



(10) 申请公布号 CN 117412980 A

(43) 申请公布日 2024.01.16

(21) 申请号 202280039128.1

(22) 申请日 2022.07.26

(30) 优先权数据

21187883.0 2021.07.27 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.11.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/070901 2022.07.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/006721 EN 2023.02.02

(71) 申请人 伯拉考成像股份公司

地址 意大利米兰

(72) 发明人 A·巴宁 A·巴拉勒 V·博伊

S·加泽托 F·波桑蒂

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所  
有限公司 11038

专利代理师 陈樱樱

(51) Int.Cl.

G07F 5/00 (2006.01)

权利要求书3页 说明书29页

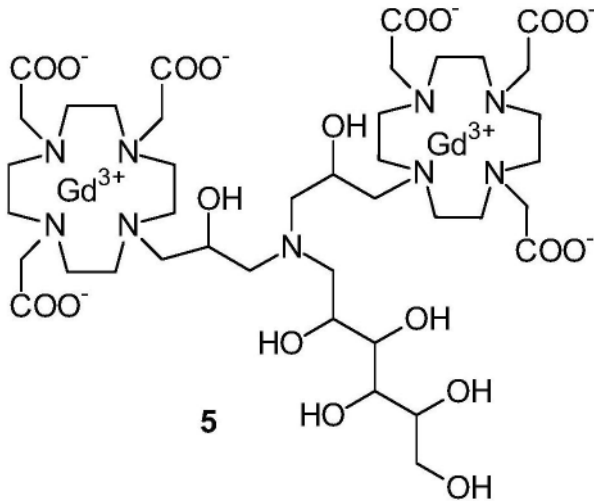
(54) 发明名称

二聚体造影剂的制备

(57) 摘要

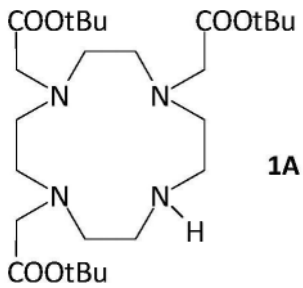
本发明涉及用于磁共振成像 (MRI) 的二聚体造影剂的制备方法,特别是[ $\mu$ -[1-[二[2-(羟基- $\kappa$ O)-3-[4,7,10-三[(羧基- $\kappa$ O)甲基]-1,4,7,10-四氮杂环十二碳-1-基- $\kappa$ N<sup>1</sup>,  $\kappa$ N<sup>4</sup>,  $\kappa$ N<sup>7</sup>,  $\kappa$ N<sup>10</sup>]丙基]氨基]-1-脱氧-D-葡萄糖醇化物(6-)]二-钆络合物,其包括一锅法进行的制备步骤(无需分离所得中间体)和过量的游离钆金属离子的至少部分的沉淀。

1. 一种用于制备下式的二聚体络合化合物5的方法

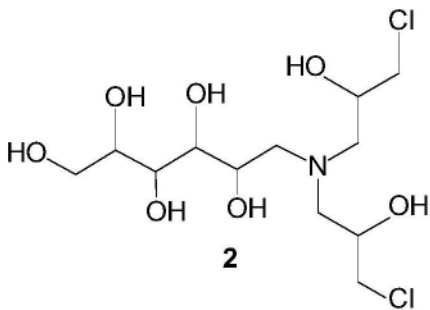


其包含:

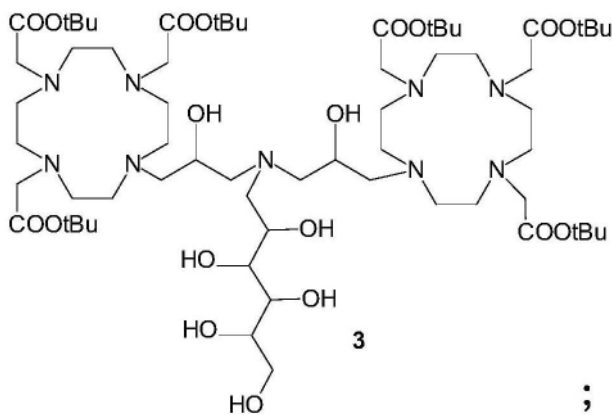
1) 在有机溶剂中制备式1A的D03A三叔丁酯的溶液;



2) 在有机溶剂中制备式2的化合物的溶液;

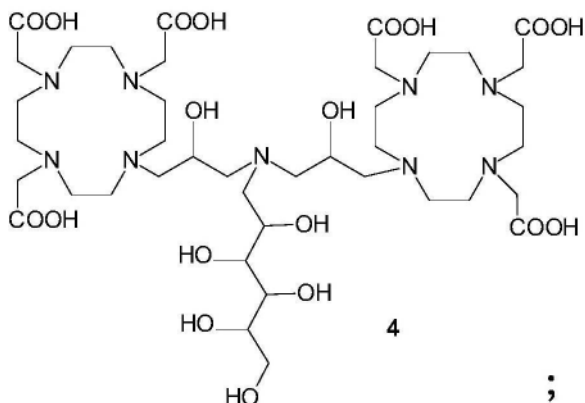


3) 混合根据步骤1) 和2) 制备的溶液以得到式3的化合物的溶液



4) 不从步骤3) 的溶液分离所述化合物,从式3的化合物除去叔丁基保护基团,以得到式

4的相应游离配体的溶液



5) 不分离式4的游离配体,向步骤4)的溶液中加入摩尔过量的钆金属离子以得到式5的相应二聚体络合物的溶液;

6) 向式5的二聚体络合物的溶液中加入沉淀剂以沉淀游离钆金属离子的一部分;和

7) 分离所述二聚体络合物,

其中在式3的化合物制备后的所有步骤中的反应溶剂都是水性溶剂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中从D03A三叔丁酯的氢溴酸盐制备步骤1)的D03A三叔丁酯1A的溶液。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中步骤1)包含:

i) 将D03A三叔丁酯的氢溴酸盐与碱或碱式盐一起悬浮于有机溶剂中以得到悬浮液;

ii) 过滤所述悬浮液;和

iii) 收集并任选地浓缩过滤的悬浮液,以得到D03A三叔丁酯1A在所述有机溶剂中的溶液。

4. 权利要求1至3中的任一项所述的方法,其中步骤2)包含使D-还原葡萄糖胺与环氧氯丙烷反应,以得到式2的化合物在有机溶剂中的溶液,优选地包含下述步骤:

i) 将D-还原葡萄糖胺的水性溶液加入环氧氯丙烷在有机溶剂中的溶液中,以产生在水/有机溶剂混合物中的式2的化合物;优选地环氧氯丙烷的量稍微超过化学计量的量;和

ii) 从所述混合物中除去水,以得到式2的化合物在有机溶剂中的溶液。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述有机溶剂是二甲基乙酰胺(DMAC)。

6. 权利要求1至5中的任一项所述的方法,其中步骤3)包含

a. 在有碱存在下使来自步骤2)的式2的化合物与来自步骤1)的D03A三叔丁酯1A反应以产生有机粗溶液;

b. 将得到的有机粗溶液用水、水/有机溶剂混合物或水性溶液稀释以得到水/有机粗制物;

c. 纯化所述水/有机粗制物,以得到在水/有机溶剂混合物中的式3的化合物,和

d. 从所述混合物除去有机溶剂以得到式3的化合物的水性溶液。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中通过色谱法进行步骤c的水/有机粗制物的纯化。

8. 权利要求1至7中的任一项所述的方法,其中步骤4)包含:

i) 向来自步骤3)的式3的化合物的水性溶液中添加酸,优选包含具有单个负电荷的抗衡离子的无机酸,然后和/或在这样的添加过程中,将溶液的温度加热和/或维持至高于40

℃、优选高于40℃且至多60℃、更优选在45至55℃的范围内的温度,以除去保护性叔丁基基团并获得式4的相应游离配体的酸性水性溶液;

ii) 向酸性溶液中加入碱以得到游离配体的基本上中性的水性溶液;

iii) 纯化并然后任选地浓缩所获得的中性溶液以得到式4的游离配体的水性溶液。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中步骤iii) 包含:蒸馏所述中性溶液以除去形成的叔丁醇;和任选地浓缩所述水性溶液。

10. 权利要求1至9中的任一项所述的方法,其中在步骤5) 中,相对于1摩尔的式4的脱保护二聚体配体,将钆金属离子以2.05摩尔或更多的量加入步骤4) 的溶液中。

11. 权利要求1至10中的任一项所述的方法,其中在根据步骤6) 添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持在4.5或更高的值。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中在根据步骤6) 添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持在4.7或更高的值。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中在根据步骤6) 添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持在4.9或更高的值。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中在根据步骤6) 添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持在5.5或更高的值。

15. 权利要求1至14中的任一项所述的方法,其中相对于从步骤5) 获得的式5的二聚体络合物溶液中的1摩尔的钆金属离子,以1.1至5摩尔的量加入所述沉淀剂。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中相对于从步骤5) 获得的式5的二聚体络合物溶液中的1摩尔的钆金属离子,以1.2至3摩尔的量加入所述沉淀剂。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中相对于从步骤5) 获得的式5的二聚体络合物溶液中的1摩尔的钆金属离子,以1.4至2.5摩尔的量加入所述沉淀剂。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中相对于从步骤5) 获得的式5的二聚体络合物溶液中的1摩尔的钆金属离子,以1.4至1.6摩尔的量加入所述沉淀剂。

19. 权利要求1至18中的任一项所述的方法,其中所述沉淀剂是选自磷酸盐( $\text{PO}_4^{3-}$ )、磷酸一氢盐( $\text{HPO}_4^{2-}$ )、磷酸二氢盐( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ )、正磷酸( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )、草酸盐( $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ )、草酸氢盐( $\text{HC}_2\text{O}_4^-$ )和草酸( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )的至少一种。

20. 权利要求1至19中的任一项所述的方法,其中在步骤6) 之后且在步骤7) 之前,所述方法进一步包含在加入沉淀剂后将得到的钆络合物5的溶液过滤以从所述溶液除去沉淀的不溶性钆盐的步骤。

21. 权利要求1至20中的任一项所述的方法,其中步骤7) 包含通过喷雾干燥直接从步骤6) 收集的溶液来分离作为白色固体的式5的二聚体络合物。

## 二聚体造影剂的制备

## 发明领域

[0001] 本发明涉及用于磁共振成像 (MRI) 的造影剂的制备。具体地,本发明涉及用于制备二聚体造影剂、特别是  $[\mu\text{-}[1\text{-}[2\text{-}(\text{羟基}-\kappa\text{O})\text{-}3\text{-}[4,7,10\text{-三}[(\text{羧基}-\kappa\text{O})\text{甲基}]\text{-}1,4,7,10\text{-四氮杂环十二碳-}1\text{-基}-\kappa\text{N}^1, \kappa\text{N}^4, \kappa\text{N}^7, \kappa\text{N}^{10}]\text{丙基}]\text{氨基}]\text{-}1\text{-脱氧-D-葡萄糖根合}(\text{glucitolato})(6\text{-})]]\text{二-钆络合物}(\text{化合物}5)$  的新方法。

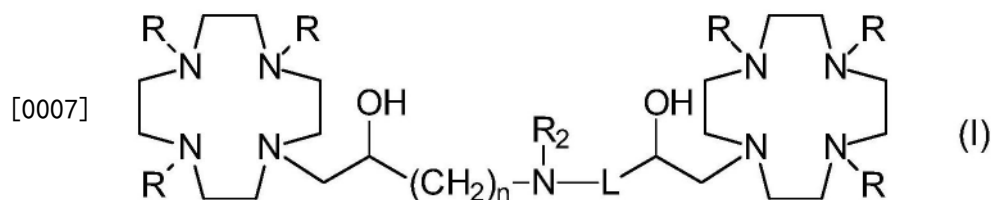
[0002] 技术水平

[0003] 磁共振成像 (MRI) 是一种著名的诊断成像技术,其为越来越多的适应症越来越多地用于临床诊断。

[0004] 用于MRI成像技术的造影剂通常包括与环状或无环螯合配体(更一般而言,多氨基多羧酸螯合剂)络合的顺磁性金属离子。最重要的一类MRI造影剂以Gd(III)螯合物为代表,其目前用于约1/3的临床试验中。事实上,Gd(III)具有高度顺磁性,具有七个不成对电子和长电子弛豫时间,这使其成为弛豫剂的优秀候选物。但是,钆金属离子  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_9]^{3+}$  即使在低剂量(10-20微摩尔/kg)也对活生物体有毒。

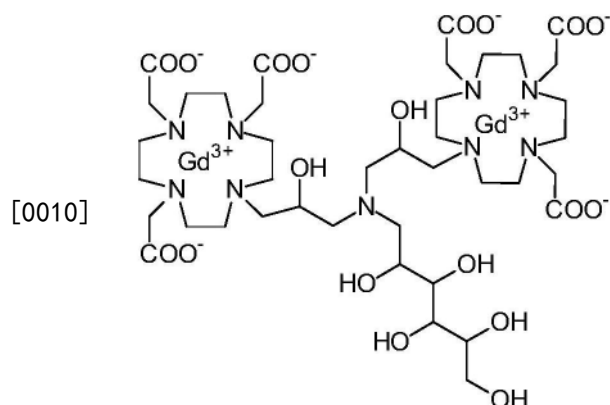
[0005] 因此,为了被认为是一种潜在有价值的MRI造影剂,Gd(III)络合物应表现出高热力学(和可能的动力学)稳定性,以防止有毒金属离子的释放。此外,当用于制造Gd(III)络合物的方法允许在络合步骤之后有效地且高效地除去存在于反应混合物中的有毒金属离子时,所述方法是有利的。

[0006] WO 2017/098044(与本申请相同的申请人)公开了可用作造影剂、特别是在磁共振成像 (MRI) 中的下式的二聚体顺磁性络合物



[0008] 及其制备的合成途径。

[0009] 在许多具体化合物中,本申请公开了下式的1-[二[2-羟基-3-[4,7,10-三(羧甲基)-1,4,7,10-四氮杂环十二碳-1-基]丙基]氨基]-1-脱氧-D-葡萄糖配体的二-钆络合物

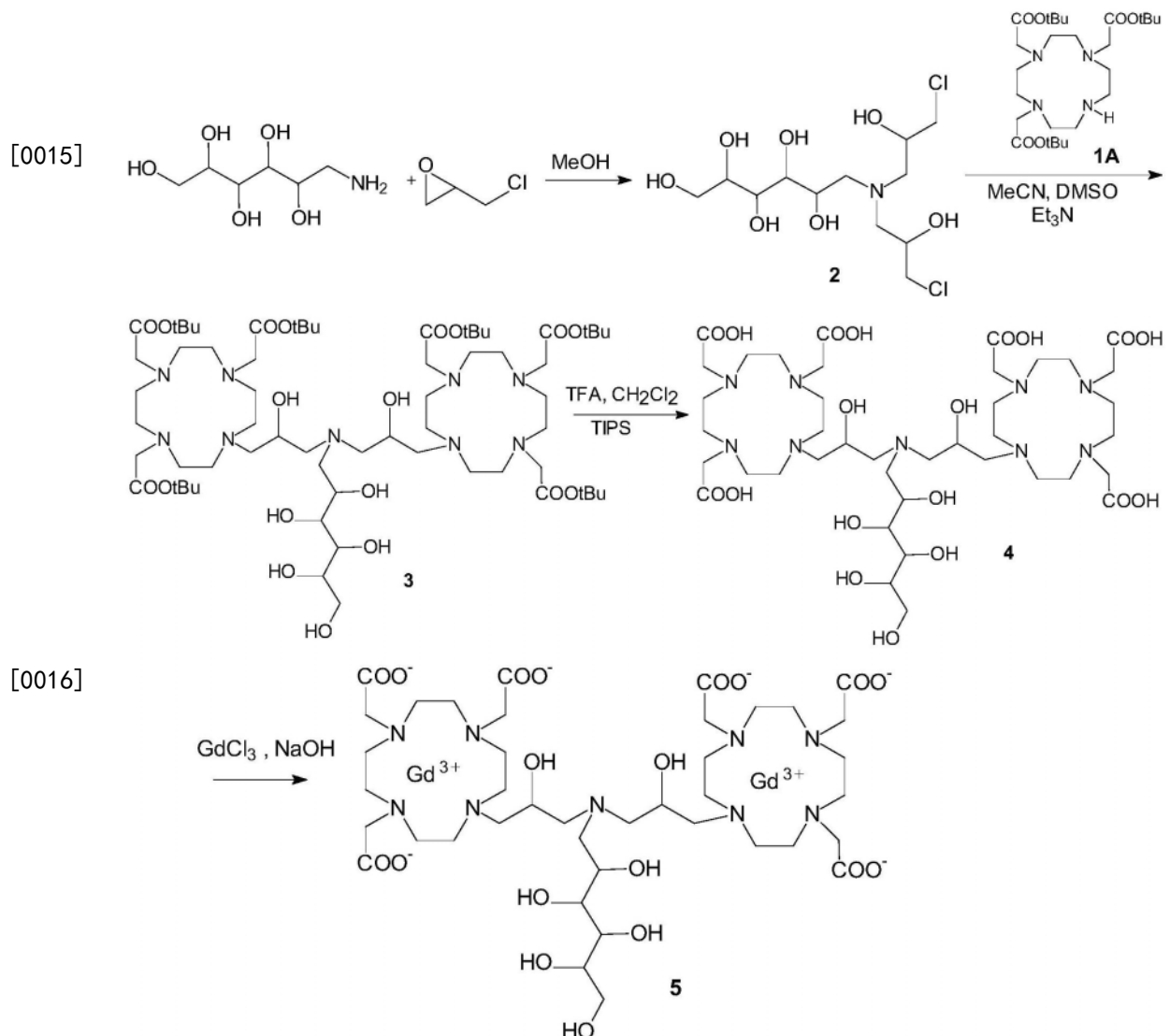


[0011] 在下文中另外标识为“二聚体络合化合物5”,或更简单地称为“化合物5”。

[0012] 这种络合化合物显示出令人感兴趣的性能,特别是在弛豫性和耐受性方面,这使得它适用于使用低于市场造影剂所需剂量的顺磁性络合物剂量进行的体内诊断成像。

[0013] 在上述国际申请中还公开了一种制备方法,其示意于以下通用方案1中:

[0014] 方案1



[0017] 所公开的合成方法的主要步骤包括:

[0018] a) 基本上如Org.Synth.2008,85,10中公开的那样进行D03A三叔丁酯(化合物1A)的制备和分离;

[0019] b) 通过在MeOH中在50°C将D-还原葡萄糖胺用环氧氯丙烷(摩尔比1:4.95)烷基化26小时来制备中间体2,并通过蒸发粗制反应物分离缩合产物;

[0020] c) 在DMSO和Et<sub>3</sub>N中将D03A三叔丁酯用中间体2烷基化,将粗残余物蒸发并在Amberlite **XAD**®1600上纯化,得到受保护的配体3;

[0021] d) 在二氯甲烷中用TFA酸和TIPS对配体3进行脱保护,将粗反应物蒸发并在Amberlite XE 750上纯化残余物;

[0022] e) 通过化学计量添加氯化钆六水合物在水中络合配体4,并在Amberchrome CG161M树脂上纯化通过过滤和蒸发溶液所获得的粗产物。

[0023] 该方法需要合成和分离各种中间体中的每一种,这通常通过蒸发溶剂残留物来进行。这样的分离步骤除了不适合大规模生产之外,还不可避免地导致该方法的总收率和效率的降低。此外,现有技术方法不特别适合大规模工作,例如在工业过程中,因为它涵盖使用难以处理的苛性材料(harsh material),诸如TFA、TIPS和DCM,这尤其可能造成腐蚀,并从而磨损合成设备和/或可能对工作者的健康不安全。

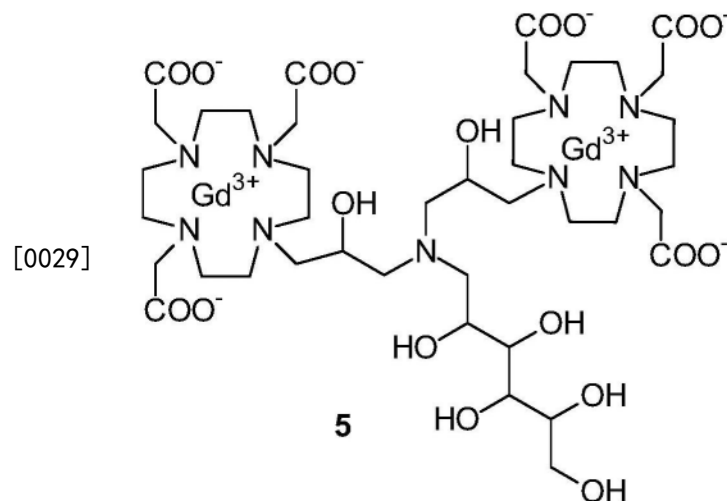
[0024] 最后,在W0 2017/098044中公开的络合步骤不容易重现,尤其是因为它取决于络合步骤中反应物的精确称量以及其名称的精确确定。至少由于该原因,在W0 2017/098044中公开的方法的稳健性可以被提高。

[0025] 因此,需要一种用于制备在W0 2017/098044中公开的Gd(III)络合物的方法,其克服上述问题,特别是可再现的、稳健的并且有利于大规模生产在W0 2017/098044中公开的二聚体顺磁性络合物的方法。

[0026] 发明概述

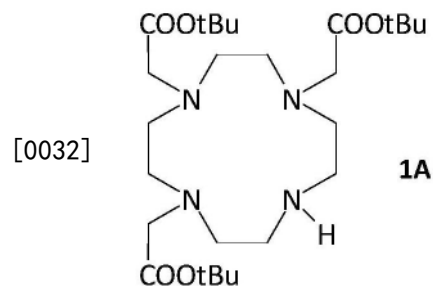
[0027] 本发明总体上涉及用于制备二聚体络合化合物5的优化方法,其包括一锅法进行的制备步骤且无需分离所得中间体,这既节省时间又提高总收率和效率,以及提供含有少量有毒游离钆金属离子的最终产品。

[0028] 更具体地,本发明涉及一种用于制备二聚体络合化合物5的方法



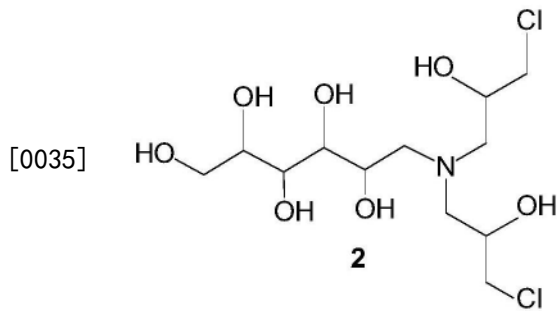
[0030] 其包含以下步骤作为主要步骤:

[0031] 1) 制备式1A的D03A三叔丁酯的溶液



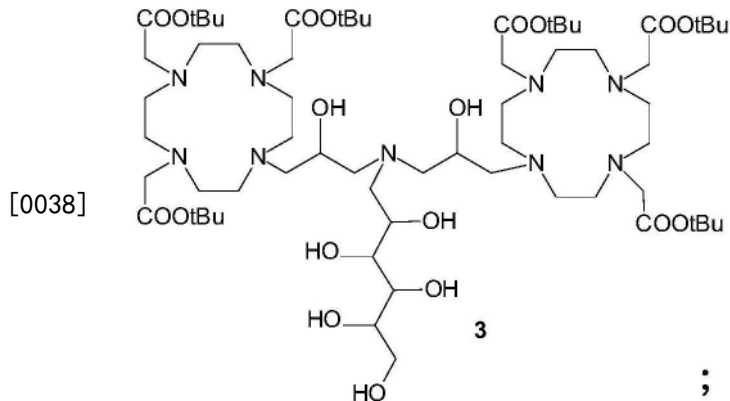
[0033] 例如在有机溶剂中;

[0034] 2) 制备式2的中间体的溶液

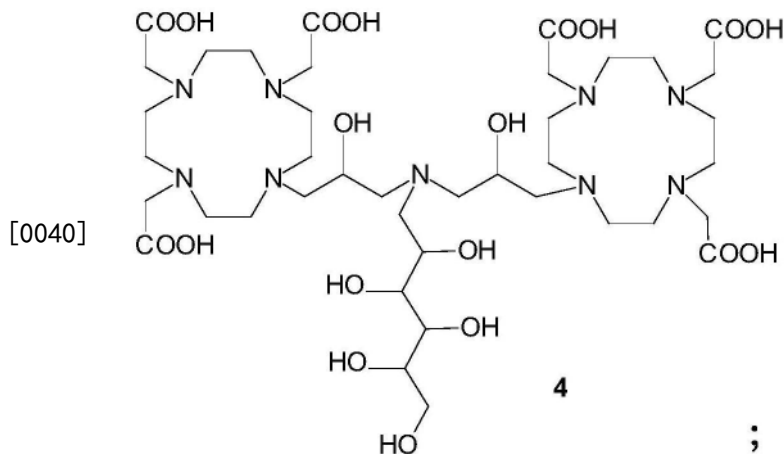


[0036] 例如在有机溶剂中；

[0037] 3) 混合根据步骤1) 和2) 制备的溶液以得到式3的受保护的配体的溶液



[0039] 4) 不从步骤3) 的溶液分离受保护的配体,从受保护的配体除去叔丁基保护基团,以得到式4的相应游离配体的溶液



[0041] 5) 不从得到的溶液分离式4的游离配体,向步骤4) 的溶液中加入摩尔过量的钆金属离子以得到式5的相应二聚体络合物的溶液；

[0042] 6) 向式5的相应二聚体络合物的溶液中加入沉淀剂以沉淀游离钆金属离子的一部分作为不溶性钆盐；和

[0043] 7) 分离所述二聚体络合物。

[0044] 有趣的是,在权利要求1中提出的方法避免了或大大减少了苛性试剂(诸如三氟乙酸(TFA))和刺激性溶剂(诸如二氯甲烷)的使用,所述试剂是现有技术的方法中所需要的并且在以较大规模的工作(例如工业过程)时难以处理。

[0045] 此外,在权利要求1中提出的方法包含一锅法进行的步骤,其适合于大规模实施,并且其不需要分离任何所制备的前体(诸如1A)或中间体。结果,除了促进工艺时间的减少

以及如上所述容易地在更大规模实施之外,该工艺有利地允许总工艺收率从10% (通过在W02017098044中公开的工艺获得) 显著增加直到超过30%的总收率,诸如33%。

[0046] 此外,本发明的方法是稳健的,因此特别适合大规模实施。事实上,由于在步骤5)中添加了摩尔过量的钆金属离子,络合步骤的反应物的精确称量和名称确定的负担大大减轻,这在现有技术方法中没有公开。

[0047] 此外,步骤6)提供了通过沉淀除去游离钆金属离子。该纯化步骤比通过柱纯化(如上述现有技术文献中进行的)除去相同的物质负担更轻。与添加化学计量的量或更少化学计量的量的钆金属离子相比,添加摩尔过量的钆金属离子在络合后提供更高量的游离钆金属离子;但是,已经发现,通过进行本发明的沉淀步骤6),即通过用本文公开的沉淀剂沉淀游离钆金属离子,可以有效地且高效地除去这种较高量的游离钆金属离子。因此,组合步骤5)和步骤6)提供了通过稳健的且适合大规模生产的方法从式5的二聚体络合物的溶液中特别有效地除去游离钆金属离子。

[0048] 由于本发明的方法是稳健的、可再现的且高效的(至少在收率方面),因此可以容易地实现二聚体络合物5的大规模生产。

[0049] 该方法的步骤1)通常包含制备D03A三叔丁酯1A的溶液。在一个实施方案中,所述溶液在有机溶剂中制备,例如通过将市售的D03A三叔丁酯或使用已知的合成程序制备的D03A三叔丁酯溶解在溶剂中。

[0050] 在一个优选的实施方案中,1A的溶液在其即将使用之前通过将D03A三叔丁酯的盐(诸如氢溴酸盐)转化成相应的游离碱1A来制备。通常包含氢溴酸盐的中和的转化优选地在有机溶剂中并且在碱或碱式盐(为强碱和弱酸的中和产物的盐,其通过形成碱性溶液而水解)存在下进行。然后,除去所形成的盐并任选地浓缩过滤的溶液,得到D03A三叔丁酯1A在有机溶剂中的溶液,其适合原样用于该方法的后续步骤,而不需要酯的任何纯化或分离。

[0051] 合适的有机溶剂优选地包括MeCN、碳酸亚丙酯、乙醇、叔丁醇、己烷等。更优选地,所述有机溶剂是MeCN。

[0052] 用于中和起始氢溴酸盐的合适的碱或碱式盐例如包括强碱和阴离子交换树脂,诸如、例如,Diaion PA308、Amberlite IRA 400、KOH、tBuOK、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>,其中后两种是优选的。更优选地,D03A三叔丁酯氢溴酸盐的中和在有K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>存在下进行。

[0053] 该方法的步骤2)包含式2的化合物的制备,其可以通过用环氧氯丙烷烷基化D-还原葡萄糖胺而获得。所述烷基化在有机溶剂诸如偶极有机溶剂中或在其水性混合物中进行。合适的有机溶剂例如包括DMAC、DMF、醇诸如MeOH和它们的混合物。更优选地,所述有机溶剂是DMAC。然后从混合物中蒸馏出任何水性溶剂和/或过量的环氧氯丙烷,从而获得式2的化合物在有机溶剂中的溶液,其适合原样用于该方法的下一步,无需分离和/或进一步纯化烷基化产物。

[0054] 该方法的步骤3)基本上包含式2的中间体化合物与D03A三叔丁酯1A的缩合(或偶联,如本文中可互换使用),并形成式3的受保护的配体。所述缩合反应优选地在碱存在下进行,例如充当形成的HCl的受体。合适的碱例如包括阴离子交换树脂诸如Amberlite GC 400、NMM、tBuOK、Et<sub>3</sub>N和DIPEA,其中Et<sub>3</sub>N和DIPEA是优选的,且DIPEA是特别优选的。

[0055] 在一个实施方案中,通过将碱和直接从步骤1)收集的D03A三叔丁酯1A的有机溶液加入从步骤2)收集的化合物2的溶液中进行缩合反应,以产生包含式3的缩合产物在有机溶

剂混合物中的有机粗溶液。然后,将有机粗制物纯化,导致在水/有机溶剂混合物中获得纯化产物,并且任何有机溶剂的任选的最终蒸馏允许在水性溶剂或水性溶剂混合物中获得式3的受保护的配体,其可原样用在该方法的下一步中,无需分离和/或进一步纯化受保护的配体本身。

[0056] 该方法的步骤4)基本上包含从式3的受保护的配体除去羧基保护基团,以产生式4的相应游离配体的水性溶液或水性混合物。通过叔丁基保护基团的水解进行的脱保护可以在酸性和碱性条件下通过使用相关领域技术人员已知的反应物和条件来进行。在一个实施方案中,通过酸化从该方法的步骤3)直接收集的受保护的配体的水性溶液或水性混合物来进行脱保护,以得到式4的游离配体的酸性溶液。所述酸化优选地通过加入酸(例如选自HCl、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)来进行。包含具有单个负电荷的抗衡离子的无机酸,诸如HCl、HBr等,是特别优选的。在一个优选的实施方案中,通过使用HCl进行脱保护。在一个特别优选的实施方案中,通过加热和/或维持酸性反应混合物的温度至高于40℃、优选高于40℃且至多60℃、更优选在45至55℃范围内的温度进行脱保护。然后,酸性溶液的中和、随后的纯化和所得混合物的部分浓缩导致收集配体4的水性溶液或水性混合物,其原样用于络合步骤中,无需分离。

[0057] 步骤5)包含所述配体与摩尔过量的钆金属离子的络合,得到期望的二聚体络合物5。所述络合反应可以方便地通过将合适的Gd(III)衍生物、特别是氧化物诸如Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>或可溶性钆盐添加至所述配体的溶液中进行。在一个实施方案中,通过将可溶性钆盐GdCl<sub>3</sub>添加至从该方法的步骤4)直接收集的配体溶液中进行络合反应。

[0058] 步骤6)包含沉淀存在于式5的二聚体络合物的溶液中的游离钆金属离子。这些游离离子的存在是因为它们在前一步骤中已经以摩尔过量添加,并且可能是因为并非所有在前一步骤中添加的钆都与配体4反应以形成期望的二聚体络合物5。通过添加沉淀剂以沉淀作为不溶性钆盐的游离钆金属离子的一部分来进行沉淀步骤6)。优选的沉淀剂选自磷酸盐(PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)、磷酸一氢盐(HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)、磷酸二氢盐(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>)、正磷酸(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、草酸盐(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>)、草酸氢盐(HC<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>-</sup>)和草酸(H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)。在一个优选的方面,相对于1摩尔量的二聚体络合物5,所述沉淀剂的添加量为至少1.1摩尔,优选1.1至5摩尔的量。在进一步优选的方面,在根据步骤6)添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持高于4.5,优选高于4.7,并且可能低于10.0,优选低于9.0。在进一步优选的方面,在沉淀不溶性钆盐之后,提供除去例如过滤所得溶液以从溶液中除去不溶性钆盐的步骤,由此将不溶性钆盐从这样的溶液中分离。

[0059] 然后将所得过滤的混合物进一步纯化(通过进一步纯化步骤)并浓缩以得到具有期望纯度的期望的二聚体络合物5的溶液。

[0060] 步骤7)包含最终分离期望的钆络合物5。该步骤可以根据已知的程序方便地进行。在一个实施方案中,将从步骤5)收集的纯化络合物的溶液喷雾干燥以产生作为白色固体的期望产物,其满足所需的纯度规格。

[0061] 发明详述

[0062] 在本说明书中,并且除非另外提供,术语“中间体”(例如,用于指代衍生自D-还原葡萄糖胺与环氧氯丙烷的烷基化反应的式2的化合物,或式3的受保护的配体)在其含义内包含在化学合成或该方法的制备步骤过程中产生的分子,其本身不是最终产物,但需要一个(或多个)进一步的反应例如烷基化/脱保护/络合反应以产生该方法的最终产物,即二聚体

络合化合物5。

[0063] 除非另外提供,术语“前体”(例如,关于化合物1A使用)在含义内包含参与促进其转变为另一种分子的化学反应的分子,所述另一种分子包括或衍生自所述前体。

[0064] 在本说明书中,术语“水性溶剂”在含义内包含水、盐水溶液,可能包括少量与水混溶的有机溶剂,诸如体积百分比为10%或更低的与水混溶的有机溶剂,优选8%或更低,且更优选5%或更低,例如因为本发明的方法是在不分离大部分中间产物的情况下进行,因此少量的有机溶剂可以被携带经过该工艺的上游和第一步。优选地,所述水性溶剂是水。

[0065] 在本文中可互换使用的表述“水/有机溶剂混合物”或更简单的“水性溶剂混合物”在含义内包含两种或更多种溶剂的混合物,其包含水性溶剂,诸如水和一种或多种彼此混溶的有机溶剂的混合物,以产生均匀的溶剂混合物,其中所述一种或多种有机溶剂的体积百分比高于10%,优选高于15%,更优选高于20%。合适的例子包括在色谱纯化(例如式3的化合物的色谱纯化)中用作洗脱液的水和乙腈(或水/MeCN)的混合物,或水/MeCN/DMAC的混合物,例如在用水稀释得自步骤3)的缩合反应的粗混合物后得到。根据本发明的一个优选方面,在水性溶剂混合物内(以及在水性溶剂内,当存在时)的一种或多种有机溶剂不是苛性溶剂或材料;事实上,水性溶剂混合物优选地不包含苛性溶剂诸如TFA、TIPS和/或DCM。

[0066] 同样,表述“水性溶液”和“水性混合物”在其含义中分别包括含有水的溶液或混合物。合适的例子分别包括一种或多种化合物(例如试剂、酸、碱或反应产物)在水中(更一般地,在水性混合物中)或在水性溶剂混合物中的溶液,以及混合物,诸如通过向在有机溶剂或溶剂混合物中的反应混合物中添加水或水性溶液而产生的水/有机混合物。

[0067] 在本说明书中,术语“保护基团”(例如,关于式3的化合物所使用的)表示适合于保留其所结合的基团的功能的保护基团。具体而言,保护基团用于保护羧基功能。更具体地,该术语表示通过形成叔丁酯来保留配体的羧基的螯合功能的叔丁基基团[关于保护基团和脱保护条件的一般参考,参见T.W.Green和P.G.M.Wuts;Protective Groups in Organic Synthesis,Wiley,N.Y.1999,第三版]。

[0068] 如本文中使用的,并且除非另外提供,术语“沉淀剂”表示在步骤6)中添加的试剂,当根据本发明的方法将其加入到二聚体络合物5的溶液中时,其至少在步骤6)的条件下是阴离子或产生阴离子。这样的阴离子能够通过和游离钆金属离子的离子键产生如本文所定义的不溶性钆盐。

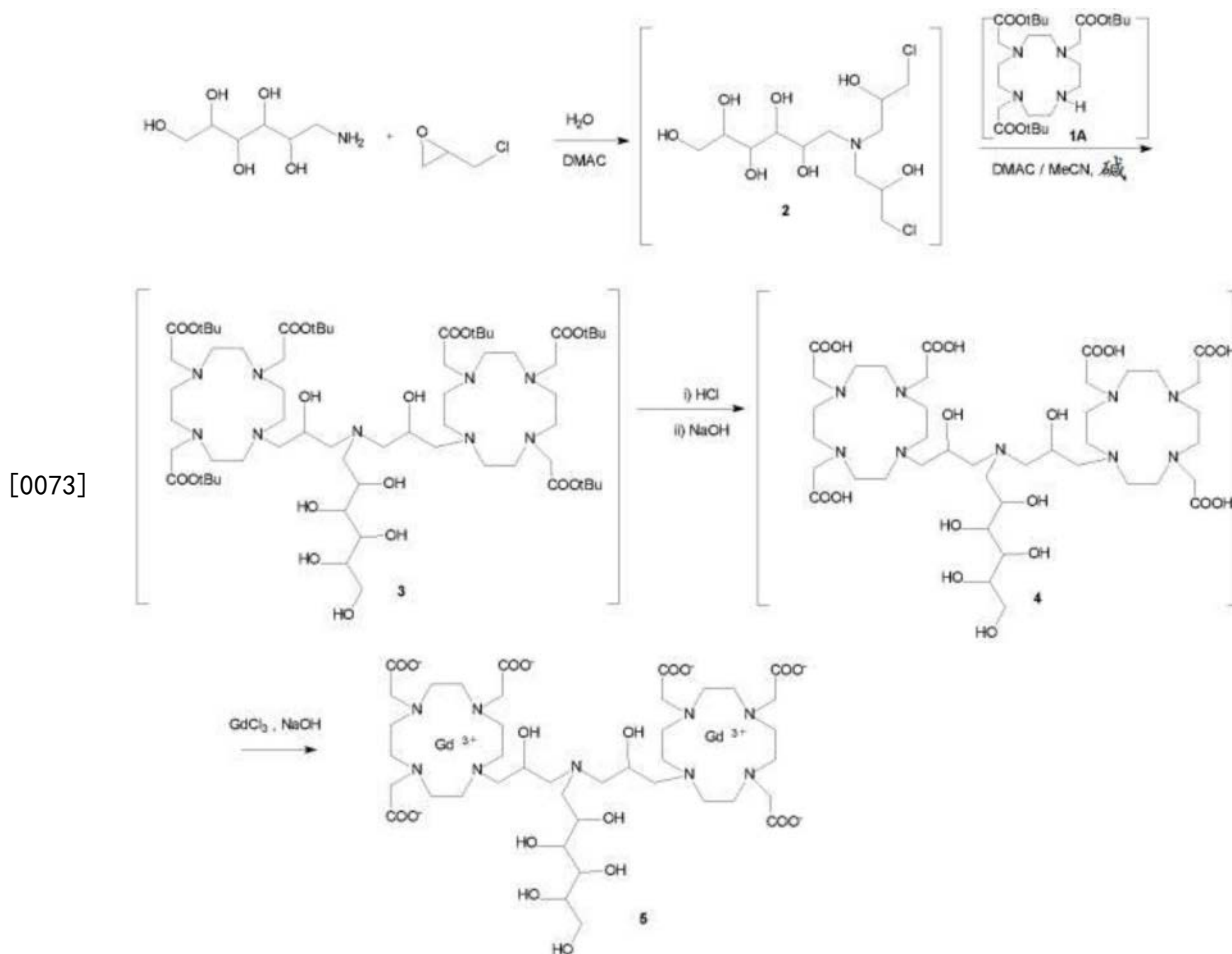
[0069] 如本文中使用的,并且除非另外提供,术语“不溶性钆盐”表示添加本文定义的沉淀剂后生成的盐。不溶性钆盐包含作为阳离子的 $Gd^{3+}$ 和作为抗衡阴离子的阴离子,所述阴离子是沉淀剂或由沉淀剂产生。至少在本发明的方法的步骤6)的条件下,并且优选还在步骤6)的下游步骤的条件下至少直至过滤步骤,不溶性钆盐以固体和可过滤的物理形式存在于反应混合物中;在这些条件下,溶解1质量份的钆盐所需的溶剂的质量份优选为100或更高,更优选1,000或更高,且甚至更优选10,000或更高。不溶性钆盐的例子是磷酸钆和草酸钆。术语“可溶性钆盐”替代性地表示在步骤5)期间添加的可溶性钆盐(通常 $GdCl_3$ )以进行二聚体配体4的络合,从而获得络合物5。

[0070] 如本文中使用的,并且除非另外提供,术语“游离钆金属离子”表示存在于溶液内并且不被二聚体配体螯合的钆离子,诸如 $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ 。

[0071] 本发明的一个实施方案涉及用于制备二聚体化合物5的方法,基本上如以下一般

合成方案2所示

[0072] 方案2



[0074] 其包含以下步骤作为主要步骤:

[0075] 1) 在有机溶剂中中和D03A三叔丁酯的氢溴酸盐,以产生D03A三叔丁酯1A在有机溶剂中的溶液;

[0076] 2) 使D-还原葡萄糖胺与环氧氯丙烷反应以得到式2的化合物在有机溶剂诸如DMAC中的溶液;和,不分离产物

[0077] 3) 在有碱存在下使来自步骤2)的式2的化合物与来自步骤1)的D03A三叔丁酯1A反应,并任选地浓缩溶液以产生有机粗制物,将有机粗制物用水、水/有机溶剂混合物和/或任选的水性溶液稀释,以得到水/有机粗制物,纯化所述水/有机粗制物和任选地除去任何有机溶剂,以产生式3的受保护的配体的水性溶液或水性混合物;和,不分离产物

[0078] 4) 在将反应混合物的温度加热和/或维持至高于40°C的温度同时,酸化来自步骤3)的式3的受保护的配体的溶液,以产生相应脱保护的配体4的酸性水性溶液或水性混合物,中和所述酸性溶液并纯化所得中性溶液,以产生脱保护的配体4的水性溶液或水性混合物,并且不分离后者,

[0079] 5) 向配体4的溶液中加入摩尔过量的钆金属离子,以得到对应的络合化合物5的溶液;

[0080] 6) 向对应的络合化合物5的溶液中加入沉淀剂以沉淀游离钆金属离子的一部分作为不溶性钆盐,由此得到对应络合化合物5的溶液;和

[0081] 7) 分离所述络合物。

[0082] 步骤1

[0083] 该方法的第一步包含,通过在有机溶剂中,在有碱或碱式盐存在下,将D03A三叔丁酯的氢溴酸盐直接转化为相应的游离碱来制备D03A三叔丁酯1A在有机溶剂(诸如MeCN)中的溶液。

[0084] 在一个优选的实施方案中,该方法的步骤1)包含:

[0085] i) 将D03A三叔丁酯的氢溴酸盐与碱或碱式盐诸如 $K_2CO_3$ 一起悬浮在有机溶剂诸如MeCN中以得到包含形成的盐的悬浮液;

[0086] ii) 过滤所述悬浮液;和

[0087] iii) 收集并任选地浓缩过滤的悬浮液,以得到D03A三叔丁酯1A在有机溶剂中的溶液,其适合原样用于随后的缩合反应中,而不需要酯的任何纯化或分离。

[0088] 优选地在室温将酯氢溴酸盐和 $K_2CO_3$ 悬浮在有机溶剂中以产生混合物,然后将其在搅拌下在20至30°C、优选约25°C的温度维持16至30小时的时间,优选18-20小时。然后处理混合物以除去形成的盐,优选通过过滤。

[0089] 在一个优选的实施方案中,对过滤所得的溶液进行热浓缩,例如通过溶剂的部分蒸馏,以产生三叔丁酯1A在MeCN中的溶液,最终浓度是55至65%且优选约60% (w/w),其适合原样用于该方法的后续缩合步骤中。

[0090] 步骤2

[0091] 该步骤包含通过使D-还原葡萄糖胺与环氧氯丙烷反应来制备式2的中间体化合物的溶液。在一个实施方案中,在溶剂的混合物中,优选在水/DMAC中,通过使用比化学计量的量略过量的环氧氯丙烷进行所述反应,例如每摩尔的D-还原葡萄糖胺2至3摩尔的环氧氯丙烷,更优选约2.2摩尔的环氧氯丙烷。优选地,通过使用比化学计量的量略过量的环氧氯丙烷进行这样的步骤2)的反应,例如每摩尔的D-还原葡萄糖胺2至3摩尔的环氧氯丙烷,更优选2.05至2.5摩尔的环氧氯丙烷,且甚至更优选约2.2摩尔的环氧氯丙烷。

[0092] 在一个优选的实施方案中,该方法的步骤2)包含:

[0093] i) 将D-还原葡萄糖胺的水性溶液加入环氧氯丙烷在DMAC中的溶液中,以产生在水/DMAC溶剂混合物中的式2的中间体化合物;和

[0094] ii) 从所述溶剂混合物中除去水,以得到式2的化合物在有机溶剂中的溶液。

[0095] D-还原葡萄糖胺向环氧氯丙烷溶液中的加入优选在室温进行约2小时的时间,以产生混合物,将其在搅拌下在15至30°C、优选15至25°C和更优选20至25°C的温度保持16至24小时、优选16至20小时、且更优选约17小时的时间。

[0096] 然后蒸馏混合物以除去水和任何任选的环氧氯丙烷残余物。所述蒸馏优选在减压和优选40-65°C的温度进行,从而获得期望的式2的中间体化合物在DMAC中的溶液,残余含水量优选<2%w/w。然后将所得溶液原样用于随后的缩合反应,而不需要产物的任何分离或纯化。

[0097] 步骤3

[0098] 该步骤基本上包含在有碱诸如 $Et_3N$ 或更优选的DIPEA存在下D03A三叔丁酯1A与中间体2的缩合。优选通过将碱和来自步骤1)的酯1A在MeCN中的溶液与直接从步骤2)收集的中间体2在DMAC中的溶液混合来进行缩合,以产生包含式3的受保护的配体在MeCN/DMAC有

机溶剂的混合物中的粗溶液(或粗制物),然后进行纯化。

[0099] 在一个实施方案中,将由缩合反应产生的有机粗溶液用水稀释或部分浓缩,并然后用水或水性溶剂混合物、优选水/MeCN稀释,以得到水/有机粗制物或水性粗制物,如本文互换使用。

[0100] 在一个优选的实施方案中,向如此获得的水/有机粗制物或优选地由缩合反应产生的有机粗制物中添加促进反应盐沉淀的水性溶液,所述反应盐包括D03A三叔丁酯盐酸盐,然后将其通过过滤除去,以提供水/有机过滤溶液。然后纯化水/有机粗制物或水/有机过滤溶液,优选通过色谱法。

[0101] 在一个实施方案中,用于促进盐酸盐沉淀的水性溶液是氨水。

[0102] 更具体地,该方法的步骤3) 优选地包含:

[0103] i) 在有碱、优选DIPEA存在下将来自步骤2) 的式2的中间体化合物与来自步骤1) 的D03A三叔丁酯1A缩合,以产生有机粗溶液,其包含在有机溶剂混合物中的式3的缩合产物和反应盐,并任选地浓缩有机粗制物;

[0104] ii) 用水或水/有机溶剂混合物、优选水/MeCN稀释步骤i) 的有机粗制物,以产生水/有机粗制物;

[0105] iii) 任选地向水/有机粗制物中添加促进反应盐沉淀的水性溶液,通过过滤除去反应盐以产生水/有机过滤溶液;或

[0106] iv) 用促进反应盐沉淀的水性溶液稀释步骤i) 的有机粗制物,通过过滤除去反应盐,以产生水/有机过滤溶液;

[0107] v) 纯化步骤ii) 的水/有机粗制物,或纯化步骤iii) 或iv) 的水/有机过滤溶液,以产生式3的受保护的配体在水/有机溶剂混合物中的溶液,其可以用于该方法的下一个脱保护步骤中,无需对受保护的产物进行任何分离或进一步纯化;和

[0108] vi) 任选地从混合物中除去任何有机溶剂,以得到式3的受保护的配体在水中的溶液,或更一般地在水性溶剂中的溶液,其用于该方法的下一个脱保护步骤中,无需对受保护的产物进行任何分离或进一步纯化。

[0109] 优选通过将碱和从该方法的步骤1) 收集的酯1A在MeCN中的溶液添加至从步骤2) 收集的式2的中间体化合物在DMAC中的溶液来进行缩合反应。

[0110] 根据进行反应的D-还原葡萄糖胺的量方便地确定碱和酯1A的合适量。在一个实施方案中,通过使用每摩尔进行反应的起始D-还原葡萄糖胺1.6至2.4摩尔和优选约1.8摩尔的酯1A和2至4摩尔、优选约2.3摩尔的DIPEA,进行缩合反应。

[0111] 所述添加优选在40-50°C的温度进行。然后在50至80°C、优选65至75°C的温度进行缩合反应例如60-80小时、优选70-75小时的时间,以产生包含期望的式3的缩合产物和盐酸盐在MeCN/DMAC溶剂混合物中的粗溶液。

[0112] 在一个实施方案中,然后将所述粗溶液用水稀释以产生浓度优选为约25-30%、更优选为约25% (w/w) 的水/有机粗制物。在一个优选的实施方案中,所述水性粗制物包含一定量的水,其按重量计至少等于混合物中有机溶剂(特别是MeCN) 的量;更优选地,所述粗制物具有约60:40的水:MeCN比率。

[0113] 然后纯化水/有机粗制物,优选通过色谱法,更优选在树脂上,甚至更优选在吸附树脂诸如Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600上。在一个优选的实施方案中,通过使用水/MeCN混合物作

为洗脱液,在吸附树脂诸如Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600上纯化水性粗制物,从而得到未反应的D03A三叔丁酯1A和纯的缩合产物作为在水/MeCN溶剂混合物中的分离级分。

[0114] 在另一个实施方案中,首先通过除去MeCN的至少一部分(例如通过蒸馏)来浓缩由缩合反应产生的粗溶液。然后用水或水:MeCN的混合物稀释浓缩的溶液,从而获得具有上述水:MeCN比率的水/有机粗制物,然后将其通过色谱法纯化,如上所述。

[0115] 任选地,向如上所述获得的水/有机粗制物中添加水性溶液诸如氨水,其通过冷却混合物来促进未反应的D03A三叔丁酯以盐酸盐的形式沉淀,然后通过过滤除去并任选地再循环。然后将不含大部分氯化物盐的过滤溶液通过在吸附树脂(诸如如上所述的Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂)上的色谱法纯化,以产生残余的D03A三叔丁酯1A和纯的缩合产物,作为在水/有机(诸如水/MeCN)溶剂混合物中的单独级分。

[0116] 在一个优选的实施方案中,将水性溶液(例如包括氨水)直接加入到由缩合反应产生的有机粗溶液中,通过冷却混合物来促进未反应的D03A三叔丁酯以盐酸盐的形式沉淀,然后通过过滤除去并任选地再循环。然后将不含大部分氯化物盐的滤液通过在吸附树脂(诸如如上所述的Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂)上的色谱法纯化,以产生残余的D03A三叔丁酯1A和纯的缩合产物,作为在水/有机(诸如水/MeCN)溶剂混合物中的单独级分。

[0117] 然后任选地最终从纯级分蒸馏有机溶剂,例如在减压下,得到在水性溶液中的式3的缩合产物,其最终浓度是5-15% (w/w),优选约10% (w/w),这适合原样用于随后的脱保护步骤,无需对中间体进行任何分离或额外纯化。

[0118] 令人感兴趣的是,上述程序步骤允许在水性溶剂或水性溶剂混合物中获得受保护的缩合产物3,从而使得可能通过使用水、并且更一般地使用水性溶剂或水性溶剂混合物作为唯一主要反应溶剂或主要反应溶剂之一进行其脱保护和络合,形成最终络合物5。在水性溶剂中的受保护的缩合产物3可以根据技术人员已知的各种方法获得。例如,如上所述,式3的化合物的有机粗溶液(例如通过使来自步骤2)的式2的化合物与来自步骤1)的D03A三叔丁酯1A反应得到)可以用水、水/有机溶剂混合物或水性溶液稀释,从而得到水/有机粗制物。在除去有机溶剂之前,可以将水/有机粗制物通过色谱法纯化,优选通过树脂,并且更优选通过吸附树脂,诸如Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600。然后,可以除去有机溶剂以得到式3的化合物的水性溶液,例如通过蒸馏,例如在减压下。根据技术人员已知的各种方法,也可以获得在水性溶剂混合物中的受保护的缩合产物3。例如,式3的化合物的有机粗溶液(例如通过使来自步骤2)的式2的化合物与来自步骤1)的D03A三叔丁酯1A反应得到)可以用水、水/有机溶剂混合物或水性溶液稀释,从而得到水/有机溶液,其无需分离产物3即可在后续步骤中使用。

[0119] 因此,根据本发明的一个优选方面,步骤3)可以进一步包含将式3的化合物的溶液转化为式3的化合物的水性溶液或水性混合物的另外步骤。优选地,该另外步骤如下进行:  
(i) 用水、水/有机溶剂混合物或水性溶液稀释式3的化合物的溶液,从而获得水性混合物(或水/有机溶液),和(ii) 任选地除去有机溶剂,例如通过蒸馏,从而得到水性溶液。

[0120] 步骤4

[0121] 该步骤包含通过除去羧基保护基团对式3的受保护的配体进行脱保护,从而获得相应游离配体4的水性溶液或水性混合物。该反应优选通过酸化直接从该方法的步骤3)收

集的式3的受保护的配体的水性溶液或混合物来进行,且甚至更优选地通过在溶液酸化期间和/或之后加热和/或维持反应混合物的温度至高于40°C的温度来进行。

[0122] 在一个实施方案中,该方法的步骤4)包含:

[0123] i) 向从步骤3)收集的式3的化合物的水性溶液或水性混合物中添加酸,然后和/或在该添加过程中,加热和/或维持溶液的温度至高于40°C、优选高于40°C且至多60°C、更优选在45至55°C的范围内的温度,以得到游离配体4的酸性溶液;

[0124] ii) 向酸性溶液中添加碱,以得到配体4的基本上中和的溶液;

[0125] iii) 任选地,纯化中和的溶液(例如通过蒸馏)并随后任选地浓缩,以产生游离配体4的水性溶液或水性混合物,其适合原样用于下一个络合反应,无需配体的任何分离。

[0126] 在一个实施方案中,通过添加酸,优选无机酸,更优选包含具有单个负电荷的抗衡离子的无机酸,诸如34% HCl水溶液,酸化式3的受保护的化合物的溶液。包含具有单个负电荷的抗衡离子的无机酸是特别优选的,因为这些酸倾向于不与游离钆金属离子相互作用,并且因为它们可以在下游任选的纯化过程(例如纳米过滤)期间更容易地除去。

[0127] 该脱保护步骤4)是非常有利的,特别是当在上述温度范围内进行时,因为它允许获得非常短的脱保护时间,特别是低于24小时的反应时间,例如在8至20小时的范围内,优选12至18小时,更优选16小时。

[0128] 此外,该脱保护步骤4),特别是当在上述温度范围内进行时,提供通过使用少量酸来脱保护受保护的二聚体配体。事实上,相对于1摩尔的受保护的化合物3,使用例如10至45摩尔、优选10至35摩尔、更优选15至25摩尔的酸(例如上述的酸)和优选的HCl来进行酸化。这提供了节省试剂以及减少脱保护步骤期间盐的产生的优点。例如,当使用HCl来酸化溶液时,使用少量的HCl将减少随后使用NaOH中和脱保护的二聚体配体时所形成的NaCl盐的量;当在其各自的步骤中使用其它酸和碱时,也可以提出类似的例子。

[0129] 如上所述,在添加酸期间和/或优选在添加酸之后,优选将溶液的温度加热和/或维持在高于40°C,更优选高于40°C且至多60°C,且甚至更优选在45°C至55°C的范围内。然后将所得溶液在搅拌下在上述温度范围内维持低于24小时的时间,例如在8至20小时的范围内,优选12至18小时,更优选16小时,随后将配体脱保护,例如通过色谱法。

[0130] 然后将酸性溶液冷却,例如在25°C,并然后通过添加碱(优选NaOH)中和,以得到最终pH为4至7、优选5至6、更优选5.3至5.7、甚至更优选至5.5的粗溶液,然后可以将其纯化。

[0131] 通过进行本文公开的脱保护步骤4),获得包含相应的脱保护的二聚体配体4和醇叔丁醇的溶液。因此,根据进一步优选的实施方案,优选在络合步骤5)之前,从包含脱保护的二聚体配体4的溶液中除去tBuOH,优选通过蒸馏这样的溶液。根据一个优选的实施方案,蒸馏包含二聚体配体4的溶液直至二聚体配体4的最终浓度被包含在8%至12% (w/w)、更优选9%至11% (w/w)的范围内,且甚至更优选地是10% (w/w)。

[0132] 有利地,上述程序包含使用水作为唯一主要反应溶剂或主要反应溶剂之一,从而避免或减少有机溶剂的使用,并且特别是苛性溶剂(诸如DCM)和苛性反应物(诸如TFA和TIPS)的使用,它们是在上述现有技术的方法中所需要的。这些苛性材料难以处理,并因此不适合用于大规模生产。此外,该步骤导致在水性溶液或水性混合物中获得期望的配体,其准备用于络合反应,而不需要将其分离。

[0133] 步骤5

[0134] 该步骤包含使式4的二聚体配体与钆离子络合以得到期望的螯合络合物5的水性溶液或水性混合物。

[0135] 更具体地,该步骤优选包含向从步骤4)收集的配体的溶液中添加摩尔过量的可溶性钆盐,诸如 $GdCl_3$ ,以得到包含二聚体螯合络合物5的混合物。

[0136] 由于式4的脱保护二聚体配体具有两个螯合部分,并且一个二聚体配体因此可以螯合两个钆金属离子,因此当涉及本发明方法的步骤5)时,术语“摩尔过量”表示钆金属离子的摩尔量是式4的二聚体配体的摩尔量的两倍以上。因此,当涉及本发明方法的步骤5)时,术语“摩尔过量”表示相对于1摩尔的二聚体配体多于2摩尔的钆金属离子。例如,相对于1摩尔的式4的脱保护二聚体配体,将2.05摩尔或更多、优选2.05至2.50摩尔、更优选至多2.20摩尔、且甚至更优选至多2.12摩尔的钆金属离子添加至步骤4)的溶液中。

[0137] 优选通过将 $GdCl_3$ 直接加入从该方法的先前步骤收集的配体溶液中进行该反应。优选在20°C至50°C、更优选30°C至45°C、且甚至更优选37°C至43°C范围内的温度进行添加。在根据步骤5)添加钆离子之后,在进行后续步骤之前,优选将反应混合物维持在例如上面提供的温度范围1至5小时、更优选2至4小时的时间。

[0138] 加入以后,将所得混合物的pH调节至在5.0至7.0、更优选5.0至6.0范围内的值,例如在上文提供的时间和/或温度,例如通过加入碱,优选NaOH。

[0139] 如上所述,步骤5)是特别有利的,因为由于摩尔过量的钆金属离子的添加,络合步骤的反应物的精确称量和名称确定的负担大大减少,从而提高了整个方法的稳健性。由于该方法是特别稳健的、可再现的且高效的,因此可以甚至更轻松地实现大规模生产。

[0140] 根据一个优选的实施方案,在步骤5)之后,并且任选地在步骤6)之前,本发明的方法包含将式5的二聚体络合物的溶液脱盐的另外步骤,优选地通过纳米过滤。该脱盐(例如纳米过滤)步骤可以除去在络合步骤中产生的盐,例如在添加可溶性钆盐后生成的盐,以及在脱保护步骤4)中生成的盐。脱盐步骤既不除去游离钆金属离子,也不除去单钆化络合物,并且可用于除去盐以改进随后用于除去沉淀剂的任选步骤。

[0141] 可以进行脱盐步骤直到溶液的电导率值为5.0mS/cm或更低,优选1mS/cm或更低,且甚至更优选0.8mS/cm或更低。

[0142] 步骤6

[0143] 本发明方法的步骤6)提供了向先前步骤的溶液中添加沉淀剂以沉淀在这样的溶液中存在的游离钆金属离子的一部分。事实上,该步骤允许沉淀游离钆金属离子的一部分,特别是其大部分:如下面的实验部分所示,沉淀步骤6)允许沉淀在络合步骤5)之后存在的大部分游离钆金属离子,由此游离钆金属离子的含量从几乎数万ppm降低至略高于一百ppm或甚至数十ppm(相对于二聚体络合物5的量)。具体地,该步骤提供了制备包含二聚体络合物5的溶液,其含有小于350ppm、优选地小于150ppm、更优选地小于100ppm、且甚至更优选地小于80ppm的量的游离钆金属离子,与钆络合物5的量相比。根据本发明,游离钆金属离子的高ppm值,例如在沉淀步骤之前或在添加酒石酸氢钾(对于实施例8)之后的ppm值,或通常4000ppm或更高的ppm值,通过在二甲酚橙存在下用EDTA的常规络合滴定来测定,而游离钆金属离子的低ppm值,例如在沉淀步骤之后的ppm值,或通常低于4000ppm的ppm值,通过执行在下面实验部分中列出的程序5来确定。

[0144] 为了获得游离钆金属离子的沉淀并避免生成单钆化络合物,所述沉淀剂优选为选

自磷酸盐( $\text{PO}_4^{3-}$ )、磷酸一氢盐( $\text{HPO}_4^{2-}$ )、磷酸二氢盐( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ )、正磷酸( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )、草酸盐( $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ )、草酸氢盐( $\text{HC}_2\text{O}_4^-$ )和草酸( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )的至少一种。优选地,所述沉淀剂为选自磷酸盐( $\text{PO}_4^{3-}$ )、草酸盐( $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ )和磷酸一氢盐( $\text{HPO}_4^{2-}$ )的至少一种阴离子,并且更优选为磷酸一氢盐( $\text{HPO}_4^{2-}$ )。

[0145] 单钆化络合物是Gd(III)络合物,其中二聚体配体5仅螯合一个钆离子而不是两个。这些单钆化络合物没有表现出双钆化Gd(III)络合物5的有利弛豫性能。从络合步骤获得的溶液中有效地除去这些单钆化络合物是麻烦且困难的,因为单钆化络合物具有与二钆化络合物非常相似的物理性能。因此,步骤6)的优选实施方案提供了尽可能避免在络合步骤期间或之后生成单钆化络合物;与上述现有技术中公开的方法相比尤其如此,所述现有技术提供包含较高量的单钆化络合物的二聚体钆络合物的溶液。

[0146] 根据步骤6)的一个优选实施方案,优选相对于从步骤5)获得的式5的二聚体络合物的溶液内的游离钆金属离子以至少化学计量的量添加沉淀剂。有利地,相对于从步骤5)获得的式5的二聚体络合物的溶液中的1摩尔钆金属离子,所述沉淀剂的加入量为至少1.1摩尔,优选1.1-5摩尔,更优选1.2-3摩尔,甚至更优选1.4-2.5摩尔,且最优选1.4-1.6摩尔。如在实验部分中还借助于对比实施例所证明的,在任选的过滤步骤之后和任选的进一步纯化步骤之前添加这些优选量的沉淀剂提供了含有少量游离钆金属离子(即低于上述指定量的量)和少量单钆化络合物(即低于550ppm的量,优选低于用于测定单钆化络合物的量的方法的LoQ( $<400\text{ppm}$ ,相对于钆络合物的量))的溶液。相反,当在步骤6)中添加相对于上述优选量更大的量的沉淀剂时,所得溶液可能含有大量的单钆化络合物,即高于600ppm的量。单钆化络合物的这些ppm值以及本发明中的单钆化络合物的所有ppm值通过执行如下面实验部分中所述的程序6来测定。

[0147] 当通过添加如上所述的优选量的沉淀剂来进行本发明方法的步骤6)时,本发明的方法可以优选包含测定在添加沉淀剂之前从步骤5)获得的式5的二聚体络合物溶液中游离钆金属离子的量的另外步骤,由此可以以如上指定的优选量添加沉淀剂。根据已知的用于测定游离钆金属离子的量的方法,例如根据本文公开的方法,可以进行该测定步骤。

[0148] 优选通过将溶液的温度维持在15至40°C、更优选20至30°C的范围内来进行步骤6)。添加沉淀剂之后,优选将反应混合物在例如上面提供的温度范围维持1至4小时、优选1.5至3小时、更优选2小时的时间,然后进行任选的后续步骤。

[0149] 在一个优选的实施方案中,在根据步骤6)添加沉淀剂期间和/或之后,将pH调节至和/或维持在4.5或更高、优选4.7或更高、更优选4.9或更高、甚至更优选5.5或更高的值,例如在以上段落中提供的时间和/或温度。优选地,维持该pH至少直至从钆络合物的溶液中滤出沉淀的不溶性钆盐。如在下面的实验部分中还借助于对比实施例所证明的,申请人惊奇地发现,在将pH调节和/或维持在这些值的同时沉淀游离钆金属离子,在任选的过滤步骤之后和任选的进一步纯化步骤之前获得含有特别小量单钆化络合物的溶液,例如相对于钆络合物,含有低于550ppm、优选且低于400ppm的量的单钆化络合物的溶液。

[0150] 根据进一步优选的实施方案,在根据步骤6)添加沉淀剂期间和/或之后,可以将pH调节至和/或维持使得其高于上述值,即其为10.0或更低,优选9.0或更低,更优选8.5或更低,甚至更优选7.5或更低,和最优选6.5或更低,例如在如上所提供的的时间和/或温度。优选地,维持该pH至少直至从钆络合物的溶液中滤出沉淀的不溶性钆盐。申请人惊奇地发现,通

过在这些pH值以下操作,在沉淀步骤之后和在任选的进一步纯化步骤之前在溶液内的游离钆金属离子的量被特别降低。

[0151] 根据一个更优选的实施方案,在根据步骤6)添加沉淀剂期间和/或之后,可以将pH调节至和/或维持在4.5至9.0、更优选4.7至8.5、甚至更优选4.9至7.3且最优选6至6.5或5.5至6.5的范围内,例如在如上提供的时间和/或温度。优选地,维持该pH至少直至从钆络合物的溶液中滤出沉淀的不溶性钆盐。申请人惊奇地发现,调节和/或维持pH在上述范围内允许在任选的过滤步骤之后和在任选的进一步纯化步骤之前获得具有特别低含量的游离钆金属离子和单钆化络合物的溶液,例如与其中pH未调节和/或维持在这样的pH的相同方法相比更低的含量。

[0152] 例如通过向溶液中添加合适的酸(例如HCl)或合适的碱(例如NaOH),可以完成pH调节。这种调节对于抵消由于沉淀剂的添加而可能引起的pH变化特别有用。显而易见,如果沉淀剂的添加不引起pH变化使得所得溶液的pH落在上面公开的优选范围之外(例如因为沉淀剂的pKa是在上面的优选值之内和/或因为以少量添加沉淀剂从而所得溶液的pH不落入上文公开的优选范围之外),则可能不需要pH调节。

[0153] 优选地,维持根据上文公开的优选值的pH至少直到从钆络合物的溶液中滤出沉淀的不溶性钆盐。

[0154] 在一个进一步优选的实施方案中,在步骤6)之后,优选在步骤7)之前,本发明的方法进一步包含在添加沉淀剂后过滤所获得的钆络合物5的溶液以从溶液中除去沉淀的不溶性钆盐的步骤,由此将沉淀的不溶性钆盐从这样的溶液中分离。该过滤步骤可以根据本领域已知的任何过滤方法进行,例如通过使用药物膜过滤器。

[0155] 在一个进一步优选的实施方案中,本发明的方法包含处理在步骤6)后获得的钆络合物溶液的另外步骤,以除去(如果存在的话)未与游离钆金属离子反应以形成不溶性钆盐的沉淀剂。该处理步骤不会除去游离的钆金属离子,也不会除去单钆化络合物。

[0156] 该处理步骤可以例如通过将钆络合物溶液加载到至少一种离子交换树脂上来进行,优选以1至3BV/h的流速。可替换地,或与将络合物加载到至少一种离子交换树脂上一起,处理步骤可以如下进行:(A)向二聚体络合化合物5的溶液中添加能够沉淀阴离子的阳离子,所述阴离子是沉淀剂或由沉淀剂产生,由此至少部分这样的阴离子与这样的阳离子一起作为盐沉淀,和(B)借助于过滤步骤(诸如上面公开的过滤步骤)除去由此形成的盐。有利地,可以进行仅一个过滤步骤以除去沉淀的不溶性钆盐以及由沉淀剂和沉淀阳离子形成的盐。

[0157] 在一个实施方案中,本发明包含在步骤6)之后,并且优选地在用于除去沉淀剂的处理步骤(如果进行的话)之后的至少一个进一步纯化步骤。该进一步纯化步骤可用于进一步减少在步骤6)的沉淀后存在的游离钆金属离子的残留量,以提供具有尽可能低的游离钆金属离子含量的钆络合物溶液。具体地,根据本发明方法的该实施方案,通过沉淀步骤6)除去较大部分的游离钆金属离子(其中与钆络合物5相比,游离钆金属离子的量从数千ppm降低至数百ppm或甚至几十ppm),并且其一小部分通过至少一个进一步纯化步骤被除去。

[0158] 进一步纯化步骤优选通过色谱法进行,优选在树脂诸如吸附树脂上。

[0159] 在一个实施方案中,所述进一步纯化步骤包含在聚合物树脂、优选Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂上洗脱由络合反应产生的混合物。

[0160] 在另一个实施方案中,所述纯化包含首先在螯合树脂(例如选自Hi Trap IMAC FF、Lewatit MonoPlus TP 260、Lewatit TP 208、IRC748I、DIAION CR11、SiliaMets AMPA和SiliaMets DOTA,且优选地选自Diaion CR11和Amberlite IRC748)上洗脱由络合反应产生的混合物,从而允许最大限度地减少任何任选的游离钆含量,并在聚合物树脂(诸如Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂)上对收集的洗脱液进行另外纯化。

[0161] 根据实际实施,将调节至大约中性pH值的混合物通过在Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂上洗脱来适当纯化。

[0162] 另外,优选首先在螯合树脂(诸如Amberlite IRC748或Diaion CR11树脂)上洗脱通过将溶液pH调节至较低值(诸如5-5.6)而产生的混合物。然后优选将收集的洗脱液重新调节至约5.5-6的pH值,并优选在50°C在真空下浓缩以得到浓度优选为约25% (w/w)的二聚体络合物的水性溶液或水性混合物,然后将其在Amberlite **XAD**<sup>®</sup> 1600树脂上纯化。

[0163] 然后任选地用木炭处理收集的级分并过滤。然后优选将所得过滤溶液浓缩,例如通过在45-55°C在真空下蒸馏,以产生最终浓度是约25% (w/w)的二聚体络合物5的溶液。

[0164] 步骤7

[0165] 然后分离式5的二聚体络合物。所述络合物可以从来自步骤6)的水性溶液或水性混合物中分离,例如通过低压冻干法或通过喷雾干燥。在一个优选的实施方案中,期望的二聚体络合物通过喷雾干燥从该方法的步骤6直接收集的溶液作为白色固体得到。

[0166] 从作为游离碱D03A三叔丁酯1A的限制性反应物确定的该方法的总收率高于30%,诸如33%。

[0167] 有趣的是,上述方法包含一锅法进行的步骤,其适合于大规模实施,并且其不需要分离任何所制备的前体(诸如式1A的化合物)或反应中间体。结果,与在W02017098044中公开的方法相比,本发明的合成方案目标允许获得总收率增加>3倍的最终产物。

[0168] 此外,由于无需中间体分离,因此可以减少整个工艺的时间。

[0169] 此外,所提出的方法包含使用水,或者更一般地使用水性溶剂或水性溶剂混合物,作为在制备偶联产物3之后所有步骤中的反应溶剂。具体地,当在步骤3)中在有机溶剂中制备式3的化合物时,例如当通过使来自步骤2)的式2的化合物与来自步骤1)的D03A三叔丁酯1A反应制备它时,可以通过技术人员已知的方法用水性溶剂或水性混合物替代有机溶剂,例如通过首先用水、水/有机溶剂混合物或水性溶液稀释式3的化合物的有机溶液,并然后任选地通过除去有机溶剂以得到式3的化合物的水性溶液。在偶联制备之后的所有步骤中使用水性溶剂或水性溶剂混合物作为反应溶剂是非常有利的,特别是从成本、环境影响和工业规模实施的容易性的角度来看。事实上,在W02017098044中公开的方法使用溶剂诸如DCM和材料诸如TFA和TIPS,它们除了昂贵之外还难以处理,特别是在工业规模上扩展该工艺时,并且可能也不安全。由于本发明的方法通过在式3的化合物的制备之后的所有步骤中使用水性溶剂或水性溶剂混合物,避免或大大减少了有机溶剂的使用,因此本发明解决了现有技术方法的问题,因为本发明是合适的并且可以轻松实施,适用于更大规模的工作,例如在工业过程中的工作。此外,本发明的方法令人惊讶地提供了非常高收率的分离的二聚体络合物,特别是高于现有技术方法的收率,即使其包含在制备式3的化合物之后仅使用水性溶剂或水性溶剂混合物。

[0170] 此外,本发明的方法总体上更稳健、更快、更安全,具有更高的收率,并且与现有技术WO 2017/098044的方法相比提供了更纯的产物。

[0171] 考虑到上述所有优点,可以理解,本发明的方法可以容易地实施二聚体络合物5的大规模合成。

[0172] 所有溶剂和起始材料(包括反应物诸如环氧氯丙烷、D-还原葡萄糖胺和D03A三叔丁酯的氢溴酸盐)是商购可得的,或者可以根据已知的程序获得。

[0173] 在一个优选的实施方案中,通过使用在共同未决的EP19215900.2专利申请(与本申请相同的申请人)中描述并在下面在说明书的实验部分中举例说明的制备方法来制备用于制备相应酯1A的溶液的起始材料的D03A三叔丁酯的氢溴酸盐,并保存直至使用。

[0174] 在以下部分中报告了本发明的方法的优选实施方案的非限制性例子,旨在更详细地说明本发明而不限制其范围。

[0175] 实验部分

[0176] 缩写和术语定义

[0177] D03A三叔丁酯:1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸三叔丁酯

D03A三叔丁酯-HBr:1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸三叔丁酯氢溴酸盐

[0178] TAZA:1,4,7,10-四氮杂环十二烷

[0179] tBuOK 叔丁醇钾

[0180] DMAC N,N-二甲基乙酰胺

[0181] DMC 二氯甲烷

[0182] DIPEA N,N-二异丙基乙胺

[0183] HCl 盐酸

[0184] MeCN 乙腈

[0185] NaOH 氢氧化钠

[0186] NH<sub>3</sub> 氨

[0187] MRI 磁共振成像

[0188] MeCN 乙腈

[0189] NMM N-甲基吗啉

[0190] K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 碳酸钾

[0191] TFA 三氟乙酸

[0192] TIPS 三异丙基硅烷

[0193] FLD 荧光检测器

[0194] UV/Vis 紫外/可见光

[0195] 得到的化合物的HPLC表征以及游离钆金属离子(游离Gd)或单钆化络合物(单Gd)的确定。

[0196] 程序1:HPLC表征和确定D03A-三叔丁酯的含量

[0197] 色谱条件

[0198] HPLC系统:液相色谱仪(例如Agilent 1100),配备溶剂递送系统、自动采样器、柱恒温器、脱气器和二极管阵列检测器或可变波长检测器(或等同设备)。

[0199] 固定相:Zorbax Eclipse XDB-C8,5μm,150x4.6mm

[0200] 柱温度:45℃

[0201] 流动相:A:0.01M  $K_2HPO_4$ ,0.017M  $H_3PO_4$

[0202] B:乙腈

	洗脱: 梯度	时间(min)	%B
		0	5
		30	80
[0203]		35	80
		38	5
		45	5
	流速	1 mL/min	
	温度	45℃	
	检测	UV, 210 nm, Bw=8 nm; 参考 360 nm, Bw=100 nm	
	进样体积	10 $\mu$ L	
[0204]	停止时间	35 min	
	参考峰	DO3A 3tBu	
	保留时间	DO3A 3tBu $\leq$ 14-15 min.	

[0205] 程序2:用于监测中间体2的形成的HPLC方法

[0206] 该方法用于监测在D-还原葡萄糖胺的烷基化结束时和水的蒸馏之后的混合物。

[0207] 色谱条件

[0208] HPLC系统:液相色谱仪(例如Agilent 1100),配备溶剂递送系统、自动采样器、柱恒温器、脱气器和二极管阵列检测器或可变波长检测器(或等同设备)

[0209] 固定相:SeQuant ZIC-cHilic 3 $\mu$ m,150x2.1mm(Merck P.N.1.50658.0001)

[0210] 柱温度:40℃

[0211] 流动相:梯度洗脱

[0212] 洗脱液A=5mM乙酸铵

[0213] 洗脱液B=ACN/MeOH,75/25

	洗脱: 梯度	时间(min)	%B
		0	97
		5	97
[0214]		30	20
		40	20
		45	97
		60	97

- [0215] 流速:0.25mL/min  
 [0216] 检测:UV,210-240nm  
 [0217] 进样体积:10 $\mu$ L  
 [0218] 运行时间:60min  
 [0219] 稀释溶液:ACN/MeOH,75/25  
 [0220] 样品制备:将200 $\mu$ L的5mM乙酸铵溶液加入75 $\mu$ L的混合物中并用稀释溶液稀释至5mL。  
 [0221] 程序3:用于监测中间体3的形成和纯化的HPLC方法  
 [0222] 一般程序  
 [0223] 使用该方法监测中间体3的形成和纯化步骤。  
 [0224] 分析条件  
 [0225] HPLC系统:液相色谱仪Agilent 1100  
 [0226] 固定相:Gemini,5 $\mu$ m,250x4.6mm(Phenomenex,项目00G-4435-E0)  
 [0227] 柱温度:40 $^{\circ}$ C  
 [0228] 流动相:A:流动相A  
 [0229] B:MeCN

	<b>洗脱: 梯度</b>	<b>时间(min)</b>	<b>%B</b>
		<b>0</b>	<b>40</b>
		<b>5</b>	<b>40</b>
[0230]		<b>30</b>	<b>90</b>
		<b>35</b>	<b>90</b>
		<b>36</b>	<b>40</b>
		<b>45</b>	<b>40</b>
	<b>流速</b>	<b>0.7 mL/min</b>	
	<b>检测</b>	<b>UV/210 nm</b>	
[0231]	<b>进样体积</b>	<b>10 <math>\mu</math>L</b>	
	<b>停止时间</b>	<b>45 min</b>	
	<b>INT 2 R<sub>t</sub></b>	<b>21 min</b>	

- [0232] 流动相A  
 [0233] 溶液的制备  
 [0234] 在1000mL容量瓶中,准确地称量2.0g乙酸铵,并然后用水稀释至体积。在1000mL容量瓶中,转移600mL乙酸铵溶液和300mL甲醇。声处理半小时。  
 [0235] 程序4:用于监测螯合配体4的形成和纯化的HPLC方法。  
 [0236] 一般程序  
 [0237] 通过反相HPLC和在210nm的紫外检测来监测二聚体配体4的形成和纯化。

[0238] 分析条件

[0239] HPLC系统:液相色谱仪Agilent 1260 Infinity

[0240] 固定相:Synergi Polar-RP, 4 $\mu$ m, 150x4.6mm (Phenomenex, 项目00F-4336-E0)

[0241] 柱温度:40 $^{\circ}$ C

[0242] 流动相:A:10mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

[0243] B:甲醇

	洗脱: 梯度	时间(min)	%B
		0	0
		5	0
		35	60
[0244]		40	60
		41	80
		46	80
		47	0
		60	0
	流速	0.8 mL/min	
[0245]	检测	UV/210 nm	
	进样体积	10 $\mu$ L	
[0246]	停止时间	60 min	
	化合物 4 R <sub>t</sub>	2.4 min	

[0247] 程序5:游离钆金属离子(游离Gd)的量的确定

[0248] 通过反相HPLC(高效液相色谱法)和FLD(荧光检测器)检测进行游离钆金属离子的量相对于化合物5的量的确定。如果在样品中存在游离Gd(III),则EDTA(乙二胺四乙酸)在流动相中的使用会确保Gd(EDTA)络合物的形成。

[0249] 色谱条件

[0250] 仪器:Agilent 1100液相色谱仪,配备溶剂递送系统、在5 $^{\circ}$ C的冷藏自动采样器、柱恒温器、脱气器和荧光检测器或等同设备

[0251] 柱:YMC-PACK ODS-AQ, 250x 4.6mm, 5 $\mu$ m颗粒尺寸(YMC, 代码AQ12S05-2546WT)

[0252] 温度:40 $^{\circ}$ C

[0253] 流动相:A:CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>(1.5g/L), EDTA(0.55g/L)

[0254] B:甲醇

[0255] 流速:1mL/min

[0256] 检测(FLD):激发波长=275nm

[0257] 发射波长=314nm

[0258] 运行时间:25min

- [0259] 采集时间:6min  
 [0260] 进样体积:20 $\mu$ L  
 [0261] 参考峰:Gd (EDTA)

	洗脱: 梯度	时间(min)	%B
		0	0
[0262]		5	0
		10	50
		15	50
		16	0
[0263]		25	0

[0264] 溶液制备

[0265] 流动相

[0266] 在1000-mL容量瓶中,准确地称量1.5g乙酸铵并用净化水溶解,加入0.70g脱水乙二胺四乙酸二钠盐,并然后用净化水稀释至一定体积。

[0267] 稀释溶液

[0268] 在1000-mL容量瓶中,准确地称量3g乙酸铵并用净化水溶解,加入1.4g脱水乙二胺四乙酸二钠盐,并然后用净化水稀释至一定体积。

[0269] 空白溶液

[0270] 将0.5mL净化水转移到管形瓶中,加入0.5mL稀释溶液,混合均匀,并直接注射进色谱系统中。

[0271] 参考溶液

[0272] 在50mL容量瓶中称量0.32g乙酸钆水合物(以无水计,在使用前测定含水量),并用流动相稀释至一定体积。钆的浓度是3mg/mL。

[0273] 将0.1mL的该溶液转移到100mL容量瓶中,并用流动相稀释至一定体积。钆的浓度是0.003mg/mL。

[0274] LOQ溶液

[0275] 将1mL的参考溶液转移到5mL容量瓶中,并用流动相稀释至一定体积。钆的浓度是0.0006mg/mL。

[0276] 试验溶液

[0277] 在10-mL容量瓶中,准确地称量600mg待试样品(以无水计)并用净化水稀释至一定体积。二聚体钆络合物5的浓度是约60mg/mL。

[0278] 将0.5mL的该溶液转移到管形瓶中并加入0.5mL的稀释溶液。充分混合样品。稀释后,立即将样品放入冷藏自动采样器(5-8 $^{\circ}$ C)中,并在稀释后5分钟内注射样品。化合物5的终浓度是约30mg/mL。

[0279] 分析序列

[0280] 空白 n=1

[0281] LOQ溶液 n=1

- [0282] 参考溶液 n=6
- [0283] 试验溶液 n=6
- [0284] 参考溶液 n=1
- [0285] 系统适合性试验
- [0286] 每次应用该方法时都要进行系统适合性试验 (SST)。
- [0287] -平衡色谱系统之后,注射一次空白溶液并验证干扰峰的不存在。
- [0288] -注射一次LOQ溶液
- [0289] 如果Gd (EDTA) 峰具有 $S/N \geq 10$ ,则分析序列的结果是有价值的。
- [0290] -注射六次第一参考溶液,并验证Gd (EDTA) 峰是否满足以下要求:
- [0291] -Gd (EDTA) 的面积可重复性,表示为百分比相对标准差 (RSD%, n=6)  $\leq 10\%$
- [0292] -Gd (EDTA) 峰的保留时间可重复性,表示为百分比相对标准差 (RSD%, n=6)  $\leq 2\%$
- [0293] -根据方程式1计算的Gd (EDTA) 峰的对称因子, T 0.7-2.0
- [0294]  $T = w_{0.05} / 2f$  方程式1
- [0295] 其中:
- [0296]  $w_{0.05}$  = 在峰高二十分之一处的宽度(分钟)
- [0297]  $f$  = 从峰最大值垂下的垂线与峰高的二十分之一处峰前缘之间的距离(分钟)。
- [0298] 计算
- [0299] 根据方程式2计算含量百分比,游离Gd%:
- [0300] 游离Gd% =  $((A_t \times W_{RS} \times (100-K) \times 20) / (A_{std} \times w \times (100-K_1) \times 50 \times 1000 \times 2.126)) \times 100$   
方程式2
- [0301]  $A_t$  = 在试验溶液中的游离Gd的峰面积
- [0302]  $A_{std}$  = 在SST参考溶液进样中的Gd (EDTA) 平均面积 (n=6)
- [0303]  $W_{RS}$  = 在参考溶液中的Gd的毫克数
- [0304]  $w$  = 用于制备试验溶液的化合物5样品的重量 (mg)
- [0305]  $K$  = 在乙酸钆水合物中的 $H_2O$ 含量的%
- [0306]  $K_1$  = 在样品中的 $H_2O$ 含量的%
- [0307] 2.126 = 乙酸钆和钆之间的校正因子
- [0308] 游离Gd的定量限是0.002% (w/w)。
- [0309] 低于LOQ限的值应表示为<LOQ或n.q. (不可计量)。
- [0310] 如上计算的百分比可以通过将该百分比乘以10,000来转换为游离钆相对于化合物5的ppm。
- [0311] 程序6: 单钆化络合物(单Gd)的量的确定
- [0312] 通过反相HPLC方法在相同的色谱运行中使用任一种FLD检测器来定量在化合物5的二聚体络合物中的单Gd杂质的含量。
- [0313] 使用参考样品单Gd作为钠盐,通过FLD检测进行指定杂质单Gd(具体地,配体4与仅一个钆金属离子形成的单Gd络合物)的定量。通过将二聚体配体4与低于化学计量的量的钆离子络合以得到单Gd,用NaOH调节至中性pH,并然后通过浓缩至残留物进行分离,可以获得单Gd钠盐(参考样品)。

- [0314] 色谱条件
- [0315] 仪器:HPLC Agilent 1100,配备溶剂递送系统、自动采样器、柱恒温器、脱气器、UV 二极管阵列检测器和荧光检测器2475 Waters或等同设备
- [0316] 柱: **Xselect®** HSS T3, 3.5 $\mu$ m, 150x3.0mm (Waters, 部件编号186004781)
- [0317] 温度:40°C
- [0318] 流动相:溶剂A:流动相A (40mM磷酸钾-0.02mM EDTA在水中的溶液, pH 6.2)
- [0319] 溶剂B:流动相B (溶剂A/乙腈, 60/40v/v)
- [0320] 流速:0.35mL/min
- [0321] 检测 (FLD):激发波长 ( $\lambda_{ex}$ ) = 275nm
- [0322] 发射波长 ( $\lambda_{em}$ ) = 314nm
- [0323] 检测 (UV):波长 = 210nm/Bw: 8nm; 参考波长 = 480nm/Bw: 80nm
- [0324] 运行时间分析:50min
- [0325] 采集时间:32min
- [0326] 进样体积:10 $\mu$ L

	洗脱: 梯度	时间(min)	%B
		<b>0</b>	<b>0</b>
		<b>4</b>	<b>0</b>
		<b>20</b>	<b>15</b>
[0327]		<b>25</b>	<b>15</b>
		<b>30</b>	<b>100</b>
		<b>40</b>	<b>100</b>
		<b>43</b>	<b>0</b>
		<b>50</b>	<b>0</b>

- [0328] 溶液制备
- [0329] 流动相A
- [0330] 在2000-mL容量瓶中,准确地称量:
- [0331] -8.56g的磷酸二氢钾
- [0332] -3.97g的磷酸氢二钾三水合物
- [0333] -0.015g的 **Titriplex®** III (EDTA二钠盐)
- [0334] 并然后用净化水稀释至一定体积。穿过0.22 $\mu$ m膜过滤器过滤。
- [0335] 流动相B
- [0336] 在1000-mL容量瓶中,转移600mL的流动相A,并用乙腈稀释至一定体积,混合均匀。
- [0337] CaCl<sub>2</sub>溶液
- [0338] 在50-mL容量瓶中,准确地称量165mg的CaCl<sub>2</sub> (以无水计)并用净化水稀释至一定体积。

[0339] 浓度是约3.3mg/mL。

[0340] 单Gd的储备溶液

[0341] 在50-mL容量瓶中,准确地称量25mg的单Gd钠盐(以基于无水和纯度表示)并用净化水稀释至一定体积。

[0342] 单Gd的浓度是约0.5mg/mL

[0343] 单Gd的重量 = 单Gd钠盐的重量 \* 1140.31 / 1162.29

[0344] 单Gd的参考溶液

[0345] 在5-mL容量瓶中,准确地转移0.45mL的单Gd的储备溶液。加入1mL的CaCl<sub>2</sub>溶液并用净化水稀释至一定体积。标准品的浓度是0.045mg/mL。

[0346] 单Gd的LoQ溶液

[0347] 在5-mL容量瓶中,准确地转移0.1mL的单Gd的储备溶液。加入1mL的CaCl<sub>2</sub>溶液并用净化水稀释至一定体积。单Gd的浓度是0.01mg/mL。

[0348] 空白溶液

[0349] 将0.8mL的水溶液转移到管形瓶中,加入0.2mL的CaCl<sub>2</sub>溶液,混合均匀。

[0350] 试验溶液

[0351] 在5-mL容量瓶中,准确地称量125mg的待试样品(以无水计)。加入1mL的CaCl<sub>2</sub>溶液并用净化水稀释至一定体积。化合物5的浓度是约25mg/mL。

[0352] 分析序列

[0353] 空白 n=1

[0354] LoQ溶液 n=1

[0355] 参考溶液 n=6

[0356] 试验溶液 n=6

[0357] 参考溶液 n=1

[0358] 计算

[0359] 根据方程式3,通过FLD采集计算单Gd的百分比含量(w/w)

[0360] 
$$C_{\text{单Gd}} \% = ((A_T \times V_S \times W_S \times (100 - KF) \times a \times f) / (A_R \times w_T \times 50 \times 100 \times (100 - KF_{\text{化合物5}}))) \times 100$$

方程式3

[0361] 其中:

[0362] A<sub>T</sub>: 在试验溶液中的峰面积(单Gd-1/2/3/4峰的面积总和,如果存在的话)

[0363] A<sub>R</sub>: 在参考溶液进样中的峰面积(单Gd-1/2/3/4峰的面积总和)(平均值n=6)

[0364] w<sub>T</sub>: 在试验溶液中的样品重量(mg)

[0365] V<sub>S</sub>: 取出用于制备参考溶液的单Gd储备溶液的体积(mL)

[0366] W<sub>S</sub>: 用于制备储备溶液的单Gd钠盐的重量(mg)

[0367] KF: 在单Gd钠盐中的H<sub>2</sub>O含量的%

[0368] KF<sub>化合物5</sub>: 在化合物5中的H<sub>2</sub>O含量的%

[0369] a: 单Gd钠盐的%测定

[0370] f: 分子量的校正因子: 0.98

[0371] 单Gd的定量限(四个峰之和)是0.04%(w/w)。

[0372] 低于LOQ限值的值应表示为<LOQ或n.q.(不可计量的)。

[0373] 如上计算的百分比可以通过将该百分比乘以10,000来转换为单钆络合物相对于化合物5的络合物的ppm。

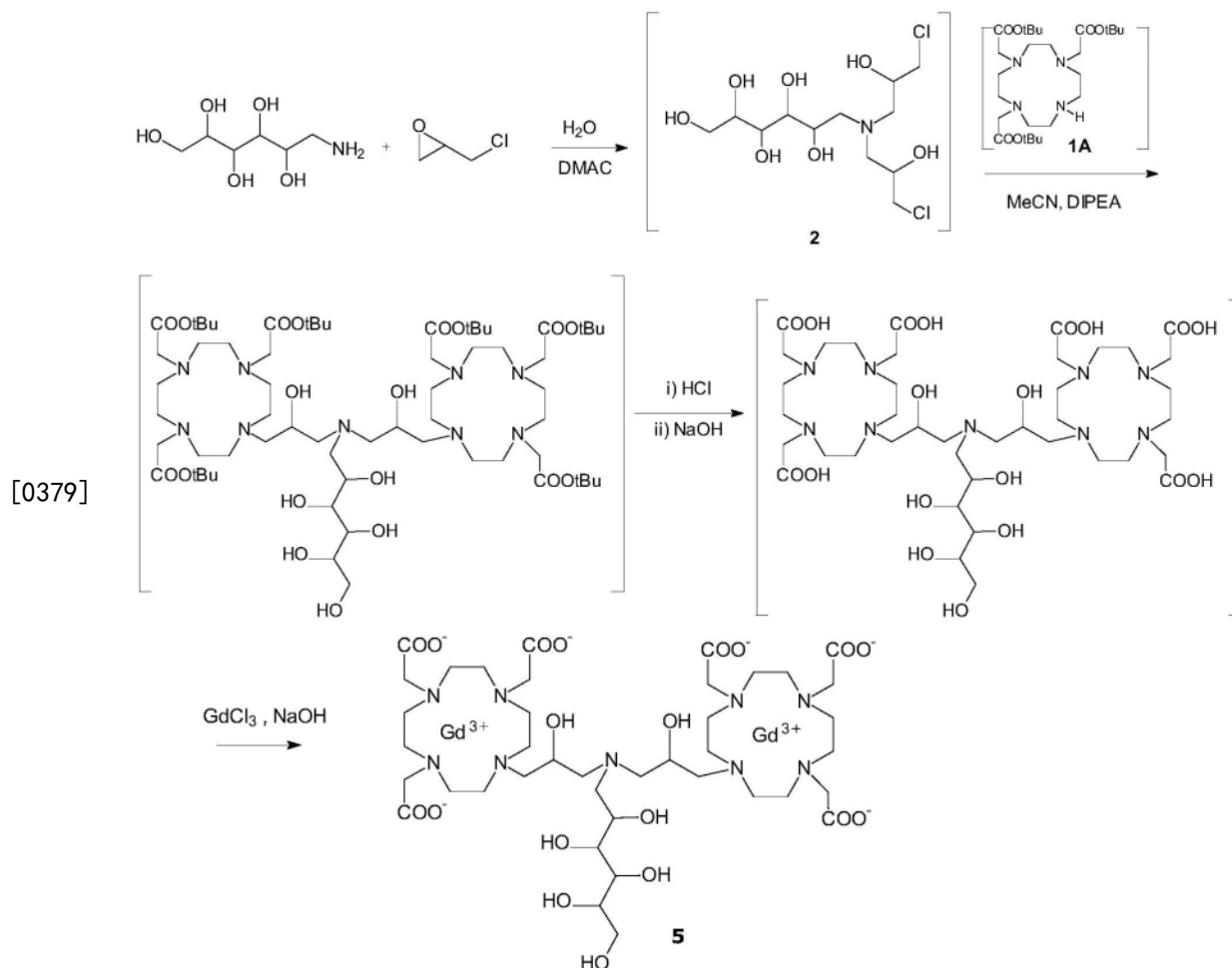
[0374] 实施例1:D03A-三叔丁酯氢溴酸盐的合成

[0375] 通过使用构成共同未决的专利申请EP19215900.2(与本申请相同的申请人)的目的的程序,进行起始D03A三叔丁酯氢溴酸盐的合成。具体地:

[0376] 向商购可得的TAZA(14.39kg;83.53mol)和醋酸钠(21.58kg;263.12mol)在DMAC(98.07kg;104.33L)中的悬浮液中,在2.5h中在10℃加入溴乙酸叔丁酯(51.32kg;263.12mol)在DMAC(50.72kg;53.96L)中的溶液。然后使温度升高至25℃并将混合物在该温度搅拌24h。然后在0.5h中加入水(57.56kg),并在2h之后将混合物离心,并用水(2x57kg)洗涤。将湿固体在真空下干燥,得到36,62kg;61.48mol的D03A三叔丁酯氢溴酸盐(73.6%收率)。通过HPLC(相对于标准品)测定产物的含量是100%w/w;通过NMR测定(相对于标准品)为99.86%w/w。

[0377] 实施例2:二聚体化合物5的制备

[0378] 通过使用如下所示的合成程序得到二聚体络合物5



[0380] 包含:

[0381] a) 中和氢溴酸盐以产生D03A三叔丁酯1A

[0382] 在室温(即25℃)将如在实施例1中所述得到的D03A三叔丁酯-HBr(36.60kg;61.4mol)和碳酸钾(16.99kg;122.9mol)悬浮于MeCN(72.50kg;91.77L)中,并将混合物在搅

拌下在24℃保持19h。然后将得到的盐滤出,并将滤液在50℃在真空下部分地蒸馏以产生D03A三叔丁酯1A(31.07kg;60.4mol)在MeCN中的溶液,终浓度为约56%w/w,将其不经进一步分离用在下一步中。通过HPLC-UV方法确定在溶液中的1A测定。

[0383] b) 中间体2的合成

[0384] 在室温在2h中将在水(15.1kg)中的D-还原葡萄糖胺(6kg;33.1mol)滴入环氧氯丙烷(6.75kg;73.0mol)在DMAC(6.2kg;6.60L)中的溶液中。将混合物在搅拌下保持16小时。然后将混合物用DMAC(12.2kg;12.98L)稀释,并在55-60℃在真空下蒸馏水以得到中间体2在DMAC中的溶液,残余含水量<2.0%,将其不经进一步纯化用于下一步。

[0385] c) 用D03A三叔丁酯1A烷基化中间体2以产生受保护的配体3

[0386] 将DIPEA(9.80kg;75.8mol)和从步骤a)收集的底物1A的溶液加入在50℃加热的中间体2的溶液中,然后将所得混合物在70℃搅拌80小时,通过HPLC-UV方法监测转化率。然后将混合物在60℃在真空下部分浓缩。将残余物冷却至25℃,用预先制备的水(12.2kg)和MeCN(19.0kg;24.05L)的混合物稀释,并然后用25%氨水溶液(21.7kg;24.03L)稀释,以产生混合物,将其在搅拌下保持15h,得到盐酸盐沉淀,将其过滤。然后收集滤液并通过在Amberlite **XAD**®1600上的色谱法(450L;洗脱液:水/MeCN的梯度)纯化。然后收集纯级分(HPLC面积%≥90),蒸馏有机溶剂,并将水性残余物在约50℃在真空下浓缩以产生受保护的配体3在水中的溶液(约10%w/w的浓度),其适合原样用于下一步骤而无需任何进一步的分离。

[0387] d) 将受保护的配体3脱保护以产生脱保护的配体4

[0388] 维持在30℃的温度,向受保护的二聚体配体3(浓度为20%(w/w),基于理论产物计算)在水中的混合物(219kg)中,加入34%w/w盐酸水溶液(53.3kg,50.0mol,15mol/mol,相对于受保护的配体3)。在加入结束时,将混合物加热至50℃并在搅拌下保持16小时。脱保护完成后,加入30%w/w氢氧化钠水溶液直至pH 5.6,并得到脱保护的配体4。通过蒸馏除去作为副产物形成的叔丁醇。将含有配体4的溶液通过在50℃在真空下蒸馏浓缩直至最终浓度为约10%(w/w)。

[0389] e) 配体4的络合以产生二聚体络合物5

[0390] 将通过先前步骤d)获得的二聚体配体4的溶液装入第一反应器中并加热至40℃。添加氯化钆溶液(2.05mol相对于1mol的配体4),维持温度在37-43℃的范围内。在加入结束时,通过添加10%w/w氢氧化钠水溶液将pH调节至5.5。将混合物在40℃维持3小时。由此获得包含钆络合物5的溶液,并测量单钆化络合物(单Gd)和游离钆金属离子(游离Gd)的量。然后,通过纳米过滤除去在实施例1中和在络合步骤中产生的盐;进行渗滤直至电导率的值低于1.0mS/cm。在纳米过滤结束时,将混合物浓缩直至10÷12%w/w,并将1.5mol/mol的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>相对于游离钆金属离子(游离Gd)加入溶液中。添加Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>以后,为每次试验测量溶液的pH并报告在下表I中(“pH起始”列);观察到白色沉淀物的形成。然后将pH调节至在表I中在“pH最终”列中报告的值。将混合物在搅拌下保持2小时。最后,过滤悬浮液并测量单钆化络合物(单Gd)和游离钆金属离子(游离Gd)的量。这些量以及在络合后获得的量报告在下表I中。

[0391]

试验		游离 Gd (ppm, 相对于化合物 5)	单 Gd (ppm, 相 对于化合物 5)	pH 起始	pH 最终
1	起始	19480	n.q.	7.89	6.13
	过滤之后	32	n.q.		
2	起始	13150	n.q.	7.23	6.10
	过滤之后	70	n.q.		
3	起始	17052	n.q.	6.78	6.08
	过滤之后	52	n.q.		
4	起始	7721	n.q.	7.30	7.30
	过滤之后	70	n.q.		
5	起始	10427	n.q.	7.20	4.90
	过滤之后	10	n.q.		
6	起始	11888	n.q.	6.50	4.54

[0392]

	过滤之后	15	538		
7	起始	18037	n.q.	8.30	8.30
	过滤之后	250	n.q.		
8	起始	7628	n.q.	8.04	8.04
	过滤之后	318	n.q.		
9	起始	6030	n.q.	6.50	6.50
	过滤之后	75	n.q.		
10	起始	8136	n.q.	7.87	5.71
	过滤之后	24	n.q.		
11	起始	9753	n.q.	7.17	5.73
	过滤之后	60	n.q.		

[0393] 表I

[0394] 基于在表I中报告的结果,对于上面提供的所有试验1至9,可能观察到游离Gd的量的显著减少。试验1至5和7至11的所有溶液含有不可定量的量的单Gd,即单Gd的量小于400ppm;试验6表明,在pH 4.54,单Gd的量高于LoQ,即相对于化合物5的量为538ppm。表I也表明,将pH维持在4.9-8.3的范围内,获得的单Gd的量<LoQ和低量的游离Gd。

[0395] f) 除去残留磷酸盐

[0396] 将在上述步骤e)中获得的试验1的溶液以1÷3BV/h的流速加载到离子交换树脂(Diaion PA 308,预先活化)上。由此从溶液中除去大部分残留的磷酸盐。

[0397] g) 二聚体钆络合物的进一步纯化和分离

[0398] 将上述步骤f)的溶液装入第二反应器中,通过添加稀HCl将溶液的pH调节至5.7÷6.3,并在45÷55℃在真空下蒸馏水直到钆络合物的含量为约20÷25%w/w。将浓缩的溶液以0.5BV/h的流速加载到预先活化的Amberlite **XAD®**1600(树脂的量:30mL/g的产品)上。用水以及异丙醇和水的混合物进行纯化。

[0399] 将高纯度(通过HPLC-FLD/UV评价)的级分装入另一个反应器中。初步浓缩后,进行碳处理。过滤悬浮液以除去碳,并将溶液在真空下在45÷55℃浓缩直至25%w/w浓度,通过喷雾干燥从其中分离出钆络合物,作为白色粉末固体(14.1kg,12.7kg以无水计,9.83mol),最终滴定含量为99%(w/w%;以无水计)。

[0400] 从D03A三叔丁酯1A确定的总收率:33%。

[0401] 实施例3:用沉淀剂进行沉淀的进一步试验

[0402] 试验12

[0403] 对于通过上述实施例2的步骤a)至d)的程序获得的含有游离钆的络合物5的10%w/w溶液,测量单钆化络合物(单Gd)和游离钆金属离子(游离Gd)的含量。然后,将 $K_3PO_4$ (1.5mol,相对于游离Gd的摩尔量)加入溶液中。

[0404] 添加磷酸盐后,pH从5.42升至9.00,并立即观察到白色固体的形成。将混合物在室温下搅拌2小时,维持pH 9.00,并然后过滤固体,得到溶液。测量游离钆金属离子(游离Gd)和单钆化络合物(单Gd)的含量并报告在下表II中。

试验	游离 Gd	单 Gd
	ppm, 相对于化合物 5	ppm, 相对于化合物 5
[0405] 起始	13744	n.q.
过滤之后	136	n.q.

[0406] 表II

[0407] 基于在表II中报告的结果,可能观察到,用磷酸盐作为沉淀剂进行沉淀,游离Gd的量显著减少。此外,该溶液含有不可定量的量的单Gd,即,单Gd的量小于400ppm。

[0408] 试验13

[0409] 对于通过上述实施例2的步骤a)至d)的程序获得的含有游离钆的络合物5的10%w/w溶液,测量单钆化络合物(单Gd)和游离钆金属离子(游离Gd)的含量。然后,将草酸二钠(2.25mol/mol,相对于游离Gd)加入溶液中。

[0410] 添加草酸盐之后,pH从5.56升至7.78,并立即观察到白色固体的形成。然后用HCl 1N将pH降低至6.43。最后将混合物在室温维持2小时。

[0411] 过滤悬浮液之后,测量单钆化络合物和游离钆金属离子的含量。单钆化络合物(单Gd)和游离钆金属离子(游离Gd)的含量报告于下表III中。

[0412]	试验	游离 Gd	单 Gd
		ppm, 相对于化合物 5	ppm, 相对于化合物 5
	起始	11730	n.d.
	过滤之后	64	n.q.

[0413] 表III

[0414] 表III清楚地表明,进行上述试验,且特别是包含合适量的草酸盐作为沉淀剂的试验,会提供包含非常低量的游离Gd和低于LoQ的量的单Gd的溶液。