

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 950397 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 950397

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07F 9/6524

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **28.06.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **30.01.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **30.01.1995**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - **28.06.1993 PCT/US1993/006158**
Internationell ansökan - International
application

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

31.07.1992 US 923715

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Board of Regents, 201 West 7th Street Austin, Tex. 78701, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Dow Global Technologies Inc., Washington Street, 1790 Building, Midland, MI 48674, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Sherry, Allan Dean, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Kiefer, Garry E., Lake Jackson, TX 77566, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Polyatsamakrosyklisiä yhdisteitä metalli-ionien kompleksointia varten

Polyazamakrocycliska föreningar för komplexering av metalljoner

Polyatsamakrosyklisiä yhdisteitä metalli-ionien kompleksointia varten

Keksinnön tausta

5

Keksinnön ala

Esillä oleva keksintö koskee koostumuksia ja menetelmiä kontrastin parantamiseksi elävien kohteiden sisäisten rakenteiden ja toimintojen kuvauksessa.

Kuvaustavat

10

Elävien kohteiden sisäisten rakenteiden ja toimintojen kuvaaminen voidaan toteuttaa käyttämällä sähkömagneettista säteilyä, joka saadaan ulkoisista lähteistä (kuten tavanomaiset röntgensäteet ja tietokoneavusteinen aksiaalinen kerroskuvaus) tai sisäisistä lähteistä (kuten PET tai positroniemissiokerroskuvaus ja radionuklidiskannaukset). Ionisoivan säteilyn käyttö vältetään kuvattaessa ydinmagneettisella resonanssilla (NMR) ja ultraäänitekniikalla, mikä tekee näistä menetelmistä edullisia moniin sovellutuksiin.

20

Olipa kuvaustapa mikä tahansa huomiota kiinnitetään keinoihin kuvan kontrastin parantamiseksi rajoittamalla paikallisesti kontrastiaineet kuvattavalle alueelle. Tällaisia aineita ovat usein metallit, jotka emittoivat, absorboivat tai siroavat energiaa tai kuten NMR-aineiden tapauksessa lisäävät kuvasignaalin voimakkuutta paikallisesti. Parhaiden tulosten saavuttamiseksi aineiden on oltava paikallisesti rajoitettuja. Tämä voidaan toteuttaa esimerkiksi kontrastiaineen suoralla ruiskutuksella (kuten selkäytimen röntgenkuvissa tai takautuvissa virtsaputken röntgenkuvissa), aineen aineenvaihdunnallisella imeytyksellä (kuten PET-tekniikassa) ja konjugoimalla kontrastiaineita monoklonaalisiin vasta-aineisiin, jotka pyrkivät kerääntymään tiettyihin kudoksiin. Viimemainittua prosessia on käytetty erityisesti NMR-kuvan parantamisessa kela-

25

30

toiduilla metalli-ioneilla. Vaikka tämä prosessi on hyvin tunnettu, siinä on useita puutteita:

- 1 - vasta-aineen valmistus on monimutkaista;
- 5 2 - vasta-aineen immuunireaktiokyvyn pienenemistä tapahtuu konjugoinnin seurauksena;
- 3 - kohteen kudosisäilyminen rajoitetusti vastaan konjugaattia; ja
- 4 - kelatoidun ionin ja vasta-aineen välillä voi esiintyä epämieluisia vuorovaikutuksia.
- 10

Johtuen NMR-kuvauksen eduista (hyvä erotuskyky ja ionisoivan säteilyn välttäminen), NMR-kontrastiaaine, joka kyetään rajoittamaan paremmin paikallisesti, olisi kliinisesti tärkeä. Tällainen aine tarjoaisi merkittäviä etuja aikaisemman tekniikan kontrastiaineisiin verrattuna.

- 15

NMR-kontrastiaineet

NMR-skannauksesta saatujen kuvien laatu perustuu kahteen ominaisuuteen: eri kudosten protonitiheyksiin ja protonien relaksoitumisnopeuksien välisiin eroihin. Kudosten protonitiheyttä ei voida helposti muuttaa. Protonin relaksoitumisnopeuksia voidaan säätää lisäämällä paramagneettista relaksointiainetta, joka tunnetaan yleisemmin "kontrastiaineena". Kontrastiaineet parantavat kontrastia NMR-kuvissa magneettisesti samanlaisten, mutta kudospil-
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65
 70
 75
 80
 85
 90
 95
 100
 105
 110
 115
 120
 125
 130
 135
 140
 145
 150
 155
 160
 165
 170
 175
 180
 185
 190
 195
 200
 205
 210
 215
 220
 225
 230
 235
 240
 245
 250
 255
 260
 265
 270
 275
 280
 285
 290
 295
 300
 305
 310
 315
 320
 325
 330
 335
 340
 345
 350
 355
 360
 365
 370
 375
 380
 385
 390
 395
 400
 405
 410
 415
 420
 425
 430
 435
 440
 445
 450
 455
 460
 465
 470
 475
 480
 485
 490
 495
 500
 505
 510
 515
 520
 525
 530
 535
 540
 545
 550
 555
 560
 565
 570
 575
 580
 585
 590
 595
 600
 605
 610
 615
 620
 625
 630
 635
 640
 645
 650
 655
 660
 665
 670
 675
 680
 685
 690
 695
 700
 705
 710
 715
 720
 725
 730
 735
 740
 745
 750
 755
 760
 765
 770
 775
 780
 785
 790
 795
 800
 805
 810
 815
 820
 825
 830
 835
 840
 845
 850
 855
 860
 865
 870
 875
 880
 885
 890
 895
 900
 905
 910
 915
 920
 925
 930
 935
 940
 945
 950
 955
 960
 965
 970
 975
 980
 985
 990
 995

Gadoliniumia, jolla on voimakkaat paramagneettiset ominaisuudet johtuen sen seitsemästä parittomasta elektronista, on testattu kontrastiaineena. Sillä on suuri magneettinen momentti, joka relaksoi tehokkaasti magneettisia ytimiä ja parantaa kudoksen kontrastia gadoliniumin alueella.

Eräs gadoliniumin haitta kontrastiaineena on sen myrkyllisyys eläimille, vaikka mahdollinen parannuskeino tähän ongelmaan on gadoliniumin liittäminen yhdisteeseen,

joka kulkisi kehon läpi ja erittyisi siitä vapauttamatta myrkyllisiä gadoliniumioneja. Valitettavasti harvinaiset maametallit (gadolinium mukaan luettuna) eivät muodosta stabiileja kovalenttisia sidoksia orgaanisten molekyylien kanssa, joten tällaiset molekyylit voivat hajota in vivo ja vapauttaa myrkyllisiä ioneja.

Näin ollen on olemassa tarvetta tehokkaille kontrastiaineille, joilla vältetään myrkyllisyysongelmat, jotka ovat luontaisia gadolinium- tai muun metalli-ionin käytölle. Edelleen on toivottavaa, että kontrastiaine hillitsee kelatoitujen ionien jakautumista kehoon tai vaikuttaa siihen.

Vielä toivottavampi lähestymistapa metalli-ionien paikkaspesifiseen syöttämiseen olisi käyttää stabiileja kelaatteja, joilla on luontaista affiniteettia erityyppisiin kudoksiin. Luontainen kudosaaffiniteetti, joka on sisäänrakennettu orgaaniseen kelatointiaineeseen sekä ioni-varauksen että lipofiilisen luonteen asteen modifioinnilla, tarjoaisi huomattavia etuja nykyään käytettävissä oleviin aineisiin verrattuna.

Patenttihakemuksessa WO 92/08 725 selostetaan tiettyjä polyatsamakrosyklisiä yhdisteitä käytettäväksi NMR-kontrastiaineina ja erityisesti triatsamakrosyklistä yhdistettä, jossa on ryhmä $-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{OEt}$ kiinnittyneenä makrosyklisessä renkaassa oleviin typpiatomeihin.

Keksinnön yhteenveto

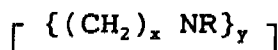
Esillä oleva keksintö koskee sarjaa uusia fosforia sisältäviä tetra-atsamakrosyklisiä kelaattoreita, joilla on luontaista affiniteettia tiettyihin kudoksiin. Suonensisäisen ruiskeen antamisen jälkeen näitä koostumuksia sisältävät kelaatit kerääntyvät ensisijaisesti tiettyihin kudoksiin riippuen ruiskeen antamisesta kuluneesta ajasta. Erityisesti 1,4,7,10-tetra-atsasyklododekaani-1,4,7-10-tetra(metyleenifosfonaatin monobutyylimiesteri):llä on suuri affiniteetti maksakudokseen ja mahan-suolen seutuun (tässä

järjestyksessä). Tätä ainetta sisältävät kelaatit ovat näin ollen sopivia maksan kuvaukseen johtuen esterifunktionaalisuuden aikaansaamasta lipofiilisestä luonteesta. Tällaiset aineet eivät hajoa aineenvaihdunnassa ja kulkeutuvat lopulta ulos kehosta virtsan tai ulosteiden kautta.

Vaikka edellä mainittu monobutyyliesteri näyttää soveltuvan hyvin maksan kuvaukseen, analogisia alkyylistereitä on myös harkittu käytettävän. Monopentyyliesterit ovat lähes yhtä hyviä maksan kuvaukseen, mutta mono-oktyyliestereiden haittana on hyvin vähäinen vesiliukoisuus. Toisaalta monopropyliestereitä on käytetty maksan kuvaukseen, mutta ne ovat tehottomampia, koska huomattava osa aineesta häviää nopeasti munuaisiin; monoisopropyliesterit käyttäytyisivät samalla tavoin. Näin ollen kaikkein edullisin toteutusmuoto on se, jota kuvattiin edellä monobutyyliestereiden yhteydessä.

NMR-tekniikan kanssa käyttöä varten esillä olevan keksinnön koostumukset on kelatoitava metallisen alkuaineen kanssa. Vaikka alkuaine on edullisesti harvinaisten maametallien sarjaa (edullisesti gadoliniumia), alaan perehtyneet tiedostavat, että muutkin metalli-ionit saattaisivat olla hyödyllisiä kuvaukseen. Esimerkiksi muita metallikelaatteja (esim. radionuklidien tai raskasmetallien kelaatteja) voidaan käyttää kuvaukseen tuikegrafialla, röntgensäteilyllä ja analogisilla kuvausmenetelmillä, joissa paikallisten kudospametrien muutokset voivat vahvistaa kuvan kontrastia.

Esillä olevan keksinnön kelaattoreilla on kaava



jossa

x on 2, 3 tai lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdistelmä, joissa p + q = y;

y on 4;

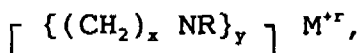
R on $(\text{CH}_2)_z\text{P}(=\text{O})\text{OR}^1\text{OR}^2$;

R^1 on H tai CH_3 ;

R^2 on butyyli-, pentyyli- tai heksyyli-ryhmä; ja

z on 1 - 3.

Eräässä tärkeässä toteutusmuodossa tämä yhdiste voidaan kompleksoida metallin kanssa, jolloin saadaan polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksin, jolla on kaava



jossa

x on 2, 3 tai lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdistelmä, jossa

$p + q = y$;

y on 4;

R on $(\text{CH}_2)_z\text{P}(=\text{O})\text{OR}^1\text{OR}^2$;

R^1 on H tai CH_3 ;

R^2 on butyyli-, pentyyli- tai heksyyli-ryhmä;

z on 1 - 3;

r on 2 tai 3; ja

M on metalli-ioni.

Symbolin y arvo määrittelee yhdisteen tetra-atsamakrosykliseksi. Alaindeksi x on edullisesti 2, vaikka 3 on mahdollinen monissa tapauksissa. Lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdistelmät alaindeksille x on luonnollisesti helppo määrittää, mutta summan p + q on oltava y polyatsamakrosyklissä olevien yksiköiden lukumäärän osoittamiseksi. Radikaalien H ja CH_3 uskotaan olevan symbolin R^1 paikalla käytössä samanarvoisia.

Eräässä yhdisteen tai sen metallikompleksin edullisessa toteutusmuodossa y on 4, p on 1 ja q on 3, p on 2

ja q on 2 tai p on 3 ja q on 1 ja z on edullisemmin 1. n on edullisesti 2.

Edullisemmassa toteutusmuodossa x on 2, y on 4, z on 1, R¹ on H ja R² on butyyyliryhmä.

5 M^r on edullisesti paramagneettinen lantanidi, vaikka muita kaksi- tai kolmiarvoisia metalli-ioneja radionukleideit ja raskasmetallit mukaan luettuna voidaan myös kompleksoida samoin.

10 Eräässä tärkeässä sovellutuksessa esillä oleva keksintö koskee menetelmää kohteen magneettisen resonanssikuvan parantamiseksi. Tässä menetelmässä annetaan kohdehenkilölle polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksia, jolla on kaava

15



jossa

20 x on 2, 3 tai lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdistelmä, joissa

p + q = y;

y on 4;

R on (CH₂)_rP(=O)OR¹OR²;

25 R¹ on H tai CH₃;

R² on butyyli-, pentyyli- tai heksyyyliryhmä;

z on 1 - 3;

r on 3; ja

M on gadolinium.

Piirrosten lyhyt kuvaus

Kuvio 1 esittää kaavamaisesti yhdisteen NOTPME rakennetta (jossa R on CH₂CH₃ ja R¹ on H).

35 Kuvio 2 esittää kaavamaisesti yhdisteen DOTEPE rakennetta.

Kuvio 3 esittää kaavamaisesti yhdisteen DOTPMB rakennetta.

Edullisten toteutusmuotojen yksityiskohtainen kuvaus

5

Esimerkki 1

Triatsamakrosykliset yhdisteet

NOTPME:n synteesi

Materiaalit

1,4,7-triatsasyklononaani, paraformaldehydi, dietyylifosfiitti ja aktiivihili Darco G-60 ostettiin Aldrich Chemical Company-yhtiöltä. $MgSO_4$ saatiin Mallickrodt-yhtiöltä natriumhydroksidi ja bentseeni J. T. Baker -yhtiöltä ja dietyylieetteri Fisher Scientific -yhtiöltä. Kaikki kemikaalit olivat erittäin puhtaita ja niitä käytettiin enempää puhdistamatta. $ZnCl_2:n$, $GdCl_3:n$, $MgCl_2:n$ ja $CaCl_2:n$ liuokset standardoitiin kompleksometrisesti.

15

NOTPME:n synteesi

20

1,4,7-triatsasyklononaania (1,91 g, 14,71 mmol) ja dietyylifosfiittia (7,018 g, 16,94 mmol, 15 % ylimäärin) liuotettiin 125 ml:aan bentseeniä ja kuumennettiin refluksoivaksi. Vedetöntä paraformaldehydiä (1,727 g, 30 % ylimäärin) lisättiin pieninä annoksina edellä mainittuun refluksoivaan seokseen samalla, kun bentseenin ja veden azeotrooppista seosta poistettiin tislamalla. Paraformaldehydin lisäyksen päätyttyä koko liuosta keitettiin 30 minuuttia ja haihdutettiin sitten keltaisen viskoosin öljyn saamiseksi. Öljy liuotettiin 150 ml:aan vedetöntä dietyylieetteriä ja kuivattiin vedettömällä $MgSO_4$:lla yli yön. $MgSO_4$ yhdessä muodostuneen valkoisen sakan kanssa suodatettiin ja heitettiin pois. Suodoksesta poistettiin väri aktiivihielellä ja se suodatettiin. Suodos haihdutettiin alipaineessa, jolloin saatiin 1,4,7-triatsasyklononaani-N,N',N''-tris(metyleenifosfonaatin dietyyliesteri)ä (NOTPDE) viskoosina öljynä. Puhdasta NOTPDE:a saatiin

25

30

35

96-%:isella saannolla (9,21 g, 14,17 mmol) ja sitä käytettiin NOTPME:n synteesiin (rakenne esitetty kuviossa 1) enempää puhdistamatta. NOTPDE:n ^1H -NMR-tulokset CDCl_3 :ssa (TMS nolla) ovat seuraavat:

5 δ (ppm): 1,33 (t, 18H, $-\text{CH}_3$), 2,97 (s, 12H, $\text{N}-\text{CH}_2$), 3,00 (d, 6H, $\text{P}-\text{CH}_2$), 4,13 (p, 12H, OCH_2).

9,20 g:aan NOTPDE:a (14,15 mmol) sekoitettiin 2,50 g NaOH:a 9 ml:ssa H_2O :a ja 2 tunnin kuluttua koko reaktioseosta keitettiin, kunnes saatiin kirkas liuos 10 (noin 5 minuuttia). Liuos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja sen annettiin seistä yli yön. Muodostuneet kiteet suodatettiin pois viskoosista emäliuoksesta käyttäen painesuodatinsuppiloa, jossa oli karkeaa huokoslaatua oleva suodatinkiekko. Kiteet pestiin kerran kylmällä absoluuttisella etanolilla, kolme kertaa absoluuttisen etanolin ja 15 dietyylieetterin seoksella (1:1) ja lopuksi dietyylieetterillä. Na_3NOTPME :n kiteitä kuivattiin kuivassa typpivirrassa 25°C :ssa 2 tuntia. Hivenmäärät H_2O :a ja etanolia poistettiin alipaineakuivaamalla (1316 Pa) NOTPME:a 5 tuntia 20 50°C :ssa. Näin saatu puhdas NOTPME oli valkoisina kiteinä, jotka olivat erittäin hygroskooppisia, helposti veteen liukenevia ja melko liukoisia kloroformiin. Puhtaan NOTPE:n saanto oli 40,8 % (3,24 g, 5,77 mmol).

^1H -NMR (D_2O , HDO-piikki asetettu vertailuna kohtaan 4,90 ppm), δ (ppm): 1,23 (t, 9H, $-\text{CH}_3$), 2,54 (s, leveä, 6H, $\text{P}-\text{CH}_2$), 2,79 (s, leveä, 12H, $\text{N}-\text{CH}_2$), 3,91 (p, 6H, $\text{O}-\text{CH}_2$).

Esimerkki 2

Tetra-atsamakrosykliset yhdisteet

DOTEP:n synteesi

30 Kuviossa 2 esitetty DOTEP valmistettiin seuraavasti. 2 ml dikloorietyylifosfiinia sekoitettiin hitaasti jäihin vastaavan etyylifosfiinihapon muodostamiseksi. Sen lämmitettyä huoneenlämpötilaan lisättiin 390 mg 1,4,7,10-tetrasyklododekaanitetrahydrokloridia (sykleeni.4 HCl) 35 (Parrish Chem. Co., Ogden, Utah) ja seos kuumennettiin

kiehuvaksi typpi-atmosfäärissä. Liuos, joka sisälsi 157 mg paraformaldehydiä liuotettuna 10 ml:aan 6 M HCl:a, lisättiin nopeudella 0,5 ml/h samalla, kun seos jatkoi refluksointiaan. Lopullista seosta refluksoitiin vielä 4 tuntia ja jäähdytettiin sitten huoneenlämpötilaan. Liuos väkevöitiin alipaineessa viskoosiksi öljyksi, liuotettiin uudelleen 6 ml:aan vettä ja panostettiin Dowex 50 Wx4 (vetymuoto) kationinvaihtokolonniin (kerrostilavuus 7,5 ml). Kolonni pestiin neutraaliksi vedellä ja tuote eluoitiin 60 ml:lla 0,66 M HCl:a. DOTEPI:a sisältävät jakeet yhdistettiin, haihdutettiin, liuotettiin uudelleen absoluuttiseen etanoliin ja haihdutettiin valkoiseksi kiinteäksi aineeksi. Tämä kiinteä aine dispergoitiin vedettömään eetteriin, suodatettiin pois, esikuivattiin typen alaisena ja kuivatettiin alipaineessa 60 - 70 °C:ssa, jolloin saatiin valkoista, hyvin hygroskooppista kiinteää ainetta (360 mg, 44 %:n saanto). Tätä kiinteää ainetta säilytettiin suljetuissa ampulleissa. Alkuaineanalyysi ja potentiometria osoittavat kiinteän aineen olevan DOTEPI.2HCl:a.

20

Esimerkki 3

Tetra-atsamakrosykliset yhdisteet

DOTP:n dibutyylimesterin synteesi

Tetra-atsa-12-kruunu-4·4HCl:a (1 g, $3,14 \times 10^{-3}$ mol) liuotettiin veteen ja pH säädettiin arvoon 9,0 käyttäen 1 M NaOH:a. Liuotin haihdutettiin ja jäännöstä kuivattiin alipaineessa 1 tunti. Formaldehydiä (6,6 ml 37 %:sta liuosta, 7,15 g, 0,24 mol) lisättiin ja liuosta sekoitettiin 30 minuuttia huoneenlämpötilassa. Dibutyylifosfiittia (5,10 ml, puhtaus 96 %, 0,025 mol) lisättiin sitten ja reaktioseosta sekoitettiin 15 tuntia huoneenlämpötilassa (di-pentyyli- ja diheksyylifosfiittia käytetään samoin tuottamaan samassa järjestyksessä dipentyyli- ja diheksyyli-estereitä). Saatu seos koostui kahdesta kerroksesta. Pohjakerros oli enimmäkseen ylimäärin olevaa formaldehydiä, kuten ^{13}C -NMR osoitti. Ylempi kerros sisälsi tuotetta

30

35

ja ylimäärin olevaa fosfiittia. Tämä kerros erotettiin, väkevöitiin ja sitä kuivattiin alipaineessa 1 tunti. Saatu siirappi panostettiin piidioksidigeelikolonniin (2,5 x 11 cm). Ylimäärin oleva fosfiitti pestiin pois metyleenikloridilla (250 ml). Tuote eluoitiin metanolin 5-%:isella liuoksella metyleenikloridissa. 20 ml:n jakeet kerättiin talteen ja niitä seurattiin TLC-tekniikalla. Tuotetta sisältävät jakeet yhdistettiin, väkevöitiin ja kuivattiin alipaineessa. Saatiin vaaleankeltainen öljy 75 %:n saannolla (2,34 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0,87 (t, $J = 7,3$, 6 H), 1,33 (m, $J = 7,3$, 4H), 1,60 (p, $J = 7,3$, 4H), 3,18 (br s, 4H), 3,39 (d, $J = 8,5$, 2H), 4,03 (m, $J = 7,3$, 6,1, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 11,3 (s), 16,5 (s), 30,3 (d, $J = 5,9$), 47,3 (d, $J = 148$), 50,0 (br s), 63,8 (d, $J = 7,3$).

Esimerkki 4

Tetra-atsamakrosykliset yhdisteet

DOTP:n monobutyyliesterin (DOTPMB) synteesi

Dibutyyliesteri suspendoitiin 1 M KOH-liuokseen (20 ml). Seosta sekoitettiin 85 °C:ssa 17 tuntia ja sitten 106 °C:ssa 9 tuntia. Liuotin haihdutettiin ja näytettä kuivattiin alipaineessa 1 tunti. Metyleenikloridia (40 ml) lisättiin sitten ja jäljellä olevaa kiinteää KOH:a murskattiin mahdollisimman paljon. Liuotin haihdutettiin jälleen ja tämä menettely toistettiin vielä kaksi kertaa. Liuotin haihdutettiin ja jäännös liuotettiin metanoliin (60 ml). Seos suodatettiin ja väkevöitiin sitten siirappiksi alipaineessa. Metyleenikloridia (80 ml) lisättiin ja seos suodatettiin. Liuotin haihdutettiin ja jäännös kuivattiin alipaineessa, jolloin saatiin valkoista kiinteää ainetta 71 %:n saannolla. $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O ; vertailu dioksaani kohdassa 67,0 ppm): 13,5, 18,9, 32,9 (d, $J = 5,9$), 50,7 (d, $J = 140,6$), 51,5 (br s), 64,6 (d, $J = 5,9$).

Esimerkki 5**Gd-DOTPMB:n biojakautuma****Kompleksointi ja biojakautuma**

DOTPMB:n (kuvio 3) ja Gd:n kompleksi (0,012 M metallista laskettuna, ligandi/metallisuhte 2:1) valmistettiin ja se merkattiin hivenmäärillä Gd-159. Kompleksoitumisen määritettiin olevan yli 99 % aikaisemmissa raporteissa kuvatuilla standardianalyttisillä menetelmillä. Kahteen Sprague-Dawley-rottaan ruiskutettiin kompleksia 0,05 mmol/kg:n määrä. Eläimet surmattiin 30 minuutin kulu-
 5 tuttua ja leikeltiin biojakautumatulosten saamiseksi (taulukot I ja II); eri kudoksista saadut varsinaiset lukemat esitetään taulukossa II. Tämän ajanjakson päätyttyä keskimäärin 58 % ruiskutetusta annoksesta löydettiin ohutsuo-
 10 lesta (ks. merkintä sarakkeessa ohutsuoli taulukossa I). Kolmannella rotalla suoritettu vastaava koe tuotti 52 % ohutsuoleen (taulukot II ja IV); eri kudoksista saadut varsinaiset lukemat esitetään taulukossa IV. Pääosa jäljellä olevasta aktiivisuudesta poistui kaikissa tapauksissa munuaissysteemin kautta (taulukot II ja IV).
 15

Jotta sitoutuminen tapahtuisi paikallisesti ohutsuoleen kompleksin on ensin kuljettava maksan läpi. Näin ollen, koska maksan aktiivisuus 30 minuutin ajanhetkellä oli minimaalinen (1 %) (ks. esim. taulukko I), maksaan
 20 paikallisesti sitoutumisen huippu meni ohi edellisen 30 minuutin aikana. Tämä on ilmeistä biojakautumaesimerkissä 15 minuuttia kelatoidun merkkiaineen antamisen jälkeen, mikä on todistettu taulukoissa VIII ja IX. Vaikka 15 minuutin kohdalla maksaan paikallisesti sitoitumisen huippu
 25 oli mennyt ohi hiirellä 1, jolla 4 % oli maksassa ja 88 % ohutsuolessa, hiirellä 2 oli yhä merkittävä pitoisuus maksassa (66 %) 15 minuutin kohdalla. Nämä eläinmallit antavat olettaa, että kuvaus 15 minuutin kuluessa kelatoidun merkkiaineen antamisesta on välttämätöntä maksan parhaan
 30 kuvatarkkuuden kannalta. Seuraava kokeen kuvaus tukee tätä
 35

johtopäätöstä. Suuremmat annokset pidentäisivät luonnollisesti paikallisen maksaan sitoutumisen aikaa väkevyyksillä, jotka riittävät parantamaan oleellisesti maksan kuvausta.

5 **DPTPMB:n gammakuvaus**

Sm(153)-DOTPMB-kompleksi valmistettiin edellä kuvatulla tavalla Sprague-Dawley-rotan gammakuvausta varten. Kuvia otettiin yhden minuutin välein 16 minuutin jakson aikana. Peräkkäiset kuvat paljastivat kelaattipitoisuutta maksassa yhden minuutin kuluessa ruiskeen antamisen jälkeen. Sen jälkeen kompleksi siirtyy nopeasti maksasta mahalaukuun ja ohutsuoleen. Taulukot V, VI ja VII sisältävät tuloksia, jotka otettiin 1 tunnin, 24 tunnin ja 72 tunnin kuluttua ruiskeen antamisesta ja ne osoittavat aineen liikkuvan mahalaukusta ja ohutsuolesta ulosteisiin.

10

15

5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

Taulukko I

Aika: 30 minuutin biojakautuma.

Pvm Ligandi Metallin Huomautukset
 6.8.91 DOTPMB-K Gd-159 99 %:n kompleksointi
 5 LIG/MET-moolisuhde 4:1 (metalli = 3×10^{-4} M)

Prosentuaalinen annos/g				
	Rotta 1	Rotta 2	Keskiarvo	+/-
Paino	216,72	228,17	222,45	8,096
Luu	0,019	0,006	0,01	0,009
Häntä	0,077	0,068	0,07	0,007
Maksa	0,114	0,069	0,09	0,032
Munuaiset	0,169	0,126	0,15	0,031
Perna	0,011	0,021	0,02	0,007
Lihas	0,007	0,005	0,01	0,001
Veri	0,021	0,017	0,02	0,003
Sydän	0,014	0,000	0,01	0,010
Keuhkot	0,126	0,023	0,07	0,073
Aivot	0,002	0,003	0,00	0,000
0,000 = aktiivisuutta ei todettu				
Prosentuaalinen annos				
Luu	0,281	0,106	0,193	0,124
Häntä	0,212	0,191	0,201	0,015
Maksa	1,234	0,755	0,994	0,339
Munuaiset	0,392	0,299	0,346	0,066
Perna	0,009	0,011	0,010	0,002
Lihas	0,658	0,506	0,582	0,108
Veri	0,299	0,250	0,294	0,035
Sydän	0,011	0,000	0,006	0,008
Keuhkot	0,158	0,029	0,094	0,091
Aivot	0,004	0,004	0,004	0,001
Mahalaukku	0,574	0,530	0,552	0,031
Ohutsuoli	80,304	36,405	58,354	31,041
Paksusuoli	0,591	0,433	0,512	0,112

Taulukko II
(selitykset ks. taulukko I)

Tu- los	Lukemat	Elin	N alku- paino	Tausta korj.	Pros. an- nos/g	Pros. annos
1		Std A	X rotan 1 paino	0		
1		Std B	X 216,72	0		
2	414838	Std C	keskiar- vo 414404,5	414405		
3	480	Luu	0,60	47	1,87 E-02	2,81 E-01
4	1311	Häntä	2,74	878	7,73 E-02	2,12 E-01
5	5546	Maksa	10,86	5113	1,14 E-01	1,23 E+00
6	2058	Munuai- set	2,32	1625	1,69 E-01	3,92 E-01
7	469	Perna	0,75	36	1,14 E-02	8,57 E-03
8	478	Lihas	1,52	45	7,06 E-03	6,58 E-01
9	576	Veri	1,62	143	2,12 E-02	2,99 E-01
10	481	Sydän	0,82	48	1,40 E-02	1,15 E-02
11	1088	Keuhkot	1,25	655	1,26 E-01	1,58 E-01
12	449	Aivot	1,62	16	2,31 E-03	3,74 E-03
13	2811	Mahal.		2378		5,74 E-01
14	333215	Ohut- suoli		332782		8,03 E+01
15	2883	Pak- susuoli		2450		5,91 E-01
16	150310	Virtsa		149877		3,62 E+01
17	400	Virtsa		0		0,00 E+00
18	428	Virtsa		0		0,00 E+00
19	443	Tausta	228,17	rotan 2 paino		
20	451	Luu	0,67	18	6,30 E-03	1,06 E-01
21	1225	Häntä	2,82	792	6,77 E-02	1,91 E-01
22	3561	Maksa	10,96	3128	6,89 E-02	7,55 E-01

Tu- los	Lukemat	Elin	N alku- paino	Tausta korj.	Pros. an- nos/g	Pros. annos
23	1674	Munuai- set	2,38	1241	1,26 E-01	2,99 E-01
24	480	Perna	0,53	47	2,12 E-02	1,12 E-02
25	469	Lihas	1,66	36	5,16 E-03	5,06 E-01
26	559	Veri	1,80	126	1,68 E-02	2,50 E-01
27	430	Sydän	0,85	0	0,00 E+00	0,00 E+00
28	554	Keuhkot	1,28	121	2,27 E-02	2,91 E-02
29	452	Aivot	1,55	19	2,88 E-03	4,46 E-03
30	2629	Mahal.		2196		5,30 E-01
	151297	Ohut- suoli		150864		3,64 E+01
	2229	Pak- susuoli		1796		4,33 E-01
	116731	Virtsa		116298		2,81 E+01
	901	Virtsa		468		1,13 E-01
	423	Virtsa		0		0,00 E+00
	424	Tausta		0		

Taustan keskiarvo = 434

Taulukko III

Aika: 30 minuutin biojakautuma

Pvm Ligandi Metalli Huomautukset

6.8.91 DPTPMB-K Gd-159 99 %:n kompleksointi

5 LIG:MET moolisuhde 4:1, (Metalli = 3×10^{-4} -M)

Pros. annos/g

Rotta 3

Paino: 235,14

10	Luu	0,006
	Häntä	0,013
	Maksa	0,016
	Munuaiset	0,121
	Perna	0,000
15	Lihas	0,000
	Veri	0,000
	Sydän	0,000
	Keuhkot	0,009
	Aivot	0,004

20

0,000 = aktiivisuutta ei todettu

25

Luu	0,109
Häntä	0,038
Maksa	0,196
Munuaiset	0,303

30

Perna	0,000
Lihas	0,026
Veri	0,000
Sydän	0,000

35

Keuhkot	0,012
Aivot	0,005
Mahalaukku	0,012
Ohutsuoli	51,549
Paksusuoli	2,232

Taulukko IV
(selitykset ks. taulukko III)

5	Tu- los	Lukemat	Elin	N alku- paino	Tausta- korj.	Pros. annos/g	Pros. annos
	1		StdA	X rotan 1 paino	0		
10	1		StdB	X 235,14	0		
	2	414367	StdC	keskim. 413946	413946		
	3	439	Luu	0,69	18	6,30 E-03	1,09 E-01
	4	578	Häntä	2,95	157	1,29 E-02	3,79 E-02
15	5	1232	Maksa	11,96	811	1,64 E-02	1,96 E-01
	6	1675	Munuaiset	2,51	1254	1,21 E-01	3,03 E-01
	7	418	Perna	0,66	0	0,00 E+00	0,00 E+00
	8	423	Lihas	1,91	2	2,53 E-04	2,56 E-02
	9	412	Veri	1,84	0	0,00 E+00	0,00 E+00
20	10	417	Sydän	0,85	0	0,00 E+00	0,00 E+00
	11	470	Keuhkot	1,25	49	9,47 E-03	1,18 E-02
	12	442	Aivot	1,28	21	3,96 E-03	5,07 E-03
	13	470	Mahalauk- ku		49		1,18 E-02
25	14	213806	Ohutsuo- li		213385		5,15 E+01
	15	9661	Paksusuo- li		9240		2,23 E+00
	16	102818	Virtsa		102397		2,47 E+01
	17	12520	Virtsa		12099		2,92 E+00
30	18	447	Virtsa		26		6,28 E-03
	19	421	Tausta				

Taustan keskiarvo = 421

Taulukko V

Yhden tunnin biojakautuma, kuvattu rotta

Aika: Yhden tunnin biojakautuma

Pvm	Ligandi	Metalli	Kommentit
5	8.8.91	DOTPMB-K, D.	Sm = 153 99 %:n kompleksi
LIG:MET-moolisuhde 4:1 (Metalli = 3×10^{-4} -M)			
		Pros. annos/g	Pros.annos
	Paino: 263,82		
	Luu	0,004	0,067
10	Häntä	0,038	0,093
	Maksa	0,014	0,144
	Munuaiset	0,084	0,245
	Perna	0,016	0,011
	Lihas	0,001	0,078
15	Veri	0,001	0,019
	Mahalaukku		45,144
	Ohutsuoli		31,408
	Paksusuoli		0,003

1
 2
 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47
 48
 49
 50
 51
 52
 53
 54
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65
 66
 67
 68
 69
 70
 71
 72
 73
 74
 75
 76
 77
 78
 79
 80
 81
 82
 83
 84
 85
 86
 87
 88
 89
 90
 91
 92
 93
 94
 95
 96
 97
 98
 99
 100

101
 102
 103
 104
 105
 106
 107
 108
 109
 110
 111
 112
 113
 114
 115
 116
 117
 118
 119
 120
 121
 122
 123
 124
 125
 126
 127
 128
 129
 130
 131
 132
 133
 134
 135
 136
 137
 138
 139
 140
 141
 142
 143
 144
 145
 146
 147
 148
 149
 150
 151
 152
 153
 154
 155
 156
 157
 158
 159
 160
 161
 162
 163
 164
 165
 166
 167
 168
 169
 170
 171
 172
 173
 174
 175
 176
 177
 178
 179
 180
 181
 182
 183
 184
 185
 186
 187
 188
 189
 190
 191
 192
 193
 194
 195
 196
 197
 198
 199
 200

Taulukko VI

24 tunnin biojakautuma, kuvattu rotta

Aika: 24 tunnin biojakautuma

Pvm	Ligandi	Metalli	Kommentit	
5	8.8.91	DOTPMB-K	Sm = 153	99 %:n kompleksi
			Pros. annos/g	Pros.annos
	Paino: 263,82			
	Luu		0,008	0,146
	Häntä		0,015	0,036
10	Maksa		0,010	0,106
	Munuaiset		0,154	0,451
	Perna		0,029	0,020
	Lihas		0,017	1,883
	Veri		0,000	0,004
15	Mahalaukku			0,053
	Ohutsuoli			2,109
	Ohutsuoli			19,611
	Paksusuoli			8,351
	Ulostteet			35,981
20	Virtsa			2,799
	Paperi			0,126

Taulukko VII

Rotalle annettu ruiske: 8.8.91

Aika: 72 tunnin biojakautuma

Pvm Ligandi Metalli Kommentit

5 12.8.91 DOTPMB-K Sm-153 99 %:n kompleksi

LIG:MET-moolisuhde 4:1 (Metalli = 3×10^{-4} -M)

Pros. annos/g

Pros. annos

Paino: 269,58

	Luu	0,014	0,219
10	Häntä	0,002	0,005
	Maksa	0,002	0,030
	Munuaiset	0,019	0,054
	Peerna	0,000	0,000
	Lihas	0,000	0,000
15	Veri	0,000	0,000
	Ulostteet		5,832
	Ulostteet		5,467
	Ulostteet		2,464
	Virtsa		0,077
20	Virtsarakko		0,242

Taulukko VIII

Tiedosto = BTY15STD Yhteenvedo Standarditiedot Hiiri nro 2
(15 minuutin biojakautuma), 99 %:n kompleksi, 25,0 µl:n annos

5 Ca lisätty kompleksiin moolisuhteessa 1:1, lig: Ca

Pvm	Ligandi	Metalli	Kommentit
30.10.91	DOTPMB-K	Sm-153	08-07-91

Lig:Met-moolisuhde 2:1, (Metalli = 3×10^{-4} -M), pH 7 - 8.

Prosentuaalinen annos/g

		Hiiri 1	Hiiri 2	Keskiarvo
10	Paino	15,854	10,702	13,278
	Luu	0,171	3,169	1,670
	Häntä	1,374	83,296	42,335
	Maksa	3,979	66,441	35,210
15	Munuaiset	0,889	14,568	7,728
	Perna	1,260	0,831	1,046
	Lihas	0,173	1,437	0,805
	Veri	43,105	3,743	23,424
	Sydän	0,472	2,418	1,445
20	Keuhkot	0,697	2,735	1,716
	Aivot	0,023	0,139	0,081
	Kasvain	0,648	4,844	2,746
	Mahalaukku	14,272	4,343	9,308
	Ohutsuoli	88,504	40,343	64,423
25	Paksusuoli	3,320	2,298	2,809
	Virtsa	0,000	0,000	0,000
	Keho 1	0,408	1,637	1,022
	Keho 2	0,148	5,594	2,871

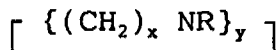
30 _____
Hiiri 2 ei muuttunut aktiiviseksi nukutuksen jälkeen, mutta oli elossa.

	Luu	0,149	2,100
5	Maksa	3,379	37,732
	Munuaiset	0,199	3,610
	Perna	0,095	0,039
	Lihäs	1,179	6,615
	Veri	44,420	2,604
10	Sydän	0,033	0,157
	Keuhkot	0,090	0,210
	Aivot	0,010	0,054
	Kasvain	0,062	0,237
	Mahalaukku	3,565	0,586
15	Ohutsuoli	86,734	27,837
	Paksusuoli	2,994	1,145
	Virtsa	12,857	0,007
	Keho 1	2,294	6,890
	Keho 2	0,585	17,147

Patenttivaatimukset

1. Polyatsamakrosyklinen yhdiste tai sen suola,
t u n n e t t u siitä, että yhdisteellä on kaava

5



jossa

x on 2, 3 tai lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdis-
10 telmä, joissa p + q = y;

y on 4;

R on $(\text{CH}_2)_z \text{P}(=\text{O})\text{OR}^1\text{OR}^2$;

R¹ on H tai CH₃;

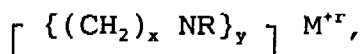
R² on C_nH_{1+2n};

15 z on 1 - 3; ja

n on 4 - 6.

2. Polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin
kompleksi, jolla on kaava

20



jossa

x on 2, 3 tai lausekkeiden p 2(s) ja q 3(s) yhdis-
25 telmä, joissa p + q = y;

y on 4;

R on $(\text{CH}_2)_z \text{P}(=\text{O})\text{OR}^1\text{OR}^2$;

R¹ on H tai CH₃;

R² on C_nH_{1+2n};

z on 1 - 3;

30 r on 2 tai 3;

M on metealli-ioni; ja

n on 4 - 6.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen yhdiste,
t u n n e t t u siitä, että y on 4.

35 4. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen yhdiste,
t u n n e t t u siitä, että y on 4 ja x on 2.

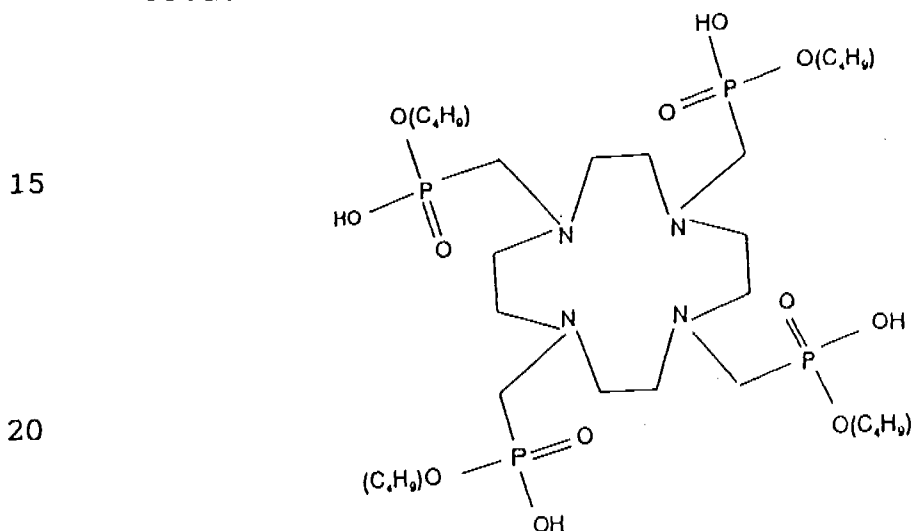
5. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen kompleksi, tunnettu siitä, että y on 4.

6. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen kompleksi, tunnettu siitä, että y on 4 ja x on 2.

5 7. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen yhdiste, tunnettu siitä, että R^2 on C_4H_9 .

8. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen kompleksi, tunnettu siitä, että M on lantanidialkuaine.

9. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen yhdiste tai sen suola, tunnettu siitä, että yhdisteellä on kaava:



jossa R^1 on OC_nH_{1+2n} , n on 4 - 6 ja R^2 on H.

10. Koostumus ydinmagneettisten resonanssikuvien kontrastin parantamiseksi kohteessa, tunnettu siitä, että se sisältää minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaista polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksia.

11. Koostumus kohteen röntgenkuvan parantamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaista polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksia.

12. Koostumus kohteen tuikegrafisen kuvan parantamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaista polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksia.

13. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukainen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksiksi, t u n n e t t u siitä, että se on tarkoitettu käytettäväksi ydinmagneettisten resonanssikuvien kontrastin parantamiseen kohteessa.

14. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukainen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksiksi, t u n n e t t u siitä, että se on tarkoitettu käytettäväksi kohteen röntgensädekuvan parantamiseen.

15. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukainen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksiksi, t u n n e t t u siitä, että se on tarkoitettu käytettäväksi kohteen tuikegrafisen kuvan parantamiseen.

16. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaisen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksin käyttö, t u n n e t t u siitä, että se tapahtuu lääkeaineen valmistamiseksi, jolla parannetaan ydinmagneettisten resonanssikuvien kontrollia kohteessa.

17. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaisen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksin käyttö, t u n n e t t u siitä, että se tapahtuu lääkeaineen valmistamiseksi, jolla parannetaan kohteen röntgenkuvaa.

18. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 2, 5, 6 tai 8 mukaisen polyatsamakrosyklisen yhdisteen ja metallin kompleksin käyttö, t u n n e t t u siitä, että se tapahtuu lääkeaineen valmistamiseksi, jolla parannetaan kohteen tuikegrafista kuvaa.

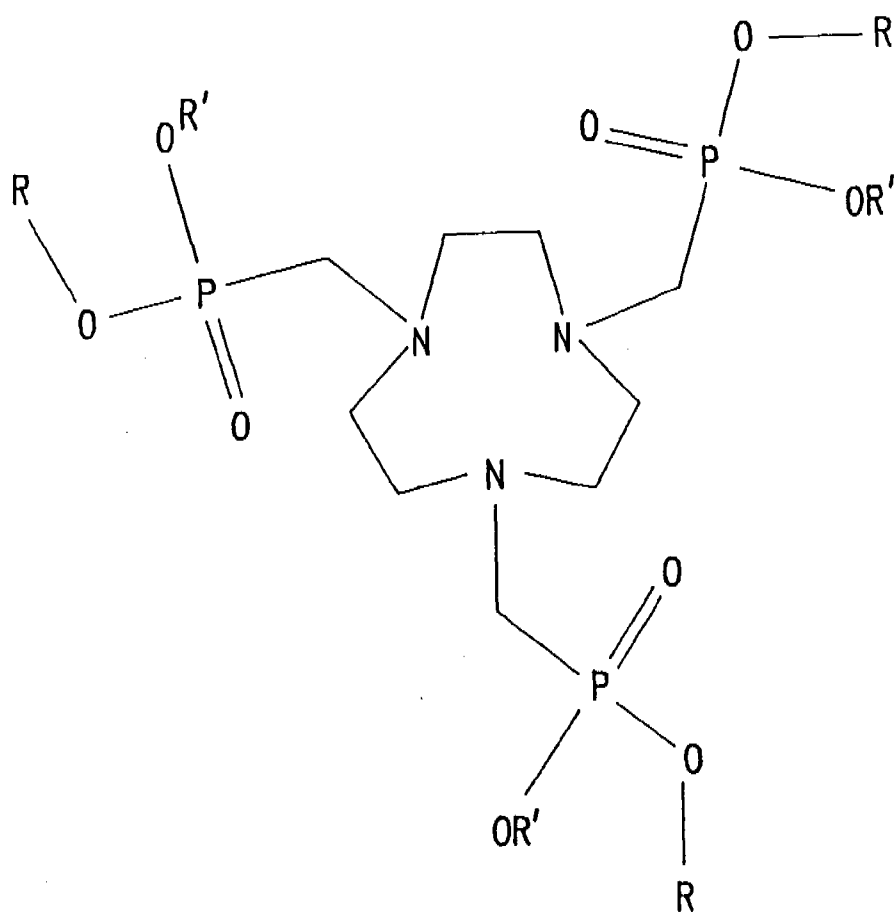


FIG. 1

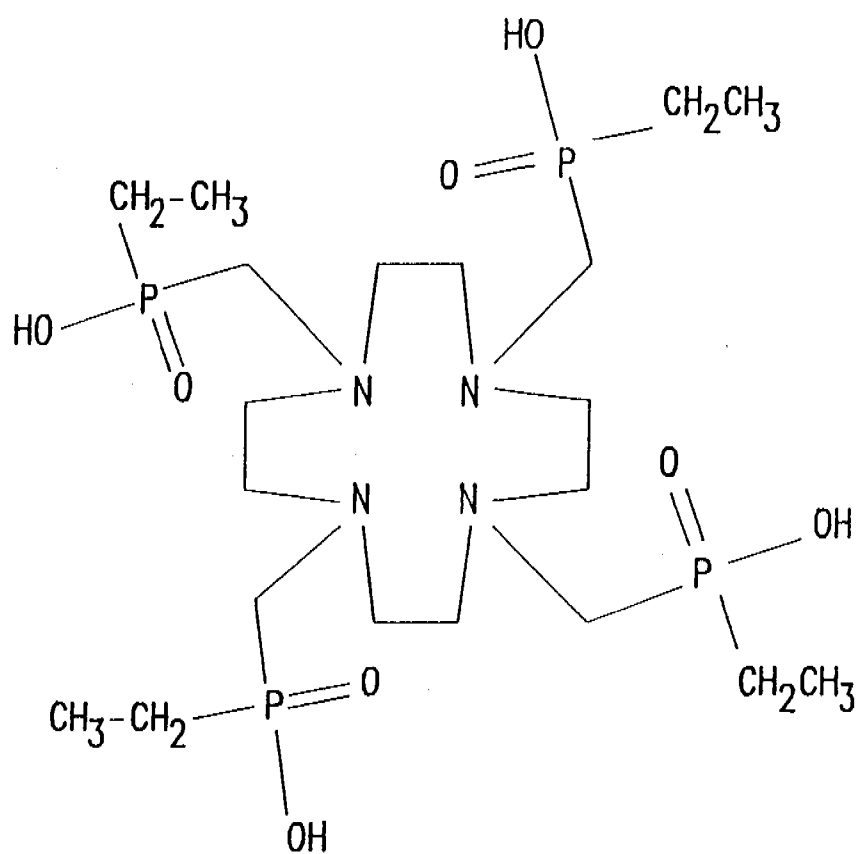


FIG.2

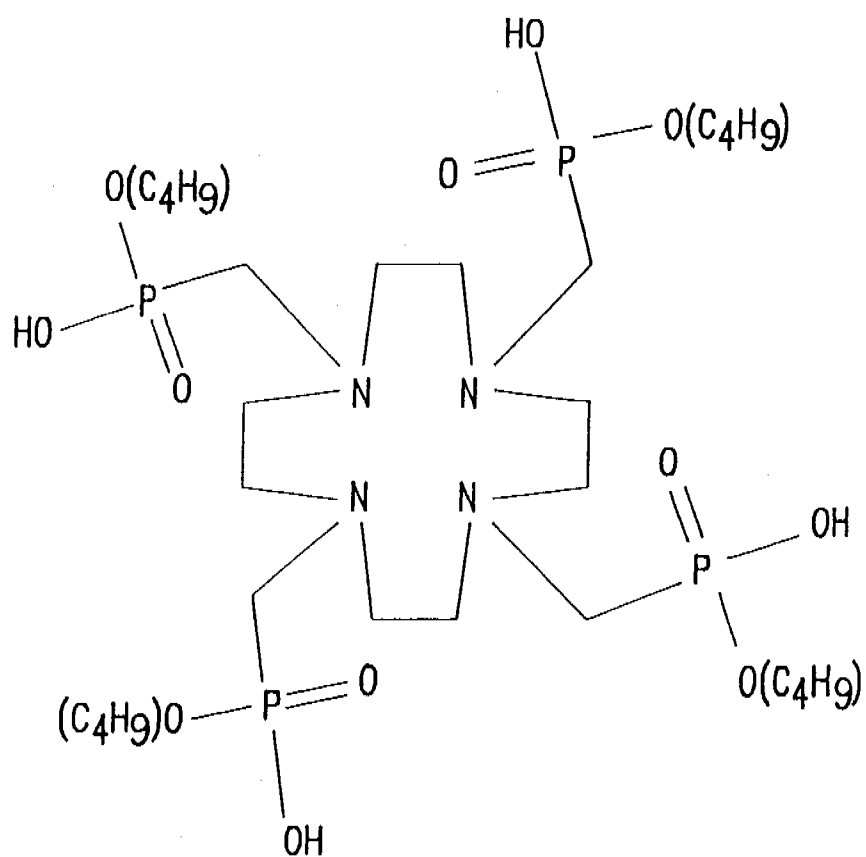


FIG.3