

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3630239号

(P3630239)

(45) 発行日 平成17年3月16日(2005.3.16)

(24) 登録日 平成16年12月24日(2004.12.24)

(51) Int. Cl.⁷

F I

C O 7 K 14/655

C O 7 K 14/655

A 6 1 K 51/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/00

C O 7 K 1/13

C O 7 K 1/13

A 6 1 K 43/00

A 6 1 K 49/02

A

請求項の数 15 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願平8-512813
 (86) (22) 出願日 平成7年10月11日(1995.10.11)
 (65) 公表番号 特表平10-507180
 (43) 公表日 平成10年7月14日(1998.7.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/CA1995/000573
 (87) 国際公開番号 W01996/011954
 (87) 国際公開日 平成8年4月25日(1996.4.25)
 審査請求日 平成14年9月5日(2002.9.5)
 (31) 優先権主張番号 322,880
 (32) 優先日 平成6年10月13日(1994.10.13)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者
 メルク フロスト カナダ アンド カン
 パニー
 カナダ国、ケベック・アシユ・9・アシユ
 ・3・エル・1、カーランド、トランス
 ・カナダ・ハイウェイ・16711
 (74) 代理人
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人
 弁理士 中村 至
 (74) 代理人
 弁理士 船山 武
 (74) 代理人
 弁理士 伏見 直哉

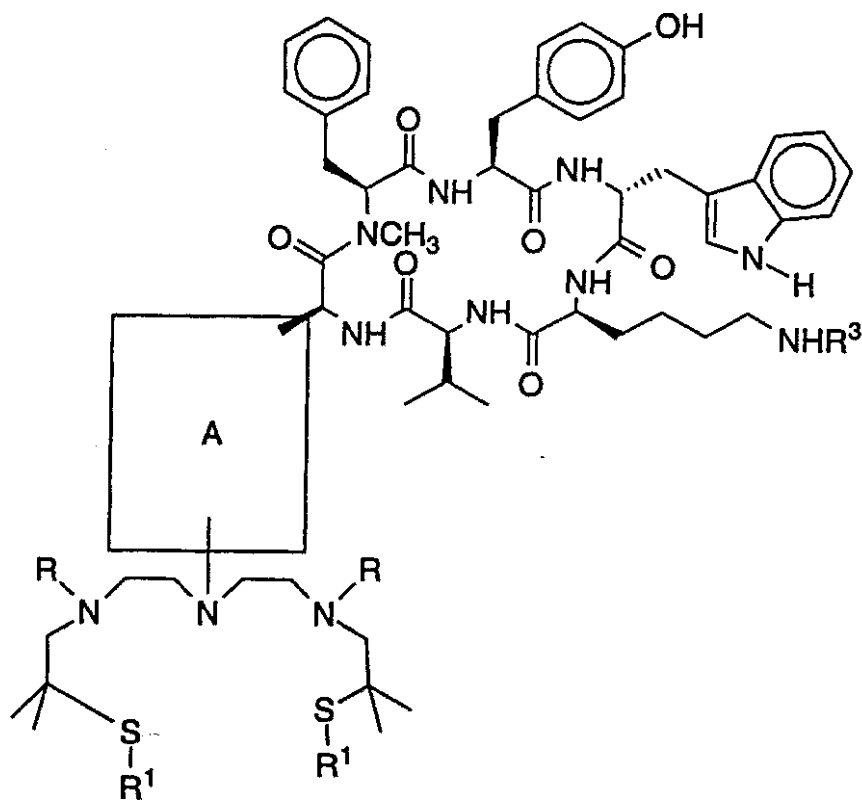
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TC又はREで放射性標識されたソマトスタチン類似体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式：



10

20

〔式中、Rは、水素、1～4個の炭素原子を有する低級アルキル、及び低級アルキルカルボキシル（ここで、低級アルキルは、1～4個の炭素原子を有する）からなる群から選択され；

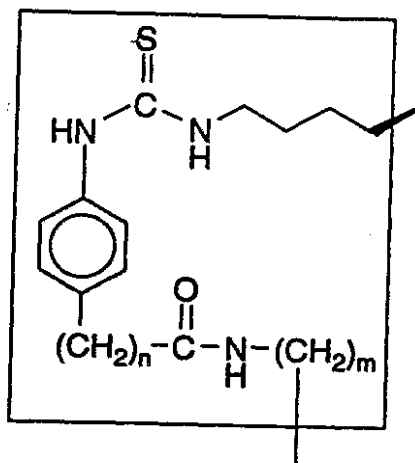
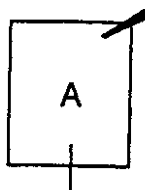
R¹は、水素、硫黄保護基からなる群から選択されるか、あるいは、R¹とR¹が結合して、2つの「S」基間で結合を形成し；

m及びnは独立に1～4の整数であり；

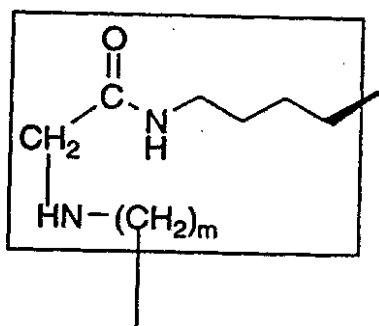
R³は、水素又はアミノ保護基であり；

リンカー：

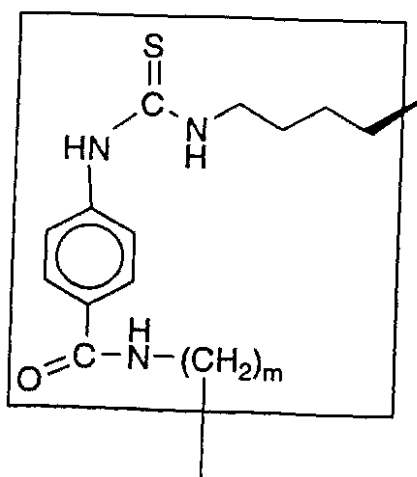
試、



10



20



30

40

からなる群から選択される] の化合物。

【請求項2】

R¹の定義において、硫黄保護基が、p-低級アルキルオキシル(1~4個の炭素原子)ベンジル、p-メトキシベンジル及びトリチルからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

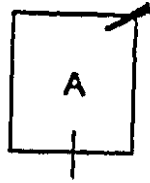
R³の定義において、アミノ保護基が、t-ブトキシカルボニル(t-boc)、フルオレニ

50

ルメトキシカルボニル (Fmoc) 及びイソニコチニルオキシカルボニル (i-Noc) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

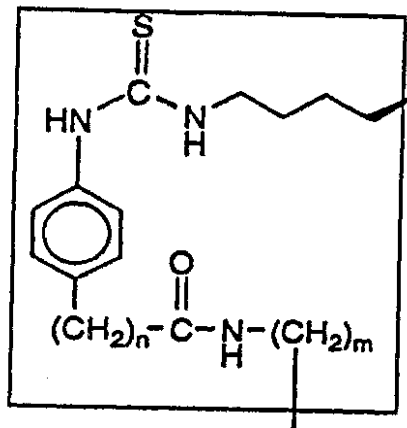
【請求項 4】

リンカー：



が、

10



20

である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R^3 が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

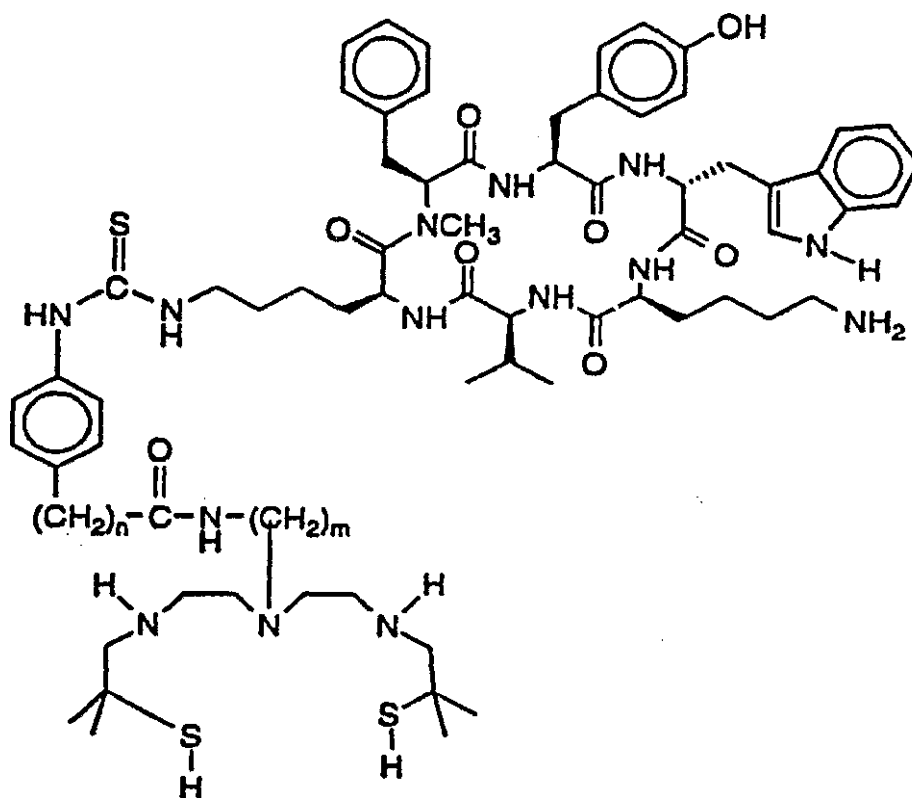
【請求項 6】

Tc - m99 又は Re - 186 に結合してキレートを形成する、請求項 5 に記載の化合物。

30

【請求項 7】

式：



10

20

〔式中、 m 及び n は独立に1～4の整数である〕
の化合物。

【請求項8】

Tc - m99又はRe - 186に結合してキレートを形成する、請求項7に記載の化合物。

【請求項9】

放射性同位体で標識された請求項1、2、3、4、5又は7に記載の化合物を含むラジオイメージング又は放射性医薬品。

【請求項10】

放射性同位体で標識された請求項1、2、3、4、5又は7に記載の化合物を含むキレート

30

ト。

【請求項11】

腫瘍のラジオイメージング又は放射性医薬品での治療に用いるための、請求項1、2、3、4、5、6、7又は8に記載の化合物。

【請求項12】

ラジオイメージング剤又は放射性医薬品の製造における、請求項1、2、3、4、5、6、7又は8に記載の化合物の使用。

【請求項13】

医薬上許容し得る注射又は注入媒体中の、放射性同位体で標識された、請求項1、2、3、4、5又は7に記載の化合物を含む注射又は注入組成物。

40

【請求項14】

医薬上許容し得る担体と組み合わせた、遊離形態又は医薬上許容し得る塩形態の請求項1、2、3、4、5又は7に記載の放射性標識化合物を含む医薬組成物。

【請求項15】

医薬上許容し得る担体と組み合わせた、遊離形態又は医薬上許容し得る塩形態の、放射性同位体で標識された請求項1、2、3、4、5又は7に記載の化合物に結合してキレートを形成したペプチド又はタンパク質を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

過去数年間に、種々のヒト腫瘍、例えば、下垂体腫瘍、神経内分泌系腫瘍、乳房腫瘍、胃

50

腸腺腫瘍及びそれらの転移部においてソマトスタチン受容体が高発現することが証明された。それらの腫瘍のうちには、慣用の診断法では正確な位置がつきとめにくい小型又は遅増殖性腫瘍が含まれている。

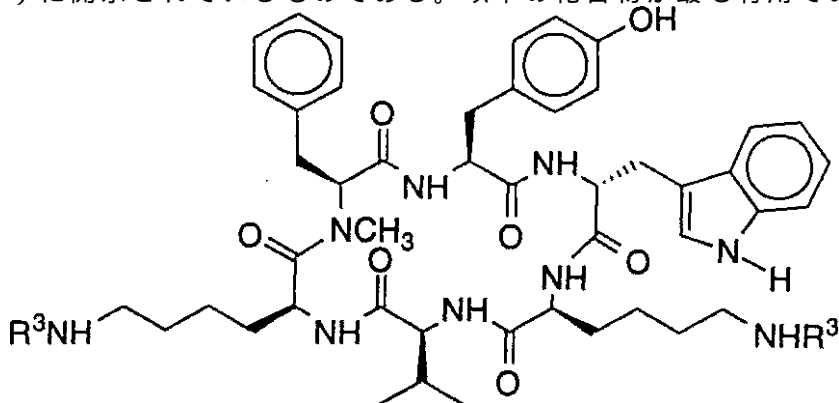
ソマトスタチン受容体の *in vitro* 視覚化は、放射性ヨウ素化ソマトスタチン類似体、例えば、 $[^{125}\text{I} - \text{Tyr}^1]$ ソマトスタチン - 14 [Taylor, J.E. ら, Life Science (1988) 43:421]、又は $[^{125}\text{I}]$ 204 - 090 とも称される $[^{125}\text{I} - \text{Tyr}^3]$ SMS 201 - 995 [Reubi, J.C. ら, Brain Res. (1987) 406:891; Reubi, J.C. ら, J. Clin. Endocr. Metab. (1987) 65:1127; Reubi, J.C. ら, Cancer Res. (1987) 47:551; Reubi, J.C. ら, Cancer Res. (1987) 47:5758] を用いた腫瘍組織のオートラジオグラフィにより行われてきた。

ソマトスタチンペプチドのなかには治療用又は *in vivo* 診断用に有用なものもあるが、医療に一般に用いられている放射性アイソタイプの全てがキレート化又は標識しやすいものであったわけではない。

発明の要旨

本発明によれば、合成ヘキサペプチドは、テクニチウム又はレニウムのような検出可能成分に対する少なくとも1個のキレート化基を保有する二官能リガンドによりキレート化され、さらに、該キレート化は比較的温和な条件下に行われる。

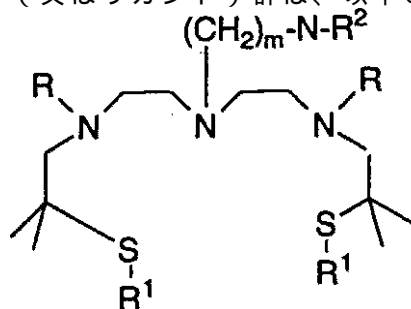
本発明に有用な合成ヘキサペプチドは、Tet. Letters, 第32巻:36,4675 - 4678ページ (1991) に開示されているものである。以下の化合物が最も有用である：



〔式中、 R^3 は、水素か、又は、*t*-ブトキシカルボニル (*t*-boc)、フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) 及びイソニコチニルオキシカルボニル (*i*-Noc) からなる群から選択されるアミノ保護基である〕。

この化合物は、適切な結合部位に結合し得ると共に、放射性核種に結合し得るキレート基を含むという希有な性質を有している。Tc - m99、In - 111、Re - 186又はRe - 188のような金属同位体は、イメージングに関しては、標準的なハロゲン同位体 (I - 123、I - 131、I - 125) より実質的に優れているが、該金属同位体は、該ハロゲン同位体に比べてはるかにペプチドやタンパク質に結合しにくい。

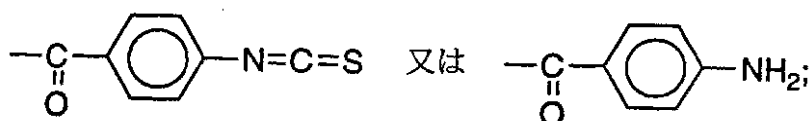
合成ヘキサペプチドは、別発明 (1994年10月13日出願のAttorney Docket 19215, 米特許出願第08/322,881号) である N_3S_2 キレート群によりキレート化し得る。この N_3S_2 キレート (又はリガンド) 群は、以下の構造：



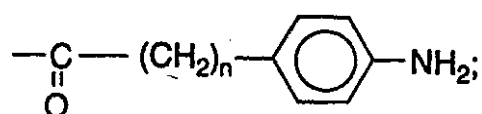
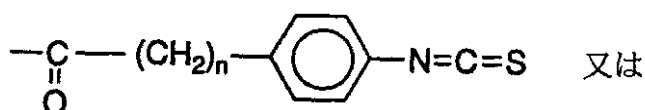
〔式中、R は、水素、1 ~ 4 個の炭素原子を有する低級アルキル、又は低級アルキルカルボキシル (ここで、低級アルキルは1 ~ 4 個の炭素原子を有する) であり；

R¹は、水素、p - 低級アルキルオキシル（1 ~ 4 個の炭素原子）ベンジル（例えば p - メトキシルベンジル、トリチル）のような適当な保護基であるか、あるいは、R¹とR¹が結合して、2つの「S」基間で結合を形成し；

R²は、
=C=S 又は -H₂;



10



20

であってよい遊離アミノ又はイソチオシアナート基であり；
n又はmは独立に、1 ~ 4の整数である）
を有する。

これらのリガンドは、R¹とR¹が結合してジスルフィド結合を形成する環状アプローチか、又はR¹及びR¹が水素若しくは保護基である場合開鎖アプローチを用いて作成する。

環状アプローチでは、低級アルカノールのような適当な溶媒中還流下に、トリス（2 - アミノエチル）アミンと適切なジチオ - ジアルデヒドとを反応させる。場合によってはその後で、環状アミンを第2級アミン基上で反応させて所望のR基を得、次いで、トリエチルアミン及びジクロロメタン中で適切なN - ヒドロキシスクシンイミドエステルと反応させて、R²がアミノ基である化合物を得、場合によってはその後で、チオホスゲンと反応させて、対応イソチオシアナート誘導体を得る。

30

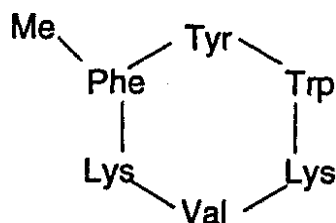
開鎖アプローチは、還流下に、ジエチレントリアミンを、順次、無水フタル酸、p - ニトロベンジルブロミド及び6N HClと反応させて、適切なN - （4 - ニトロベンジル） - ビス - （2 - フタルイミドエチル）アミンを得、次いで、これにペンダント封鎖基を結合させ、所望ならその後で、アミノ基と反応させイソチオシアナートにするものである。

次いで、N₃S₂リガンドを、メタノール性溶液中でグルコヘプトナート試薬（市販されている）のような放射性同位体と反応させ、40 - 80 °Cで1 ~ 4時間加熱することにより、適切な放射性同位体で標識し得る。あるいは、N₃S₂リガンドを適切なペプチド又はタンパク質と結合させ、次いで類似の手順を用いて放射性標識してもよい。

40

従って、N₃S₂リガンドは、標識後にラジオイメージング剤として又は適切な腫瘍を治療するための放射性医薬品として有用である。最初にリガンドをペプチド又はタンパク質と結合させる場合、ペプチド又はタンパク質のアミノ基と反応させるために、先ずR²にイソチオシアナート基を導入し、その後で、適切な放射性標識物質でキレート化する。

先に述べたように、リガンドを、所望の合成ヘキサペプチド、好ましくは：



と結合させる。

好ましい放射性同位体は、レニウム又はテクネチウムのうちの1種、好ましくは、それぞれ、Re - 186又はTc - m99である。

いかなる検出可能成分であってもよい他の放射性同位体を用いてもよい。検出可能成分とは、治療法又はin vivo診断法で検出可能な特性を示す任意の成分、好ましくは、金属イオン、例えば、検出可能な放射線を放出する金属イオンか又はNMR緩和特性に影響を与え得る金属イオンを意味する。

適当な検出可能金属イオンには、例えば、CATスキャン(コンピューター体軸断層撮影法)に用いられるような、重金属成分又は希土類金属イオン、常磁性金属イオン、例えば、 Gd^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 及び Cr^{2+} 、蛍光金属イオン、例えば、 Eu^{3+} 、及び放射性核種、例えば、

線放出放射性核種、線放出放射性核種、線放出放射性核種、ポジトロン放出放射性核種(例えば、 ^{68}Ga)が含まれる。

本発明の化合物は、標準テストにより示されるように、常磁性金属イオン、線放出金属イオン又はポジトロン放出放射性核種との錯体を形成する場合には、例えば、特定の(ペプチド)受容体陽性腫瘍及びその転移部を視覚化するためのイメージング剤として、また、線若しくは線放射性核種との錯体を形成する場合には、(ペプチド)受容体陽性腫瘍及びその転移部のin vivo治療用の放射性医薬品として有用である。

ラジオイメージングする器官又は系に特異的な放射性同位体を選択する。例えば、過去数年間に、種々のヒト腫瘍、例えば、下垂体腫瘍、中枢神経系腫瘍、乳房腫瘍、胃腸膵腫瘍及びそれらの転移部においてソマトスタチン受容体が高発現することが証明された。それらの腫瘍のうちには、慣用の診断法では正確な位置がつきとめにくい小型又は遅増殖性腫瘍が含まれているが、ソマトスタチンのin vitro視覚化は、放射性ヨウ素化ソマトスタチン類似体を用いた腫瘍組織のオートラジオグラフィーによって行われてきた。

イメージング剤として用いる場合、本発明の化合物は、非経口的に、好ましくは静脈内に、例えば注射用溶剤又は懸濁剤の形態で、好ましくは一回の注射で投与し得る。適切な用量は、例えば、的確なキレート化リガンド及び用いられる検出可能成分、例えば放射性核種のタイプに応じて異なるのは勿論である。注射に適当な用量は、当業界では公知のフォトスキャン手順によりイメージングし得る範囲である。0.1~50mCi、好ましくは0.1~30mCi、より好ましくは0.1~20mCiの放射能を有する用量で投与するのが有利であろう。望ましい用量範囲は、用いられる線放出放射性核種に応じて、0.1~50mCi、好ましくは0.1~30mCi、例えば、3~15mCiの線放出放射性核種で標識した化合物1~200 μ gであろう。

腫瘍形成部位に該化合物が豊富であるかどうかは、対応するイメージング法に従い、例えば、それぞれ好ましくはコンピューター支援された、スキャナー、線カメラ、回転式線カメラ;PETスキャナー(ポジトロン放出断層撮影);MRI装置又はCATスキャン装置のような核医学イメージング器具を用いて調べることができる。

本発明の化合物は、ペプチド受容体陽性腫瘍及びその転移部のin vivo治療を要する患者の治療にも用い得、該治療は、該患者に、治療上有効量の該化合物を投与することを含む。

本発明の治療法を実施する際に用いられる用量は、例えば、治療すべき特定の症状、例えば、腫瘍の大きさ、用いられる特定の化合物、例えば、腫瘍における該化合物の半減期、並びに、所望の療法に応じて異なることは勿論である。一般に、該用量は、各器官に対する放射能分布及び検出された標的の取り込み量に基づいて計算する。例えば、該化合物は、1日当たり、体重1kgにつき、0.1~3mCi、例えば、1~3mCi、好ましくは、1~1.5mCi

の放射能を有する用量範囲で投与し得る。1日当たりの望ましい用量範囲は、体重1kgにつき、0.1~3mCi、例えば、0.1~1.5mCiの線又は線放出放射性核種で標識されたりガンダ1~200 μ gであり、該用量を1日に4回までの用量に分割して投与するのが便宜的である。

これらの化合物は、慣用の経路で、特に非経口的に、例えば、注射用溶剤又は懸濁剤の形態で投与し得る。該化合物は、注入、例えば、30~60分かけた注入により投与するのも有利である。腫瘍が形成された部位によっては、該化合物を、腫瘍部位のできるだけ近くに、例えば、カテーテルを介して投与し得る。投与モードは、用いられる化合物の解離速度及び分泌速度に応じて選択し得る。

これらの化合物は、遊離形態でも、慣用的に製造し得且つ遊離化合物と同程度の活性を示す塩のような医薬上許容し得る形態でも投与し得る。

本発明の方法に用いる化合物は、患者に投与する直前に調剤するのが好ましい。即ち、所望の検出可能な金属イオン、特に、所望の線、線又は線放射放射性核種による放射性標識を投与の直前に実施する。

さらに、該化合物は、下垂体、胃腸膵、中枢神経系、乳房、前立腺、卵巣又は結腸の腫瘍、小型細胞肺癌、パラガングリオーマ、神経芽腫、褐色細胞腫、髄様甲状腺ガン、骨髄腫などやその転移部、またリンパ腫のような腫瘍のイメージング又は治療に適している。本発明は、他の態様により、

(i) 遊離形態若しくは医薬上許容し得る塩形態の本発明の放射性標識化合物と共に、1腫以上の医薬上許容し得る担体若しくは希釈剤を含む医薬組成物；又は

(ii) 遊離形態若しくは医薬上許容し得る塩形態の本発明のキレート-ペプチド化合物と共に、1腫以上の医薬上許容し得る担体若しくは希釈剤を含む医薬組成物を提供する。

そのような組成物は慣用的に製造し得る。

本発明の組成物は、キレート-ペプチド化合物と金属イオンの混合についての説明書、及び得られた放射性標識化合物の投与についての説明書を添えた別々のパッケージとして提供し得る。該組成物は、ツインパック形態、即ち、別々の単位用量のリガンドと検出可能な金属イオンとを含む1つのパッケージとして、両成分の混合及び得られた生成物の投与についての説明書を添えて提供してもよい。該単位剤形は希釈剤又は担体を含んでいてもよい。

実験

材料及び方法：特に断りのない限り、全ての反応は、オープン乾燥したフラスコ中、アルゴン雰囲気下に、室温で、磁気攪拌しながら実施した。有機溶媒は、抽出後にMgSO₄で脱水、濾過し、ロータリーエバポレーター上で減圧下に除去した。試薬用溶媒、出発物質及び重水素化溶媒は、Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) から購入し、それ以上精製せずに用いた。

Bruker Model AM 500、AM 400、及びAM 300で¹H NMRスペクトルを得た。試料をCDCl₃、MeOD₄又はDMSO-d₆に溶解し、内部基準として溶媒即ちテトラメチルシラン共鳴を用い、化学シフトは値で表した。多重度は、s(一重項)、d(二重項)、t(三重項)、q(四重項)及びm(多重項)として表す。共鳴線の相対ピーク高は多重度に従って整数で表す。¹³C NMRスペクトルは、75.5MHzのBruker AM-300分光計で記録し、各炭素原子の置換度は、完全デカップリング及びDEPT構成135°パルス系列実験により測定した。¹³Cの場合、炭素及びプロトン信号は、ヘテロ相互作用実験により決定した。

赤外(IR)スペクトル(溶液セル-溶媒としてCDCl₃)をPerkin Elmer 681赤外スペクトル分光光度計で記録した。融点は、Thomas Hoover毛管融点測定装置で測定したが、補正はしていない。質量分析(MS)は、Finnigan 4500単一四重極質量分析計を用い、CI(メタンガス)又はFABモードで記録し、Oneidu Research Services, Inc. (Whitesboro, NY)に従って行った。フラッシュクロマトグラフィーは、固定相としてMerckシリカゲル60(230-400メッシュ)を用い、以下の溶媒：メタノール(M)、塩化メチレン(C)、水酸化アンモニウム(H)を用い、実質的に文献1に記載のように実施した。

第 1 部 : N_3S_2 キレートへの環状アプローチ N_3S_2 - イソチオシアナート (11) TPPBIの合成

3,3,13,13 - テトラメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザシクロトリデカン - 8 - イル - エタンアミン (4)

丸底フラスコに、トリス (2 - アミノエチル) - アミン (1) (989mg, 6.76mmol)、参考文献 (2b) に従って調製した、ジチオジイソブチルアルデヒド (2) (1,380mg, 6.69mmol) 及びエタノール (200ml) を装入した。混合物を室温で1.5時間攪拌し、次いで、3時間還流させた。冷却後、揮発性物質を真空除去して、ガラス固体として粗ジイミン 3 を得た。ジイミン 3 の 1H NMR 分析により、7.58ppm に集中した 3 つの単重項 (17:67:17) を得、イミンの形成を確認した。

10

還流エタノール (200ml) 中の粗ジイミン 3 に、ホウ水素化ナトリウム (1.346g, 35.58mmol) を 2 部にわけ、3.5時間かけて加えた。反応混合物を合計17時間還流させ、アセトン (100ml) を加えて、過剰な試薬を破壊した。冷却後、溶媒を真空除去し、水を加え、生成物を 5% MeOH/CH₂Cl₂ で抽出した。有機層を脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、黄色油状物を得た。該油状物を、82.5% C/15.0% M/2.5% H を用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、薄黄色の粘性油状物としてアミン 4 (1.268g, 収率59.5%) を得た。

1H NMR (CDCl₃ 中) : 2.83 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NH₂), 2.72 (s, 4H, 2N - CH₂ - C - S), 2.70 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH), 2.58 (m, 4H, 2N - CH₂ - CH₂ - NH), 2.50 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NH₂), 1.73 (広幅 s, 4H, 4NH), 1.33 (s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm。 ^{13}C NMR (CDCl₃ 中) : 59.2 (t, 2NH - CH₂ - C - S), 56.6 (t, N - CH₂CH₂ - NH₂), 54.5 (t, 2N - CH₂CH₂ - NH), 50.5 (s, 2CH₃ - C - S), 47.4 (t, 2N - CH₂CH₂ - NH), 39.6 (t, N - CH₂CH₂ - NH₂), 27.4 (q, 4CH₃ - C - S) ppm。 MS (m/z, Cl) : 321 (100, M⁺ + 1)。 IR (CDCl₃) : 3350, 2940, 2820, 1455, 1360, 1120cm⁻¹。

20

3,3,13,13 - テトラメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザシクロトリデカン - 8 - イル - (2 - N - フタロイル) - エタンアミン (5)

丸底フラスコに、アミン 4 (111.2mg, 0.347mmol)、N - カルボエトキシフタルイミド (108.3mg, 0.494mmol) 及びジクロロメタン (10ml) を装入した。反応混合物を室温で1時間攪拌し、溶媒を真空除去した。残渣を、90% C/9.5% M/0.5% H を用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、黄色っぽい油状物としてフタレート 5 (119.2mg, 76.3%) を得た。

30

1H NMR (CDCl₃ 中) : 7.86 (m, 2H, H₂ 及び H₅ - Ar), 7.71 (m, 2H, H₃ 及び H₄ - Ar), 3.84 (t, J = 6.4Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NPhth), 2.81 (t, J = 6.4Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NPhth), 2.69 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH), 2.66 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH), 2.59 (s, 4H, 2N - CH₂ - C - S), 1.87 (広幅 m, 2H, 2NH), 1.23 (s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm。 ^{13}C NMR (CDCl₃ 中) : 168.1 (s, 2CO), 133.7 (d, C₃ 及び C₄ - Ar), 131.9 (s, C₁ 及び C₆ - Ar), 123.3 (d, C₂ 及び C₅ - Ar), 58.7 (t, 2NH - CH₂ - C - S), 53.9 (t, 2N - CH₂CH₂ - NH), 52.8 (t, N - CH₂CH₂ - NPhth), 50.2 (s, 2CH₃ - C - S), 47.6 (t, 2N - CH₂CH₂ - NH), 35.8 (t, N - CH₂CH₂ - NPhth), 27.3 (q, 4CH₃ - C - S) ppm。 MS (m/z, Cl) : 451 (100, M⁺ + 1)。 IR (CDCl₃) : 3400, 2950, 2810, 1770, 1705, 1465, 1395cm⁻¹。

3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザシクロトリデカン - 8 - イル - エタンアミン (7)

40

丸底フラスコに、フタレート 5 (775.7mg, 1.72mmol)、ギ酸 (10ml, 265mmol) 及びホルムアルデヒド (水中37重量%, 15ml, 200mmol) を装入した。反応混合物を20時間還流させ、次いで、冷却し、溶媒を真空除去した。固体残渣に10% KOH 溶液を加え、化合物を 5% MeOH/CH₂Cl₂ で抽出した。有機溶媒を脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、粘性油状物として粗な 6 を得た。

丸底フラスコに、粗 6、ヒドラジン - 水和物 (1ml, 20.6mmol) 及びエタノール (40ml) を加えた。反応混合物を20時間還流させ、次いで冷却した。溶媒を真空除去し、水を加え、残渣を 5% MeOH/CH₂Cl₂ で抽出した。有機溶媒を脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、黄色っぽい粘性油状物を得た。粗生成物を、80% C/19.5% M/1.0% H を用いるフラッシュ

50

クロマトグラフィーにかけ、薄黄色の油状物としてジメチルテトラアミン 7 (375mg, 4 からの全収率62.4%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 中) : 2.78 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH_2CH_2 - NH_2), 2.72 (t, J = 5.5Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 2.63 (s, 4H, 2N - CH_2 - C - S), 2.60 (t, J = 5.5Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NC_2H_5), 2.42 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH_2CH_2 - NH_2), 2.36 (s, 6H, 2N CH_3), 1.77 (広幅s, 2H, NH_2), 1.28 (s, 12H, 4 CH_3 - C - S) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 中) : 67.2 (t, 2N - CH_2 - C - S), 57.9 (t, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 55.6 (t, N - CH_2CH_2 - NH_2), 52.1 (t, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 51.3 (s, 2 CH_3 - C - S), 45.1 (q, 2N CH_3), 39.5 (t, N - CH_2CH_2 - NH_2), 27.4 (q, 4 CH_3 - C - S) ppm. MS (m/z, CI) : 349 (100, $\text{M}^+ + 1$). IR (CDCl_3) : 2960, 2800, 1455, 1355, 1310, 1100 cm^{-1} .

10

4 - アミノ - N - [2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザシクロ - トリデカン - 8 - イル) エチル] ベンズアミド (10)

丸底フラスコに、ジメチルテトラアミン 7 (514.9mg, 1.48mmol)、tBoc - p - アミノベンゾイル N - ヒドロキシルスクシンイミドエステル (8) (493.8mg, 1.48mmol, 参考文献3に従って調製)、トリエチルアミン (0.21ml, 1.51mmol) 及びジクロロメタン (40ml) を装入した。反応混合物を室温で12時間攪拌し、溶媒を真空除去して、粗な 9 を得た。

丸底フラスコに、粗 9、ジクロロメタン (10ml) 及びトリフルオロ酢酸 (10ml) を加え、得られた混合物を室温で1時間攪拌した。溶媒を真空除去し、残渣を、94.5% C/5.0% M/0.5% Hを用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけて精製し、黄白色の固体としてアニリン 10 (345.8mg, ジメチルテトラアミン 7 からの全収率50.8%) を得た。

20

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 中) : 7.65 (d, J = 8.6Hz, 2H, H_2 及び H_6 - Ar), 6.87 (広幅s, 1H, $\text{NH} - \text{CO}$), 6.67 (d, J = 8.6Hz, 2H, H_3 及び H_5 - Ar), 3.95 (s, 2H, NH_2), 3.49 (t, J = 5.4Hz, 2H, N - CH_2CH_2 - NCO), 2.74 (m, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 2.65 (m, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 2.61 (s, 4H, 2N - CH_2 - C - S), 2.53 (t, J = 5.4Hz, 2H, N - CH_2CH_2 - NCO), 2.30 (s, 6H, 2N CH_3), 1.29 (s, 12H, 4 CH_3 - C - S) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 中) : 167.1 (s, NHCO), 149.6 (s, C_1 - Ar), 128.6 (d, C_3 及び C_5 - Ar), 123.9 (s, C_4 - Ar), 113.9 (d, C_2 及び C_6 - Ar), 67.2 (t, N - CH_2 - C - S), 57.6 (t, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 53.7 (t, N - CH_2CH_2 - NHCO), 53.4 (s, 2 CH_3 - C - S), 51.4 (t, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 45.0 (q, 2N CH_3), 37.0 (t, N - CH_2CH_2 - NHCO), 27.2 (q, 4 CH_3 - C - S) ppm. MS (m/z, FAB) : 468.2 (100, $\text{M}^+ + 1$). IR (CDCl_3) : 3405, 2960, 2800, 1620, 1495, 1280, 1100, 835 cm^{-1} .

30

4 - イソチオシアナート - N - [2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザシクロトリデカン - 8 - イル) エチル] ベンズアミド (11) [TPPBI] アニリン 10 (53.3mg, 0.114mmol) 及びジクロロメタン (5ml) を含有する丸底フラスコに、ジクロロメタン中のチオホスゲン (0.60ml, 0.120mmol) の0.2007M溶液を加えた。不均一反応混合物を室温で1時間攪拌し、溶媒を真空除去して、赤みがかった固体としてイソチオシアナート 11 (67.8mg, 116%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO} - d_6$ 中) : 8.88 (広幅s, 1H, $\text{NH} - \text{CO}$), 7.99 (d, J = 8.4Hz, 2H, H_2 及び H_6 - Ar), 7.54 (d, J = 8.4Hz, 2H, H_3 及び H_5 - Ar), 3.49 (m, 2H, N - CH_2CH_2 - NCO), 3.40 (m, 8H, 2N - CH_2CH_2 - NCH_3), 3.01 (s, 4H, 2N - CH_2 - C - S), 2.89 (s, 6H, 2N CH_3), 2.71 (m, 2H, N - CH_2CH_2 - NCO), 1.45 (s, 12H, 4 CH_3 - C - S) ppm. MS (m/z, CI) : 510 (100, $\text{M}^+ + 1$). IR (CDCl_3) : 3400, 2960, 2100, 1640, 1600, 1545, 1500, 1470, 1300 cm^{-1} .

40

Somatoscan (Fmoc) TPPBI (13) の調製

5ml容量のReacti - Vial (Pierce) 中で、重炭酸/リン酸緩衝液 (0.2M, pH8.2, 100 μl , 調製直後) を加えながら、Somatoscan - Fmoc (12) [シクロ (Trp - Lys (Fmoc) - Val - Lys - NMe - Phe - Tyr)] (1.97mg, 1.515 μmol)、TPPBI (11) (8.4mg, 16.495 μmol) 及びDMF (400 μl) を攪拌した。不均一溶液をHPLCでモニターし、室温で4時間攪拌した。溶媒を真空除去し、残渣を1N HCl (300 μl) とMeOH (100 μl) に分配した。該溶液を、30% 100% 勾配のアセトニトリル : 水 (0.1% TFAを含む) を用いるHPLC (Hamilton PRP - 1 1 2 - 20 μm 分取カラム 250 \times 21.5mm) に40分 (流速12ml/分) かけて精製し、純粋Somatoscan (Fmoc) - TPPBI (13) ($R_t = 20.64$ 分) を得た。

50

MS (Electrospray, Hypermass) 799.4 ($z = 2$) ; 化学物の質量 : 計算値 = 1596.8 ; 実測値 = 1597.8。

第2部 : N_3S_2 キレートへの非環状アプローチ

非環状ジメルカプトアニシジンアリアルイソチオシアナートの合成

開鎖 N_3S_2 - アリアルイソチオシアナート (21) の合成ビス (2 - フタルイミドエチル) アミン (15)

これは、参考文献4に従って調製した。

無水フタル酸 (32g, 0.22mol) を333mlの温クロロホルムに溶解し、混合物を濾過してフタル酸^{*}を除去した。クロロホルム (64ml) に溶解したジエチレントリアミン¹⁴ (7.97g, 0.077mol) の溶液を、50 の温度に維持した無水フタル酸混合物にゆっくり (50分かけて) 加えた。添加終了後、温度を110 に上げた。次いで、反応混合物を48時間攪拌し、ゆっくり濃縮した。次いで、濃縮溶液を活性炭で処理した。減圧下に溶媒を蒸発させて、31.8gの黄色固体を回収した。該固体を、順次、エーテル、エタノールですり碎き、次いで、塩化メチレンに溶解した。塩化メチレン溶液を10%炭酸ナトリウム (3 × 500ml)、水及び飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水、濾過、減圧下に蒸発乾涸して、薄黄色の固体 (14.47g, 52%) を得た。該生成物の一部 (4.45g) を、溶離系として塩化メチレン、酢酸エチル及びトリエチルアミン (79/20/1) を用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけて精製し、2.798gのビス (フタルイミドエチル) アミン (15) を得た。

^{*} 6.96gのフタル酸を回収した。

¹H NMR (CDCl₃中) : 7.70 (m, 8H, H - Ar (phth)), 3.77 (t, J = 6Hz, 4H, -NH (-CH₂ - C H₂ - NPhth))₂), 2.95 (t, J = 6Hz, 4H, -NH (-CH₂ - CH₂ - NPhth))₂), 1.41 (広幅, 1H, -NH (-CH₂ - CH₂ - NPhth))₂) ppm。IR (CDCl₃/NaCl中) : 3460 (N - H, w, sec - アミン) , 2940 - 2820 (C - H) , 1770 - 1710 (C = O, Phth) , 1465, 1425, 1390, 1360, 1185, 1035cm⁻¹。MS (EI; m/z) : 363 (0.4, M⁺) , 364 (4, M⁺ + 1) , 216 (3, M⁺ - Phth) , 204 (18) , 203 (100, M⁺ - (Phth - CH₂^o)) , 174 (57, Phth - CH₂ - CH₂⁺) , 160 (5) , 147 (6) , 130 (12) , 56 (6)。

N - (4 - ニトロベンジル) ビス (2 - フタルイミドエチル) アミン (16)

(参考文献4参照) 250ml容量の丸底フラスコ中で、水酸化カリウム (1.6g, 28mmol) を温エタノール (100ml) に溶解した。該エタノール性溶液に、ビス (2 - フタルイミドエチル) アミン (15) (10.02g, 28mmol) を加えた。溶液を磁気攪拌し、2時間半還流させた後、p - ニトロベンジルプロミド (5.95g, 28mmol; 1当量) を加えた。反応混合物をさらに16時間加熱還流させ、次いで、温濾過した。得られた固体を無水エタノールで洗浄し、真空乾燥して、7.441g (54%) の白色固体 (p - ニトロベンジルビスフタルイミド) を得た。濾液を減圧下に蒸発させて、8.19gの黄色固体を得た。この残渣を、溶離剤として塩化メチレン - メタノール (98/2) 系を用いるフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル: 400g) にかけて精製し、3.13g (23%) の所望生成物を得た。アルキル化反応により、10.571gのN - (4 - ニトロベンジル) ビス (2 - フタルイミドエチル) アミン (16) を得た。

¹H NMR (CDCl₃中) : 7.70 (m, 10H, H - Ar (Phth) + o (H) - Ar - NO₂) , 7.20 (d, J = 9 Hz, 2H, m (H) - Ar - NO₂) , 3.75 (t, J = 6Hz, 4H, -NH (-CH₂ - CH₂ - NPhth))₂) , 3.71 (s , 2H, -N - CH₂ - Ar - NO₂) , 2.80 (t, J = 6Hz, 4H, -NH (-CH₂ - CH₂ - NPhth))₂) ppm。MS (EI; m/z) : 498 (1, M⁺) , 499 (0.6, M⁺ + 1) , 362 (1, M⁺ - °CH₂Ar - NO₂) , 339 (32, M⁺ + 1 - (Phth - CH₂^o)) , 338 (100, M⁺ - (Phth - CH₂^o)) , 324 (2, M⁺ - (Phth - CH₂ - CH₂^o)) , 174 (58, Phth - CH₂ - CH₂⁺) , 173 (42) , 165 (6) , 163 (8) , 161 (6) , 160 (43) , 149 (12) , 136 (24) , 130 (12) , 106 (21) , 105 (12) , 104 (17) , 90 (22) , 89 (18) , 78 (23) , 77 (21) , 76 (12)。

N - (4 - ニトロベンジル) ビス (2 - フタルイミドエチル) アミンの加水分解

冷却器を備えた250ml容量の丸底フラスコに、N - (4 - ニトロベンジル) ビス (2 - フタルイミドエチル) アミン (16) (2.80g, 5.62mmol) 及び6N塩酸 (150ml) を導入し

10

20

30

40

50

た。反応混合物を攪拌し、23時間還流させた。溶液を氷浴で冷却し、濾過した。濾液をエーテル（3 × 100ml）で洗浄し、真空脱水して、黄色泡状物（2.17g）を得た。残渣を水（10ml）に溶解し、該溶液のpHを、1N水酸化ナトリウム溶液（25ml）で塩基性とした。次いで、混合物を塩化メチレン（3 × 75ml）で抽出した。有機抽出物を合わせ、硫酸マグネシウムで脱水、濾過、蒸発乾涸して、薄いオレンジ色（経時的に暗赤色に変化）の油状物としてN - （4 - ニトロベンジル）ビス（2 - アミノエチル）アミン（17）1.347gを得た。

注：p - ニトロベンジルトリアミン（17）は、短期間の場合は、アルゴン不活性雰囲気下に暗所で貯蔵する。長期にわたる貯蔵の場合は、該化合物を塩酸塩の形態で維持する方がよい。

^1H NMR（ CDCl_3 中）： 8.13（d, J = 9Hz, 2H, o（H） - Ar - NO_2 ）, 7.46（d, J = 9Hz, 2H, m（H） - Ar - NO_2 ）, 3.65（s, 2H, - N - CH_2 - Ar - NO_2 ）, 2.74（t, J = 6Hz, 4H, - N（- CH_2 - CH_2 - NH_2 ）₂）, 2.50（t, J = 6Hz, 4H, - N（- CH_2 - CH_2 - NH_2 ）₂）, 1.43（広幅s, 4H, - N（- CH_2 - CH_2 - NH_2 ）₂）ppm。IR（フィルム）：3370 - 3290（N - H, - NH_2 ）, 2940 - 2800（C - H）, 1605（C = C, Ar）, 1510（N = O, Ar）, 1450, 1340（N = O, Ar）, 1105, 1010, 850（C - N, Ar - NO_2 ）, 730 cm^{-1} 。

N - 4 - アミノベンジル - ジエチレントリアミン（18）

これは、参考文献4に従って調製した。

^1H NMR（ CDCl_3 中）： 7.08（d, J = 8.3Hz, 2H, H_3 及び H_5 - Ar）, 6.64（d, J = 8.3Hz, 2H, H_2 及び H_6 - Ar）, 3.62（広幅s, 2H, Ar - NH_2 ）, 3.48（s, 2H, N - CH_2 - Ar）, 2.74（t, J = 6.0Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NH_2 ）, 2.50（t, J = 6.0Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NH_2 ）, 1.52（広幅s, 4H, 2 NH_2 ）ppm。

N,N - ビス[2 - （（4 - メトキシベンジル）チオ） - 2 - メチル - プロピオニル] - N - （4 - アミノベンジル） - ジエチレントリアミン（20）

エタノール（20ml）に溶解したアニリン18（23）0mg, 1.10mmol, 調製直後のもの）の溶液に、ジクロロメタン（10ml）に溶解した2 - [（p - メトキシ - ベンジル）チオ] - 2 - メチルプロピオン酸クロリド19（1.33g, 5.10mmol, 参考文献5に従って調製）の溶液を15分かけて加えた。得られた溶液を48時間攪拌し、溶媒を真空除去し、1N NaOHを加え、生成物を CH_2Cl_2 で抽出した。有機層を水で洗浄し、脱水（ MgSO_4 ）、濾過、真空濃縮して、赤色油状物を得た。該油状物を、5% MeOH/ CH_2Cl_2 を用いるフラッシュクロマトグラフィ

ーにかけ、黄色油状物としてアニリン20（126mg, 収率17.5%）を得た。
 ^1H NMR（ CDCl_3 中）： 7.15（d, J = 8.6Hz, 4H, 2 H_3 及び H_5 - Ar - OCH_3 ）, 7.07（t, J = 8.2Hz, 2H, H_3 及び H_5 - Ar - NH_2 ）, 7.07（m, 2H, 2NHC O）, 6.78（d, J = 8.6Hz, 4H, 2 H_2 及び H_6 - Ar - OCH_3 ）, 6.58（d, J = 8.2Hz, 2H, H_2 及び H_6 - Ar - NH_2 ）, 3.74（s, 6H, 2 CH_3O ）, 3.72（広幅s, 2H, NH_2 ）, 3.65（s, 4H, 2S - CH_2 - Ar）, 3.49（s, 2H, N - CH_2 - Ar）, 3.24（q, J = 5.9Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NHC O）, 2.55（t, J = 6.2Hz, 4H, 2N - CH_2CH_2 - NHC O）, 1.50（s, 12H, 4 CH_3 - C - S）ppm。

^{13}C NMR（ CDCl_3 中）： 174.6（s, 2NCO）, 158.9（s, 2 C_1 - Ar - OCH_3 ）, 146.0（s, C_1 - Ar - NH_2 ）, 130.2（d, C_3 及び C_5 - Ar - NH_2 + 2 C_3 及び C_5 - Ar - OCH_3 ）, 129.6（s, 2 C_1 及び C_4 - Ar - OCH_3 ）, 129.1（s, C_4 - Ar - NH_2 ）, 115.4（d, C_2 及び C_6 - Ar - NH_2 ）, 114.3（d, 2 C_2 及び C_6 - Ar - OCH_3 ）, 58.3（t, N - CH_2 - Ar）, 55.5（q, 2 CH_3O ）, 53.0（t, 2N - CH_2CH_2 - NHC O）, 50.3（s, 2S - C - CH_3 ）, 37.8（t, 2N - CH_2CH_2 - NHC O）, 34.4（t, 2S - CH_2 - Ar）, 27.1（q, 4 CH_3 - C - S）ppm。MS（m/z, FAB）：653.5（100, MH^+ ）。IR（ CDCl_3 ）：3380, 3000, 2930, 2835, 1665, 1510, 1245, 1195, 1175, 1035 cm^{-1} 。

N,N - ビス[2 - （（4 - メトキシベンジル）チオ） - 2 - メチル - プロピオニル] - N - （4 - イソチオシアナートベンジル） - ジエチレントリアミン（21）

アニリン20（55.7mg, 0.0853mmol）及びジクロロメタン（5ml）を充填した丸底フラスコに、ジクロロメタン中のチオホスゲン（0.42ml, 0.0845mmol）の0.2011M溶液を加えた。不均一反応混合物を室温で1時間攪拌し、溶媒を真空除去して、茶色の固体としてイソチオシアナート21（68.9mg, 116%）を得た。

^1H NMR（ CDCl_3 中）： 7.72（m, 2H, 2NHC O）, 7.65（d, J = 8.3Hz, 2H, H_2 及び H_6 - Ar - NCS）, 50

10

20

30

40

7.25 (t, J = 8.3Hz, 2H, H₃ 及び H₅ - Ar - NCS), 7.17 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₃ 及び H₅ - Ar - OCH₃), 6.80 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₂ 及び H₆ - Ar - OCH₃), 4.14 (s, 2H, N - CH₂ - Ar), 3.77 (s, 6H, 2CH₃O), 3.70 (s, 4H, 2S - CH₂ - Ar), 3.58 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 3.01 (m, 4H, 2H - CH₂CH₂ - NHCO), 1.53 (s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm. IR (CDCl₃): 3300, 2930, 2080, 1655, 1605, 1510, 1245, 1170, 1030cm⁻¹.

第3部：非環状ジメルカプトアニシジンアルキルイソチオシアナートの合成

開鎖N₃S₂ - アルキルアニシジン26の合成

N,N - ビス(2 - アミノエチル) - N - t - ブチル - オキシカルボニル - 1,2 - エタンジアミン(22)

CH₂Cl₂ (300ml) に溶解したトリス(2 - アミノエチル)アミン(1) (19.5g, 113.6mmol) の溶液をドライアイス - アセトン浴中で - 78 に冷却しながら、該溶液に、CH₂Cl₂ (100ml) 中のジ - t - ブチルジカーボネート (14.6g, 66.9mmol) を30分かけてゆっくり加えた。反応混合物を室温までゆっくり温め、18時間攪拌した。1N NaOHを加え、有機層を脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、薄黄色の油状物としてアミン22 (9.07g, 55%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃中) : 5.62 (広幅m, 1H, NH - CO), 3.18 (m, 2H, N - CH₂CH₂ - NCO), 2.98 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH₂), 2.80 (m, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH₂), 2.57 (m, 2H, N - CH₂CH₂ - NHCO), 2.57 (m, 4H, 2NH₂), 1.44 (s, 9H, 3CH₃ - C - O) ppm. MS (m/z, Cl) : 247 (100, MH⁺). IR (CDCl₃) : 3280, 2965, 2815, 1695, 1500, 1165, 905, 730cm⁻¹.

N,N - ビス[2 - ((4 - メトキシベンジル)チオ) - 2 - メチル - プロピオニル] - N - [2 - (N - t - ブトキシカルボニル)アミノエチル] - ジエチレントリアミン(23)

CH₂Cl₂ (25ml) に溶解したtBoc誘導体22 (555.3mg, 2.25mmol) の溶液を0 に冷却しながら、該溶液に、ジクロロメタン (10ml) 中の2 - [(p - メトキシベンジル)チオ] - 2 - メチルプロピオン酸クロリド19 (1.54g, 6.85mmol, 参考文献5に従って調製) を5分かけて加えた。得られた溶液を室温に温め、12時間攪拌した。溶媒を真空除去し、1N NaOHを加え、生成物をCH₂Cl₂で抽出した。有機層を水で洗浄、脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、黄色油状物を得た。該油状物を、5% MeOH/CH₂Cl₂を用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、黄色油状物としてtBoc誘導体23 (938mg, 収率60.2%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃中) : 7.16 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₃ 及び H₅ - Ar - OCH₃), 7.07 (t, J = 5.2Hz, 2H, 2NH - CO), 6.81 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₂ 及び H₆ - Ar - OCH₃), 4.98 (広幅s, 1H, - NH - CO), 3.77 (s, 6H, 2CH₃O), 3.63 (s, 4H, 2S - CH₂ - Ar), 3.17 (m, 6H, 3N - CH₂CH₂ - NHCO), 2.56 (m, 6H, 3N - CH₂CH₂ - NHCO), 1.53 (s, 12H, 4CH₃ - C - S), 1.42 (s, 9H, 3CH₃ - C - O) ppm. MS (m/z, Cl) : 691 (9, MH⁺). IR (CDCl₃) : 3380, 2970, 2930, 2830, 1700, 1650, 1500, 1245, 1170, 1030, 830cm⁻¹.

N,N - ビス[2 - ((4 - メトキシベンジル)チオ) - 2 - メチル - プロピオニル] - N - (2 - アミノエチル) - ジエチレントリアミン(24)

CH₂Cl₂ (30ml) に溶解した23 (858.3mg, 1.24mmol) の50% TFA溶液を室温で1時間攪拌した。溶媒を真空除去し、1N NaOHを加え、生成物をCH₂Cl₂で抽出した。有機層を水で洗浄、脱水 (MgSO₄)、濾過、真空濃縮して、黄色油状物を得た。該油状物を、90.5% C/9.5% M/0.5% Hを用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、黄色油状物としてアミン24 (734mg, 収率95.1%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃中) : 7.25 (m, 2H, 2NH - CO), 7.16 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₃ 及び H₅ - Ar - OCH₃), 6.81 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₂ 及び H₆ - Ar - OCH₃), 3.77 (s, 6H, 2CH₃O), 3.69 (s, 4H, 2S - CH₂ - Ar), 3.23 (d, J = 6.1Hz, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 2.72 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NH₂), 2.54 (m, 6H, N - CH₂CH₂ - NH₂ + 2N - CH₂CH₂ - NH - CO), 1.60 (広幅s, 2HN, H₂), 1.52 (s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃中) : 174.3 (s, 2NH - CO), 158.3 (s, 2C₁ - Ar - OCH₃), 129.6 (d, 2C₂ 及び C₆ - Ar - OCH₃), 128.9 (s, 2C₄ - Ar - OCH₃), 113.6 (d, 2C₃ 及び C₅ - Ar - OCH₃), 54.8 (q, 2CH₃O), 54.2 (t, N - CH₂CH₂ - NH₂), 53.6 (t, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 49.4 (s, 2S - C - CH₃), 38.5 (t, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 37.6 (t, N - CH₂CH₂ - NH₂)

), 33.6 (t, 2S - CH₂ - Ar), 26.4 (q, 4CH₃ - C - S) ppm。MS (m/z, CI) : 591 (31, NH⁺)。IR (CDCl₃) : 3770, 2930, 2830, 1655, 1510, 1245, 1170, 1030, 830cm⁻¹。

N,N - ビス [2 - ((4 - メトキシベンジル) チオ) - 2 - メチル - プロピオニル] - N - (2 - イソチオシアノエチル) - ジエチレントリアミン (25)

アニリン24 (28.8mg, 0.0487mmol) 及びジクロロメタン (10ml) を含有する丸底フラスコに、ジクロロメタン中のチオホスゲン (0.22ml, 0.0509mmol) の0.2211M溶液を加えた。不均一反応混合物を室温で1時間攪拌し、溶媒を真空除去した。この粗生成物を、100% EtOAcを用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、透明な油状物としてイソチオシアナート25 (18.9mg, 収率61.3%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃ 中) : 7.17 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₃ 及び H₅ - Ar - OCH₃), 7.07 (m, 2H, 2NH - C O), 6.82 (d, J = 8.5Hz, 4H, 2H₂ 及び H₆ - Ar - OCH₃), 3.78 (s, 6H, 2CH₃O), 3.70 (s, 4H, 2S - CH₂ - Ar), 3.49 (T, J = 5.9Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NCS), 3.21 (q, J = 6.2Hz, 4H, 2N - CH₂CH₂ - N HCO), 2.78 (t, J = 5.9Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NCS), 2.58 (t, J = 6.4Hz, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 1.54 (s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm。MS (m/z, CI) : 633 (25, MH⁺)。IR (CDCl₃) : 3370, 2950, 2920, 2850, 2100, 1720, 1655, 1610, 1510, 1245, 1170, 1030, 830cm⁻¹。

N,N - ビス [2 - ((4 - メトキシベンジル) チオ) - 2 - メチル - プロピオニル] - N - (2 - [[[4 - メトキシフェニル) アミノ] チオキソメチル] アミノエチル] - ジエチレントリアミン (26)

イソチオシアナート25 (18.9mg, 0.02986mmol)、トリエチルアミン (7.26mg, 0.07175mmol)、アニシジン (6.9mg, 0.05602mmol) 及びCHCl₃ (15ml) の溶液を3時間還流させ、溶媒を真空除去した。この粗生成物を、100% EtOAcを用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけ、透明な油状物としてアニシジン誘導体26 (19.8mg, 収率87.6%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃ 中) : 8.17 (広幅 s, 1H, NH - CS - NH - Ar), 7.28 (d, J = 8.8Hz, 2H, H₂ 及び H₆ - Ar - N), 7.15 (d, J = 8.6Hz, 4H, 2H₃ 及び H₅ - Ar - OCH₃), 7.06 (広幅 s, 1H, NH - CS - NH - Ar), 7.06 (t, J = 5.7Hz, 2H, 2NH - CO), 6.90 (d, J = 8.9Hz, 2H, H₃ 及び H₅ - Ar - N), 6.82 (d, J = 8.6Hz, 4H, 2H₂ 及び H₆ - Ar - OCH₃), 3.79 (s, 3H, CH₃O - Ar - N), 3.77 (s, 6H, 2CH₃O - Ar - CH₂), 3.67 (s, 4H, 2S₂ - CH₂ - Ar), 3.61 (q, J = 5.3Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NHCS), 3.14 (q, J = 6.2Hz, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 2.69 (t, J = 5.6Hz, 2H, N - CH₂CH₂ - NHCS), 2.52 (t, J = 6.3Hz, 4H, 2N - CH₂CH₂ - NH - CO), 1.51 (広幅 s, 12H, 4CH₃ - C - S) ppm。¹³C NMR (CDCl₃ 中) : 181.9 (s, N - CS - N), 175.2 (s, 2NH - CO), 158.8 (s, 3C₁ - Ar - OCH₃), 130.0 (s, C₁ - Ar - N), 130.0 (d, 2C₂ 及び C₆ - Ar - OCH₃), 129.2 (s, 2C₄ - Ar - OCH₃), 127.0 (d, C₂ 及び C₆ - Ar - N), 114.5 (d, C₃ 及び C₅ - Ar - N), 114.2 (d, 2C₃ 及び C₅ - Ar - OCH₃), 55.4 (q, 3CH₃O), 54.4 (t, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 52.9 (t, N - CH₂CH₂ - NHCS), 50.1 (s, 2S - C - CH₃), 42.8 (t, N - CH₂CH₂ - NHCS), 38.3 (t, 2N - CH₂CH₂ - NHCO), 34.2 (t, 2S - C H₂ - Ar), 28.3 (q, 4CH₃ - C - S) ppm。MS (m/z, FAB) : 756 (4.2, M⁺)。IR (CDCl₃) : 3320, 2960, 1720, 1655, 1510, 1290, 1245, 1030cm⁻¹。

第4部 : N₃S₂キレート の標識

非環状ジメルカプト - N,N,N - トリス (2 - アミノエチル) アミンの合成

N,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミン (27)⁶ の調製

25ml容量の丸底フラスコ中の2 - (3,3,13,13 - テトラメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミン4 (202.6mg, 0.63mmol) に、濃ギ酸 (4ml) 及び37%ホルムアルデヒド溶液 (3.7ml) を加えた。混合物を加熱還流し、25時間攪拌した。次いで、溶液を室温に冷却し、エーテル (50ml) で3回抽出した。27%水酸化アンモニウムを加えて水性層を塩基性 (~ 10 - 11) とし、塩化メチレン (4 x 50ml) で抽出した。有機層を、順次、水 (50ml) 及び飽和塩化ナトリウム溶液 (2 x 50ml) で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで脱水、濾過した。溶媒を真空除去し、黄色油状物として176mg (74%) のテトラメチル化テトラアミンジスルフィド27を得た。粗生成物を、溶離剤として塩化メチレン、メタノール及び水酸化アンモニウム (84.5/15/0.5) の混合物を用いるフラッシュクロマトグラフィーにかけて精製し、純粋なN,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,

10

20

30

40

50

13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミン²⁷ (108mg) を回収した。

N,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミン (27)

¹H NMR (300MHz, CDCl₃ 中) : 2.71 (t, J = 6Hz, 4H, - N - CH₂ - CH₂ - N (CH₃) -), 2.64 (s, 4H, - N - CH₂ - C (CH₃)₂ - S -), 2.62 (t, J = 6Hz, 4H, - N - CH₂ - CH₂ - N (CH₃) -), 2.52 (m, 2H, - CH₂ - CH₂ - N (CH₃)₂ -), 2.46 (m, 2H, - CH₂ - CH₂ - N (CH₃)₂ -), 2.37 (s, 6H, - CH₂ - N (CH₃) - CH₂ -), 2.25 (s, 6H, - CH₂ - CH₂ - N (CH₃)₂ -), 1.28 (s, 12H, - S - C (CH₃)₂ -) ppm. ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃ 中) : 74.8, 67.7, 57.6, 57.2, 53.9, 51.7, 51.3, 45.9, 45.1, 26.9 ppm. MS (EI; m/z) : 376 (4, M⁺), 377 (2, M⁺ + 1), 378 (0.6, M⁺ + 2), 318 (1, M⁺ - ((CH₃)₂N - CH₂⁺)), 262 (3), 255 (1), 246 (1), 187 (7), 156 (9), 144 (8), 133 (9), 130 (16), 113 (17), 101 (27), 99 (21), 98 (12), 72 (32), 71 (28), 70 (42), 58 (100), 56 (13), 55 (13), 43 (31), 42 (38)

10

N,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミン (27)⁶ の還元

ガス送込み装置、磁気攪拌棒、栓及びドライアイス冷却器を備えた50ml容量の三首フラスコに、18.9mg (0.5 μmol) のテトラメチル化テトラアミンジスルフィド (27) を導入した。冷却器にアセトンとドライアイスを充填し、フラスコの内容物をドライアイス浴で冷却した。次いで、フラスコに、約25mlの量までアンモニア液を導入した。溶液を数分攪拌し、36mg (1.6mmol) のナトリウムを加えた。混合物を30分間攪拌し、塩化アンモニウム (172mg) を慎重に加えた。次いで、冷却浴を除去して、アンモニアを蒸発させた。白色の残渣を45mlのMilli-Q水で溶かし、濃塩酸を加えて、溶液のpHを1とした。混合物をエーテル (3 × 50ml) で抽出し、37%水酸化アンモニウムを加えて、混合物のpHを約9とした。塩基性溶液をエーテル (50ml) で4回抽出した。有機層を合わせ、順次、水 (1 × 30ml)、ブライン (2 × 30ml) で洗浄した。エーテル性層を無水硫酸マグネシウムで脱水、濾過した。次いで、溶媒を減圧下に除去して、黄色油状物16mgを得た。該油状物をそのまま用いてTc - m99 - テクネチウム標識実験を行った。

20

注：この油状物をHPLCで分析すると、該油状物が、2.5/1の割合の2種の成分：出発物質と還元化合物からなる混合物であることが判明した。分析に用いたHPLC条件は以下の通りであった：10 - 50%勾配のアセトニトリル (0.1% TFAを含む) を用いたHamilton PRP - I 10 μm分析カラムで40分；保持時間：テトラメチルテトラアミンジスルフィド = 7.73分；テトラメチルテトラアミンジチオール = 21.55分。

30

N,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミンを還元して得られた混合物のTc - m99 - テクネチウム標識

実験 A :

1.5ml容量のプラスチック円錐バイアルに、N,N - ジメチル - 2 - (3,3,5,11,13,13 - ヘキサメチル - 1,2 - ジチア - 5,8,11 - トリアザ - シクロトリデカン - 8 - イル) エチルアミンを還元して得られた混合物のメタノール性溶液 (~ 2 μg/μl) を30 μl、0.1mlのTc - m99 - テクネチウムグルコヘプトネート (1mlの過^{99m}テクネチウム酸ナトリウムを用いてFROSST IMAGE GLUCOHEPTONATEキットからバイアルを再構成して調製) を導入した。この溶液をボルテックスミキサーで20秒間攪拌し、2時間半63 °Cで加熱した。次いで、混合物を、アセトン及び正常サリン中で移動させるITLC[®] (インスタント薄層クロマトグラフィ) にかけて分析すると、放射能の90%がキレートで標識されたことが判明した。標識混合物をHPLC分析* にかけて、3種の放射性生成物の存在が示された。第1の放射性化合物は^{99m}テクネチウムグルコヘプトネート (R_T: 2.59分; 19%) であり、他の2種の化合物は、^{99m}Tc - N₃S₂キレート化種 (R_T: 20.72分及び23.08分; それぞれ、68%及び8%) であると同定された。

40

実験 B :

50

1.5ml容量のプラスチック円錐バイアルに、N,N-ジメチル-2-(3,3,5,11,13,13-ヘキサメチル-1,2-ジチア-5,8,11-トリアザ-シクロトリデカン-8-イル)エチルアミンを還元して得られた混合物のメタノール性溶液(～2μg/μl)を30μl、0.2mlの^{99m}Tcネチウムグリコヘプトネート(1mlの過Tc-m99テクネチウム酸ナトリウムを用いFROS STIMAGE GLUCOHEPTONATEキットからバイアルを再構成して調製)を導入した。この溶液をポルテックスミキサーで20秒間攪拌し、65℃で1時間加熱した。次いで、混合物を、アセトン及び正常サリン中で移動させるITLC[®](インスタント薄層クロマトグラフィー)にかけて分析すると、放射能の85%がキレートで標識されたことが判明した。標識混合物をHPLC分析*にかけると、3種の放射性生成物の存在が示された。第1の放射性化合物はTc-m99テクネチウムグルコヘプトネート(R_T:2.72分;30%)であり、他の2種の化合物は、^{99m}Tc-N₃S₂キレート化種(R_T:20.70分及び23.08分;それぞれ、56%及び8%)であると
10 同定された。

[®]: Gelman G クロマトグラフィーペーパー。

*: 高性能液体クロマトグラフィー分析は、10-50%アセトニトリル(+TFA)勾配を用い、Hamilton PRP-I 10μm分析カラムを備えたWaters625LC装置で40分間、流速1ml/分で実施した。

参考文献

1. W.C. Still, M. Kahn, and A. Mitra, *J. Org. Chem.*, **43**, 2923-2925 (1978). 20
2. a) J.J. D'Amico and W.E. Dahl, *J. Org. Chem.*, **40**, 1224-1227 (1975) b) K. Masao, T. Ueno, K. Kojima and Y. Morimoto, (Nippon Shokubai Kagaku Kogyo Co., Ltd.) *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 63,222,155* [88,222,155]. 30
3. E.A. Bayer, B. Haya and M. Wilchek, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **138**, 872-879 (1986).
4. M.R.A. Pillai, J.M. Lo, C.S. John and D.E. Troutner, *Nucl. Med. Biol.*, **19**, 791 (1992).
5. Y. Ohmomo, L. Francesconi, M.P. Kung and H.F. Kung, *J. Med. Chem.*, **35**, 157 (1992). 40
6. M. Appar, S. Drouillard, J.P. Mathieu, A. DuMoulinet D'Hardemare, R. Pasqualini, and M. Vidal, *Appl. Radiat. Isot.*, **43** (5), 585-596 (1992).

フロントページの続き

- (72)発明者 メルク フロスト カナダ アンド カンパニー
カナダ国、ケベック・アシユ・9・アシユ・3・エル・1、カークランド、トランス・カナダ・ハイウェイ・16711
- (72)発明者 デュフル、ジャン・マルク
カナダ国、ケベック・アシユ・9・アシユ・3・エル・1、カークランド、トランス・カナダ・ハイウェイ・16711
- (72)発明者 ホーガン、キース・テイー
カナダ国、ケベック・アシユ・9・アシユ・3・エル・1、カークランド、トランス・カナダ・ハイウェイ・16711

審査官 齋藤 真由美

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

C07K 1/00 - 19/00
A61K 31/00 - 51/12
A61P 1/00 - 43/00
CA(STN)
BIOSIS/WPI(DIALOG)
EUROPAT(QUESTEL)