FI000107931B

(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

(10) **FI 107931 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **31.10.2001**

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C08G 73/00, C07C 211/14, 211/65, C07D 257/00, 471/08, C08B 37/00, C01F 17/00, A61K 39/44, 47/34, 49/00

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **905744**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **21.11.1990**

(24) Alkupäivä - Löpdag **21.11.1990**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **22.05.1991**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

21.11.1989 DE 3938992 P

SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(73) Haltija - Innehavare

1 •**Schering Aktiengesellschaft,** Berlin/Bergkamen, Müllerstrasse 170-178, 13342 Berlin, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •**Platzek,Johannes,** Clayallee 64, 1000 Berlin 33, SAKSA, (DE)
2 •**Schmitt-Willich,Heribert,** Gardeschützenweg 102, 1000 Berlin 45, SAKSA, (DE)
3 •**Gries,Heinz,** Helmstedter Strasse 19, 1000 Berlin 31, SAKSA, (DE)
4 •**Schuhmann-Giampieri,Gabriele,** Marschnerstrasse 34, 1000 Berlin 45, SAKSA, (DE)
5 •**Vogler,Hubert,** Dahlmannstrasse 10, 1000 Berlin 12, SAKSA, (DE)
6 •**Weinmann,Hanns-Joachim,** Westhofener Weg 23, 1000 Berlin 38, SAKSA, (DE)
7 •**Bauer,Hans,** Wendelsteinweg 24, 1000 Berlin 42, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Kaskadipolymeerikomplekseja, diagnostisia aineita ja menetelmä niiden valmistamiseksi
Kaskadpolymerkomplex, diagnostiska medel och förfarande för deras framställning

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

WO A 88/01179 (A61K 49/02)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee kaskadipolymeerejä, jotka sisältävät kompleksoja muodostavia ligandeja, mahdollisesti vähintään viisi järjestysluvun 21 - 29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 omaavan alkuaineen ionia sekä mahdollisesti epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen, aminohappojen tai aminohappoamidien kationeja. Nämä polymeerit ovat arvokkaita kompleksinmuodostajia ja komplekseja käytettäväksi diagnostiikassa ja terapiassa.

Uppfinningen avser kaskadpolymerer,vilka innehåller komplexbildande ligander, eventuellt åtminstone fem joner ur ett element med ordningstalen 21-29, 39, 42, 44 eller 57-83 och eventuellt katjoner ur oorganiska och/eller organiska baser, aminosyror eller aminosyraamider. Dessa polymerer är värdefulla komplexbildare och komplex för diagnos och terapi.

Kaskadipolymeerikomplekseja, diagnostisia aineita ja menetelmä niiden valmistamiseksi

Keksintö koskee uusia kaskadipolymeerikomplekseja, niitä sisältäviä diagnostisia aineita ja menetelmää aineiden valmistamiseksi.

Magnevist (GdDTPA/dimeglumiini) on ensimmäinen rekisteröity varjoaine ydinspintomografiaan (MRI = Magnetic Resonance Imaging). Se sopii erityisen hyvin patologisten alueiden (esimerkiksi tulehdukset, tuumorit jne.) diagnostisointiin. Yhdiste eliminoituu laskimonsisäisen injektion jälkeen munuaisissa; munuaisten ulkopuolista erittymistä ei käytännössä havaita.

Magnesvistin haittana on se, että se jakautuu laskimonsisäisen annon jälkeen tasaisesti suoniin ja välitilaan. Siten suonten erottaminen ympäröivästä välitilasta Magnevistiä käytettäessä ei ole mahdollista.

Suonten kuvaukseen haluttaisiin erityisesti varjoainetta, joka jakautuu vain suonten alueelle (suonitila). Sellainen "blood-pool-agent" tekisi mahdolliseksi erottaa ydinspintomografian avulla kudokset, joissa on hyvä verenkierto, sellaisista, joissa on huono verenkierto, ja siten diagnostisoida iskemian. Myös infarktin kärsineet kudokset voitaisiin erottaa vähäverisyytensä takia ympäröivästä terveestä tai iskeemisestä kudoksesta, jos käytetään vasaalista varjoainetta. Tällä on erityistä merkitystä, jos kyseessä on esimerkiksi sydäninfarktin erottaminen iskemiasta.

Tähän asti useimmille potilaille, joilla epäillään olevan sydän- ja verisuonisairauksia (tämä sairaus on yleisin kuolinsyy läntisissä teollisuusmaissa), on suoritettava suurisuuntaisia diagnostisia tutkimuksia. Angio-grafiassa käytetään nykyisin ennen kaikkea röntgendiagnostiikkaa jodipitoisten varjoaineiden avulla. Näihin tutkimuksiin liittyy erilaisia haittoja: niihin liittyy säteilykuormituksen riski sekä epämiellyttävyyksiä ja haittoja,

jotka johtuvat siitä, että jodipitoisia varjoaineita täytyy käyttää NMR-varjoaineisiin verrattuna hyvin paljon suurempana pitoisuutena.

Sen vuoksi on olemassa tarve saada aikaan NMR-varjoaineita, joilla voidaan merkitä vasaalinen (suonten) alue (blood-pool-agent). Näille yhdisteille tulee olla kuvaavaa hyvä siedettävyys ja suuri tehokkuus (suuri signaali-intensiteetin kohoaminen MRI:ssä).

Yrityksillä ratkaista ainakin osa näistä ongelmista käyttämällä kompleksinmuodostajia on ollut tähän saakka vain hyvin rajoitetusti menestystä.

Esimerkiksi paramagneettisten keskusten lukumäärä komplekseissa, joita on kuvattu EP-hakemusjulkaisuissa 88 695 ja 150 884, ei ole ollut riittävä tyydyttävään kuvanmuodostukseen.

Jos tarvittavien metalli-ionien lukumäärää kohotetaan liittämällä useita kompleksoivia yksiköitä makromolekyyliin, siihen liittyy tämän makromolekyylin affiniteetin ja/tai spesifiteetin huononeminen, joka ei ole hyväksyttävissä [J. Nucl. Med. 24 (1983) 1158].

Makromolekyylit sopivat yleensä varjoaineiksi angiografiaan. Albumiini-GdDTPA:lla (Radiology 1987 162; 205) on rotalla esimerkiksi vielä 24 tuntia suonensisäisen injektoinnin jälkeen havaittavissa maksakudokseen rikastumista, joka on melkein 30 % annoksesta. Sitä paitsi 24 tunnin aikana vain 20 % annoksesta eliminoituu.

Makromolekyyli polylysiini-GdDTPA (EP-hakemusjulkaisu 0 233 619) osoittautui myös sopivaksi "blood-pool-agent"-aineena. Tämä yhdiste koostuu kuitenkin valmistuksesta johtuen erisuuruisten molekyylien seoksesta. Rotalla suoritetuissa erityskokeissa voitiin osoittaa, että tämä makromolekyyli erittyy muuttumattomana munuaiskerässuodatuksen avulla munuaisista. Synteesitavasta riippuen polylysiini-GdDTPA voi kuitenkin sisältää myös makromolekyylejä, jotka ovat niin suuria, että ne eivät voi ohittaa mu-

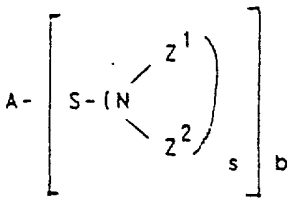
nuaisten kapillaareja munuaiskerässuodatuksen avulla ja jäävät siten kehoon.

On kuvattu myös hiilihydraatteihin perustuvia makromolekulaarisia varjoaineita, esimerkiksi dekstraani EP-patenttihakemus, julkaisunumero 0 326 226). Näiden yhdisteiden haittana on se, että näissä on tavallisesti vain 4,6 % signaalia vahvistavia paramagneettisia kationeja.

Sen vuoksi oli olemassa tarve saada käyttöön ennen kaikkea verisuonisairauksien tunnistukseen ja paikallistamiseen uusia diagnostisia aineita, joilla ei ole mainittuja haittoja. Tämä tehtävä ratkaistaan tämän keksinnön avulla.

Havaittiin, että kompleksit, jotka koostuvat typpipitoisesta, komplekseja muodostavia ligandeja sisältävistä kaskadipolymeereistä, järjestysluvultaan 21 - 29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 olevien alkuaineiden ioneista sekä mahdollisesti epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen, aminohappojen tai aminohappoamidien kationeista, sopivat erinomaisesti sellaisten NMR- ja röntgendiagnostisten aineiden valmistukseen, joilla ei ole mainittuja haittoja.

Esillä oleva keksintö koskee kaskadipolymeerikomplekseja, joilla on yleinen kaava I ja jotka sisältävät komplekseja muodostavia ligandeja,



(I)

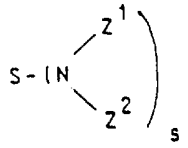
jolloin

A on typpipitoinen kaskadiydin, jonka peruskerrannaisuus on b,

S on toistoyksikkö,

N on typpiatomi,

Z^1 ja Z^2 ensimmäisestä viimeistä edelliseen ketjureaktion vaiheeseen ovat kukin



mutta viimeisessä ketjureaktion vaiheessa sitä vastoin

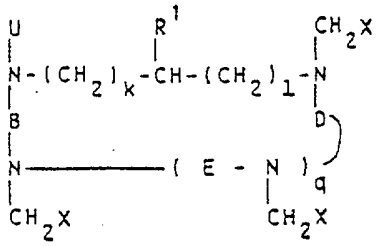
Z^1 on vetyatomi, mahdollisesti 1 - 3 karboksyyliryhmää, 1 - 3 sulfonihapporyhmää, 1 - 5 hydroksyyliryhmää ja/tai 1 - 3 happiatomia sisältävä C_{1-10}-alkyyli, C_{2-10}-asyyli- tai C_{1-10}-alkyylisulfonyyliryhmä tai on kompleksin K ryhmä ja

Z^2 on kompleksin K ryhmä,

b on luku 1 - 50 ja

s on luku 1 - 3,

K on kompleksiryhmä, joka on sitoutunut ryhmän V kautta viimeisen vaiheen terminaalisiin typpiatomeihin ja jolla on yleinen kaava IB



(I B)

jolloin

k on luku 1, 2, 3, 4 tai 5,

l on luku 0, 1, 2, 3, 4 tai 5,

q on luku 0, 1 tai 2,

U on CH_2X tai V,

X on ryhmä -COOH,

B, D ja E, jotka ovat samoja tai erilaisia, ovat kulloinkin ryhmiä $-(CH_2)_a$, jossa a tarkoittaa lukua 2, 3, 4 tai 5,

R^1 on V tai vetyatomi,

edellyttäen, että R^1 on vain silloin V, kun U on samalla CH_2X, ja että U on vain silloin V, kun samanai-

kaisesti R^1 tarkoittaa vetyatomia, ja että haluttaessa osa COOH-ryhmistä on esterinä ja/tai amidina,

V tarkoittaa mahdollisesti imino-, fenyleeni-, fenyleenioksi-, fenyleeni-imino-, amidi-, hydrasidi-, ureido-, tioureido-, karbonyyli-, esteriryhmän (-ryhmiä), happi-, rikki- ja/tai typpiatomin (-atomeja) sisältävää, mahdollisesti hydroksyyli-, merkapto-, imino-, epoksi-, okso-, tiokso- ja/tai aminoryhmällä (-ryhmillä) substituoitua suoraketjuista, haaroittunutta, tyydyttynyttä tai tyydyttymätöntä C_1-C_{20}-alkyleeniryhmää,

jolloin toistoyksiköiden S täytyy olla samanlaisia vain yhdessä ketjureaktion vaiheessa ja reaktioiden lukumäärä on 2 - 10, ja

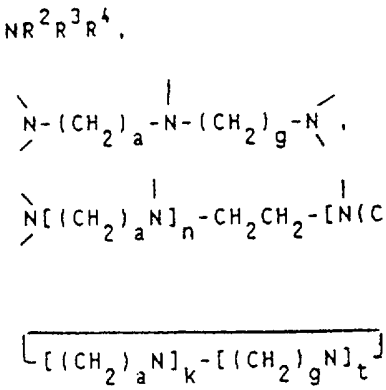
jolloin polymeerit kompleksiryhmissä K sisältävät kompleksoituna vähintään viisi järjestysluvultaan 21 - 29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 olevan alkuaineen ionia sekä mahdollisesti epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen, aminohappojen tai aminohappoamidien kationeja, käytettäväksi NMR- ja röntgensädediagnostiikassa varjoaineena.

Toistoyksiköiden S täytyy olla samanlaisia vain yhdessä ketjureaktion vaiheessa. Myöskään ryhmiä Z^1 ja Z^2 tarkoittavien kompleksinmuodostajaryhmien ei täydy olla samanlaisia.

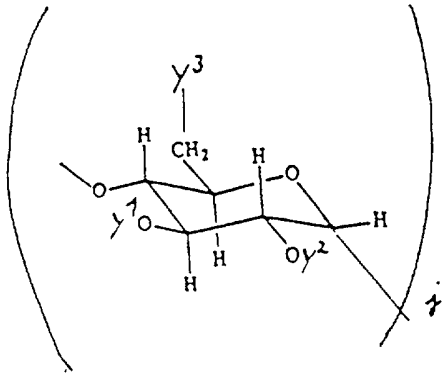
Esimerkkeinä ryhmää Z^1 tarkoittavista mainituista alkyyli-, asyyli- ja alkyylisulfonyyliryhmistä esitettäköön:

$-CH_2COOH$; $-(CH_2)_2COOH$; $-CH(COOH)CH_2COOH$; $-CH_2-CH(COOH)CH_2OH$;
$-CH_2SO_3H$; $-(CH_2)_2SO_3H$; $-COCH_3$; $-COCH_2OH$; $-COCHOHCH_2OH$; $-COCH_2O-CH_2COOH$;
$-CO(CHOH)_4CH_2OH$; $-COCH_2COOH$; $-CO(CH_2)_2COOH$; $-CO(CH_2)_3COOH$; $-CO(CH_2)_4COOH$;
$-COCHOHCOOH$; $-CO(CHOH)_2COOH$; $-COCH_2CHOHCH_2COOH$; $-SO_2CH_2COOH$; $-SO_2(CH_2)_2COOH$;
$-SO_2CH_3$.

Kaskadiytimeksi A ovat sopivia: typpiatomi,



tai



joissa

R^2, R^3 ja R^4 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta kovalentti sidos tai $(CH_2)_k$-$(C_6H_4)_r$-$(CH_2)_1$-N,

g on luku 2, 3, 4 tai 5,

t on luku 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tai 8,

W on CH, CH_2, NH tai typpiatomi,

C_1 on $(CH_2)_k$-N,

C_2, C_3, C_4 ja C_5 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta vetyatomi tai $(CH_2)_f$-N,

j on luku 6, 7 tai 8,

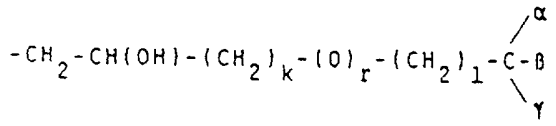
Y^1 ja Y^2 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta vetyatomi, $CH_2-CH(OH)-CH_2N$ tai $(CH_2)_a-N$ ja
Y^3 on typpiatomi, $O-CH_2-CH(OH)-CH_2N$ tai $O-(CH_2)_g-N$,
--- on yksinkertainen tai kaksoissidos,
niin että jos Y^3 on typpiatomi, Y^1 ja Y^2 tarkoittavat vetyatomia.

Yksinkertaisimmassa tapauksessa kaskadiydin on typpiatomi, jonka kolme sidosta (peruskerrannaisuus b = 3) kolmen kulloinkin 1 - 3 terminaalista NH_2-ryhmää (s = 1 -3) omaavan toistoyksikön S ensimmäisessä "sisemmässä kerroksessa" (ketjureaktion vaihe 1) on miehitetty (eli perustana olevan kaskadin alkuyhdisteen ammoniakin kolme vetyatomia on substituoitu kolmella S-yksiköllä). Jos toistoyksikkö S sisältää esimerkiksi NH_2-ryhmän (s = 1), tämän ketjureaktion vaiheen toistokerrannaisuus s on 2. Seuraavassa reaktiovaiheessa liitetyn toistoyksiköiden S 2. kerroksen (vaihe 2) (jossa edellä mainitussa esimerkissä A on typpiatomi ja kuusi sidosta on miehitetty, kun s = 1) ei ole pakko olla identtinen ketjureaktion 1. vaiheen toistoyksikön S kanssa. Korkeintaan kymmenen, edullisesti 2 - 6 ketjureaktion vaiheen jälkeen on uloimman kerroksen terminaaliset typpiatomit substituoitu, kuten edellä on esitetty, viimeisen ketjureaktion vaiheen ryhmillä Z^1 ja Z^2.

Muina edullisina kaskadin alkuyhdisteinä esitettäköön mm. tris(aminoetyyli)amiini (b = 6); tris(aminopro-p-yyli)amiini (b = 6); dietyleenitriamiini (b = 5); trietyleenitetramiini (b = 6); tetraetyleenipentamiini (b = 7); $H_2N-CH_2-C_6H_4-CH_2-NH-CH_2-C_6H_4-CH_2-NH_2$ (b = 5); 1,3,5-tris-(aminometyyli)bentseeni (b = 6); 2,4,6-tris(aminometyyli)-pyridiini (b = 6); 1,4,7-triatsasyklononaani (b = 3); 1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani (b = 4); 1,4,7,10,13-penta-atsosyklopentadekaani (b = 5); 1,4,8,11-tetra-atsasyklotetradekaani (b = 4); 1,4,7,10,13,16,19,22,25,28-deka-atsasyklotriakontaani (b = 10); 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa-amino-6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodeks-

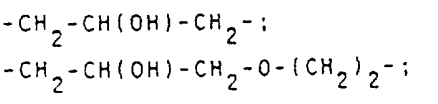
triini (b = 12); 6,6',6",6"',6"",6""',6"""-hepta-amino-6,-6',6",6"',6"",6""',6"""-heptadeoksi-β-syklodekstriini (b = 14); 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa-(1-amino-2-hydroksipropyyli)-α-syklodekstriiniheksaeetteri (b = 12); 2,2',2",2"',-2"",2""',6,6',6",6"',6"",6""'-dodeka-(1-amino-2-hydroksipropyyli)-α-syklodekstriinidodekaeetteri (b = 24).

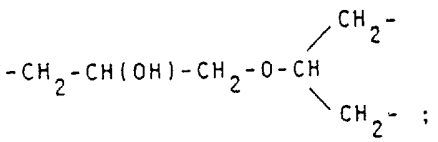
Toistoyksikkö S määritetään kaavalla

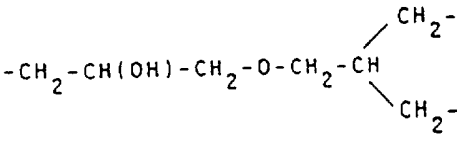


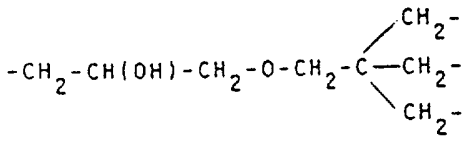
joissa
α ja β ovat kulloinkin vetyatomi tai $(CH_2)_l$,
γ on $(CH_2)_f$,
f on luku 1, 2, 3, 4 tai 5 ja
r on luku 0 tai 1.

Edullisia toistoyksiköitä S ovat

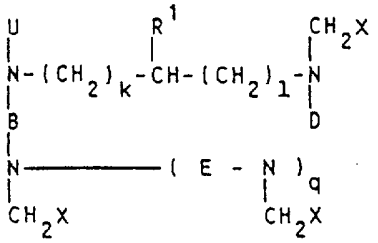








Kompleksinmuodostajaryhmiä K kuvataan yleisellä kaavalla I B,



(I B)

jolloin
k on luku 1, 2, 3, 4 tai 5,
l on luku 0, 1, 2, 3, 4 tai 5,
q on luku 0, 1 tai 2,
U on CH_2X tai V,
X on kulloinkin muista riippumatta ryhmä -COOH tai V', jolloin jos molekyyli sisältää ryhmän V', vähintään 0,1 % substituenteista X on V',
B, D ja E, jotka ovat samoja tai erilaisia, ovat kulloinkin ryhmiä $-(CH_2)_a$, jossa a tarkoittaa lukua 2, 3, 4 tai 5,
R^1 on V tai vetyatomi,
niin että R^1 on vain silloin V, kun U on samalla CH_2X, ja että U on vain silloin V, kun samanaikaisesti R^1 tarkoittaa vetyatomia, sekä niin että haluttaessa osa COOH-ryhmistä on esterinä ja/tai amidina.

Esimerkkeinä kompleksinmuodostajaryhmistä K mainittakoon ryhmät, jotka muodostuvat etyleenidiamiinitetraetikkahaposta, dietyleenitriamiinipentaetikkahaposta, trans-1,2-sykloheksaanidiamiinitetraetikkahaposta, 1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanitetraetikkahaposta, 1,4,7-triatsasyklononaanitrietikkahaposta, 1,4,8,11-tetra-atsatetradekaanitetraetikkahaposta, 1,5,9-triatsasyklododekaani-trietikkahaposta, 1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanitrietikkahaposta ja 3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]-pentadeka-1(15),11,13-trieenitrietikkahaposta, jotka ovat liittyneet (kulloinkin ryhmän K sisältämän) karbonyyliryhmän (I B, jos samanaikaisesti R^1 on vetyatomi) tai (ryhmän V sisältämän, ks. merkintöjen U ja R^1 määritelmiä) hiiliatomin (I B, jos samanaikaisesti U on CH_2X) välityksellä kulloinkin kaskadipolymeerin viimeisen vaiheen terminaaliseen $-NH_2$-ryhmään. Haluttaessa osa karboksyylihapoista voi olla esterinä ja/tai amidina.

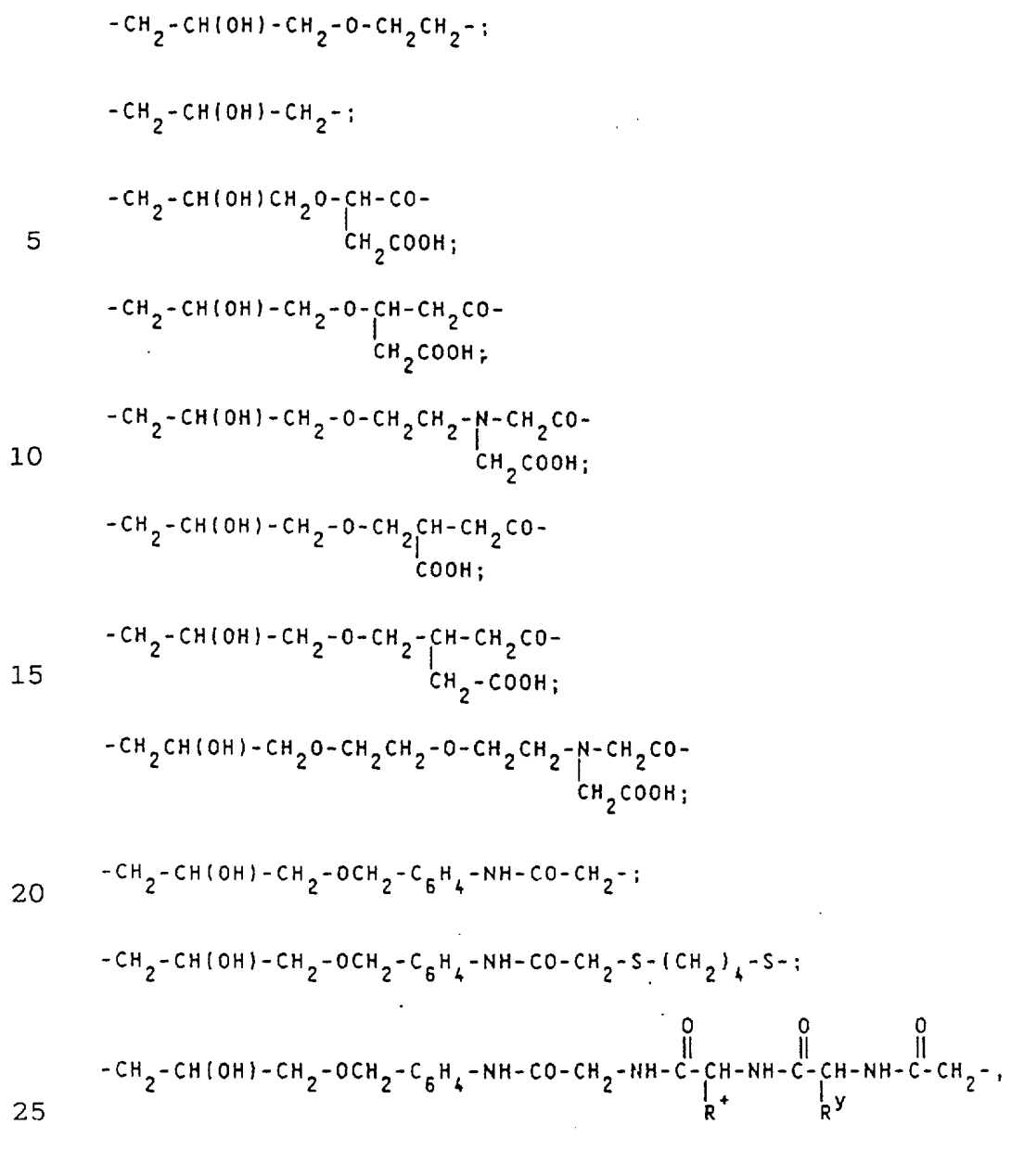
Ketjureaktion viimeisen vaiheen ryhmänä Z voi osuuteen 4 % asti olla V'.

Jos keksinnön mukainen aine on tarkoitettu käytettäväksi NMR-diagnostiikassa, kompleksisuolan keskusionin täytyy olla paramagneettinen. Sellaisia ovat erityisesti järjestysluvultaan 21 - 29, 42, 44 ja 57 - 70 olevien alkuaineiden kaksi- ja kolmearvoiset ionit. Sopivia ioneja ovat esimerkiksi kromi(III)-, mangaani(II)-, rauta(II)-, koboltti(II)-, nikkeli(II)-, kupari(II)-, praseodyymi-(III)-, neodyymi(III)-, samarium(III)- ja ytterbium(III)-ionit. Hyvin suuren magneettisen momenttinsa vuoksi erityisen edullisia ovat gadolinium(III)-, terbium(III)-, dysprosium(III)-, holmium(III)-, erbium(III)- ja rauta-(II)ionit.

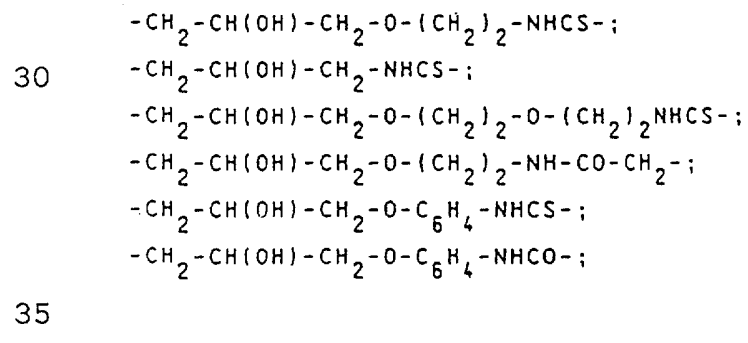
Jos keksinnön mukainen aine on tarkoitettu käytettäväksi röntgendiagnostiikassa, keskusionin täytyy olla peräisin suuremman järjestysluvun omaavasta alkuaineesta, jotta saataisiin aikaan riittävä röntgensäteilyn absorptio. Havaittiin, että tähän tarkoitukseen sopivat diagnostiset aineet, jotka sisältävät fysiologisesti siedettävää kompleksisuolaa, jonka keskusioni on jokin järjestysluvun 21 - 29, 39, 42, 44, 57 - 83 omaavista alkuaineista; sellaisia ovat esimerkiksi lantaani(III)ioni ja edellä mainitut lantanoidi-ionit.

Keksinnön mukaiset kaskadipolymeerikompleksit sisältävät vähintään viisi edellä mainitun järjestysluvun omaavan alkuaineen ionia.

Ryhmänä V oleva alkyleeniryhmä sekä ryhminä R^2, R ja R' olevat alkyyliryhmät voivat olla suoraketjuisia, haaroittuneita, syklisiä, alifaattisia, aromaattisia tai aryylialifaattisia ja niissä voi olla korkeintaan 20 hiiliatomia. Edullisia ovat suoraketjuidet mono-dekametyleeniryhmät sekä C_1-C_4-alkyleenifenyyliryhmät. Selvennyksen vuoksi mainittakoon seuraavat alkyleeniryhmät:



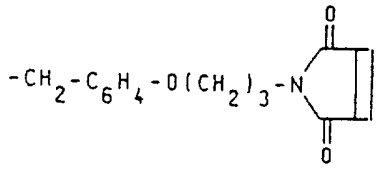
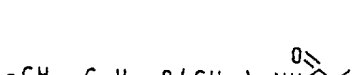
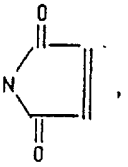
jossa R^+ ja R^Y ovat luonnollisia aminohapporyhmiä;



$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH_2-C_6H_4-NHCS-$;
$-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-C(=NH)-O-C_6H_4-CH_2-$;
$-(CH_2)_4-NH-CO-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-(CH_2)_4-NH-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$;
$-(CH_2)_3-O-C_6H_4-CH_2-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_3-O-CH_2-$; $-CH_2-CO-NH-NH-$;
$-CH_2-CONH-(CH_2)_2-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_{10}-$; $-CH_2-CONH-(CH_2)_2-S-$;
$-(CH_2)_4-NH-CO-(CH_2)_8-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_3-NH-$; $-(CH_2)_3-NH-$ryhmä.

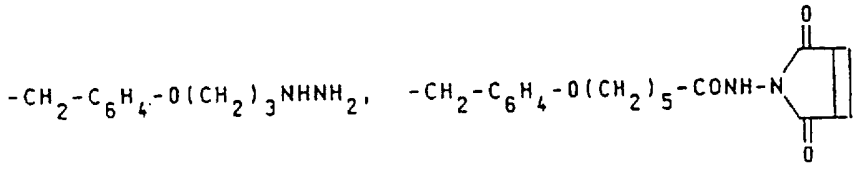
Edullisia funktionaalisia ryhmiä, jotka ovat V"-alkyleeniryhmän lopussa, ovat esimerkiksi maleimidobentsoyyli-, 3-sulfomaleimidobentsoyyli-, 4-(maleimidometyyli)-sykloheksyylikarbonyyli-, 4-[3-sulfo(maleimidometyyli)sykloheksyylikarbonyyli-, 4-(p-maleimidofenyyli)butyryyli-, 3-(2-pyridyyliditio)propionyyli-, metakryloyyli(pentametyleeni)amido-, bromiasetyyli-, jodiasetyyli-, 3-jodipropyyli-, 2-bromimetyyli-, 3-merkaptopropyyli-, 2-merkaptoetyyli-, fenyleeni-isotiosyanaatti-, 3-aminopropyyli-, bentsyyliesteri-, etyyliesteri-, t-butyyliesteri-, amino-, C_1-C_6-alkyyliamino-, aminokarbonyyli-, hydratsiino-, hydratsiinokarbonyyli-, maleimido-, metakryyliamido-, metakryloyylihydratsiinokarbonyyli-, maleimidiamidokarbonyyli-, halogeeni-, merkapto-, hydratsiinotrimetyleenihydratsiinokarbonyyli-, aminodimetyleeniamidokarbonyyli-, bromikarbonyyli-, fenyleenidiatsonium-, isotiosyanaatti-, semikarbatsidi-, tiosemikarbatsidi-, isosyanaattiryhmä.

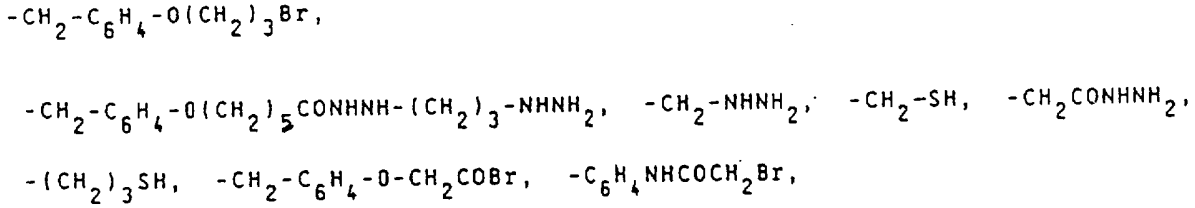
Selvennyksen vuoksi esitettäköön joitakin valikoituja ryhmiä:

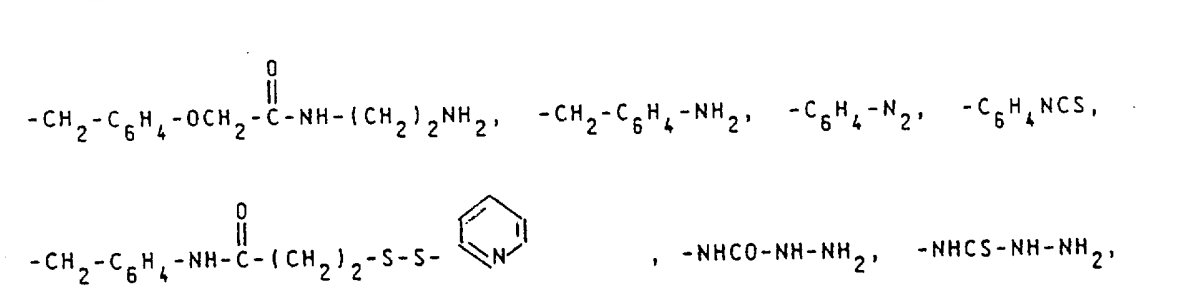

,

,

,

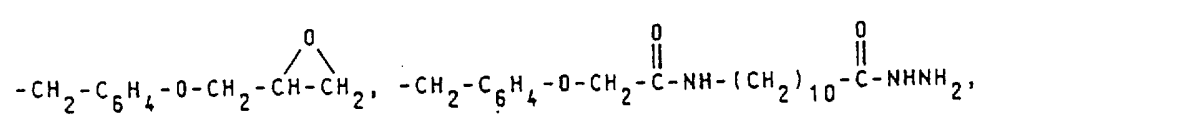
$-CH_2-C_6H_4-O(CH_2)_5CO_2CH_2C_6H_5$, $-CH_2-C_6H_4-O-CH_2-CO_2CH_2C_6H_5$,

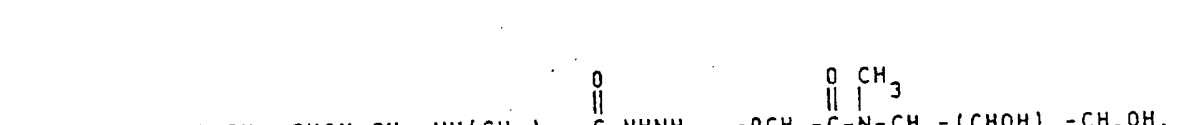
$-CH_2-C_6H_4-O(CH_2)_5CONHNH_2$, 
, $-CH_2-C_6H_4-O(CH_2)_4-SH$,

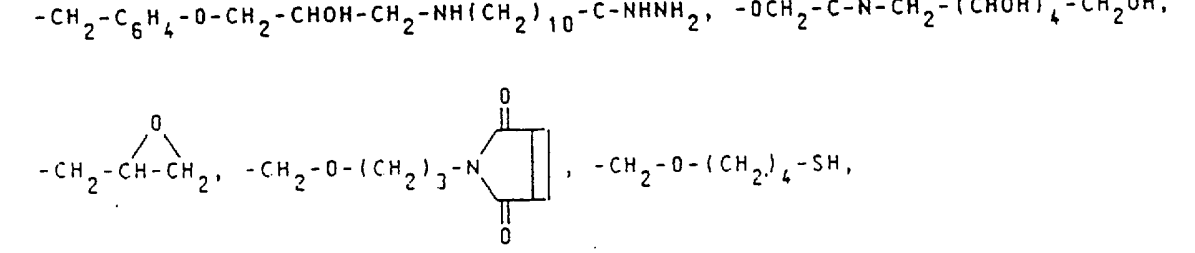


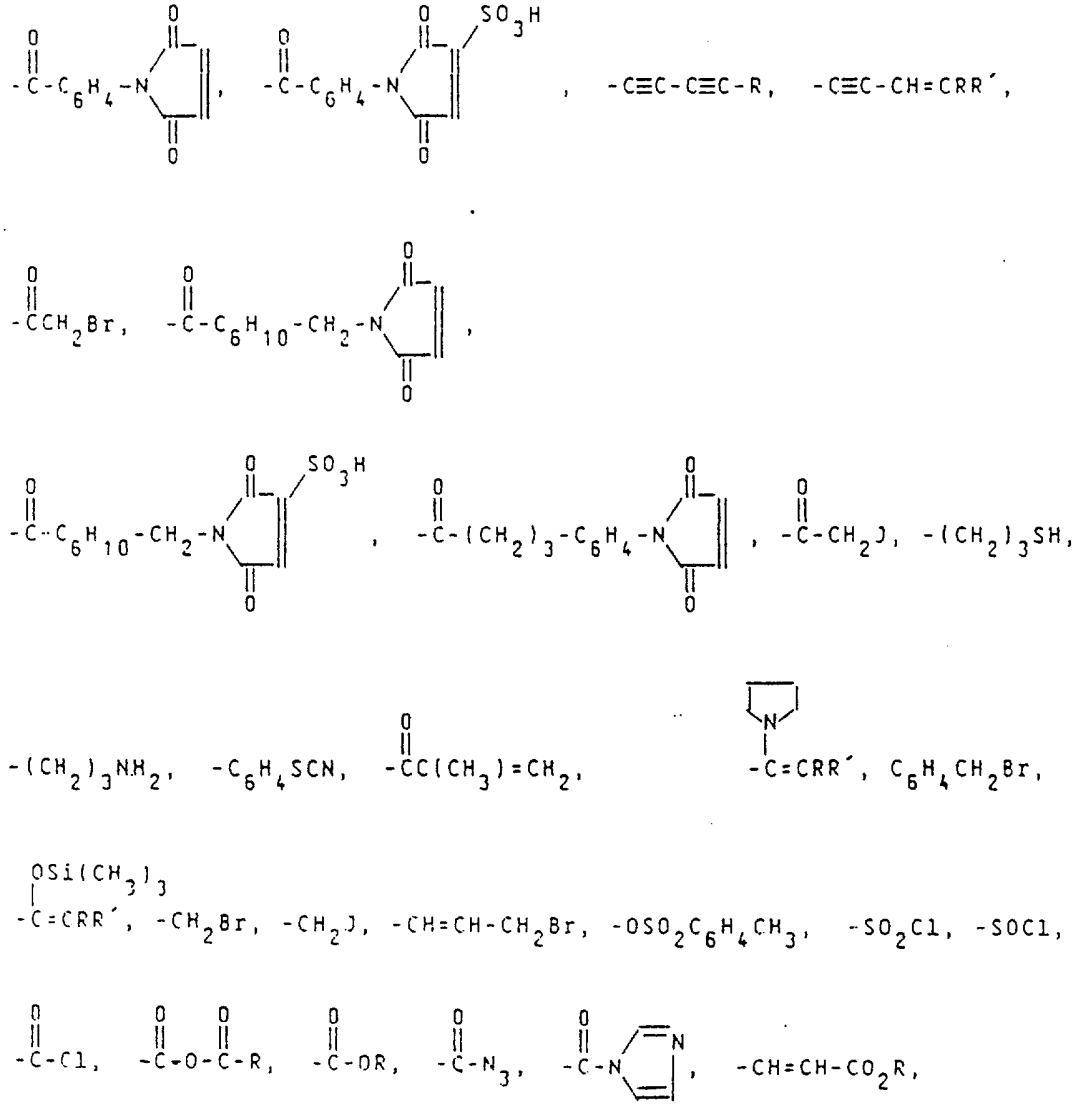












jolloin R ja R' ovat samoja tai erilaisia ja tarkoittavat kulloinkin vetyatomia, tyydyttynyttä tai tyydyttymätöntä mahdollisesti fenyyliryhmällä substituoitua C_1-C_{20}-alkyyliryhmää tai fenyyliryhmää.

Jäljelle jäävät happamat vetyatomit eli ne, joita keskusioni ei ole substituoinut, voivat mahdollisesti olla kokonaan tai osittain epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen tai aminohappojen kationien korvaamia. Vastaavat happoryhmät voivat olla kokonaan tai osittain muutettuina estereiksi tai amideiksi.

Sopivia epäorgaanisia kationeja ovat esimerkiksi litiumioni, kaliumioni, kalsiumioni, magnesiumioni ja erityisesti natriumioni. Sopivia orgaanisten emästen kationeja ovat muiden muassa primaaristen, sekundaaristen tai tertiaaristen amiinien, kuten esimerkiksi etanoliamiinin, dietanoliamiinin, morfoliinin, glukamiinin, N,N-dimetyyliglukamiinin ja erityisesti N-metyyliglukamiinin kationit. Sopivia aminohappojen kationeja ovat esimerkiksi lysiinin, arginiinin ja ornitiinin kationit sekä muuten happamien tai neutraalien aminohappojen amidit.

Sopivia estereitä ovat edullisesti ne, joissa on C_1-C_6-alkyyliryhmä; mainittakoon esimerkiksi metyyli-, etyyli- ja tertiaarinen butyyliryhmä.

Jos karboksyylihapporyhmät ovat osittain amideina, edullisia ovat tertiaariset amidit. Ryhminä kyseeseen tulevat tyydyttyneet, tyydyttymättömät, suoraketjuiset tai haaroittuneet tai sykliset hiilivedyt, joissa on korkeintaan 5 C-atomia ja jotka on substituoitu mahdollisesti 1 - 3 hydroksyyli- tai C_1-C_4-alkoksiryhmällä. Esimerkkeinä mainittakoon metyyli-, etyyli-, 2-hydroksietyyli-, 2-hydroksi-1-(hydroksimetyyli)etyyli-, 1-(hydroksimetyyli)-etyyli-, propyyli-, isopropenyyli-, 2-hydroksipropyyli-, 3-hydroksipropyyli-, 2,3-dihydroksipropyyli-, butyyli-, isobutyyli-, isobutenyyli-, 2-hydroksibutyyli-, 3-hydroksibutyyli-, 4-hydroksibutyyli-, 2-, 3- ja 4-hydroksi-2-metyylibutyyli-, 2- ja 3-hydroksi-isobutyyli-, 2,3,4-trihydroksibutyyli-, 1,2,4-trihydroksibutyyli-, pentyyli-, syklopentyyli- ja 2-metoksietyyliryhmä. Amidiryhmä voi olla myös amiditypen liittyessä muodostunut heterosyklinen 5- tai 6-rengas. Esimerkkeinä mainittakoon pyrrolidinyyli-, piperidyyli-, pyratsolidinyyli-, pyrrolinyyli-, pyratsolinyyli-, piperatsinyyli-, morfolinyyli-, imidatsolidinyyli-, oksatsolidinyyli-, tiatsolidinyylirengas.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on alussa kuvattuja toivottuja ominaisuuksia. Ne sisältävät niiden käytössä

tarvittavan suuren lukumäärän metalli-ioneja pysyvästi kompleksiin sidottuina. Ne jakautuvat (jos V' ei sisällä mitään bio- tai makromolekyyliä) vain vasaaliseen tilaan ja ne voidaan sen vuoksi osoittaa ydinspintomografian avulla.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden siedettävyys on Magnevistiin verrattuna vähintään kolminkertainen (LD_{50} hiirellä i.v. esimerkin 8 mukaiselle yhdisteelle 30 mmol/kg; Magnevist ≤ 10).

Sivuvaikutuksia kuten kipuja, verisuonivaurioita ja sydän-verenkiertohäiriöitä aiheuttava osmolaalisuuden arvo on Magnevistiin verrattuna selvästi pienentynyt (esimerkki 8: 0,46 [osmol/kg], Magnevist 1,96 [osmol/kg], 0,5 mol/l lämpötilassa 37 °C).

Yllättävän suuri on relaksiivisuuden arvo, jota MRI:ssä käytetään kuvauskyvyn määrää osoittavana suureena; signaalivahvistusta voitiin esimerkiksi esimerkin 8 mukaisen yhdisteen tapauksessa kohottaa Magnevistiin verrattuna nelinkertaiseksi.

Verrattuna makromolekulaarisiin varjoaineisiin, jotka perustuvat hiilihydraatteihin, esimerkiksi dekstraaniin EP-patenttihakemus, julkaisunumero 0 326 226), ja joissa - kuten jo on mainittu - on tavallisesti vain 4,6 % signaalia voimistavaa paramagneettista kationia, keksinnön mukaisilla polymeerikomplekseilla paramagneettisen kationin pitoisuus on yli 15 %. Siten keksinnön mukaiset makromolekyylit saavat molekyyliä kohti aikaan hyvin paljon suuremman signaalivahvistuksen, mikä johtaa samanaikaisesti siihen, että ydinspintomografiaan tarvittava annos on hiilihydraattiperustaisiin varjoaineisiin verrattuna selvästi pienempi.

Keksinnön mukaisilla polymeerikomplekseilla on onnistunut suunnitella ja valmistaa makromolekyylejä niin, että näillä on yhtenäisesti määritelty molekyylipaino. Sellaisia molekyylikooltaan tarkasti määritettävissä ole-

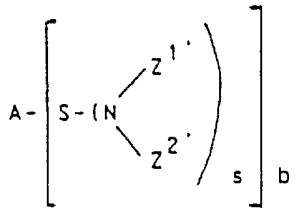
via makromolekulaarisia varjoaineita ei tähän asti ole ollut saatavissa. Näin on yllättävästi ensimmäistä kertaa mahdollista säädellä makromolekyylien kokoa niin, että nämä ovat riittävän suuria, niin että ne poistuvat vasaalisesta tilasta vain hitaasti, mutta samanaikaisesti riittävän pieniä voidakseen vielä mennä munuaisten kapillaarien läpi. Siten on ensimmäistä kertaa mahdollista valmistaa makromolekulaarisia varjoaineita kehoon sopivaksi.

Keksinnön mukaiset kompleksit toimivat varjoaineina kuvattaessa verisuonia ydinspintomografian avulla. Niiden avulla on mahdollista erottaa iskeemiset kudokset normaaleista kudoksista. Lisäksi myös muita vaurioita veren ja kudoksen rajalla voidaan tunnistaa näiden yhdisteiden avulla. Aivoissa olevien tulehdusten ja tuumoreiden yhteydessä veren ja aivon raja on vaurioitunut niin, että varjoaine voi suotautua sairaaseen kudokseen, ja sairas kudos tulee siten näkyviin ydinspintomografiassa. Vahingoittumattoman aivo-verirajan läpäisemättömyys myös pienten mutta hydrofiilisten molekyylien suhteen on tehnyt mahdolliseksi tunnistaa tulehduksia ja tuumoreita myös jo pienimolekyylisen yhdisteen Magnevistin avulla. Jos näissä tapauksissa käytetään kuitenkin keksinnön mukaisia komplekseja, annosta voidaan pienentää kuudenteentoista osaan kahdesta syystä: 1. niillä on 4 kertaa suurempi signaalivahvistus ja 2. ne jakautuvat neljäsosaan tilasta, nimittäin vain vasaaliseen tilaan, eli samojen konsentraatioiden saavuttamiseksi veressä riittää neljäsosa annoksesta.

Tämän keksinnön lisäetuna on se, että nyttemmin pystytään saamaan aikaan komplekseja, joissa on hydrofiilisiä tai lipofiilisiä, makrosyklisiä tai avoketjuisia, pienimolekyylisiä tai suurimolekyylisiä ligandeja. Siten on tullut mahdolliseksi säätää näiden polymeerikompleksien siedettävyyttä ja farmakokinetiikkaa kemiallisen substituution avulla.

Valitsemalla sopivia bio- ja makromolekyylejä (ks. eteenpäin) ryhmään V' saadaan keksinnön mukaisia polymeerikomplekseja, joilla on yllättävän suuri kudos- ja elinspesifisyys.

Keksinnön mukaisten kaskadipolymeerien valmistus suoritetaan siten, että yhdisteet, joilla on yleinen kaava I'



(I'),

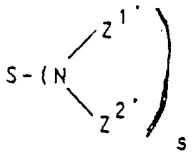
jossa

A on typpipitoinen kaskadiydin, jonka peruskerrannaisuus on b,

S on toistoyksikkö,

N on typpiatomi,

$Z^{1'}$ ja $Z^{2'}$ ovat ensimmäisestä viimeistä edelliseen ketjureaktion vaiheeseen kulloinkin ryhmä



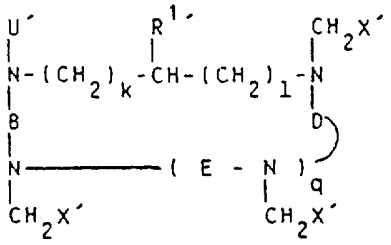
ketjureaktion viimeisessä vaiheessa sitä vastoin aina vetyatomi,

b on luku 1 - 50,

s on luku 1 - 3,

jolloin toistoyksiköiden täytyy olla identtisiä vain yhdessä ketjureaktion vaiheessa - mahdollisesti korkeintaan 4 prosentin terminaalisista aminoryhmistä reagoitua päistään karboksyyli- ja hydratsidi (edullisesti suojatussa muodossa olevan) -substituoidun C_4-C_{20}-alkyleeniketjun

kanssa - saatetaan reagoimaan kompleksin tai kompleksinmuodostajan K' kanssa, jolla on yleinen kaava



(I'B),

jolloin
n ja m ovat kulloinkin lukuja 0, 1, 2, 3 tai 4, jolloin n ja m eivät ole yhteensä yli 4,
k on luku 1, 2, 3, 4 tai 5,
l on luku 0, 1, 2, 3, 4 tai 5,
q on luku 0, 1 tai 2,
U' on $-CH_2C^*O-$, CH_2X' tai V", jolloin V" on mahdollisesti imino-, fenyleeni-, fenyleenioksi-, fenyleeni-imino-, amidi-, hydratsidi-, ureido-, tioureido-, karbonyyli-, esteriryhmän (-ryhmiä), happi-, rikki- ja/tai typpiatomin (atomeja) sisältävä mahdollisesti hydroksyyli-, merkapto-, imino-, epoksi-, okso-, tiokso- ja/tai aminoryhmällä (ryhmillä) substituoitu suoraketjuinen, haaroittunut, tyydyttynyt tai tyydyttymätön C_1-C_{20}-alkyleeniryhmä,
jonka päässä on funktionaalinen ryhmä,
X' muista riippumatta tarkoittaa aina ryhmiä -COOH, COOY tai V"',
jossa
Y on happosuojaryhmä tai järjestysluvultaan 21-29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 olevan alkuaineen metalli-ioniekvivalentti ja
V"' tarkoittaa ryhmäksi V' muutettavissa olevaa substituenttia,
C*O on aktivoitu karbonyyliryhmä,

B, D ja E, jotka ovat samoja tai erilaisia, tarkoittavat kulloinkin ryhmää $(CH_2)_a$, jossa a tarkoittaa lukuja 2, 3, 4 tai 5,

$R^{1'}$ on V" tai vetyatomi,

siten että $R^{1'}$ on vain silloin V", kun U' on samanaikaisesti CH_2X', ja että U' on $-CH_2C*O-$ tai V" vain silloin, kun $R^{1'}$ tarkoittaa samanaikaisesti vetyatomia,

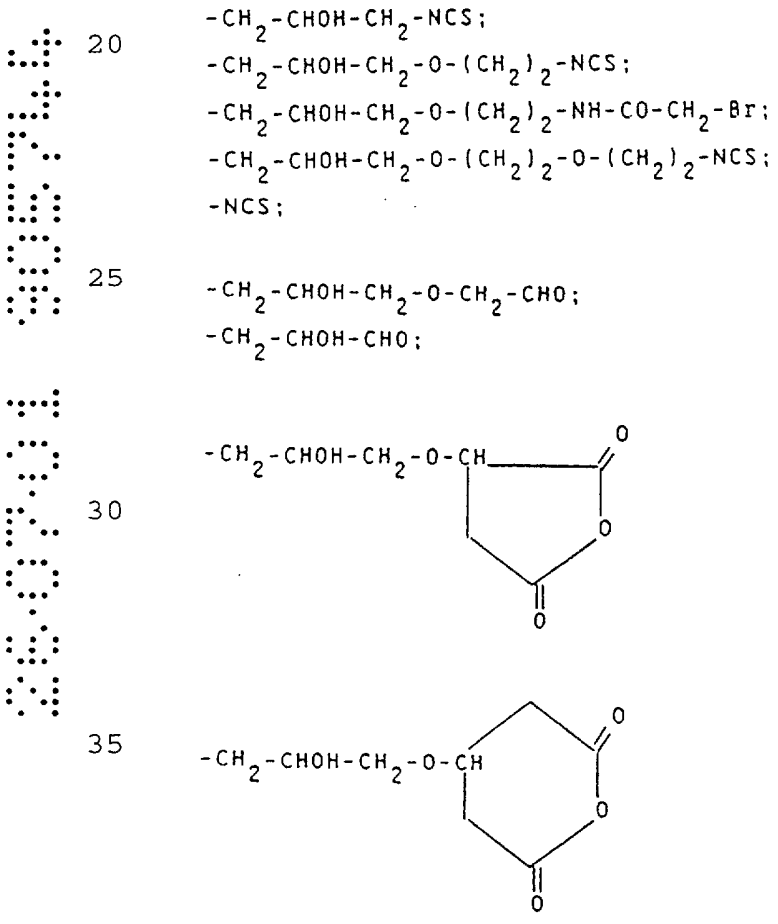
lohkaistaan haluttaessa mahdollisesti mukana olevat suojaryhmät, saatetaan niin saadut kaskadipolymeerit reagoimaan haluttaessa - jos K' on kompleksinmuodostaja - sinänsä tunnetulla tavalla vähintään yhden järjestysluvun 21 - 29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 omaavan alkuaineen metallioksidin tai metallisuolan kanssa ja haluttaessa muuttamalla vähintään yksi ryhmän K' sisältämistä $-CO_2H-$ tai V"'-ryhmistä halutuksi, päässä funktionaalisen ryhmän omaavaksi alkyleeniryhmäksi V" ja mahdollisesti sen jälkeen liittämällä tämän funktionaalisen ryhmän välityksellä tai mahdollisesti ryhmän Z^2 sisältämän pääteryhmänä olevan hydratsidiryhmän välityksellä makro- tai biomolekyyliin ja/tai sitomalla biotiini- tai avidiiniryhmään muutetaan halutun makro- tai biomolekyylin (haluttuja makro- tai biomolekyylejä) sisältäviksi kaskadipolymeereiksi, jolloin esitetyt reaktiovaiheet voidaan suorittaa (lukuun ottamatta makro- tai biomolekyyliliittämistä, joka voidaan suorittaa vasta funktionaalisen ryhmän muodostamisen jälkeen) mielivaltaisessa järjestyksessä, ja mahdollisesti sen jälkeen niin saaduissa polymeerikomplekseissa vielä olevat happamat vetyatomit substituoidaan kokonaan tai osittain epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen, aminohappojen tai aminohappoamidien kationeilla tai vastaavat happoryhmät muutetaan kokonaan tai osittain estereiksi tai amideiksi.

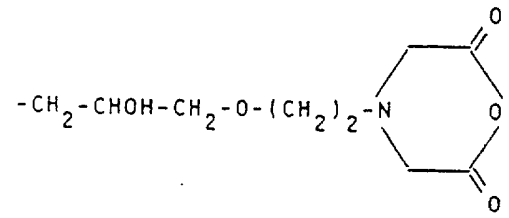
Esimerkkinä komplekseissa tai kompleksinmuodostajissa K' olevasta aktivoidusta karbonyyliryhmästä mainittakoon anhydridi, p-nitrofenyyliesteri ja happokloridi.

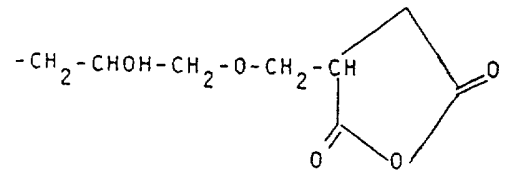
Kompleksinmuodostajien liittämiseksi suoritettava alkylointi tai asylointi suoritetaan käyttäen substraatteja, jotka sisältävät halutun substituentin K (mahdollisesti liittyneenä poistuvaan ryhmään) tai joista haluttu substituentti mahdollisesti jatkoreaktio(ide)n jälkeen synnytetään reaktion avulla. Esimerkkeinä ensin mainituista mainittakoon halogenidit, mesylaatit, tosylaatit ja anhydridit. Toiseen ryhmään kuuluvat esimerkiksi oksiraanit, tiiraanit, atsiraanit, α,β-tyydyttymättömät karbonyyliyhdisteet tai niiden vinyylianalogit, aldehydit, ketonit, isotiosyanaatit ja isosyanaatit.

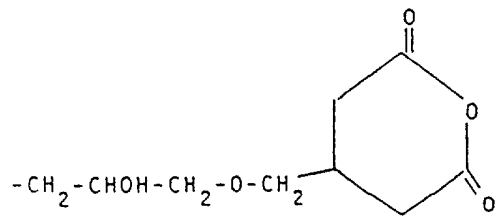
Esimerkkeinä jatkoreaktioista mainittakoon esterilohkaisut, hydraukset, esteröinnit, hapetukset, eetteröinnit ja alkyloinnit, jotka suoritetaan alan asiantuntijoiden tuntemien kirjallisuudessa esitettyjen menetelmien avulla.

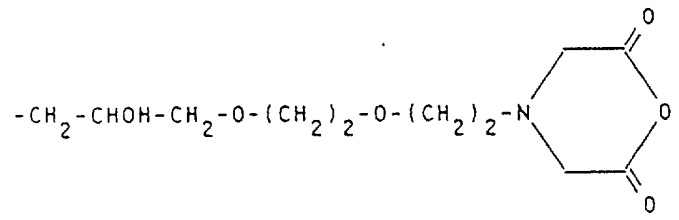
Valittuina esimerkkeinä ryhmän K' sisältävistä ryhmistä V" mainittakoon:







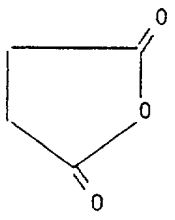
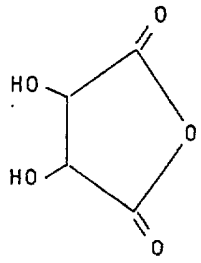
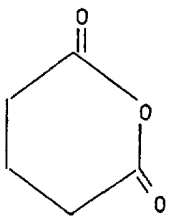


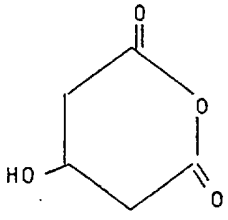
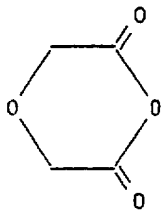


Esimerkkinä mainittakoon monoanhydridin N^{3-}(2,6-dioksomorfoliinometyyli)-N^{6}-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihapon reaktio kulloinkin halutun, terminaalisia aminoryhmiä sisältävien kaskadipolymeerien kanssa vedessä tai veden ja esimerkiksi dioksaanin, THF:n, DMF:n, DMSO:n tai asetonitriilin kanssa emäksisellä pH-alueella, edullisesti pH-alueella 8 - 10, eli lisäämällä emäksiä, kuten esimerkiksi natrium- tai kaliumhydroksidia tai trietyyliamiinia, lämpötiloissa 0 - 50 °C, edullisesti huoneenlämpötilassa. Reagoinnin saamiseksi täydelliseksi työskennellään käyttäen edullisesti esimerkiksi kaksin-kolminkertaista ylimäärää monoanhydridiä.

Toisena mahdollisuutena mainittakoon pääteryhminä aldehydiryhmiä sisältävien substituenttien K' reaktio kulloinkin haluttujen, terminaalisia aminoryhmiä sisältävien kaskadipolymeerien kanssa ja sen jälkeen suoritettava tällöin muodostuvien Schiffin emästen pelkistys kirjallisuudessa tunnettuja menetelmiä käyttäen (Synthesis 1975, 135). Tällöin synnytetyt sekundaariset amiinit voidaan muuttaa käyttäen seuraavaa asylointia tai alkylointia mahdollisesti 1 - 3 karboksyyli-, 1 - 3 sulfonihappo-, 1 - 5 hydroksyyliryhmää ja/tai 1 - 3 happiatomia sisältävillä α,β-tyydyttymättömillä estereillä, alkyylihalogenideillä, anhydrideillä, happohalogenideillä tai komplekseilla tai kompleksinmuodostajilla K' tertiaarisiksi amiineiksi, amideiksi tai tioamideiksi. Esimerkkeinä mainittuja, sekundaarisia aminovetyatomeja korvaavia reaktioon osallistuvia aineita ovat:

$Br\text{-}CH_2COOH$; $Cl\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH$; $H_2C{=}CH\text{-}COOCH_3$; $HOOC\text{-}CH{=}CH\text{-}COOCH_3$; $CH_2{=}C(COOEt)\text{-}CH_2OH$; $Br\text{-}CH_2\text{-}So_3H$; $Cl\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_3H$; $CH_3\text{-}CO\text{-}Cl$; $Cl\text{-}CO\text{-}CH_2OH$; $Cl\text{-}CO\text{-}CHOH\text{-}CH_2OH$; $ClSO_2CH_3$; $ClSO_2CH_2COOC_2H_5$; $Br\text{-}CO\text{-}(CHOH)_4\text{-}CH_2OH$; $Cl\text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}COOC_2H_5$;


;

;

;


;

,

$Br\text{-}CO\text{-}(CH_2)_4\text{-}COOC(CH_3)_3$; $Cl\text{-}CO\text{-}CHOH\text{-}COOCH_3$.

Tällöin edukteina tarvittavat aldehydit voidaan valmistaa vastaavista visinaalisista dioleista hapettamalla esimerkiksi natriummetajodaatilla vesi- tai alkoholiliuoksessa kirjallisuudesta tunnettuja menetelmiä käyttäen (esimerkiksi Makromol. Chem. 182 (1981) 1641).

Käyttäen sopivaa reaktionohjausta, esimerkiksi säätämällä pH-arvo tai lisäämällä amiineja, mukana liitetyt esteriryhmät voidaan haluttaessa saippuoida tai aminolysoida.

Niin saatujen kaskadipolymeerien puhdistus suoritetaan edullisesti ultrasuodatuksen avulla käyttäen sopivan huokoskoon omaavia membraaneja (esimerkiksi Amicon^{R}) tai geelisuodatuksella käyttäen esimerkiksi sopivia Sephadex^{R}-geelejä.

Samalla tavalla esimerkiksi isotiosyanaatista, epoksideista tai α-halogeeniasetyylistä johdettuja kompleksinmuodostajia tai komplekseja saatetaan reagoimaan kontrolloimalla pH-arvoja vesipitoisessa ympäristössä haluttujen kaskadipolymeeriamiinien kanssa.

Edukteina tarvittavat yhdisteet I' ovat tunnettuja (esimerkiksi EP-patenttihakemukset, julkaisunumerot 0 154 788 ja 0 331 616, DE-patenttihakemus P 3 825 040.3) tai niitä voidaan valmistaa vastaavista polyamiineista (jolloin mukana olevat funktionaaliset ryhmät ovat mahdollisesti suojattuja) alkyloimalla esterillä, jolla on yleinen kaava II

$$HalCH_2COOY' \qquad (II)$$

jossa Hal on kloori, bromi tai jodi ja Y' on vetyatomi, alkalimetalli tai happosuojaryhmä Y.

Reaktio toteutetaan polaarisissa aproottisissa liuottimissa kuten esimerkiksi dimetyyliformamidissa, dimetyylisulfoksidissa, asetonitriilissä, vesipitoisessa tetrahydrofuraanissa tai heksametyylifosforihappotriami-

dissa happoa sitovan aineen, kuten esimerkiksi tertiaarisen amiinin [esimerkiksi trietyyliamiini, trimetyyliamiini, N,N-dimetyyliaminopyridiini, 1,5-diatsabisyklo[4.3.0]-noneeni-5(DBN), 1,5-diatsabisyklo[5.4.0]undekeeni-5-(DBU)], alkali-, maa-alkalikarbonaatin, -vetykarbonaatin tai -hydroksidin (esimerkiksi natrium-, magnesium-, kalsium-, barium-, kalium-, -karbonaatti, -hydroksidi ja vetykarbonaatti) läsnä ollessa lämpötiloissa välillä -10 - 120 °C, edullisesti välillä 0 - 50 °C.

Happosuojaryhminä Y kyseeseen tulevat alemmat alkyyli-, aryyli- ja aralkyyliryhmät, esimerkiksi metyyli-, etyyli-, propyyli-, butyyli-, fenyyli-, bentsyyli-, difenyylimetyyli-, trifenyylimetyyli-, bis-(p-nitrofenyyli)-metyyliryhmä sekä trialkyylisilyyliryhmät.

Mahdollisesti haluttu suojaryhmien Y lohkaisu suoritetaan alan ammatilaisen tuntemien menetelmien avulla, esimerkiksi käyttäen hydrolyysiä, esterin emäksistä saippuointia emäksellä alkoholin vesiliuoksessa lämpötiloissa 0 - 50 °C tai tertiaaristen butyyliestereiden tapauksessa trifluorietikkahapon avulla.

Aktivoidun karbonyyliryhmän C*O, yhdisteen I'B, jossa ryhmällä U' on merkitys CH_2C^*O (esimerkiksi seka-anhydridi, N-hydroksisukkinimidiesterit, asyyli-imidatsolit, trimetyylisilyyliesterit) omaavien johdannaisten valmistus suoritetaan kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien mukaisesti [Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, osa E 5 (1985) 633; Org. React. 12 (1962) 157] tai valmistusta kuvataan kokeellisessa osassa.

Yhdisteiden I'B edukteina tarvittavien syklisten polyamiinien valmistus suoritetaan syklisoimalla kahta reagenssia, joista - yhdisteen I'B, jossa $R^{1'}$ = V", synteesin tapauksessa - yksi on V"'-substituoitu, ja (yhdisteen I'C synteesin tapauksessa) toinen sisältää halutun loppu-

tuotteen 6-jäsenisen renkaan tai täksi muutettavissa olevan esiasteen.

Syklisointi suoritetaan kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien mukaisesti [esimerkiksi Org. Synth. 58 (1978) 86, Macrocyclic Polyether Syntheses, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1982), Coord. Chem. Rev. 3 (1968) 3, Ann. Chem. 1976, 916, J. Org. Chem. 49 (1984) 110]; toinen käytetyistä reagensseista sisältää ketjun päässä kaksi poistuvaa ryhmää, toinen kaksi typpiatomia, jotka syrjäyttävät nukleofiilisesti nämä poistuvat ryhmät. Esimerkkinä mainittakoon reaktio, jossa reagoivat pääteryhminä olevat, haluttaessa substituentin V"' ja mahdollisesti 1 - 5 typpiatomia sisältävät dikloori-, dibromi-, dimesyylioksi-, ditosyylioksi- tai dialkoksikarbonyylialkyleeniyhdisteet ja pääteryhminä olevat, mahdollisesti 1 - 5 muuta typpiatomia alkyleeniketjussa sisältävät polyatsaalkyleeniyhdisteet. Substituentti V"' voi olla sen sijaan myös toisessa reagenssissa eli siinä, jossa on pääteryhminä olevia nukleofiilisiä typpiatomeja. Typpiatomit ovat mahdollisesti suojattuja esimerkiksi tosylaatteina tai trifluoriasetaatteina ja suojaryhmät vapautetaan ennen seuraavaa alkylointireaktiota kirjallisuudessa tunnettujen menetelmien mukaisesti (tosylaatit esimerkiksi epäorgaanisilla hapoilla, alkalimetalleilla nestemäisessä ammoniakissa, vetybromidihapossa ja fenolissa, reagenssilla Red-Al^{R}, litiumalumiinihydridillä, natriumamalgaamalla, vrt. esimerkiksi Liebigs Ann. Chem. 1977, 1344, Tetrahedron Letters 1976, 3477; trifluoriasetaatit esimerkiksi epäorgaanisilla hapoilla tai ammoniakilla metanolissa, vrt. esimerkiksi Tetrahedron Letters 1967, 289).

Typpiatomeihin eri tavalla (vety tai ryhmä CH_2COOY) substituoitujen makrosyklisten yhdisteiden valmistamiseksi nämä atomit voidaan varustaa edukteissa erilaisilla suojaryhmillä, esimerkiksi tosylaatti- ja bentsyyliryhmillä. Jälkimmäiset poistetaan silloin myös kirjallisuudesta tun-

nettujen menetelmien mukaisesti (edullisesti hydraamalla, esimerkiksi EP-patenttihakemus 232 751).

Jos syklisointireaktiossa käytetään diestereitä, niin saadut diketoyhdisteet täytyy pelkistää alan ammattilaisen tuntemalla menetelmällä, esimerkiksi diboraanilla.

Myös vastaavasti substituoituja pääteryhminä olevia bisaldehydejä voidaan syklisoida kulloinkin halutuilla pääteryhminä olevilla bisamiineilla; niin saatujen Schiffin emästen pelkistys suoritetaan kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien avulla, esimerkiksi käyttäen katalyyttistä hydrausta [Helv. Chim. Acta 61 (1978) 1376].

Syklisoinnin lähtöaineina tarvittavien amiinien valmistus suoritetaan kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien mukaisesti.

Käyttäen lähtöaineena N-suojattua aminohappoa saadaan reaktiosta osittain suojatun diamiinin kanssa (esimerkiksi karbodi-imidimenetelmän mukaisesti), lohkaisemalla suojaryhmät ja suorittamalla diboraanipelkistys triamiinia.

Aminohapoista saatavan diamiinin [Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther. 21 (1986) 333] reaktiosta kaksinkertainen moolimäärän kanssa N-suojattua ω-aminohappoa saadaan tetramiinia sopivan jatkokäsittelyn jälkeen.

Haluttuja diamiineja voidaan valmistaa myös Gabriel-reaktion mukaisesti esimerkiksi vastaavista tosylaateista tai halogenideistä [vrt. esimerkiksi Inorg. Chem. 25 (1986) 4781].

Molemmissa tapauksissa N-atomien välillä olevien hiiliatomien lukumäärä on määritettävissä kytkentäreagenssina käytettyjen diamiinien tai aminohappojen laadusta.

Substituentiksi V"', joka voidaan muuttaa ryhmäksi V tai substituentiksi V", jonka päässä on makro- tai biomolekyyliin tai kaskadipolymymeeriin sitoutumiseen sopiva funktionaalinen ryhmä, sopivat muiden muassa hydroksyyli- ja nitrobentsyyli-, hydroksyyli- ja karboksialkyyli- sekä

tioalkyyliryhmät, joissa on korkeintaan 20 hiiliatomia. Ne muutetaan alan ammattilaisen tuntemien kirjallisuudessa esitettyjen menetelmien [Chem. Pharm. Bull. 33 (1985) 674, Compendium of Org. Synthesis Vol. 1 - 5, Wiley and Sons, Inc., Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, osa VIII, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, J. Biochem. 92 (1982) 1413] mukaisesti halutuiksi substituenteiksi (esimerkiksi amino-, hydratsiino-, hydratsiinokarbonyyli-, epoksidi-, anhydridi-, metakryloyylihydratsiinokarbonyyli-, maleimidiamidokarbonyyli-, halogeeni-, halogeenikarbonyyli-, merkapto-, isotiosyanaattiryhmä funktionaalisena ryhmänä), jolloin nitrobentsyyliryhmän tapauksessa ensin täytyy suorittaa katalyyttinen hydraus (esimerkiksi viitteen P.N. Rylander, Catalytic Hydrogenation over Platinum Metals, Academic Press 1967) aminobentsyylijohdannaiseksi.

Esimerkkejä aromaattisiin tai alifaattisiin ryhmiin liittyneiden hydroksyyli- tai aminoryhmien muuttamisreaktioista ovat sopivissa liuottimissa kuten tetrahydrofuraanissa, dimetoksietaanissa tai dimetyylisulfoksidissa, kaksifaasisissa vesipitoisissa systeemeissä kuten esimerkiksi vesi/dikloorimetaani, happoa sitovan aineen kuten esimerkiksi natriumhydroksidin, natriumhydridin tai alkalin tai maa-alkalikarbonaattien kuten esimerkiksi natrium-, magnesium-, kalium-, kalsiumkarbonaatin tai poly-(4-vinyylipyridiinin) Reillex^{R} läsnä ollessa lämpötiloissa, jotka ovat lämpötilan 0 °C ja kyseisen liuottimen kiehumispisteen välillä, edullisesti kuitenkin lämpötilavälillä 20 - 60 °C, suoritetut reaktiot substraatin kanssa, jolla on yleinen kaava III



$$Nf - L - Fu \qquad (III)$$

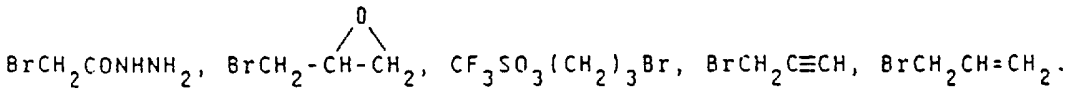
jossa Nf on nukleofiili kuten esimerkiksi Cl, Br, I, CH_3-$C_6H_4SO_3$ tai CF_3SO_3, L on alifaattinen, aromaattinen, aryylialifaattinen, haaroittunut, suoraketjuinen tai sykli-

nen hiilivetyryhmä, jossa on korkeintaan 20 hiiliatomia, ja Fu on haluttu pääteryhmänä oleva funktionaalinen ryhmä, mahdollisesti suojatussa muodossa (DE-hakemusjulkaisu 3 417 413).

Esimerkkeinä yleisen kaavan III mukaisista yhdisteistä mainittakoon

$Br(CH_2)_2NH_2$, $Br(CH_2)_3OH$, $BrCH_2COOCH_3$, $BrCH_2CO_2{}^tBu$, $ClCH_2CONHNH_2$,

$Br(CH_2)_4CO_2C_2H_5$, $BrCH_2COBr$, $BrCH_2CONH_2$, $ClCH_2COOC_2H_5$,



Karboksiryhmien muuttamiset voidaan suorittaa esimerkiksi käytäen karbodi-imidimenetelmää (Fieser, Reagents for Organic Syntheses 10, 142), seka-anhydridin [Org. Prep. Proc. Int. 7 (1975) 215] tai aktivoidun esterin [Adv. Org. Chem. Part B, 472] välityksellä.

Mahdollisesti halutun substituentin V" liittäminen kompleksinmuodostajien I'B typpiatomiin (eli U' = V") voidaan suorittaa myös edellä esitetyn menetelmän mukaisesti, eli myös tässä käydään läpi tavallisesti ryhmän V"' sisältävä makrosyklisen yhdisteen esiaste, joka saadaan vain yhden vapaan NH-ryhmän sisältävän polyatsamakrosyklisen yhdisteen reaktiosta. Esimerkkinä mainittakoon esimerkiksi 1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin reaktio suojatun aminoryhmän sisältävän primaarisen epoksidin kanssa, sen jälkeen niin saadun V"'-substituoidun makrosyklisen yhdisteen aminoryhmän vapauttaminen ja sen jälkeinen muuttaminen V"-substituoiduksi makrosykliseksi yhdisteeksi (esimerkiksi aminoryhmän muuttaminen kaskadipolymeeriamiiniin liittymiskykyiseksi funktionaaliseksi ryhmäksi, kuten esimerkiksi isotiosyanaatti-tai 2-halogeeniasetamidiryhmäksi.

Kompleksinmuodostajiin K (tai myös vastaaviin metallipitoisiin komplekseihin) liittämiseen tarvittavien terminaalisia aminoryhmiä sisältävien kaskadipolymeerien valmistus suoritetaan alan ammattilaisen tuntemin menetelmin liittämällä kaskadimaisesti ketjureaktiona typpiatomeja typpipitoiseen perusmolekyyliin. Tällöin ketjureaktiovaihe muodostuu vähintään kahdesta reaktiovaiheesta. Siten kaskadin alkuyhdisteen jokaisesta aminovetyatomista muodostuu esimerkiksi Michael-liittymisen tai sopivan funktionaalisen ryhmän sisältävän primaarisen epoksidin liittymisen avulla ja niin liitettyjen funktionaalisten ryhmien sen jälkeisen muuttamisen jälkeen jopa kolme aminoryhmää.

Esimerkkinä mainittakoon kaskadin alkuyhdisteen tris(aminoetyyli)amiinin kuuden aminovetyatomin substituoiminen kuudella $-CH_2CH_2-CONH-CH_2CH_2NH_2$-yksiköllä, joka reaktio toteutetaan Michael-liittymistä käyttäen akryylihappoesterin avulla ja sen jälkeisellä etyleenidiamiinilla suoritetulla aminolyysillä. Edullisesti ilman liuotinta suoritettu aminolyysi suoritetaan tällöin käyttäen korkeintaan 500-kertaista amiiniylimäärää esteriryhmittymää kohti lämpötiloissa 0 - n. 130 °C.

Esimerkkinä epoksidiliittymisestä mainittakoon 6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodekstriinin reaktio 1,3-[N,N-tetrabentsyyli]diamino-2-[oksiranyylimetoksi]propaanin kanssa ja sen jälkeen suoritettava aminoryhmien vapauttaminen katalyyttisen hydrauksen avulla alan ammattilaisen tuntemin menetelmin (ks. edellä).

Osa niin saatujen polymeeriyhdisteiden kompleksinmuodostajayksiköiden K välityksellä liitetyistä happoryhmistä voidaan haluttaessa funktionalisoida alan ammattilaisen tuntemaa menetelmää käyttäen, esimerkiksi muuttamalla esteri-, amidi-, hydratsidi-, maleimido- tai muiksi ryhmiksi, jotka sopivat bio- ja makromolekyyleihin liitettäviksi.

Niin saadut kompleksinmuodostajaligandit (sekä kompleksit) voivat olla myös liittyneinä bio- tai makromolekyyleihin, joista tiedetään, että ne rikastuvat erityisesti tutkittavaan elimeen tai elimen osaan. Sellaisia molekyylejä ovat esimerkiksi entsyymit, hormonit, polysakkaridit kuten dekstraani tai tärkkelykset, porfyriini, bleomysiini, insuliini, prostaglandiinit, steroidihormonit, aminosokeri, aminohapot, peptidit kuten polylysiini, proteiinit (kuten esimerkiksi immunoglobuliinit, monoklooniset vasta-aineet, lektiinit), lipidit (myös liposomien muodossa) ja DNA- tai RNA-tyyppiä olevat nukleotidit. Erityisesti on otettava esiin konjugaatit albumiinien, kuten ihmisseerumalbumiinin kanssa, vasta-aineiden, kuten esimerkiksi monokloonisten, tuumoreihin liittyville antigeeneille spesifisten vasta-aineiden tai antimyosiinin kanssa. Biologisten makromolekyylien sijasta voidaan liittää myös sopivia synteettisiä polymeerejä kuten polyetyleeniiminejä, polyamideja, polyureoita, polyeettereitä, kuten polyetyleeniglykoleja ja polytioureoita. Näistä muodostuneet farmaseuttiset aineet sopivat esimerkiksi käytettäviksi tuumori- ja infarktidiagnostiikassa sekä tuumoriterapiassa. Monoklonaalisilla vasta-aineilla [esimerkiksi Nature 256 (1975) 495] on polyklonaalisiin vasta-aineisiin verrattuna sellaisia etuja, että ne ovat spesifisiä yhdelle antigeeniselle määrittimelle, niillä on määrätty sitoutumisaffiniteetti, ne ovat homogeenisia (siten niiden valmistus tulee oleellisesti yksinkertaisemmaksi) ja ne ovat valmistettavissa soluviljelmissä suurina määrinä. Sellaisenaan esimerkiksi tuumorikuvaukseen sopivat monoklonaaliset vasta-aineet tai niiden fragmentit Fab ja $F(ab')_2$, jotka ovat esimerkiksi spesifisiä ihmisen mahasuolialueen, rinnan, maksan, rakon ja sukurauhasten tuumoreille sekä melanoomille [Cancer Treatment Repts. 68 (1984) 317, Bio Sci. 34 (1984) 150] tai suunnattuja karsinomembrionaalista antigeeniä (CEA), ihmisen koriogonado-

tropiinia (β-HCG) tai muita tuumoriperäisiä antigeenejä, kuten glykoproteiineja vastaan [New Engl. J. Med. 298 (1973) 1384, US-patenttijulkaisu 4 331 647]. Sopivia ovat muiden muassa myös antimyosiini, anti-insuliini- ja anti-fibriini-vasta-aineet (US-patenttijulkaisu 4 036 945).

Paksunsuolensyöpiä voidaan osoittaa gadolinium-(III)ioneilla kompleksoitujen vasta-aineen 17-1A (Centocor, USA) kanssa muodostuneiden konjugaattien avulla NMR-diagnostisesti.

Maksatutkimuksiin tuumoridiagnostiikkaa ajatellen sopivat esimerkiksi liposomien kanssa muodostuneet konjugaatit tai sulkeumayhdisteet, joita voidaan käyttää esimerkiksi unilamellaarisina tai multilamellaarisina fosfatidyylikoliini-kolesterolirakkuloina.

Metallien liittäminen haluttuihin makro- tai biomolekyyleihin suoritettiin tähän asti sellaisilla menetelmillä, jollaisia on kuvattu esimerkiksi julkaisuissa Rev. Roum. Morphol. Embryol. Physio., Physiologie 1981, 18, 241 ja J. Pharm. Sci. 68 (1979) 79, esimerkiksi makromolekyylin nukleofiilisen ryhmän, kuten amino-, fenoli-, sulfhydryyli-, aldehydi- tai imidatsoliryhmän reaktiolla polymeerikompleksin aktiivisen johdannaisen tai ligandien kanssa. Aktivoituina johdannaisina kyseeseen tulevat esimerkiksi anhydridit, happokloridit, seka-anhydridit (ks. esimerkiksi G.E. Krejcarek ja K.L. Tucker, Biochem., Biophys. Res. Commun. 1977, 581), aktivoidut esterit, nitreenit tai isotiosyanaatit. Toisaalta on myös mahdollista saattaa aktivoitu makromolekyyli reagoimaan polymeerikompleksin tai ligandien kanssa. Konjugoitaviksi proteiinien kanssa sopivat myös esimerkiksi rakenteen $C_6H_4N_2^+$, $C_6H_4NHCOCH_2Br$, C_6H_4NCS tai $C_6H_4OCH_2COBr$ omaavat substituentit.

Tämäntyyppiseen sitoutumiseen liittyy kuitenkin haitta konjugaattien puutteellisesta kompleksistabiilisuudesta tai puutteellisesta spesifisyydestä [esimerkiksi Diagnostic Imaging 84, 56; Science 220 (1983) 613,; Cancer

Drug Delivery 1 (1984) 125]. Tämän keksinnön mukainen konjugaatinmuodostus tapahtuu sitä vastoin ryhmässä V' olevien funktionaalisten ryhmien välityksellä. Tällöin yhden makromolekyylissä olevan sitoutumiskohdan kautta voi liittyä jopa yli sata metalli-ionia.

Vasta-ainekonjugaattien tapauksessa vasta-aineen sidos kompleksiin tai ligandeihin ei saa johtaa vasta-aineen antigeeniin sitoutumisen affiniteetin ja sitoutumisen spesifisyyden vähenemiseen. Tämä voidaan suorittaa joko sitoumisena glykoproteiinin Fc-osassa tai Fab:ssä tai $F(ab')_2$-fragmenteissa olevaan hiilihydraattiosuuteen tai sitoutumisena vasta-aineen tai vasta-ainefragmenttien rikkiatomeihin.

Ensimmäisessä tapauksessa täytyy ensin suorittaa sokeriyksiköiden hapettava lohkaisu kytkeytymiskykyisten formyyliryhmien synnyttämiseksi. Tämä voidaan suorittaa kemiallisin keinoin hapettimilla kuten esimerkiksi perjodihapolla, natriummetaperjodaatilla tai kaliummetaperjodaatilla kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien mukaisesti [esimerkiksi J. Histochem. and Cytochem. 22 (1974) 1084] vesiliuoksessa pitoisuuksina 1 - 100, edullisesti 1 - 20 mg/ml, ja hapettimen pitoisuuksina 0,001 - 10 mM, edullisesti 1 - 10 mM, pH-alueella n. 4 - 8 lämpötilassa 0 - 37 °C, ja reaktion kesto on 15 min - 24 tuntia. Hapetus voidaan suorittaa myös entsymaattisesti, esimerkiksi käyttäen galaktoosioksidaasia, entsyymipitoisuudella 1 - 20 mg/ml, pH-arvolla 5 - 8, reaktion keston ollessa 1 - 5 tuntia ja lämpötilan ollessa alueella 20 - 40 °C [esimerkiksi J. Biol. Chem. 234 (1959) 445].

Hapettamalla syntyneisiin aldehydeihin liitetään komplekseja tai ligandeja, joissa on sopivia funktionaalisia ryhmiä, kuten esimerkiksi hydratsiini, hydratsidi, hydroksyyliamiini, fneyylihydratsiini, semikarbatsidi ja tiosemikarbatsidi, toteuttamalla reaktio lämpötilassa 0 - 37 °C reaktion keston ollessa 1 - 65 tuntia ja pH-arvon

välillä n. 5,5 - 8, vasta-ainepitoisuuden ollessa 0,5 - 20 mg/l ja kompleksinmuodostajan moolisuhde vasta-aine-aldehydeihin 1 : 1 - 1 000 : 1. Seuraava konjugaatin stabilointi suoritetaan pelkistämällä kaksoissidos esimerkiksi natriumboorihydridillä tai natriumsyaaniboorihydridillä; pelkistintä käytetään tällöin 10 - 100-kertainen ylimäärä [esimerkiksi J. Biol. Chem. 254 (1979) 4359].

Toinen mahdollisuus vasta-ainekonjugaattien muodostamiseen alkaa immunoglobuliinimolekyylin disulfidisiltojen säästävästä pelkistyksestä; tällöin lohkaistaan herkemmät disulfidisillat vasta-ainemolekyylin H-ketjujen välillä, kun taas antigeenejä sitovan alueen S-S-sidokset jäävät koskemattomiksi, niin että ei tapahdu käytännöllisesti katsoen lainkaan vasta-aineen sitoumisen affiniteetin ja spesifisyyden vähenemistä [Biochem. 18 (1979) 2226, Handbook of Experimental Immunology, vol. 1, 2. painos, Blackwell Scientific Publications, Lontoo 1973, kappale 10]. Nämä vapaat inter-H-ketjualueen sulfhydryyliryhmät saatetaan sitten reagoimaan kompleksinmuodostajien tai metallikompleksien sopivien funktionaalisten ryhmien kanssa lämpötilassa 0 - 37 °C pH-arvon ollessa n. 4 - 7 ja reaktion kestäessä 3 - 72 tuntia, niin että muodostuu kovalentti sidos, joka ei vaikuta vasta-aineen antigeenisitomisalueella. Sopivina reaktiivisina ryhminä mainittakoon esimerkiksi: halogeenialkyyli-, halogeeniasetyyli-, p-merkuribentsoaatti-, isotiosyanaatti-, tioli-, epoksidiryhmät sekä ryhmät, joita voidaan käyttää Michael-liittämisreaktiossa, kuten esimerkiksi maleiini-imidit, metakryyliryhmät [esimerkiksi J. Amer. Chem. Soc. 101 (1979) 3097].

Vasta-ainefragmenttien liittämiseen polymeerikomplekseihin ja ligandeihin on lisäksi olemassa joukko sopivia, usein myös kaupallisesti saatavia kaksifunktionaalisia "lenkkejä" (ks. esimerkiksi Pierce, Handbook and General Catalogue 1986), jotka ovat reaktiivisia sekä frag-

menttien SH-ryhmien että polymeerien amino- ja hydratsinoryhmien suhteen.

Esimerkkeinä mainittakoon: m-maleimidobentsoyyli-N-hydroksisukkinimidiesteri (MBS), m-maleimidobentsoyyli-N-sulfosukkinmimidiesteri (sulfo-MBS), N-sukkinimidyyli-[4-(jodiasetyyli)amino]bentsoehappoesteri (SIAB), sukkinimidyyli-4-(N-maleimidometyyli)sykloheksaani-1-karboksyylihappoesteri (SMCC), sukkinimidyyli-4-(p-maleimidofenyyli-)voihappoesteri (SMPB), N-sukkinimidyyli-3-(2-pyridyylidi-tio)propionihappoesteri (SDPD), 4-[3-(2,5-diokso-3-pyrrolinyyli)propionyylioksi]-3-okso-2,5-difenyyli-2,3-dihydrotiofeeni-1,1-dioksidi, asetyylialanyylileusyylialanyyli-aminobentsyyli, asetamido-p-tioureidobentsyyli.

Kytkemisessä voidaan käyttää hyväksi myös ei-kovalenttisia sidoksia, jolloin sitomiseen voivat ottaa osaa vaihtelemassa määrin ja vaihtelevin voimakkuuksin (avain-lukko-periaate) myös sekä ioni- että van der Waals- ja vetysiltasidokset (esimerkiksi avidiini-biotiini, vasta-aine-antigeeni). Myös pienempien kompleksien sulkeumayhdisteet (host-guest) makromolekyylin suurehkoissa koloissa ovat mahdollisia.

Kytkemisperiaate on sellainen, että ensin valmistetaan kaksifunktionaalinen makromolekyyli, niin että liitetään joko tuumoriantigeenin vastainen vasta-ainehybridomi keksinnön mukaisen kompleksin vastaiseen toiseen vasta-ainehybridoomiin tai molemmat vasta-aineet liitetään kemiallisesti liittävän aineen välityksellä (linker) [esimerkiksi julkaisussa J. Amer. Chem. Soc. 101 (1979) 3097 esitetyllä tavalla] keskenään tai tuumoriantigeenin vastainen vasta-aine mahdollisesti liittävän aineen (linker) välityksellä avidiiniin (tai biotiiniin) [D.J. Hnatowich et al., J. Nucl. Med. 28 (1987) 1294]. Vasta-aineiden sijasta voidaan käyttää myös niiden vastaavia F(ab)- tai $F(ab')_2$-fragmentteja. Farmaseuttista käyttöä varten injektoidaan ensin kaksifunktionaalinen makromolekyyli, joka

rikastuu kohteeseen, ja sen jälkeen jonkin ajan kuluttua keksinnön mukainen kompleksiyhdiste [mahdollisesti biotiiniin (tai avidiiniin) liittyneenä], joka liittyy kohteeseen in vivo ja levittää siellä diagnostisen tai terapeuttisen vaikutuksensa. Lisäksi voidaan käyttää myös muita liittämismenetelmiä kuten esimerkiksi julkaisussa Protein Tailoring Food Med. Uses [Am. Chem. Soc. Symp. (1985) 349 kuvattua menetelmää "Reversible Radiolabeling".

Niin kutsutun kiinteäfaasikytkennän yhteydessä on käytettävissä erittäin yksinkertainen menetelmä vasta-ainekonjugaattien tai vasta-ainefragmenttikonjugaattien valmistamiseksi: Vasta-aine kytketään stationaarifaasiin (esimerkiksi ionivaihtajaan), joka on esimerkiksi lasipylväässä. Käyttäen pylvään peräkkäisiä huuhteluja aldehydiryhmien synnyttämiseen sopivalla liuoksella, pesua, huuhtelua funktionalisoidun kompleksin (tai ligandien) liuoksella, pesua (jos käytetään ligandia, suoritetaan vielä yksi huuhtelu metallisuolaa sisältävällä liuoksella ja sen jälkeen vielä yksi huuhtelu) ja lopuksi konjugaatin eluointia saadaan erittäin suuria konjugaattisaantoja.

Tämä menetelmä tekee mahdolliseksi tuottaa automaattisesti ja keskeytymättä haluttuja määriä konjugaatteja.

Myös muita kytkentävaiheita voidaan toteuttaa tällä tavalla.

Niinpä esimerkiksi käyttäen sarjaa papaiinipelkistys/kaksifunktionaalinen liittäjä/funktionalisoitu kompleksi tai ligandi valmistaa fragmenttikonjugaatteja.

Niin muodostetut yhdisteet puhdistetaan sen jälkeen edullisesti kromatografisesti ioninvaihtimen avulla käyttäen Fast-Protein-Liquid-Chromatography-laitteistoa.

Keksinnön mukaisia metallikomplekseja valmistetaan tavalla, jollainen on julkaistu DE-hakemusjulkaisussa 3 401 052, niin että järjestysluvultaan 21 - 29, 42, 44, 57 - 83 olevan alkuaineen metallioksidi tai metallisuola

(esimerkiksi nitraatti, asetaatti, karbonaatti, kloridi tai sulfaatti) liuotetaan tai suspendoidaan veteen ja/tai alempaan alkoholiin (kuten metanoli, etanoli tai isopropanoli) ja saatetaan reagoimaan ekvivalentin määrän kanssa komplekseja muodostavan ligandin liuosta tai suspensiota ja sen jälkeen haluttaessa mukana olevat happamat happo- tai fenoliryhmien vetyatomit substituoidaan epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen tai aminohappojen kationeilla.

Haluttujen metalli-ionien liittäminen voidaan suorittaa sekä kompleksinmuodostajien I'A, I'B tai I'C vaiheessa eli ennen liittämistä kaskadipolymeereihin että metalloimattomien ligandien I'A, I'B tai I'C kytkemisen jälkeen.

Neutralointi suoritetaan tällöin esimerkiksi natriumin, kaliumin, litiumin, magnesiumin tai kalsiumin epäorgaanisten emästen (esimerkiksi hydroksidit, karbonaatit tai vetykarbonaatit) avulla ja/tai orgaanisten emästen, kuten mm. primaaristen, sekundaaristen ja tertiaaristen amiinien, kuten esimerkiksi etanoliamiinin, morfoliinin, glukamiinin, N-metyyli- ja N,N-dimetyyliglukamiinin sekä emäksisten aminohappojen, kuten esimerkiksi lysiinin, arginiinin ja ornitiinin tai alunperin neutraalien tai happamien aminohappojen amidien avulla.

Neutraalien kompleksiyhdisteiden valmistamiseksi voidaan esimerkiksi happamiin kompleksisuoloihin lisätä vesiliuoksessa tai suspensiossa niin paljon haluttuja emäksiä, että saavutetaan neuraloitumispiste. Saatu liuos voidaan sen jälkeen haihduttaa kuiviin alennetussa paineessa. Usein on edullista saostaa neutraloitaessa muodostuneet suolat lisäämällä veteen sekoittuvia liuottimia, kuten esimerkiksi alempia alkoholeja (metanoli, etanoli, isopropanoli ym.), alempia ketoneja (asetoni ym.), polaarisia eettereitä (tetrahydrofuraani, dioksaani, 1,2-dimetoksietaani ym.) ja saada siten helposti eristettävissä ja puhdistettavissa olevia kiteisiä tuotteita. Erityisen

edulliseksi on osoittautunut lisätä haluttu emäs reaktioseokseen jo kompleksinmuodostuksen aikana ja säästää siten yksi vaihe.

Jos happamat kompleksiyhdisteet sisältävät useampia happamia ryhmiä, usein on tarkoituksenmukaista valmistaa neutraaleja sekasuoloja, jotka sisältävät vastaioneina sekä epäorgaanisia että orgaanisia kationeja.

Tämä voi tapahtua esimerkiksi siten, että komplekseja muodostava ligandi saatetaan vesipitoisessa suspensiossa tai liuoksessa reagoimaan keskusionin aikaan saavan alkuaineen oksidin tai suolan kanssa ja neutralointiin tarvittavasta määrästä puolikkaan kanssa orgaanista emästä, eristetään muodostunut kompleksisuola, puhdistetaan se haluttaessa ja sekoitetaan sitten neutraloinnin saattamiseksi loppuun tarvittavan määrän kanssa epäorgaanista emästä. Emäslisäysten järjestys voi olla myös käänteinen.

Toinen mahdollisuus neutraaleihin yhdisteisiin pääsemiseksi on muuttaa kompleksissa jäljelle jäävät happoryhmät kokonaan tai osittain esimerkiksi estereiksi tai amideiksi. Tämä voidaan suorittaa antamalla valmiin polymeerikompleksin reagoida jälkikäteen (esimerkiksi antamalla vapaiden karboksyyliryhmien reagoida täydellisesti dimetyylisulfaatin kanssa) ja myös käyttämällä sopivasti muunnettua substraattia yleisen kaavan I'A, I'B ja I'C mukaisten kompleksinmuodostajayksiköiden liittämiseksi [esimerkiksi N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihappo].

Vasta-aineen ja kompleksin muodostamat konjugaatit dialysoidaan ennen in vivo -käyttöä inkuboinnin jälkeen heikolla kompleksinmuodostajalla kuten esimerkiksi natriumsitraatilla tai natriumetyleenidiamiinitetraetikkahapolla heikosti sitoutuneiden metalliatomien poistamiseksi.

Keksinnön mukaisten aineiden valmistaminen suoritetaan sinänsä tunnetulla tavalla, niin että keksinnön mukaiset kompleksiyhdisteet - ja mahdollisesti lisätyt ai-

neiden valmistuksessa tavalliset lisäaineet - suspendoidaan tai liuotetaan vesipitoiseen väliaineeseen ja sen jälkeen suspensio tai liuos mahdollisesti steriloidaan. Sopivia lisäaineita ovat esimerkiksi fysiologisesti vaarattomat puskurit (kuten esimerkiksi trometamiini), kompleksinmuodostajien lisäaineet (kuten esimerkiksi dietyleenitriamiinipentaetikkahappo) tai - tarvittaessa - elektrolyytit kuten esimerkiksi natriumkloridi tai - tarvittaessa - antioksidantit kuten esimerkiksi askorbiinihappo.

Jos enteraalista käyttöä tai muita tarkoituksia varten halutaan keksinnön mukaisten aineiden vesipitoisia tai fysiologisessa suolaliuoksessa olevia suspensioita tai liuoksia, aineet sekoitetaan yhden tai useamman aineiden valmistuksessa tavallisen apuaineen (esimerkiksi metyyliselluloosa, laktoosi, manniitti) ja/tai tensidin (esimerkiksi lesitiini, Tween^R, Myrj^R ja/tai maunparannukseen tarkoitetun aromiaineen (esimerkiksi eteeriset öljyt) kanssa.

Periaatteessa on myös mahdollista valmistaa keksinnön mukaisia aineita ilman kompleksisuolojen eristämistä. Joka tapauksessa täytyy noudattaa erityistä huolellisuutta kelaatinmuodostuksen suorittamisessa, että keksinnön mukaiset suolat ja suolaliuokset eivät sisältäisi käytännöllisesti katsoen ollenkaan kompleksoitumattomia toksisesti vaikuttavia metalli-ioneja.

Tämä voidaan toteuttaa esimerkiksi väri-indikaattoreiden, kuten ksylenolioranssin, avulla suorittamalla kontrollititrauksia valmistusprosessin aikana. Keksintö koskee sen vuoksi myös menetelmää kompleksinmuodostajien ja niiden suolojen valmistamiseksi. Viimeiseksi varmistukseksi jää eristetyn kompleksisuolan puhdistus.

Keksinnön mukaiset aineet sisältävät edullisesti 1 μmol - 1 mol/l kompleksisuolaa ja niitä annetaan tavallisesti 0,0001 - 5 mmol/kg. Ne on tarkoitettu enteraaliseen ja parenteraaliseen käyttöön. Keksinnön mukaisia kompleksiyhdisteitä käytetään

1. NMR- ja röntgendiagnostiikkaan komplekseinaan järjestysluvun 21 - 29, 39, 42, 44 ja 57 - 83 omaavien alkuaineiden ionien kanssa;

2. radiodiagnostiikkaan komplekseinaan järjestysluvun 27, 29, 31, 32, 37 - 39, 43, 49, 62, 64, 70, 75 ja 77 omaavien alkuaineiden radioisotooppien kanssa.

Keksinnön mukaiset aineet täyttävät alussa ydinspintomografiaan sopiville varjoaineille asetetut monipuoliset vaatimukset. Ne sopivat erinomaisesti parantamaan oraalisesti tai parenteraalisesti annettuina ydinspintomografian avulla saatavan kuvan laatua kohottamalla signaalin intensiteettiä. Lisäksi niillä on suuri teho, joka on välttämätön, jotta keho kuormittuisi mahdollisimman pienellä määrällä vieraita aineita, ja hyvä siedettävyys, joka on välttämätön, jotta pystyttäisiin pitämään kiinni tutkimusten rasittamattomuudesta.

Keksinnön mukaisten aineiden hyvä vesiliukoisuus ja vähäinen osmolaalisuus tekevät mahdolliseksi valmistaa erittäin väkevöityjä liuoksia, jotta verenkierron tilavuuskuormitus pysyisi puolustettavissa olevissa rajoissa ja kehon nesteiden aiheuttama laimeneminen tasoittuisi, eli NMR-diagnostisten aineiden täytyy olla 100 - 1 000 kertaa vesiliukoisempia kuin NMR-spektroskopiaan tarkoitettujen aineiden. Lisäksi keksinnön mukaisilla aineilla ei ole vain hyvä in vitro -stabiilisuus, vaan myös yllättävän hyvä in vivo -stabiilisuus, niin että komplekseissa ei kovalentisti sitoutuneina olevien - sinänsä myrkyllisten -ionien vapautuminen tai vaihtuminen aikana, jona uudet varjoaineet taas ovat täysin erittyneet, tapahtuu vain äärimmäisen hitaasti.

Tavallisesti keksinnön mukaisia aineita annostellaan käytettäviksi NMR-diagnostisina aineina 0,0001 - 5 mmol/kg, edullisesti 0,005 - 0,5 mmol/kg. Käytön yksityiskohdista keskustellaan esimerkiksi viitteessä H.J. Weinmann et al., Am. J. of Roentgenology 142 (1984) 619.

Erityisen pieniä elinspesifisten NMR-diagnostisten aineiden annoksia (alle 1 mg/kg ruumiinpainoa) voidaan käyttää esimerkiksi tuumoreiden ja sydäninfarktin osoittamiseen.

Lisäksi keksinnön mukaisia kompleksiyhdisteitä voidaan edullisesti käyttää suskeptibiliteettireagensseina ja shift-reagensseina NMR-spektroskopiassa in vivo.

Keksinnön mukaiset aineet sopivat edullisten radioaktiivisten ominaisuuksiensa ja sisältämiensä kompleksiyhdisteiden hyvän stabiilisuuden vuoksi myös radiodiagnostisiksi aineiksi. Yksityiskohtia niiden käytöstä ja annostelusta on kuvattu esimerkiksi teoksessa "Radiotracers for Medical Applications", CRC-Press, Boca Raton, Florida.

Toinen radioisotooppeja käyttävä kuvausmenetelmä on positroniemissiotomografia, jossa käytetään positroneja emittoivia isotooppeja kuten esimerkiksi ^{43}Sc, ^{44}Sc, ^{52}Fe, ^{55}Co ja ^{68}Ga (Heiss, W.D., Phelps, M.E., Positron Emission Tomography of Brain, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1983).

Keksinnön mukaiset aineet sopivat erinomaisesti röntgenvarjoaineiksi, jolloin on erityisesti mainittava, että niitä käytettäessä ei voida todeta mitään merkkejä jodipitoisilla varjoaineilla tunnetuista anafylaktisista reaktioista biokemiallis-farmakologisissa tutkimuksissa. Erityisen arvokkaita ne ovat siksi, että niillä on edulliset absorptio-ominaisuudet digitaalisiin vähennystekniikoihin tarvittavilla putken korkeamman jännitteen alueilla.

Tavallisesti keksinnön mukaisia aineita annostellaan käytettäviksi röntgenvarjoaineina samalla tavoin kuin esimerkiksi meglumiinidiatritsoaattia määrinä 0,1 - 5 mmol/kg, edullisesti 0,25 - 1 mmol/kg.

Röntgenvarjoaineiden käytön yksityiskohdista keskustellaan esimerkiksi viitteissä Barke, Röntgenkontrastmittel, G. Thieme, Leipzig (1970), ja P. Thurn, E. Büche-

ler, Einführung in die Röntgendiagnostik, G. Thieme, Stuttgart, New York (1977).

Kaikkiaan on onnistuttu syntetisoimaan uusia kompleksinmuodostajia, metallikomplekseja ja metallikompleksisuoloja, joihin liittyy uusia mahdollisuuksia diagnostiikassa. Ennen kaikkea uudenlaisten kuvausmenetelmien kehitys diagnostiikassa tekee tämän kehityksen toivottavaksi.

Seuraavien esimerkkien tarkoituksena on selventää lähemmin keksinnön kohdetta.

Esimerkki 1

a) 1,2-epoksi-3-dibentsyyliaminopropaani

Hyvin sekoitettuun suspensioon, joka sisältää 234,51 g (2,53 mol) epikloorihydriiniä ja 200 ml 32-prosenttista natriumhydroksidia, tiputetaan lämpötilassa 0 °C 100 g (506,9 mmol) dibentsyyliamiinia (liuotettuna 300 ml:aan dikloorimetaania). Sekoitetaan 2 tuntia lämpötilassa 0 °C, sitten 3 tuntia huoneenlämpötilassa. Seos laimennetaan 3 l:lla vettä ja uutetaan kolme kertaa 500 ml:lla dikloorimetaania. Orgaaniset faasit yhdistetään, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävä öljy flash-kromatografoidaan (eluentti: dikloorimetaani/heksaani/asetoni 20/10/3).

Saanto: 111,72 g väritöntä öljyä (87 % teoreettisesta)

Analyysi:

C 80,60; H 7,56; N 5,53 (laskettu)

C 80,62; H 7,50; N 5,48 (saatu)

b) 10-(3-dibentsyyliamino-2-hydroksipropyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani

20 g (78,95 mmol) esimerkin 1a) otsikon mukaista yhdistettä ja 20,51 g (59,21 mmol) 1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaania (vastaa D03A) liuotetaan seokseen, joka sisältää 50 ml dioksaania ja

200 ml vettä, ja pH säädetään arvoon 10 käyttäen 6 M kaliumhydroksidia. Sekoitetaan 24 tuntia lämpötilassa 40 °C.

Haihdutetaan kuiviin, siirretään jäännös 500 ml:aan vettä ja 500 ml:aan metanolia ja uutetaan kaksi kertaa 200 ml:lla tert.-butyylimetyylieetteriä. Vesiliuoksen pH säädetään 5 M vetykloridihapolla arvoon 3 ja haihdutetaan kuiviin. Jäännös haihdutetaan alennetussa paineessa ja sen jälkeen kaadetaan poly-(4-vinyylipyridiini)-pylvääseen. Tuotetta eluoidaan liuoksella, joka sisältää etanolia ja vettä (1:1). Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen saadaan 22,37 g (63 % teoreettisesta D03A:n suhteen) otsikon mukaista yhdistettä voimakkaasti hygroskooppisena, lasimaisena kiintoaineena (analyysin mukaan 6,9 % vettä).

Analyysi:

C 62,08; H 7,56; N 11,68 (laskettu)

C 62,15; H 7,61; N 11,61 (saatu)

c) 10-(3-dibentsyyliamino-2-hydroksipropyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

21 g (35,02 mmol) esimerkin 1 b) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan liuokseen, joka sisältää 150 ml deionisoitua vettä ja 50 ml metanolia, ja lisätään 6,35 g (17,51 mmol) gadoliniumoksidia. Keitetään 2 tuntia refluksoiden. Lisätään 3 g aktiivihiiltä. Liuos suodatetaan kuumana ja suodos haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa. Saanto 25,08 g (95 % teoreettisesta) lasimaista kiintoainetta (analyysin mukaan 5,2 % vettä).

Analyysi:

C 49,39; H 5,61; N 9,29; Gd 20,86 (laskettu)

C 49,41; H 5,70; N 9,25; Gd 20,88 (saatu)

d) 10-(3-amino-2-hydroksipropyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

24 g (31,83 mmol) esimerkin 1c) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan seokseen, joka sisältää 250 ml de-i-

onisoitua vettä ja 150 ml metanolia, ja lisätään 10 g palladiumkatalysaattoria (10 % Pd aktiivihiilessä). Sen jälkeen hydrataan 24 tuntia lämpötilassa 50 °C. Katalysaattori poistetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan alennetussa paineessa. Saanto: 17,89 g (98 % teoreettisesta) otsikon mukaista kiintoainetta (analyysin mukaan 6,4 % vettä).

Analyysi:

C 35,59; H 5,27; N 12,21; Gd 27,41 (laskettu)

C 35,51; H 5,34; N 12,16; Gd 27,36 (saatu)

e) 10-(3-isotiosyanaatto-2-hydroksipropyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

Liuokseen, joka sisältää 12 g (20,92 mmol) esimerkin 1d) otsikon mukaista yhdistettä 500 ml:ssa deionisoitua vettä ja 20 ml:ssa polyvinyylipyridiiniä (Reillex), lisätään liuos, joka sisältää 4,81 g (41,83 mmol) tiofosgeenia 100 ml:ssa trikloorimetaania. Kaksifaasista liuosta sekoitetaan 10 minuuttia lämpötilassa 40 °C, sen jälkeen tunti huoneenlämpötilassa ja suodatetaan. Orgaaninen faasi erotetaan ja vesifaasia uutetaan vielä kaksi kertaa 200 ml:lla trikloorimetaania. Sen jälkeen vesifaasi pakastekuivataan. Saanto: 12,62 g (98 % teoreettisesta) väritöntä jauhetta (analyysin mukaan 5,7 % vettä).

Analyysi:

C 35,11; H 4,58; N 11,37; S 5,21; Gd 25,54 (laskettu)

C 35,04; H 4,64; N 11,31; S 5,15; Gd 25,48 (saatu)

Esimerkki 2

a) 1-dibentsyyliamino-5,6-epoksi-3-oksaheksaani

100 g (414 mmol) N-dibentsyyliaminoetanolia liuotetaan 200 ml:an dikloorimetaania ja tiputetaan voimakkaasti sekoitettuun seokseen, joka sisältää 250 ml 50-prosenttista natriumhydroksidia, 7,03 g (20,7 mmol) tetra-n-butyyliammoniumvetysulfaattia ja 153,4 g (1,657 mol) epikloorihydriiniä. Sekoitetaan 8 tuntia lämpötilassa 0 °C ja yön

yli huoneenlämpötilassa. Laimennetaan 2 l:lla vettä ja uutetaan kolme kertaa 500 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävälle öljylle suoritetaan flash-kromatografointi. (Silikageeli/eluentti: dikloorimetaani/heksaani/asetoni 20/10/3)
Saanto: 96,12 g (78 % teoreettisesta) väritöntä öljyä.
Analyysi:
C 76,74; H 7,79; N 4,71 (laskettu)
C 76,68; H 7,85; N 4,66 (saatu)

b) 10-(6-dibentsyyliamino-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani

34,34 g (115,47 mmol) esimerkin 2a) otsikon mukaista yhdistettä ja 20 g (57,74 mmol) 1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaania (vastaa D03A) liuotetaan seokseen, joka sisältää 60 ml dioksaania ja 350 ml vettä, ja pH säädetään 6 M kaliumhydroksidilla arvoon 10. Sekoitetaan 24 tuntia lämpötilassa 40 °C. Käsittelyä jatketaan kuten esimerkissä 1b).
Saanto: 25,39 g (71 % teoreettisesta D03A:n suhteen) lasimaista kiintoainetta (analyysin mukaan 7,1 % vettä).
Analyysi:
C 61,57; H 7,67; N 10,88 (laskettu)
C 61,49; H 7,80; N 10,79 (saatu)

c) 10-(6-dibentsyyliamino-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

23 g (35,73 mmol) esimerkin 2b) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan liuokseen, joka sisältää 150 ml deionisoitua vettä ja 50 ml metanolia, ja lisätään 6,48 g (17,86 mmol) gadoliniumoksidia. Keitetään 2 tuntia refluksoiden. Lisätään 3 g aktiivihiiltä ja refluksoidaan vielä toinen tunti. Liuos suodatetaan kuumana ja suodos haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa. Saadaan 27,65 g

(97 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä lasimaisena kiintoaineena (analyysin mukaan 7,8 % vettä).

Analyysi:

C 49,67; H 5,81; N 8,78; Gd 19,71 (laskettu)

C 49,61; H 5,89; N 8,71; Gd 19,61 (saatu)

d) 10-(6-amino-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

25 g (31,33 mmol) esimerkin 2c) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan seokseen, joka sisältää 250 ml deionisoitua vettä ja 150 ml metanolia, ja lisätään 10 g palladiumkatalysaattoria (10 % Pd aktiivihiilessä). Sen jälkeen hydrataan 24 tuntia. Katalysaattori poistetaan suodattamalla ja suodos haihdutetaan alennetussa paineessa. Saanto: 19,16 g (99 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä lasimaisena kiintoaineena (analyysin mukaan 5,7 % vettä).

Analyysi:

C 36,94; H 5,55; N 11,34; Gd 25,45 (laskettu)

C 36,88; H 5,59; N 11,27; Gd 25,38 (saatu)

e) 10-(6-isotiosyanaatto-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

Liuokseen, joka sisältää 15 g (24,28 mmol) esimerkin 2d) otsikon mukaista yhdistettä 500 ml:ssa deionisoitua vettä ja 20 ml:ssa polyvinyylipyridiiniä (Reillex), lisätään liuos, joka sisältää 5,58 g (48,56 mmol) tiofosgeenia 100 ml:ssa trikloorimetaania. Kaksifaasista liuosta sekoitetan 10 minuuttia lämpötilassa 40 °C, sen jälkeen tunti huoneenlämpötilassa ja suodatetaan. Orgaaninen faasi erotetaan ja vesifaasia uutetaan kahdesti 200 ml:lla trikloorimetaania. Sen jälkeen vesifaasi pakastekuivataan. Saanto: 15,7 g (98 % teoreettisesta) väritöntä jauhetta (analyysin mukaan 6,1 % vettä).

Analyysi:

C 36,41; H 4,89; N 10,61; Gd 23,83; S 4,86 (laskettu)

C 36,35; H 4,95; N 10,51; Gd 23,71; S 4,78 (saatu)

Esimerkki 3

10-(9-bromi-2-hydroksi-8-okso-4-oksa-7-atsanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

10 g (16,19 mmol) esimerkin 2e) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 50 ml:aan vettä ja pH säädetään arvoon 9 käyttäen 3 M natriumhydroksidia. Tähän tiputetaan lämpötilassa 0 °C liuos, joka sisältää 4,25 g (21,04 mmol) bromiasetyylibromidia 20 ml:ssa dioksaania, ja pH pidetään 3 M natriumhydroksidin avulla arvossa 9. Sekoitetaan tunti lämpötilassa 0 °C, 2 tuntia huoneenlämpötilassa. Haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäännös kromatografoidaan (Li Chroprep RP-18, Merck/eluentti: asetonitriili/H_2O-gradientti). Pääfraktion alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen saadaan 10,64 g (89 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä kiteisenä kiintoaineena (analyysin mukaan 5,4 % vettä).

Analyysi:

C 34,15; H 4,78; N 9,48; Gd 21,29; Br 10,82 (laskettu)

C 34,11; H 4,85; N 9,41; Gd 21,19; Br 10,75 (saatu)

Esimerkki 4

a) 1-dibentsyyliamino-5-hydroksi-3-oksapentaani

Seos, joka sisältää 50 g (475,56 mmol) 2-(2-aminoetoksi)etanolia ja 144,6 g (1,046 mol) kaliumkarbonaattia 600 ml:ssa etanolia ja 60 ml:ssa vettä, kuumennetaan lämpötilaan 60 °C. Tähän seokseen tiputetaan 1 tunnin aikana 178,95 g (1,046 mol) bentsyylibromidia ja keitetään sen jälkeen 2 tuntia refluksoiden. Haihdutetaan alennetussa paineessa, siirretään jäännös 1 l:aan dikloorimetaania ja erotetaan suolat suodattamalla. Suodos haihdutetaan alennetussa paineessa ja puhdistetaan flash-kromatografoimalla. (Silikageeli/eluentti: dikloorimetaani/heksaani/asetoni: 10/5/1)

Saanto: 127,58 g (94 % teoreettisesta) väritöntä öljyä.
Analyysi:
C 75,76; H 8,12; N 4,91 (laskettu)
C 75,71; H 8,18; N 4,85 (saatu)

b) 1-dibentsyyliamino-8,9-epoksi-3,6-dioksanonaani

Hyvin sekoitettuun suspensioon, joka sisältää 162,11 g (1,752 mol) epikloorihydriiniä, 8,2 g (24,15 mmol) tetra-n-butyyliammoniumvetysulfaattia ja 250 ml 50-prosenttista natriumhydroksidia, tiputetaan lämpötilassa 0 °C liuos, joka sisältää 125 g (438 mmol) esimerkin 4a) otsikon mukaista yhdistettä 200 ml:ssa dikloorimetaania. Sekoitetaan 8 tuntia lämpötilassa 0 °C ja yli yön huoneenlämpötilassa. Laimennetaan 2 l:lla vettä ja uutetaan kahdesti 500 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävä öljy puhdistetaan flash-kromatografoimalla (silikageeli/eluentti: dikloorimetaani/heksaani/asetoni: 20/10/3).
Saanto: 116,5 g (78 % teoreettisesta) väritöntä öljyä.
Analyysi:
C 73,87; H 7,79; N 4,03 (laskettu)
C 73,78; H 7,95; N 4,03 (saatu)

c) 10-(9-dibentsyyliamino-2-hydroksi-4,7-dioksanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani

39,43 g (115,47 mmol) esimerkin 4b) otsikon mukaista yhdistettä ja 20 g (57,74 mmol) 1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaania (vastaa D03A) liuotetaan seokseen, joka sisältää 60 ml dioksaania ja 250 ml vettä, ja pH säädetään 6 M natriumhydroksidilla arvoon 10. Sekoitetaan 24 tuntia lämpötilassa 40 °C. Sen jälkeen käsittelyä jatketaan esimerkissä 1b) kuvatulla tavalla.
Saanto: 28,59 g (72 % teoreettisesta D03A:n suhteen) lasimaista kiintoainetta (analyysin mukaan 6,3 % vettä).

Analyysi:
C 61,12; H 7,77; N 10,18 (laskettu)
C 61,07; H 7,84; N 10,05 (saatu)

d) 10-(9-dibentsyyliamino-2-hydroksi-4,7-dioksanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

25 g (36,35 mmol) esimerkin 4c) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan liuokseen, joka sisältää 150 ml deionisoitua vettä ja 50 ml metanolia, ja lisätään 6,59 g (18,17 mmol) gadoliniumoksidia. Keitetään 2 tuntia refluksoiden. Lisätään 3 g aktiivihiiltä ja refluksoidaan toinen tunti. Liuos suodatetaan kuumana ja suodos haihdutetaan kuiviin alennetussa paineessa.
Saanto: 30,0 g (98 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä lasimaisena kiintoaineena (analyysin mukaan 5,4 % vettä).
Analyysi:
C 49,92; H 5,98; N 8,32; Gd 18,67 (laskettu)
C 49,83; H 5,90; N 8,34; Gd 18,58 (saatu)

Samalla tavalla käyttäen $Eu^{151}Eu_2O_3$:a saadaan vastaava europiumyhdiste.
Analyysi:
C 50,24; H 6,02; N 8,37; Eu 18,16 (laskettu)
C 50,17; H 5,96; N 8,29; Eu 18,09 (saatu)

e) 10-(9-bromi-2-hydroksi-4,7-dioksanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

29 g (34,44 mmol) esimerkin 4d) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan seokseen, joka sisältää 250 ml de-ionisoitua vettä ja 150 ml metanolia, ja lisätään 10 g palladiumkatalysaattoria (10 % Pd aktiivihiilessä). Sen jälkeen hydrataan 24 tuntia lämpötilassa 50 °C. Erotetaan katalysaattori suodattamalla ja suodos haihdutetaan alennetussa paineessa.

Saanto: 22,56 g (99 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä kiintoaineena (analyysin mukaan 6,5 % vettä)
Analyysi:
C 38,11; H 5,79; N 10,58; Gd 23,76 (laskettu)
C 38,05; H 5,86; N 10,47; Gd 23,65 (saatu)

f) 10-(9-isotiosyanaatto-2-hydroksi-4,7-dioksanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

Liuokseen, joka sisältää 15 g (22,66 mmol) esimerkin 4e) otsikon mukaista yhdistettä 500 ml:ssa deionisoitua vettä ja 20 ml:ssa polyvinyylipyridiiniä (Reillex), lisätään liuos, joka sisältää 5,21 g (45,33 mmol) tiofosgeenia 100 ml:ssa trikloorimetaania. Kaksifaasista liuosta sekoitetaan 10 minuuttia lämpötilassa 40 °C, sitten tunnin ajan huoneenlämpötilassa ja suodatetaan. Orgaaninen faasi erotetaan ja vesifaasia uutetaan kaksi kertaa 200 ml:lla trikloorimetaania. Sen jälkeen vesifaasi pakastekuivataan. Saanto: 15,64 g (98 % teoreettisesta) väritöntä jauhetta (analyysin mukaan 5,9 % vettä).
Analyysi:
C 37,54; H 5,15; N 9,95; Gd 22,34; S 4,55 (laskettu)
C 37,49; H 5,11; N 9,91; Gd 22,27; S 4,61 (saatu)

Esimerkki 5

a) 3,6,9-tris(p-tolyylisulfonyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

121,9 g:an (200 mmol) N,N',N"-tris(p-tolyylisulfonyyli)dietyleenitriamiini-N,N"-dinatriumsuolaan 1 600 ml:ssa dimetyyliformamidia tiputetaan 3 tunnin aikana lämpötilassa 100 °C liuos, joka sisältää 35,2 g (200 mmol) 2,6-bis(kloorimetyyli)pyridiiniä (liuotettu 700 ml:aan dimetyyliformamidia). Annetaan sekoittua yli yön lämpötilassa 100 °C. Kuumaan liuokseen tiputetaan 2 l vettä ja annetaan jäähtyä lämpötilaan 0 °C. Saostuma erotetaan imusuodatuksen avulla ja pestään vedellä. Alennetussa paineessa suoritetun kuivauksen (60 °C) jälkeen ki-

teytetään uudelleen asetonitriilistä. Saadaan 92,3 g (69 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä värittömänä jauheena.

Analyysi:

C 57,46; H 5,43; N 8,38; S 14,38 (laskettu)

C 57,39; H 5,48; N 8,35; S 14,35 (saatu)

b) 3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1-(15),11,13-trieenin tetrahydrosulfaatti

90,3 g (135 mmol) esimerkin 5a) otsikon mukaista yhdistettä laitetaan 270 ml:aan väkevää rikkihappoa ja sekoitetaan 48 tuntia lämpötilassa 100 °C. Jäähdytetään lämpötilaan 0 °C ja tiputetaan 1,35 l absoluuttista eetteriä. Saostuma erotetaan suodattamalla ja sekoitetaan 800 ml:ssa metanolia. Suodatuksen ja haihdutuksen jälkeen kuivataan alennetussa paineessa lämpötilassa 50 °C.

Saanto: 42,6 g (52,7 % teoreettisesta) ilmassa hajoavaa kiintoainetta.

Analyysi:

C 22,07; H 4,38; N 9,36; S 21,43 (laskettu)

C 22,10; H 4,42; N 9,31; S 21,40 (saatu)

c) 3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1-(15),11,13-trieeni

40,0 g (66,8 mmol) esimerkin 5b) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 100 ml:an vettä ja pH säädetään 32-prosenttisella natriumhydroksidilla arvoon 11. Uutetaan kahdeksan kertaa 150 ml:lla dikloorimetaania ja kuivataan magnesiumsulfaatilla. Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen saadaan 9,79 g (71 % teoreettisesta) kellertävää jauhetta.

Analyysi:

C 64,04; H 8,79; N 27,16 (laskettu)

C 63,91; H 8,85; N 26,98 (saatu)

d) 3,6,9-tris(asetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

15,8 g (76,6 mmol) esimerkin 5c) otsikon mukaista yhdistettä 42,7 ml:ssa trietyyliamiinia (306,4 mmol) ja 50 mg:ssa dimetyyliaminopyridiiniä (DMAP) liuotetaan 300 ml:aan dikloorimetaania. Lisätään 28,9 ml (306,4 mmol) etikkahappoanhydridiä ja sekoitetaan yli yön huoneenlämpötilassa. Liuotin haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäännös siirretään 200 ml:aan 3-prosenttista natriumkarbonaattiliuosta. Uutetaan kahdesti 150 ml:lla dikloorimetaania. Kun orgaaninen faasi on kuivattu magnesiumsulfaatilla, suoritetaan haihdutus alennetussa paineessa. Jäännös kiteytetään uudelleen eetterin ja etyyliasetaatin seoksesta. Saadaan 23,93 g (94 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä valkoisina suomuina.

Analyysi:

C 61,42; H 7,28; N 16,86 (laskettu)

C 61,48; H 7,37; N 16,80 (saatu)

e) 3,6,9-tris(asetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni-15-N-oksidi

22,5 g (67,7 mmol) esimerkin 5d) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 100 ml:an jääetikkaa. Lisätään 7,7 ml 30-prosenttista vetyperoksidiliuosta ja lämmitetään 4 tuntia lämpötilaan 70 °C. Sen jälkeen lisätän vielä 3,9 ml 30-prosenttista vetyperoksidiliuosta ja sekoitetaan vielä tunti lämpötilassa 70 °C. Haihdutetaan alennetussa paineessa kolmanteen osaan ja sekoitetaan varovasti kylläisen natriumkarbonaattiliuoksen kanssa, kunnes reaktio on emäksinen. Uutetaan kahdesti 250 ml:lla dikloorimetaania ja kuivataan sitten orgaaniset faasit magnesiumsulfaatilla. Alennetussa paineessa suoritetun haihdutuksen ja eetterin ja etyyliasetaatin seoksesta suoritetun kiteytyksen jälkeen saadaan 18,63 g (79 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä kiteisenä jauheena.

Analyysi:
C 58,60; H 6,94; N 16,08 (laskettu)
C 58,47; H 6,88; N 16,14 (saatu)

f) 13-nitro-3,6,9-tris(asetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni-15-N-oksidi

17 g (48,8 mmol) esimerkin 5e) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 40 ml:an 90-prosenttista rikkihappoa ja lämmitetään lämpötilaan 60 °C. Tähän liuokseen tiputetaan 14 ml väkevää typpihappoa (d = 1,36) ja sekoitetaan 3 tuntia lämpötilassa 60 °C. Kaadetaan jäille, saostuma suodatetaan ja pestään runsaalla vedellä. Alennetussa paineessa suoritetun kuivauksen jälkeen saadaan oranssia jauhetta, joka kiteytetään uudelleen asetonista.
Saanto: 9,2 g (48 % teoreettisesta) keltaisia rombisia kiteitä.
Analyysi:
C 51,90; H 5,89; N 17,80 (laskettu)
C 52,01; H 5,76; N 17,46 (saatu)

g) 13-kloori-3,6,9-tris(asetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni-15-N-oksidi

7,3 g (18,56 mmol) esimerkin 5f) otsikon mukaista yhdistettä kuumennetaan 50 ml:ssa asetyylikloridia 4 tunnin ajan lämpötilaan 50 °C. Haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäännös siirretään 200 ml:aan 3-prosenttista natriumkarobnaattiliuosta. Uutetaan kolme kertaa 100 ml:lla trikloorimetaania ja kuivataan magnesiumsulfaatilla. Liuottimen alipaineessa suoritetun poistamisen jälkeen kiteytetään uudelleen eetterin ja etyyliasetaatin seoksesta.
Saanto: 6,18 g (87 % teoreettisesta) väritöntä kiteistä jauhetta.
Analyysi:
C 53,33; H 6,05; N 14,64; Cl 9,26 (laskettu)
C 53,48; H 5,98; N 14,71; Cl 9,20 (saatu)

h) 13-kloori-3,6,9-tris(asetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

6,0 g (15,67 mmol) esimerkin 5g) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 300 ml:aan etanolia. Lisätään 1 ml väkevää vetykloridihappoa ja hydrataan palladioidulla hiilellä. Vedyn kulutuksen päätyttyä katalysaattori poistetaan suodattamalla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäännös siirretään 100 ml:aan 3-prosenttista natriumkarbonaattiliuosta ja uutetaan kahdesti 100 ml:lla trikloorimetaania. Orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Kun jäännös kiteytetään eetterin ja etyyliasetaatin seoksesta, saadaan 5,34 g (93 % teoreettisesta) otsikon mukaista yhdistettä värittömänä jauheena.

Analyysi:

C 55,66; H 6,32; N 15,27; Cl 9,66 (laskettu)

C 55,57; H 6,38; N 15,31; Cl 9,59 (saatu)

i) 13-kloori-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

5,1 g (13,9 mmol) esimerkin 5h) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 50 ml:an dioksaania. Lisätään 6,24 g (55,6 mmol) kalium-tert.butylaattia ja keitetään yli yön refluksoiden. Haihdutetaan kuiviin, siirretään 50 ml:aan vettä ja uutetaan neljästi 100 ml:lla kuumaa tolueenia. Yhdistetyt tolueenifaasit kuivataan magnesiumsulfaatilla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäännös puhdistetaan kromatografoimalla. [Silikageeli/metanoli/vesi/ammoniakki (vesip. 33 %) = 10/1/1].

Saanto: 3,01 g (90 % teoreettisesta) hieman kellertävää öljyä, joka kiteytyy lyhyen ajan kuluttua.

Analyysi:

C 54,88; H 7,12; N 23,28; Cl 14,73 (laskettu)

C 54,93; H 7,06; N 23,41; Cl 14,81 (saatu)

k) 13-kloori-3,6,9-tris(tert.-butoksikarbonyylimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),-11,13-trieeni

7 g:aan (29,08 mmol) esimerkin 5i) otsikon mukaista yhdistettä ja 10,17 g:aan (95,96 mmol) natriumkarbonaattia 200 ml:ssa asetonitriiliä lisätään 18,72 g (95,96 mmol) bromietikkahapon tert.-butyyliesteriä ja sekoitetaan 24 tuntia huoneenlämpötilassa.

Haihdutetaan alennetussa paineessa, jäännös siirretään 300 ml:aan vettä ja uutetaan kolme kertaa 200 ml:lla dikloorimetaania. Orgaanisten faasien magnesiumsulfaatilla suoritetun kuivauksen jälkeen haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäljelle jäävä öljy kromatografoidaan silikageelillä (eluentti: dikloorimetaani/etanoli = 15/1).

Saanto: 14,08 g (83 % teoreettisesta) väritöntä öljyä.

Analyysi:

C 59,73; H 8,12; N 9,61; Cl 6,08 (laskettu)

C 59,67; H 8,25; N 9,58; Cl 6,01 (saatu)

l) 13-atsido-3,6,9-tris(tert.-butoksikarbonyylimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1-(15),11,13-trieeni

21 g (36,01 mmol) esimerkin 19k) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 200 ml:aan dimetyyliformamidia ja lisätään 7,02 g (108 mmol) natriumatsidia sekä 951 mg (3,6 mmol) 18-kruunu-6:a. Sekoitetaan 48 tuntia lämpötilassa 90 °C. Huoneenlämpötilaan jäähdyttämisen jälkeen kaadetaan 1,5 l:an jäävettä ja uutetaan kolme kertaa 200 ml:lla etyyliasetaattia. Magnesiumsulfaatilla suoritetun orgaanisen faasin kuivauksen jälkeen haihdutetaan ja jäljelle jäävä öljy kromatografoidaan silikageelillä (eluentti: dikloorimetaani/etanoli = 15/1).

Saanto: 10,83 g (51 % teoreettisesta) vaaleankeltaista öljyä.

Analyysi:

C 59,06; H 8,03; N 16,63 (laskettu)

C 59,17; H 8,05; N 16,51 (saatu)

m) 13-amino-3,6,9-tris(tert.-butoksikarbonyylimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

10 g (16,96 mmol) esimerkin 5l) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 400 ml:aan etanolia ja lisätään 1 g Pearlman-katalysaattoria (20 % palladiumhydroksidia hiilessä). Kun hydrausta on jatkettu 24 tuntia normaalipaineessa, katalysaattori poistetaan imusuodatuksen avulla ja haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävä öljy kromatografoidaan silikageelillä (eluentti: dikloorimetaani/metanoli/trietyyliamiini = 10/1/0,5). Saadaan 8,89 g (93 % teoreettisesta) hiukan kellertävää öljyä.

Analyysi:

C 61,78; H 8,76; N 12,42 (laskettu)

C 61,67; H 8,91; N 12,35 (saatu)

n) 13-amino-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieeni

8,2 g (14,55 mmol) esimerkin 5m) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 100 ml:an trifluorietikkahappoa ja sekoitetaan 6 tuntia huoneenlämpötilassa. Liuottimen alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen jäännös liuotetaan veteen ja kaadetaan pylvääseen, joka on täytetty poly-(4-vinyylipyridiinillä). Alipaineessa suoritetun haihdutuksen ja metanolin ja asetonin seoksesta suoritetun kiteytyksen jälkeen saadaan 5,24 g (91 % teoreettisesta) voimakkaasti hygroskooppista kiintoainetta.

Analyysi:

C 51,64; H 6,37; N 17,71 (laskettu)

C 51,74; H 6,31; N 17,63 (saatu)

o) 13-amino-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieenin gadoliniumkompleksi

4,8 g (12,14 mmol) esimerkin 5n) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 35 ml:aan deionisoitua vettä ja lisätään 2,2 g (6,07 mmol) gadoliniumoksidia. Sekoitetaan

3 tuntia lämpötilassa 90 °C ja pH pidetään arvossa 5,5 lisäämällä etikkahappoa. Liuos suodatetaan ja kaadetaan pylvääseen, joka on täytetty poly-(4-vinyylipyridiinillä). Aktiivihiilellä käsittelyn jälkeen toistetaan suodatus ja pakastekuivataan.

Saanto: 6,07 g (91 % teoreettisesta) amorfista jauhetta, joka sisältää analyysin mukaan 12,1 % vettä.

Analyysi:

C 37,15; H 4,06; N 12,74; Gd 28,61 (laskettu)

C 37,08; H 4,17; N 12,68; Gd 28,54 (saatu)

p) 13-isotiosyanaatto-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9,15-tetra-atsabisyklo[9.3.1]pentadeka-1(15),11,13-trieenin gadoliniumkompleksi

5,49 g (10 mmol) esimerkin 5o) otsikon mukaista yhdistettä ja 10 ml polyvinyylipyridiiniä (Reillex) liuotetaan 100 ml:aan deionisoitua vettä ja lisätään 3,45 g (30 mmol) tiofosgeenia 50 ml:ssa trikloorimetaania. Sekoitetaan 10 minuuttia lämpötilassa 40 °C, sen jälkeen tunti huoneenlämpötilassa ja suodatetaan. Orgaaninen faasi erotetaan ja vesifaasia uutetaan kahdesti 50 ml:lla trikloorimetaania. Sen jälkeen pakastekuivataan.

Saanto: 5,8 g (98 % teoreettisesta) valkoista jauhetta (analyysin mukaan 7,9 % vettä)

Analyysi:

C 36,54; H 3,41; N 11,84; Gd 26,58; S 5,41 (laskettu)

C 36,49; H 3,48; N 11,81; Gd 26,47; S 5,32 (saatu)

Esimerkki 6

a) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerien heksametyyliesteri

7,6 ml tris(aminoetyyli)amiinia (50 mmol) liuotetaan 10 ml:aan metanolia ja lisätään pisaroittain 54,5 ml:aan (600 mmol) metyyliakrylaattia. Seosta sekoitetaan 3 päivää huoneenlämpötilassa ja sen jälkeen haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävä öljy erotetaan metanolin, eetterin ja heksaanin seoksesta.

Saanto: 30,59 g (92,3 % teoreettisesta) hieman kellertävää öljyä.

Analyysi:

C 54,37; H 8,21; N 8,45 (laskettu)

C 54,32; H 8,29; N 8,43 (saatu)

b) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerien heksa-amiini

26,5 g esimerkissä 6a) kuvattua heksametyyliesteriä (40 mmol) liuotetaan 20 ml:an metanolia ja tiputetaan hitaasti 242 ml:aan etyleenidiamiinia (3,6 mol) ja sen jälkeen sekoitetaan 3 päivää huoneenlämpötilassa. Liuos haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäljelle jäävä öljy erotetaan metanolin ja eetterin seoksesta.

Saanto: 31,25 g (94 % teoreettisesta) hiukan kellertävää öljyä.

Analyysi:

C 52,03; H 9,46; N 26,96 (laskettu)

C 51,97; H 9,49; N 26,89 (saatu)

c) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin dodeka-metyyliesteri

103 ml:aan (1,14 mol) metyyliakrylaattia tiputetaan 30,1 g (36,2 mmol) esimerkissä 6b) kuvattua heksa-amiinia 50 ml:ssa metanolia niin hitaasti, että liuos pysyy kirkkaana, ja sekoitetaan 5 päivää huoneenlämpötilassa. Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen uutetaan useita kertoja metanolin, eetterin ja heksaanin seoksella.

Saanto: 64,2 g (95,1 %) kellertävää öljyä.

FAB-massaspektrissä oli selvästi tunnistettavissa $M+H^+$-piikki. Analyyttisestä näytteestä saatiin kaasukromatografisesti määritetyn metanolin korjauksen jälkeen seuraava alkuainekoostumus:

Analyysi:

C 54,12; H 8,11; N 12,02 (laskettu)

C 54,01; H 8,19; N 11,98 (saatu)

d) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin dodekaamiini

64,0 g (34,3 mmol) esimerkissä 6c) kuvattua dodekametyyliesteriä liuotetaan 50 ml:an metanolia ja tiputetaan hitaasti 870 ml:aan etyleenidiamiinia (13 mol) ja sekoitetaan 5 päivää huoneenlämpötilassa. Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen uutetaan useita kertoja metanolin ja eetterin seoksella, kunnes ohutlevykromatografisesti ei ole enää osoitettavissa etyleenidiamiinia.

Saanto: 73,7 g (97 %) sitkeää, kellertävää öljyä.

FAB-massaspektrissä on arvolla 2201 selvästi tunnistettavissa näennäinen molekyylipiikki. Analyyttisestä näytteestä saatiin kaasukromatografisesti määritetyn metanolin korjauksen jälken seuraava alkuainekoostumus:

Analyysi:

C 52,39; H 9,07; N 25,46 (laskettu)

C 52,29; H 9,21; N 25,71 (saatu)

e) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 24-metyyliesteri

68,0 g (30 mmol) 12-amiinia (esimerkki 6d) liuotetaan 120 ml:aan metanolia ja tiputetaan 270 ml:aan (3 mol) metyyliakrylaattia niin hitaasti, että liuos pysyy homogeenisena (lisäys kolmen tunnin aikana). 5 päivän kuluttua käsittelyä jatketaan esimerkin 6c) mukaisesti.

Saanto: 119,7 g (93,5 %) kellertävää öljyä.

FAB-massaspektrissä havaittiin näennäinen molekyyli-ioni arvolla m/e = 4268. Analyyttisestä näytteestä saatiin kaasukromatografisesti määritetyn metanolin korjauksen jälken seuraava alkuainekoostumus:

Analyysi:

C 54,04; H 8,08; N 13,13 (laskettu)

C 54,28; H 8,01; N 12,99 (saatu)

f) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 24-amiini

39,87 g (9,3 mmol) 24-metyyliesteriä liuotetaan 100 ml:aan metanolia ja lisätään pisaroittain 1,5 l:aan

etyleenidiamiinia (23 mol) ja 7 päivän kuluttua käsittelyä jatketaan esimerkin 6d) mukaisesti. Saadaan 44,0 g (95,9 %) sitkeää, kellertävää öljyä. Aine on HPLC-kromatogrammissa 1 M $NaClO_4$:ssa homogeenista käytettäessä aineita Lichrospher DIOL 100, 500, 1000 (Merck).

Analyysi:

C 52,51; H 8,94; N 24,95 (laskettu)

C 52,17; H 8,72; N 25,27 (saatu)

g) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 24-amiinin [10-karboksi-3,6-bis(karboksimetyyli)-9-etoksikarbonyylimetyyli-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannainen

4,94 g (1 mmol) edellä kuvattua 24-amiinia (esimerkki 6f) liuotetaan 300 ml:aan vettä. Sen jälkeen 2 tunnin aikana lisätään 29,04 g (72 mmol) N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihappoa (esimerkki 13a, EP 0 331 616) kiinteänä annoksittain, jolloin pH pidetään arvossa 9,0 lisäämällä 1 M natriumhydroksidia. Sen jälkeen sekoitusta jatketaan vielä 30 minuuttia, pH säädetään arvoon 7 käyttäen Amberlite IR 120:a (H^+-muoto) ja ioninvaihdin poistetaan imusuodatuksen avulla. Liuos ultrasuodatetaan (AMICON^R YM5-membraani) ja sen jälkeen pakastekuivataan.

Saanto: 13,6 g väritöntä höytälemäistä jauhetta.

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 3,4 %

100 mg vedetöntä kompleksinmuodostajaa kompleksoi (indikaattorina ksylenolioranssi) 24 mg Gd^{3+} (miehitysaste DTPA:lla > 92 %)

h) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 24-amiinin [10-karboksi-3,6-bis(karboksimetyyli)-9-etoksikarbonyylimetyyli-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannaisen Gd-kompleksi

10,0 g esimerkissä 6g) kuvattua kompleksinmuodostajaa liuotetaan 500 ml:aan vettä ja sekoitetaan 2,77 g:n kanssa Gd_2O_3:a (vastaa 2,40 grammaa gadoliniumia). Sekoitetaan 30 minuuttia lämpötilassa 80 °C, jäähtymisen jälkeen

pH säädetään arvoon 7 ionivaihtajan avulla, membraanisuodatetaan ja pakastekuivataan.

Saanto: 12,1 g väritöntä, höytälemäistä lyofilisaattia.

H_2O-pitoisuus: 5,6 %

Gd-määritys (AAS): 17,9 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,98 ± 0,27 [l/mmol·s]

(plasma): 13,23 ± 0,35 [l/mmol·s]

Esimerkki 7

a) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-metyyliesteri

19,8 g (4 mmol) esimerkissä 6f) kuvattua 24-amiinia liuotetaan 100 ml:an metanolia ja tiputetaan 5 tunnin aikana 200 ml:aan (2,2 mol) metyyliakrylaattia lämpötilassa 50 °C ja sekoitetaan 3 päivää tässä lämpötilassa. Useita kertoja metanolin, eetterin ja heksaanin seoksella suoritetun uuttamisen jälkeen saadaan 34,4 g (95 %) sitkeää öljyä.

Analyysi:

C 54,01; H 8,07; N 13,59 (laskettu)

C 53,52; H 8,19; N 13,23 (saatu)

b) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-amiini

23,2 g (2,5 mmol) edellä esimerkissä 7a) saatua 48-esteriä liuotetaan 75 ml:an metanolia ja tiputetaan 1 000 ml:aan (15 mol) etyleenidiamiinia ja 7 päivän kuluttua käsitellään edelleen esimerkin 6d) mukaisesti.

Saanto: 25,0 g (96 %) sitkeää öljyä.

Öljy on 1 M $NaClO_4$:ssa Lichrospher DIOL-100, 500, 1000:n (Merkck) avulla suoritetun HPLC-analyysin mukaan homogeenista. Analyyttisen näytteen titrauksesta 1 M HCl:lla saadaan 96,4 % teoreettisesta.

c) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-amiinin [10-karboksi-3,6-bis(karboksimetyyli)-9-etoksikarbonyylimetyyli-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannainen

5,21 g (0,5 mmol) esimerkissä 7b) kuvattua 48-amiinia liuotetaan 300 ml:aan vettä. Kahden tunnin aikana tä-

hän liuokseen lisätään kiinteänä annoksittain 29,04 g (72 mmol) N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihappoa. Lisäämällä samanaikaisesti 1 M natriumhydroksidia pH pidetään arvossa 9,0. Käsittelyä jatketaan esimerkin 6g) mukaisesti.

Saanto: 13,3 g väritöntä lyofilisaattia.

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 4,7 %

100 mg polymeeriä kompleksoi 24 mg Gd^{3+}

d) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-amiinin [10-karboksi-3,6-bis(karboksimetyyli)-9-etoksikarbonyylimetyyli-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannaisen Gd-kompleksi

10,0 g esimerkissä 7c) kuvattua kompleksinmuodostajaa liuotetaan 500 ml:aan vettä ja sekoitetaan 2,77 g:n kanssa Gd_2O_3:a (vastaa 2,40 grammaa gadoliniumia), sekoitetaan 30 minuuttia lämpötilassa 80 °C ja käsitellään edelleen esimerkin 6h) mukaisesti.

Saanto: 12,2 g väritöntä höytälemäistä jauhetta.

H_2O-pitoisuus: 3,9 %

Gd-määritys (AAS): 17,8 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 13,52 ± 0,37 [l/mmol·s]

(plasma): 13,35 ± 0,31 [l/mmol·s]

Esimerkki 8

Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-amiinin [10-karboksi-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9-triatsadekanoyyli]johdannaisen Gd-kompleksi

10,42 g (0,35 mmol) esimerkissä 7c) kuvattua 48-DTPA-etyyliesteriä liuotetaan 100 ml:aan 2 M natriumhydroksidia ja sekoitetaan 4 tuntia huoneenlämpötilassa. Emäksisen liuoksen pH säädetään arvoon 4 Amberlite IR 120:llä (H^+-muoto), erotetaan ioninvaihtajasta imusuodatuksen avulla ja sekoitetaan 2,88 g:n kanssa Gd_2O_3:a (vastaa 2,50 grammaa gadoliniumia), sekoitetaan 30 minuuttia lämpötilassa 80 °C, pH säädetään 1 M natriumhydroksidilla arvoon 7,2 ja syntynyt liuos ultrasuodatetaan (AMICON^R YM5-

membraani). Lopuksi ionivaihdettu liuos pakastekuivataan. Saadaan 12,1 g väritöntä jauhetta.

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 4,3 %

Gd-määritys (AAS): 19,17 %

Sp.: 230 °C (alkava värjääntyminen)

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 13,11 ± 0,33 [l/mmol·s]

(plasma): 13,09 ± 0,27 [l/mmol·s]

Osmolaalisuus (0,5 mol/l lämpötilassa 37 °C): 0,46 [osmol/kg], vertailuarvona Magnevist: 1,96 [osmol/kg]

LD_{50} (i.v. hiirellä): 30 mmol/kg, vertailuarvona Magnevist: ≤ 10 mmol/kg

Esimerkki 9

a) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin pentametyyliesteri

5,54 ml dietyleenitriamiinia (50 mmol) liuotetaan 20 ml:aan metanolia ja lisätään pisaroittain 45,4 ml:aan metyyliakrylaattia (500 mmol). Seosta sekoitetaan 5 päivää huoneenlämpötilassa ja sen jälkeen haihdutetaan alennetussa paineessa. Jäljelle jäävä öljy erotetaan metanolin, eetterin ja heksaanin seoksesta.

Saanto: 24,8 g (92,9 % teoreettisesta) hiukan kellertävää öljyä.

Analyysi:

C 54,02; H 8,12; N 7,87 (laskettu)

C 53,92; H 8,06; N 7,92 (saatu)

b) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin penta-amiini

21,3 g esimerkissä 9a) kuvattua pentametyyliesteriä (40 mmol) liuotetaan 20 ml:an metanolia ja tiputetaan hitaasti 202 ml:aan etyleenidiamiinia (3,0 mol) ja sen jälkeen sekoitetaan 3 päivää huoneenlämpötilassa. Liuos haihdutetaan alennetussa paineessa ja jäljelle jäävä öljy erotetaan metanolin ja eetterin seoksesta.

Saanto: 24,8 g (92 %) hieman kellertävää öljyä.

Analyysi:
C 51,69; H 9,42; N 27,02 (laskettu)
C 51,48; H 9,36; N 27,15 (saatu)

c) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin dekametyyliesteri

68 ml:aan (0,75 mol) metyyliakrylaattia tiputetaan 20,7 g esimerkissä 9b) kuvattua penta-amiinia 35 ml:ssa metanolia niin hitaasti, että liuos pysyy kirkkaana, ja sekoitetaan 5 päivää huoneenlämpötilassa. Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen uutetaan useita kertoja metanolin, eetterin ja heksaanin seoksella. Saanto: 39,8 g (84 %) kellertävää öljyä. FAB-massaspektrissä on selvästi tunnistettavissa $M+H^+$-piikki. Kaasukromatografisesti määritetyn metanolipitoisuuden korjauksen jälkeen analyyttisellä näytteellä oli seuraava alkuainekoostumus:
Analyysi:
C 54,00; H 8,08; N 11,86
C 54,27; H 8,16; N 11,63

d) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin deka-amiini

39,5 g (25,7 mmol) esimerkissä 9c) kuvattua dekametyyliesteriä liuotetaan 30 ml:aan metanolia ja kaadetaan hitaasti 520 ml:aan (7,8 mol) etyleenidiamiinia ja sekoitetaan 5 päivää huoneenlämpötilassa. Alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen uutetaan useita kertoja metanolin ja eetterin seoksella, kunnes ohutlevykromatografisesti ei ole enää tunnistettavissa etyleenidiamiinia.
Saanto: 44,9 g (96,2 %) kellertävää öljyä.

FAB-massaspektrissä on hyvin tunnistettavissa näennäinen molekyylipiikki arvolla m/e = 1815. Kaasukromatografisesti määritetyn metanolipitoisuuden korjauksen jälkeen analyyttisellä näytteellä oli seuraava alkuainekoostumus:
C 52,27; H 9,05; N 25,46 (laskettu)
C 52,11; H 9,09; N 25,67 (saatu)

e) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin 20-metyyliesteri

41,8 g (23 mmol) deka-amiinia (esimerkki 9d) liuotetaan 100 ml:aan metanolia ja tiputetaan 200 ml:aan (2,2 mol) metyyliakrylaattia niin hitaasti, että liuos pysyy homogeenisena (2 tuntia). Viiden päivän kuluttua käsittelyä jatketaan kuten esimerkissä 9c).

Saanto: 72,0 g (88,5 %) kellertävää öljyä.

FAB-massaspektrissä on näennäinen molekyyli-ioni arvolla m/e = 3536. Kaasukromatografisesti määritetyn metanolipitoisuuden korjauksen jälkeen analyyttisellä näytteellä oli seuraava alkuainekoostumus:

C 53,99; H 8,06; N 13,07 (laskettu)

C 53,71; H 8,14; N 13,10 (saatu)

f) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin 20-amiini

68,7 g (19,4 mmol) 20-metyyliesteriä liuotetaan 100 ml:aan metanolia ja lisätään pisaroittain 1,5 l:aan (23 mol) etyleenidiamiinia ja 7 päivän kuluttua käsitellään edelleen esimerkin 9d) mukaisesti. Saadaan 74,3 g (93,5 %) sitkeää öljyä. Öljy on 1 M $NaClO_4$:ssa Lichrospher DIOL-100, 500, 1000:n (Merck) avulla suoritetun HPLC-analyysin perusteella homogeenista. Analyyttisen näytteen titrauksesta 1 M HCl:lla saadaan 97,8 % teoreettisesta.

Analyysi:

C 52,46; H 8,93; N 24,95 (laskettu)

C 51,98; H 8,99; N 24,49 (saatu)

g) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin 40-metyyliesteri

20,5 g (5 mmol) esimerkissä 9f) kuvattua 20-amiinia liuotetaan 100 ml:aan metanolia ja tiputetaan 5 tunnin aikana 200 ml:aan (2,2 mol) metyyliakrylaattia lämpötilassa 50 °C ja sekoitetaan 3 päivää tässä lämpötilassa. Useita kertoja metanolin, eetterin ja heksaanin seoksella suoritetun uuttamisen jälkeen saadaan 34,3 g (91 %) sitkeää öljyä.

Analyysi:

C 53,99; H 8,06; N 13,56 (laskettu)

C 53,69; H 8,12; N 13,21 (saatu)

h) Dietyleenitriamiinikaskadipolymeerin 40-amiini

26,4 g (3,5 mmol) edellä esimerkissä 9g) saatua 40-esteriä liuotetaan 100 ml:aan metanolia ja tiputetaan 1 170 ml:aan (17,5 mol) etyleenidiamiinia ja käsitellään 7 päivän kuluttua esimerkin 9d) mukaisesti.

Öljy on 1 M $NaClO_4$:ssa Lichrospher DIOL-100, 500, 1000:n (Merck) avulla suoritetun HPLC-analyysin perusteella homogeenista. Analyyttisen näytteen titrauksesta 1 M HCl:lla saadaan 95,3 % teoreettisesta.

Analyysi:

C 52,54; H 8,88; N 24,73 (laskettu)

C 52,73; H 8,57; N 24,35 (saatu)

i) 10-(6-isotiosyanaatto-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin Gd-kompleksin ja dietyleenitriamiinikakskadipolymeerin 40-amiinin muodostama tioureidokonjugaatti

2,17 g (0,25 mmol) esimerkissä 9h) kuvattua 40-amiinia liuotetaan 250 ml:aan vettä. Siihen lisätään typpiatmosfäärissä annoksittain 8,43 g (12 mmol; 1,2-kertainen ylimäärä) esimerkissä 2e) kuvattua isotiosyanaatti-Gd-kompleksia kiinteänä ja sekoitetaan yli yön huoneenlämpötilassa. Ultrasuodatuksen (AMICON^R YM-10-membraani) jälkeen liuoksen johtavuus säädetään minimiin ioninvaihtimen avulla (Amberlite IR 120, H^+-muoto, ja IRA 410, OH^--muoto). Liuos erotetaan suodattimalla ioninvaihtajasta ja pakastekuivataan.

Saanto: 7,6 g (87 %)

H_2O-pitoisuus: 6,3 %

Gd-määritys (AAS): 15,6 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,43 ± 0,51 [l/mmol·s]

(palsma): 13,19 ± 0,42]l/mmol·s]

Analyysi (vedetön):
C 40,39; H 5,87; N 14,10; Gd 17,94; S 3,66 (laskettu)
C 40,67; H 6,15; N 13,88; Gd 16,88; S 3,47 (saatu)

Vastaavalla tavalla saadaan seuraavat tioureidokonjugaatit:
esimerkissä 1e) kuvatusta isotiosyanaatista:
C 39,65; H 5,70; N 14,85; S 3,85; Gd 18,89 (laskettu)
C 40,12; H 5,55; N 14,31; S 3,39; Gd 18,71 (saatu)
esimerkissä 4f) kuvatusta isotiosyanaatista:
C 41,07; H 6,03; N 13,43; S 3,48; Gd 17,08 (laskettu)
C 40,69; H 5,97; N 13,57; S 3,61; Gd 16,88 (saatu)
sekä esimerkissä 5p) kuvatusta isotiosyanaatista:
C 40,83; H 4,87; N 15,29; S 3,97; Gd 19,45 (laskettu)
C 40,67; H 5,01; N 15,24; S 3,70; Gd 19,11 (saatu)

Esimerkki 10

a) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin osittain sebasiinihappomonohydratsidilla miehitetyn 48-amiinin konjugaatti N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihapon kanssa

Liuotetaan 0,48 g (1,5 mmol) sebasiinihappomono-(N-tert.-butyylioksikarbonyyli)hydratsidia (esimerkki 58 b, EP 0 331 616) tetrahydrofuraaniin ja sekoitetaan peräkkäin 4,16 ml (30 mmol) trietyyliamiinia ja 0,15 ml (1,58 mmol) etyylikloorifor miaattia. 15 minuutin kuluttua lämpötilassa -20 °C lisätään liuos, joka sisältää 6,51 g (30 mmol aminoryhmiä) esimerkissä 7b) kuvattua 48-amiinia tetrahydrofuraanin ja veden seoksessa (10:1), ja lämmitetään huoneenlämpötilaan. 3 tunnin kuluttua tetrahydrofuraani poistetaan tislaamalla, laimennetaan vedellä ja pH-arvon ollessa 9 sekoitetaan annoksittain 36,3 g (90 mmol) N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihappoa (esimerkki 13a, EP 0 331 616) ja sen jälkeen pH säädetään arvoon 7 laimealla vetykloridihapolla. Liuos suodatetaan, suodos puhdistetaan AMICON-ultrasuodatusmembraanilla YM 10 pienimolekyylisistä

aineosista ja lopuksi pakastekuivataan. Ohutlevykromatografisesti ei voida havaita mitään epäpuhtauksia.
Saanto: 16,2 g

Saatu Boc-hydratsidi siirretään ilman muuta puhdistusta trifluorietikkahappoon, sekoitetaan 1 tunti huoneenlämpötilassa ja sen jälkeen saostetaan eetterillä, imusuodatetaan ja kuivataan. Jäännöksen vesiliuoksen pH säädetään arvoon 7,2 ja pakastekuivataan. Saanto: 14,7 g
Hydratsidipitoisuus: 1,9 mol-%, H_2O-pitoisuus: 8,3 %
1 g tätä yhdistettä kompleksoi 192 mg Gd^{3+}

b) Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin osittain sebasiinihappomonohydratsidilla miehitetyn 48-amiinin N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihapon kanssa muodostaman konjugaatin Gd-kompleksi

10 g esimerkissä 10a) kuvattua kompleksinmuodostajaa liuotetaan 500 ml:aan vettä, sekoitetaan 2,21 g:n kanssa Gd_2O_3:a (= 1,92 g Gd^{3+}) ja sekoitetaan 1 tunti lämpötilassa 80 °C. Saatu liuos ultrasuodatetaan ja sen jälkeen pakastekuivataan.
Saanto: 11,7 g väritöntä jauhetta
Gd-pitoisuus (AAS): 15,8 %
Hydratsidipitoisuus (kolorimetrisesti): 1,8 mol-%
Sulamispiste: 258 °C (alkava värjäytyminen)
T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,23 ± 0,41 [l/mmol·s]
(plasma): 11,87 ± 0,31 [l/mmol·s]

Esimerkki 11

Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 24-amiinin [10-karboksi-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannaisen Gd-kompleksi

7,29 g (0,5 mmol) esimerkissä 6g) kuvattua 24-DTPA-etyyliesteriä liuotetaan 70 ml:an 2 M natriumhydroksidia ja sekoitetaan 4 tuntia huoneenlämpötilassa. Emäksisen liuoksen pH säädetään Amberlite IR 120:llä (H^+-muoto) arvoon 4, ionivaihtaja poistetaan imusuodatuksen avulla ja

sekoitetaan 2,11 g:n kanssa Gd_2O_3:a (vastaa 1,83 g Gd^{3+}), sekoitetaan 30 minuuttia lämpötilassa 80 °C, pH säädetään 1 M natriumhydroksidilla arvoon 7,2 ja muodostunut liuos ultrasuodatetaan. Lopuksi liuos, josta suolat on poistettu, pakastekuivataan.

Saanto: 8,51 g (96,4 %) väritöntä jauhetta.

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 3,9 %

Gd-määritys (AAS): 19,84 %

Sulamispiste: 250 °C (alkava värjäytyminen)

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 11,17 ± 0,48 [l/mmol·s]

(plasma): 11,86 ± 0,77 [l/mmol·s]

Esimerkki 12

a) 1,3-[N,N'-tetrabentsyyli]diamino-2-hydroksipropaani

2,7 g (30 mmol) 1,3-diamino-2-hydroksipropaania ja 14,3 ml (120 mmol) bentsyylibromidia keitetään 8,3 g:n kanssa kaliumkarbonaattia etanolin ja veden seoksessa (10:1) yli yön refluksoiden, sen jälkeen suspensio haihdutetaan kuiviin ja siirretään veteen ja tolueeniin. Orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatilla ja tolueenin alipaineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen saatu öljy kromatografoidaan silikageelillä käyttäen eluenttina etyyliasetaatin ja heksaanin seosta (1:10).

Saanto: 11,9 g (88 %) väritöntä öljyä.

Analyysi:

C 82,63; H 7,60; N 6,22 (laskettu)

C 82,56; H 7,69; N 6,13 (saatu)

b) 1,3-[N,N'-tetrabentsyyli]diamino-2-[oksiranyylimetoksi]propaani

9,01 g (20 mmol) 1,3-[N,N'-tetrabentsyyli]diamino-2-hydroksipropaania (esimerkki 12a) liuotetaan dikloorimetaaniin ja lisätään jäähdytettyyn (0 °C) liuokseen, joka sisältää 4,69 ml (60 mmol) epikloorihydriiniä ja 340 mg tetrabutyyliammoniumvetysulfaattia 50-prosenttisessa natriumhydroksidissa, ja sen jälkeen sekoitetaan lämpötilassa

40 °C voimakkaasti yli yön. Kaksifaasinen seos lisätään n. 100 ml:aan vettä, uutetaan useita kertoja dikloorimetaanilla ja yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan $MgSO_4$:lla. Liuottimen haihdutuksen jälkeen saadaan öljyä (9,83 g, 97 %).

Analyysi:

C 80,60; H 7,56; N 5,53 (laskettu)

C 79,97; H 7,51; N 5,21 (saatu)

c) 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa{bis[1-[N,N-dibentsyyliamino)-2-(N,N-dibentsyyliaminometyyli)-5-hydroksi-3-oksaheksyyli]amino}-6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodekstriini

12,58 g (10 mmol) 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa-amino-6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodekstriiniheksahydrokloridia [J.Boger, R.J. Corcoran ja J.-M. Lehn, Helv. Chim. Acta 61 (1978) 2190 - 2218] sekoitetaan dioksaanin vesiliuoksessa pH-arvon ollessa 10 (säädetty 1 M natriumhydroksidilla) 91,20 g:n kanssa (180 mmol, 1,5-kertainen ylimäärä) esimerkissä 12b) kuvattua epoksidia ja sekoitetaan lämpötilassa 50 °C yli yön. Seos haihdutetaan kuiviin ja kromatografoidaan silikageelillä käyttäen eluenttina dikloorimetaanin ja metanolin seosta (10:1).

Saanto: 40,1 g (57 %) vaaleankeltaista öljyä.

Analyysi:

C 75,67; H 7,47; N 5,96 (laskettu)

C 75,19; H 7,59; N 5,39 (saatu)

d) 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa-[bis(1-amino-2-aminometyyli-5-hydroksi-3-oksaheksyyli)amino]-6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodekstriini

35,24 g (5 mmol) edellisessä esimerkissä 12c) kuvattua bentsyylisuojattua 24-amiinia suspendoidaan etanolin vesiliuokseen ja hydrataan autoklaavissa lämpötilassa 50 °C H_2/Pd:n avulla (10 bar). Saatu liuos haihdutetaan kuiviin ja saatu amiini saatetaan reagoimaan ilman lisäpuhdistusta.

Saanto: 28,6 g (96 %) vaaleankeltaista öljyä.

Analyyttinen näyte kromatografoitiin silikageelillä käyttäen eluenttina dioksaanin, veden ja väkevän ammoniakin seosta (3:1:1) ja sen koostumus oli seuraava:

C 72,48; H 7,60; N 7,04 (laskettu)

C 72,19; H 7,48; N 6,79 (saatu)

e) N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanihapon ja 6,6',6",6"',6"",6""'-heksa-[bis(1-amino-2-aminometyyli-5-hydroksi-3-oksaheksyyli)amino]-6,6',6",6"',6"",6""'-heksadeoksi-α-syklodekstriinin konjugaatin Gd-kompleksi

2,98 g (0,5 mmol) esimerkissä 7d) kuvattua 24-amiinia liuotetaan 150 ml:aan vettä. Kahden tunnin aikana lisätään sen jälkeen 14,52 g (36 mmol) N^3-(2,6-dioksomorfoliinoetyyli)-N^6-(etoksikarbonyylimetyyli)-3,6-diatsaoktaanidihappoa (esimerkki 13a, EP 0 331 616) annoksittain kiinteänä, jolloin pH pidetään arvossa 9,5 lisäämällä 1 M natriumhydroksidia. Sen jälkeen etyyliesteri saippuoidaan lisäämällä 25 ml 32-prosenttista natriumhydroksidia 2 tunnin aikana, säädetään pH arvoon 7 Amberlite IR 120:llä (H^+-muoto) ja ioninvaihdin poistetaan imusuodatuksen avulla. Liuos ultrasuodatetaan (AMICON^R YM5) ja pakastekuivataan. Analyyttinen näyte osoittaa, että 100 mg polymeeristä kompleksinmuodostajaa sitoo 24,2 mg Gd (indikaattori: ksylenolioranssi). Lyofilisaatti (8,40 g) liuotetaan 400 ml:aan vettä ja sekoitetaan 2,3 g:n kanssa Gd_2O_3:a (vastaa 2,0 g Gd), sekoitetaan 30 minuuttia lämpötilassa 80 °C, pH säädetään neutraaliksi ionivaihtajalla, suodatetaan ja pakastekuivataan.

Saanto: 10,2 g väritöntä jauhetta

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 4,8 %

Gd-määritys (AAS): 17,0 %

Sulamispiste: > 250 °C (hajoaa)

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,89 ± 0,41 [l/mmol·s]

(plasma): 13,17 ± 0,32 [l/mmol·s]

Esimerkki 13

a) 10-[2,6,7-trihydroksi-4-oksaheptyyli]-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani

19,56 g (103,92 mmol) 2,2-dimetyyli-4-(2',3'-epoksi)propoksimetyyli-1,3-dioksolaania ja 10 g (28,86 mmol) 1,4,7-trikarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaania (= DO3A) liuotetaan seokseen, joka sisältää 50 ml dioksaania ja 80 ml vettä, ja pH säädetään 6 M kaliumhydroksidilla arvoon 10. Sekoitetaan 24 tuntia lämpötilassa 70 °C. Haihdutetaan kuiviin, siirretään jäännös 200 ml:aan vettä ja 50 ml:an metanolia ja uutetaan kahdesti tert.-butyylimetyylieetterillä. Vesiliuoksen pH säädetään 5 M vetykloridihapolla arvoon 3 ja haihdutetaan kuiviin. Jäännöstä keitetään seoksessa, joka sisältää 200 ml metanolia ja 80 ml dikloorimetaania (uutetaan). Jäähdytetään jäähauteessa ja saostunut kaliumkloridi erotetaan suodattamalla. Suodos haihdutetaan alennetussa paineessa, jäännös liuotetaan 45 ml:aan vettä ja 20 ml:aan etanolia ja sen jälkeen kaadetaan pylvääseen, joka sisältää poly-(4-vinyylipyridiiniä). Tuotetta eluoidaan liuoksella, joka sisältää etanolia ja vettä (1:3). Alennetussa paineessa suoritetun haihdutuksen jälkeen jäännökselle suoritetaan "Reversed-Phase"-pylväskromatografointi (RP 18/ajoliuos = veden ja tetrahydrofuraanin gradientti). Pääfraktion haihdutuksen jälkeen saadaan 10,13 g (71 % teoreettisesta) voimakkaasti hygroskooppista, lasimaista kiintoainetta.

Analyysi (vedettömän aineen suhteen):

C 48,57; H 7,74; N 11,33 (laskettu)

C 48,46; H 7,81; N 11,24

b) 10-(2,6,7-trihydroksi-4-oksaheptyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin Gd-kompleksi

8,56 g (17,3 mmol) esimerkin 13a) otsikon mukaista yhdistettä liuotetaan 50 ml:aan deionisoitua vettä ja lisätään 3,13 g (8,65 mmol) gadoliniumoksidia. Kuumennetaan

3 tuntia lämpötilaan 90 °C. Jäähdytettyä liuosta sekoitetaan tunnin ajan 3 ml:n kanssa hapanta ioninvaihdinta (AMB 252c) ja 3 ml:n kanssa heikosti emäksistä vaihdinta (IRA 67). Ioninvaihdin poistetaan imusuodatuksen avulla ja suodos pakastekuivataan.

Saanto: 11,0 g (98 % teoreettisesta) väritöntä amorfista jauhetta

Analyysi (vedettömän aineen suhteen):

C 37,03; H 5,44; N 8,64; Gd 24,24 (laskettu)

C 37,00; H 5,51; N 8,57; Gd 24,18

c) N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

38,93 g (60 mmol) esimerkin 13b) mukaista Gd-kompleksia liuotetaan 400 ml:aan metanolia, sekoitetaan 25,67 g:n (120 mmol) kanssa $NaIO_4$:a ja sekoitetaan 4 tuntia valolta suojattuna. Sitten liukenematon aines poistetaan suodattamalla ja suodos pakastekuivataan. Lyofilisaatti liuotetaan 6,52 g:n (0,625 mmol = 30 mmol NH_2) kanssa esimerkissä 7b) kuvattua 48-kaskadiamiinia 750 ml:aan puskuria pH 9,0 (Riedel-de Haen, booraksi/HCl) ja kun seokseen on lisätty 11,32 g (180 mmol) natriumsyanoboorihydridiä, sekoitetaan 6 päivää huoneenlämpötilassa. Liuoksesta poistetaan sen jälkeen suolat Amicon-ultrasuodatusmembraanilla YM5 ja sen jälkeen se pakastekuivataan.

Saanto: 16,45 g (61 % teoreettisesta)

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 9,8 %

Gd-määritys (AAS): 15,75 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,35 ± 0,14 l/mmol·s

(plasma): 14,74 ± 0,33 l/mmol·s

Esimerkki 14

N-(2-karboksietyyli)-N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

2,2 g esimerkissä 13c) kuvattua polymeeriä, jossa sekundaarinen amiini on liittynyt kompleksin ja rungon välille, liuotetaan 25 ml:an metanolia ja tiputetaan seok-

seen, joka sisältää 20 ml (220 mmol) metyyliakrylaattia ja 20 ml metanolia, ja sekoitetaan 3 päivää huoneenlämpötilassa. Liuos haihdutetaan alennetussa paineessa, vaaleankeltainen öljy liuotetaan 20 ml:aan 1 M natriumhydroksidia ja saippuoidaan 3 tuntia huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen neutraloidaan laimealla HCl:lla ja liuoksesta poistetaan suolat Amicon-ultrasuodatusmembraanilla YM5 ja sen jälkeen pakastekuivataan.

Saanto: 2,20 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 7,7 %

Gd-määritys (AAS): 14,93 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 11,47 ± 0,14 l/mmol·s

(plasma): 13,38 ± 0,07 l/mmol·s

Polymeerin paperielektroforeesi arvoilla pH 9,0 (0,05 M booraksi) ja 10 V/cm osoittaa siirtymisen anodia kohti, kun taas lähtöaine (yhdiste 13c) siirtyy samoissa olosuhteissa katodia kohti.

Esimerkki 15

N-(1,2-dikarboksietyyli)-N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

14,3 g:aan (110 mmol) maleiinihapon monometyyliesteriä (Tokyo Chemical Industry Co. Ltd.) 15 ml:ssa metanolia tiputetaan jäillä jäähdyttäen 23 ml trietyyliamiinia. Annetaan lämmetä huoneenlämpötilaan, lisätän pisaroittain tähän liuokseen 2,20 g esimerkissä 13c) kuvattua polymeeriä 25 ml:ssa metanolia ja sekoitetaan seosta 3 päivää huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen sekoitetaan dietyylieetterin kanssa, dekantoidaan erilleen erottuneesta öljystä, jäljelle jäävä jäännös liuotetaan 20 ml:aan 1 M natriumhydroksidia ja saippuoidaan 3 tuntia huoneenlämpötilassa. Sen jälkeen neutraloidaan laimealla vetykloridihapolla ja liuoksesta poistetaan suolat Amicon-ultrasuodatusmembraanilla YM5 ja sen jälkeen pakastekuivataan.

Saanto: 2,13 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 7,9 %

Gd-määritys (AAS): 14,53 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 11,93 ± 0,27 l/mmol·s

(plasma): 13,27 ± 0,09 l/mmol·s

Esimerkki 16

N-(karboksimetyyli)-N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

2,20 g esimerkissä 13 c) kuvattua polymeeriä liuotetaan 25 ml:aan vettä ja pH säädetään arvoon 10 lisäämällä 1 M natriumhydroksidia. Seokseen tiputetaan hitaasti lämpötilassa 50 °C liuos, joka sisältää 2,6 g (22 mmol) natriumklooriasetaattia 20 ml:ssa vettä, ja lisäämällä 1 M natriumhydroksidia pH pidetään arvossa 10. Lisäyksen päätyttyä sekoitetaan yli yön tässä lämpötilassa, sen jälkeen neutraloidaan laimealla vetykloridihapolla ja liuoksesta poistetaan suolat Amicon-ultrasuodatusmembraanilla YM5. Pakastekuivauksen jälkeen saadaan 2,3 g höytälemäistä jauhetta.

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 10,5 %

Gd-määritys (AAS): 15,12 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,25 ± 0,37 l/mmol·s

(plasma): 12,93 ± 0,14 l/mmol·s

Esimerkki 17

N-(karboksimetoksiasetyyli)-N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

2,20 g esimerkissä 13c) kuvattua polymeeriä liuotetaan 25 ml:aan vettä ja lisäämällä 1 M natriumhydroksidia pH säädetään arvoon 9. Sen jälkeen lisätään 850 mg (6,6 mmol) diglykolihappoanhydridiä (Fluka) annoksittain samalla sekoittaen, jolloin pH pidetään arvossa 9 lisäämällä 2 M natriumhydroksidia. Lisäyksen päätyttyä sekoitusta jatketaan vielä 15 minuuttia, neutraloidaan laimealla vetykloridihapolla, ultrasuodatetaan (Amicon YM5) ja lopuksi pakastekuivataan.

Saanto: 2,43 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 8,3 %
Gd-määritys (AAS): 14,82 %
T_1-relaksiivisuus (H_2O): 11,45 ± 0,23 l/mmol·s
(plasma): 13,74 ± 0,20 l/mmol·s

Esimerkki 18

10-(6-isotiosyanaatto-2-hydroksi-4-oksaheksyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin Gd-kompleksin ja N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksin muodostama tioureidokonjugaatti

2,20 g esimerkissä 13 c) kuvattua polymeeriä liuotetaan 25 ml:aan vettä. Sen jälkeen lisätään annoksittain 3,09 g (4,7 mmol) kiinteässä muodossa olevaa esimerkissä 2e) kuvattua isotiosyanaatti-Gd-kompleksia ja sekoitetaan huoneenlämpötilassa yli yön. Ultrasuodatuksen jälkeen (Amicon YM-10-membraani) liuoksen johtavuus säädetään minimiin ioninvaihtajan (Amberlite IR 120, H^+-muoto, ja IRA-410, OH^--muoto) avulla. Ioninvaihtaja poistetaan suodattamalla ja suoritetaan pakastekuivaus.

Saanto: 3,31 g
H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 7,3 %
Gd-määritys (AAS): 15,32 %
T_1-relaksiivisuus (H_2O): 12,79 ± 0,30 l/mmol·s
(plasma): 14,21 ± 0,05 l/mmol·s

Esimerkki 19

a) 10-(2,3,4-trihydroksibutyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani

10,0 g (28,87 mmol) 1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaania (DO3A) liuotetaan 40 ml:aan vettä ja pH säädetään 5 M natriumhydroksidilla arvoon 13. Lisätään liuos, joka sisältää 6,24 g (43,30 mmol) 2-(2,2-dimetyyli-1,3-dioksolan-4-yyli)etyleenioksidia (DE 3 150 917) 10 ml:ssa dioksaania, ja sekoitetaan 24 tuntia huoneenlämpötilassa. Laimennetaan 60 ml:lla vettä ja uutetaan kolme kertaa 50 ml:lla eetteriä. Vesifaasin pH

säädetään arvoon 2 käyttäen 10-prosenttista vetykloridihappoa ja haihdutetaan. Jäännös liuotetaan pieneen määrään vettä ja kaadetaan kationinvaihtopylvääseen (IR 120). Vedellä huuhtelun jälkeen eluoidaan ligandi 0,5 M ammoniakkiliuoksella. Fraktiot haihdutetaan, ammoniumsuola siirretään pieneen määrään vettä ja kaadetaan anioninvaihtopylvääseen (IRA 67). Pestään ensin vedellä ja eluoidaan sitten 0,5 M muurahaishapon vesiliuoksella. Haihdutetaan alennetussa paineessa, liuotetaan jäännös pieneen määrään kuumaa metanolia ja lisätään siihen asetonia, jolloin otsikon mukainen yhdiste kiteytyy.

Saanto: 11,31 g (87 % teoreettisesta) valkoista hygroskooppista jauhetta

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 11,1 %

Analyysi (vedettömän aineen suhteen):

C 47,99; H 7,61; N 12,44 (laskettu)

C 47,93; H 7,67; N 12,40

b) 10-(2,3,4-trihydroksibutyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin gadoliniumkompleksi

10,0 g (22,2 mmol) esimerkin 19a) mukaisesti saatua yhdistettä liuotetaan 60 ml:aan deionisoitua vettä ja lisätään 4,02 g (11,1 mmol) gadoliniumoksidia. Lämmitetään 3 tuntia lämpötilaan 90 °C. Jäähtynyttä liuosta sekoitetaan sekä 2 ml:n kanssa hapanta ioninvaihtajaa (IR 120) että 2 ml:n kanssa emäksistä vaihtajaa (IRA 410) 1 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Poistetaan ionivaihtajat suodattamalla ja kiehautetaan suodosta nopeasti aktiivihiilen kanssa.

Suodatuksen jälkeen saadaan valkoista, amorfista jauhetta.

Saanto: 12,76 g (95 % teoreettisesta)

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 12,3 %

Analyysi (vedettömän aineen suhteen):

C 35,73; H 5,17; Gd 25,99; N 9,26 (laskettu)

C 35,68; H 5,24; Gd 25,93; N 9,21

c) N-(2-hydroksipropyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

13,8 g (20 mmol) esimerkin 19b) mukaista Gd-kompleksia liuotetaan 120 ml:an metanolia, sekoitetaan 8,56 g:n (40 mmol) kanssa $NaIO_4$ ja sekoitetaan 4 tuntia valolta suojattuna. Sen jälkeen liukenematon aines poistetaan suodattamalla ja suodos pakastekuivataan. Lyofilisaatti liuotetaan 2,17 g:n (0,208 mmol = 10 mmol $-NH_2$) kanssa esimerkissä 7b) kuvattua 48-kaskadiamiinia 250 ml:aan puskuria pH 9,0 (Riedel-de Haen, booraksi/HCl) ja natriumsyaanibooorihydridin (3,77 g, 60 mmol) lisäyksen jälkeen sekoitetaan 6 päivää huoneenlämpötilassa. Liuoksesta poistetaan suolat Amicon-ultrasuodatusmembraanilla YM5 ja sen jälkeen suoritetaan pakastekuivaus.

Saanto: 5,87 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 8,9 %

Gd-määritys (AAS): 15,93 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 13,22 ± 0,23 l/mmol·s

(plasma): 14,39 ± 0,12 l/mmol·s

Esimerkki 20

N-(karboksimetoksiasetyyli)-N-(2-hydroksipropyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksi

1,7 g esimerkissä 19c) kuvattua polymeeriä liuotetaan 20 ml:aan vettä ja lisäämällä 1 M natriumhydroksidia pH säädetään arvoon 9. Sen jälkeen lisätään 772 mg (6 mmol) diglykolihappoanhydridiä (Fluka) annoksittain samalla sekoittaen, jolloin pH pidetään arvossa 9 lisäämällä 2 M natriumhydroksidia. Lisäyksen päätyttyä sekoitusta jatketaan 15 minuuttia, neutraloidaan laimealla vetykloridihapolla, ultrasuodatetaan (Amicon YM5) ja lopuksi pakastekuivataan.

Saanto: 1,90 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 10,7 %

Gd-määritys (AAS): 14,93 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 13,52 ± 0,22 l/mmol·s

(plasma): 15,01 ± 0,37 l/mmol·s

Esimerkki 21

10-(9-bromi-2-hydroksi-8-okso-4-oksa-7-atsanonyyli)-1,4,7-triskarboksimetyyli-1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaanin Gd-kompleksin ja N-(5-hydroksi-3-oksaheksyyli-DO3A)-48-aminokaskadipolymeerin Gd-kompleksin muodostama konjugaatti

1,7 g esimerkissä 19c) kuvattua polymeeriä liuotetaan 20 ml:aan vettä ja pH säädetään arvoon 9,5 lisäämällä 2 M natriumhydroksidia. Sen jälkeen lisätään 4,43 g (6 mmol) esimerkissä 3 kuvattua Gd-kompleksia lämpötilassa 40 °C samalla sekoittaen, jolloin pH pidetään arvossa 9,5 lisäämällä 2 M natriumhydroksidia. Kun seosta on pidetty 24 tuntia lämpötilassa 40 °C, se neutraloidaan laimealla vetykloridihapolla, ultrasuodatetaan (Amicon YM5) ja lopuksi pakastekuivataan.

Saanto: 2,45 g

H_2O-pitoisuus (Karl-Fischer): 9,7 %

Gd-määritys (AAS): 15,72 %

T_1-relaksiivisuus (H_2O): 13,07 ± 0,23 l/mmol·s

(plasma): 14,39 ± 0,15 l/mmol·s

Esimerkki 22

Tris(aminoetyyli)amiinikaskadipolymeerin 48-amiinin [10-karboksi-3,6,9-tris(karboksimetyyli)-3,6,9-triatsadekanoyyli]-johdannaisen yttrium-90-kompleksi

1,04 g (35 µmol) esimerkissä 7c) kuvattua 48-DTPA-etyyliesteriä liuotetaan esimerkissä 8 kuvatulla tavalla 10 ml:aan natriumhydroksidia, sekoitetaan 4 tuntia huoneenlämpötilassa ja pH säädetään arvoon 7 Amberlite IR 120:llä (H^+-muoto). Ioninvaihtaja poistetaan imusuodatuksen avulla ja liuos pakastekuivataan. Saadaan 0,98 g. Siitä laitetaan 9,8 mg yttrium-90:een (yttriumkloridi, Amersham; 11 µCi) 100 µl:ssa 0,1 M tetrametyyliammoniumasetaattia pH-arvon ollessa 5. 10 minuutin kuluttua ohutlevykromatografinen tarkkailu osoittaa, että kompleksoituminen oli täydellistä. Sen jälkeen dialysoidaan Centricon 10 -ultrasuodatusyksiköllä (Amersham).

Esimerkki NMR-diagnostiikasta in vivo

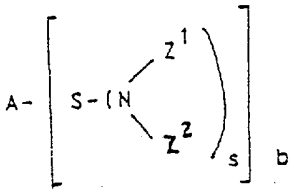
Koe-eläimet (urosrottia, Wistar Han) narkotisoidaan (Rompun^{R} + Ketavet^{R}) ydinspintomografista tutkimusta varten ja niille laitetaan varjoaineen antamista varten katetri häntälaskimoon. Tutkimus suoritetaan General Electricin MRI-tutkimuslaiteella (kentänvoimakkuus 2 teslaa). Kuvat otetaan käyttäen Saturation Inversion Projection (SIP)-sekvenssiä. Tällöin kyseessä on standardikyllästys- ja Inversion-Recovery-pulssisekvenssi, jossa kaikkien kudosten paitsi veren signaalit poistetaan. Ennen varjoaineen käyttöä sekvenssi optimoidaan minimi-intensiteetille [tyypillisiä arvoja: T (kyllästyminen) = 50 - 60 ms, T (inversio) = 40 - 50 ms].

Kuviossa 2 esitetään rotan pää-kaula-alueen angiografinen kuva. Ilman varjoainetta otetussa kuvassa (ylhäällä vasemmalla) ei havaita juuri lainkaan signaalia. (Kuvausaika kaikille kuville 1 min.) Esimerkin 8 otsikon mukaisen yhdisteen annon (0,1 mmol Gd/kg) jälkeen suonet tulevat erinomaisesti esiin, mikä huononee aineen erittymistä vastaavasti ajan funktiona (1b = 1 sekunti, 1c = 4 minuuttia ja 1d = 10 minuuttia p.i.).

Kuviossa 3 on esitetty rotan (Lew Mol O) vatsa-alueen angiografinen kuva, joka saatiin annoksen 0,25 mmol Gd/kg jälkeen muuten samoissa olosuhteissa kuin edellisessä esimerkissä. Eläimellä on vasemmassa reidessä (katsojasta päin oikealla) tuumori. Tällä alueella muuttuneet suonirakenteet ja tuumorista huolehtivat suonet sekä monet muut vatsa-alueen merkittävät suonet tulevat erinomaisesti esiin.

Patenttivaatimukset

1. Kaskadipolymeerikompleksit, joilla on yleinen kaava I ja jotka sisältävät komplekseja muodostavia ligandeja,



(I)

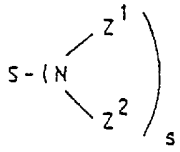
jolloin

A on typpipitoinen kaskadiydin, jonka peruskerrannaisuus on b,

S on toistoyksikkö,

N on typpiatomi,

Z^1 ja Z^2 ensimmäisestä viimeistä edelliseen ketjureaktion vaiheeseen ovat kukin



mutta viimeisessä ketjureaktion vaiheessa sitä vastoin

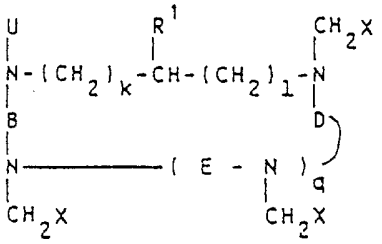
Z^1 on vetyatomi, mahdollisesti 1 - 3 karboksyyliryhmää, 1 -3 sulfonihapporyhmää, 1 - 5 hydroksyyliryhmää ja/tai 1 - 3 happiatomia sisältävä C_{1-10}-alkyyli-, C_{2-10}-asyyli- tai C_{1-10}-alkyylisulfonyyliryhmä tai on kompleksin K ryhmä ja

Z^2 on kompleksin K ryhmä,

b on luku 1 - 50 ja

s on luku 1 - 3,

K on kompleksiryhmä, joka on sitoutunut ryhmän V kautta viimeisen vaiheen terminaalisiin typpiatomeihin ja jolla on yleinen kaava IB



(I B)

jolloin

k on luku 1, 2, 3, 4 tai 5,

l on luku 0, 1, 2, 3, 4 tai 5,

q on luku 0, 1 tai 2,

U on CH_2X tai V,

X on ryhmä -COOH,

B, D ja E, jotka ovat samoja tai erilaisia, ovat kulloinkin ryhmiä $-(CH_2)_a$, jossa a tarkoittaa lukua 2, 3, 4 tai 5,

R^1 on V tai vetyatomi,

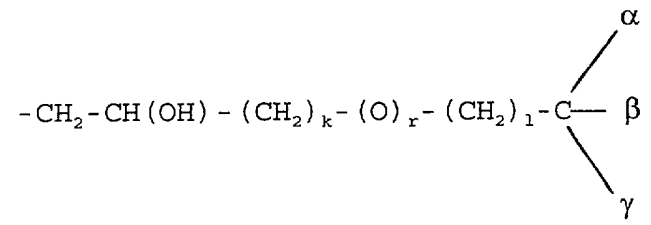
edellyttäen, että R^1 on vain silloin V, kun U on samalla CH_2X, ja että U on vain silloin V, kun samanaikaisesti R^1 tarkoittaa vetyatomia, ja että haluttaessa osa COOH-ryhmistä on esterinä ja/tai amidina,

V tarkoittaa mahdollisesti imino-, fenyleeni-, fenyleenioksi-, fenyleeni-imino-, amidi-, hydratsidi-, ureido-, tioureido-, karbonyyli-, esteriryhmän (-ryhmiä), happi-, rikki- ja/tai typpiatomin (-atomeja) sisältävää, mahdollisesti hydroksyyli-, merkapto-, imino-, epoksi-, okso-, tiokso- ja/tai aminoryhmällä (-ryhmillä) substituoitua suoraketjuista, haaroittunutta, tyydyttynyttä tai tyydyttymätöntä C_1-C_{20}-alkyleeniryhmää,

jolloin toistoyksiköiden S täytyy olla samanlaisia vain yhdessä ketjureaktion vaiheessa ja reaktioiden lukumäärä on 2 - 10, ja

jolloin polymeerit kompleksiryhmissä K sisältävät kompleksoituna vähintään viisi järjestysluvultaan 21 - 29, 39, 42, 44 tai 57 - 83 olevan alkuaineen ionia sekä mahdollisesti epäorgaanisten ja/tai orgaanisten emästen, aminohappojen tai aminohappoamidien kationeja, käytettäväksi NMR- ja röntgensädediagnostiikassa varjoaineena.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukaiset kaskadipolymeerikompleksit, t u n n e t u t siitä, että S on



jossa

α ja β ovat kulloinkin vetyatomi tai $(CH_2)_o$,

γ on $(CH_2)_f$,

f on luku 1, 2, 3, 4 tai 5 ja

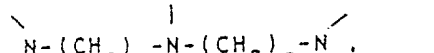
o on luku 0, 1, 2, 3, 4 tai 5, jolloin l ja o eivät voi olla yhtä aikaa 0,

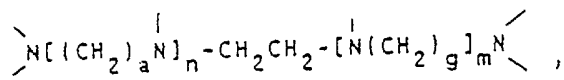
r on luku 0 tai 1 ja

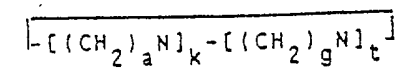
symboleilla k ja l on edellä esitetty merkitys.

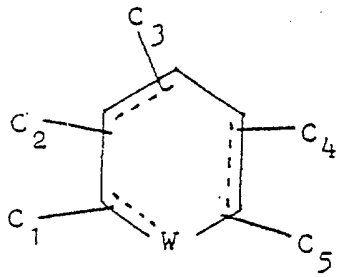
3. Patenttivaatimuksen 1 mukaiset kaskadipolymeerikompleksit, t u n n e t u t siitä, että A on typpiatomi,



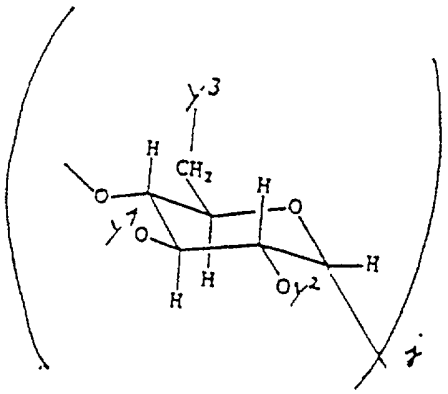








tai



joissa

R^2, R^3 ja R^4 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta kovalenttinen sidos tai $(CH_2)_k-(C_6H_4)_r-(CH_2)_1-N<$,

g on luku 2, 3, 4 tai 5,

t on luku 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tai 8,

W on CH, CH_2, NH tai typpiatomi,

C_1 on $(CH_2)_k-N<$,

C_2, C_3, C_4 ja C_5 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta vetyatomi tai $(CH_2)_f-N$,

j on luku 6, 7 tai 8,

Y^1 ja Y^2 ovat kulloinkin toisistaan riippumatta vetyatomi, $CH_2-CH(OH)-CH_2N$ tai $(CH_2)_a-N<$ ja

Y^3 on typpiatomi, $O-CH_2-CH(OH)-CH_2N$ tai $O-(CH_2)_g-N<$,

--- on yksinkertainen tai kaksoissidos,

edellyttäen, että jos Y^3 on typpiatomi, Y^1 ja Y^2 tarkoittavat vetyatomia.

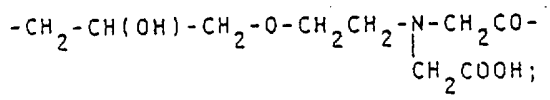
4. Patenttivaatimuksen 1 mukaiset kaskadipolymeerikompleksit, t u n n e t u t siitä, että V on

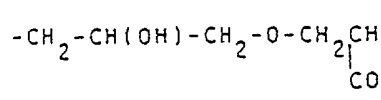
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH_2CH_2-$;

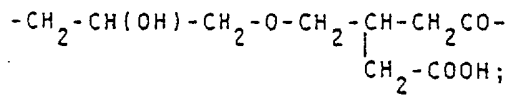
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-$;

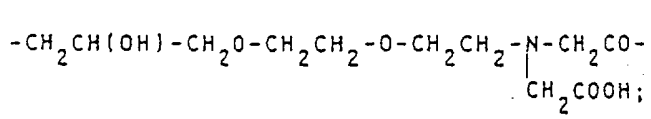
$-CH_2-CH(OH)CH_2O-CH(CH_2COOH)-CO-$;

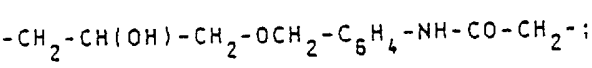
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH(CH_2COOH)-CH_2CO-$;

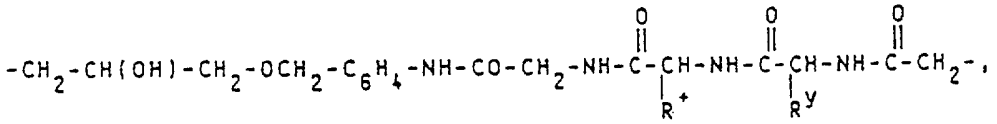




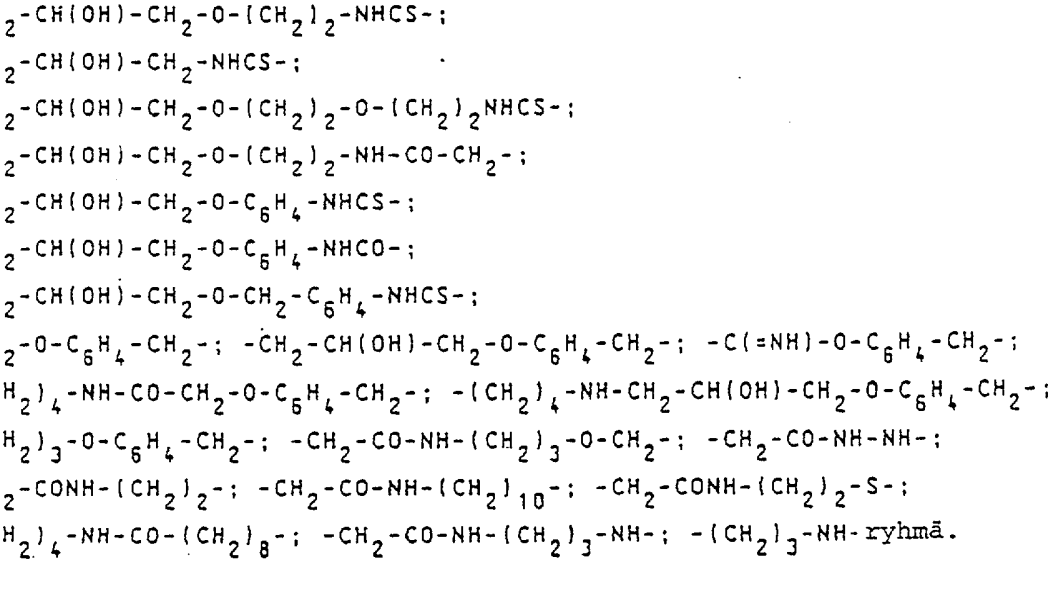








jolloin R^+ ja R^y merkitsevät luonnollisia aminohappotähteitä



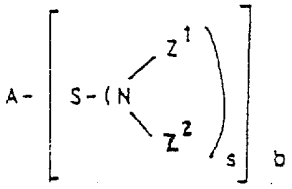
5. Diagnostiset aineet, t u n n e t u t siitä, että ne sisältävät vähintään yhtä patenttivaatimuksen 1 mukaista kaskadipolymeerikompleksia mahdollisesti yhdessä diagnostisten aineiden valmistuksessa tavallisten lisäaineiden kanssa.

6. Vähintään yhden patenttivaatimuksen 1 mukaisen polymeerikompleksin käyttö NMR- tai röntgendiagnostiikkaan tarkoitettujen aineiden valmistukseen.

7. Menetelmä patenttivaatimuksen 5 mukaisten diagnostisten aineiden valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että veteen tai fysiologiseen suolaliuokseen liuotettu tai suspendoitu polymeerikompleksi, mahdollisesti diagnostisten aineiden valmistuksessa tavallisten lisäaineiden kanssa, saatetaan enteraaliseen tai parenteraaliseen antoon sopivaan muotoon.

Patentkrav

1. Kaskadpolymerkomplex med den allmänna formeln I och som innehåller komplexbildande ligander,



(I)

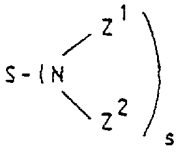
varvid

A är en kvävehaltig kaskadkärna, vars basmultiplicitet är b,

S är en reproduktionsenhet

N är en kväveatom,

Z^1 och Z^2 är vardera från första till nästsista kedjereaktionssteget



men i det sista kedjereaktionssteget däremot är

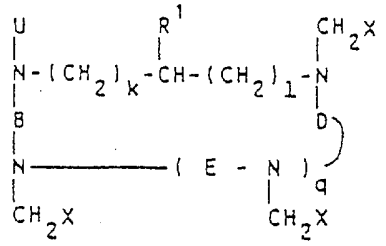
Z^1 en väteatom, en C_{1-10}-alkyl-, C_{2-10}-acyl- eller C_{1-10}-alkylsulfonylgrupp, som eventuellt innehåller 1 - 3 karboxylgrupper, 1 - 3 sulfonsyragrupper, 1 - 5 hydroxylgrupper och/eller 1 - 3 syreatomer, eller en komplexgrupp K,

Z^2 är en komplexgrupp K,

b är ett tal 1 - 50 och

s är ett tal 1 - 3,

K är en komplexgrupp, som är bunden via gruppen V till det sista stegets terminala kväveatomer och som har den allmänna formeln I B



(I B)

varvid

k är ett tal 1, 2, 3, 4 eller 5,

l är ett tal 0, 1, 2, 3, 4 eller 5,

q är ett tal 0, 1 eller 2,

U är CH_2X eller V,

X är en grupp -COOH,

B, D och E, som är lika eller olika, är i vart och ett fall grupper $-(CH_2)_a$, där betecknar ett tal 2, 3, 4 eller 5,

R^1 är V eller en väteatom,

förutsatt att R^1 är V endast i det fall, att U samtidigt är CH_2X, och att U är V endast i det fall, att R^1 samtidigt betecknar en väteatom, och att, om så önskas, en del av COOH-grupperna föreligger som ester och/eller amid,

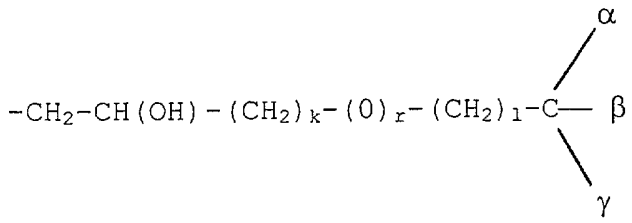
V betecknar en eventuellt med en hydroxyl-, merkapto-, imino-, epoxi-, oxo-, tioxo- och/eller aminogrupp (-grupper) substituerad rakkedjad, förgrenad, mättad eller omättad C_1-C_{20}-alkylengrupp, som eventuellt innehåller en imino-, fenylen-, fenylenoxi-, fenylenimino-, amid-, hydrazid-, ureido-, tioureido-, karbonyl-, estergrupp (-grupper), en syre-, svavel- och/eller kväveatom (-atomer),

varvid reproduktionsenheterna S måste vara lika endast i ett kedjereaktionssteg och antalet reaktioner är 2 - 10, och

varvid polymererna i komplexgrupperna K innehåller i komplex form fem minst joner av ett grundämne med ordningstal 21 - 29, 39, 42, 44 eller 57 - 83 samt eventuellt

katjoner av oorganiska och/eller organiska baser, aminosyror och aminosyraamider, för användning som kontrastmedel vidNMR- och röntgendiagnostik.

2. Kaskadpolymerkomplex enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d e därav, att S är



där

α och β i vart och ett fall är en väteatom eller $(CH_2)_o$,

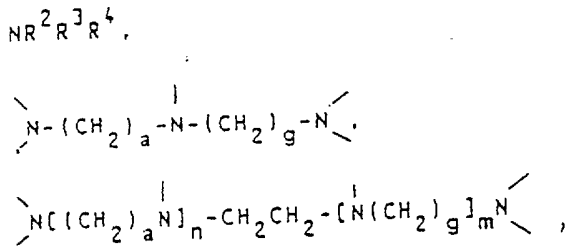
γ är $(CH_2)_f$,

f är ett tal 1, 2, 3, 4 eller 5,

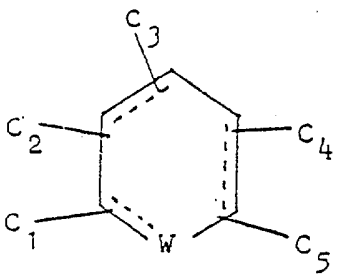
o är ett tal 0, 1, 2, 3, 4 eller 5, varvid l och o ej samtidigt kan vara 0,

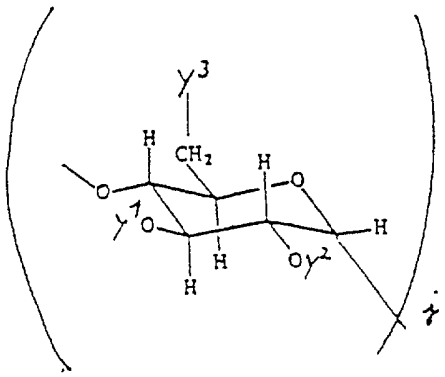
r är ett tal 0 eller 1, och symbolerna k och l har de ovan angivna betydelserna.

3. Kaskadpolymerkomplex enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d e därav, att A är en kväveatom,



eller





där

R^2, R^3 och R^4 i vart och ett fall oberoende av varandra är en kovalent bindning eller $(CH_2)_k-(C_6H_4)_r-(CH_2)_l-N\leq$,

g är ett tal 2, 3, 4 eller 5,

t är ett tal 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 eller 8,

W är CH, CH_2, NH eller en kväveatom,

C_1 är $(CH_2)_k-N\leq$,

C_2, C_3, C_4 och C_5 är i vart och ett fall oberoende av varandra en väteatom eller $(CH_2)_f-N$,

j är ett tal 6, 7 eller 8,

Y^1 och Y^2 är i vart och ett fall oberoende av varandra en väteatom, $CH_2-CH(OH)-CH_2N$ eller $(CH_2)_a-N\leq$, och

Y^3 är en kväveatom, $O-CH_2-CH(OH)-CH_2N$ eller $O-(CH_2)_g-N\leq$,

--- är en enkelbindning eller en dubbelbindning,

förutsatt att, ifall Y^3 är en kväveatom, så betecknar Y^1 och Y^2 en väteatom.

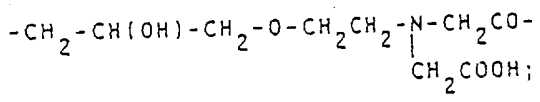
4. Kaskadpolymerkomplex enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d e därav, att V är

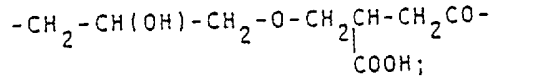
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH_2CH_2-$;

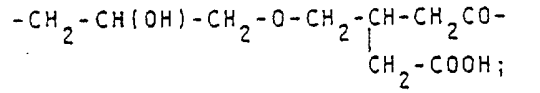
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-$;

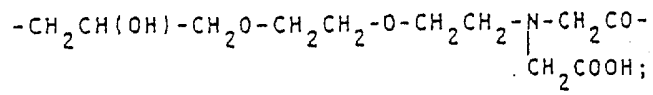
$-CH_2-CH(OH)CH_2O-CH(CH_2COOH)-CO-$;

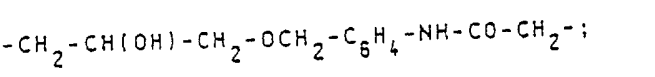
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH(CH_2COOH)-CH_2CO-$;

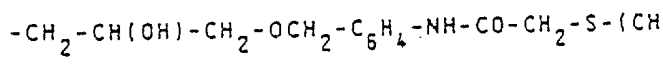


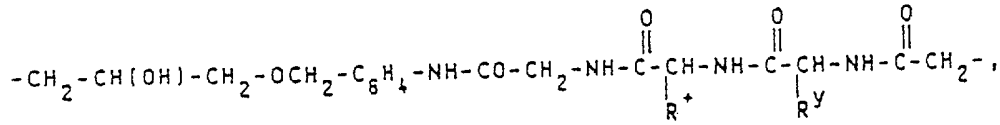












varvid R^+ och R^Y betecknar naturliga aminosyrarester,



$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-(CH_2)_2-NHCS-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-NHCS-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2NHCS-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-(CH_2)_2-NH-CO-CH_2-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-NHCS-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-NHCO-$;
$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-CH_2-C_6H_4-NHCS-$;
$-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-C(=NH)-O-C_6H_4-CH_2-$;
$-(CH_2)_4-NH-CO-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$; $-(CH_2)_4-NH-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-C_6H_4-CH_2-$;
$-(CH_2)_3-O-C_6H_4-CH_2-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_3-O-CH_2-$; $-CH_2-CO-NH-NH-$;
$-CH_2-CONH-(CH_2)_2-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_{10}-$; $-CH_2-CONH-(CH_2)_2-S-$;
$-(CH_2)_4-NH-CO-(CH_2)_8-$; $-CH_2-CO-NH-(CH_2)_3-NH-$; $-(CH_2)_3-NH-$grupp.

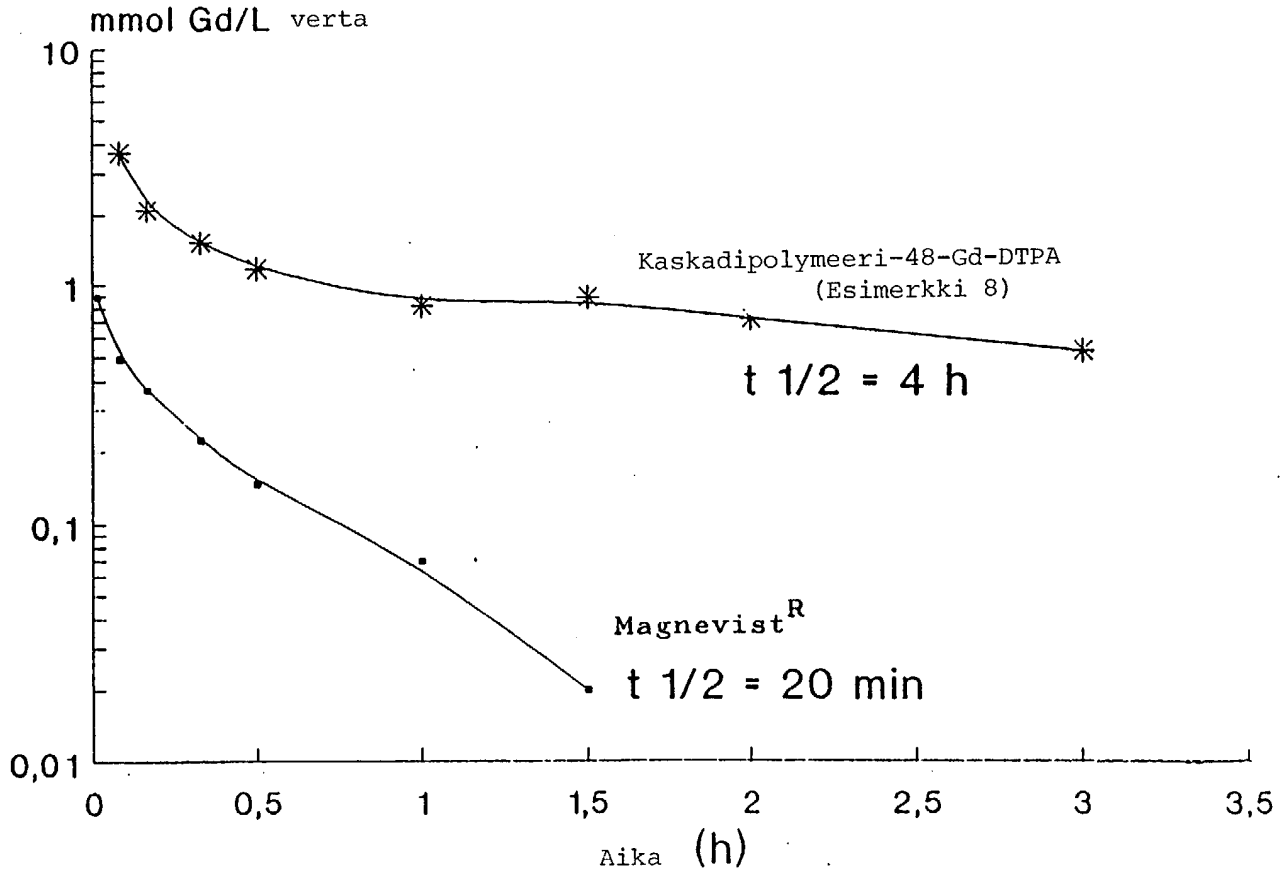
5. Diagnostiska medel, k ä n n e t e c k n a d e d ä r a v, att de innehåller minst ett kaskadpolymerkomplex enligt patentkrav 1 eventuellt tillsammans med tillsatsmedel konventionella vid framställning av diagnostiska medel.

6. Användning av minst ett polymerkomplex enligt patentkrav 1 för framställning av medel avsedda för NMR- och röntgendiagnostik.

7. Förfarande för framställning av diagnostiska medel enlig patentkrav 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att ett i vatten eller en fysiologisk saltlösning löst eller suspenderat polymerkomplex, eventuellt tillsammans med tillsatsmedel konventionella vid framställning av diagnostiska medel, bringas i en för enteral eller parenteral administration lämplig form.

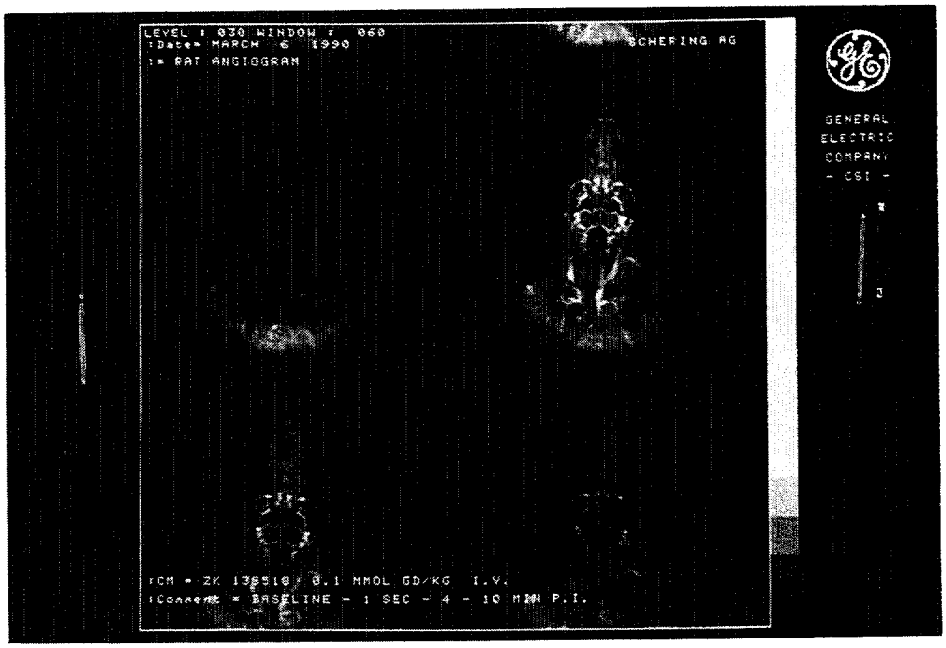
26-07-91 90574

KUVIO 1 Esimerkissä 8 kuvatun kaskadipolymeerin pitoisuusaikariippuvuus Magnevistiin^{R} verrattuna laskimonsisäisen annon (0,2 mmol/kg) jälkeen rotalla. Huolimatta samasta annoksesta, havaitaan selvä ero varjoaineiden pitoisuudessa veressä: Magnevist^{R} jakautuu solunulkoiseen tilaan, kun sitä vastoin kaskadipolymeeri jakautuu vasaalitilaan ja saavuttaa siten selvästi suuremmat pitoisuudet



0,2 mmol/kg i.v. rotalla

107931

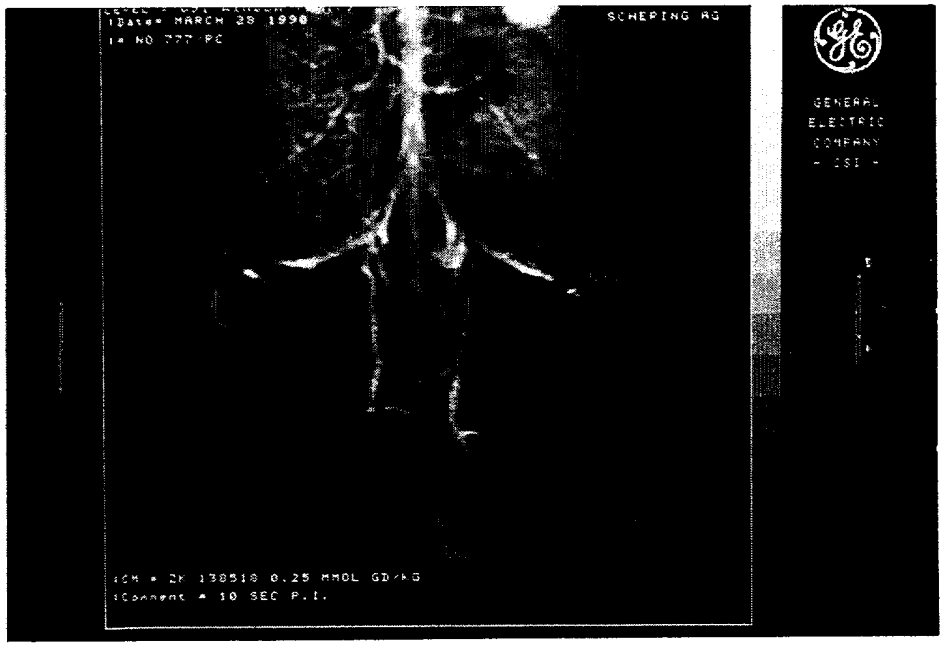


KUVIO 2 Koronaarinen projektiokuva rotan pää-kaula-alueelta.

a) Ilman varjoainetta: Kuvion signaali-intensiteetti on lähes nolla kaikkien suhteellisen pitkät T_1-ajat omaavien kudosten poisjäämisen takia,

b) sekunti sen jälkeen, kun esimerkin 8 otsikon mukaista yhdistettä on annettu 0,1 mmol Gd/kg: varjoaineen intravasaalisen jakautumisen ansiosta vain veren T_1-aika on äärimmäisen lyhyt, niin että veren signaali-intensiteetti ympäröivään kudokseen verrattuna on suuri, ja tuloksena on suonten erinomainen erottuminen,

c) ja d) 4 ja 10 minuuttia esimerkin 8 otsikon mukaisen yhdisteen annon jälkeen: aineen erittymistä vastaavasti veren T_1-ajan lyheneminen tulee vähäisemmäksi, minkä johdosta signaali-intensiteetti taas laskee



KUVIO 3 Rotan vatsa-alueen koronaarinen projektiokuva 10 sekuntia esimerkin 8 otsikon mukaisen yhdisteen annon jälkeen (0,25 mmol Gd/kg). Havaitaan selvästi kaikki tärkeät verisuonet. Vasemmassa lonkassa (katsojasta päin oikealla) on tuumori, jonka vaikutuksesta suonirakenne on muuttunut