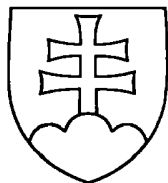


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA  
VYNÁLEZU**

(21) Číslo dokumentu:

**1674-96**

- (22) Dátum podania: 04.07.95  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: P 44 25 857.7  
(32) Dátum priority: 07.07.94  
(33) Krajina priority: DE  
(40) Dátum zverejnenia: 09.07.97  
(86) Číslo PCT: PCT/EP95/02577, 04.07.95

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

A 61K 49/00

A 61K 51/06

(71) Prihlasovateľ: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, Berlin, DE;

(72) Pôvodca vynálezu: Schmitt-Willich Heribert, Berlin, DE;  
Platzek Johannes, Berlin, DE;  
Niedballa Ulrich, Berlin, DE;  
Radüchel Bernd, Berlin, DE;  
Mühler Andreas, Neuenhagen, DE;  
Frenzel Thomas, Berlin, DE;  
Ebert Wolfgang, Berlin, DE;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Komplexy kaskádových polymérov, spôsob ich výroby a farmaceutický prostriedok obsahujúci tieto látky**

(57) Anotácia:  
Komplexy kaskádových polymérov, ktoré obsahujú a) komplexotvorné ligandy všeobecného vzorca (I):  $A-\{X-[Y-(Z-/W-K_{w/z})_y]_x\}_a$ , v ktorom A znamená dusík obsahujúci kaskádové jadro bazálnej multiplicity, a X a Y znamenajú nezávisle od seba priamu väzbu alebo kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity x, prípadne y, Z a W znamenajú nezávisle od seba kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity z, prípadne w, K znamená zvyšok komplexotvornej látky, a znamená číslo 2 až 12 a x, y, z a w znamenajú nezávisle od seba číslo 1 až 4, s tým obmedzením, že aspoň dve reprodukčné jednotky sú rôzne, a že pre produkt platia multiplicity  $16 < a \cdot x \cdot y \cdot z \cdot w < 64$ . b) aspoň 16 iónov prvku poradového čísla 20 až 29, 39, 42, 44 alebo 57-83, c) prípadne katióny anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín, ako i d) prípadne acylované terminálne aminokyskupiny, sú cennými zlúčeninami pre diagnostiku a terapiu.

## KOMPLEXY KASKÁDOVÝCH POLYMÉROV, SPÔSOB ICH VÝROBY A FARMACEUTICKÝ PROSTRIEDOK TIETO LÁTKY OBSAHUJÚCI

### Oblasť techniky

Vynález sa týka nových komplexov kaskádových polymérov, prostriedkov tieto zlúčeniny obsahujúcich, použitia komplexov v diagnostike a terapii, ako i spôsobu výroby týchto zlúčenín a prostriedkov.

### Doterajší stav techniky

Občas klinicky používané kontrastné prostriedky pre moderné zobrazovacie postupy, totiž jadrovú spinovú tomografiu (MRI) a počítačovú tomografiu (CT) (Magnevist®, Pro Hance®, Ultravist® a Omniscan®) sa rozptyľujú v celom extracelulárnom priestore tela (intravazálny priestor a interstícium). Tento priestor rozptýlenia zahrňuje asi 20 % objemu tela.

Extracelulárne MRI-kontrastné prostriedky boli klinicky najprv s úspechom použité pri diagnostike cerebrálnych a spinálnych procesoch ochorení, lebo sa tu vyskytuje celkom zvláštna situácia so zreteľom na regionálny priestor rozptýlenia. V mozgu a v mieche nemôžu mimobunečné látky opustiť v zdravom tkanive na základe bariéry krv - mozog vnútrocievny priestor. Pri chorobných procesoch, rušiacich túto bariéru krv - mozog (napríklad malígne tumory, zápaly, myelopatické ochorenia a podobne), vznikajú vo vnútri mozgu potom oblasti so zvýšenou priepustnosťou (permeabilitou) ciev pre tieto mimobunečné kontrastné látky (Schmiedl a kol., MRI of blood - brain barrier permeability in astrocytic gliomas: application of small and large molecular weight contrast media, Magn. Reson. Med. 22: 288, 1991). Využitím tohto porušenia permeability ciev môže byť vo vysokom kontraste rozpoznané choré tkanivo oproti tkanivu zdravému.

Okrem mozgu a miechy neplatí však takáto bariéra permeability pre vyššie uvedené kontrastné látky (Canty a kol., First - pass entry of nonionic

agent into the myocardial extravascular space. Effects on radiographic estimate of transit time and blood volume. *Circulation* 84: 2071, 1991). Tým nie je obohatenie kontrastného činidla už závislé od permeability ciev, ale iba od veľkosti mimobunečného priestoru zodpovedajúcich tkanív. Ohraničenie ciev vzhľadom k interstinálnemu priestoru nie je pri použití týchto kontrastných látok možné.

Obzvlášť pre zobrazenie ciev by malo zvláštny význam, aby sa kontrastná látka rozptýlila výlučne do priestoru ciev. Takýto "blood-pool-agent" by mal umožňovať pomocou bunečnej tomografie ohraničiť dobre prekrvené tkanivo od tkaniva zle prekrveného, a tým diagnostikovať ischemiu. Tiež tkanivá náchylné k infarktu by sa mali vymedziť na základe svojej anémie od ostatného zdravého alebo ischemického tkaniva, keď sa použije vazálna kontrastná látka. Toto je obzvlášť dôležité, keď ide napríklad o to, rozlíšiť srdečný infarkt od ischemie.

Doteraz sa musí väčšina pacientov, u ktorých je podozrenie na kardiovaskulárne ochorenia (tieto ochorenia sú častou príčinou úmrtí v západných priemyselných krajinách), podrobiť náročnému diagnostickému vyšetreniu. V angioterapii je v súčasnej dobe využívaná röntgenová diagnostika s pomocou jód obsahujúcich kontrastných látok. Tieto vyšetrenia sú spojené s rôznymi nevýhodami, napríklad s rizikom zaťaženia žiarením, ako i s neprijemnosťami a zaťažením, ktoré predovšetkým vznikajú tým, že jód obsahujúce kontrastné látky v porovnaní s NMR-kontrastnými látkami musia byť použité v podstatne vyššej koncentrácii.

Existuje teda potreba NMR-kontrastných látok, ktoré môžu označovať cievny priestor (blood-pool-agent). Tieto zlúčeniny sa musia vyznačovať dobrou znášateľnosťou a vysokou účinnosťou (vysoký stupeň signálnej intenzity pri MRI).

Nábeh k vyriešeniu aspoň časti tohto problému použitím komplexotvorných činidiel, ktoré sú viazané na makromolekuly alebo biomolekuly, bol doteraz úspešný iba veľmi obmedzene.

Tak nie je napríklad počet paramagnetických centier v komplexoch, ktoré sú popísané v Európskych patentových prihláškach č. 0 088 695 a 0 150 844, dostatočný pre prijateľnú tvorbu obrazu.

Ak sa zvyšuje počet potrebných kovových iónov viacnásobným zavedením komplexotvorných jednotiek do makromolekulárnej biomolekuly, tak je to spojené s netolerovateľným ovplyvnením afinity a/alebo špecificity tejto biomolekuly (J. Nucl. Med. 24, 1158 (1983)).

Makromolekuly môžu byť všeobecne vhodné ako kontrastné látky pre angiografiu. Albumín-GdDTPA (Radiology 1987, 162, 205) napríklad však vykazuje 24 hodín po intravenózne aplikácii krysám obohatenie v tkanive pečene, ktoré je asi 30 % dávky. Okrem toho je za 24 hodín eliminovaných iba 20 % dávky.

Makromolekulárny polylyzín-GdDTPA (Európska patentová prihláška 0 233 619) sa ukázal rovnako schopný ako "blood-pool-agent" (preferujúci krv pred tkanivom). Táto zlúčenina sa skladá podľa podmienok prípravy zo zmesi molekúl rôznej veľkosti. Pri vylučovacích pokusoch na krysách mohlo byť ukázané, že tieto makromolekuly sú vylučované filtráciou obličkami nezmenené. Podľa podmienok syntézy môže polylyzín-GdDTPA ale tiež obsahovať také molekuly, ktoré sú tak veľké, že pri glomerulárnej filtrácii kapilármi obličiek prejsť nemôžu, a tak v tele zostávajú.

Tiež boli popísané makromolekulárne kontrastné látky na báze uhľovodíkov, napríklad dextransu (EP-A 0 326 226). Nevýhoda týchto zlúčenín spočíva v tom, že tieto obsahujú iba asi 5 % signál zosilňujúcich paramagnetických katiónov.

V Európskej patentovej prihláške č. 0 430 863 popísané polyméry predstavujú už krok na ceste k blood-pool-agents, pretože už nevykazujú charakteristickú heterogenitu vo vzťahu k veľkosti a hmotnosti molekúl. Zostáva však stále otvorená požiadavka na budúcu úplnú vylúčiteľnosť, znášateľnosť a/alebo účinnosť.

Vystupuje teda úloha, pripraviť pre použitie nové diagnostické prostriedky, najmä na rozpoznanie a lokalizáciu ochorenia ciev, ktoré by nemali uvádzané nedostatky. Táto úloha je riešená predloženým vynálezom.

### **Podstata vynálezu**

Zistilo sa, že komplexy, ktoré pozostávajú z dusík obsahujúcich kaskádových polymérov, opatrených komplexotvornými ligandmi, aspoň 16 iónov prvku s poradovým číslom 20 až 29, 30, 42, 44 alebo 57 až 83, ako i prípadne kationov anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín a prípadne obsahujú acylované aminoskupiny, sú prekvapujúco výborne vhodné pre NMR- a röntgenovú diagnostiku bez toho, že by vykazovali vyššie uvedené nevýhody.

Predmetom predloženého vynálezu sú komplexy kaskádových polymérov všeobecného vzorca I



v ktorom

A            znamená dusík obsahujúci kaskádové jadro bazálnej multiplicity,  
a

X a Y        znamenajú nezávisle od seba priamu väzbu alebo kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity x, prípadne y,

Z a W        znamenajú nezávisle od seba kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity z, prípadne w,

K            znamená zvyšok komplexotvornej látky,

a            znamená číslo 2 až 12 a

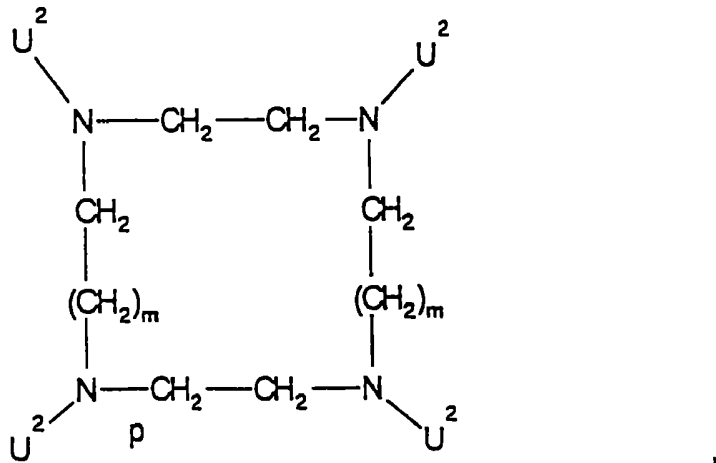
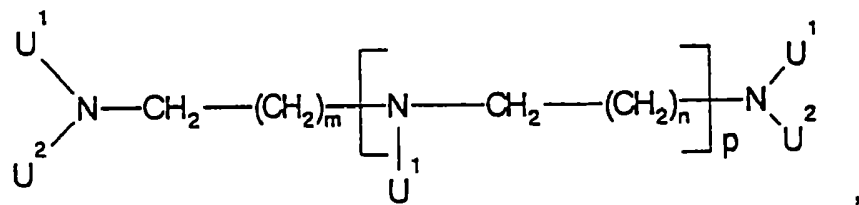
x, y, z a w    znamenajú nezávisle od seba číslo 1 až 4,

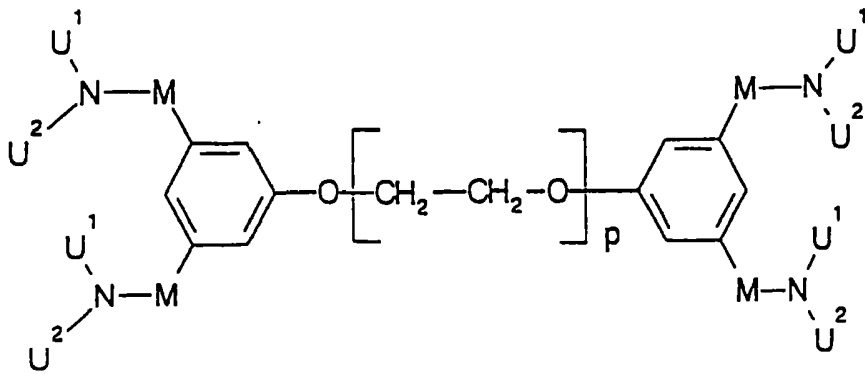
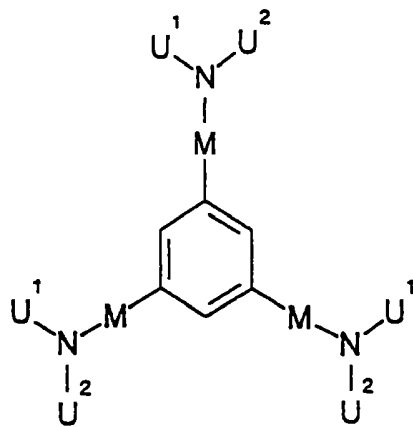
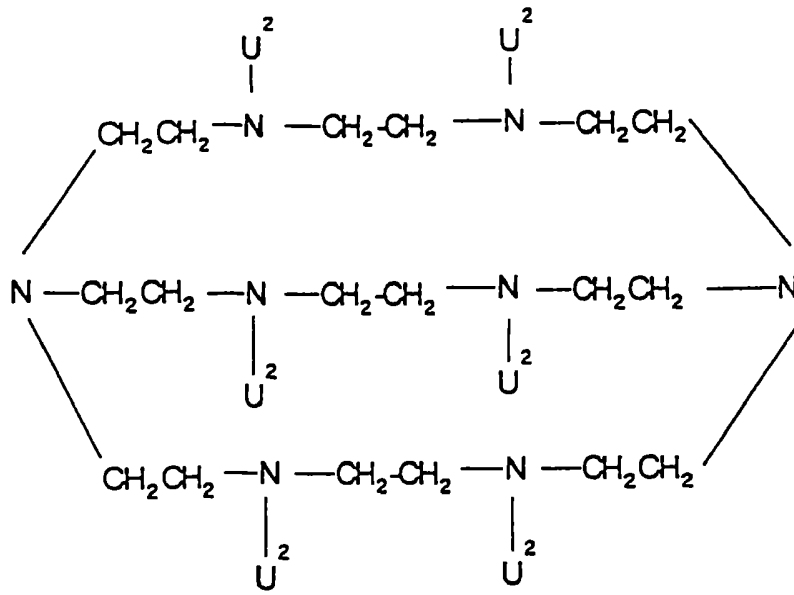
s tým obmedzením, že aspoň dve reprodukčné jednotky sú rôzne a že pre produkt platia multiplicity

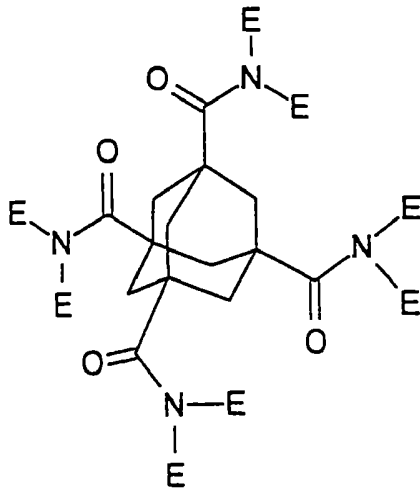
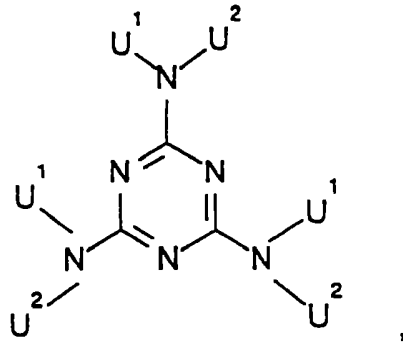
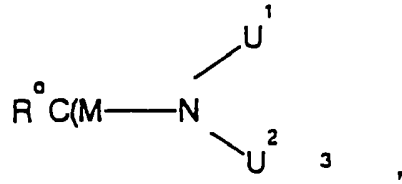
$$16 < a .x .y .z .w < 64.$$

Ako kaskádové jadrá A sú vhodné:

dusíkový atóm,







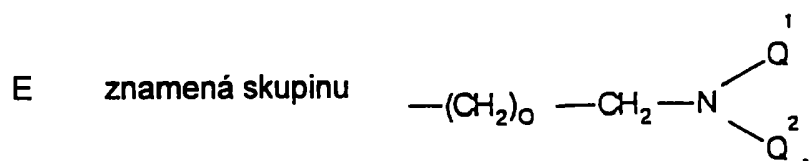
v ktorých

m a n znamenajú čísla 1 až 10,

p znamená číslo 0 až 10,

U<sup>1</sup> znamená Q<sup>1</sup> alebo E,

U<sup>2</sup> znamená Q<sup>2</sup> alebo E, pričom



pričom

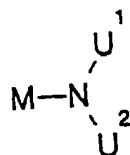
o znamená číslo 1 až 6,

Q<sup>1</sup> znamená vodíkový atóm alebo Q<sup>2</sup> a

Q<sup>2</sup> znamená priamu väzbu,

M znamená alkylénový reťazec s 1 až 10 uhlíkovými atómami, ktorý je prípadne prerušený 1 až 3 kyslíkovými atómami a/alebo je prípadne substituovaný 1 až 2 oxoskupinami a

R<sup>o</sup> znamená rozvetvený alebo nerozvetvený alkylový zvyšok s 1 až 10 uhlíkovými atómami, nitroskupinu, aminoskupinu, skupinu karboxylovej kyseliny alebo skupinu



pričom počet Q<sup>2</sup> zodpovedá bazálnej multiplicitate.

Najjednoduchší prípad kaskádového jadra predstavuje dusíkový atóm, ktorého tri väzby (bazálna multiplicita = 3) sú v prvom "vnútornom kroku" (generácia 1) obsadené troma reprodukčnými jednotkami X, prípadne Y (keď X znamená priamu väzbu), prípadne Z (keď X a Y znamenajú priamu väzbu); inak formulované: tri vodíkové atómy zodpovedajúceho kaskádového štartéra amoniaku A(H)<sub>a</sub> = NH<sub>3</sub> sú substituované troma reprodukčnými jednotkami X,

prípadne Y, prípadne Z. V kaskádovom jadre obsiahnutý počet  $Q^2$  dáva pritom opäť bazálnu multiplicitu a.

Reprodukčné jednotky X, Y, Z a W obsahujú skupiny  $-NQ^1Q^2$ , pričom  $Q^1$  znamená vodíkový atóm alebo  $Q^2$  a  $Q^2$  znamená priamu väzbu. V reprodukčnej jednotke (napríklad X) obsiahnutý počet  $Q^2$  zodpovedá reprodukčnej multiplicitu tejto jednotky (napríklad x v prípade X). Produkt všetkých multiplicití a.x.y.z.w udáva počet v kaskádovom polyméri viazaných komplexotvorných zvyškov K. Polyméry podľa predloženého vynálezu obsahujú najmenej 16 a najviac 64 zvyškov K v molekule, ktoré môžu viazať jeden až maximálne tri (v prípade dvojmocných iónov), výhodne jeden ión, prvku vyššie uvedených poradových čísel.

Posledná generácia, to znamená na komplexotvorné zvyšky K viazaná reprodukčná jednotka W je pripojená na K cez NH-skupiny ( $-NQ^1Q^2$  s  $Q^1$  vo význame vodíkového atómu a  $Q^2$  = priama väzba), zatiaľ čo predchádzajúce reprodukčné jednotky môžu byť navzájom spojené ako cez skupiny  $m-NHQ^2$  (napríklad acylačnými reakciami), tak tiež cez skupiny  $-NQ^2Q^2$  (napríklad alkylačnými reakciami).

Komplexy kaskádových polymérov podľa predloženého vynálezu majú maximálne 10 generácií (to znamená, že môže byť prítomná viac ako iba jedna reprodukčná jednotka X, Y a Z v molekule), výhodne však 2 až 4 generácie, pričom aspoň dve z reprodukčných jednotiek v molekule sú rôzne.

Ako výhodné kaskádové jadrá je možné uviesť také, ktoré spadajú pod vyššie uvedené všeobecné vzorce, keď

m	znamená čísla 1 až 3, najmä číslo 1,
n	znamená čísla 1 až 3, najmä číslo 1,
p	znamená čísla 0 až 3, najmä číslo 1,
o	znamená číslo 1,
M	znamená skupinu $-CH_2-$ , $-CO-$ alebo $-CH_2CO-$ a

$R^{\circ}$  znamená skupinu  $-CH_2NU^1U^2$ ,  $-CH_3$  alebo  $-NO_2$ .

Ako ďalšie výhodné kaskádové štartéry  $A(H)_a$  je možné napríklad uviesť:

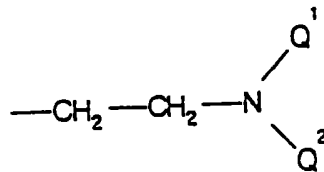
(v zátvorke je uvedená bazálna multiplicita  $a$ , udaná pre prípad nasledujúcej monosubstitúcie, prípadne disubstitúcie, slúžiaca pre stavbu nasledujúcich generácií)

tris(aminoetyl)amín	( $a=6$ , príp. 3),
tris(aminopropyl)amín	( $a=6$ , príp. 3),
dietyléntriamín	( $a=5$ , príp. 3),
trietyléntriamín	( $a=6$ , príp. 4),
tetraetylénpentamín	( $a=7$ , príp. 5),
1,3,5-tris(aminometyl)benzén	( $a=6$ , príp. 3),
triamid kyseliny trimezínovej	( $a=6$ , príp. 3),
1,4,7-triazacyklononán	( $a=3$ )
1,4,7,10-tetraazacyklododekán	( $a=4$ )
1,4,7,10,13-pentaazacyklopentadekán	( $a=5$ )
1,4,8,11-tetraazacyklotetradekán	( $a=4$ )
1,4,7,10,13,16-hexaazacyklooktadekán	( $a=6$ )
1,4,7,10,13,16,19,22,25,28-deaazacyklo- triakontán	( $a=10$ )
tetrakis(aminometyl)metán	( $a=8$ , príp. 4),
1,1,1-tris(aminometyl)etán ( $a=6$ , príp. 3),	
tris(aminopropyl)-nitrometán	( $a=6$ , príp. 3),
2,4,6-triamino-1,3,5-triazín	( $a=6$ , príp. 3),
amid kyseliny 1,3,5,7-adamantantetra- karboxylovej	( $a=8$ , príp. 4),
amid kyseliny 1,3',5,5'-difenyléter- tetrakarboxylovej	( $a=8$ , príp. 4),
amid kyseliny 1,2-bis[fenoxyetán]- -3,3'',5',5''-tetrakarboxylovej	( $a=8$ , príp. 4),
1,4,7,10,13,16,21,24-oktaazabicyklo-	

[8,8,8]hexakozán

(a=6).

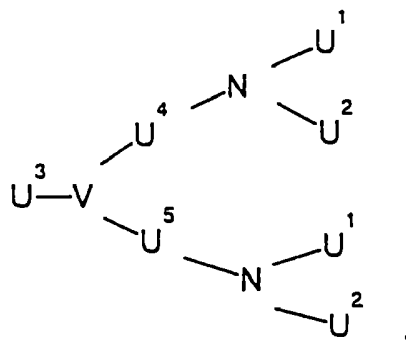
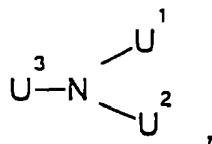
Je potrebné poukázať na to, že definícia ako kaskádové jadro A, a tým delenie kaskádového jadra a prvej reprodukčnej jednotky je čisto formálne, a tým môže byť zvolené nezávisle od skutočnej syntetickej stavby požadovaných komplexov kaskádových polymérov. Tak sa môže považovať napríklad v príklade 4 použitý tris(aminoetyl)amín ako samotný ako kaskádové jadro A (pozri ako prvý pre A uvedený všeobecný vzorec, kde  $m=n=p=1$ ,  $U^1=E$  s  $o=1$  a  $U^1=U^2=Q^2$ ), ale tiež ako dusíkový atóm (= kaskádové jadro A), ktorý má ako prvé generácie tri reprodukčné jednotky vzorca

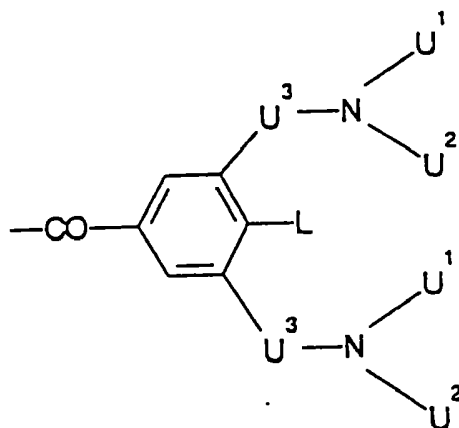


(pozri definícia E).

Kaskádové reprodukčné jednotky X, Y, Z a W sú nezávisle od seba určené vzorcom

E,





U<sup>1</sup> znamená Q<sup>1</sup> alebo E,

U<sup>2</sup> znamená Q<sup>2</sup> alebo E, pričom

E znamená skupinu  $-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}_2-\text{N} \begin{matrix} \text{Q}^1 \\ \text{Q}^2 \end{matrix}$ ,

pričom

o znamená číslo 1 až 6,

Q<sup>1</sup> znamená vodíkový atóm alebo Q<sup>2</sup> a

Q<sup>2</sup> znamená priamu väzbu,

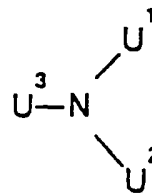
U<sup>3</sup> znamená alkylénový reťazec s 1 až 20 uhlíkovými atómami, ktorý je prípadne prerušený 1 až 10 atómami kyslíka a/alebo jednou až dvoma skupinami  $-\text{N}(\text{CO})_q-\text{R}^2$ , jedným až dvoma fenylénovými a/alebo jedným až dvoma fenylénoxylovými zvyškami a/alebo je prípadne substituovaný jednou

až dvoma oxoskupinami, tiooxoskupinami, karboxyskupinami, alkylkarboxyskupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami v alkoxye, alkoxykupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami, hydroxyskupinami alebo alkylovými skupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami, pričom

q znamená číslo 0 alebo 1 a

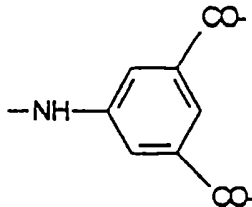
R<sup>2</sup> znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná 1 až 2 hydroxyskupinami alebo jednou karboxylovou skupinou,

L znamená vodíkový atóm alebo skupinu



V znamená metínovú skupinu =CH, keď súčasne U<sup>4</sup> znamená priamu väzbu alebo skupinu M a U<sup>5</sup> má význam skupiny U<sup>3</sup>, alebo

V znamená skupinu



keď súčasne U<sup>4</sup> a U<sup>5</sup> sú identické a znamenajú priamu väzbu alebo skupinu M.

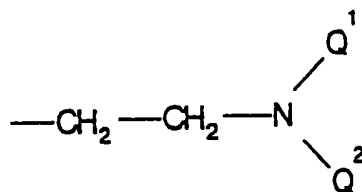
Výhodné kaskádové reprodukčné jednotky X, Y, Z a W sú také, u ktorých vo vyššie uvedených všeobecných vzorcoch znamená zvyšok U<sup>3</sup> skupiny

-CO-, -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CONHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-,

zvyšok U<sup>4</sup> priamu väzbu alebo skupinu -CH<sub>2</sub>CO-,

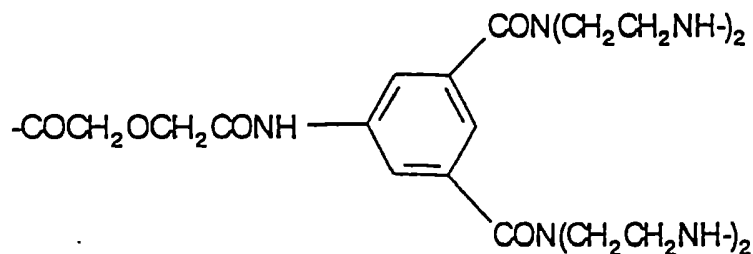
zvyšok U<sup>5</sup> priamu väzbu alebo skupiny  $-(\text{CH}_2)_4-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CO}-$ ,  $-\text{CH}(\text{COOH})-$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4-$ ,  $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_2-$  a

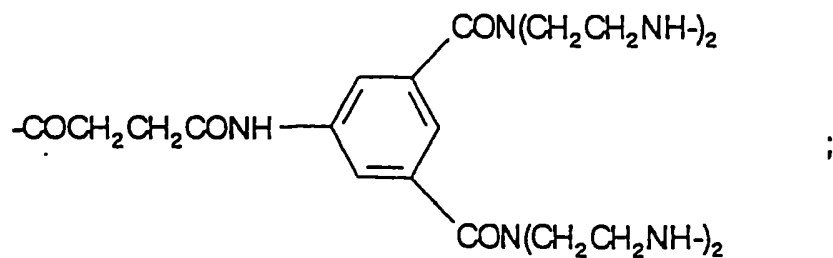
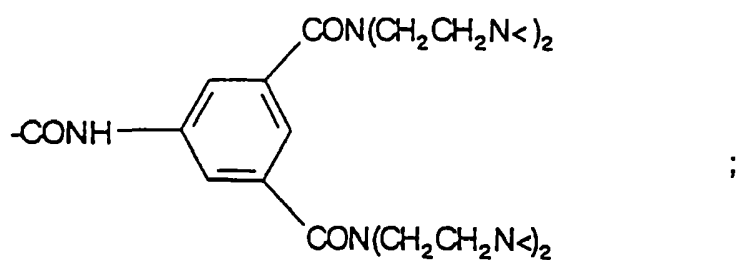
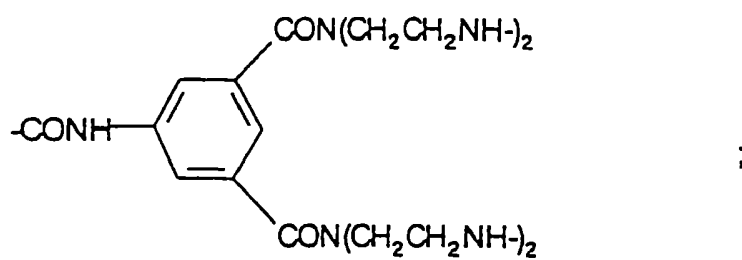
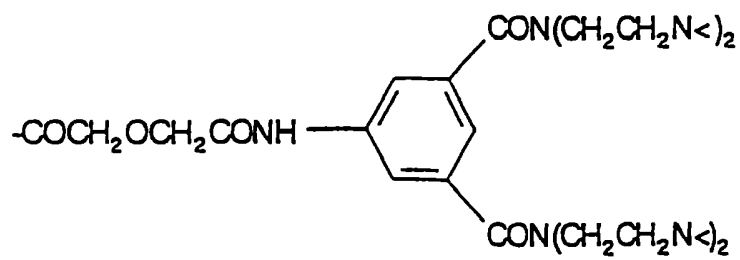
zvyšok E skupinu

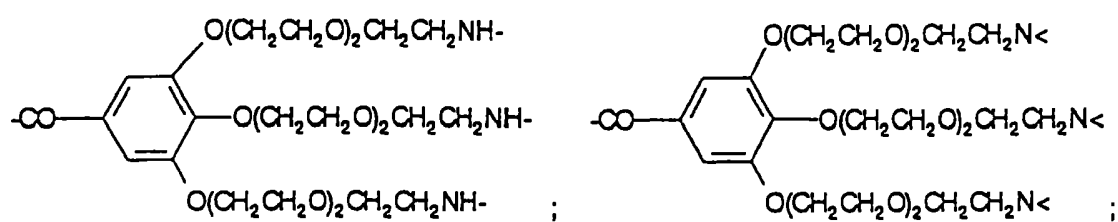
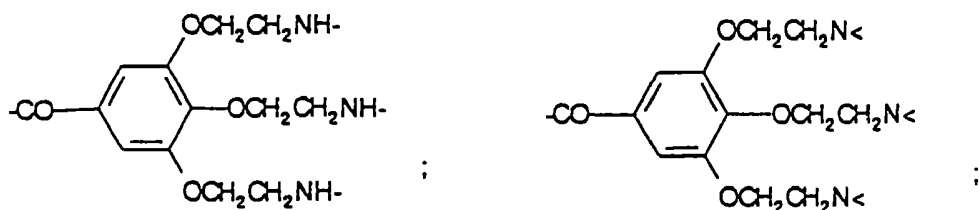
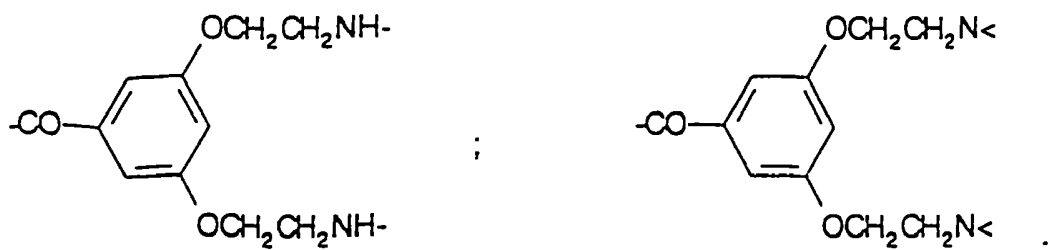
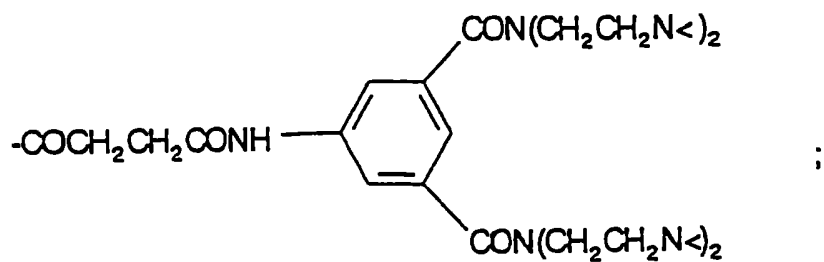


Ako príklady uvedených kaskádových produkčných jednotiek X, Y, Z a W je možné uviesť:

- $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ;  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<$ ;  $-\text{COCH}(\text{NH}-)(\text{CH}_2)_4\text{NH}-$ ;
- $-\text{COCH}(\text{N}<)(\text{CH}_2)_4\text{N}<$ ;  $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2$ ;  $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2$ ;  $-\text{COCH}_2\text{NH}-$ ;  $-\text{COCH}_2\text{N}<$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2$ ;  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2]_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2]_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2]_2$ ;
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2]_2$ ;
- $-\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-)_2]_2$ ;
- $-\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}[\text{CH}_2\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<)_2]_2$ ;  $-\text{COCH}(\text{NH}-)\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}-$ ;
- $-\text{COCH}(\text{N}<)\text{CH}(\text{COOH})\text{N}<$ ;









$R^2$  znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná 1 až 2 hydroxyskupinami alebo jednou karboxyskupinou,

$R^3$  znamená skupinu  $-CH_2-CH(OH)-U^6-T$  alebo  $-CH_2-CO-U^7$ ,

pričom

$U^6$  znamená priamu, rozvetvenú, nasýtenú alebo nenasýtenú alkylénovú skupinu s 1 až 20 uhlíkovými atómami, obsahujúcu 1 až 5 iminoskupín, 1 až 3 fenylénové skupiny, 1 až 3 fenylénoxyskupiny, 1 až 3 fenyléniminoskupiny, 1 až 5 amidoskupín, 1 až 2 hydrazidové skupiny, 1 až 5 karbonylových skupín, 1 až 5 etylénoxyskupín, jednu močovinovú skupinu, jednu tiomočovinovú skupinu, 1 až 2 karboxyalkyliminoskupiny, 1 až 2 esterové skupiny, 1 až 10 kyslíkových atómov, 1 až 5 atómov síry a 1 až 5 dusíkových atómov a/alebo prípadne substituovanú 1 až 5 hydroxyskupinami, 1 až 2 merkaptoskupinami, 1 až 5 oxoskupinami, 1 až 5 tioxoskupinami, 1 až 3 karboxyskupinami, 1 až 5 karboxyalkylovými skupinami, 1 až 5 esterovými skupinami a/alebo 1 až 3 aminoskupinami, pričom prípadne obsiahnuté fenylénové skupiny môžu byť substituované 1 až 2 karboxyskupinami, 1 až 2 sulfónovými skupinami alebo 1 a 2 hydroxyskupinami,

$U^7$  znamená priamu väzbu alebo zvyšok  $-NR^2-U^6-T$  a

T znamená skupinu  $-CO-a$ ,  $-NHCO-a$  alebo  $NHCS-a$ ,

$\alpha$  znamená väzobné miesto na terminálnom dusíkovom atóme poslednej generácie, reprodukčné jednotky W a

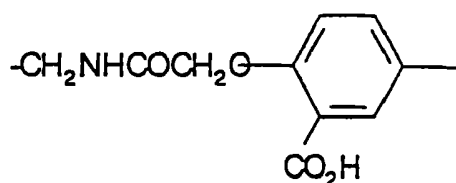
r znamená číslo 0, 1, 2 alebo 3.

Ako výhodné komplexotvorné zvyšky K je možné uviesť také, u ktorých vo vyššie uvedenom vzorci 1A obsahuje alkylénový reťazec s 1 až 20 uhlíkovými atómami, výhodne s 1 až 12 uhlíkovými atómami skupiny

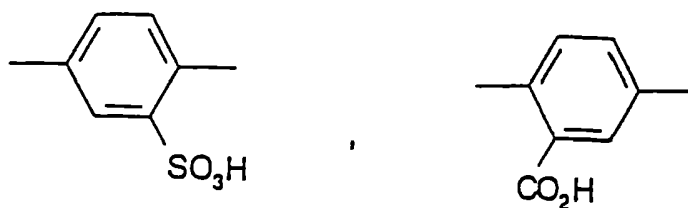
-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>NHCO-, -NHCOCH<sub>2</sub>O-, -NHCOCH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)-, -NHCOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -NHCSNHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, CH-CH<sub>2</sub>O-, a/alebo je substituovaný skupinami -COOH, -CH<sub>2</sub>COOH.

Ako príklady pre U<sup>6</sup> je možné uviesť nasledujúce skupiny:

-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-.



-CH<sub>2</sub>NHCSNH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH(CH<sub>2</sub>COOH)CH<sub>2</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-N(CH<sub>2</sub>COOH)CH<sub>2</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>O-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.



Keď je prostriedok podľa predloženého vynálezu určený pre použitie v NMR-diagnostike, tak musí byť centrálny ión komplexnej soli paramagnetický. Toto sú obzvlášť dvojmocné a trojmocné ióny prvkov poradových čísel 21 až 29, 42, 44 a 58 až 70. Vhodné ióny sú napríklad chromité, železnaté, kobaltnaté, nikelnaté, meďnaté, prazeodymité, samarinité a yterbité. Kvôli

svojmu veľmi silnému magnetickému momentu sú obzvlášť výhodné ióny gadolinité, terbité, dysprozité, holmité, erbité, manganaté a železité.

Keď je prostriedok podľa predloženého vynálezu určený na použitie v röntgenovej diagnostike, tak musí byť centrálny ión odvodený od prvkov vyšších poradových čísel, aby sa dosiahla dostatočná absorpcia röntgenových lúčov. Zistilo sa, že na tento účel sú vhodné diagnostické prostriedky, ktoré obsahujú fyziologicky prijateľnú komplexnú soľ s centrálnym iónom z prvkov poradových čísel 21 až 29, 39, 42, 44 a 57 až 83; toto je napríklad ión lantanitý a vyššie uvedené ióny radu lantanidov.

Komplexy kaskádových polymérov podľa predloženého vynálezu obsahujú aspoň 16 iónov vyššie uvedeného poradového čísla.

Zvyškové kyslé vodíkové atómy, to znamená také, ktoré neboli substituované centrálnym iónom, môžu byť celkom alebo čiastočne nahradené kationmi anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín.

Vhodné anorganické kationy sú napríklad ióny lítne, draselné, vápenaté, horečnaté a obzvlášť sodné. Vhodné kationy organických báz sú okrem iného kationy primárnych, sekundárnych alebo terciárnych amínov, ako je napríklad etanolamín, dietanolamín, morfolín, glukamín, N,N-dimetylglukamín a obzvlášť N-metylglukamín. Vhodné kationy aminokyselín sú napríklad kationy lyzínu, arginínu a ornitínu, ako i amidov inak kyslých alebo neutrálnych aminokyselín.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, ktoré majú molekulovú hmotnosť 10 000 až 80 000 D, výhodne 15 000 až 40 000 D, majú už zmienené požadované vlastnosti. Obsahujú pre svoje použitie potrebný veľký počet kovových iónov, stabilne viazaných v komplexe.

Obohacujú sa v oblastiach so zvýšenou permeabilitou ciev, napríklad v tumoroch, dovoľujú vysatie cez perfúziu tkanív, dávajú možnosť stanoviť objem krvi v tkanivách, skraccujú selektívne relaxačné doby, prípadne denzity krvi a

dovoľujú obrazovo znázorniť permeabilitu krvného riečišťa. Takéto fyziologické informácie sa nedajú získať použitím extracelulárnych kontrastných látok, ako je napríklad Gd-DTPA (Magnevist®). Z týchto hľadísk vyplývajú tiež oblasti použitia pri moderných obraz poskytujúcich postupoch jadrovej spinovej monografie a počítačovej tomografie: špecifická diagnóza malígnych tumorov, včasná kontrola terapie pri cytostatickej, antiflogistickej alebo dilatatívnej terapii, včasné rozpoznanie minimálne perfundovaných oblastí (napríklad v myokarde), angiografia pri cievnych ochoreniach a rozpoznanie a diagnóza (sterilných alebo infekčných) zápalov.

Ako ďalšie výhody v porovnaní s extracelulárnymi kontrastnými látkami, ako je napríklad Gd-DTPA (Magnevist®) je potrebné vyzdvihnúť vyššiu efektivitu ako kontrastného prostriedku pre jadrovú spinovú tomografiu (vyššia relaxivita), čo vedie k podstatnej redukcii diagnosticky potrebnej dávky. Súčasne sa môžu kontrastné činidlá podľa predloženého vynálezu formulovať ako roztoky izosmolárne ku krvi a znižovať tým osmotické zaťaženie tela, čo sa odráža v zníženej toxicite substancie (vyšší prah toxicity). Nepatrné dávky a vyšší prah toxicity vedú k významnému zvýšeniu bezpečnosti použitia kontrastných činidiel pri moderných obraz poskytujúcich metódach.

V porovnaní s makromolekulárnymi kontrastnými činidlami na báze uhľohydrátov, napríklad dextransu (EP 0 326 226), ktoré nesú, ako sa už uvažovalo, spravidla iba asi 5 % signál zosilňujúceho paramagnetického kationu, majú komplexy polymérov podľa predloženého vynálezu obsah spravidla asi 20 % paramagnetického kationu. Tým spôsobujú makromolekuly podľa predloženého vynálezu pre molekulu podstatne vyššie zosilnenie signálu, čo súčasne vedie k tomu, že dávka, ktorá je potrebná pre jadrovú spinovú tomografiu, je v porovnaní s dávkou makromolekulárneho kontrastného činidla na báze uhľohydrátov podstatne nižšia.

Pomocou komplexov polymérov podľa predloženého vynálezu je umožnené konštruovať a vyrobiť makromolekuly tak, aby mali jednotne definovanú molekulovú hmotnosť. Je tým prekvapujúco možné riadiť veľkosť

makromolekul tak, aby tieto boli dostatočne veľké, že môžu opúšťať vazálny priestor iba pomaly, ale aby boli súčasne dostatočne malé, aby mohli ešte prestupovať kapilármi obličiek, ktoré majú veľkosť 300 až 800 Å

V porovnaní s inými polymérnymi zlúčeninami podľa stavu techniky sa vyznačujú komplexy kaskádových polymérov podľa predloženého vynálezu zlepšenou schopnosťou vylučovania, vyššou účinnosťou, väčšou stabilitou a/alebo lepšou prijateľnosťou.

Ďalšia výhoda predloženého vynálezu spočíva v tom, že v súčasnosti boli dané k dispozícii komplexy s ligandmi hydrofilnými alebo lipofilnými, makrocyclickými alebo s otvoreným reťazcom, nízkomolekulárnymi alebo vysokomolekulárnymi. Tým je daná možnosť riadiť znášateľnosť a farmakokinetiku týchto komplexov polymérov chemickou substitúciou.

Predmetom predloženého vynálezu je ďalej spôsob výroby komplexov kaskádových polymérov, ktorého podstata spočíva v tom, že sa nechajú reagovať zlúčeniny všeobecného vzorca I'



v ktorom

A            znamená dusík obsahujúci kaskádové jadro bazálnej multiplicity,  
a

X a Y        znamenajú nezávisle od seba priamu väzbu alebo kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity x, prípadne y,

Z a W        znamenajú nezávisle od seba kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity z, prípadne w,

a            znamená číslo 2 až 12,

x, y, z a w    znamenajú nezávisle od seba číslo 1 až 4, a



$R^{1'}$  znamená nezávisle od seba vodíkový atóm, ekvivalent iónu kovu poradového čísla 20 až 29, 39, 42 až 44 alebo 57 až 83, alebo ochrannú skupinu kyseliny,

$R^{2'}$  znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná jednou alebo dvoma hydroxyskupinami alebo jednou karboxyskupinou,

$R^{3'}$  znamená skupinu  $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{U}^6-\text{T}'$  alebo  $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{U}^{7'}$ ,

pričom

$\text{U}^6$  znamená priamu alebo rozvetvenú, nasýtenú alebo nenasýtenú alkylénovú skupinu s 1 až 20 uhlíkovými atómami, obsahujúcu 1 až 5 iminoskupín, 1 až 3 fenylénové skupiny, 1 až 3 fenoxyskupiny, 1 až 3 fenyléniminoskupiny, 1 až 5 amidoskupín, 1 až 2 hydrazidové skupiny, 1 až 5 karbonylových skupín, 1 až 5 etylénoxyskupín, 1 močovinovú skupinu, 1 tiomočovinovú skupinu, 1 až 2 karboxyalkyliminoskupiny, 1 až 2 esterové skupiny, 1 až 10 kyslíkových atómov, 1 až 5 atómov síry a/alebo 1 až 5 dusíkových atómov a/alebo prípadne substituovanú 1 až 5 hydroxyskupinami, 1 až 2 merkaptoskupinami, 1 až 5 oxoskupinami, 1 až 5 tioxoskupinami, 1 až 3 karboxyskupinami, 1 až 5 karboxyalkylovými skupinami, 1 až 5 esterovými skupinami a/alebo 1 až 3 aminoskupinami, pričom prípadne prítomné fenylénové skupiny môžu byť substituované 1 až 2 karboxyskupinami, 1 až 2 sulfónovými skupinami alebo 1 a 2 hydroxyskupinami,

$\text{U}^{7'}$  znamená priamu väzbu alebo zvyšok  $-\text{NR}^2-\text{U}^6-\text{T}'$  a

$\text{T}'$  znamená skupinu  $-\text{C}^*\text{O}-$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$  alebo  $-\text{N}=\text{C}=\text{S}$ ,

$\text{C}^*\text{O}$  znamená aktivovanú karboxylovú skupinu a

$r$  znamená číslo 0, 1, 2 alebo 3,

s tým obmedzením, že pokiaľ K' znamená komplex, aspoň dva (u dvojmocných kovov), prípadne tri (u trojmocných kovov) zo substituentov R<sup>1</sup> znamená ekvivalent kovového iónu vyššie uvedených prvkov a že sa tu vyskytujú podľa potreby ďalšie karboxylové skupiny vo forme svojich solí s anorganickými a/alebo organickými bázami, aminokyselinami alebo amidmi aminokyselín,

prípadne prítomné ochranné skupiny sa odštiepia, takto získané kaskádové polyméry - pokiaľ K' znamená komplexotvornú látku, sa známym spôsobom nechajú reagovať s aspoň jedným oxidom kovu alebo soľou kovu prvku poradového čísla 20 až 29, 39, 42, 44 alebo 57 až 83, a prípadne sa potom v takto získaných komplexoch kaskádových polymérov ešte prítomné kyslé vodíkové atómy celkom alebo čiastočne substituujú kationmi anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín a prípadne sa ešte prítomné terminálne aminoskupiny podľa potreby - pred alebo po komplexácii kovom - acylujú.

Ako príklady aktivovaných karbonylových skupín C\*O v komplexoch, prípadne komplexotvorných látkach K' je možné uviesť anhydrid, p-nitrofenylester, imidester kyseliny hydroxyjantárovej, pentafluórfenylester a chlorid kyseliny.

Adície alebo acylácie, vykonávané pre zavedenie komplexotvorných jednotiek, sa vykonávajú so substrátmi, ktoré obsahujú potrebný substituent K (eventuálne viazaný na odštiepiteľnú skupinu) alebo je z nich požadovaný substituent reakciou generovaný.

Ako príklady adičných reakcií je možné uviesť reakcie izokyanátov a izotiokyanátov, pričom reakcia izokyanátov sa vykonáva výhodne v aprotickom rozpúšťadle, ako je napríklad tetrahydrofurán, dioxan, dimetylformamid, dimetylsulfoxid a metylénchlorid, pri teplote v rozmedzí 0 °C až 100 °C, výhodne 0 °C až 50 °C, prípadne za prídavku organickej bázy, ako je napríklad trietylamín, pyridín, lutidín, N-etyldiizopropylamín a N-metylmorfolín. Reakcia s izotiokyanátmi sa vykonáva spravidla v rozpúšťadlách, ako je napríklad voda

alebo nižšie alkoholy, ako je metylalkohol, etylalkohol, izopropylalkohol alebo ich zmesi, dimetylformamid alebo zmesi dimetylformamidu a vody, pri teplote v rozmedzí 0 °C až 100 °C, výhodne 0 °C až 50 °C, prípadne za prídavku organickej alebo anorganickej bázy, ako je napríklad trietylamín, pyridín, lutidín, N-etyldiizopropylamín, N-metylmorfolín alebo hydroxidy alkalických kovov alebo kovov alkalických zemín, ako je napríklad hydroxid lítny, hydroxid sodný, hydroxid draselný alebo hydroxid vápenatý alebo uhličitanu uvedených kovov, ako je uhličitan horečnatý.

Ako príklady acylačných reakcií je možné uviesť reakciu voľných karboxylových kyselín pomocou pre odborníkov známych metód (napríklad J. P. Greenstein, M. Winitz, Chemistry of the Amino Acids, John Wiley and Sons, N. Y. (1961), str. 943 - 945). Ako výhodné sa však ukázalo previesť skupiny karboxylových kyselín pred acylačnou reakciou do aktivovanej formy, ako je napríklad anhydrid, aktívny ester alebo chlorid kyseliny (napríklad E. Gross, J. Meienhofer, The Peptides, Academic Press, N. Y. (1979), Vol. 1, str. 65 - 314, N. F. Albertson, Org. React. 12, 157 (1962)).

Napríklad je možné pre reakciu anhydridov uviesť reakciu monoanhydridu kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomonomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diazaoktándikarboxylovej so zodpovedajúcimi požadovanými kaskádovými polymérmi, obsahujúcimi terminálne aminoskupiny, vo vode, v polárnych rozpúšťadlách, ako je napríklad dioxan, tetrahydrofurán, dimetylformamid, dimetylsulfoxid alebo acetonitril alebo v ich zmesiach pri bázičkom pH, výhodne 8 až 10, to znamená za prídavku báz, ako je napríklad hydroxid sodný, hydroxid draselný, trietylamín alebo pyridín, pri teplote v rozmedzí 0 °C až 50 °C, výhodne pri teplote miestnosti. Kvôli úplnej reakcii vo vode sa pracuje výhodne s dvojnásobným až trojnásobným prebytkom monoanhydridu.

V prípade reakcie s aktívnym esterom je možné poukázať na literatúru, známu pre odborníkov (napríklad Houben Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, diel E 5 (1985), 633). Môže sa

vykonávať za podmienok, uvedených vyššie pre reakciu s anhydridmi. Môžu sa ale tiež použiť aprotické rozpúšťadlá, ako je napríklad metylénchlorid a chloroform.

V prípade reakcií s chloridmi kyselín sa používajú iba aprotické rozpúšťadlá, ako je napríklad metylénchlorid, chloroform, toluén alebo tetrahydrofurán pri teplote v rozmedzí  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , výhodne  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ďalej je možné poukázať na pre odborníkov známu literatúru (napríklad Houben - Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1974), diel 15/2, str. 355 - 364).

Pokiaľ  $R^1$  znamená ochrannú skupinu kyseliny, prichádzajú do úvahy nižšie alkylové, arylové a aralkylové skupiny, napríklad metylová skupina, etylová skupina, propylová skupina, butylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, difenylmetylová skupina, trifenylmetylová skupina a ďalej bis-(p-nitrofenyl)- metylová skupina a trialkylsilylové skupiny.

Prípadne požadované odštiepenie ochranných skupín sa vykonáva metódami pre odborníkov známymi, napríklad hydrolyzou, hydrogenolýzou alebo alkalickým zmydelnením esterov alkáliami vo vodno - alkoholickom roztoku pri teplote v rozmedzí  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , alebo v prípade terc.-butylesteru pomocou kyseliny trifluóroctovej.

Prípadne neúplné ligandy alebo komplexy acylovanej terminálnej aminoskupiny môžu byť, ak sa to požaduje, prevedené na amidy alebo poloamidy. Napríklad je možné uviesť reakciu s acetanhydridom, anhydridom kyseliny jantárovej alebo anhydridom kyseliny diglykovej.

Zavedenie požadovaných kovových iónov sa vykonáva napríklad spôsobom popísaným v DE-OS 34 01 052 tak, že sa oxid alebo soľ (napríklad dusičnan, octan, uhličitan, chlorid alebo síran) prvku poradového čísla 20 až 29, 42, 44 alebo 57 až 83 rozpustí vo vode a/alebo nižšom alkohole (ako je metylalkohol, etylalkohol alebo izopropylalkohol) a nechá sa reagovať s roztokom alebo suspenziou ekvivalentného množstva komplexotvorného

ligandu a potom, ak sa to požaduje, sa prítomné kyslé vodíkové atómy alebo kyselinové skupiny substituujú kationmi anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín.

Zavedenie požadovaných kovových iónov sa môže vykonávať ako na stupni komplexotvornej látky I'A alebo I'B, to znamená pred kopuláciou na kaskádové polyméry, tak tiež po kopulácii nemetalizovaných ligandov I'A alebo I'B.

Neutralizácia sa pritom vykonáva pomocou anorganických báz, napríklad hydroxidov, uhličitanov alebo hydrogénuhličitanov, napríklad sodíka, draslíka, lítia, horčíka alebo vápnika a/alebo organických báz, ako okrem iného primárnych sekundárnych a terciárnych amínov, ako je napríklad etanolamín, morfolín, glukamín, N-metylglukamín a N,N-dimetylglukamín, ako i bázických aminokyselín, ako je napríklad lyzín, arginín a ornitín, alebo amidov pôvodne neutrálnych alebo kyslých aminokyselín, ako je napríklad kyselina hippurová alebo glycínacetamid.

Na výrobu neutrálnych komplexných zlúčenín sa môže napríklad ku kyslým komplexným soliam vo vodnom roztoku alebo suspenzii pridávať toľko požadovanej bázy, až sa dosiahne bod neutrality. Získaný roztok sa môže potom za vákua zahustiť do sucha. Často je výhodné, keď sa vytvorené neutrálne soli vyzrážajú prídavkom s vodou miešateľných rozpúšťadiel, ako sú napríklad nižšie alkoholy (metylalkohol, etylalkohol, izopropylalkohol a podobne), nižšie ketóny (acetón a podobne) alebo polárne étery (tetrahydrofurán, dioxan, 1,2-dimetoxyetán a podobne), čím sa získajú ľahko izolovateľné a dobre čistiteľné kryštalizáty. Ako obzvlášť výhodné sa ukázalo pridávanie požadovaných báz k reakčnej zmesi už počas tvorby komplexov, čím sa ušetrí jeden reakčný krok.

Keď obsahujú kyslé komplexné zlúčeniny viac voľných kyslých skupín, tak je často účelné vyrobiť neutrálne zmesné soli, ktoré obsahujú ako anorganické, tak tiež organické kationy ako protióny.

Toto sa môže napríklad vykonať tak, že sa komplexotvorné ligandy vo vodnej suspenzii alebo roztoku nechajú reagovať s oxidom alebo soľou prvku, poskytujúceho centrálny ión a s polovicou množstva organickej bázy, potrebnej pre neutralizáciu, vytvorená komplexná soľ sa izoluje, podľa potreby sa čistí a potom sa kvôli úplnej neutralizácii zmieša s potrebným množstvom anorganickej bázy. Poradie prídavkov báz môže byť tiež opačné.

Čistenie takto získaného komplexu kaskádového polyméru sa vykonáva po prípadnom nastavení hodnoty pH prídavkom kyseliny alebo bázy na 6 až 8, výhodne 7, výhodne ultrafiltráciou membránou vhodnej veľkosti pórov (napríklad Amicon®, XM30, Amicon® YM10, Amicon® YM3) alebo gelovou filtráciou na vhodných Sephadex®-gelochoch.

Výroba terminálnej skupiny nesúcich kaskádových polymérov, potrebných na kopoláciu na komplexotvorné látky K' (prípadne tiež zodpovedajúce kovy obsahujúce komplexy) vychádza všeobecne z komerčne dostupných, prípadne podľa literárnych údajov výrobných dusík obsahujúcich kaskádových štartérov  $A(H)_a$ . Zavedenie generačných iónov X, Y, Z a W sa vykonáva pomocou metód známych z literatúry (napríklad J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 3. ed., John Wiley & Sons (1985), 364 - 381) acylačnými prípadne alkylačnými reakciami s chránenými amínmi, majúcimi požadovanú štruktúru, ktoré obsahujú pre väzbu na kaskádové jadro schopné funkčné skupiny, ako napríklad karboxylové kyseliny, izokyanáty, izotiokyanáty alebo aktivované karboxylové kyseliny (ako anhydridy, aktívne estery, chloridy kyselín), prípadne halogenidy (ako napríklad chloridy, bromidy, jodidy), aziridín, mezylát, tozylát alebo iné, pre odborníkov známe odštiepiteľné skupiny.

Už tu bolo zdôraznené, že rozlišovanie medzi kaskádovým jadrom A a reprodukčnými jednotkami je čisto formálny. Zo syntetického hľadiska môže byť výhodné, že sa nepoužije formálny kaskádový štartér  $A(H)_a$ , ale dusíkové atómy, patriace podľa definície ku kaskádovým jadrom, sa zavedú až s prvou generáciou. Tak je napríklad pre syntézu zlúčeniny, popísanej v príklade 1b) výhodnejšie nealkylovať formálne kaskádové jadro triamid kyseliny trimezínovej

s napríklad benzyloxykarbonylaziridínom (šesťkrát), ale nechať reagovať trichlorid kyseliny trimezínovej s bis[2- (benzyloxykarbonylamino)-etyl]-amínom (trikrát).

Ako ochranné skupiny aminoskupín je možné uviesť pre odborníkov bežné benzyloxykarbonylovú skupinu, terc.- butoxykarbonylovú skupinu, trifluóracetylovú skupinu, fluorenylmetoxykarbonylovú skupinu, benzylovú skupinu a formylovú skupinu (th. W. Greene, P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Syntheses, 2. ed., John Wiley & Sons (1991), str. 309 - 385). Po odštiepení týchto ochranných skupín, ktoré sa rovnako vykonáva pomocou metód známych z literatúry, môže sa zaviesť do molekuly nasledujúca požadovaná generácia. Okrem tejto z dvoch reakčných stupňov (alkylácia, prípadne acylácia a odštiepenie ochranných skupín) zostávajúcej výstavby jednej generácie je tiež možné rovnako v dvoch reakčných stupňoch súčasne zavedenie dvoch, napríklad  $X-[Y]_x$  alebo viacerých generácií, napríklad  $X-[Y-(Z)_y]_x$ . Výstavba týchto viacgeneračných jednotiek sa vykonáva alkyláciou, prípadne acyláciou nechránených amínov so štruktúrou požadovaných reprodukčných jednotiek ("reprodukčný amín" s druhým reprodukčným amínom, ktorého aminové skupiny sú prítomné v chránenej forme).

Zlúčeniny všeobecného vzorca  $A(H)_a$ , potrebné ako kaskádový štartér, sú komerčne dostupné alebo je možné ich vyrobiť podľa metód známych z literatúry alebo analogicky (napríklad Houben - Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme - Verlag, Stuttgart (1957), del 11/1, M. Micheloni a kol., Inorg. Chem. (1985), 24, 3702, T. J. Atkins a kol., Org. Synth., Vol. 58 (1978), 86 - 98, The Chemistry of Heterocyclic Compounds: J. S. Bradshaw a kol., Aza-Crown-Macrocycles, John Wiley & Sons, N. Y. (1993). Ako príklady je možné uviesť:

Tris(aminoetyl)amín (napr. Fluka Chemie AG, Schweiz, Aldrich-Chemie, Deutschland),

Tris(aminopropyl)amín (napr. C. Woerner a kol., Angew. Chem. Innt. Ed. Engl. (1993), 32, 1306),

Dietyléntriámín (napr. Fluka, Aldrich),

Trietyléntetramín (napr. Fluka, Aldrich),  
Tetraetylénpentamín (napr. Fluka, Aldrich),  
1,3,5-tris(aminometyl)benzén (napr. T. M. Farrett a kol., J. Am. Chem. Soc. (1991), 113, 2965),  
amid kyseliny trimezínovej (napr. H. Kurihara, Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 04077481, CA 117, 162453),  
1,4,7-triazacyklonán (napr. Fluka, Aldrich),  
1,4,7,10,13-pentaazacyklopentadekán (napr. K. W. Aston, Eur. Pat. Appl., 0 524 161, CA 120, 44580),  
1,4,8,11-tetraazacyklotetradekán (napr. Fluka, Aldrich),  
1,4,7,10,13,16,19,22,25,28-dekaazacyklotriakontán (napr. A. Andres a kol., J. Chem. Soc. Dalton Trans. (1993), 3507),  
1,1,1-tris(aminometyl)etán (napr. R. J. Geue a kol., Aus. J. Chem. (1983), 36, 927),  
Tris(aminopropyl)-nitrometán (napr. G. R. Newkome a kol., Angew. Chem. 103, 1205 (1991),  
analogicky s R. C. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, N. Y. (1989), 419 - 420),  
amid kyseliny 1,3,5,7-adamantantetrakarboxylovej (napr. Stetter a kol., Tetr. Lett. 1967, 1841),  
amid kyseliny 1,2-bis[fenoxyetán]-3',3'',5',5''-tetrakarboxylovej (napr. J. P. Collman a kol., J. Am. Chem. Soc. (1988), 119, 3477 - 3486 analogicky z predpisu pre príklad 1b)),  
1,4,7,10,13,16,21,24-oktaazabicyklo[8.8.8]hexakozán (napr. P. H. Smith a kol., J. Org. Chem. (1993), 58, 7939).

Výroba reprodukčných amínov, obsahujúcich vyššie uvedené funkčné skupiny, potrebných pre výstavbu generácií, sa vykonáva podľa predpisov, popísaných v experimentálnej časti, prípadne podľa metód popísaných v literatúre alebo analogicky:

Napríklad je možné uviesť:

Nalfa,Nepsilon-Di-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-lyzín-p-nitrofenylester (predpis k príkladu 1c))

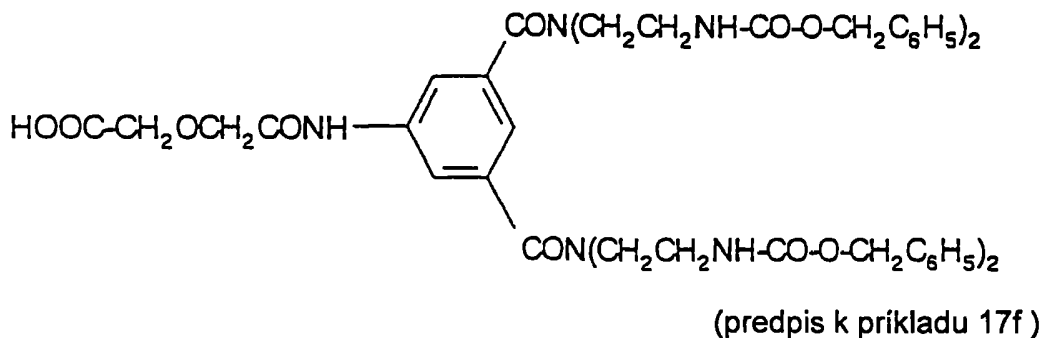
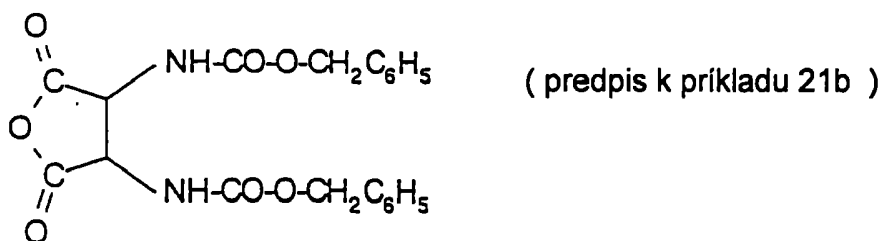
HOOC-CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CO-N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (predpis k príkladu 7a))

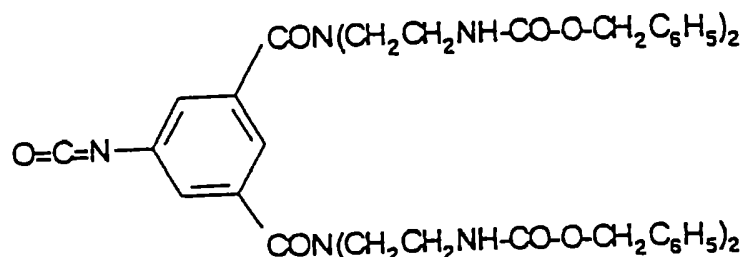
HOOC-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (predpis k príkladu 9e),

HOOC-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-COCF<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (vyrobené podľa predpisu pre príklad 7a)) tak, že sa namiesto z bis(benzyloxykarbonylamino- metyl)amínu vychádza z bis(trifluóracetylaminoetyl)amínu a namiesto z anhydridu kyseliny diglykolovej sa vychádza z anhydridu kyseliny jantárovej),

HOOC-CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (vyrobené podľa predpisu pre príklad 7a) tak, že sa namiesto z bis(benzyloxykarbonylaminoetyl)amínu vychádza z amínu, popísaného v príklade 9b)),

O=C=N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (predpis k príkladu 9c)),





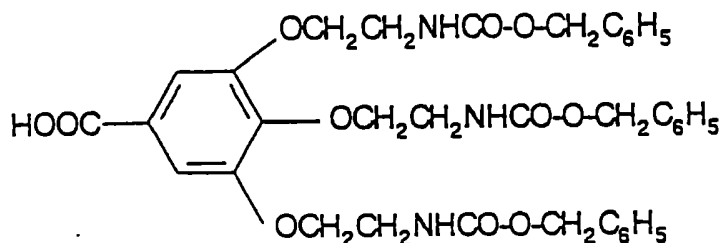
vyrobené podľa predpisu k príkladu 17f) tak, že sa reakcia vykonáva namiesto s anhydridom kyseliny diglykolovej s trifosgénom analogicky ako je popísané v predpise v príklade 9c)),

N-benzyloxykarbonyl-aziridín

(predpis k príkladu 15a))

N-benzyloxykarbonyl-glycín

dostupný napríklad u firmy Bachem California:



Vyrobené podľa C. J. Cavallita a kol., J. Amer. Chem. Soc. 1943, 65, 2140 tak, že sa namiesto z benzylchloridu vychádza z N-CO-O-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-(2-brómetyl)amínu (A. R. Jacobson a kol., J. Med. Chem. (1991), 34, 2816).

Výroba komplexov a komplexotvorných látok všeobecného vzorca I'A a I'B sa vykonáva podľa predpisov, popísaných v experimentálnej časti, prípadne podľa metód známych z literatúry (napríklad EP 0 512 661, 0 430 863, 0 255 471 a 0 565 930) alebo analogicky.

Výroba farmaceutických prostriedkov podľa predloženého vynálezu sa vykonáva rovnako pomocou známych spôsobov tak, že sa komplexné zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, prípadne za prídavku v galenike bežných prísad, suspendujú alebo rozpustia vo vodnom médiu a potom sa prípadne suspenzia alebo roztok sterilizuje. Ako vhodné prísady je možné uviesť napríklad fyziologicky neškodné pufre (napríklad trometamín), prísada komplexotvorných látok alebo slabých komplexov (napríklad kyselina dietylénamín-pentaoctová alebo korešpondujúce komplexy Ca-kaskádových polymérov) alebo pokiaľ je potrebné elektrolyty, napríklad chlorid sodný alebo pokiaľ sú potrebné antioxidanty, napríklad kyselina askorbová.

Keď sú pre enterálnu aplikáciu alebo iné účely požadované suspenzie alebo roztoky prostriedkov podľa predloženého vynálezu vo vode alebo fyziologickom soľnom roztoku, zmieša sa s jednou alebo niekoľkými v galenike bežnými pomocnými látkami (napríklad metylcelulózou, laktózou alebo manitom) a/alebo tenzidmi (napríklad lecitínom, Tweenom® alebo Myrjem®) a/alebo aromatickými látkami kvôli korekcii chuti (napríklad éterickými olejmi).

Principiálne je tiež možné vyrobiť farmaceutické prostriedky podľa predloženého vynálezu tiež bez izolácie komplexnej soli. V každom prípade potrebné vziať do úvahy to, aby sa tvorba chelátu vykonávala tak, aby boli soli podľa predloženého vynálezu a roztoky solí prakticky zbavené nekomplexovaných toxicky pôsobiacich kovových iónov.

Toto je možné zaistiť napríklad pomocou farebných indikátorov, ako je xylenolorangia, kontrolnou titráciou počas procesu výroby. Predmetom predloženého vynálezu je teda tiež spôsob výroby komplexných zlúčenín a ich solí. Ako posledné zabezpečenie zostáva čistenie izolovanej komplexnej soli.

Farmaceutické prostriedky podľa predloženého vynálezu obsahujú výhodne 1  $\mu\text{mol}$  až 1  $\text{mol/l}$  komplexnej soli a dávkujú sa spravidla v množstve 0,0001 až 5  $\text{mmol/kg}$ . Sú určené pre enterálnu a parenterálnu aplikáciu. Komplexné zlúčeniny podľa predloženého vynálezu prichádzajú do úvahy pre použitie

1. pre NMR-diagnostiku a röntgenovú diagnostiku vo forme svojich komplexov s iónmi prvkov s poradovými číslami 21 až 29, 39, 42, 44 a 57 až 83,
2. pre rádiodiagnostiku a rádioterapiu vo forme svojich komplexov s rádioizotopmi prvkov poradových čísel 27, 29, 31, 32, 37 až 39, 43, 49, 62, 64, 70, 75 a 77.

Prostriedky podľa predloženého vynálezu spĺňajú najrôznejšie predpoklady pre vhodnosť ako kontrastné činidlá pre jadrovú spinovú tomografiu. Tak sú výborne vhodné na to, aby po orálnej alebo parenterálnej aplikácii zvýšením intenzity signálu výrazne zlepšovali obraz, získaný pomocou jadrovej spinovej tomografie. Ďalej vykazujú vysokú účinnosť, ktorá je potrebná na to, aby sa telo zaťažovalo pokiaľ možno nepatrnými množstvami cudzích látok a tiež dobrú prijateľnosť, ktorá je nutná na to, aby sa zachoval neinvazívny charakter skúšok.

Dobrá rozpustnosť vo vode a nepatrná osmolalita prostriedkov podľa predloženého vynálezu dovoľuje výrobu vysoko koncentrovaných roztokov, a tým udržanie objemového zaťaženia obehu v prijateľných hraniciach a vyrovnanie zriedenia telesnými tekutinami. To znamená, že NMR-diagnostika musí byť stonásobne až tisícnásobne lepšie rozpustná vo vode ako pre NMR-spektroskopiu. Ďalej vykazujú prostriedky podľa predloženého vynálezu nielen vysokú stabilitu in vitro, ale tiež prekvapujúco vysokú stabilitu in vivo, takže uvoľnenie alebo výmena iónov - samých o sebe jedovatých - ktoré nie sú v komplexoch kovalentne viazané, v priebehu doby, v nových kontrastných činidlách úplne opäť vylučovaných, prebieha celkom pomaly.

Všeobecne sa prostriedky podľa predloženého vynálezu dávajú pre použitie ako NMR-diagnostika v množstve 0,0001 až 5 mmól/kg, výhodne 0,005 až 0,5 mmól/kg. Detaily použitia sú napríklad diskutované v publikácii H.-J. Weinmann a kol., Am. J. of Roentgenology 142, 619 (1984).

Obzvlášť nízke dávky (pod 1 mg/kg telesnej hmotnosti) organošpecifických NMR-diagnostík sú použiteľné napríklad pre dôkaz tumorov a srdiečného infarktu.

Ďalej môžu byť komplexné zlúčeniny podľa predloženého vynálezu výhodne použité ako susceptibilitné reagenty a ako shift-reagenty pre in-vivo-NMR-spektroskopiu.

Prostriedky podľa predloženého vynálezu sú na základe svojich rádioaktívnych vlastností a dobrej stability v nich obsiahnutých komplexných zlúčenín vhodné ako rádiodiagnostické prostriedky. Detaily o ich použití a dávkovaní sú popísané napríklad v publikácii "Radiotracers for Medical Applications", CRC-Pres, Boca Raton, Florida.

Ďalší obraz poskytujúcou metódou s rádioizotopmi je pozitronová emisná tomografia, ktorá využíva pozitrony emitujúce izotopy, ako je napríklad  $^{43}\text{Sc}$ ,  $^{44}\text{Sc}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{55}\text{Co}$  a  $^{68}\text{Ga}$  (Heiss, W. D. Phelps, M. E. Positron Emission Tomography of Brain, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1983).

Vzhľadom k tomu, že sa látky podľa predloženého vynálezu obohacujú v malígnych tumoroch (žiadna difúzia do zdravého tkaniva, ale vysoká prechodnosť cievami tumoru), môžu tiež podporovať ožarovaciu terapiu malígnych tumorov. Toto sa odlišuje od zodpovedajúcej diagnostiky iba množstvom a druhom použitého izotopu. Cieľom je pritom rozrušenie buniek tumoru na energiu bohatým krátkovlnným žiarením s pokiaľ možno nepatrným dosahom. Na to sa využíva vzájomné pôsobenie kovov, obsiahnutých v komplexoch (napríklad železa alebo gadolína) s ionizujúcim žiarením (napríklad rentgenovými lúčmi) alebo s neutrónovým žiarením. Týmto efektom sa významne zvýši lokálna dávka ožiarenia na mieste, kde sa nachádza kovový komplex (napríklad v tumore). Aby sa dosiahla rovnaká dávka žiarenia v malígnom tkanive, môže sa pri použití takýchto kovových komplexov zaťaženie zdravého tkaniva žiarením podstatne zredukovať, a tým znížiť zaťažujúce vedľajšie účinky pre pacientov. Konjugáty kovových komplexov podľa

predloženého vynálezu sú teda vhodné tiež ako rádiosensibilizujúce látky pri ožarovacej terapii malígnych tumorov (napríklad využitím Mössbauerovho efektu pri neutrónovej terapii). Vhodné  $\beta$ -emitujúce ióny sú napríklad  $^{46}\text{Sc}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{48}\text{Sc}$ ,  $^{72}\text{Ga}$ ,  $^{73}\text{Ga}$  a  $^{90}\text{Y}$ . Vhodné  $\alpha$ -emitujúce ióny s nepatrnými polčasmi rozpadu sú napríklad  $^{211}\text{Bi}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$  a  $^{214}\text{Bi}$ , pričom výhodný je  $^{212}\text{Bi}$ . Vhodný fotóny a elektróny emitujúci ión je  $^{158}\text{Gd}$ , ktorý sa môže získať zo  $^{157}\text{Gd}$  bombardovaním neutrónmi.

Keď je prostriedok podľa predloženého vynálezu určený pre použitie vo variante ožarovacej terapie, navrhutej R. L. Millsom a kol. (Nature Vol. 336 (1988), str. 787), tak musí byť centrálny ión odvodený od Mössbauerovho izotopu, ako je napríklad  $^{57}\text{Fe}$  alebo  $^{151}\text{Eu}$ .

Pri aplikácii in vivo terapeutických prostriedkov podľa predloženého vynálezu môžu sa tieto aplikovať spoločne s vhodným nosičom, ako je napríklad sérum alebo fyziologický roztok chloridu sodného a spoločne s iným proteínom, ako je napríklad ľudský sérový albumín. Dávkovanie je pritom závislé od druhu celulárnej poruchy, od používaného kovového iónu a od druhu obraz poskytujúcej metódy.

Terapeutické prostriedky podľa predloženého vynálezu sa aplikujú parenterálne, výhodne intravenózne.

Detaily použitia rádioterapeutík sú diskutované napríklad v publikácii R. W. Kozaka a kol., TIBETIC, október 1986, 262.

Prostriedky podľa predloženého vynálezu sú výborne vhodné ako röntgenové kontrastné činidlá, pričom obzvlášť je potrebné vyzdvihnúť to, že sa s nimi nedajú poznať v biochemicko - farmakologických skúškach žiadne príznaky reakcií podobných anafylaxií, známých z použitia jód obsahujúcich kontrastných činidiel. Obzvlášť cenné sú kvôli dobrým absorpčným vlastnostiam v oblastiach vysokých napätí pre digitálne substrakčné techniky.

Všeobecne sa prostriedky podľa predloženého vynálezu dávajú pre použitie ako rentgenové kontrastné činidlá analogicky ako napríklad u meglumín - diatrizoátu v množstve 0,1 až 5 mmól/kg, výhodne 0,25 až 1 mmól/kg.

Detaily použitia röntgenových kontrastných činidiel sú diskutované napríklad v publikácii Barke, Röntgenkontrastmittel, G. Thieme, Leipzig (1970) a P. Thurn, E. Bächeler "Einführung in die Röntgendiagnostik", G. Thieme, Stuttgart, New York (1977).

Vcelku sa podarilo syntetizovať nové komplexotvorné látky, kovové komplexy a kovové komplexné soli, ktoré otvárajú nové možnosti v diagnostickej a terapeutickej medicíne.

Nasledujúce príklady vyhotovenia slúžia na bližšie objasnenie predmetu vynálezu.

### Príklady vyhotovenia vynálezu

#### Príklad 1

##### a) Bis[2-(benzyloxykarbonylamino)-etyl]-amín

51,5 g (500 mmól) dietyléntriámínu a 139 ml (1 mól) trietylámínu sa rozpustí v dichlórmetáne a pri teplote  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sa zmieša so 161 g benzylykanoformiátu (Fluka) v dichlórmetáne a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes odparí, získaný zvyšok sa vyberie do dietyléteru, organická fáza sa premyje roztokom uhličitanu sodného a vysuší sa pomocou bezvodého síranu sodného. Filtrát sa zmieša s hexánom a vytvorená zrazenina sa odfiltruje a usuší.

Výťažok: 163,4 g (88 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,67      H 6,78      N 11,31

zistené: C 64,58 H 6,83 N 11,28

b) Triamid kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis[2- (benzyloxykarbonylamino)-etyl]-trimezínovej

13,27 g (50 mmól) trichloridu kyseliny trimezínovej (Aldrich) a 34,7 ml (250 mmól) trietylaminu sa rozpustia v dimetylformamide a pri teplote 0 °C sa zmieša so 65,0 g (175 mmól) amínu, popísaného v príklade 1a) a reakčná zmes sa potom mieša cez noc pri teplote miestnosti. Získaný roztok sa vo vákuu odparí a zvyšok sa chromatografuje za použitia etylesteru kyseliny octovej na silikageli.

Výťažok: 39,4 g (62 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 65,24 H 5,95 N 9,92

zistené: C 65,54 H 5,95 N 9,87

c) Nalfa,Nepsilon-bis(N,N'-dibenzyloxykarbonyl-lyzyl)-lyzín, chránený "tri-lyzín"

3,6 g (20 mmól) lyzín-hydrochloridu a 6,95 ml (50 mmól) trietylaminu sa rozpustia v dimetylformamide, zmieša sa s 26,8 g (50 mmól) Nalfa,Nepsilon-dibenzyloxykarbonyl-lyzín-p- nitrofenyl-esteru (Bachem) a reakčná zmes sa mieša po dobu 2 dni pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí, získaný zvyšok sa vyberie do etylesteru kyseliny octovej a vytrepe sa zriedenou kyselinou chlorovodíkovou. Organická fáza sa vysuší pomocou bezvodého síranu sodného, rozpúšťadlo sa odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje za použitia zmesi etylacetátu a etylalkoholu s odstupňovaným gradientom.

Výťažok: 10,7 g (57 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 63,95      H 6,65      N 8,95

zistené:      C 63,63      H 6,69      N 8,93

d) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín na báze triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis [2-(trilyzylamino)-etyl]-trimezínovej

1,27 g (1 mmól) hexa-benzylkarbonylamínu, popísaného v príklade 1b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíka v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý hexa-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa usuší a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalej popisovanej reakcii.

Výťažok: 0,95 g (kvantitatívny).

7,0 g (7,5 mmól) "tri-lyzínu" popísaného v príklade 1c), 1,2 g (7,5 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 2,4 g (7,5 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium tetrafluór- borátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a mieša sa po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a s 0,95 g (1 mmól) vyššie popísaného hexa-amín-hydrobromidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes za vákua odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylacetátu a etylalkoholu (2 : 1).

Výťažok: 4,5 g (76 % teórie).

vypočítané: C 64,35 H 6,71 N 10,52

zistené:      C 64,08      H 6,57      N 10,29

e) 24-gadolínium-DTPA-monoamid na báze triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis[2-(trilyzylamino)-etyl]- trimezínovej

1,20 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa dokončí začínajúce zrážanie pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu s usuší, získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej (príklad 13a) EP 0 331 616) v pevnej forme, pričom sa hodnota pH udržiava ďalším prídavkom hydroxidu sodného na konštantnej hodnote 9,5. Po skončení prídavku sa kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru nastaví hodnota pH pomocou 5 N hydroxidu sodného na < 13 a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH nastaví koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na 5, zmieša sa s 2,61 g (7,2 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa 30 minút pri teplote 80 °C a po ochladení sa hodnota pH upraví na 7 a zmes sa odsolí na ultrafiltračnej membráne YM3 AMICON. Retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výťažok: 3,31 g (94,6 % teórie)

obsah vody (Karl-Fischer): 8,5 %

stanovenie Gd (AAS): 22,9 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 34,89      H 4,17      Gd 23,57      N 10,24      Na 3,45

zistené:      C 35,26      H 4,32      Gd 22,82      N 10,56      Na 3,14

Analogickým spôsobom sa získa s Yb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> yterbiový komplex.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 34,08      H 4,08      Yb 25,34      N 10,00      Na 3,37

zistené: C 33,90 H 4,22 Yb 25,06 N 9,83 Na 3,14

## Príklad 2

a) 10-[5-(2-karboxyfenyl)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-pentyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán

50 g (144,3 mmól) 1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (DO3A) sa rozpustí v 250 ml vody a hodnota pH sa nastaví pomocou 5 N hydroxidu sodného na 13. Potom sa v priebehu jednej hodiny prikvapká roztok 38,12 g (187,6 mmól) N-(2,3-epoxypropyl)-ftalimidu v 100 ml dioxanu a reakčná zmes sa mieša po dobu 24 hodín pri teplote 50 °C a hodnota pH sa udržiava prídavkom 5 N hydroxidu sodného na 13. Hodnota pH získaného roztoku sa nastaví 10 % kyselinou chlorovodíkovou na 2 a tento sa vo vákuu odparí. Získaný zvyšok sa rozpustí v malom množstve vody a čistí sa na stĺpci iónomeniča (Reillex® = poly-(4-vinyl)-pyridín, eluens voda). Hlavná frakcia sa vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa konečne čistí pomocou chromatografie na RP-18 (LiChroPrep®/pohyblivá fáza: gradient zmesi tetrahydrofurán /metylalkohol/voda). Po odparení hlavných frakcií sa získa 63,57 g (71 % teórie amorfnej pevnej látky).

Obsah vody: 8,5 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 52,90 H 6,57 N 12,34

získané: C 52,65 H 6,68 N 12,15

b) 10-(3-amino-2-hydroxy-propyl)-1,4,6-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán

50 g (88,1 mmól) zlúčeniny z príkladu 2a) sa zahrieva v 300 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej po dobu 24 hodín k varu pod spätným

chladičom. Potom sa reakčná zmes odparí do sucha, získaný zvyšok sa rozpustí v malom množstve vody a čistí sa na stĺpci iónomeniča (Reillex® = poly-(4-vinyl)pyridín, eluácia vodou). Hlavná frakcia sa odparí do sucha.

Výťažok: 39,0 g (95 % teórie) sklovitej pevnej látky

obsah vody: 10,3 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 48,68      H 7,93      N 16,70

získané:      C 48,47      H 8,09      N 16,55

c) Gadolíniový komplex 10-(3-amino-2-hydroxy-propyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

38 g (90,6 mmól) zlúčeniny z príkladu 2b) sa rozpustí v 300 ml vody a pridá sa 16,42 g (45,3 mmól) oxidu gadolína. Reakčná zmes sa zahrieva po dobu 3 hodiny na teplotu 90 °C, načo sa ochladený roztok mieša s 5 ml kyslého iónomeniča (IR-120/H<sup>+</sup>-forma) a 5 ml bázického iónomeniča (IRA-410/OH<sup>-</sup>-forma) po dobu jednej hodiny pri teplote miestnosti. Iónomeniče sa potom odfiltrujú a po lyofilizácii filtrátu sa získa 57,23 g (9 % teórie) amorfnej pevnej látky.

Obsah vody: 11,3 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 35,59      H 5,27      Gd 27,41      N 12,21

získané:      C 35,32      H 5,38      Gd 27,20      N 12,31

d) Gadolíniový komplex 10-[7-(4-nitrofenyl)-2-hydroxy- 5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris (karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

K 20 g (34,86 mmól) zlúčeniny z príkladu 2c) v 200 ml dimetylformamidu a 20 ml trietylaminu sa pridá 9,84 g (41,8 mmól) anhydridu kyseliny 3-(4-nitrofenyl)-glutarovej (Journal of Org. Chem., Vol. 26, 3856 (1961)) a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa odparí vo vákuu do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje zo zmesi izopropylalkoholu a kyseliny octovej (95 : 5).

Výťažok: 27,46 g (94 % teórie) žltavej pevnej látky

obsah vody: 3,4 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 41,58      H 4,86      Gd 19,44      N 10,39

získané:      C 41,38      H 4,97      Gd 19,28      N 10,17

e) Gadolíniový komplex 10-[7-(aminofenyl)-2-hydroxy- 5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris (karboxymetyl)-1,4,7-tetraazacyklododekánu

25 g (30,9 mmól) zlúčeniny z príkladu 2d) sa rozpustí v 250 ml metylalkoholu a pridá sa 5 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na C). Zmes sa hydrogenuje cez noc pri teplote miestnosti, načo sa katalyzátor odfiltruje a filtrát sa vo vákuu odparí do sucha.

Výťažok: 24,07 g (97 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky

obsah vody: 3,0 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,18      H 5,31      Gd 20,19      N 10,79

získané:      C 43,27      H 5,48      Gd 20,02      N 10,61

f) Gadolíniový komplex 10-[7-(4-izotiokyanátófenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

15 g (19,26 mmól) zlúčeniny z príkladu 2e) sa rozpustí v 100 ml vody a pridá sa 6,64 (57,8 mmól) tiofosgénu v 50 ml chloroformu. Reakčná zmes sa mieša po dobu jednej hodiny pri teplote 50 °C, načo sa ochladí na teplotu miestnosti, organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa vytrepe dvakrát vždy 100 ml chloroformu. Vodná fáza sa potom odparí do sucha a získaný zvyšok sa pri teplote miestnosti rozmieša so 100 ml izopropylalkoholu. Pevná látka sa odfiltruje a premyje sa dietyléterom. Po sušení cez noc vo vákuu pri teplote 40 °C sa získa 15,9 g (98 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky.

Obsah vody: 3,5 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 42,43    H 4,79    Gd 19,15    N 10,24    S 3,91

získané:    C 41,38    H 4,97    Gd 19,28    N 10,17    S 3,96

g) Tiomočovinový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotio- kyanátopenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7tris(karbo- xymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s triamidom kyseliny 24-amín- N,N,N',N',N'',N''-hexakis[2-(trilyzyl-amino)-etyl]-trimezínovej

1,20 g (0,2 mmól) 24-benzyloxykarbonylamínu z príkladu 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa pomocou dietyléteri dokončí začínajúce zrážanie a vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vysuší sa vo vákuu.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa zalkalizuje na pH 9,5. Do tohto roztoku sa po častiach pridá 6,08 g (7,2 mmól) izotio- kyanátu, popísaného v predchádzajúcom príklade 2f), v pevnej forme, pričom sa hodnota pH udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes mieša cez noc pri teplote miestnosti a nakoniec sa zneutralizuje zriedenou kyselinou

chlorovodíkovou. Získaný roztok sa podrobí ultrafiltrácii (Amicon YM3) a retentát sa lyofilizuje.

Výťažok: 4,16 g (83 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,2 %,

stanovenie Gd (AAS): 14,7 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,08	H 5,11	Gd 16,41	N 11,51	Na 2,40
	S 3,35				
získané:	C 43,47	H 5,32	Gd 16,19	N 11,23	Na 2,04
	S 3,07				

Analogickým spôsobom sa získa N-metyl-D-glukamín namiesto hydroxidu sodného N-metyl-D-glukamínová soľ:

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,91	H 5,93	Gd 13,89	N 10,98	S 2,83
získané:	C 41,38	H 4,97	Gd 19,28	N 10,17	S 2,60

### Príklad 3

a) Gadolíniový komplex 10-(8-karboxy-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-7-oxa-oktyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10 -tetraazacyklododekánu

10 g (17,43 mmól) zlúčeniny z príkladu 2c) sa rozpustí v 100 ml vody a pridá sa 20 ml trietylamínu. Pri teplote 0 °C sa pridá 5,80 g (50 mmól) anhydridu kyseliny diglykolovej a reakčná zmes sa mieša po dobu 3 hodiny pri tejto teplote. Potom sa odparí vo vákuu do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli (pohyblivá fáza: metylalkohol/amoniak (20 % aq) 20 : 1). Produkt obsahujúci frakcie sa odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do 100 ml vody a hodnota pH tohto roztoku sa nastaví prídavkom

kyslého iónomeniča (IR 120 H<sup>+</sup>) na 2,46. Iónomenič sa potom odfiltruje, premyje sa dvakrát malým množstvom vody a roztok sa odparí do sucha. Získaný zvyšok sa kryštalizuje zo zmesi metylalkoholu a acetónu. Po usušení vo vákuu (125 °C, cez noc) sa získa 7,57 g (63 % teórie) bezfarebnej kryštalickej pevnej látky.

Obsah vody: 3,1 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 36,57      H 4,97      Gd 22,80      N 10,15

získané:      C 36,43      H 5,06      Gd 22,70      N 10,01

b) 24-amid-konjugát z gadoliniového komplexu 10-[8-karboxy -2-hydroxy-5-oxo-4-aza-7-oxaoktyl)-1,4,7-tris (karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s triamidom kyseliny 24-amín-N,N,N',N',N'',N''-hexakis [2-(trilyzyl-amino)-etyl]-trimezínovej

1,20 g (0,2 mmól) 24-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa usuší a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalej popisovanej reakcii.

Výťažok: 0,95 g (kvantitatívny).

4,14 g (6 mmól) komplexnej kyseliny, popísanej v príklade 3a), 0,96 g (6 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu (HOBt) a 1,92 g (6 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl-urónium tetrafluórborátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša so 4,13 ml (24 mmól) N-etyldiizopropylamínu a s 0,95 g (0,2 mmól) vyššie popísaného 24-amín-hydrobromidu a reakčná zmes sa

nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa pridá 0,23 g (2 mmól) anhydridu kyseliny diglykolovej a mieša sa ešte po dobu jednej hodiny. Potom sa zmes vo vákuu odparí, získaný zvyšok sa vyberie do vody a čistí sa cez ultrafiltračnú membránu AMICON YM10. Retentát sa, ak je to potrebné, upraví na hodnotu pH 7, podrobí sa membránovej filtrácii a konečne sa lyofilizuje.

Výťažok: 3,62 g (88 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,1 %,

stanovenie Gd (AAS): 18,7 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,24      H 5,46      Gd 19,97      N 12,32

získané:      C 40,07      H 5,63      Gd 20,20      N 12,17

#### Príklad 4

a) N,N,N-tris[2-Nalfa,Nepsilon-dibenzoyloxykarbonyl-lyzylamino)-etyl]amín

1,46 g (10 mmól) tris(2-aminoetyl)amínu a 21,4 g (40 mmól) Nalfa,Nepsilon-dibenzoyloxykarbonyl-lyzín-p-nitrofenylesteru sa rozpustí v dimetylformamide a cez noc sa mieša pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa reakčná zmes vo vákuu odparí, získaný zvyšok sa rozmieša v dietylétere, vytvorená zrazenina sa odsaje a kryštalizuje sa z etylesteru kyseliny octovej.

Výťažok: 12,55 g (94 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 64,75      H 6,79      N 10,49

získané:      C 64,48      H 6,88      N 10,26

## b) Plne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín na báze

## N,N,N-tris[2-(Nalfa,Nepsilon-bis{trilyzyl}-lyzylamino-etyl)amínu

1,33 g (1 mmól) hexa-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 4a), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléru, vzniknutý hexylamín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije pri ďalšej reakcii.

Výťažok: 1,02 g (kvantitatívny).

7,0 g (7,5 mmól) Nalfa,Nepsilon-bis(N,N'-dibenzyloxy- karbonyl-lyzyl)-lyzínu (chránený "tri-lyzín") sa analogicky ako v príklade 1d) aktivuje pomocou TBTU a hydroxybenzotriazolom a analogicky sa nechá reagovať s 1,02 g (1 mmól) vyššie popísaného N,N,N-tris[2-(lyzylamino)etyl]amín-hexyhydrobromidu a 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a spracuje sa rovnakým spôsobom ako je tam popísané.

Výťažok: 4,42 g (73 % teórie)

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 64,25      H 6,89      N 10,64

získané:      C 64,06      H 7,04      N 10,69

## c) 24-gadolínium-DTPA-monoamid na báze 24-amínu N,N,N-tris[2-(Nalfa,Nepsilon-bis{trilyzyl}-lyzylamino-etyl)amín

1,21 g (0,2 mmól) 24-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 4b) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší. Získaný zvyšok sa podľa predpisu,

uvedeného v príklade 1e) acyluje 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl) -3,6-diazaoktándikarboxylovej a komplexuje s 2,61 g (7,2 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Získa sa takto 3,30 g (92 % teórie) bezfarebného lyofilizátu.

Obsah vody (Karl Fischer): 10,3 %.

stanovenie Gd (AAS): 20,7 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 34,97	H 4,25	Gd 23,48	Na 3,43	N 10,28
získané:	C 34,69	H 4,31	Gd 23,20	Na 3,05	N 10,37

Analogickým spôsobom sa získa za použitia Dy<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dyzproziový komplex:

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 34,70	H 4,22	Dy 24,07	Na 3,41	N 10,20
získané:	C 34,50	H 4,42	Dy 23,81	Na 3,02	N 10,06

### Príklad 5

a) 24-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-karboxymetyl]-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris(karbo-xymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu z 24-amínu, kondenzovaného z N,N,N-tris[2-(lyzylamino)-etylaminu s (Nalfa,Nepsilon-bis(lyzyl)-lyzínu ("tri-lyzín")

1,21 g (0,2 mmól) 24-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší. Získaný zvyšok sa potom vyberie

do vody a podľa predpisu, uvedeného v príklade 2g) sa pri pH 9,5 nechá reagovať so 6,08 g (7,2 mmól) gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-azaheptyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklo- dodekánu a reakčná zmes sa po ultrafiltrácii lyofilizuje.

Výtťažok: 4,31 g (87 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 6,9 %.

stanovenie gadolína (AAS): 15,0 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,11	H 5,16	Gd 16,36	N 11,54	Na 2,39
	S 3,34				
získané:	C 42,89	H 5,35	Gd 16,09	N 11,67	Na 2,18
	S 3,23				

### Príklad 6

a) 24-amidový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[8-karboxy-2-hydroxy-5-oxo-7-oxaoktyl]-1,4,7-tris (karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s 24-amínom, kondenzovaným z N,N,N-tris[2-(lyzylamino)-etyl]amínu s (N $\alpha$ ,-N $\epsilon$ psilon-bis(lyzyl)-lyzínom ("tri-lyzín")

1,21 g (0,2 mmól) 24-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 4b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije pri ďalšej reakcii.

Výtťažok: 0,96 g (kvantitatívny).

4,14 g (6 mmól) kyseliny na báze komplexu gadolína, popísanej v príklade 3a), sa analogicky ako v príklade 3b) aktivuje pomocou TBTU a hydroxybenzotriazolu v dimetylformamide a analogicky sa nechá reagovať s vyššie popísaným 24-amín- hydrobromidom za prídavku bázy a spracuje sa analogickým spôsobom.

Výťažok: 3,83 g (92 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,8 %.

stanovenie Gd (AAS): 18,5 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,29      H 5,52      Gd 19,90      N 12,26

získané:      C 39,97      H 5,71      Gd 19,55      N 12,21

#### Príklad 7

a) N,N'-bis(benzyloxykarbonyl)-3-(karboxymetoxycetyl)-3-azapentán-1,5-diamín

37,14 g (100 mmól) bis(benzyloxykarbonyl-aminoetyl)amínu, popísaného v príklade 1a), sa rozpustí v dimetylformamide, na ľadovom kúpeli sa zmieša so 17,4 g (150 mmól) anhydridu kyseliny diglykolovej (Janssen Chimica) a 21 ml (150 mmól) trietylamínu a potom sa reakčná zmes mieša cez noc pri teplote miestnosti. Získaný roztok sa vo vákuu odparí, zvyšok sa vyberie do etylesteru kyseliny octovej a vytrepe sa zriedenou kyselinou chlorovodíkovou. Organická fáza sa oddelí, vysuší sa pomocou bezvodého síranu sodného a po odfiltrovaní síranu sa nechá vykryštalizovať prídavkom hexánu.

Výťažok: 41,4 g (85 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 59,13      H 6,00      N 8,62

získané: C 58,99 H 5,93 N 8,70

b) N,N',N'',N'''-tetrakis{8-(benzyloxykarbonylamino)-6-[2-(benzyloxykarbonylamino-etyl)]-5-oxo-3-oxaoktanoyl} cyklén

345 mg (2 mmól) 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (Cyclen, Fluka) sa azeotropicky odvodní s toluénom. K ochladenému roztoku cyklénu v toluéne sa pri teplote miestnosti pridá roztok 4,88 g (10 mmól) N,N'-bis(benzyloxykarbonyl)-3-[karboxymetoxo-acetyl]-3-azapentán-1,5-diamínu (príklad 7a)) v tetrahydrofuráne, ako i 2,47 g (10 mmól) 2-etoxy-1-etoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolínu (EEDQ, Fluka) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Po skončení reakcie sa produkt vyzráža prídavkom hexánu, oddekuje sa od rozpúšťadla a ešte raz sa vyzráža zo zmesi tetrahydrofurán/hexán a potom tetrahydrofurán/toluén. Po vysušení vo vákuu sa získa 2,78 g (68 % teórie) svetlo žltej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 60,93 H 6,29 N 10,93

získané: C 60,68 H 6,40 N 10,97

c) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-32-polyamín na báze 32-amínu, kondenzovaného z N,N',N'',N'''-tetrakis-{(8-benzyloxykarbonylamino)-6-[2-benzyloxykarbonylamino-etyl)]-5-oxo-3-oxaoktanoyl}cyklénu a(N $\alpha$ -Nepsilon-bis(lyzyl)-lyzínu ("tri-lyzín")

2,05 g (1 mmól) okta-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 7b) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa počínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý okta-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije pri ďalšej reakcii.

Výťažok: 0,96 g (kvantitatívny).

9,4 g (10 mmól chráneného "tri-lyzínu", popísaného v príklade 1c), 1,5 g (10 mmól 1-hydroxybenzotriazolu a 3,2 g (10 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium- tetra-fluórborátu (TBTU, Pebo Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a mieša sa po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 1,6 g (1 mmól) vyššie popísaného okta-amín-hydrobromidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmetánu a metylalkoholu (10 : 1).

Výťažok: 6,0 g (72 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 63,32      H 6,76      N 10,74

získané:      C 62,98      H 6,91      N 10,43

#### Príklad 8

a) 32-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-karboxymetyl]-4-aza-heptyl]-1,4,7tris(karboxymetyl)- 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 32-amínom z príkladu 7c)

1,67 g (0,2 mmól) 32-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 7c) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa počínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH nastaví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom po častiach pridá 8,1 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 2f), v pevnej forme, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu

sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes mieša cez noc pri teplote miestnosti a potom sa neutralizuje zriedenou kyselinou chlorovodíkovou. Získaný roztok sa podrobí ultrafiltrácii (Amicon YM3) a retentát sa lyofilizuje.

Výtťažok: 5,8 g (85 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 9,1 %.

stanovenie Gd (AAS): 15,2 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,05	H 5,15	Gd 16,22	N 11,56	Na 2,37
	S 3,31				
získané:	C 42,84	H 5,36	Gd 16,00	N 11,84	Na 2,10
	S 2,97				

### Príklad 9

a) 1,11-bis(benzyloxykarbonylamino)-3,9-bis[2-(benzyl-oxykarbonylamino)etyl]-4,8-dioxo-6-(4-nitrofenyl)-3,9-diazaundekán

6,33 g (25 mmól) kyseliny 3-(4-nitrofenyl)-glutarovej (J. Org. Chem. 26, 3856 (1961), 6,33 g (55 mmól) N-hydroxysukcínimidu a 20,43 g (55 mmól) bis(benzyloxy- karbonyl-aminoetyl)amínu, popísaného v príklade 1a) sa rozpustí v dimetylformamide a po prídavku 11,35 g (55 mmól) dicyklohexylkarbodiimidu sa reakčná zmes mieša po dobu 3 dni pri teplote miestnosti. Potom sa odfiltruje dicyklohexylmočovina, filtrát sa vo vákuu odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatograficky čistí na silikageli za použitia etylesteru kyseliny octovej ako pohyblivej fázy.

Výtťažok: 17,3 g (72 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané:	C 63,81	H 5,98	N 10,21
-------------	---------	--------	---------

získané: C 63,94 H 5,77 N 10,26

b) 1,11-bis(benzyloxykarbonylamino)-3,9-bis[2-(benzyl-oxykarbonylamino)etyl]-4,8-dioxo-6-(4-aminofenyl)-3,9-diazaundekán

15,57 g (56 mmól) heptahydrátu síranu železnatého sa rozpustí vo vode, zmieša sa so 7,68 g (8 mmól) nitrozlúčeniny, popísanej v príklade 9a) v rovnakom objeme etylalkoholu a táto zmes sa zahrieva k varu. Pri tejto teplote sa pomaly prikvapká 24 ml koncentrovaného amoniaku, pričom sa vytvorí čierna zrazenina. Suspenzia sa nechá za miešania pomaly ochladiť, potom sa prefiltruje, zrazenina sa premyje etylesterom kyseliny octovej a spojené filtráty sa vo vákuu odparia do sucha. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylesteru kyseliny octovej a etylalkoholu (98 : 2).

Výťažok: 4,84 g (65 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 65,86 H 6,39 N 10,54

získané: C 65,68 H 6,31 N 10,62

c) N,N',N'',N'''-cyklén-tetra-ureidový konjugát z 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s 1,11-bis(benzyloxy- karbonylamino)-3,9-bis[2-(benzyloxykarbonylamino) etyl]-4,8-dioxo-6-(4-izokyanátofenyl)-3,9-diazaundekánom

4,65 g (5 mmól) fenylamínu, popísaného v príklade 9b) sa rozpustí v toluéne, kvôli odvodneniu sa dvakrát odparí do sucha a vždy sa opäť vyberie do čerstvého toluénu. Týmto spôsobom vysušený roztok amínu v toluéne sa pri teplote 10 °C zmieša s 0,54 g (1,8 mmól) tiofosfénu a mieša sa po dobu jednu hodinu pri teplote 10 °C a cez noc pri teplote miestnosti. K tejto suspenzii sa pridá 0,17 g (1 mmól) bezvodého 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (cyklén) (Aldrich) v zmesi toluénu a pyridínu (10 : 1) a reakčná zmes sa nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa vo vákuu odparí do sucha a získaný zvyšok v etylestere kyseliny octovej sa chromatografuje na silikageli.

Výtěžok: 3,55 g (89 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,98      H 6,16      N 11,23

získané:      C 64,70      H 6,29      N 11,04

#### d) N,N-bis[2-(benzyloxykarbonylamino)etyl]-glycín- terc.-butylester

18,6 g (50 mmól) bis[2-(benzyloxykarbonylamino)-etyl]amínu, popísaného v príklade 1a), v zmesi tetrahydrofuránu a vody (25 : 1) sa zmieša so 4,2 g (30 mmól) uhličitanu draselného, pri teplote miestnosti sa k tejto suspenzii prikvapká 11,7 g (60 mmól) terc.-butyl-brómacetátu a reakčná zmes sa mieša pri tejto teplote cez noc. Potom sa odfiltrujú nerozpustné súčasti, filtrát sa odparí do sucha a chromatografuje sa na silikageli za použitia zmesi dietyléteru a diizopropyléteru (1 : 1).

Výtěžok: 20,4 g (84 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,31      H 7,26      N 8,65

získané:      C 64,35      H 7,00      N 8,58

#### e) N,N-bis[2-(benzyloxykarbonylamino)etyl]-glycín

19,4 g (40 mmól) terc.-butylesteru, popísaného v príklade 9d) sa zmieša so 150 ml kyseliny trifluóroctovej a roztok sa mieša po dobu 20 minút pri teplote miestnosti. Potom sa produkt vyzráža prídavkom dietyléteru a ešte raz sa rozmieša s dietyléterom a konečne s vodou. Zrazenina sa odfiltruje a vysuší.

Výtěžok: 13,4 g (78 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 61,52      H 6,34      N 9,79

získané: C 61,64 H 6,20 N 9,94

f) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-32-polyamín z N, N', N'', N'''-cyklén-tetra-ureido-konjugátu, kondenzovaného s N,N-bis[2-(benzyloxykarbonylamino) etyl]-glycínom, z príkladu 9c)

3,99 g (1 mmól) hexadeka-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 9c) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 90 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý hexadeka-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije pri ďalšej reakcii.

Výťažok: 3,2 g (kvantitatívny).

8,6 g (20 mmól) N,N-bis[2-(benzyloxykarbonylamino)etyl]- glycínu, popísaného v príklade 9e), 3,2 g (20 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 6,4 g (20 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium-tetrafluórborátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a mieša sa po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 13,76 ml (80 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 3,2 g (1 mmól) vyššie popísaného hexadeka - amín-hydrobromidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmetánu a metylalkoholu (9 : 1).

Výťažok: 7,3 g (87 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 62,69 H 6,55 N 13,29

získané: C 62,37 H 6,72 N 13,38

g) 32-gadolínium-DTPA-monoamid na báze deblokovaného 32-amínu z príkladu 9f)

1,69 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu popísaného v príklade 9f), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší. Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme pridá 7,3 g (19,2 mól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxy-karbonylmetyl)-3,6-diazaoktándikarboxylovej (príklad 13a) z EP 0 331 616), pričom sa hodnota pH udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru nastaví hodnota pH pomocou 5 N hydroxidu sodného na > 13 a reakčná zmes sa nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH upraví pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej na 5, pridá sa 3,48 g (9,6 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C, po ochladení sa hodnota pH upraví na 7 a odsolí sa za použitia ultrafiltračnej membrány YM3 AMICON. Retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výťažok: 4,29 g (91 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 9,1 %,

stanovenie Gd (AAS): 22,7 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 35,41      H 4,31      Gd 23,48      N 11,50      Na 1,72

získané:      C 35,39      H 4,20      Gd 23,22      N 11,69      Na 1,59.

#### Príklad 10

a) 32-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-karboxymetyl]-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris-

(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 32-amínom z príkladu 9f)

1,69 g (0,2 mmól) 32-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 9f) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší. Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme pridá 8,1 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 2f), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výtťažok: 5,7 g (85 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,7 %,

stanovenie Gd (AAS): 15,3 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,47	H 5,10	Gd 16,38	N 12,40	Na 1,20
	S 3,34				
získané:	C 43,25	H 5,27	Gd 16,11	N 11,46	Na 1,05
	S 3,62				

### Príklad 11

a) N,N',N'',N'''-tetrakis{N,N-bis-[2-benzyloxykarbonyl-amino)-etyl]-glycyl}-cyklén

345 mg (2 mmól) 1,4,7,10-tetraazacyklododekánu (Cyclen, Fluka) sa azeotropicky odvodní pomocou toluénu. K ochladenému roztoku cyklénu v toluéne sa pri teplote miestnosti pridá roztok 4,29 g (10 mmól) N,N-is[2-

(benzyloxykarbonylamino)-glycínu, popísaného v príklade 9e), v tetrahydrofuráne a 2,47 g (10 mmól) 2-etoxy-1-etoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolínu (EEDQ, Fluka) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Získaný roztok sa potom vo vákuu odparí do sucha a zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylesteru kyseliny octovej a metylalkoholu (10 : 1).

Výťažok: 2,69 g (74 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 63,42      H 6,65      N 12,33

získané:      C 63,17      H 6,80      N 12,28

b) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-32-polyamín na báze N,N',N'',N'''-tetrakis-{N,N-bis-[2-trilyzylamino)-etyl]-glycyl}-cyklénu

1,82 g (1 mmól) okta-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 11a), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 90 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý oktaamín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije pri ďalšej reakcii.

Výťažok: 1,39 g (kvantitatívny).

9,4 g (10 mmól "tri-lyzínu" popísaného v príklade 1e), 1,5 g (10 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 3,2 g (20 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylrónium-tetrafluór-borátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a mieša sa po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 1,39 g (1 mmól) vyššie popísaného oktaamín-hydrobromidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmetánu a metylalkoholu (10 : 1).

Výtěžok: 6,0 g (74 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 63,95      H 6,86      N 11,05

získané:      C 64,23      H 7,01      N 10,92

c) 32-gadolínium-DTPA-monoamid na báze deblokovaného 32-amínu z príkladu 11b)

1,62 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 11b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší. Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme pridá 7,7 g (19,2 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>- (etoxykarbonylmetyl)-3,6-diazaoktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a), pričom sa hodnota pH udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru zalkalizuje 5 N hydroxidom sodným na pH < 13 a nechá sa miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa okyslí pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej na pH 5, zmieša sa s 3,48 g (9,6 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C. Roztok sa potom ochladí, podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne filtruje na membráne a lyofilizuje.

Výtěžok: 4,0 g (89 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 4,9 %,

stanovenie Gd (AAS): 22,1 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 35,05    H 4,28    Gd 23,58    N 10,48    Na 3,01

získané:    C 34,82    H 4,40    Gd 23,19    N 10,46    Na 2,79.

### Príklad 12

a) 32-tiomočovínový konjugát z gadoliniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-karboxymetyl]-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deablokovaným 32-amínom z príkladu 11b)

1,62 g (0,2 mmól) 32-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 11b) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 8,1 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 2f), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 5,6 g (88 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 3,5 %,

stanovenie Gd (AAS): 15,9 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,18    H 5,19    Gd 16,39    N 11,68    Na 2,10  
S 3,34

získané: C 42,95    H 5,33    Gd 16,02    N 11,90    Na 1,71  
S 2,98

### Príklad 13

a) Triamid kyseliny N,N,N',N',N'',N''-tetrakis{2-[N,N-bis-(2-benzyloxykarbonylaminoetyl)amino]etyl}-trimezínovej

1,27 g (1 mmól) hexa-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1b) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý hexamín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: 0,95 g (kvantitatívny).

0,95 g (1 mmól) takto vyrobeného hydrobromidu sa suspenduje v 50 ml acetonitrilu a pridajú sa 3 ml trietylamínu. Potom sa pridá 3,54 g (20 mmól) N-benzyloxykarbonyl-aziridínu (vyrobené podľa J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21 - 26, 1993) a po dobu 5 dní sa zahrieva pod spätným chladičom pod ochrannou dusíkovou atmosférou. Potom sa reakčná zmes odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do 100 ml metylénchloridu a roztok sa dvakrát premyje vždy 100 ml 5 % roztoku uhličitanu draselného. Metylénchloridová fáza sa usuší pomocou bezvodého síranu horečnatého a zahustí sa. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, metylalkoholu a trietylamínu (20 : 1 : 0,1).

Výťažok: 2,31 g (89 % teórie) svetložltej väzkej olejovitej kvapaliny

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 65,34    H 6,65    N 11,35

získané: C 65,12    H 6,80    N 11,19

b) Triamid kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis{2-[N,N-bis-(2-aminoetyl)-amino]etyl}-trimezínovej

2,2 g (0,85 mmól) zlúčeniny príkladu 13a) sa rozpustí v 100 ml metylalkoholu a pridajú sa 3 g Pearlmanovho katalyzátora (hydroxid paladnatý na aktívnom uhlí, Fluka). Hydrogenuje sa po dobu 10 hodín pri teplote miestnosti za tlaku 0,5 MPa. Potom sa katalyzátor odfiltruje a filtrát sa odparí do sucha.

Výťažok: 825 mg (99 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 55,02      H 10,16      N 26,94

získané:      C 54,87      H 10,25      N 29,85

c) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín na báze triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis{2-[N,N-bis-(2-(N,N-bis-aminoetyl)amino)etyl]-aminoetyl}-trimezínovej

800 mg (0,814 mmól) zlúčeniny z príkladu 13b) sa rozpustí v 150 ml a pridá sa 5,77 g (32,56 mmól) N-benzyloxy-karbonyl-aziridínu (vyrobené podľa J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21 - 26, 1993) a po dobu 5 dní sa zahrieva pod spätným chladičom pod ochrannou dusíkovou atmosférou. Potom sa reakčná zmes odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, metylalkoholu a trietylamínu (20 : 1 : 0,1).

Výťažok: 3,62 g (85 % teórie) svetložltej pevnej látky.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 65,39      H 6,99      N 12,04

získané:      C 65,21      H 7,10      N 11,90

d) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-48-polyamín na báze 24-lyzyl-derivátu z príkladu 13c)

1,05 g (0,2 mmól) zlúčeniny z príkladu 13c) sa rozpustí v 30 ml metylalkoholu a pridá sa 1 g Pearlmanovho katalyzátora (hydroxid paladnatý na aktívnom uhlí). Hydrogenuje sa po dobu 10 hodín pri teplote miestnosti za tlaku 0,5 MPa. Potom sa katalyzátor odfiltruje, filtrát sa odparí do sucha a produkt sa priamo použije v ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: 0,40 g (kvantitatívny).

3,11 g (7,5 mmól)  $\alpha$ , $\epsilon$ -bis (benzyloxykarbonyl) -lyzínu (Bachem, Schweiz), 1,2 g (7,5 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 2,4 g (7,5 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl-urónium-tetrafluórborátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 0,40 g (0,2 mmól) vyššie popísaného 24-polyamínu a mieša sa cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylacetátu, etylalkoholu a trietylaminu (2 : 1 : 0,2).

Výťažok: 1,36 g (59 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 64,69      H 6,95      N 11,30

získané:      C 64,42      H 7,11      N 11,19

e) 48-gadolínium-DTPA-monoamid na báze deblokovaného 48-amínu z príkladu 13d)

1,15 g (0,1 mmól) zlúčeniny z príkladu 13d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou

dietyléteru, vzniknutý 48-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP 0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru upraví hodnota pH prídavkom 5 N hydroxidu sodného na > 13 a reakčná zmes sa nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa okyslí pomocou kyseliny chlorovodíkovej na pH 5. Roztok sa potom zmieša s 2,61 g (7,2 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C a po ochladení a úprave hodnoty pH na 7 sa podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizuje sa.

Výťažok: 3,15 g (92 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,9 %,

stanovenie Gd (AAS): 21,9 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 35,03	H 4,34	Gd 24,22	N 10,65	Na 2,21
získané:	C 34,84	H 4,50	Gd 23,63	N 10,87	Na 2,04.

#### Príklad 14

a) 48-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátofenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-karboxymetyl]-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 48-amínom z príkladu 13d)

1,15 g (0,1 mmól) zlúčeniny z príkladu 13d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 48-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 6,8 g (7,2 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 2f), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná s ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 3,91 g (82 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 4,5 %,

stanovenie Gd (AAS): 16,6 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,33	H 5,24	Gd 16,71	N 11,82	Na 1,53
	S 3,41				
získané:	C 43,04	H 5,54	Gd 16,19	N 12,10	Na 1,26
	S 3,89				

### Príklad 15

a) 1,4,7,10,13,16-hexakis-[2-(benzyloxykarbonylamino)etyl]-1,4,7,10,13,16-hexaazacyklooktadekán

1,25 g (5 mmól) 1,4,7,10,13,16-hexaazacyklododekánu (Hexacyclen, Fluka) sa azeotropicky odvodní pomocou toluénu. K ochladenému roztoku hexacyklénu v toluéne sa pri teplote miestnosti pridá roztok 10,63 g (60 mmól)

N-benzyloxykarbonylaziridínu (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21 - 26, 1993) v acetonitrile a reakčná zmes sa zahrieva po dobu 3 dni pod dusíkovou atmosférou pod spätným chladičom. Získaný roztok sa potom odparí do sucha a zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylesteru kyseliny octovej, metylalkoholu a trietylamínu (8 : 2 : 0,5).

Výťažok: 5,68 g (86 % teórie) svetložltej väzkej olejovitej kvapaliny.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 65,43      H 7,32      N 12,72

získané:      C 65,20      H 7,51      N 12,49

b) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín na báze 1,4,7,10,13,16-hexakis-[2-(trilyzylamino)-etyl]-hexacyklénu

1,32 g (1 mmól) hexa-benzyloxykarbonylamínu z príkladu 15a) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý hexaamín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije k ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: 1,48 g (kvantitatívny).

7,0 g (7,5 mmól) chráneného "tri-lyzínu", popísaného v príklade 1c), 1,2 g (7,5 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 2,4 g (7,5 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium- tetrafluórborátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 1,48 g (1 mmól) vyššie popísaného hexa-amín-hydrobromidu a mieša sa cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmetánu a metylalkoholu (10 : 1).

Výtěžok: 5,02 g (83 % teórie).

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,40      H 7,00      N 11,13

získané:      C 64,16      H 6,82      N 10,88

b) 24-gadolínium-DTPA-monoamid na báze 1,4,7,10,13,16-hexakis-[2-(trilyzyl-amino)etyl]-hexacyklénu

1,21 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 15b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diazaoktánda- karboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP 0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru upraví hodnota pH prídavkom 5 N hydroxidu sodného na > 13 a reakčná zmes sa nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa okyslí pomocou kyseliny chlorovodíkovej na pH 5. Roztok sa potom zmieša s 2,61 g (7,2 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C a po ochladení a úprave hodnoty pH na 7 sa podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizuje sa.

Výtěžok: 3,17 g (92,5 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 8,7 %,

stanovenie Gd (AAS): 21,9 %

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 35,94      H 4,45      Gd 24,13      N 10,75      Na 2,65

získané:      C 36,19      H 4,26      Gd 24,39      N 10,48      Na 2,29

**Príklad 16**

a) 48-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[7-(4-izotiokyanátófenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(karboxymetyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s 24-amínom 1,4,7,10,13,16-hexakis[2-(trilyzylamino)etyl]-hexacyklénu

1,21 g (0,2 mmól) 16-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 15b) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 6,08 g (7,2 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 2f), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 4,33 g (89 % teórie)

Obsah vody (Karl Fischer): 7,0 %,

stanovenie Gd (AAS): 15,7 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 43,94	H 5,32	Gd 16,67	N 11,88	Na 1,83
	S 3,40				
získané:	C 43,70	H 5,16	Gd 16,21	N 12,05	Na 1,94
	S 3,78				

### Príklad 17

a) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-nitrofenyl-2-hydroxy-5-oxo-4-azahexyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10- tetraazacyklododekánu

20 g (34,86 mmól) zlúčeniny z príkladu 2c) sa rozpustí v 200 ml vody a hodnota pH sa upraví pomocou 2 N hydroxidu sodného na 10. Pri teplote 0 °C sa prikvapká roztok 13,97 g (70 mmól) chloridu kyseliny 4-nitrofenyloctovej v 50 ml dioxanu a hodnota pH reakčnej zmesi sa udržiava prídavkom 2 N hydroxidu sodného na 10. Zmes sa potom mieša po dobu 2 hodiny pri teplote miestnosti, načo sa zneutralizuje pomocou 10 % kyseliny chlorovodíkovej na pH 7 a vodný roztok sa dvakrát extrahuje vždy 200 ml etylesteru kyseliny octovej. Potom sa vodná fáza odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje (RP-18/LiChroPrep®, pohyblivá fáza : tetrahydrofurán/metylalkohol/voda). Produkt obsahujúci frakcie sa odparí do sucha a získa sa 22,5 g (81 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky.

Obsah vody: 7,5 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 50,75	H 4,79	Gd 21,34	N 11,41
získané:	C 40,61	H 4,89	Gd 21,15	N 11,30

b) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-aminofenyl-2-hydroxy-5-oxo-4-azahexyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10- tetraazacyklododekánu

21 g (28,5 mmól) zlúčeniny z príkladu 17a) sa rozpustí v 200 ml metylalkoholu a pridajú sa 4 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na C).

Hydrogenuje sa po dobu 6 hodín pri teplote miestnosti. Katalyzátor sa potom odfiltruje a filtrát sa odparí do sucha.

Výťažok: 20,56 (99 % teórie) žltkavej sklovitej pevnej látky

obsah vody: 13,1 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 42,48      H 5,28      Gd 22,25      N 11,89

získané:      C 42,31      H 5,41      Gd 22,07      N 11,67

c) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-izotiokyanátofenyl-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-hexyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

20 g (28,5 mmól) zlúčeniny z príkladu 17b) sa rozpustí v 100 ml vody a pridá sa 9,76 g (84,9 mmól) tiofosgénu v 50 ml chloroformu. Reakčná zmes sa mieša po dobu jednej hodiny pri teplote 50 °C, načo sa ochladí na teplotu miestnosti, organické fázy sa oddelia a vodná fáza sa dvakrát vytrepe vždy 100 ml chloroformu. Vodné fázy sa odparia do sucha a získaný zvyšok sa pri teplote miestnosti rozmieša v 200 ml izopropylalkoholu. Pevná látka sa odfiltruje, premyje sa dietyléterom a suší sa cez noc za vákua pri teplote 40 °C.

Výťažok: 21,7 (99 % teórie) ľahko krémovo sfarbenej pevnej látky

obsah vody: 3,4 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 41,70      H 4,71      Gd 21,00      N 11,22      S 4,28

získané:      C 41,55      H 4,85      Gd 20,85      N 11,11      S 4,20

d) Diamid kyseliny N,N,N',N'-tetrakis[2-(benzyloxy-karbonylamino)etyl]-5-nitro-izoftalovej

14,86 g (40 mmól) bis[2-(benzyloxykarbonylamino)-etyl]-amínu, popísaného v príklade 1a) a 20,24 g (200 mmól) trietylaminu sa rozpustí v dimetylformamide, zmieša sa so 4,96 g (20 mmól) dichloridu kyseliny 5-nitroizoftalovej (J. Chem. Soc., 1957, 1172 - 1175) a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Roztok sa vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia etylesteru kyseliny octovej.

Výtazok: 11,5 g (62,6 % teórie) väzkej olejovitej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 62,80      H 5,60      N 10,68

získané:      C 62,62      H 5,77      N 10,41

e) Diamid kyseliny N,N,N',N'-tetrakis[2-(benzyloxy-karbonylamino)etyl]-5-aminoizoftalovej

9,18 g nitrozlučieniny, popísanej v predchádzajúcom príklade, v 200 ml etylalkoholu, sa pridá k roztoku 27,8 g (100 mmól) heptahydrátu síranu železnatého v 200 ml vody a zmes sa zahreje k varu. Po prídavku 50 ml koncentrovaného amoniaku sa reakčná zmes mieša ďalších 90 minút za varu pod spätným chladičom. Získaná suspenzia sa ochladí, etylalkohol sa za vákuu odstráni a vodná fáza sa vytrepe etylesterom kyseliny octovej. Získaná organická fáza sa vysuší pomocou bezvodého síranu sodného a získa sa 8,61 g (97 % teórie) produktu vo forme bezfarebnej väzkej olejovitej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,93      H 6,02      N 11,04

získané:      C 65,10      H 5,96      N 10,89

f) Diamid kyseliny N,N,N',N'-tetrakis[2-(benzyloxy- karbonylamino)etyl]-5-(karboxymetoxiacetylamino) -izoftalovej

4,44 g (5 mmól) aminoslúčeniny, popísanej v predchádzajúcom príklade, v dimetylformamide, sa na ľadovom kúpeli zmiešajú s 5,05 g (50 mmól) trietylamínu a 2,9 g (25 mmól) anhydridu kyseliny diglykolovej (Fluka) a reakčná zmes sa mieša po dobu 2 hodiny pri teplote 0 °C. Potom sa vo vákuu odparí do sucha, získaný zvyšok sa rozdelí medzi etylester kyseliny octovej a 1 M kyselinu citrónovú, premyje sa vodou do neutrálnej reakcie a organická fáza sa vysuší.

Výťažok: 4,62 g (92 % teórie) väzkej olejovitej kvapaliny.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 62,20      H 5,72      N 9,77

získané:      C 62,03      H 5,60      N 9,89

g) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-hexadeka-amín na báze N,N,N',N'-tetrakis-(trilyzylaminometyl)-metánu

3,0 g (22,69 mmól) tetrakis(aminometyl)metánu (vyrobeného podľa US 4 485 237 A, 1984), 127,85 g (136,15 mmól) zlúčeniny z príkladu 1c) a 15,67 g (136,15 mmól) N-hydroxysukcinimidu sa rozpustí v 300 ml dimetylformamidu a pri teplote 0 °C sa pridá 28,09 g (136,15 mmól) dicyklohexylkarbodiimidu. Reakčná zmes sa mieša po dobu jednu hodinu pri teplote 0 °C a potom 2 dni pri teplote miestnosti. Potom sa pridá 300 ml etylesteru kyseliny octovej, vyzrážaná močovina sa odfiltruje a filtrát sa vo vákuu zahustí do sucha. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a izopropylalkoholu (20 : 1).

Výťažok: 58,02 g (67 % teórie) bezfarebnej väzkej olejovitej kvapaliny

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 64,52      H 6,76      N 10,28

získané:      C 64,41      H 6,91      N 10,05

h) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-64-amín zo 16-amínu N,N,N',N'-tetrakis-(trilyzylaminometyl)-metánu, kondenzovaného s tetraamín-monokarboxylovou kyselinou z príkladu 17f)

1,91 g (0,5 mmól) 16-benzyloxykarbonylamínu z príkladu 17g) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 16-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije k ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: 1,48 g (kvantitatívny).

12,05 g (12 mmól) tetraamínmonokarboxylovej kyseliny, popísanej v príklade 17f), 1,92 g (12 mmól) 1-hydroxy-benzo-triazolu a 3,84 g (12 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium-tetrafluórborátu (TBTU, Pebo Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša so 6,20 ml (36 mmól) N-etyldi-izopropylamínu a 1,48 g (0,5 mmól) vyššie popísaného 16-amín-hydrobromidu a mieša sa cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylesteru kyseliny octovej a etylalkoholu (2 : 1).

Výťažok: 4,54 g (52 % teórie) svetlo žltej olejovitej kvapaliny.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 62,58      H 6,01      N 11,24

získané:      C 62,39      H 6,22      N 11,00

i) 64-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[6-(4-izotiokyanátófenyl)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza--hexyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deablokovaným 64-polyamínom podľa príkladu 17h)

1,74 g (0,12 mmól) 64-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 17h), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 64-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 7,20 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 17c), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 5,31 (86 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 8,0 %,

stanovenie Gd (AAS): 16,2 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,59    H 5,14    Gd 17,72    N 12,92    S 3,61

získané:    C 43,36    H 5,41    Gd 17,18    N 13,20    S 3,04

### Príklad 18

#### a) Benzylester kyseliny 2-nitro-5-hydroxy-benzoovej

40 g (218,4 mmól) kyseliny 2-hydroxy-5-nitro-benzoovej, 236,17 g (2,184 mól) benzylalkoholu a 1 g kyseliny p-toluénsufónovej sa zahrieva po dobu 2 dni na odlučovači vody. Potom sa zmes odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, hexánu a acetónu (15 : 5 : 1).

Výtazok: 50,72 g (85 % teórie) žltej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 61,54      H 4,06      N 5,13

získané:      C 61,31      H 4,17      N 5,05

#### b) Terc.-butylester kyseliny 2-[4-nitro-2-benzyloxy- karbonyl]-fenoxy]-octovej

K 50 g (183 mmól) zlúčeniny z príkladu 18a), 20,5 g (366 mmól) jemne práškovitého hydroxidu draselného a 500 mg tetrabutylamóniumhydrogénsulfátu v 500 ml toluénu sa pridá pri teplote 0 °C 42,8 g (220 mmól) terc.-butylesteru kyseliny brómoctovej a reakčná zmes sa mieša po dobu 3 hodiny pri teplote 0 °C, potom sa reakčná zmes zmieša s 500 ml ľadovej vody, silne sa premieša po dobu 2 minúty a organická fáza sa oddelí. Organická fáza sa potom vysuší pomocou bezvodého síranu horečnatého a vo vákuu sa odparí. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, hexánu a acetónu (15 : 10 : 1).

Výtazok: 47,5 g (67 % teórie) žltej väzkej olejovitej kvapaliny.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 62,01      H 5,46      N 3,62

získané:      C 62,13      H 5,55      N 3,50

#### c) Kyselina 2-[4-nitro-2-(benzyloxykarbonyl)-fenoxy] -octová

40 g (103,26 mmól) zlúčeniny z príkladu 18b) sa rozpustí v 300 ml metylénchloridu, pri teplote 0 °C sa prikvapká 100 ml kyseliny trifluóroctovej a reakčná zmes sa nechá zahriať na teplotu miestnosti. Po 4 hodinách sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje z malého množstva zmesi dietyléru a hexánu.

Výtazok: 32,5 g (95 % teórie) ľahko nažltlej pevnej látky.

## Elementárna analýza

vypočítané: C 58,01      H 3,96      N 4,23

získané:      C 58,17      H 3,81      N 4,18

d) N-hydroxysukcínimidester kyseliny 2-[4-nitro-2- (benzyloxykarbonyl)-fenoxy]-octovej

10 g (30,19 mmól) zlúčeniny z príkladu 18c) a 4,17 g (36,28 mmól) N-hydroxysukcínimidu sa rozpustí v 20 ml chloroformu a pri teplote 0 °C sa pridá 7,48 g (36,23 mmól) dicyklohexylkarbodiimidu. Reakčná zmes sa mieša po dobu 24 hodín pri teplote miestnosti a potom sa ochladí a odfiltruje sa vyzrážaná močovina. Filtrát sa vo vákuu odparí do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje z malého množstva izopropylalkoholu.

Výtťažok: 12,03 g (93 % teórie) ľahko nažltlej kryštalickej pevnej látky.

## Elementárna analýza

vypočítané: C 56,08      H 3,76      N 6,54

získané:      C 56,17      H 3,84      N 6,41

e) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-nitro-2-(benzyloxy- karbonyl)-fenoxy)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-hexyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklodekánu

K 11 g (25,68 mmól) zlúčeniny z príkladu 2b) v 100 ml dimetylformamidu a 20 ml trietylamínu sa pri teplote miestnosti pridá 13,26 g (23,11 mmól) zlúčeniny z príkladu 18d) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Potom sa vo vákuu odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na RP-18 (LiChroPrep®/pohyblivá fáza : voda/tetrahydrofurán-gradient).

Výtťažok: 19,02 (81 % teórie) amorfnej pevnej látky,

obsah vody: 3,1 %.

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 44,69      H 4,66      Gd 17,73      N 9,47

získané:      C 44,48      H 4,80      Gd 17,56      N 9,28

f) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-amino-2-karboxy-fenoxy)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-hexyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

18 g (20,3 mmól) zlúčeniny z príkladu 18e) sa rozpustí v 200 ml metylalkoholu a pridá sa 5 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na C), pričom sa hydrogenuje po dobu 8 hodín pri teplote miestnosti. Katalyzátor sa potom odfiltruje a filtrát sa odparí do sucha.

Výťažok: 15,88 g (98 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky,

obsah vody: 4,1 %

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,72      H 4,86      Gd 20,51      N 10,96

získané:      C 40,51      H 4,97      Gd 20,32      N 10,73

g) Gadolíniový komplex 10-[6-(4-izotiokyanáto-2-karboxy-fenoxy)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-hexyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

15 g (19,56 mmól) zlúčeniny z príkladu 18f) sa rozpustí v 100 ml vody a pridá sa 6,75 g (58,7 mmól) tiofosfénu v 50 ml chloroformu. Reakčná zmes sa mieša po dobu jednu hodinu pri teplote 50 °C, načo sa ochladí na teplotu miestnosti, oddelí sa organická fáza a vodná fáza sa dvakrát vytrepe vždy 100 ml chloroformu. Vodná fáza sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa pri teplote miestnosti rozmieša so 100 ml izopropylalkoholu. Pevná látka sa odfiltruje a premyje sa dietyléterom. Po sušení cez noc vo vákuu pri teplote 40 °C sa získa 16,5 g (9 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky.

Obsah vody: 5,8 %.

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,09      H 4,36      Gd 19,44      N 10,39      S 3,96

získané:      C 40,15      H 4,45      Gd 19,23      N 10,19      S 3,87

h) 64-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[6-(4-izotiokyanáto-2-karboxy-fenoxy)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-hexyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 64-polyamínom podľa príkladu 17h)

1,74 g (0,1 mmól) 64-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 17h), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 64-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 7,76 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 18g), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výtťažok: 5,21 g (79 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 6,0 %,

stanovenie Gd (AAS): 15,1 %.

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 41,14      H 4,60      Gd 16,22      N 11,83      Na 2,37

S 3,31

získané: C 40,89 H 4,70 Gd 16,65 N 11,90 Na 2,08  
S 3,73

### Príklad 19

#### a) Kyselina 3-(4-izokyanátofenyl)-glutarová

K 22,12 g (100 mmól) kyseliny 3-(4-aminofenyl)glutarovej v 300 ml chloroformu sa pridá 11,5 g (100 mmól) tiofosgénu a reakčná zmes sa zahrieva po dobu 50 minút pri teplote 40 °C, potom sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje z malého množstva zmesi izopropylalkoholu a dietyléteru.

Výtťažok: 22,5 g (85 % teórie) krémovo sfarbenej kryštalickej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 54,33 H 4,18 N 5,28 S 12,09

získané: C 54,17 H 4,29 N 5,14 S 12,15

#### b) Gadolíniový komplex 10-{6-[4-(2-karboxy-1-karboxy- metyl-etyl)-fenyl]-2-hydroxy-5-tioxo-4,6-diaza-hexyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10tetraazacyklo-dodekánu

20 g (37,2 mmól) zlúčeniny z príkladu 2c) sa rozpustí v 200 ml dimetylformamidu a 50 ml trietylamínu, pridá sa 11,84 g (44,63 mmól) zlúčeniny z príkladu 19a). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti, načo sa odparí vo vákuu do sucha, získaný zvyšok sa chromatografuje na RP-18 (LiChroPrep<sup>®</sup>/ pohyblivá fáza : gradient voda / tetrahydrofurán ).

Výtťažok: 26,22 g (81 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky.

obsah vody : 3,6 %

#### Elementárna analýza ( vztiahnuté na bezvodú látku )

vypočítané: C 41,52 H 4,93 Gd 18,74 N 10,02 S 3,82

získané: C 41,33 H 5,05 Gd 18,61 N 10,17 S 3,75

c) Gadolíniový komplex 10- { 6- [4-(2,6-dioxo-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyrán-4-yl)-fenyl]-2-hydroxy-5-tio-4,6-diazahehexyl}-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

10 g ( 11,92 mmol ) zlúčeniny z príkladu 19b) sa rozpustí v 50 ml dimetylformamidu a pri teplote 0°C sa pridá 3,7 g (17,88 mmol ) dicyklohexyl karbodiimidu. Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti, načo sa ochladí na teplotu 0°C a odfiltruje sa vyzrážaná močovina. K filtrátu sa potom za miešania prikvapká 500 ml dietyléteru. Po sušení cez noc vo vákuu pri teplote 50°C sa získa 9,6 g ( 95 % teórie ) v názve uvedenej zlúčeniny vo forme mierne nažltlej pevnej látky.

Obsah vody 2,7 %

Elementárna analýza ( vztiahnuté na bezvodú látku )

vypočítané: C 42,43 H 4,79 Gd 19,15 N 10,24 S 3,91

získané: C 42,28 H 4,93 Gd 19,03 N 10,05 S 3,83

d) 64-amidový konjugát z gadolíniového komplexu 10- { 6- [4-(2,6-dioxo-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyrán-4-yl)-fenyl]-2-hydroxy-5-tio-4,6-diazahehexyl}-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

1,74 g ( 0,1 mmol ) 64 benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 17h), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa počínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 64-amín-hydrbromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohoto roztoku sa potom v prvej forme po čiastkách pridá 15,76 g ( 19,2 mmol ) izotiokyanátu , popísaného v príklade 19c), pričom hodnota pH sa udržiava konštattná ďalším prídavkom

hydroxidu sodného na 9,5. Po ukončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (ZM3 AMOCON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok : 5,64 g ( 83 % teórie )

obsah vody ( Karl Fischer ) : 7,6 %

stanovenie Gd (AAS) : 14,7 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,08      H 4,96      Gd 16,02      N 11,68      Na 2,34  
S 3,27

získané:      C 43,03      H 4,97      Gd 15,86      N 11,96      Na 2,05  
S 3,11

#### Príklad 20

a) 10-[3-(4-aminofenoxy)-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris- (karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán

15 g (27,7 mmól) 10-[3-(4-nitrofenoxi)-2-hydroxypropyl]- 1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-dodekánu (EP 0 485 045, Schering AG, pr. 12a) sa rozpustí v 250 ml metylalkoholu a pridá sa 5 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na aktívnom uhlí), načo sa hydrogenuje cez noc pri teplote miestnosti. Katalyzátor sa potom odfiltruje a získaný filtrát sa vo vákuu odparí do sucha.

Výťažok: 14,43 g (98 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky,

obsah vody: 3,8 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 54,00      H 7,29      N 13,69

získané: C 53,88 H 7,41 N 13,51

b) 10-[3-{4-bis(karboxymetyl)-aminofenoxy}-2-hydroxy-propyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraaza- cyklododekán

14 g (27,37 mmól) zlúčeniny z príkladu 20a), 15,21 g (109 mmól) kyseliny brómovej a 41,5 g (300 mmól) uhličitanu draselného v 200 ml etylalkoholu sa zahrieva po dobu 2 dni za varu pod spätným chladičom. Pevná látka sa potom odfiltruje a k filtrátu sa pridá 50 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej, načo sa vo vákuu odparí do sucha. Získaný zvyšok sa čistí na RP-18 (LiChroPrep®/pohyblivá fáza : tetrahydrofurán/voda- gradient).

Výťažok: 7,81 g (43 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky,

obsah vody: 5,4 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 51,67 H 6,58 N 11,16

získané: C 51,48 H 6,71 N 11,03

c) Gadolíniový komplex 10-[3-{4-bis(karboxymetyl)-aminofenoxy}-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl) -1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

K 7,5 g (11,95 mmól) zlúčeniny z príkladu 20b) a 2,17 g (5,97 mmól) gadolíniumoxidu sa pridá 100 ml vody a mieša sa po dobu 3 hodiny pri teplote 90 °C. Potom sa nechá reakčná zmes ochladiť na teplotu miestnosti a nechá sa miešať po dobu jednu hodinu s 3 ml kyslého kationomeniča (IR-120/H<sup>+</sup>-forma). Iónomenič sa potom odfiltruje a filtrát sa lyofilizuje.

Výťažok: 10,18 g (97 % teórie) amorfného prášku,

obsah vody: 11,3 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 41,48    H 4,90    Gd 20,11    N 8,96

získané:    C 41,27    H 4,98    Gd 19,93    N 8,85

d) Gadolíniový komplex 10-[3-{4-( 2,6 - dioxomorfolíno)-fenoxy}-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl) -1,4,7,10-tetraazacyklododekánu

10 g ( 12,79 mmol ) zlúčenina z príkladu 20c) sa rozpustí v 50 ml dimetylformamidu a pri teplote 0° C sa pridá 5,28 g ( 25,58 mmol ) dicyklohexylkarbodiimidu . Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti, potom sa ochladí na teplotu 0° C a vyzrážaná močovina sa odfiltruje. K filtrátu sa prikvapká za miešania 500 ml dietyléteri , pričom v názve uvedená zlúčenina vykryštalizuje. Táto sa potom odfiltruje a premyje dietyléterom. Po sušení cez noc za vákua pri teplote 50°C sa získa 9,67 g ( 69 % teórie ) v názve uvedenej zlúčeniny vo forme ľahko nažltlej amorfnej pevnej látky.

Obsah vody : 3,0 %

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 42,26    H 4,75    Gd 20,59    N 9,17

získané:    C 42,27    H 4,91    Gd 20,36    N 9,03

e) 64-amidový konjugát z gadolíniového komplexu 10-{3-[4-( 2,6 - dioxomorfolíno)-fenoxy]-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris-(karboxymetyl) -1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 64-polyamínom podľa príkladu 17h)

1,74 g (0,1 mmol ) 64-benzyloxykarbonylamínu , popísaného v príklade 17h), sa roypustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33% bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteri , vzniknutý 64 -amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v prvej forme po častiach pridá 14,68 g (19,2 mmól) anhydridu, popísaného v príklade 20d), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 5,00 g (78 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 7,7 %,

stanovenie Gd (AAS): 15,7 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,15      H 4,93      Gd 17,01      N 10,89      Na 2,49

získané:      C 43,17      H 4,89      Gd 16,80      N 10,54      Na 2,33

### **Príklad 21**

a) Kyselina mezo-2,3-bis(benzyloxykarbonylamino)- jantárová

14,81 g (100 mmól) kyseliny diaminojantárovej (mezo forma) sa suspenduje v 300 ml tetrahydrofuránu a hodnota pH sa upraví pomocou 2 N hydroxidu sodného na 9. Pri teplote 0 °C sa prikvapká za silného miešania 42,65 g (250 mmól) benzylesteru kyseliny chlórnavčej, rozpustených v 50 ml tetrahydrofuránu a hodnota pH sa udržiava súčasným prídavkom 2 N hydroxidu sodného na 9. Reakčná zmes sa potom nechá miešať po dobu 5 hodín pri hodnote pH 9 a pri teplote miestnosti, načo sa hodnota pH upraví prídavkom 10 % kyseliny chlorovodíkovej na 2 a pridá sa 300 ml nasýteného roztoku chloridu sodného. Organická fáza sa potom oddelí vo vákuu, odparí sa do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a metylalkoholu (10 : 1) a 2 % kyseliny octovej.

Výtěžok: 27,07 g (65 % teórie) bezfarebnej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 57,69      H 4,84      N 6,73

získané:      C 57,59      H 4,93      N 6,66

#### b) Anhydrid kyseliny 2,3-bis(benzyloxykarbonylamino)-jantárovej

5 g (60,04 mmól) zlúčeniny z príkladu 21a) sa mieša v 200 ml acetánhydridu po dobu 12 hodín pri teplote 50 °C. Potom sa ochladí na ľadovom kúpeli na teplotu 0 °C a pomaly sa prikvapká 600 ml dietyléteru. Vytvorené kryštály sa odfiltrujú, premyjú sa dvakrát vždy 100 ml dietyléteru a vysušia sa vo vákuu cez noc pri teplote 50 °C.

Výtěžok: 23,44 g (98 % teórie) bezfarebných lístkov.

#### Elementárna analýza

vypočítané:      C60,30      H 4,55      N 7,03

získané:      C 60,15      H 4,65      N 6,94

#### c) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-32-amín na báze (diamino)-sukcinylovaného N,N',N'',N'''-tetrakis(trilyzyl-aminoetyl)-metánu

10 g (2,62 mmól) zlúčeniny z príkladu 17d) sa rozpustí v 100 ml ľadovej kyseliny octovej a za miešania sa pridá 100 ml 33 % bromovodíka v ľadovej kyseline octovej. Po 2 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí dietyléterom, vzniknutý hexadeka-bromid sa odfiltruje a premyje dietyléterom a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalšej reakcii.

Výtěžok: kvantitatívny.

Takto získaný hydrobromid sa rozpustí v 200 ml pyridínu a 20 ml trietylaminu a pridá sa 1 g (8,18 mmól) 4-dimetylaminopyridínu. Pri teplote 0 °C

sa potom prikvapká 33,40 g (83,84 mmól) zlúčeniny z príkladu 21b) rozpustených v 100 ml dimetylformamidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do 300 ml metylénchloridu a premyje sa trikrát vždy 100 ml 5 % roztoku uhličitanu draselného. Organická fáza sa vysuší pomocou bezvodého síranu horečnatého, vo vákuu sa zahustí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a metylalkoholu (20 : 1).

Výťažok: 17,07 g (81 % teórie) bezfarebnej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 59,28      H 5,61      N 10,45

získané:      C 59,13      H 5,79      N 10,29

#### d) 1-hydroxy-11-(4-nitrofenoxy)-3,6,9-trioxaundekán

K 100 g (515,0 mmól) tetraetylénglykolu, 73 g (1 300 mmól) jemne práškovitého hydroxidu draselného a 500 mg tetrabutylamóniumhydrogénsulfátu v 500 ml toluénu sa pri teplote 0 °C pridá 18,16 g (128,7 mmól) 4-fluórinitrobenzénu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa pridá 1 000 ml nasýteného roztoku chloridu sodného, organická fáza sa oddelí, vysuší sa pomocou bezvodého síranu horečnatého a vo vákuu sa odparí do sucha. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a izopropylalkoholu (15 : 1).

Výťažok: 27,19 g (67 % teórie) žltavej olejovitej kvapaliny, ktorá za státia stuhne.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 53,33      H 6,71      N 4,44

získané:      C 53,20      H 6,85      N 4,28

e) 1-terc.-butoxy-13-(4-nitrofenoxy)-2,5,8,11- tetraoxatridekán

K 25 g (79,28 mmól) zlúčeniny z príkladu 21d), 8,9 g (158,6 mmól) jemne práškovitého hydroxidu draselného a 200 mg tetrabutylamóniumhydrogénsulfátu v 300 ml toluénu sa pri teplote 0 °C pridá 18,6 g (95,1 mmól) terc.-butylesteru kyseliny brómoctovej a reakčná zmes sa mieša po dobu 3 hodiny pri teplote 0 °C. Potom sa pridá 200 ml vody, organická fáza sa oddelí, vysuší sa pomocou bezvodého síranu horečnatého a za vákua sa odparí do sucha. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a acetónu (10 : 1).

Výťažok: 29,6 g (87 % teórie) žltkavej, väzkej olejovitej kvapaliny.

Elementárna analýza

vypočítané: C 55,93      H 7,28      N 3,26

získané:      C 55,78      H 7,41      N 3,15

f) 1-karboxy-13-(4-nitrofenoxy)-2,5,8,11-tetraoxa- tridekán

28 g (65,2 mmól) zlúčeniny z príkladu 21e) sa rozpustí v 200 ml metylénchloridu, pri teplote 0 °C sa prikvapká 150 ml kyseliny trifluóroctovej a reakčná zmes sa nechá ohriať na teplotu miestnosti. Po jednej hodine sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje z malého množstva zmesi dietyléteru a hexánu.

Výťažok: 23,4 g (96 % teórie) ľahko žltkavo sfarbenej pevnej látky.

Elementárna analýza

vypočítané: C 51,47      H 6,21      N 3,75

získané:      C 51,38      H 6,31      N 3,61

g) N-hydroxysukcínimidester 1-karboxy-13-(4-nitrofenoxy)-2,5,8,11-tetraoxatridekánu

10 g (26,78 mmól) zlúčeniny z príkladu 21f) a 3,7 g (32,14 mmól) N-hydroxysukcínimidu sa rozpustí v 20 ml chloroformu a pri teplote 0 °C sa pridá 6,63 g (32,14 mmól) dicyklohexylkarbodiimidu. Reakčná zmes sa mieša po dobu 24 hodín pri teplote miestnosti, načo sa ochladí na ľadovom kúpeli a vyzrážaná močovina sa odfiltruje. Filtrát sa odparí vo vákuu do sucha a získaný zvyšok sa prekryštalizuje z malého množstva izopropylalkoholu.

Výťažok: 11,21 g (89 % teórie) ľahko žltkavej kryštalickej pevnej látky.

#### Elementárna analýza

vypočítané: C 51,06      H 5,57      N 5,95

získané:      C 51,17      H 5,61      N 5,83

h) Gadoliniový komplex 10-[18-(4-nitrofenoxy)-2-hydroxy- 5-oxo-4-aza-7,10,13,16-tetraaza-oktadecyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklo-dodekánu

K 10 g (17,43 mmól) zlúčeniny z príkladu 2c) v 100 ml dimetylformamidu a 20 ml trietylaminu sa pri teplote miestnosti pridá 9,84 g (20,92 mmól) zlúčeniny z príkladu 21g) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Potom sa odparí vo vákuu do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na RP-18 (LiChroPrep®/pohyblivá fáza : voda/tetrahydrofurán - gradient).

Výťažok: 14,3 g (83 % teórie) amorfnej pevnej látky,

obsah vody: 5,8 %.

#### Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 42,66      H 5,51      Gd 16,93      N 9,05

získané:      C 42,51      H 5,68      Gd 16,80      N 9,15

i) Gadolíniový komplex 10-[18-(4-aminofenoxy)-2-hydroxy- 5-oxo-4-aza-7,10,13,16-tetraoxa-oktadecyl]-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklo-dodekánu

14 g (15,07 mmól) zlúčeniny z príkladu 21h) sa rozpustí v 200 ml metylalkoholu, pridajú sa 4 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na C) a hydrogenuje sa po dobu 8 hodín pri teplote miestnosti. Katalyzátor sa potom odfiltruje a filtrát sa odparí do sucha.

Výťažok: 13,41 g (99 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky,

obsah vody: 6,1 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 44,09      H 5,94      Gd 17,49      N 9,35

získané:      C 43,93      H 6,10      Gd 17,28      N 9,22

k) Gadolíniový komplex 10-[18-(4-izokyanátofenoxy)-2- hydroxy-5-oxo-4-aza-7,10,13,16-tetraoxa-oktadecyl]- 1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklo-dodekánu

10 g (11,12 mmól) zlúčeniny z príkladu 21i) sa rozpustí v 100 ml vody a pridá sa 3,84 g (33,36 mmól) tiofosgénu v 50 ml chloroformu. Reakčná zmes sa mieša po dobu jednej hodiny pri teplote 50 °C, potom sa chladí na teplotu miestnosti, organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa dvakrát vytrepe vždy 100 ml chloroformu. Vodná fáza sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa pri teplote miestnosti rozmieša v 100 ml acetónu. Pevná látka sa odfiltruje a premyje sa dietyléterom. Po sušení cez noc vo vákuu pri teplote 40 °C sa získa 10,47 g (97 % teórie) krémovo sfarbenej pevnej látky.

Obsah vody: 3,0 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,39      H 5,46      Gd 16,71      N 8,93      S 3,41

získané: C 43,20 H 5,60 Gd 16,53 N 8,75 S 3,36

l) 32-tiomočovínový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[18-(4-izokyanátofenoxy)-2-hydroxy-5-oxo-4-aza-7,10,13,16-tetraoxa-oktadecyl]-1,4,7-tris(karboxy- metyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekánu s deblokovaným 32-amínom z príkladu 21c)

1,61 g (0,2 mmól) 32-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 21c), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme po častiach pridá 9,03 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 21k), pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 6,10 g (83 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 3,5 %,

stanovenie Gd (AAS): 14,0 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 43,14 H 5,51 Gd 14,70 N 10,31 Na 1,07  
S 3,41

získané: C 42,96 H 5,72 Gd 14,50 N 10,39 Na 0,94  
S 2,76

**Príklad 22**

32-tiomočovinový konjugát z gadolíniového komplexu 10-[3-(4-izokyanát-fenoxy)-2-hydroxy-propyl]-1,4,7-tris (karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklodekánu s deablokovaným 32-aminom z príkladu 21c)

1,61 g (0,2 mmól) 32-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 21c), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 32-amin-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme po častiach pridá 6,80 g (9,6 mmól) izotiokyanátu, popísaného v príklade 12d) EP-485 045, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa reakčná zmes nechá miešať cez noc pri teplote miestnosti a potom sa zneutralizuje pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne lyofilizuje.

Výťažok: 4,56 g (82 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 4,0 %,

stanovenie Gd (AAS): 17,9 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané:	C 40,81	H 4,76	Gd 18,81	N 11,52	Na 1,37
	S 3,84				

získané:	C 40,67	H 4,98	Gd 18,60	N 10,70	Na 1,21
	S 3,47				

**Príklad 23****a) Hexakis-N-(2-aminoetyl)-[1,3,5]-triazín-2,4,6- trietyltriámín**

18,41 g (100 mmól) 2,4,6-trichlór-s-triazínu a 92,99 g (315 mmól) bis-(2-trifluóracetylamoetyl)-amínu (vyrobené podľa US-P č. 4 415 737) sa suspenduje v zmesi 300 ml vody a 300 ml dioxanu a za miešania sa teplota zvýši na 50 °C. Prikvapávaním nasýteného roztoku hydrogénuhličitanu draselného sa hodnota pH udržiava v rozmedzí 7 až 8. Keď sa už hodnota pH nemení, zvýši sa prídavkom 1 N hydroxidu draselného na 9 a teplota sa zvýši na 30 minút na 70 °C. Potom sa vo vákuu zmes zahustí na 1/10 svojho objemu, ochladí sa na ľadovom kúpeli a zrazenina sa oddelí odsatím. Získaný zvyšok sa prekryštalizuje z izopropylalkoholu. Získa sa takto 29 g v názve uvedenej zlúčeniny s teplotou topenia 168 až 173 °C.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 46,85      H 9,44      N 43,71

získané:      C 46,62      H 9,80      N 43,92

**b) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín na bázehexakis-N-(2-triilyzyl-amino)-etyl]-[1,3,5]-triazín- 2,4,6-trietyltriámín**

7,0 g (7,5 mmól) chráneného "tri-lyzínu", popísaného v príklade 1c), 1,2 g (7,5 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 2,4 g (7,5 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium- tetrafluórborátu (TBTU) sa rozpustí v 100 ml dimetylformamidu a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Roztok sa potom zmieša s 5,16 ml (30 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 385 mg (1 mmól) hexakis-N-[2-aminoetyl]-[1,3,5]-triazín-2,4,6-trietyltriámínu (príklad 23a)) a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi etylesteru kyseliny octovej a etylalkoholu (3 : 1).

Výťažok: 4,02 g (68 % teórie).

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 63,98      H 6,80      N 11,37

získané:      C 64,15      H 7,19      N 11,51

## c) 24-gadolínium-DTPA-monoamid na báze hexakis-N-[2- -(trilyzyl-amino)-etyl]-[1,3,5]-triazín-2,4,6- trietyltriámínu

1,18 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 23b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP-0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa hodnota pH reakčnej zmesi upraví kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru 5 N hydroxidom sodným na > 13 a nechá sa miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH upraví pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej na 5 a zmieša sa s 2,61 g (7,2 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C a po ochladení sa zneutralizuje na pH 5. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne filtruje cez membránu a lyofilizuje.

Výťažok: 3,38 g (88 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 7,3 %,

stanovenie Gd (AAS!): 20,1 %.

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,78    H 4,37    Gd 19,68    N 8,77    Na 2,88

získané:    C 41,03    H 4,61    Gd 18,82    N 8,98    Na 3,01

Analogickým spôsobom sa získa za použitia Dy<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dyzproziový komplex.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 40,51    H 4,34    Dy 20,21    N 8,71    Na 2,86

získané:    C 40,39    H 4,60    Dy 19,90    N 8,95    Na 2,62

#### Príklad 24

a) 1,4,7,10,13,16-hexakis-[benzyloxykarbonylglycyl]-1,4,7,10,13,16-hexaaza-cyklooktadekán

516 mg (2 mmól) 1,4,7,10,13,16-hexaazacyklooktadekánu (Hexacyclen, Fluka) sa s toluénom azeotropicky odvodní. K ochladenému roztoku hexacyklénu v toluéne sa pridá pri teplote miestnosti roztok 3,14 g (15 mmól) benzyloxykarbonyl-glycinu (Fluka) v tetrahydrofuráne a 3,71 g (15 mmól) 2-etoxy-1-etoxy- karbonyl-1,2-dihydrochinolínu (EEDQ Fluka) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Po skončení reakcie sa produkt prídavkom hexánu vyzráža a vytvorená zrazenina sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmétánu, hexánu a izopropylalkoholu (20 : 10 : 1).

Výťažok: 1,83 g (65 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 61,53    H 6,02    N 11,96

získané:    C 61,40    H 5,96    N 12,08

b) 1,4,7,10,13,16-hexakis-[N,N-bis(benzyloxykarbonyl- aminoetyl)-glycyl]-1,4,7,10,13,16-hexaazacyklo- oktadekán

1,41 g (1 mmól) hexa-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v predchádzajúcom príklade, sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 60 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý hexamín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: kvantitatívny.

1,09 g (1 mmól) takto vyrobeného hydrobromidu sa suspenduje v 50 ml acetonitrilu a pridajú sa 3 ml trietylamínu. Potom sa pridá 3,54 g (20 mmól) N-benzyloxykarbonylaziridínu (vyrobeného podľa J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21 - 26, 1993) a reakčná zmes sa zahrieva pod spätným chladičom pod dusíkovou atmosférou po dobu 5 dní. Potom sa odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do 100 ml metylénchloridu a premyje sa dvakrát vždy 100 ml 5 % roztoku uhličitanu draselného. Metylénchloridová fáza sa vysuší pomocou bezvodého síranu horečnatého, odparí sa a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, metylalkoholu a trietylamínu (20 : 1 : 0,1).

Výťažok: 2,29 g (84 % teórie) svetlo žltej väzkej olejovitej kvapaliny.

Elementárna analýza

vypočítané: C 63,42      H 6,65      N 12,33

získané:      C 63,29      H 6,60      N 12,47

c) Úplne chránený benzyloxykarbonyl-24-polyamín z 12-amínu 1,4,7,10,13,16-hexakis-[N,N-bis(aminoetyl)-glycyl]-1,4,7,10,13,16-hexaazacyklooktadekánu, alkylovaného benzyloxykarbonyl-aziridínom

1,36 g (0,5 mmól) zlúčeniny z príkladu 24b) sa rozpustí v 100 ml metylalkoholu a pridajú sa 3 g Pearlmanovho katalyzátora (hydroxid paladnatý na aktívnom uhlí, Fluka), načo sa hydrogenuje po dobu 10 hodín pri teplote

miestnosti a tlaku 0,5 MPa. Potom sa katalyzátor odfiltruje, filtrát sa odparí do sucha a získaný zvyšok sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcej reakcii.

Výťažok: 0,56 g (kvantitatívny).

K 0,56 g (0,5 mmól) takto vyrobeného voľného 12-amínu v 50 ml acetonitrilu sa pridá 3,54 g (20 mmól) N-benzyloxykarbonyl- aziridínu (vyrobený podľa J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21 - 26, 1993) a reakčná zmes sa zahrieva po dobu 5 dní pod spätným chladičom a pod dusíkovou atmosférou. Potom sa odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do 100 ml metylénchloridu a premyje sa dvakrát vždy 100 ml 5 % roztoku uhličitanu draselného. Metylénchloridová fáza sa oddelí, vysuší sa pomocou bezvodého síranu horečnatého a odparí sa. Získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu, metylalkoholu a trietylamínu (20 : 1 : 0,1).

Výťažok: 2,23 g (83 % teórie) svetložltej väzkej olejovitej kvapaliny.

Elementárna analýza

vypočítané: C 64,41      H 6,98      N 12,52

získané:      C 64,20      H 7,15      N 12,44

d) 24-gadolínium-DTPA-monoamid na báze deblokovaného 24-amínu z príkladu 24c)

1,07 g (0,2 mmól) zlúčeniny, popísanej v príklade 24c) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-

(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP-0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa hodnota pH reakčnej zmesi upraví kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru 5 N hydroxidom sodným na > 13 a nechá sa miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH upraví pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej na 5 a zmieša sa s 2,61 g (7,2 mmól)  $Gd_2O_3$ , mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C a po ochladení sa zneutralizuje na pH 7. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne filtruje cez membránu a lyofilizuje.

Výťažok: 2,90 g (89 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 8,0 %,

stanovenie Gd (AAS!): 23,4 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 34,61      H 4,40      Gd 25,17      N 11,21      Na 0,92

získané:      C 34,34      H 4,50      Gd 24,93      N 11,06      Na 1,10

## Príklad 25

### Príklad aplikačnej formy

a) 24-kalcium-DTPA-monoamid na báze triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N'''-hexakis[2-(trilyzyl-amino)-etyl]- trimezínovej

1,20 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme pridá 5,8 g (14,4 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP-0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa hodnota pH reakčnej zmesi upraví kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru 5 N hydroxidom sodným na > 13 a nechá sa miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH upraví prídavkom kationomeniča (Amberlite IR 120, H<sup>+</sup>-forma) na 4,5, iónomenič sa odfiltruje a filtrát sa zmieša s 1,07 g (14,4 mmól) hydroxidu vápenatého. Roztok sa potom zneutralizuje zriedeným hydroxidom sodným na pH 7. Roztok sa potom podrobí ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne filtruje cez membránu a lyofilizuje.

Výťažok: 2,76 g (95 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 7,2 %,

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku a počítané ako 1,5 sodná soľ pre komplex)

vypočítané: C 41,42      H 5,04      Ga 7,13      N 12,15      Na 6,14

získané:      C 41,09      H 5,33      Ga 6,97      N 12,30      Na 6,52

b) Výroba roztoku gadolíniového kaskádového polyméru, popísaného v príklade 1

16,68 g (0,025 mól gadolína) zlúčeniny, popísanej v príklade 1e), sa rozpustí v 60 ml vody pre injekcie. Po prídavku 702 mg (1,25 mmól vápnika) Ca-komplexu, popísaného v predchádzajúcom príklade a 121 mg trishydroxymetylaminometánu sa hodnota pH upraví zriedenou kyselinou chlorovodíkovou na 7,0 a doplní sa vodou pre injekcie do 100 ml. Roztok sa podrobí ultrafiltrácii, naplní sa do fľaštičiek a sterilizuje sa teplom.

**Príklad 26**

a) 4,7,13,16,21,24-hexakis-{8-(benzyloxykarbonylamino)- 6-[2-(benzyloxykarbonylamino-etyl)-5-oxo-3-oxaoktanoyl]} -oktaazabicyklo[8.8.8]hexakozán

741 mg (2 mmól) 1,4,7,10,13,16,21,24-oktaazabicyklo[8.8.8] hexakozánu (P. H. Smith a kol., J. Org. Chem., 1993, 58, 7939) sa azeotropicky odvodní s toluénom. K ochladenému roztoku bicyklu v toluéne sa pri teplote miestnosti pridá roztok 7,32 g (15 mmól) N,N'-bis(benzyloxykarbonyl)-3-[karboxymetoxycetyl]-3-azapentán- 1,5-diamínu (príklad 7a)) v tetrahydrofuráne a 3,71 g (15 mmól) 2-etoxy-1-etoxy-karbonyl-1,2-dihydroxychinolínu (EEDQ, Fluka) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Po skončení reakcie sa produkt vyžráža prídavkom hexánu, oddekantuje sa od rozpúšťadla a ešte raz sa prežráža zo zmesi tetrahydrofuránu a hexánu a konečne zo zmesi tetrahydrofuránu a toluénu. Po vysušení vo vákuu sa získa 4,53 g (71 % teórie) svetlo žltej pevnej látky.

**Elementárna analýza**

vypočítané: C 61,04      H 6,45      N 11,42

získané:      C 60,89      H 6,55      N 11,61

b) Úplne chránený 48-benzyloxykarbonyl-polyamín na báze 48-amínu, kondenzovaného zo 4,7,13,16,21,24-hexakis- {8-(benzyloxykarbonylamino)-6-[2-(benzyloxykarbonyl- amino-etyl)-5-oxo-3-oxaoktanoyl]}-oktaazabicyklo [8.8.8]hexakozánu s N $\alpha$ ,M $\epsilon$ psilon-bis(lyzyl)-lyzínom ("tri-lyzín")

3,19 g (1 mmól) 12-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 26a) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 90 minútach sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý dodeka-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom, vo vákuu sa vysuší a bez ďalšieho čistenia sa použije v ďalej popísanej reakcii.

Výťažok: 2,7 g (kvantitatívny).

14,1 g (5 mmól) chráneného "tri-lyzínu", popísaného v príklade 1c), 2,25 g (15 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu a 4,8 g (15 mmól) 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylurónium- tetrafluórborátu (TBTU, Peboc Limited, UK) sa rozpustí v dimetylformamide a reakčná zmes sa mieša po dobu 15 minút. Tento roztok sa potom zmieša so 7,74 ml (45 mmól) N-etyldiizopropylamínu a 2,7 g (1 mmól) vyššie popísaného deka-amín-hydrobromidu a reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Po skončení reakcie sa zmes vo vákuu odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi dichlórmetánu a metylalkoholu (10 : 1).

Výťažok: 9,4 g (74,4 % teórie).

Elementárna analýza

vypočítané: C 63,33      H 6,80      N 10,87

získané:      C 63,14      H 6,72      N 10,98

c) 48-gadolínium-DTPA-monoamid na báze deblokovaného 48-amínu z príkladu 26b)

2,53 g (0,2 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 26b), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 48-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

Získaný zvyšok sa potom vyberie do vody a prídavkom 1 N hydroxidu sodného sa hodnota pH upraví na 9,5. Do tohto roztoku sa potom v pevnej forme pridá 11,55 g (28,8 mmól) kyseliny N<sup>3</sup>-(2,6-dioxomorfolinoetyl)-N<sup>6</sup>-(etoxykarbonylmetyl)-3,6-diaza- oktándikarboxylovej, popísanej v príklade 13a) EP-0 331 616, pričom hodnota pH sa udržiava konštantná ďalším prídavkom hydroxidu sodného na 9,5. Po skončení prídavku sa hodnota pH reakčnej

zmesi upraví kvôli zmydelneniu DTPA-etylésteru 5 N hydroxidom sodným na > 13 a nechá sa miešať cez noc pri teplote miestnosti. Potom sa hodnota pH upraví prídavkom koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej na 5, zmieša sa s 5,22 g (14,4 mmól)  $Gd_2O_3$  a mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C. Po ochladení sa roztok potom zneutralizuje zriedeným hydroxidom sodným na pH 7 a podrobí sa ultrafiltrácii (YM3 AMICON) a retentát sa konečne filtruje cez membránu a lyofilizuje.

Výťažok: 5,90 g (83 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 8,3 %,

stanovenie Gd (AAS): 21,6 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 35,12      H 4,27      Gd 23,14      N 10,39      Na 3,24

získané:      C 34,98      H 4,50      Gd 22,91      N 10,54      Na 3,09

### Příklad 27

a) 10-(benzyloxykarbonylmetyl)-1,4,7-tris(terc.-butyl- oxykarbonylmetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán (ako natriumbromidový komplex)

20 g (38,87 mmól) 1,4,7-tris(terc.-butyloxy-karbonylmetyl)- DO3A-tris-terc.-butylester (vyrobený podľa EP 0 299 795, pr. 22a), sa rozpustí v 100 ml acetonitrilu, načo sa pridá 11,45 g (50 mmól) benzylesteru kyseliny brómovej a 10,6 g (100 mmól) uhličitanu sodného a reakčná zmes sa mieša po dobu 12 hodín pri teplote 60 °C. Potom sa soli odfiltrujú, filtrát sa vo vákuu odparí do sucha a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a metylalkoholu (20 : 1).

Výťažok: 21,72 g (73 % teórie) bezfarebného amorfného prášku.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 54,90    H 7,63    N 7,32    Na 3,00    Br 10,44

získané:    C 54,80    H 7,72    N 7,21    Na 2,89    Br 10,27

b)    10-(karboxymetyl)-1,4,7-tris(terc.-butyloxykarbonyl-    metyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán (ako nátrium- bromidový komplex)

20 g (26,12 mmól) zlúčeniny z príkladu 27a) sa rozpustí v 300 ml izopropylalkoholu a pridajú sa 3 g paládiového katalyzátora (10 % Pd na C), načo sa hydrogenuje cez noc pri teplote miestnosti. Katalyzátor sa potom odfiltruje a filtrát sa odparí do sucha.

Výťažok: 17,47 g (99 % teórie) bezfarebného amorfného prášku.

Elementárna analýza

vypočítané: C 49,78    H 7,76    N 8,29    Na 4,44    Br 11,83

získané:    C 49,59    H 7,59    N 8,17    Na 4,40    Br 11,70

c) 24-N-(2-DO3Ayl-acetyl)-kaskádový polyamid na báze 24-amínu triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis [2-(trilyzylamino)-etyl]-trimezínovej

6,0 g (1 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d) sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 % bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

32,43 g (48 mmól) kyseliny, popísanej v predchádzajúcom príklade 27b) sa rozpustí v dimetylformamide, zmieša sa so 7,35 g (48 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu, 15,41 g (48 mmól) TBTU (Peboc Limited UK) a 49,3 ml (288 mmól) N-etyldiizopropylamínu a reakčná zmes sa mieša po dobu 20 minút pri teplote miestnosti. Získaný roztok sa potom zmieša s vyššie popísaným 24-amín-hydrobromidom (1 mmól) a reakčná zmes sa mieša po dobu 4 dni pri teplote miestnosti. Roztok sa potom vo vákuu zahustí, získaná olejovitá

kvapalina sa na ľadovom kúpeli ochladí, zmieša sa s kyselinou trifluóroctovou, mieša sa cez noc pri teplote miestnosti a potom sa vyzráža dietyléterom. Získaná zrazenina sa usuší vo vákuu, vyberie sa do vody, hodnota pH sa upraví na 7, na ultrafiltračnej membráne YM3 AMICON® sa zbaví nízkomolekulárnych súčastí a retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výťažok: 12,5 g (83 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 9,7 %,

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 45,21      H 5,97      N 14,49      Na 12,15

získané:      C 45,04      H 6,15      N 14,26      Na 11,97

d) 24-Gd-komplex-N-(DO3Ayl-acetyl)-kaskádového polyamiduna báze 24-amínu triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N'' hexakis[2-(trilyzylamino)-etyl]-trimezínovej

6,81 g (0,5 mmól) komplexotvornej kyseliny, popísanej v predchádzajúcom príklade 27c) sa rozpustí vo vode a pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej sa hodnota pH upraví na 3, zmieša sa s 2,17 g (6 mmól) Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C, po ochladení sa hodnota pH upraví na 7 a odsolí sa pomocou ultrafiltračnej membrány YM3 AMICON®. Retentát sa potom kvôli odstráneniu neneutrálnych vedľajších produktov vedie cez aniónomenič IRA 67 (OH<sup>-</sup>-forma) a katiónomenič IRC 50 (H<sup>+</sup>-forma) a získaný roztok sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výťažok: 5,44 g (63,9 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 7,5 %,

stanovenie Gd (AAS): 21,95 %.

## Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 39,13      H 5,16      N 12,54      Gd 23,97

získané:      C 38,90      H 5,29      N 12,41      Gd 23,55

## Príklad 28

a) 10-(4-karboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7-tris(terc.- butoxykarbonylmetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán

K 10 g (14,80 mmól) zlúčeniny z príkladu 27b) v 100 ml dimetylformamidu sa pridá 1,73 g (15 mmól) N-hydroxysukcínimidu a ochladí sa na teplotu 0 °C. Potom sa pridá 4,13 g (20 mmól) dicyklohexylkarbodiimidu a reakčná zmes sa mieša po dobu jednu hodinu pri teplote 0 °C a potom po dobu 2 hodiny pri teplote miestnosti. Ďalej sa ochladí na teplotu 0 °C a pridá sa 5,1 g (50 mmól) trietylamínu a 2,25 g (30 mmól) glycínu, načo sa mieša cez noc pri teplote miestnosti. Vyzrážaná močovina sa odfiltruje, filtrát sa odparí do sucha, získaný zvyšok sa vyberie do vody a dvakrát sa extrahuje metylénchloridom. Organická fáza sa vysuší pomocou bezvodého síranu horečnatého, vo vákuu sa odparí a získaný zvyšok sa chromatografuje na silikageli za použitia zmesi metylénchloridu a metylalkoholu (15 : 1).

Výťažok: 8,20 g (88 % teórie) bezfarebnej pevnej látky.

## Elementárna analýza

vypočítané: C 57,21      H 8,80      N 11,12

získané:      C 57,10      H 8,91      N 11,03

b) 24-N-(5-DO3Ayl-4-oxo-3-azapentanoyl)-kaskádový polyamid na báze 24-amínu triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis[2-(trilyzylamino)-etyl]-trimezínovej

6,0 g (1 mmól) poly-benzyloxykarbonylamínu, popísaného v príklade 1d), sa rozpustí v ľadovej kyseline octovej a za miešania sa zmieša s 33 %

bromovodíkom v ľadovej kyseline octovej. Po 3 hodinách sa začínajúce zrážanie dokončí pomocou dietyléteru, vzniknutý 24-amín-hydrobromid sa premyje dietyléterom a vo vákuu sa vysuší.

30,23 g (48 mmól) kyseliny, popísanej v predchádzajúcom príklade 28a), sa rozpustí v dimetylformamide, zmieša sa so 7,35 g (48 mmól) 1-hydroxybenzotriazolu, 15,41 g (48 mmól) TBTU (Peboc Limited UK) a 49,3 ml (288 mmól) N-etyldiizopropylamínu a reakčná zmes sa mieša po dobu 20 minút pri teplote miestnosti. Získaný roztok sa potom zmieša s vyššie popísaným 24-amín-hydrobromidom (1 mmól) a reakčná zmes sa mieša po dobu 4 dni pri teplote miestnosti. Rostok sa potom vo vákuu zahustí, získaná olejovitá kvapalina sa na ľadovom kúpeli ochladí, zmieša sa s kyselinou trifluóroctovou, mieša sa cez noc pri teplote miestnosti a potom sa vyzráža dietyléterom. Získaná zrazenina sa usuší vo vákuu, vyberie sa do vody, hodnota pH sa upraví na 7, na ultrafiltračnej membráne YM3 AMICON® sa zbaví nízkomolekulárnych súčastí a retentát sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výtťažok: 12,9 g (79,2 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 7,9 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 44,93      H 5,91      N 15,41      Na 11,04

získané:      C 44,77      H 6,15      N 15,60      Na 10,86

c) 24-Gd-komplex N-(DO3Ayl-4-oxo-3-azapentanoyl)- kaskádového polyamidu na báze 24-amínu triamidu kyseliny N,N,N',N',N'',N''-hexakis[2-(trilyzylamino)-etyl]- trimezínovej

8,14 g (0,5 mmól) komplexotvornej kyseliny, popísanej v predchádzajúcom príklade 28b) sa rozpustí vo vode a pomocou zriedenej kyseliny chlorovodíkovej sa hodnota pH upraví na 3, zmieša sa s 2,17 g (6

mmól)  $Gd_2O_3$ , mieša sa po dobu 30 minút pri teplote 80 °C, po ochladení sa hodnota pH upraví na 7 a odsolí sa pomocou ultrafiltračnej membrány YM3 AMICON®. Retentát sa potom kvôli odstráneniu neneutrálnych vedľajších produktov vedie cez aniónomenič IRA 67 (OH<sup>-</sup>-forma) a kationomenič IRC 50 (H<sup>+</sup>-forma) a získaný roztok sa konečne podrobí membránovej filtrácii a lyofilizácii.

Výťažok: 6,3 g (67,7 % teórie),

obsah vody (Karl Fischer): 8,0 %,

stanovenie Gd (AAS): 19,6 %.

Elementárna analýza (vzťahujúc na bezvodú látku)

vypočítané: C 39,37      H 5,18      N 13,50      Gd 22,05

získané:      C 39,44      H 5,02      N 13,73      Gd 21,79

### Príklad A

Porovnanie in-vivo s extracelulárnym kontrastným činidlom

V nasledujúcom pokuse sa ukazuje vhodnosť zlúčeniny, popísanej v príklade 7d), ako blood-pool-agens.

Ako pokusné zvieratá slúži 5 samčích krýs (Schering - SPF) o hmotnosti 300 až 350 g. Pred pokusom sa otvorí brušná dutina, črevá sa presunú a potom sa cez zadnú brušnú blanu chirurgickou ihlou podviažu na obidvoch stranách ľadvinovej panvičky (arteriálna + venózna). Potom sa brušná dutina opäť uzatvorí. Zvieratám sa aplikuje 0,3 ml (50 mmól/l) intravenózne roztok nasledujúceho kontrastného činidla: zmes vždy 1 dielu zlúčeniny z príkladu 7d), v nasledujúcom označované ako zlúčenina 1 a dyzproziového komplexu 10-(1-hydroxymetyl-2,3-dihydroxy-                      propyl)-1,4,7-tris(karboxymetyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekán, vyrobeného podľa EP 448 191, v nasledujúcom označované ako zlúčenina 2. Cez katéter v Arteria carotis communis sa

odoberajú vzorky krvi v nasledujúcich časových bodoch: 15, 30, 45, 60 a 90 sek., 3, 5, 10 a 15 minút p.i. V získaných vzorkách krvi sa merajú paralelne koncentrácie gadolína (Gd) a dyzprozia (Dy) pomocou atómovej imisnej spektrometria (ICP-AES). V krvnom riečisku zostávajúci podiel injikovaného kontrastného činidla zlúčeniny 1 (Gd) a zlúčeniny 2 (Dy, porovnávací látka) môže byť porovnaný rôznym značením u rovnakých zvierat. Vzhľadom k tomu, že renálne vylučovanie nie je možné, môže sa úbytok koncentrácie v krvi vzťahovať iba na rozptýlenie v krvnom riečisku a na difúziu do intersticiálneho tkaniva.

Výsledky: difúzia zlúčeniny 1 do interstícia je v porovnaní s extracelulárnym kontrastným činidlom zlúčeniny 2 podstatne spomalená (pozri obr. 1).

Na obr. 1 je znázornená závislosť koncentrácie Gd (zlúčenina 1) a Dy (zlúčenina 2) v krvi od času u krýs ( $n=5$ ) s podviazanými obličkovými panvičkami.

Extracelulárne kontrastné činidlo (zlúčenina 2) difunduje tak rýchlo do intersticiálneho priestoru tela, že už po jednej minúte p.i. je dosiahnutá ekvilibria (ukázané konštantnou hladinou v krvi). Oproti tomu u kaskádového polyméru (zlúčenina 1) sa nielen merajú vyššie koncentrácie v krvi (dôkaz nižšieho objemu rozptýlenie), ale tiež po celú dobu pokusu 15 minút sa ešte nedosiahne ekvilibrium (dôkaz veľmi pomaly prebiehajúcej difúzie do intersticiálneho tkaniva). To znamená, že sa zlúčenina 1 chová ako blood-pool-kontrastné činidlo.

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Komplexy kaskádových polymérov, obsahujúce

a) komplexotvorné ligandy všeobecného vzorca I



v ktorom

A znamená dusík obsahujúci kaskádové jadro bazálnej multiplicity, a

X a Y znamenajú nezávisle od seba priamu väzbu alebo kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity x, prípadne y,

Z a W znamenajú nezávisle od seba kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity z, prípadne w,

K znamená zvyšok komplexotvornej látky,

a znamená číslo 2 až 12 a

x, y, z a w znamenajú nezávisle od seba číslo 1 až 4,

s tým obmedzením, že aspoň dve reprodukčné jednotky sú rôzne a že pre produkt platia multiplicity

$$16 < a \cdot x \cdot y \cdot z \cdot w < 64.$$

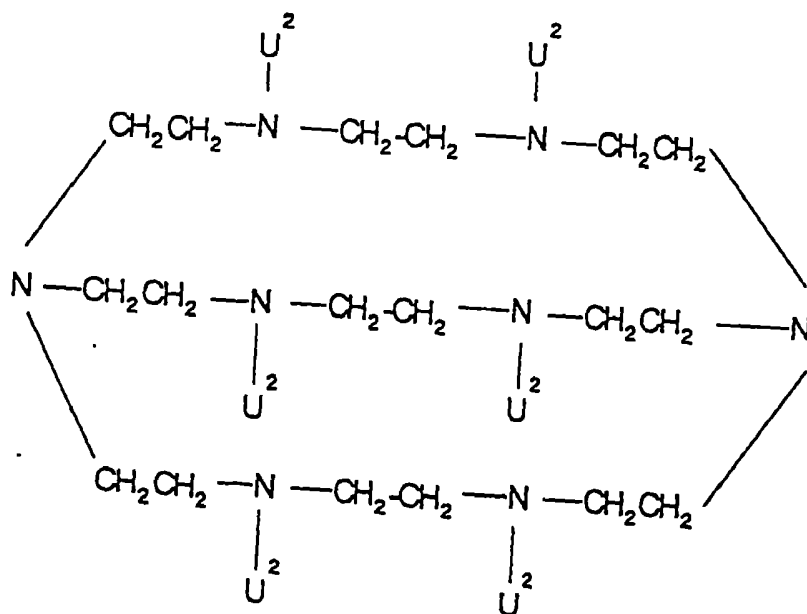
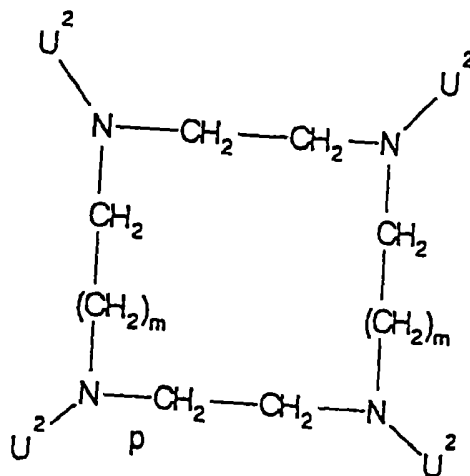
b) aspoň 16 iónov prvku poradového čísla 20 až 29, 39, 42, 44 alebo 57 - 83,

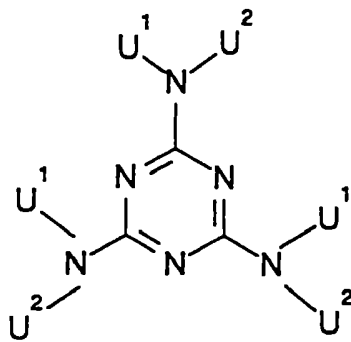
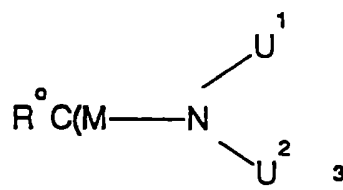
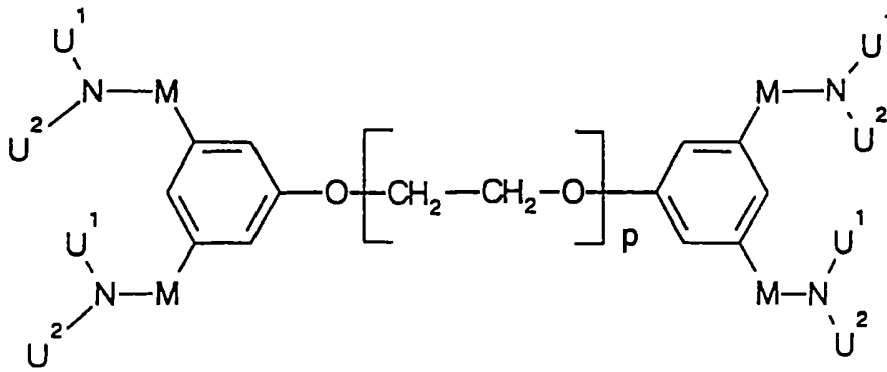
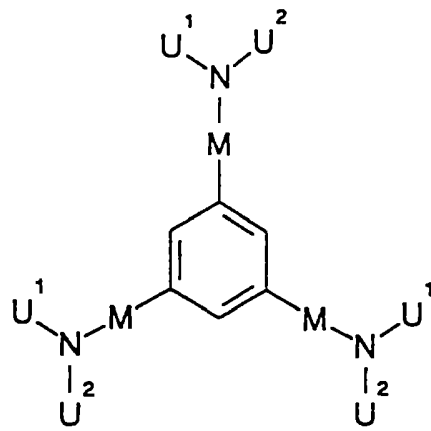
c) prípadne katióny anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín, ako i

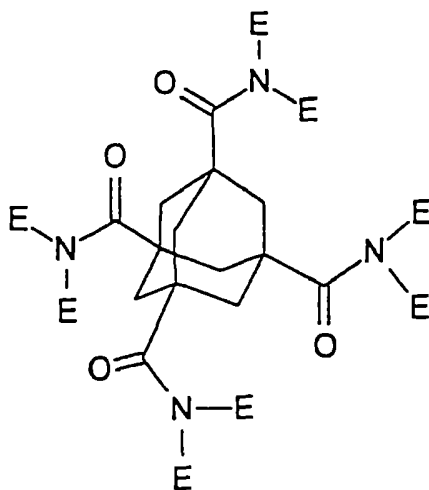
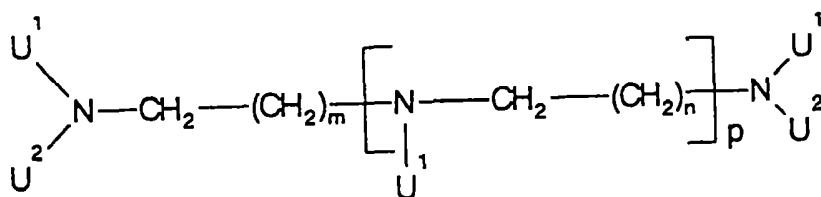
d) prípadne acylované terminálne aminoskupiny,

vyznačujúce sa tým, že

A znamená dusíkový atóm,







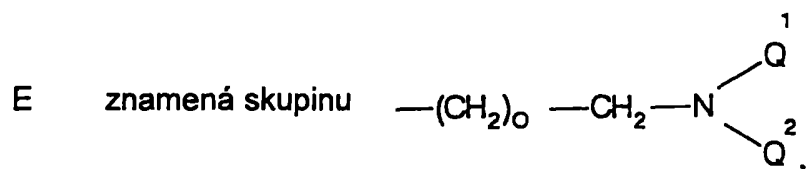
pričom

m a n znamenajú čísla 1 až 10,

p znamená číslo 0 až 10,

U<sup>1</sup> znamená Q<sup>1</sup> alebo E,

U<sup>2</sup> znamená Q<sup>2</sup> alebo E, pričom



pričom

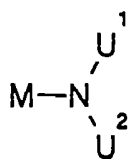
o znamená číslo 1 až 6,

Q<sup>1</sup> znamená vodíkový atóm alebo Q<sup>2</sup> a

$Q^2$  znamená priamu väzbu,

M znamená alkylénový reťazec s 1 až 10 uhlíkovými atómami, ktorý je prípadne prerušený 1 až 3 kyslíkovými atómami a/alebo je prípadne substituovaný 1 až 2 oxoskupinami a

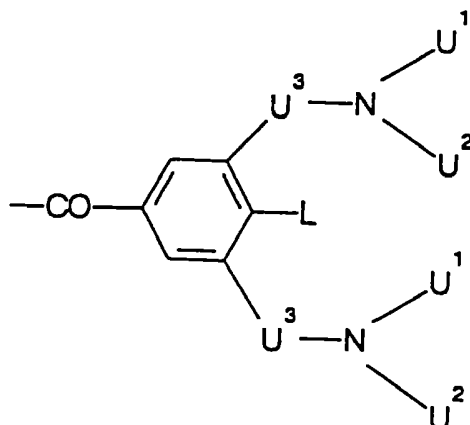
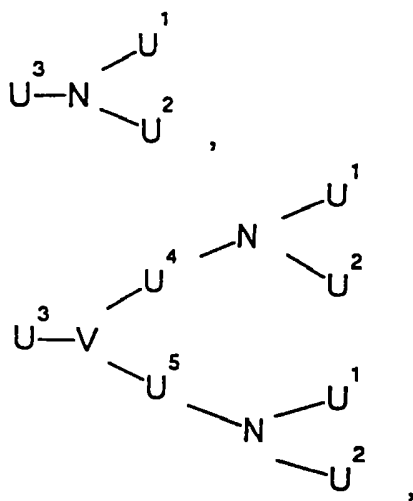
$R^0$  znamená rozvetvený alebo nerozvetvený alkylový zvyšok s 1 až 10 uhlíkovými atómami, nitroskupinu, aminoskupinu, skupinu karboxylovej kyseliny alebo skupinu



príčom počet  $Q^2$  zodpovedá bazálnej multipliciti,

kaskádové reprodukčné jednotky X, Y, Z a W znamenajú nezávisle od seba

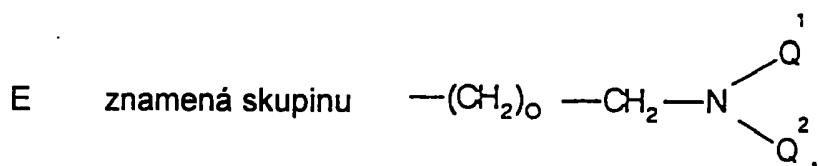
E,



pričom

U<sup>1</sup> znamená Q<sup>1</sup> alebo E,

U<sup>2</sup> znamená Q<sup>2</sup> alebo E, pričom



pričom

o znamená číslo 1 až 6,

Q<sup>1</sup> znamená vodíkový atóm alebo Q<sup>2</sup> a

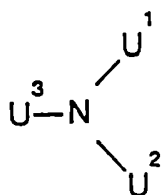
Q<sup>2</sup> znamená priamu väzbu,

U<sup>3</sup> znamená alkylénový reťazec s 1 až 20 uhlíkovými atómami, ktorý je prípadne prerušený 1 až 10 atómami kyslíka a/alebo jednou až dvoma skupinami  $-\text{N}(\text{CO})_q-\text{R}^2$ , jedným až dvoma fenylénovými a/alebo jedným až dvoma fenylénoxylovými zvyškami a/alebo je prípadne substituovaný jednou až dvoma oxoskupinami, tiooxoskupinami, karboxyskupinami, alkylkarboxyskupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami v alkoxylo, alkoxykupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami, hydroxyskupinami alebo alkylovými skupinami s 1 až 5 uhlíkovými atómami, pričom

q znamená číslo 0 alebo 1 a

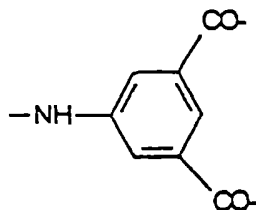
R<sup>2</sup> znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná 1 až 2 hydroxyskupinami alebo jednou karboxylovou skupinou,

L znamená vodíkový atóm alebo skupinu



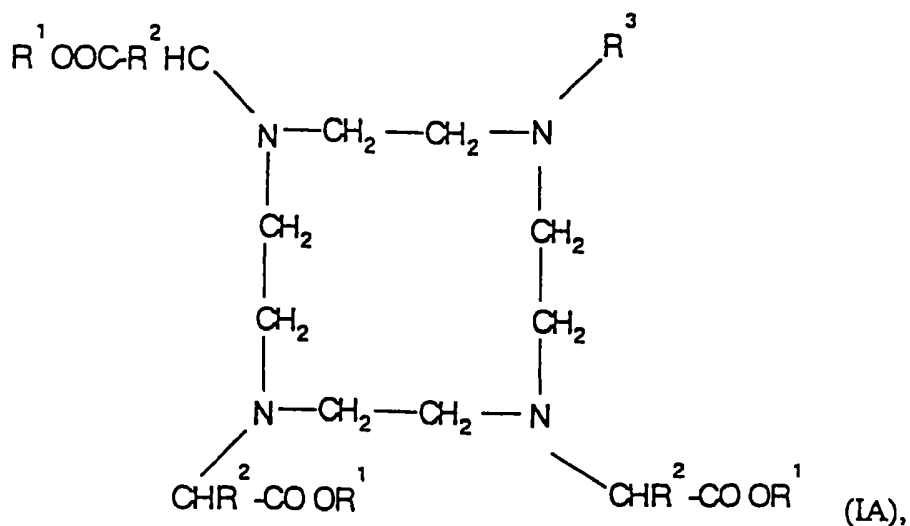
V znamená metínovú skupinu =CH, keď súčasne U<sup>4</sup> znamená priamu väzbu alebo skupinu M a U<sup>5</sup> má význam skupiny U<sup>3</sup>, alebo

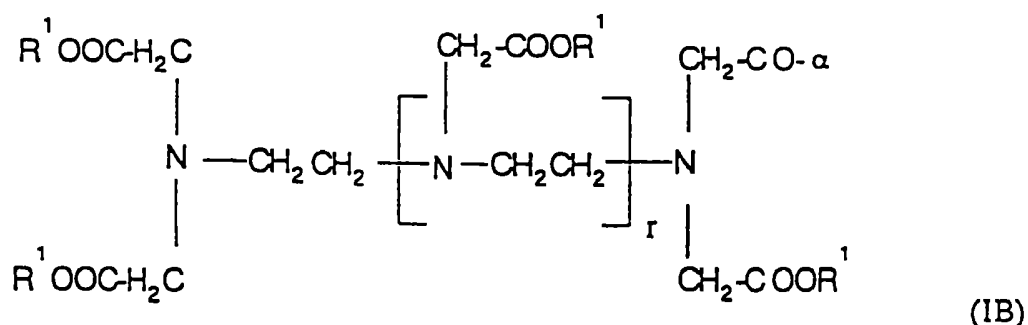
V znamená skupinu



keď súčasne U<sup>4</sup> a U<sup>5</sup> sú identické a znamenajú priamu väzbu alebo skupinu M a

že komplexotvorný zvyšok K, viazaný na terminálnych dusíkových atómoch poslednej generácie reprodukčných jednotiek W znamená zvyšok všeobecného vzorca IA alebo IB





v ktorých

R<sup>1</sup> znamená nezávisle od seba vodíkový atóm alebo ekvivalent kovového iónu poradového čísla 20 až 29, 39, 42 až 44 alebo 57 až 83,

R<sup>2</sup> znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná 1 až 2 hydroxyskupinami alebo jednou karboxyskupinou,

R<sup>3</sup> znamená skupinu -CH<sub>2</sub>-CH(OH)-U<sup>6</sup>-T alebo -CH<sub>2</sub>-CO-U<sup>7</sup>,

pričom

U<sup>6</sup> znamená priamu, rozvetvenú, nasýtenú alebo nenasýtenú alkylénovú skupinu s 1 až 20 uhlíkovými atómami, obsahujúcu 1 až 5 iminoskupín, 1 až 3 fenylénové skupiny, 1 až 3 fenylénoxyskupiny, 1 až 3 fenyléniminoskupiny, 1 až 5 amidoskupín, 1 až 2 hydrazidové skupiny, 1 až 5 karbonylových skupín, 1 až 5 etylénoxyskupín, jednu močovinovú skupinu, jednu tiomočovinovú skupinu, 1 až 2 karboxyalkyliminoskupiny, 1 až 2 esterové skupiny, 1 až 10 kyslíkových atómov, 1 až 5 atómov síry a 1 až 5 dusíkových atómov a/alebo prípadne substituovanú 1 až 5 hydroxyskupinami, 1 až 2 merkaptoskupinami, 1 až 5 oxoskupinami, 1 až 5 tioxoskupinami, 1 až 3 karboxyskupinami, 1 až 5 karboxyalkylovými skupinami, 1 až 5 esterovými skupinami a/alebo 1 až 3 aminoskupinami, pričom prípadne obsiahnuté fenylénové skupiny môžu byť substituované 1

až 2 karboxy skupinami, 1 až 2 sulfónovými skupinami alebo 1 a 2 hydroxyskupinami,

U<sup>7</sup> znamená priamu väzbu alebo zvyšok -NR<sup>2</sup>-U<sup>6</sup>-T a

T znamená skupinu -CO-a, -NHCO-a alebo NHCS-a,

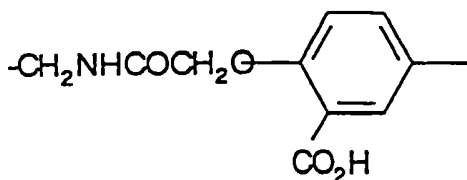
α znamená väzobné miesto na terminálnom dusíkovom atóme poslednej generácie, reprodukčné jednotky W a

r znamená číslo 0, 1, 2 alebo 3.

2. Komplexy kaskádových polymérov podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že alkylénový reťazec s 1 až 20 uhlíkovými atómami vo význame U<sup>6</sup> obsahuje skupiny -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>NHCO-, -NHCOCH<sub>2</sub>O-, -NHCOCH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -N(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)-, -NHCOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -NHCSNHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-, a/alebo je substituovaný skupinami -COOH alebo -CH<sub>2</sub>COOH.

3. Komplexy kaskádových polymérov podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že U<sup>6</sup> znamená skupiny

-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-, -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>NHCOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-,



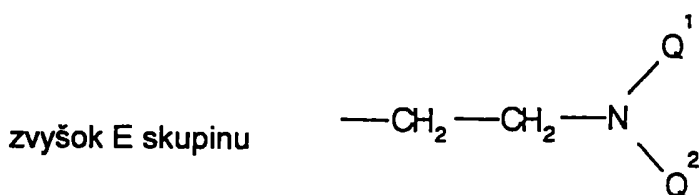
-CH<sub>2</sub>NHCSNH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH(CH<sub>2</sub>COOH)CH<sub>2</sub>-,  
 -CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-N(CH<sub>2</sub>COOH)CH<sub>2</sub>-,



4. Komplexy kaskádových polymérov podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že zvyšok U<sup>3</sup>, obsiahnutý v kaskádových reprodukčných jednotkách X, Y, Z a W znamená skupiny -CO-, -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CONHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-,

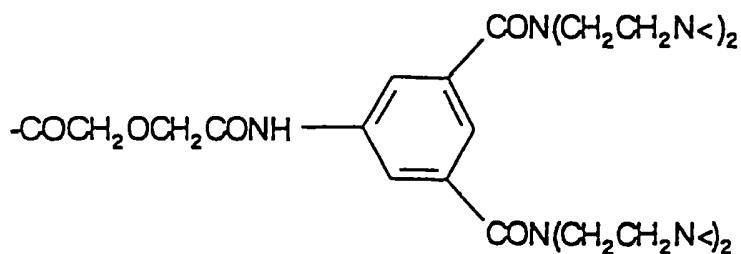
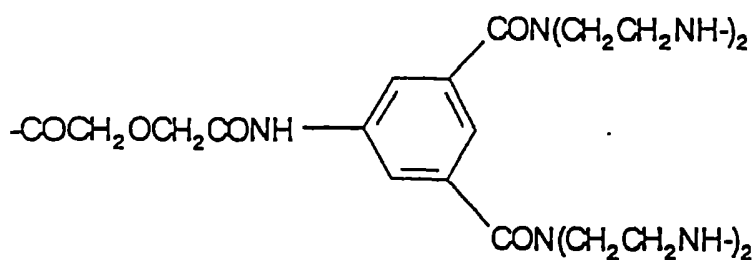
zvyšok U<sup>4</sup> priamu väzbu alebo skupinu -CH<sub>2</sub>CO-,

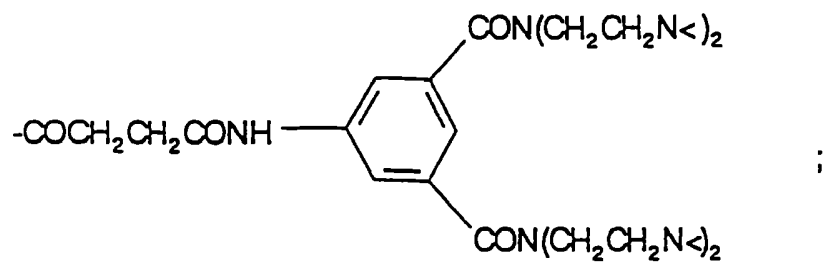
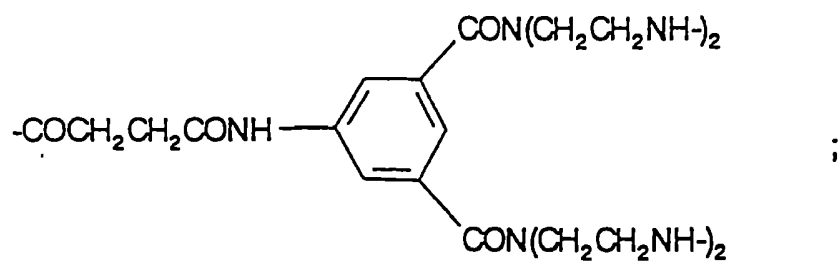
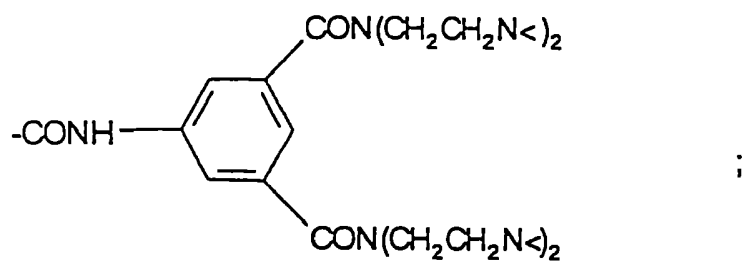
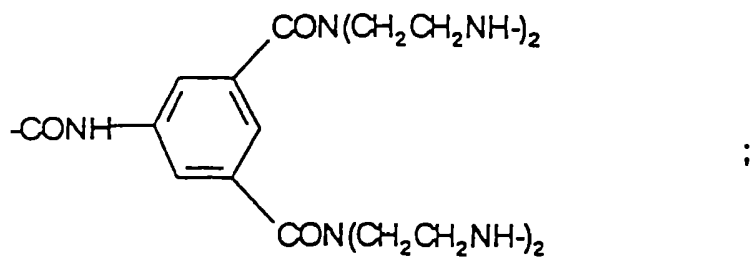
zvyšok U<sup>5</sup> priamu väzbu alebo skupiny -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, -CH<sub>2</sub>CO-, -CH(COOH)-, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- alebo CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- a

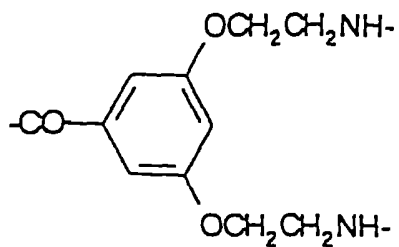


5. Komplexy kaskádových polymérov podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým**, že kaskádové reprodukčné jednotky X, Y, Z a W znamenajú nezávisle od seba:

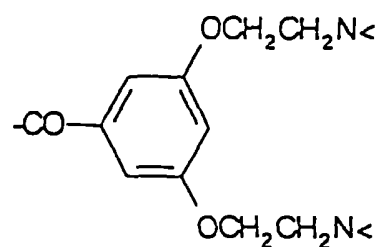
- CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH- ; -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N< ;
- COCH(NH-) (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH- ; -COCH(N<) (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N< ;
- COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub> ; -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub> ; -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>NH- ; -COCH<sub>2</sub>N< ;
- COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub> ; -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH[CH<sub>2</sub>CON(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<) <sub>2</sub>] <sub>2</sub> ;
- COCH(NH-)CH(COOH)NH- ; -COCH(N<)CH(COOH)N< ;



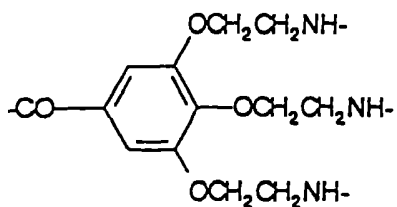




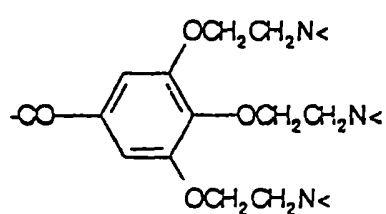
;



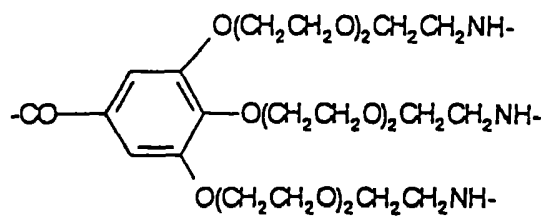
;



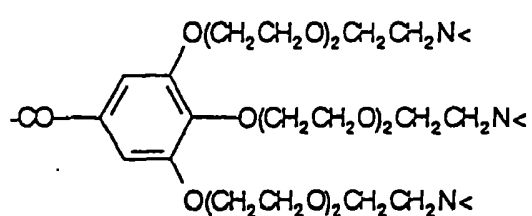
;



;



;



;

6. Komplexy kaskádových polymérov podľa nároku 1, **vyznačujúce sa tým, že**

m znamená čísla 1 až 3,

n znamená čísla 1 až 3,

p znamená čísla 0 až 3,

o znamená číslo 1,

M znamená skupinu  $-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CO}-$  alebo  $-\text{CH}_2\text{CO}-$  a

$\text{R}^{\circ}$  znamená skupinu  $-\text{CH}_2\text{NU}^1\text{U}^2$ ,  $-\text{CH}_3$  alebo  $-\text{NO}_2$ .

7. Farmaceutický prostriedok, obsahujúci aspoň jeden komplex kaskádového polyméru podľa nároku 1, prípadne s prísadami, bežnými v galenike.

8. Použitie aspoň jedného polymérneho komplexu podľa nároku 1 na výrobu prostriedkov pre NMR - diagnostiku a röntgenovú diagnostiku.

9. Spôsob výroby komplexov kaskádových polymérov podľa nárokov 1 až 6, **vyznačujúci sa tým, že sa nechajú reagovať zlučieniny všeobecného vzorca I'**



v ktorom

A znamená dusík obsahujúci kaskádové jadro bazálnej multiplicity, a

X a Y znamenajú nezávisle od seba priamu väzbu alebo kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity x, prípadne y,

Z a W znamenajú nezávisle od seba kaskádovú reprodukčnú jednotku reprodukčnej multiplicity z, prípadne w,



pričom

R<sup>1'</sup> znamená nezávisle od seba vodíkový atóm, ekvivalent iónu kovu poradového čísla 20 až 29, 39, 42 až 44 alebo 57 až 83, alebo ochrannú skupinu kyseliny,

R<sup>2</sup> znamená vodíkový atóm, metylovú skupinu alebo etylovú skupinu, ktorá je prípadne substituovaná jednou alebo dvoma hydroxyskupinami alebo jednou karboxyskupinou,

R<sup>3'</sup> znamená skupinu -CH<sub>2</sub>-CH(OH)-U<sup>6</sup>-T' alebo -CH<sub>2</sub>-CO-U<sup>7'</sup>,

pričom

U<sup>6</sup> znamená priamu alebo rozvetvenú, nasýtenú alebo nenasýtenú alkylénovú skupinu s 1 až 20 uhlíkovými atómami, prípadne obsahujúcu 1 až 5 iminoskupín, 1 až 3 fenylnové skupiny, 1 až 3 fenoxyskupiny, 1 až 3 fenylniminoskupiny, 1 až 5 amidoskupín, 1 až 2 hydrazidové skupiny, 1 až 5 karbonylových skupín, 1 až 5 etylénoxyskupín, 1 močovinovú skupinu, 1 tiomočovinovú skupinu, 1 až 2 karboxyalkyliminoskupiny, 1 až 2 esterové skupiny, 1 až 10 kyslíkových atómov, 1 až 5 atómov síry a/alebo 1 až 5 dusíkových atómov a/alebo prípadne substituovanú 1 až 5 hydroxyskupinami, 1 až 2 merkaptoskupinami, 1 až 5 oxoskupinami, 1 až 5 tioxoskupinami, 1 až 3 karboxyskupinami, 1 až 5 karboxyalkylovými skupinami, 1 až 5 esterovými skupinami a/alebo 1 až 3 aminoskupinami, pričom prípadne prítomné fenylnové skupiny môžu byť substituované 1 až 2 karboxyskupinami, 1 až 2 sulfónovými skupinami alebo 1 a 2 hydroxyskupinami,

U<sup>7'</sup> znamená priamu väzbu alebo zvyšok -NR<sup>2</sup>-U<sup>6</sup>-T' a

T' znamená skupinu -C<sup>\*</sup>O-, -COOH, -N=C=O alebo -N=C=S,

C<sup>\*</sup>O znamená aktivovanú karboxylovú skupinu a

r znamená číslo 0, 1, 2 alebo 3.

s tým obmedzením, že pokiaľ K' znamená komplex, aspoň dva (u dvojmocných kovov), prípadne tri (u trojmocných kovov) zo substituentov R<sup>1</sup> znamenajú ekvivalent kovového iónu vyššie uvedených prvkov a že sa tu vyskytujú podľa potreby ďalšie karboxylové skupiny vo forme svojich solí s anorganickými a/alebo organickými bázami, aminokyselinami alebo amidmi aminokyselín,

prípadne prítomné ochranné skupiny sa odštiepia, takto získané kaskádové polyméry - pokiaľ K' znamená komplexotvornú látku, sa známym spôsobom nechajú reagovať s aspoň jedným oxidom kovu alebo soľou kovu prvku poradového čísla 20 až 29, 39, 42, 44 alebo 57 až 83, a prípadne sa potom v takto získaných komplexoch kaskádových polymérov ešte prítomné kyslé vodíkové atómy celkom alebo čiastočne substituujú kationmi anorganických a/alebo organických báz, aminokyselín alebo amidov aminokyselín a prípadne sa ešte prítomné terminálne aminoskupiny podľa potreby - pred alebo po komplexácii kovom - acylujú.

10. Spôsob výroby farmaceutických prostriedkov podľa nároku 7 **vyznačujúci sa tým**, že sa komplex kaskádového polyméru, rozpustený alebo suspendovaný vo vode alebo fyziologickom soľnom roztoku, prevedie s prípadne v galenike bežnými prísadami na formu, vhodnú pre enterálnu alebo parenterálnu aplikáciu.