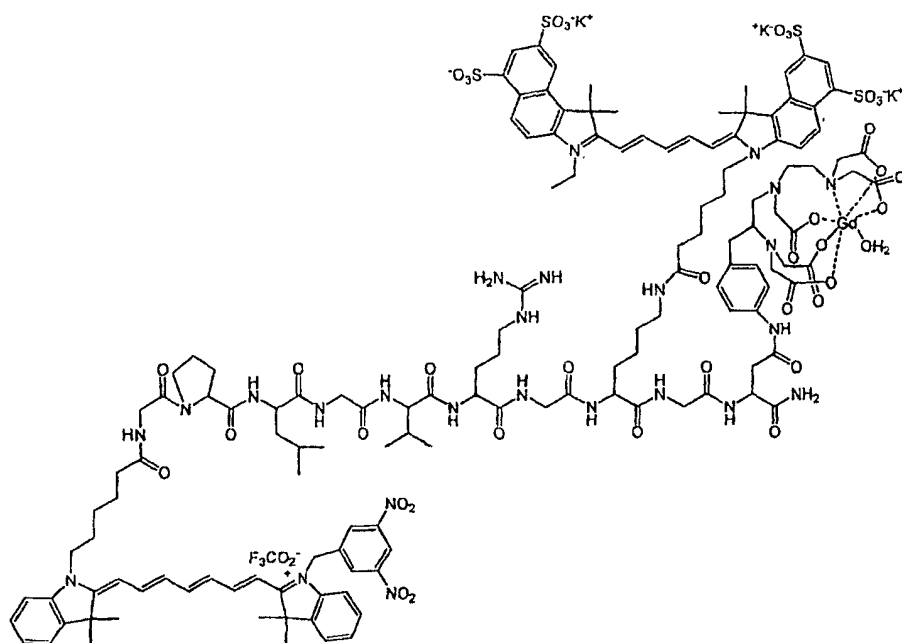
24. 权利要求 23 的方法，其中双功能检测剂以静脉内、口服和肌肉中的至少一种方式给药。

25. 权利要求 21 的方法，其中通过计算机化断层现像、正电子成像术和磁共振成像中的一种获得活生物体的解剖信息的图像。

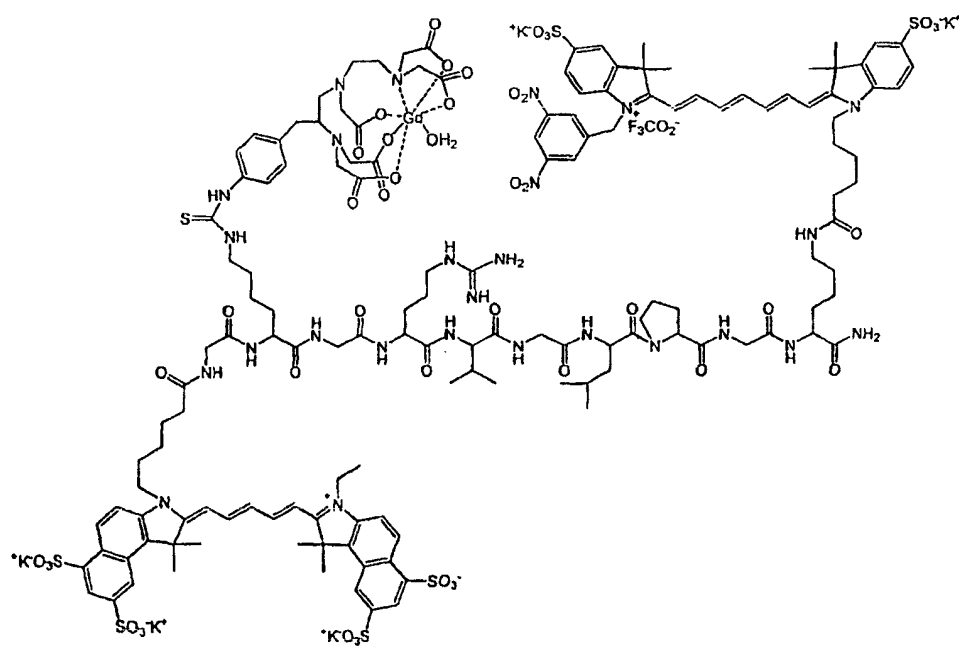
15 26. 权利要求 21 的方法，其中通过光学成像获得活生物体的功能信息的图像。

27. 权利要求 21 的方法，其中同时进行获得步骤。

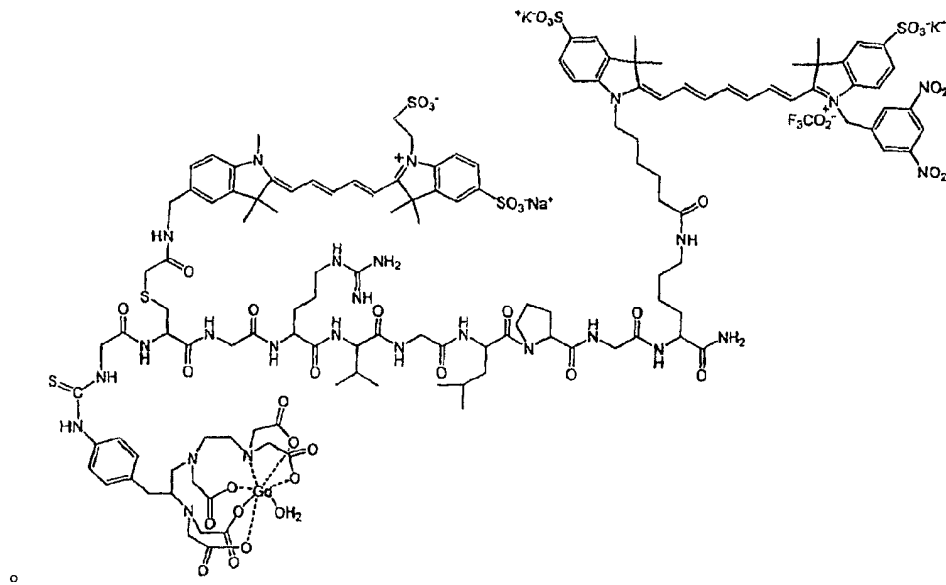
28. 一种双功能检测剂，包括：



29. 一种双功能检测剂，包括：



30. 一种双功能检测剂，包括：



31. 一种用于获得活生物体内生物化学活性的高分辨率、体内图像的系统，包括：

第一成像器件，其能够检测双功能检测剂的第一成像成分，以获得活生物体的解剖信息的图像；和

第二成像器件，其能够检测双功能检测剂的可活化的第二成像成分，以获得活生物体的功能信息的图像，

其中第一成像器件和第二成像器件能够同时使用，并且其中双功能检测剂的可活化的第二成像成分仅仅在预定事件存在时被活化。

32. 权利要求 31 的系统，其中功能信息包括代谢信息。

33. 权利要求 31 的系统，其中第一成像器件包括以下中的至少一种：磁共振成像器件、计算机化断层显像器件和正电子成像术器件。

34. 权利要求 31 的系统，其中第二成像器件包括光学成像器件。

35. 权利要求 31 的系统，其中第一成像器件和第二成像器件同时使用。

36. 权利要求 31 的系统，其中第一成像器件包括磁共振成像器件并且第二成像器件包括光学成像器件。

37. 权利要求 36 的系统，其中第一成像器件和第二成像器件同时使用。

包括荧光染料和 MRI 造影剂的双功能造影剂

5 技术领域

本发明一般性地涉及医学诊断成像领域。更具体地，本发明涉及设计和合成双功能造影剂(bifunctional contrast agent)以及使用该造影剂在活生物体内获得生物化学活性的高分辨率的体内图像的方法，可操作该造影剂用于磁共振成像("MRI")和光学成像(optical imaging)。

10

背景技术

磁共振成像("MRI")作为医学诊断技术在 20 年前建立，其能够提供关于人体的高分辨率解剖信息，并且一直用于检测多种疾病。MRI 使用核磁共振的原理产生身体图像。MRI 能够从任何角度和/或方向，在相对短的时间内，产生身体任何部分的薄截面图像(thin-section images)，而无需对身体的外科侵害。MRI 也能够身体的任何横截面中产生生物化学化合物的“地图”。

MRI 可能存在于人体中，因为人体内充满了小的生物磁体-对于 MRI 用途最重要的是氢原子的核，也称作质子。当患者置于 MRI 装置中时，他们的身体处于比地球磁场强 30,000 倍的稳定磁场中。MRI 用无线电波激励身体，以改变质子的稳态取向，使得质子在一个方向中或另一个方向中沿磁场排列。然后，MRI 停止无线电波，并且在选定频率“收听”身体的电磁传输。使用传输的信号构建身体内部的图像，使用与用于开发计算机化 X 射线轴向分层造影扫描仪(CAT 扫描仪)的原理相似的原理。因为组织和肿瘤的核磁弛豫时间不同，在 MRI 构建的图像中可以显现畸变。

持续光学成像以作为诊断模式更可接受，因为其不将患者暴露于电离辐射中。光学成像基于检测正常和肿瘤组织在吸收、散射和/或荧光中的不同。一类光学成像包括近红外荧光("NIRF")成像。通常，在 NIRF 成像中，具有限定带宽的滤过的光或激光用作激发光(excitation light)的光源。激发光经过身体传输，当其碰到 NIRF 分子或光学成像剂时，吸收了激发光。然后荧光分子(即光学成像剂)发射光谱不同于激发光(即它们是不同波长的光)的

可检测光。通常,可通过 NIRF 成像检测的光具有大约 600-1200 nm 的波长。光学成像剂使目标(target): 背景比例增加几个数量级,由此能够获得目标区域更好的可见度和分辨率。可以设计光学成像剂以使其仅仅在特定事件存在时(即在预定酶存在时)下发射可检测光。光学成像,例如 NIRF 成像,显示了用于检测身体中功能或代谢变化的光明前途,例如某些蛋白质或酶的过量生产。这是有用的,因为大部分疾病在解剖学变化发生前诱发体内早期的功能或代谢变化。检测这些代谢变化的能力有助于疾病的早期检测、诊断和治疗,由此提高了患者恢复和/或治愈的机会。

造影剂通常与 MRI 和/或光学成像结合使用以改善和/或增强从人体获得的图像。造影剂是导入身体中以改变两组织之间对比度的化学物质。通常, MRI 造影剂包括磁性探针,设计该探针以通过影响接近 MRI 造影剂的水分子中质子弛豫速率,而增强给定图像。这种在 MRI 造影剂附近的组织的 T1(自旋-晶格弛豫时间)和 T2(自旋-自旋弛豫时间)的选择性改变通过 MRI 改变了可见的组织的对比度。通常,光学造影剂包括染料,设计该染料在用外部辐射激发时发光。然后通过光学成像器件检测这种发射的光。

一般通过静脉注射进其循环系统,给人们施用造影剂,以便能够显现人体的脉管系统(vasculature)、胞外空间和/或胞内空间中的畸变。一些造影剂可以留在人们的脉管系统中并增亮脉管系统。其它造影剂可以穿透血管壁并通过不同的机理,例如与受体粘合,增亮胞外空间或胞内空间中的畸变。在将造影剂注入组织中后,造影剂的浓度先增加,然后随着造影剂从组织中消除而开始减小。通常,以此种方式获得对比度的提高,因为与另一组织相比,一个组织具有更高的亲和性或血管供应。例如,与周围组织相比,大部分肿瘤具有更高的 MRI 造影剂吸收,这是因为肿瘤的增加的血管供应和/或血管壁渗透性,通过 MRI 引起较短的 T_1 和更大的信号改变。

一般地, MRI 造影剂属于两类中的一类: (1) 顺磁性金属离子,例如钆(Gd)的络合体,或(2) 被覆的铁纳米颗粒。由于游离金属离子对身体有毒,它们通常与其它分子或离子络合,以防止它们与身体内的分子络合,由此减轻它们的毒性。一些典型的 MRI 造影剂包括但不限于: Gd-EDTA、Gd-DTPA、Gd-DOTA、Gd-BOPTA、Gd-DOPTA、Gd-DTPA-BMA(钆双胺)、ferumoxsil、ferumoxide 和 ferumoxtran。

另一类 MRI 造影剂-称作“灵敏”造影剂-包括通过身体的生理学或肿瘤的性质激活的造影剂，即通过 pH、温度和/或特定酶或离子的存在激活的试剂。MRI 灵敏造影剂的一些实例包括但不限于对体内钙浓度敏感的造影剂，或对 pH 敏感的那些造影剂。

- 5 “灵敏”光学造影剂近来用于体内以监视人体内的酶活性。这些灵敏造影剂仅仅在特定蛋白酶存在下产生对比度。因为蛋白酶是涉及多种疾病过程的关键因素，将造影剂或探针加工成为特定酶的能力应该最终使得人们能够检测用于各种病理状况的标志酶的表达水平。该方法能够提供用于通过光学成像研究皮肤表面附近的病理学的所有必须信息。然而，因为低
- 10 的定位信息是光学成像的特征，可能需要一种或多种额外的模式(modality)用于诊断在身体的更深处的病理学。

- 造影剂不仅仅是有用的，而且通常是需要的，以便使某些疾病的存在可检测。例如，在 MRI 中对比度(例如 T_1 、 T_2 和/或质子密度)的机理有些受限制，使得某些疾病在外生造影剂不存在时通过 MRI 仍然检测不到。这是
- 15 因为在一些疾病中不添加造影剂没有影响影响对比度的参数。因此，结合使用造影剂和 MRI 对于检测一些附加病理状况提供了优异的敏感性，由此使得一些疾病能够检测，这些疾病仅仅通过 MRI 是不可检测的。例如，在造影剂存在下，MRI 对于检测乳腺肿瘤具有非常高的灵敏度，但是对于检测癌组织却具有非常低的特异性。通过 MRI 识别癌组织的特异性也很低，
- 20 这是因为多种病理学，例如新血管的补充(recruitment)和生产，特征在于与癌组织的那些标记相似的标记。

- 虽然 MRI 和光学成像都提供有用信息，它们都不能独立地提供有助于所有疾病的早期诊断的所有信息。如前所述，大部分疾病在解剖学变化发生前诱发身体内的早期功能或代谢变化。虽然这些代谢变化几乎不能通过
- 25 现有的 MRI 技术检测，光学成像显示了能够检测这些变化的光明前景。然而，当考虑例如乳房成像等应用时，光学成像自身受可获得的空间分辨率的极大限制。粗略地说来，光学图像的空间分辨率为源与检测器之间的距离的大约 1/3，这可转变为用于在 9 cm 乳房上定位小病变的大约 3 cm 精度。通过光学成像定位病理学的不精确被证明是不可克服的缺点，导致其它有
- 30 前景的诊断技术不能被使用。然而，已知一起使用 MRI 和光学成像以获得更完全的解剖学和功能信息是有利的，从而有助于疾病的早期检测。事实

上, 光学成像和 MRI 彼此本质上是相匹配的, 并且已经同时获得了乳房的 MRI 和光学图像。然而, 目前不存在单一双功能造影剂, 该造影剂包括用于增强解剖信息的总是活化的(always-activated)磁共振成分和用于增强功能信息的可活化的光学成分。

- 5 许多造影剂和/或检测剂是已知的。然而, 许多仅仅是单官能的, 而不是双功能的。有关单官能的造影剂的现有技术没有启示可以使用单一检测剂同时从两种不同模式获得图像。虽然一些双功能的检测剂是已知的, 它们没有一种包括总是活化的第一和可活化的第二成分, 该第二成分仅仅在预定事件存在时发出可检测的信号(即仅仅在特定酶存在时发出可检测光)。
- 10 此外, 有关双功能造影剂的现有技术都没有披露或暗示使用可活化的光学成像成分, 也没有披露或暗示组合磁共振成像剂和可活化的光学成像成分。

- 因此, 需要可以用于进一步有助于疾病的早期检测的系统和方法。还需要使活生物体中生物化学活性高分辨率定位的系统和方法。还需要可以以两种不同的模式同时利用的双功能造影剂。仍然需要可同时在 MRI 和光学成像中利用的双功能造影剂。还需要双功能造影剂, 其包括用于获得增强的解剖信息的总是活化的第一成分, 和用于获得增强的功能信息的可活化的第二成分。最后, 需要双功能造影剂, 其中一种成分为可活化的成分, 其仅仅在预定事件存在时是可活化的。
- 15

20 发明内容

- 由此, 通过本发明的实施方式, 克服了现存造影剂和使用它们的方法的上述缺点。本发明的实施方式提供有助于疾病的早期检测的系统和方法。这些系统和方法使活生物体中生物化学活性定位的高分辨率的体内成像。本发明的实施方式可以包括双功能造影剂, 该造影剂能够同时用于两种不同的模式。一种实施方式包括双功能造影剂, 该造影剂能够同时用于 MRI 和光学成像中。这些双功能造影剂的实施方式可以包括用于获得增强的解剖信息的总是活化的第一成分和用于获得增强的功能信息的可活化的第二成分。在这些实施方式中, 这些双功能造影剂可包括一种可活化的成分, 该成分仅仅在预定事件存在时是可活化的。
- 25

- 30 本发明涉及双功能造影剂或探针, 和使用该双功能造影剂或探针的方法。本发明的一种实施方式包括可以同时用于 MRI 和光学成像二者的双功

能造影剂或探针。在这些实施方式中，这些双功能造影剂包括磁共振成分和光学成像成分。在这些实施方式中，光学成像成分包括一种染料分子和猝灭剂。在其它实施方式中，光学成像成分包括两种染料分子。在其它实施方式中，光学成像成分包括多种染料分子和多种猝灭剂。

- 5 根据上面列出的需要，本发明的实施方式提供双功能检测剂，各自包括至少一种共价键合到至少一种磁共振造影剂的可活化的光学造影剂或染料。在一种实施方式中，双功能检测剂包括共价键合到光学染料和猝灭剂分子二者的磁共振造影剂，其中连接染料和猝灭剂使得当用一定波长的光激发双功能检测剂时，猝灭剂有效吸收发出的光，以便减少被光学检测器
- 10 检测到的光量。磁共振造影剂可包括螯合的钆络合物(即 Gd-DTPA 或 Gd-DOTA)、涂覆的铁氧化物纳米颗粒等。可以设计连接体(linker)以便通过化学键或通过空间(space)获得染料和猝灭剂分子的紧密接近(close proximity)。此外，可设计连接体以使，作为一些生物学或信号过程(即酶裂解)的结果，损害了染料和猝灭剂的接近(即染料和猝灭剂之间的距离增加)，
- 15 由此发出光并被光学成像器件检测到。

- 本发明的一种实施方式提供双功能检测剂，其设计为使得能够同时进行目标区域的MRI和光学成像，由此同时获得解剖学和功能(即代谢)信息。通过MRI和磁共振造影剂获得解剖信息，同时通过光学成像和光学染料和/或猝灭剂获得功能/代谢信息。在本发明的实施方式中，设计磁共振造影剂
- 20 以便总是处于“打开”的(即总是活化的和/或可检测的)，同时设计光学造影剂以便仅仅当染料不再与猝灭分子紧密接近时处于“打开”(即造影剂是可活化的，以便当特定波长的光活化或激发光学造影剂且特定酶的存在引起染料和猝灭分子之间的裂解时，为“打开”的或活化的或可检测的)。如果用合适波长的光激发造影剂，造影剂中的染料将吸收激发光并再发出辐射。
- 25 只要染料和猝灭剂是彼此紧密接近的，这种再发出的辐射/光将被猝灭剂吸收，所以没有显著部分的再发出的光被光学检测器接受到。此时，认为光学造影剂处于“关”。然而，如果染料和猝灭剂彼此分离(即因为裂解、断键或构象变化)，染料仍然将吸收激发光，并将再发出波长稍有不同的辐射。这种再发出的辐射/光将不会被猝灭剂吸收，因为染料和猝灭剂离得太远，
- 30 并且因此该光将被光学检测器检测到。此时，认为光学造影剂处于“开”。

本发明的一个方面涉及该双功能试剂的共定位。这种共定位是可能的，因为磁共振造影剂和光学造影剂/染料是共价键合在一起的。本发明的实施方式的另一方面是磁共振成分和光学成分也是共价键合到猝灭剂分子上的，由于其与染料紧密接近，有效吸收激发的光学造影剂发出的光。本发明的另一方面是磁共振造影剂和光学染料保持共价键合，同时生物学信号过程(即酶裂解)减小猝灭剂分子的紧密接近，由此活化光学造影剂并将其“打开”。可活化的光学造影剂产生的光学信号直接与生物学信号过程相关，由此使得可以检测功能信息。

本发明具有与使用目前的磁共振造影剂的解剖学成像相关的所有优势，而且同时使得能够通过光学成像获得功能信息。本发明的双功能 MRI/光学成像造影剂使得同时获得高分辨率解剖学和功能信息成为可能。优选地，仅仅在特定事件存在时(即，仅当特定酶存在于人体内并且特定波长的光激发光学造影剂时)活化这些造影剂的光学成分。

本发明的实施方式包括双功能检测剂，其包括磁共振成像成分和可活化的光学成像成分，优选地彼此共价键合。在一种实施方式中，在单一的双功能检测剂中含有磁共振成像成分和光学成像成分。本发明的双功能检测剂使得能够获得活生物体的磁共振图像和光学图像，优选同时获得。在一种实施方式中，仅仅在预定波长的光存在以及预定事件存在时，例如在预定酶存在时，和/或当在荧光活化部位发生酶裂解时，活化可活化的光学成像成分。在一种实施方式中，本发明的磁共振成像成分可被连续活化，并且包括顺磁性材料例如螯合的钆络合物；顺磁性离子的螯合物，该顺磁性离子例如钕(Eu)、镝(Dy)、铽(Tb)、铥(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、或镱(Yb)；涂覆的铁纳米颗粒；等。本发明的可活化的光学成像成分包括至少一种光学染料，并且还可以包括至少一种猝灭剂(其也可以为染料)。本发明的磁共振成像成分使得能够获得增强的解剖信息，同时可活化的光学成像成分使得能够获得增强的功能/代谢信息。此处，“增强”指通过使用双功能造影剂获得的图像或信息的质量比通过不使用造影剂获得的图像或信息的质量高。

本发明的实施方式包括双功能检测剂，其包括能够增强活生物体内解剖信息的第一成分和能够增强活生物体内功能/代谢信息的可活化的第二成分。在本发明的实施方式中，第一和第二成分都包含在单一的双功能检测剂中。在这些实施方式中，同时获得增强的解剖信息和增强的功能信息。

在一实施方式中，第一成分总是活化或“打开”的，而可活化的第二成分仅仅在预定事件存在时是活化的或“打开”的，该预定事件例如在预定波长的光存在时并且(1)在预定的酶存在时，(2)当在荧光活化部位发生酶裂解时，(3)当温度超过或低于预定值时，或(4)当 pH 超过或低于预定值时。增强的解剖信息
5 可通过计算机化断层显像、正电子成像术或磁共振成像获得。增强的功能信息可以通过近红外荧光成像(near-infrared fluorescence imaging)获得。

本发明的实施方式也包括获得生物体内生物化学活性的高分辨率的、体内成像的方法，包括以下步骤：将本发明的双功能检测剂给药于生物体；获得活生物体解剖信息的图像和获得生物体功能/代谢信息的图像。这些图
10 像可以同时获得。在一实施方式中，静脉内给药双功能检测剂，但是也可以用任何其它合适的方式，例如口服或肌肉内给药。在这些实施方式中，可以通过计算机化断层显像、正电子成像术或磁共振成像获得解剖信息的图像。在这些实施方式中，可以通过光学成像获得功能信息的图像。

本发明的实施方式也包括用于获得体内生物化学活性的高分辨率、体内成像的系统。一种包括第一成像器件和第二成像器件，该第一成像器件能够检测双功能检测剂的第一成像成分，以获得活生物体的解剖信息的图像；该第二成像器件能够检测双功能检测剂的可活化的第二成像成分，以
15 获得活生物体的功能/代谢信息图像。第一成像器件和第二成像器件可以同时使用，并且双功能检测剂的可活化的第二成像成分可仅仅在预定事件存在时被活化。第一成像器件可包括磁共振成像器件、计算机化断层显像器件或正电子成像术器件。第二成像器件可包括光学成像器件。在一实施方式中，第一成像器件包括磁共振成像器件且第二成像器件包括光学成像器件。在这些实施方式中，第一成像器件和第二成像器件可同时使用。
20

在下面的描述过程中，本发明的其它特点、方面和优势对于本领域普通技术人员将变得更明显，其中参考解释本发明的一些优选形式的附图，
25 并且其中在整个附图中相同的标记表示相同的部件。

附图说明

图 1A-1E 显示根据本发明的一个示例性实施方式合成双功能检测剂；
30 图 2A-2D 显示根据本发明的另一示例性实施方式合成双功能检测剂；
和

图 3A-3D 显示根据本发明的第三示例性实施方式合成双功能检测剂。

发明详述

为了促进对本发明的理解，将参考如图 1A-3D 中和用于描述该图的特
5 定语言说明的本发明的一些优选实施方式。此处使用的术语是描述的目的，
而不是限制。此处披露的特定结构和功能的详细内容不解释为对本发明的
限制，而仅仅是权利要求的基础，作为用于教导本领域普通技术人员多样
地使用本发明的代表性基础。在描述的检测剂和使用该监测剂的方法的任
10 何改变和变化，以及此处描述的本发明的原理的这种进一步应用，这些通
常都是本领域普通技术人员能够想到的，都被考虑在本发明的精神内。

本发明的实施方式包括双功能检测剂，其同时充当 MRI 造影剂和任选
的可检测的试剂或染料。这些双功能检测剂有助于检测与组织内生物化学
变化有关的生理学变化，其可指示组织异常、心血管疾病、血栓形成、癌
等。此处使用的术语“MRI 造影剂”或“磁共振造影剂”指可以用于增强
15 MRI 图像的分子。MRI 造影剂通常包括与螯合剂连接的顺磁性金属离子。
此处使用的“顺磁性金属离子”指平行或反向平行于磁场方向，以与磁场
成一定比例的程度磁化的金属离子。通常，顺磁性金属离子为具有不成对
电子的金属离子。适当的顺磁性离子的一些非限制的实例包括：锰(Mn)、
镨(Pr)、钕(ND)、钐(Sm)、铕(Eu)、铽(Tb)、镝(Dy)、钬(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、
20 镱(Yb)、镥(Lu)和钆(Gd)。此处使用的“任选的可检测的试剂”、“任选的
可检测的染料”、“光学造影剂”和/或“光学染料”指光致发光化合物(即
用光激发后会发出可检测的能量的化合物)。光学染料可以为荧光的。

在这些实施方式中，本发明的双功能检测剂包括磁共振成分和光学成
像成分。磁共振成分包括造影剂，其优选总是活化的或“打开的”，以便
25 能够总是检测到该试剂的定位。合适的磁共振造影剂包括但不限于一种或
多种顺磁性螯合体，例如 Gd-DTPA、Gd-DOTA、涂覆的铁纳米颗粒等。光
学成像成分包括可活化的造影剂或染料，其仅仅在特定事件存在时被活化。
当活化或“打开”光学成像成分时，发射可检测光。当未活化光学成像成分或
未处于“开”时，没有明显部分的再发出的光被光学检测器检测到。例如，光
30 学成像成分可以在以下事件存在时活化或“打开”：存在一定波长的光，和(1)
存在特定的生物化学标记，(2) 荧光活化部位的酶裂解，(3) 当温度增加或

降低时, 或(4) 当 pH 升高或降低时。本发明的可活化光学成像成分的生物化学标记的一些非限定实例包括基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases)、半胱氨酸和丝氨酸蛋白酶, 或其它生物化学标记, 这些标记在病理状况下倾向于优先被过表达。合适的光学成像造影剂包括但不限于包括下列染料或这些染料的改性形式的化合物: Cy5、Cy5.5、Cy7、IRD41、IRD700、NIR-1、LaJolla Blue、IR780、Indocyanine Green(ICG)、Alexa Fluor 染料等。

在一种实施方式中, 双功能检测剂包括共价键合到光学染料和猝灭剂分子的磁共振造影剂。在其它实施方式中, 双功能检测剂包括共价键合到至少两种光学染料的磁共振造影剂。在另一实施方式中, 双功能检测剂包括共价键合到多种光学染料和多种猝灭剂分子的磁共振造影剂。

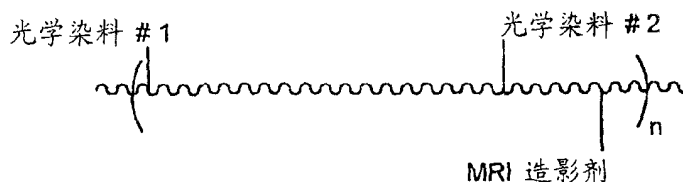
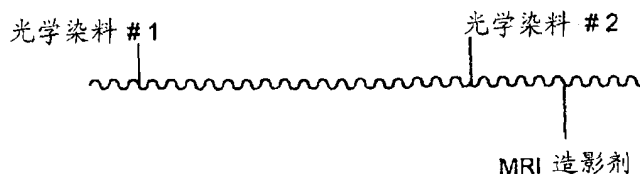
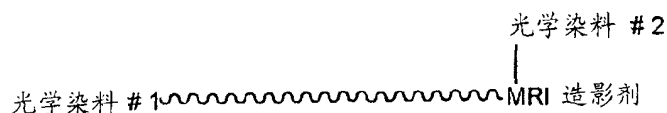
光学成像成分的染料和/或猝灭剂的位置通常彼此紧密接近, 例如彼此隔开小于 100 埃。此外, 在一些实施方式中, 用于光学成像成分的染料当从身体外部以适当激发频率激发时发出稍微偏向光谱红光部分的光。通常, 当光学成像成分未被活化或“打开”时, 染料或染料和猝灭剂彼此紧密接近, 使得发出的光被再吸收, 因此不能被光学检测器检测到。在这些实施方式中, 当损害了或增加了染料之间的间隔或染料和猝灭剂之间的间隔, 活化或“打开”光学成像成分, 由此使得发出可以被光学检测器检测到的光。可以设计光学成像成分, 以仅仅由于一些生物学或信号过程而损害或增加染料之间的间隔或染料和猝灭剂之间的间隔。该生物学或信号过程的一些非限制实例包括: 某些酶或体内生物化学变化的存在, 已精确设计该光学成像成分以对其进行检测; 组织温度的变化; 或组织局部 pH 的变化。该生物学或信号过程的存在引起键断裂或构像变化, 由此损害或增加染料之间的间隔或染料和猝灭剂之间的间隔, 并发出可检测光。

本发明也包括获得活生物体内生物化学活性的高分辨率的、体内成像的方法。一种方法包括使用一种模式(即 MRI)估计检测剂的定位, 同时使用第二模式(即光学成像)估计生物学活性的水平。另一方法包括获得活生物体的解剖信息的图像并获得活生物体的功能信息的图像, 其中双功能检测剂存在于活生物体中。在该实施方式中, 双功能检测剂包括能够增强活生物体的解剖信息的第一成分, 和能够增强活生物体功能信息的可活化的第二

成分，并且该可活化的第二成分仅仅在预定事件存在时被活化。本发明的双功能检测剂可以以任何适当的方式给药，优选通过静脉注射给药。

本发明的双功能检测剂使得能够通过两种不同的模式同时获得解剖学和功能信息两者。在本发明的实施方式中，第一模式(即磁共振成像)提供高分辨率的解剖信息，由该信息可以确定检测剂的精确的解剖学定位。在本发明的实施方式中，第二模式(即光学成像)提供功能或代谢信息。与目前存在的方法相比，这种解剖学和功能信息的组合使得更容易和更早期地诊断和治疗疾病，由此提高了患者恢复和/或被治愈的机会。

在一实施方式中，双功能检测剂可包括聚合物或共聚物，该聚合物或共聚物选择性地用光学染料#1、光学染料#2 和 MRI 造影剂接枝和/或封端。这些试剂的一些非限定实例包括：



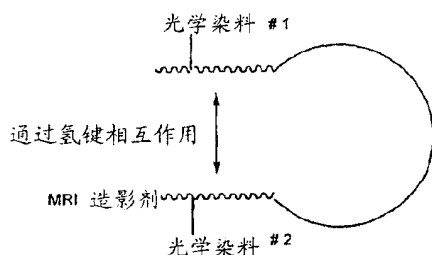
15

其中

~~~~~  
 可为聚合物(即多肽)或共聚物(即多肽/pNA 共聚物), 并且——表示共价键合到聚合物或共聚物的部分(即氨基酸或 pNA 侧链)。光学染料包括市售的染料, 例如 Cy7Q(染料#1)和 Cy5.5(染料#2)。MRI 造影剂共价键合到聚合物或共聚物, 且优选为整合的钆络合物, 例如 Gd-(DTPA)。

5 可以使用各种可替换的光学染料和磁性造影剂, 而不偏离本发明的范围, 重要该光学染料仅仅在预定事件存在时是可活化的

在其它实施方式中, 双功能检测剂可包括:



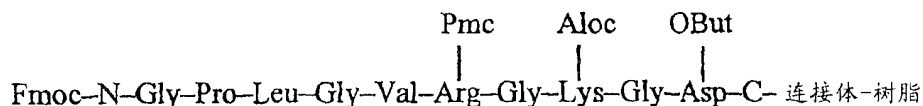
可如图 1A-1E 所示合成发明的一种双功能检测剂, 并在下面更详细的

10 说明。首先, 可以使用各种连接体和固相载体或树脂, 通过标准 Fmoc 化学的固相合成, 合成聚合物例如多肽 Fmoc-N-Gly-Pro-Leu-Gly-Val-Arg(Pmc)-Gly- Lys(Aloc)-Gly-Asp(OBut) -C-连接体-树脂。可以在聚合物中使用任何适当的氨基酸序列。可以从供应商处购买 Fmoc 保护的氨基酸和固相载体, 并且如果需要可以用肽合成仪自动合

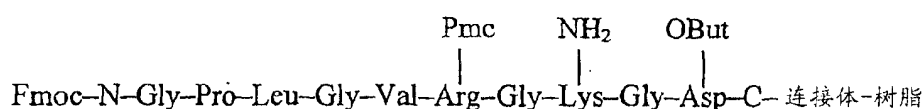
15 成肽。用市售的聚苯乙烯树脂在 C 末端开始肽的合成。用酸-敏感的保护基团叔丁基酯(OBut)保护天冬氨酸上的羧基。用正交保护基团(orthogonal protecting group)烯丙氧基羰基(Aloc)保护赖氨酸侧链上的氨基。用酸-敏感的保护基团例如 2,2,4,6,7-五甲基-二氢苯并呋喃-5-磺酰(Pmc)保护精氨酸氨基

酸上的胍基(guandinium group), 生成:

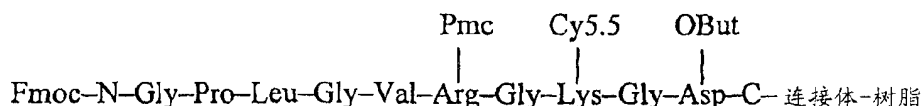
20



用钯络合物例如钯四-三苯基膦( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ )、乙酸和三丁基锡烷处理保护的 10 链节(mer)肽除去 Aloc 保护基团, 并留下游离胺以生成:

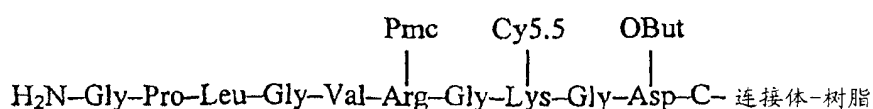


然后用胺-反应性的 Cy5.5 NHS 酯处理该化合物生成:



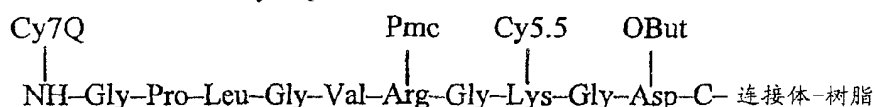
5

用 DMF 中的 20% 哌啶使 N-末端脱保护, 除去 Fmoc 基团, 并生成游离胺:

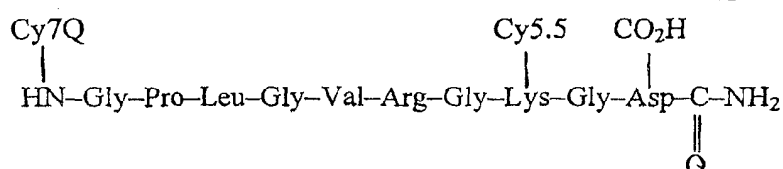


10

用胺-反应性的 Cy7Q NHS 酯处理该化合物生成:

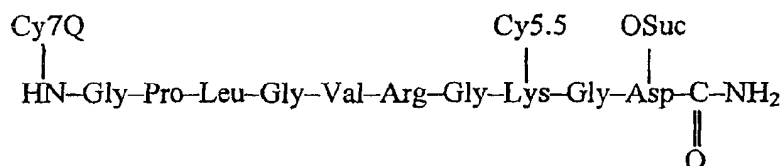


然后在适当清除剂存在下, 酸, 例如三氟乙酸可以用于从固相载体断开染料-肽共轭物, 同时精氨酸氨基酸和天冬氨酸氨基酸被脱保护, 生成:

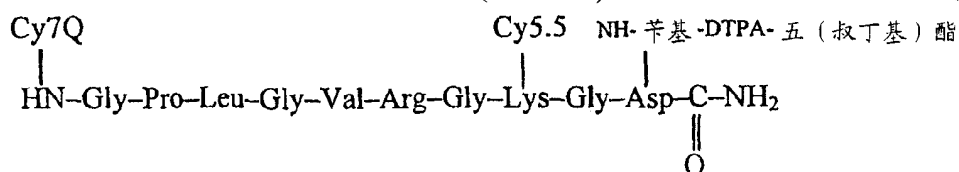


15

然后用适当的活化剂, 例如二琥珀酰亚胺碳酸盐处理该化合物, 活化羧酸并生成:

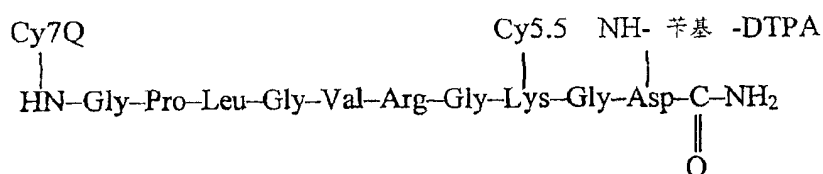


然后用对对-氨基苄基-DTPA-五(叔丁基)酯处理该化合物以生成:

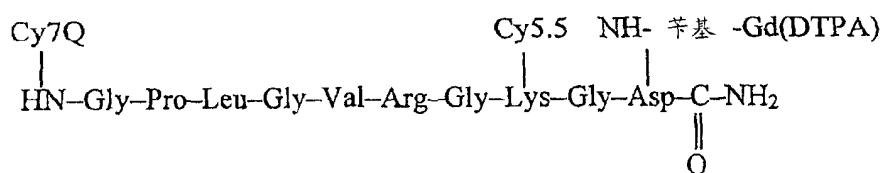


20

通过用三氟乙酸处理而脱保护双功能的配体的羧酸基团，除去叔丁基以生成



最后，通过用  $\text{GdCl}_3$  处理将钆螯合到 DTPA 的羧酸基团，并调节 pH 以生成本发明的双功能检测剂：



该实施方式的最后的化学结构示于图 1E 中。在该实施方式中，选择 Cy5.5，这是因为其与血红素、去氧血红素、组织、水等具有最小的干扰。Cy5.5 吸收约 673 nm 的光，并发射约 692 nm 的光。选择 Cy7Q 作为“暗”染料，这是因为其不发射光，其仅仅吸收 Cy5.5 发出的光，只要 Cy5.5 和 Cy7Q 的距离小于约 100 埃(即，如果氨基酸的排列仍然保持完好)。当 Cy7Q 和 Cy5.5 彼此紧密接近(即，彼此在约 100 埃内)时，Cy7Q 充当猝灭剂。然而，当预定事件存在时(即，存在某些酶时)，氨基酸链在氨基酸残基间断裂，由此活化该化合物的光学成像成分，使得发出光学可检测的光。选择 Gd-(DTPA)作为总是“打开”的磁共振造影剂。

图 2A-2D 显示本发明另一双功能检测剂的合成，并且该特定实施方式的最终化学结构显示于图 2D 中。可通过与图 1A-1E 所描述的方法相似的方法合成该实施方式。

图 3A-3D 显示合成本发明另一双功能检测剂，并且该特定实施方式的最终化学结构显示于图 3D。该实施方式也可以通过与图 1A-1E 描述的方法相似的方法合成。

虽然上面已经描述了用于同时组合使用 MRI/光学成像系统的双功能检测剂，应该理解可以设计双功能检测剂用于同时在可替换的组合成像系统中使用，而不偏离本发明的范围。例如，用于在计算机化断层显像(CT)和光学成像中同时使用的双功能检测剂，或用于在正电子成像术(PET)和光学成

像中同时使用的双功能检测剂也在本发明的范围内,只要该 CT/PET 造影剂总是“打开”的或活化的,并且光学成像成分仅仅在特定的预定事件存在时是可活化的。其它可与光学成像结合的诊断成像技术包括:基于 X 射线的技术、超声、基于放射性物质(例如闪烁照相和 SPECT)的诊断技术等。

- 5       上面已经描述了本发明的各种实施方式。然而,应该认识到这些实施方式仅仅是本发明不同的实施方式的原理的示意。对于本领域普通技术人员来说,各种改进和修改将是显而易见的,并且不脱离本发明的精神和范围。因此,本发明意图覆盖属于附属权利要求及其等价物范围内的所有适当的改进和改变。

10

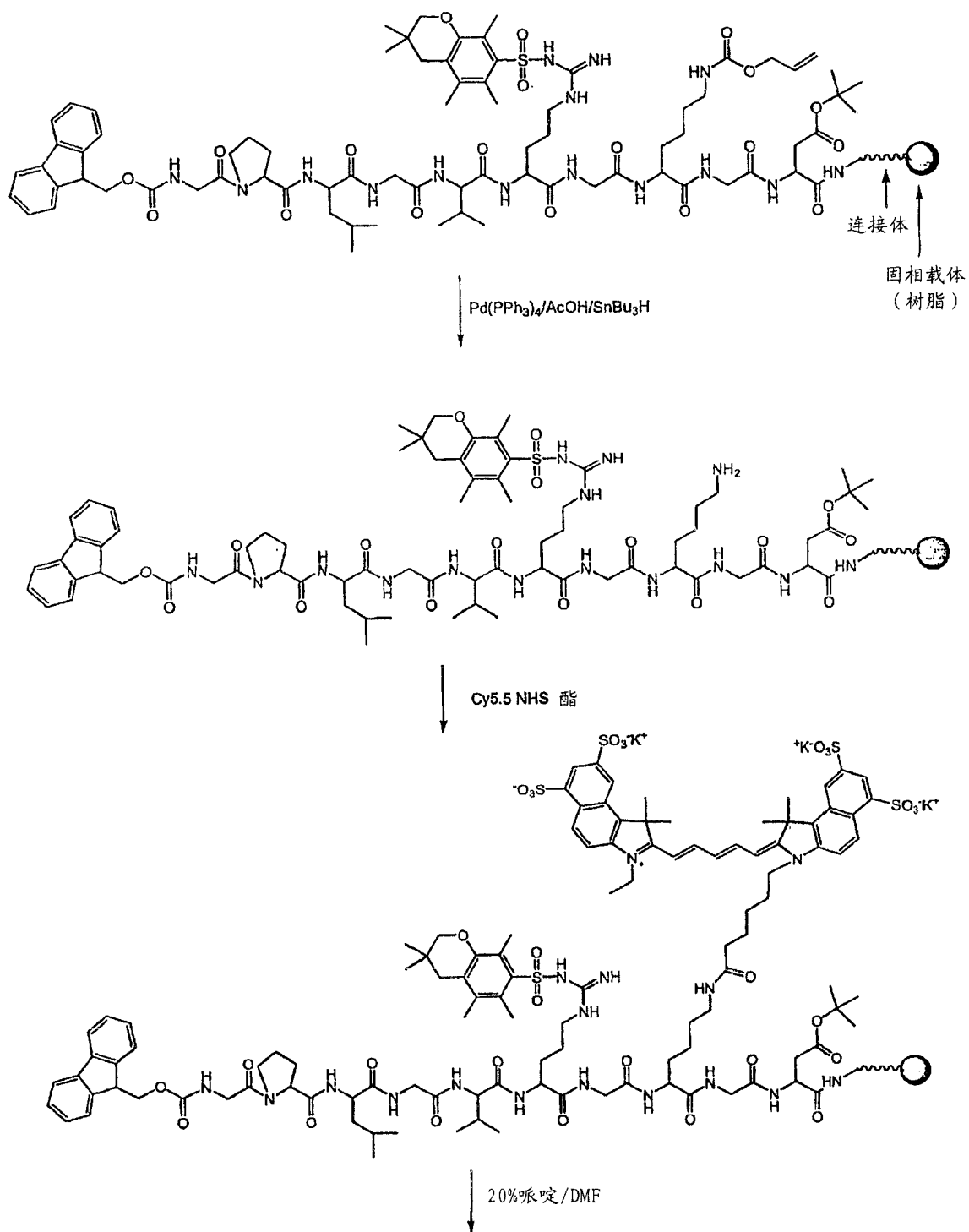


图 1A

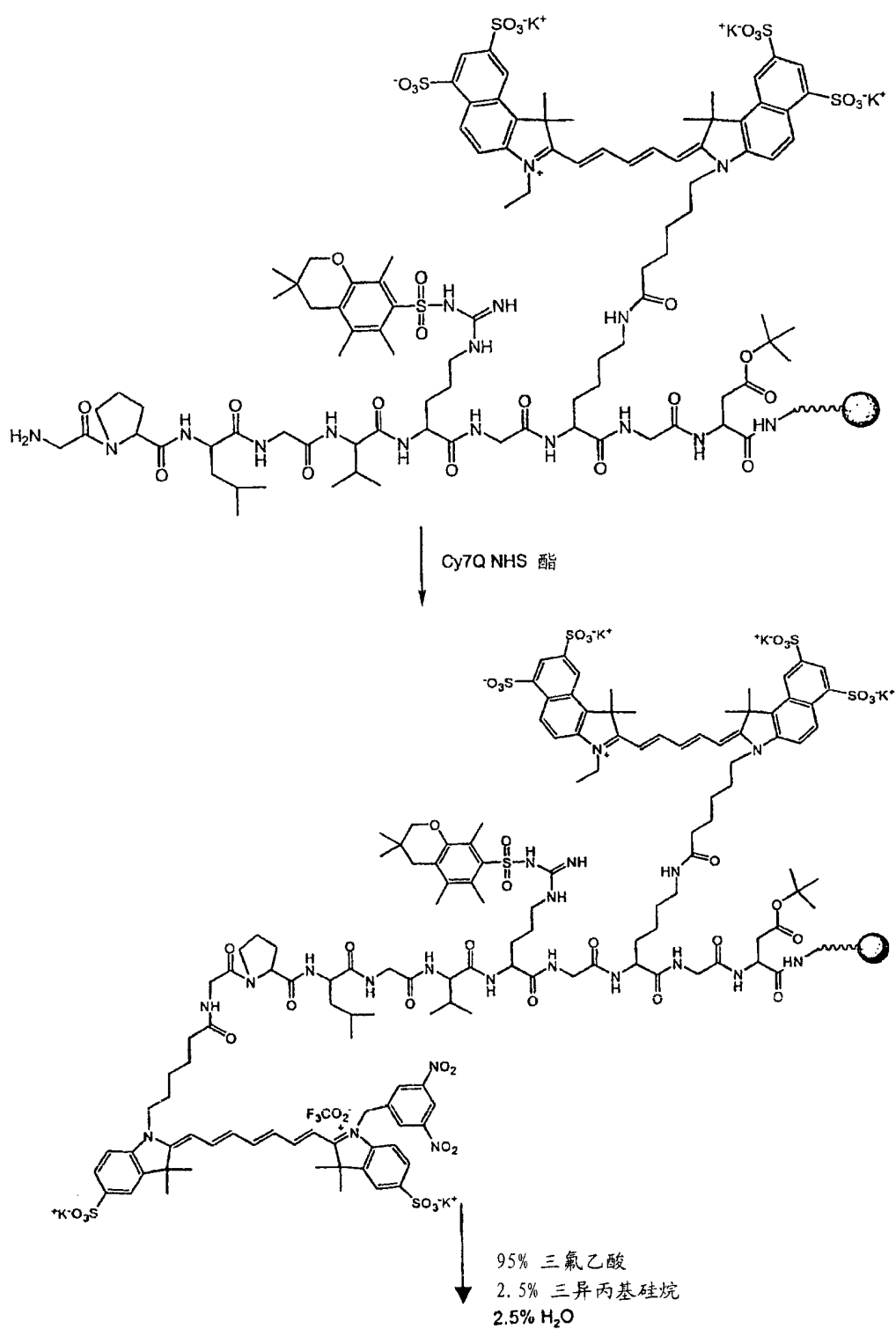


图 1B

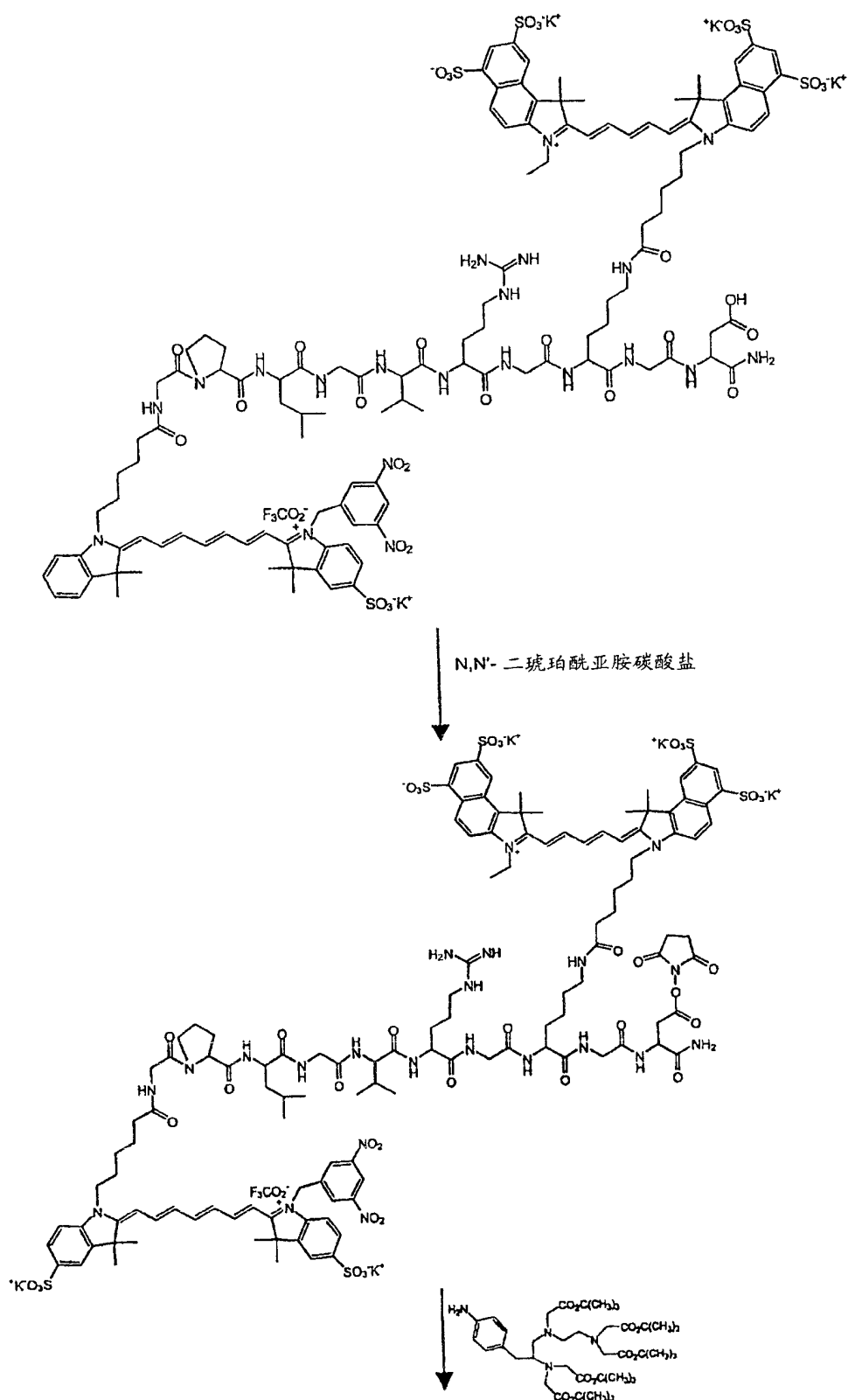


图 1C

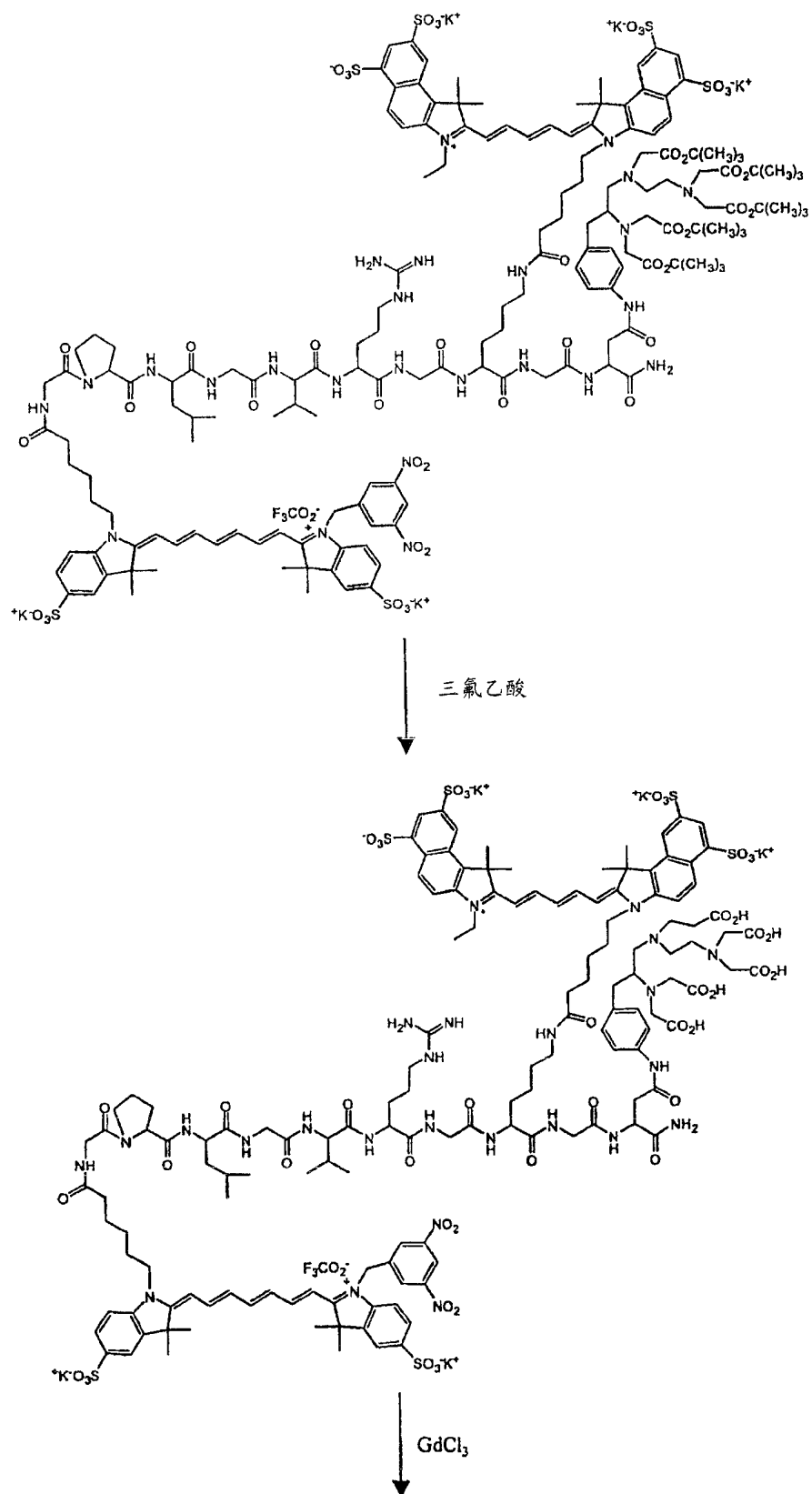


图 1D

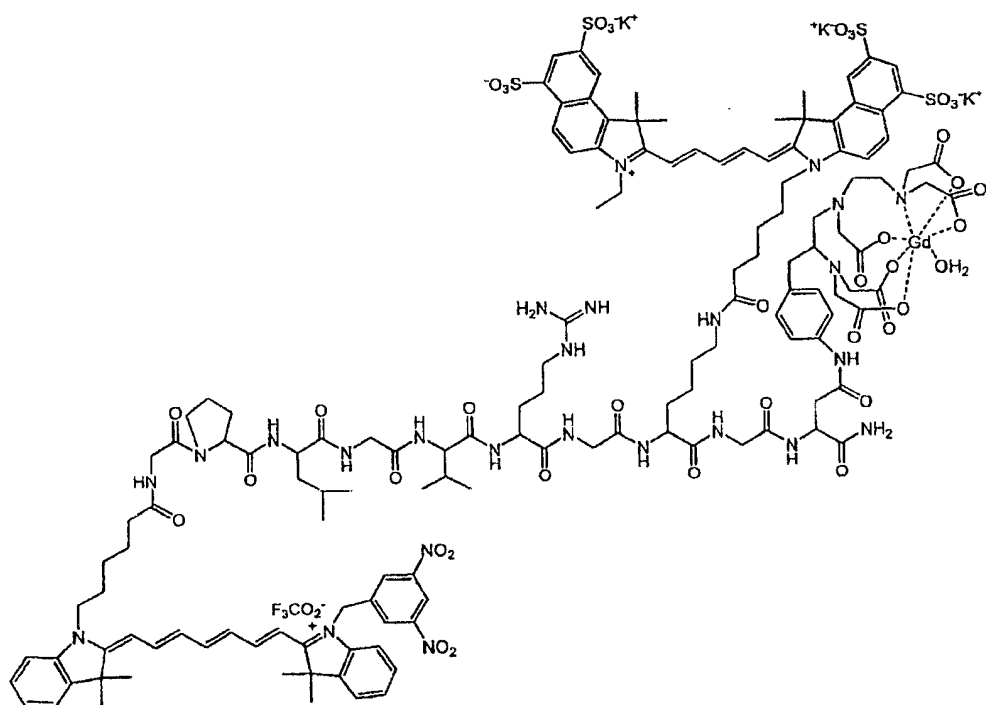


图 1E

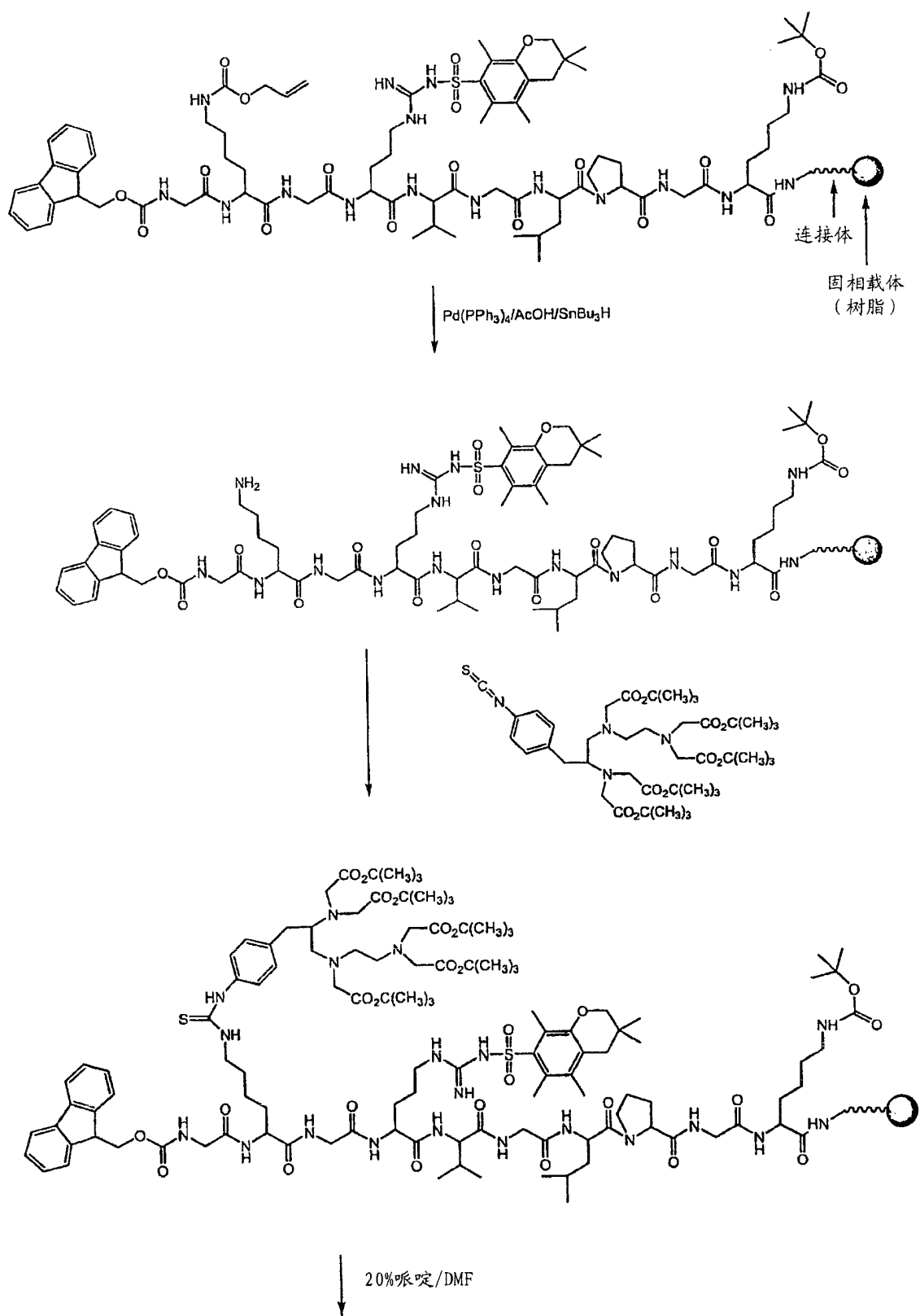


图 2A

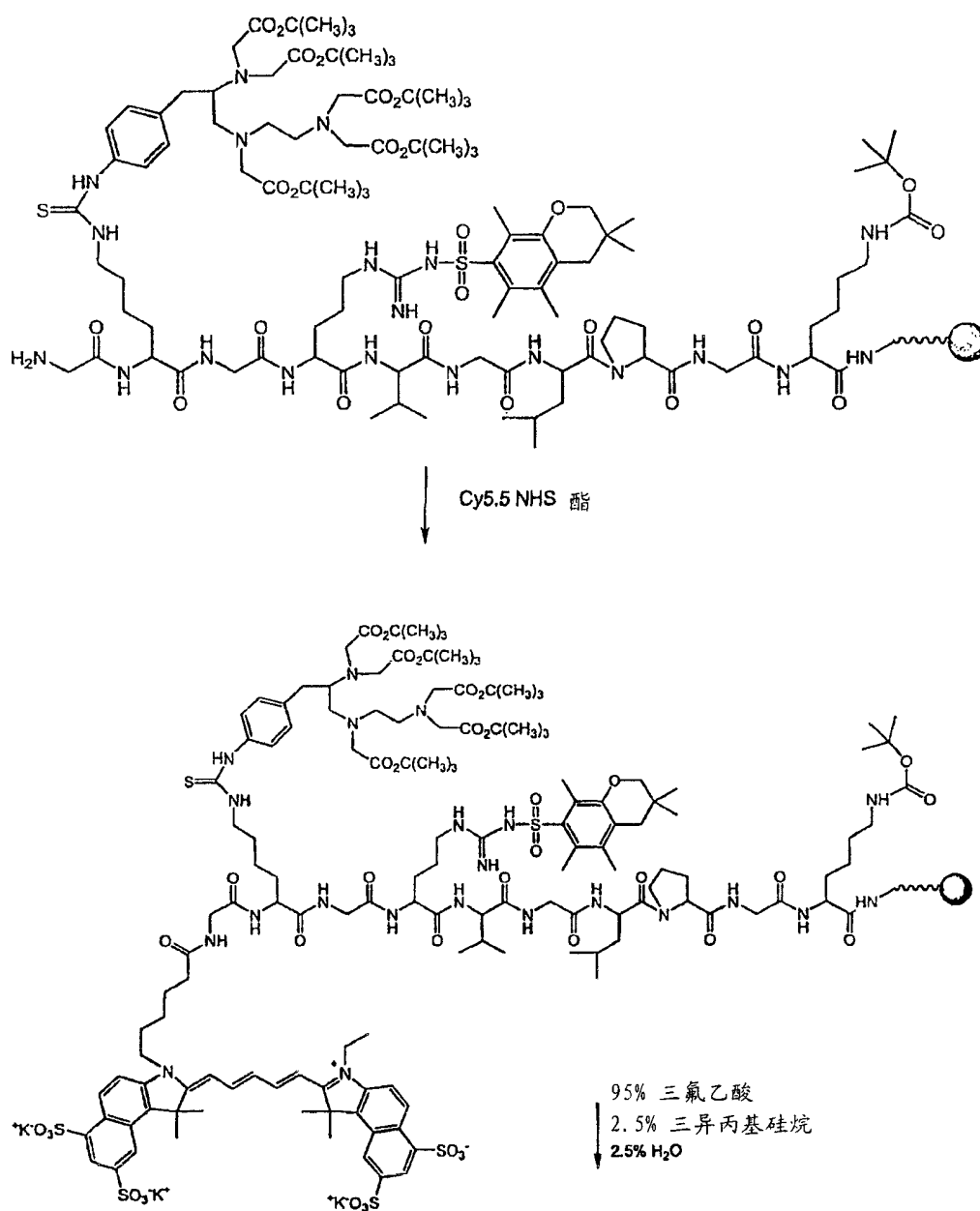


图 2B

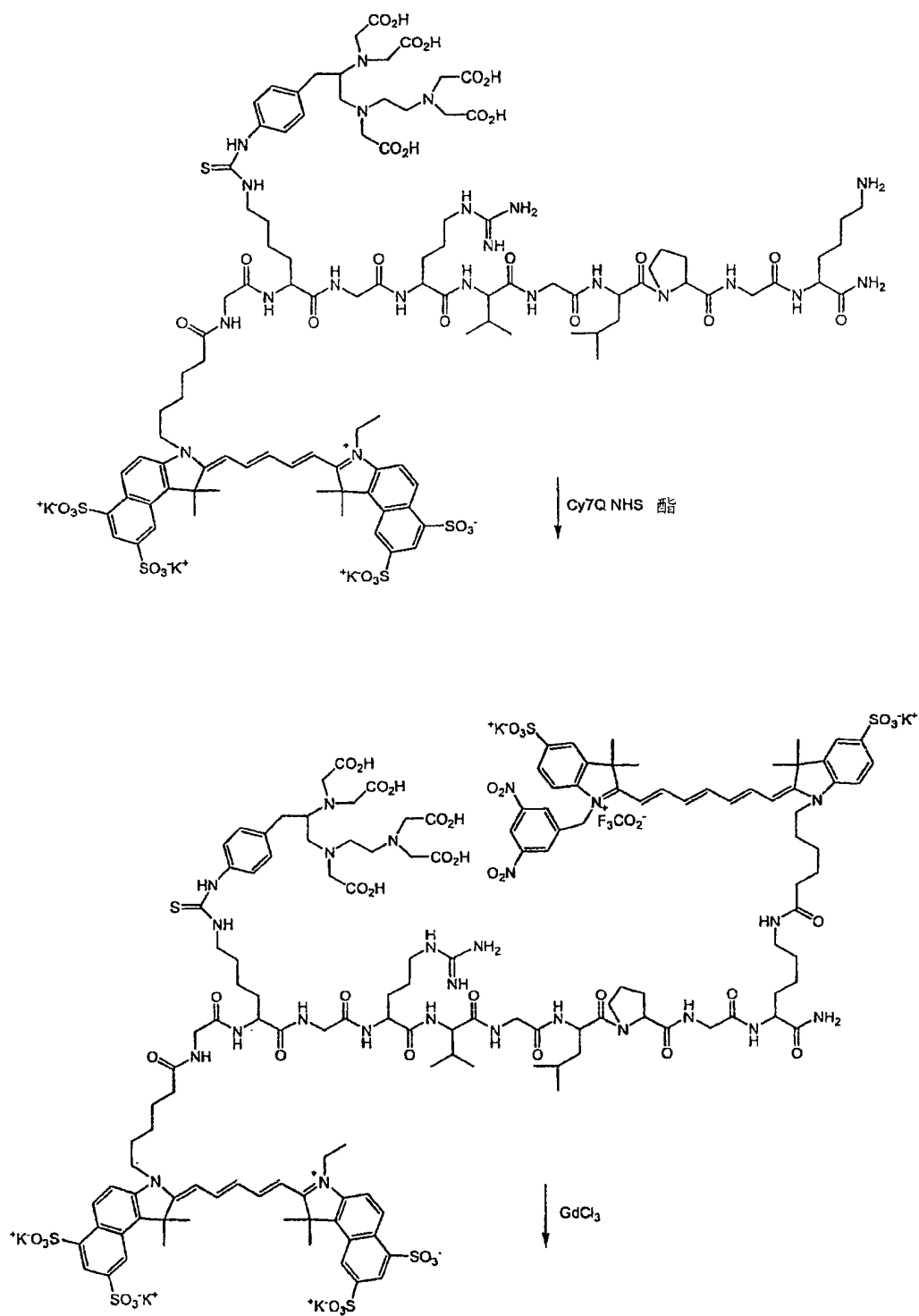


图 2C

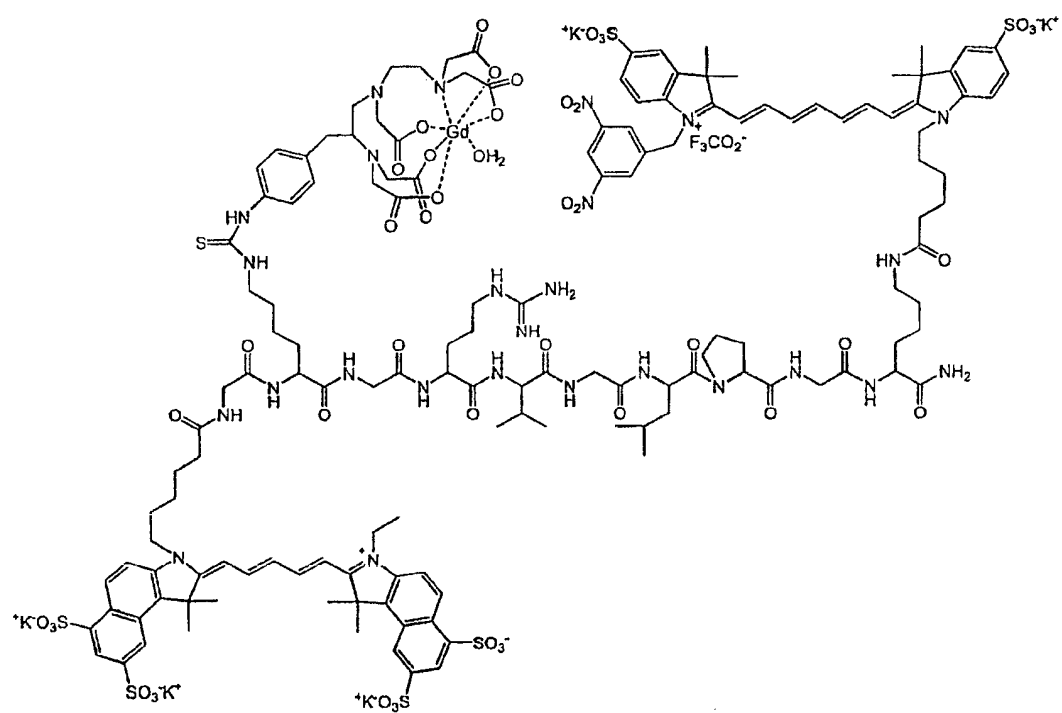


图 2D

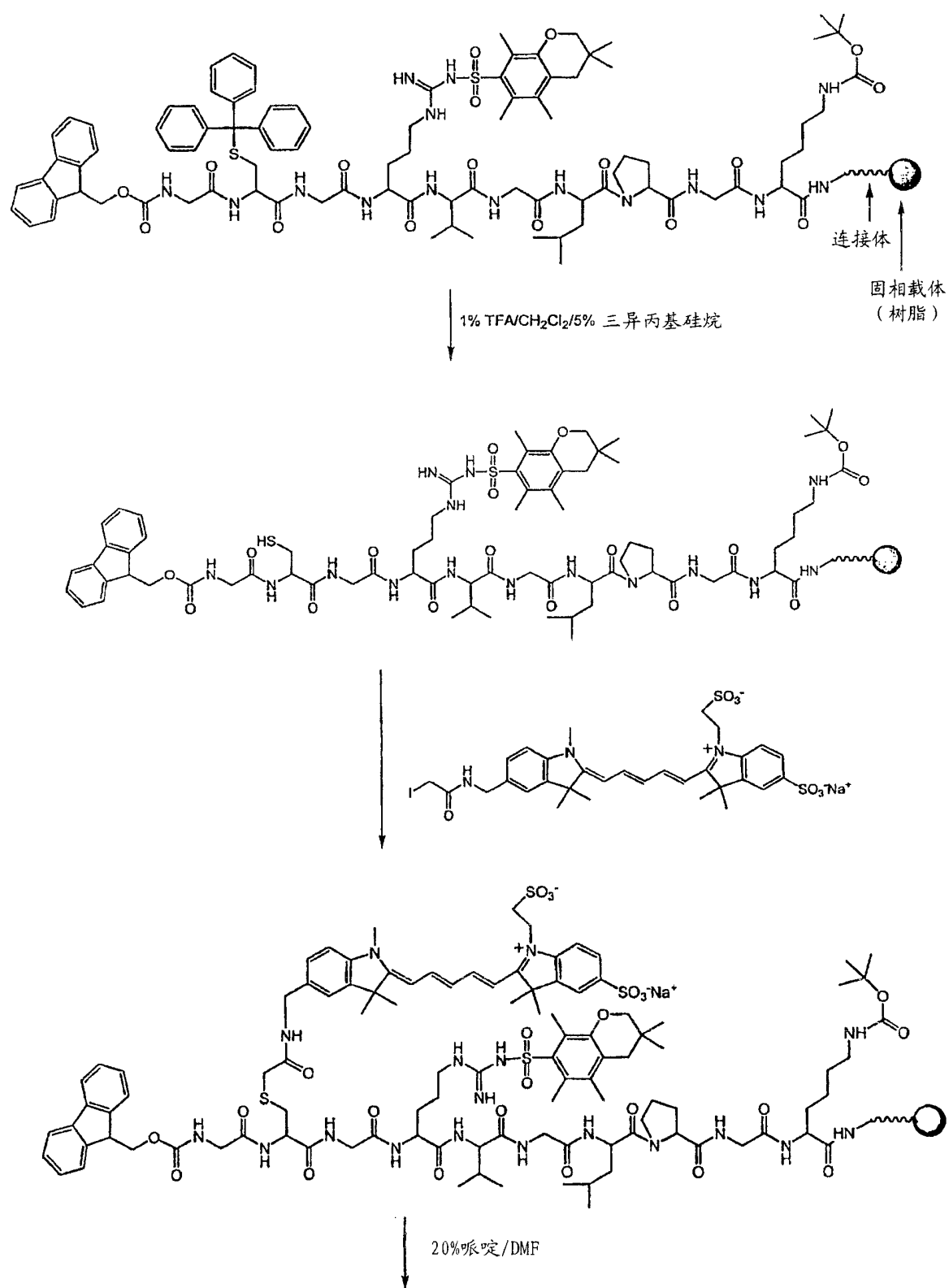


图 3A

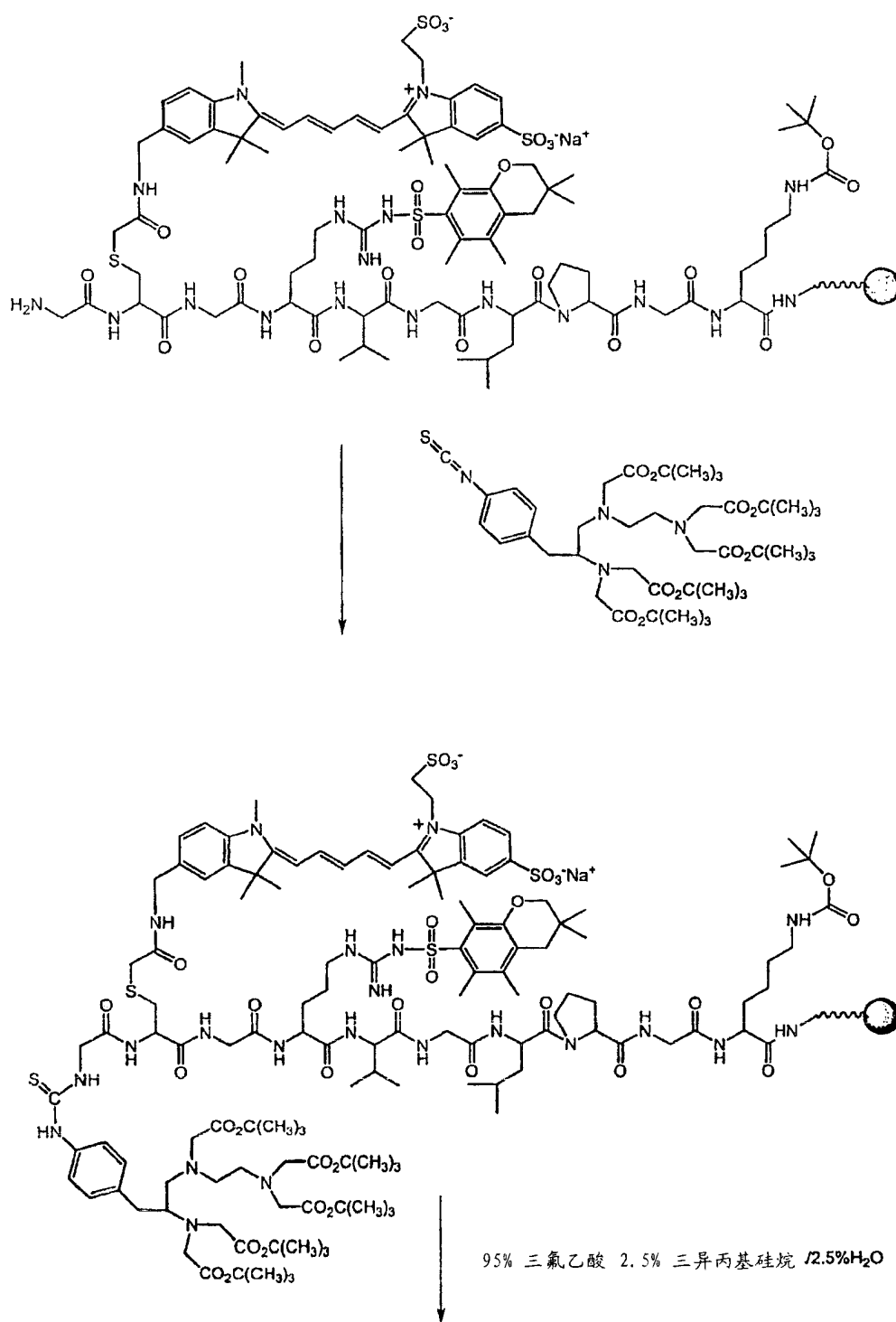


图 3B

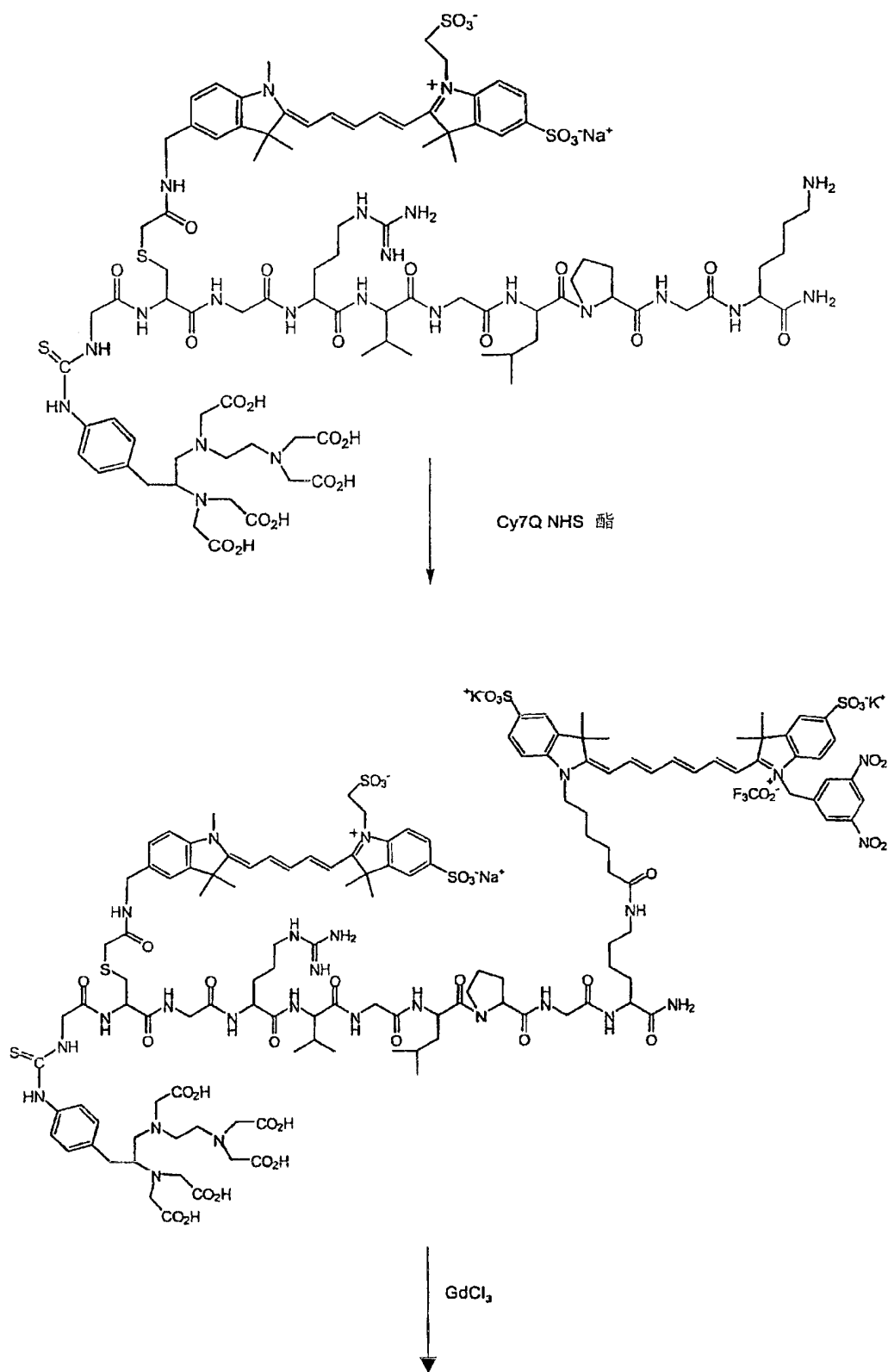


图 3C

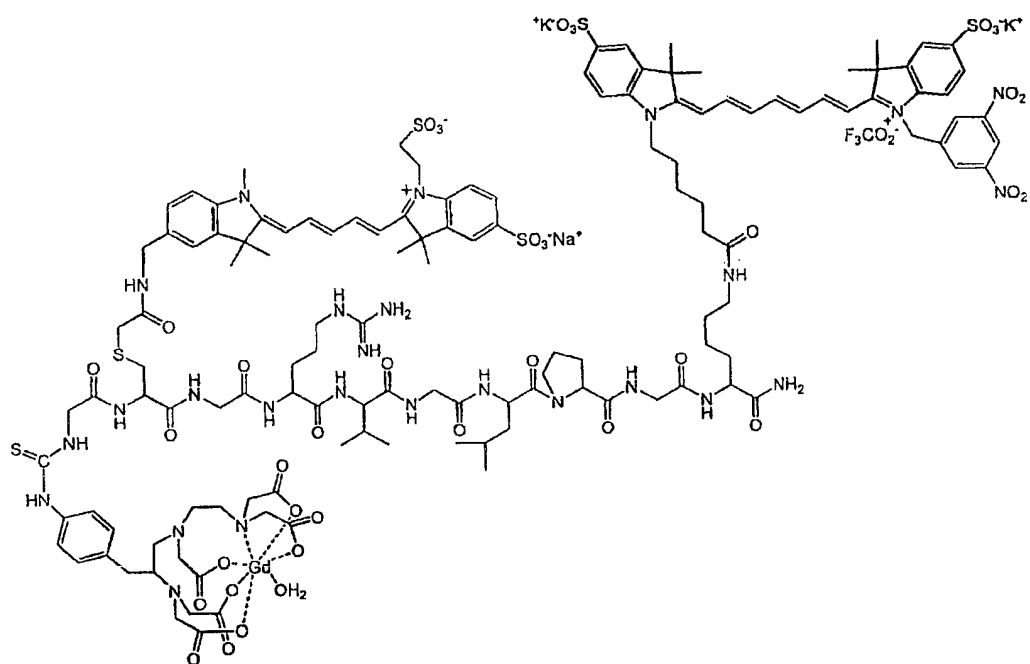


图 3D