

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5879268号
(P5879268)

(45) 発行日 平成28年3月8日 (2016.3.8)

(24) 登録日 平成28年2月5日 (2016.2.5)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 471/06 (2006.01)
A 6 1 B 5/055 (2006.01)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)
C O 7 D 519/00 (2006.01)

C O 7 D 471/06 C S P
A 6 1 B 5/05 3 8 3
A 6 1 K 49/00 C
C O 7 D 519/00 3 1 1

請求項の数 14 (全 23 頁)

(21) 出願番号 特願2012-543778 (P2012-543778)
(86) (22) 出願日 平成22年12月17日 (2010.12.17)
(65) 公表番号 特表2013-514329 (P2013-514329A)
(43) 公表日 平成25年4月25日 (2013.4.25)
(86) 国際出願番号 PCT/EP2010/070029
(87) 国際公開番号 W02011/073371
(87) 国際公開日 平成23年6月23日 (2011.6.23)
審査請求日 平成25年12月13日 (2013.12.13)
(31) 優先権主張番号 20093555
(32) 優先日 平成21年12月18日 (2009.12.18)
(33) 優先権主張国 ノルウェー (NO)

(73) 特許権者 396019387
ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セル
スカブ
ノルウェー国, エン-0485 オスロ,
ニコペイエ 2
(74) 代理人 100137545
弁理士 荒川 聡志
(74) 代理人 100105588
弁理士 小倉 博
(74) 代理人 100129779
弁理士 黒川 俊久

最終頁に続く

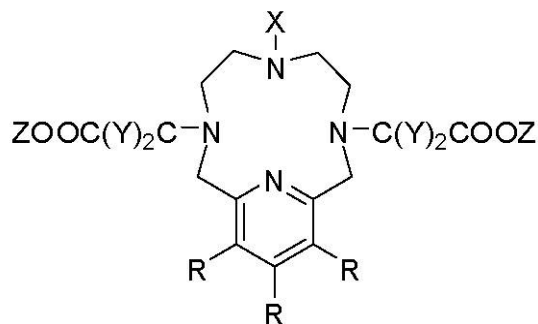
(54) 【発明の名称】 マンガンキレート並びに磁気共鳴イメージング (MR I) における造影剤としての使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の式 (I) の化合物。

【化 1】



(I)

式中、

X はアルキルであり、

Y はアルキル又は - H であり、

R はアルキル、- P E G、- N (アルキル) 2、- N (P E G) 2、- O (アルキル)、
- O (P E G)、- N M e 2、- N H 2、- O M e、- O H、- H 又はリンカーであり、
Z は M n (I I) 又は - H であるが、

ZがMn(II)のときは2つのC(Y)2COOZ基が1つのMn(II)を共有することを条件とし、

前記リンカーは、当該化合物を、芳香族環、イノシトール又は炭水化物、又はそれらの誘導体、天然又は合成ペプチド、アミノ酸又はその誘導体、ポリアミン及びその誘導体、ペプチド模倣体、ポリペプチド、タンパク質、抗体、天然又は合成ポリマー、デンドリマー、ナノ粒子、及び親油性化合物からなる群から選択される他の化合物と結合させるものである。

【請求項2】

Yがメチル又は-Hである、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

Yが-Hである、請求項2記載の化合物。

【請求項4】

ZがMn(II)である、請求項1記載の化合物。

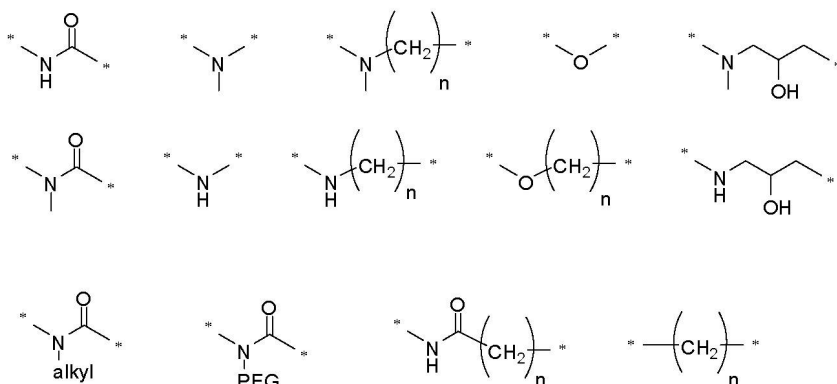
【請求項5】

Rがメチル、-NMe₂、-NH₂、-OMe、-OH又はリンカーである、請求項1記載の化合物。

【請求項6】

リンカー基が、以下の基からなる群から選択される、請求項1乃至請求項5のいずれか1項記載の化合物。

【化2】

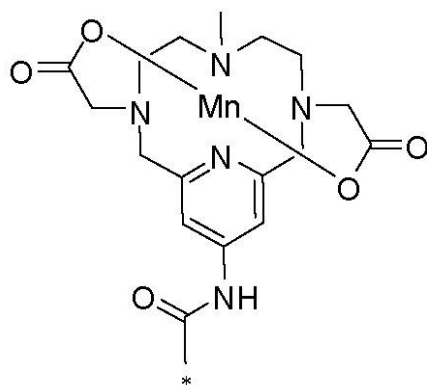


式中、nは1～7の整数である。

【請求項7】

次の式(II)で表される、請求項1乃至請求項6のいずれか1項記載の化合物。

【化3】



{II}

式中、*は前記他の分子との結合部位である。

【請求項8】

リンカーを介して前記他の分子と結合している、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の化合物。

【請求項 9】

リンカーを介して前記他の分子の O、S、P 又は N 原子と結合している、請求項 8 記載の化合物。

【請求項 10】

前記他の分子が、芳香族環、イノシトール又は炭水化物、又はそれらの誘導体である、請求項 8 記載の化合物。

【請求項 11】

前記他の分子が、天然又は合成ペプチド、アミノ酸又はその誘導体、ポリアミン及びその誘導体、ペプチド模倣体、ポリペプチド、タンパク質、抗体、天然又は合成ポリマー、デンドリマー、ナノ粒子、又は親油性化合物である、請求項 8 記載の化合物。

10

【請求項 12】

前記他の分子がデンドリマーである、請求項 11 記載の化合物。

【請求項 13】

請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の化合物と 1 種以上の生理的に許容される担体とを含む組成物。

【請求項 14】

MR 造影剤として使用される診断薬であって、請求項 1 乃至請求項 11 のいずれか 1 項記載の化合物を含む診断薬。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、マンガン (II) キレート、他の分子と結合したマンガン (II) キレート、並びに磁気共鳴イメージング (MRI) における造影剤としての使用に関する。

【背景技術】

【0002】

MRI は、所定の原子核、特に水素原子核によって身体の領域を可視化する医用イメージング技術である。MRI 信号は、可視化される核の周囲の環境、並びに核の縦緩和時間 T1 及び横緩和時間及び T2 に依存する。例えば、可視化される核がプロトンである場合、MRI 信号強度は、プロトン密度及びプロトンの化学環境のような要因に依存する。造影剤は画像コントラストを向上させるため MRI で多用される。造影剤は T1、T2 及び / 又は T2* 緩和時間に影響することによって作用し、画像のコントラストに影響を与える。

30

【0003】

キレート化常磁性造影剤では、T1、T2 及び / 又は T2* 緩和時間は構造的修飾によって最適化することができる。特に重要なのは、常磁性イオンに結合した水分子の存在及び滞留時間、並びに造影剤の回転相関時間である。常磁性イオンに結合した水分子の存在及び滞留時間は、常磁性イオン及びキレート基の選択によって調節できる。回転相関時間は、造影剤のサイズの変更によって調節することができる。

40

【0004】

常磁性イオンは生物学的経路を妨害し、毒性を誘発するおそれがあるので、常磁性イオンをキレート分子内に保つ必要がある。常磁性錯体の安定性は、キランド部分の構造設計によって調節することができる。特に興味深いのは、解離半減期として測定される速度論的安定性であり、これは化学的環境の変化 (すなわち、内在性イオン) に対する不活性の程度を示す。

【0005】

数種類の造影剤が MRI に使用されている。血液プール MR 造影剤 (例えば、超常磁性酸化鉄粒子) は、血管系内に長時間保持される。これらは、肝臓でのコントラスト強調に

50

極めて有用であるだけでなく、毛細血管透過性異常（例えば、腫瘍血管新生に起因する腫瘍中の「漏出性」毛細血管壁）の検出にも極めて有用であることが判明している。

【0006】

水溶性常磁性キレートつまりキレーターと常磁性金属イオンとの錯体（例えば、OmniScan（商標）（GE Healthcare社）のようなガドリニウムキレート）は、広く使用されているMR造影剤である。これらは低分子量であるので、血管系に投与すると、細胞外空間（すなわち、血液及び間質）に迅速に分布する。また、身体からのクリアランスが比較的速い。

【0007】

常磁性キレートをMRI用造影剤として使用する場合、比較的大用量で患者に投与されるので、水中におけるその溶解度も重要な因子である。常磁性キレートの水溶性が高いと、注人体積を減らすことができ、患者への投与が容易となって、不快感も減る。

10

【0008】

常磁性キレートに関する先行技術文献は、常磁性イオン全般について述べたものが多いが、通常はガドリニウムに関するもので、ガドリニウムに対して設計されたものである。キレートの構造設計は常磁性イオンの各々に特異的であるので、ガドリニウム用に設計されたキレートは、マンガン（II）や鉄（III）のような他の常磁性イオンに対して、緩和度や安定性の点で最適とはならないであろう。ガドリニウム（III）は、MRIキレートに最も広範に使用されている常磁性金属イオンである。

【0009】

20

国際公開第2006/080022号（Degani他）には、悪性腫瘍に関連する受容体リガンド部分と金属結合部分とを含む二官能性コンジュゲート、並びにそれらと常磁性ランタニド又は遷移金属との錯体が開示されている。

【0010】

米国特許第5334371号（Gries他）には、マンガン（II）イオンを含有する大環状ポリアザピシクロ化合物が開示されている。開示されたマンガン（II）化合物は、安定性及び信号生成能力の点で本発明の化合物よりも劣っており、造影剤としての適性に劣る。

【0011】

マンガン（II）イオンは、高いスピン数及び長い電子緩和時間を有する常磁性種であり、文献では、マンガン（II）系高緩和性造影剤の潜在能力について報告されている。しかし、マンガンキレートの安定性の低さが問題であることが判明しており、造影剤での実用性が限られていた。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】国際公開第2006/080022号

【特許文献2】米国特許第5334371号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

40

【0013】

本発明の目的は、速度論的に安定であり、最適な水の交換速度を示し、MR造影剤として使用できるマンガン（II）系キレートを提供することである。

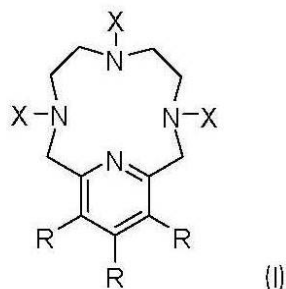
【発明を実施するための形態】

【0014】

そこで、本発明の第1の態様では、次の式（I）の化合物を提供する。

【0015】

【化 1】



10

式中、

Xはアルキル、 $C(Y)_2COOZ$ 又はリンカーであり、

Yはアルキル、 $-PEG$ 、 $-COOH$ 、 $-PO(OH)_2$ 、 $-H$ 又はリンカーであり、

Rはアルキル、 $-PEG$ 、 $-N(アルキル)_2$ 、 $-N(PEG)_2$ 、 $-O(アルキル)$ 、 $-O(PEG)$ 、 $-NMe_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-OMe$ 、 $-OH$ 、 $-H$ 又はリンカーであり、

Zは $Mn(II)$ 又は $-H$ であるが、

存在する3つのX基のうちの2つが $C(Y)_2COOZ$ であること、及び

Zが $Mn(II)$ のときは2つのZ含有X基が1つの $Mn(II)$ を共有することを条件とする。

【0016】

20

$C(Y)_2COOZ$ でないX基は、アルキル基又はリンカーである。

【0017】

「アルキル」という用語は、それ自体で又は他の基の一部として、炭化水素、好ましくは低級アルキル（例えば $C_1 \sim C_6$ アルキル）、さらに好ましくは $-CH_3$ をいう。

【0018】

PEGという用語は、任意の分子量のポリエチレングリコール、好ましくは $1 \sim 5 kD$ のPEG単位を意味する。

【0019】

Yは好ましくはメチル、 $-COOH$ 、 $-PO(OH)_2$ 、 $-H$ 又はリンカーである。最も好ましくは、Yは $-H$ 又はリンカーである。

30

【0020】

Rは好ましくはメチル、 $-NMe_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-OMe$ 、 $-OH$ 又はリンカーである。最も好ましくは、Rはリンカーである。

【0021】

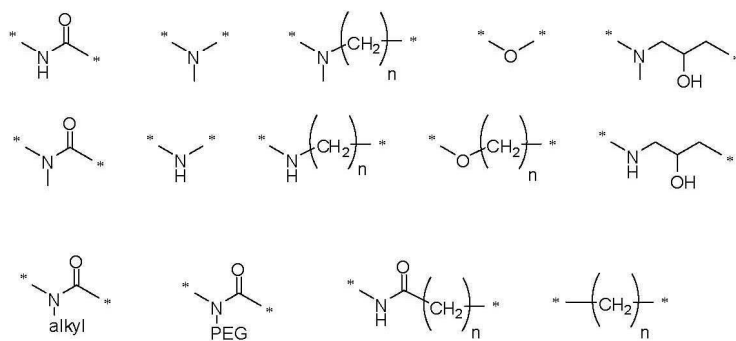
リンカーが存在する場合には、式(I)の化合物を他の分子と結合させる。他の分子の選択は、造影剤の生体内分布及び信号特性に影響するであろう。

【0022】

好ましくは、リンカー基は、以下の基からなる群から選択することができる。

【0023】

【化 2】



10

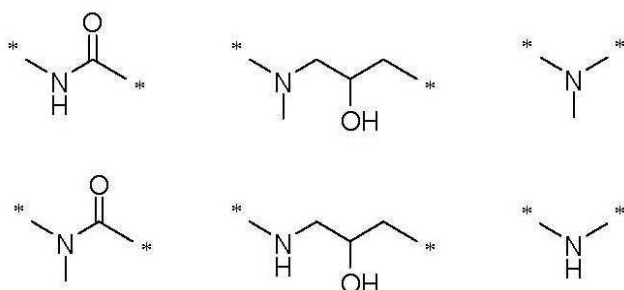
式中、 n は1～7の整数であり、記号 $*$ は、式(I)の化合物及び上述の他の分子とリンカーとの結合位置を表す。

【0024】

好ましくは、リンカーは、以下の基からなる群から選択される。

【0025】

【化 3】

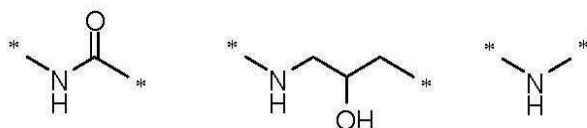


20

最も好ましくは、リンカーは以下の基である。

【0026】

【化 4】

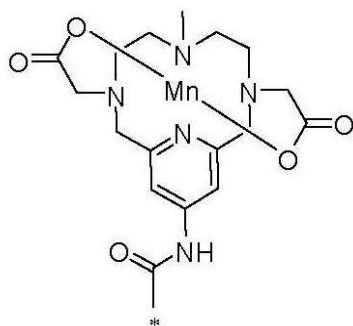


30

したがって、式(I)の化合物の好ましい実施形態は、次式の化合物である。

【0027】

【化 5】



(III)

40

50

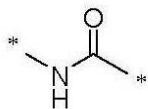
式中、記号^{*}は他の分子との結合位置を示す。

【 0 0 2 8 】

この実施形態では、1つのXがC H 3で、1つのXがC (Y) 2 C O O Zで、1つのXがC (Y) 2 C O O - であり、ZはM n (I I) であり、Yは - H であり、リンカーは次式の基である。

【 0 0 2 9 】

【 化 6 】



10

本発明の化合物は、MR造影剤として使用することができ、上述の通り、他の分子、例えば、天然又は合成ペプチド、アミノ酸又はその誘導体、ポリアミン又はその誘導体、ペプチド模倣体、ポリペプチド、タンパク質又は抗体などに結合していてもよいし、結合していなくてもよい。本発明の化合物をこうした分子に連結することによって、例えば、ペプチド又はタンパク質が、受容体又は細胞表面マーカーのような標的に結合するベクターであると、ターゲティングMR造影剤を得ることができる。さらに、本発明の化合物は、ポリマー部分、例えば、天然又は合成ポリマー、又はデンドリマーなどに結合させてもよい。かかる連結によって、本発明の化合物の分子移動度がさらに低減し、最新のMRIスキャナーで使用される高磁界強度での緩和度が増大する。別の実施形態では、本発明の化合物は、親油性化合物に結合させてもよく、得られる両親媒性化合物を分散させることができる。かかる分散物は、腫瘍イメージング用のMR造影剤として使用できる。さらに別の実施形態では、本発明の化合物は、ナノ粒子に結合させてもよい。かかる連結によって、本発明の化合物の分子移動度がさらに低減し、その緩和度が増大する。

20

【 0 0 3 0 】

したがって、本発明の第2の態様では、上述の式(I)の化合物がX基、Y基又はR基を介して他の分子と結合したものを提供する。これに関して、「他の分子」という用語は原子を含む。好ましい実施形態では、他の分子はO、S、P、又はN、最も好ましくはNである。別の好ましい実施形態では、他の分子は芳香族環、イノシトール又は炭水化物或いはそれらの誘導体である。別の好ましい実施形態では、他の分子は、天然又は合成ペプチド、アミノ酸又はその誘導体、ポリアミン又はその誘導体、ペプチド模倣体、ポリペプチド、タンパク質、抗体、天然又は合成ポリマー、デンドリマー、ナノ粒子又は親油性化合物である。式(I)の化合物を他の分子と結合させることによって、生体内分布が変化し、造影剤は、式(I)の化合物に結合した分子に親和性を有する細胞に内在化又は結合させることができる。

30

【 0 0 3 1 】

当業者には自明であろうが、X基、Y基、又はR基のリンカー基は、当技術分野で公知の方法で他の分子と結合させることができる。

【 0 0 3 2 】

好ましい実施形態では、本発明の化合物は、デンドリマーに結合している。デンドリマーは、繰返し枝分れした分子であり、多数の式(I)の化合物を結合するための足場として役立つ。その最も単純な形態では、デンドリマーは、コアの足場のみからなるが、多数の式(I)の化合物を結合させることができる。デンドリマー構築体は、モノマーキレートと比較して、変化した生体内分布及び増強された信号を有する。

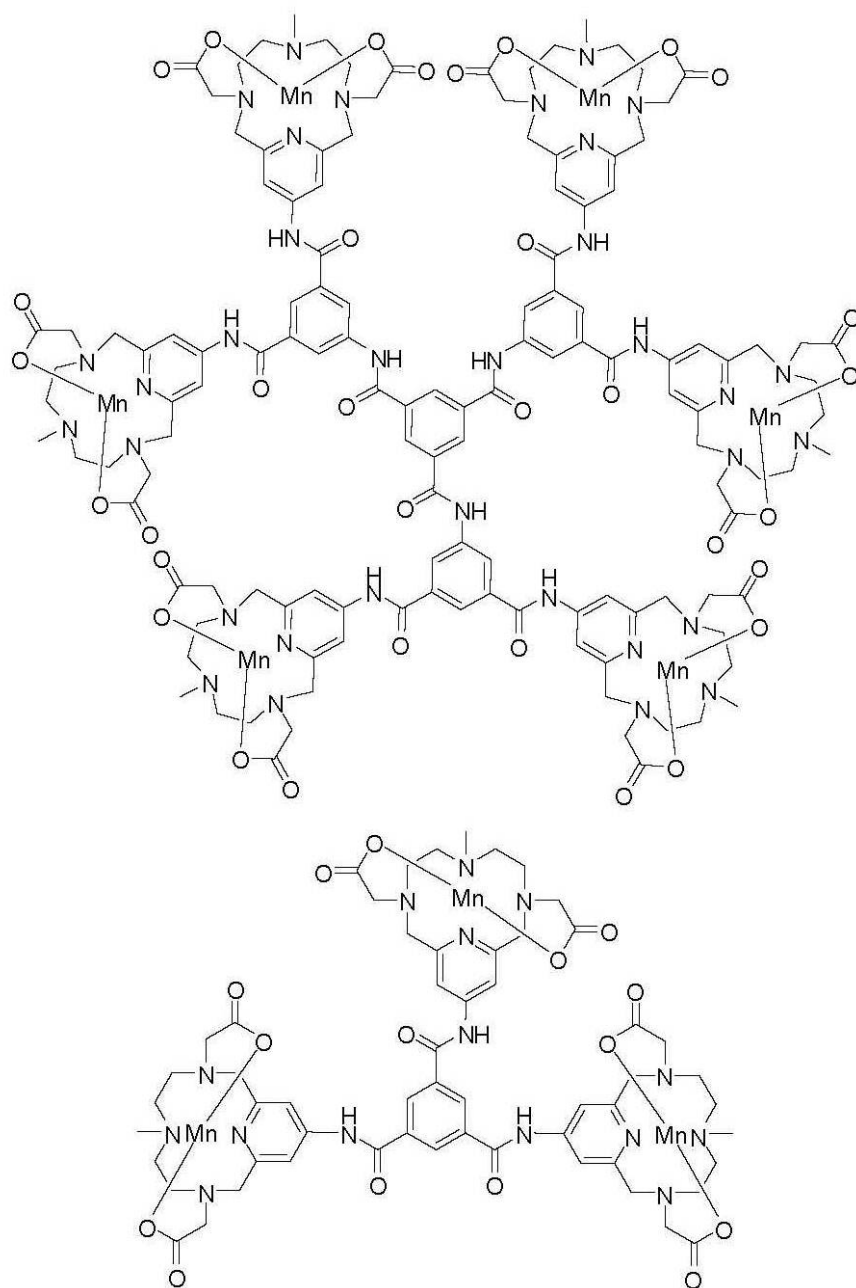
40

【 0 0 3 3 】

式(I)の化合物が組み込まれた適当なデンドリマー化合物は、以下のものである。

【 0 0 3 4 】

【化 7】



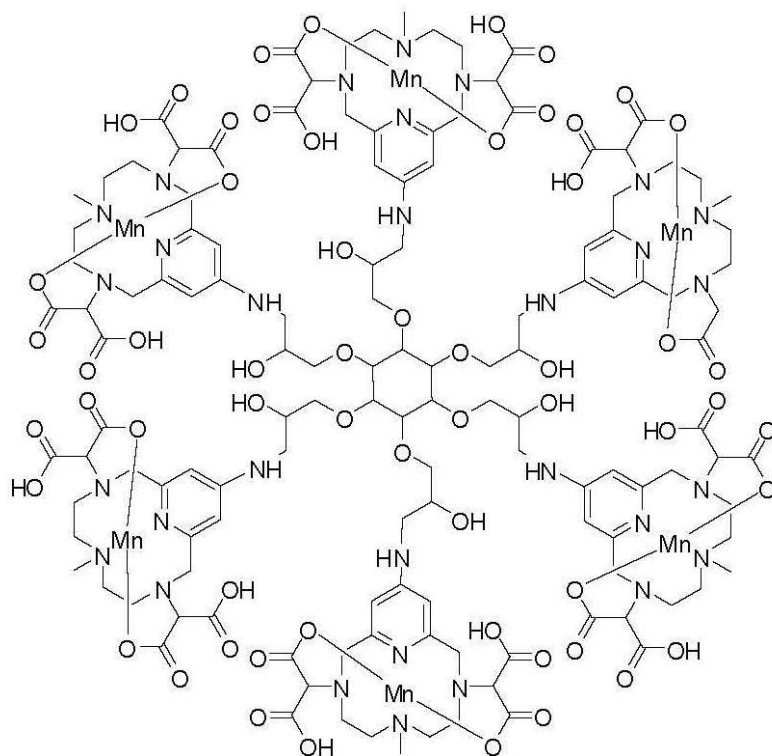
10

20

30

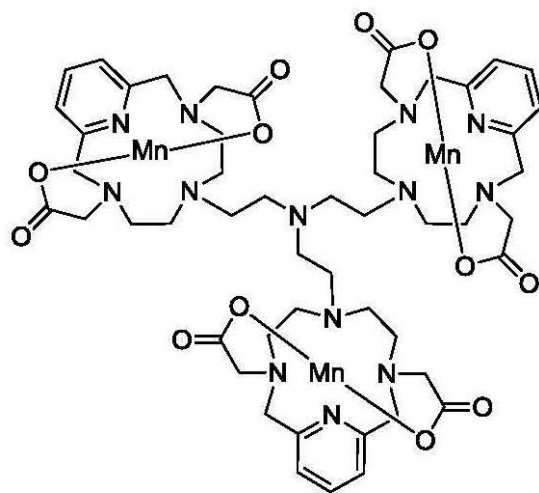
【 0 0 3 5 】

【化 8】



10

20



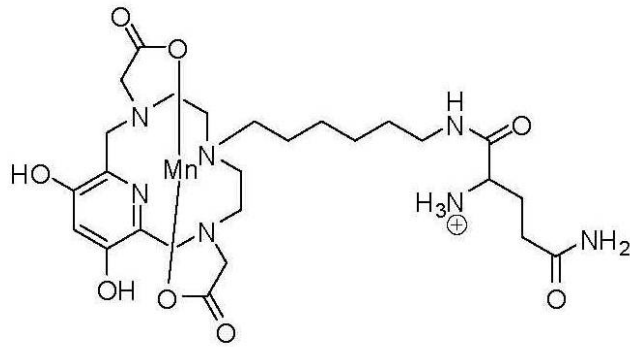
30

式（I）の化合物が組み込まれた適当な天然又は合成ペプチドの誘導体、そのアミノ酸誘導体、ポリアミン及びその誘導体、ペプチド模倣体、又はポリペプチドは、以下のものである。

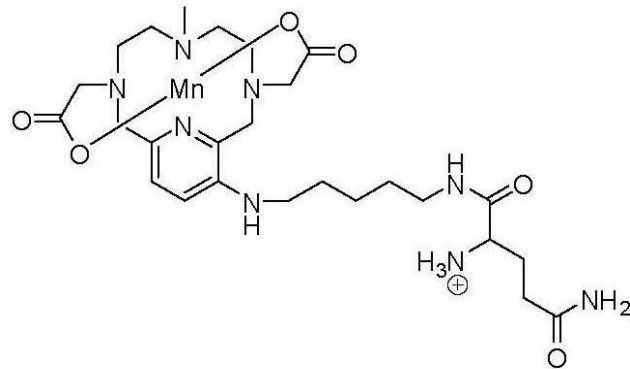
40

【 0 0 3 6 】

【化 9】



10



20

他の分子が悪性腫瘍に関連した受容体リガンド部分である場合、Rは、C 2 ~ C 10 ヒドロキシカルビレン鎖を含むリンカーとはなり得ない。

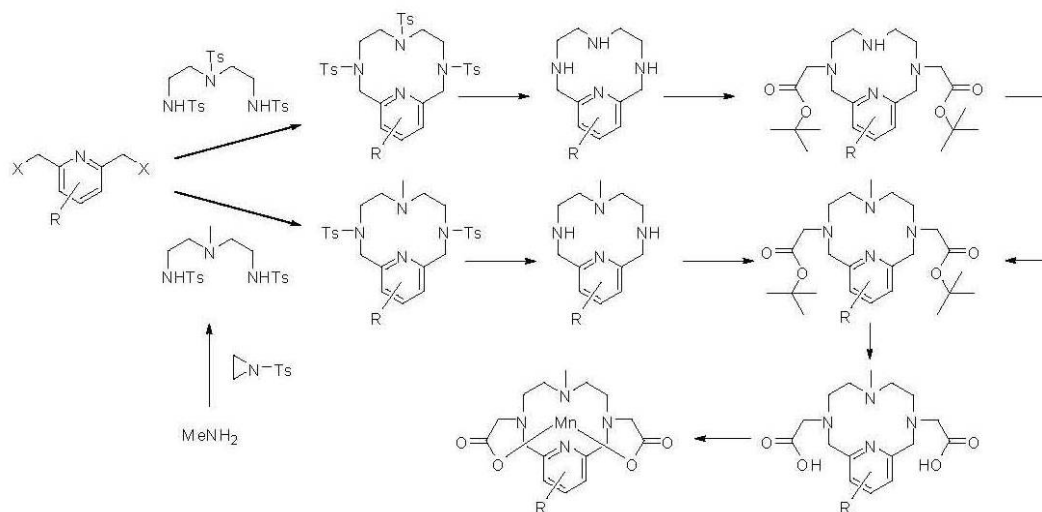
【 0 0 3 7】

式 (I) の化合物は、以下の全般的な手順によって、市販の出発原料から、当技術分野で公知の幾つかの合成経路によって合成することができる。

【 0 0 3 8】

【化 1 0】

30



40

メチル位置に脱離基 (X) を有する 2, 6 - ビス - メチル - ピリジン化合物は、市販の材料から当技術分野で周知の方法で得ることができる。適当な脱離基の例は、クロロ基、プロモ基、トシル - ノシル基及びメシル基である。ピリジン環は基 (R) で置換することができ、キレートをも他の分子とカップリングさせるときの結合位置として使用できる。適当な R 基の例は - NH₂ である。R 基は、後段のカップリング反応で利用する基の不活性前駆体であってもよく、例えば - NO₂ 基は - NH₂ 基の前駆体である。ピリジン窒素に

50

電子を非局在化させることによって、その後のマンガン錯体の安定性を増大させるという唯一の機能を有する R 基も想定できる。かかる R 基の例は、 $-CH_3$ 及び $-OCH_3$ である。次いで、上述の適当な脱離基を有する 2, 6 - ビス - メチル - ピリジン化合物を、当技術分野で周知の方法によって適当なビス - アミノ求核体との反応で環化させてテトラアザマクロサイクルを形成させる。求核性窒素に、当技術分野で公知の環化反応に適したトシレート基を設けてもよい。続くトシレート基の除去は、当技術分野で公知の方法で実施できる。3つの脂肪族窒素の2つに2つのカルボキシメチル基を導入することは、慎重な位置選択的アルキル化、好ましくは、当技術分野で周知の方法による厳密な pH 制御下で実施することができる。残りの2級窒素は、後段で、炭素求電子体によってアルキル化することができる。かかる炭素求電子体の例は、 CH_3I 及び $CF_3SO_2OCH_3$ である。アルキル基は、環化反応前に、アルキル化ビス - トシルアミド誘導体と求電子性ピリジン化合物との反応によって導入することもできる。アルキル基の早期導入は、後段の反応ステップでカルボキシメチル基を位置選択的に導入する必要性をなくす。カルボキシメチル基は、エステル形態で保護することができる。これは、当技術分野で周知の方法を使用した R 基の反応によってキランドを他の分子とカップリングする場合に特に有用であるが、それは、カップリング反応に有用な溶媒中での溶解度が遊離カルボン酸誘導体に対して劇的に低減するからである。かかるエステル基の例は、*t* - ブチル、エチル、及びメチルエステルである。エステル基の除去は当技術分野で周知である。錯化は、水溶液中で、当技術分野で周知の方法を用いて適当なマンガン (II) イオン源を用いた反応によって実施することができる。

【0039】

X 基、Y 基又は R 基を介して他の分子と結合した本発明の化合物は、当技術分野で公知の方法で調製することができる。例えば、他の分子がペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質である場合、式 (I) の化合物は、他の分子の適当な官能基 (例えばカルボキシ基) に容易に結合させることができる。他の分子の官能基の活性化 (例えば、カルボキシ基からの塩化アシルの生成) が必要とされることがある。官能基の反応性を高めるための官能基の活性化法は当技術分野で公知である (例えば、Sandler and Karo, eds. Organic Functional Group preparation, Academic Press, San Diego 1998を参照)。

【0040】

式 (I) の化合物及び他の分子 (好ましくは、天然又は合成ペプチド、アミノ酸及びその誘導体、ポリアミン及びその誘導体、ペプチド模倣体、ポリペプチド、タンパク質、抗体、天然又は合成ポリマー、デンドリマー、親油性化合物又はナノ粒子) と結合した式 (I) の化合物は、MR 造影剤として使用できる。そこで、本発明の第3の態様では、MR 造影剤として使用するための化合物を提供する。

【0041】

この目的のために、式 (I) の化合物又は他の分子と結合した式 (I) の化合物を、水性担体のような従来の生理的に許容される担体 (例えば、水及び緩衝液) 及び、適宜、賦形剤と共に配合することができる。得られる組成物を「MR 造影製剤」という。

【0042】

本発明の第4の態様では、式 (I) の化合物又は他の分子と結合した式 (I) の化合物と1種以上の生理的に許容される担体とを含む組成物を提供する。本組成物は、MRI で MR 造影製剤として使用できる。

【0043】

ヒト及びヒト以外の動物の身体の MRI で MR 造影製剤と使用するため、MR 造影製剤は身体への投与に適している必要がある。好適には、式 (I) の化合物又は他の分子と結合した式 (I) の化合物と、適宜薬学的に許容される賦形剤及び添加剤とを、1種以上の生理的に許容される担体 (例えば、水又は緩衝液) に懸濁又は溶解させればよい。適当な添加剤には、例えば、トロメタミン塩酸塩のような生理的に適合性の緩衝液、DTPA、DTPA - BMA、又は式 (I) の化合物などのキレーター、カルシウムキレートなどの生理的に許容されるイオンの弱い錯体、例えば、カルシウム DTPA、CaNaDTPA

- BMA、Xが式(I)の化合物のCa²⁺塩又はCa/Na塩と錯体を形成する式(I)の化合物、塩化カルシウム、アスコルビン酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、又は乳酸カルシウムのようなカルシウム塩又はナトリウム塩が含まれる。賦形剤及び添加剤については、例えば、国際公開第90/03804号、欧州特許出願公開第463644号、欧州特許出願公開第258616号及び米国特許第5876695号に記載されており、それらの開示内容は援用によって本明細書の内容の一部をなす。

【0044】

本発明の第5の態様は、MRイメージングの方法であって、式(I)の化合物又は他の分子と結合した式(I)の化合物と、1種以上の生理的に許容される担体とを含む組成物を被験体に投与し、被検体をMR検査に付して、被験体又は該組成物が分布した被験体の一部からMR信号を検出し、適宜、検出信号からMR画像及び/又はMRスペクトルを生成する方法である。好ましい実施形態では、被験体は、ヒト又はヒト以外の動物の生体である。

10

【0045】

好ましい実施形態では、組成物は、イメージングに有効な量、すなわち、MRイメージング法でコントラストの強調に適した量で投与される。

【0046】

別の好ましい実施形態では、被験体はヒト又はヒト以外の動物であり、MRイメージング法は、MR腫瘍検出の方法又は腫瘍描写イメージングの方法である。

20

【0047】

第6の態様では、本発明は、MRイメージングの方法であって、式(I)の化合物又は他の分子と結合した式(I)の化合物と1種以上の生理的に許容される担体とを含む組成物が既に投与されている被験体をMR検査に付して、被験体又は該組成物が分布した被験体の一部からMR信号を検出し、適宜、検出信号からMR画像及び/又はMRスペクトルを生成する方法を提供する。

【0048】

「既に投与されている」という用語は、本発明のMRイメージング及び/又はMR分光法を開始する前に、組成物を患者に投与するために医療有資格者を必要とするステップが既に実施されていることを意味する。

【0049】

第7の態様では、本発明は、MR造影剤として使用する診断薬を製造するための本発明の化合物の使用に関する。

30

【0050】

次に、本発明を、以下の非限定的な実施例によってより詳細に説明する。

【実施例】

【0051】

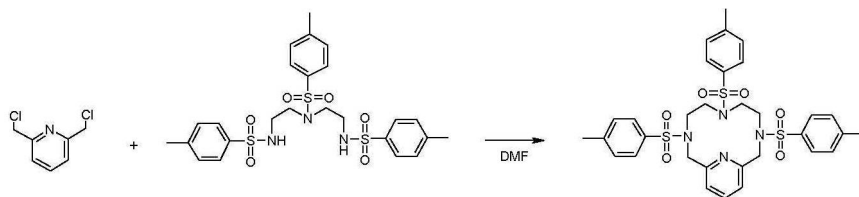
実施例 1

a) 3, 6, 9 - トリス - (トルエン - 4 - スルホニル) - 3, 6, 9, 15 - テトラアザ - ビシクロ[9.3.1]ペンタデカ - 1(14), 11(15), 12 - トリエンの合成

40

【0052】

【化11】



ジメチルホルムアミド(DMF)(92 mL)中のN, N', N'' - トリ - p - トシルジエチレン - トリアミン二ナトリウム塩(6.90 g、11.4 mmol)を、N₂雰囲気

50

気下で100℃に加熱した。DMF(37mL)中の2,6-ビス(クロロメチル)ピリジン(2.01g、11.4mmol)を、45分間滴下した。添加完了後、反応混合物をN₂雰囲気中で40℃で12時間撹拌した。反応混合物に水75mLを添加した。次いで、得られたスラリーを濾過し、固体を水洗し、真空乾燥した。粗生成物を1:1水/アセトニトリル混液に溶解させようと試みた。白色沈殿を濾別し、乾燥して、5.52g(72%)の生成物を得た。

【0053】

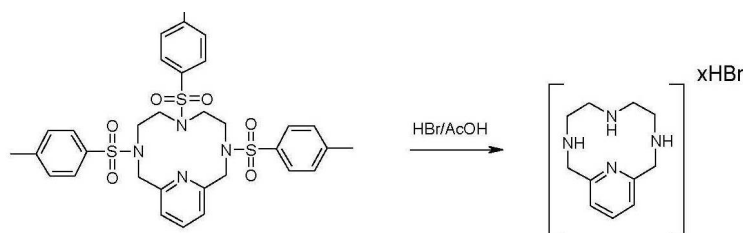
生成物はLC-MSで分析した(実測値m/z: 669.3MH⁺、計算値m/z: 669.2)。

【0054】

b) 3, 6, 9, 15-テトラアザ-ピシクロ[9.3.1]ペンタデカ-1(14), 11(15), 12-トリエンのHBr塩の合成

【0055】

【化12】



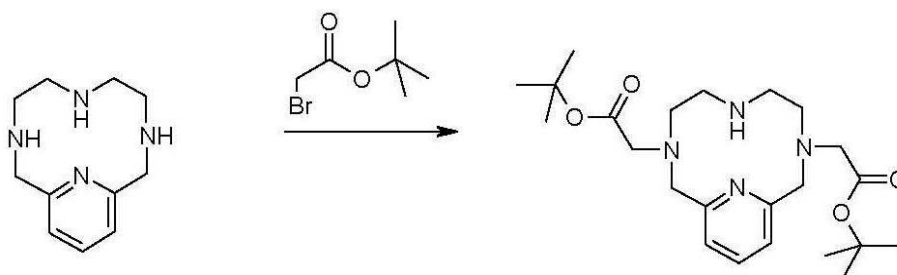
48% HBrと氷酢酸を65:35比で混合することによって、HBr/酢酸溶液を調製した。HBr/AcOH混液111mLに、ステップ1aで得た生成物(5.0g、7.5mmol)を添加し、反応混合物を撹拌し続けながら80時間穏やかに加熱還流した。反応混合物を室温に冷却し、元の体積の約1/10に濃縮した。残った混合物を激しく撹拌しながら50mLのジエチルエーテルを添加した。生じたオフホワイトの固体を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄し、真空乾燥して、粗生成物3.8gを得た。粗生成物はそれ以上精製せずに使用した。粗生成物はLC-MSで分析した(実測値m/z: 207.3MH⁺、計算値m/z: 207.2)。

【0056】

c) 3, 6, 9, 15-テトラアザ-3, 9-ビス-(tert-ブチルカルボニルメチル)-ピシクロ[9.3.1]ペンタデカ-1(14), 11(15), 12-トリエンの合成

【0057】

【化13】



ステップ1bで得た化合物(1.5g、3.3mmol)を1:1ジオキサン/水混液(30mL)に溶解し、NaOH(2M)でpHを3に調整した後、ジオキサン/水混液(35mL)中のtert-ブチルプロモアセレート(0.66mL、4.5mmol)を添加した。添加後にNaOH(2M)でpHを9に調整した。3.5時間後に、さらに

tert - ブチルブロモアセテート (0 . 1 0 m L 、 0 . 6 8 m m o l) を添加し、NaOH (2 M) でpHを9に調整した。14時間後及び17時間後に、tert - ブチルブロモアセテートの添加をさらに2度繰返した (2 × 0 . 1 1 6 m L 、 0 . 7 9 m m o l) 。pHは9に調整した。反応混合物をC18分取カラムにロードし、生成物を分取HPLCを用いて精製した。0.9 g (6 3 %) の純粋な化合物を単離した。

【 0 0 5 8 】

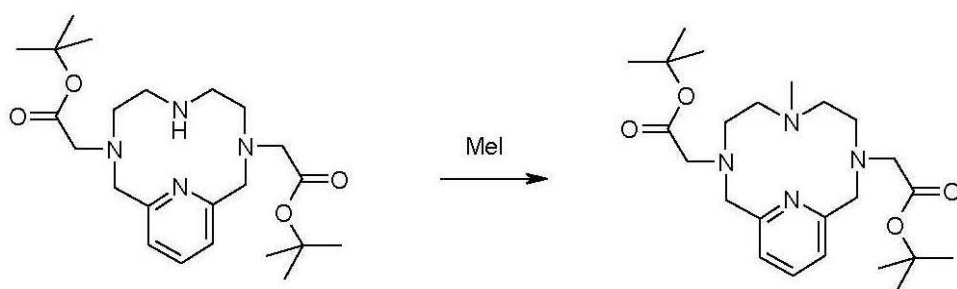
生成物はLC - MSで分析した (実測値 m/z : 435 . 1 M H + 、計算値 m/z : 435 . 3) 。

【 0 0 5 9 】

d) 3 , 6 , 9 , 1 5 - テトラアザ - 3 , 9 - ビス - (tert - ブチルカルボニルメチル) - 6 - メチル - ビシクロ [9 . 3 . 1] ペンタデカ - 1 (1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 - トリエンの合成

【 0 0 6 0 】

【 化 1 4 】



ジメチルホルムアミド (1 0 m L) 中のステップ 1 c で得た化合物 (2 0 0 m g 、 0 . 4 6 0 m m o l) に、トリエチルアミン (6 5 . 3 m g 、 6 4 . 1 μ L 、 0 . 4 6 0 m m o l) 及びヨードメタン (6 5 . 3 m g 、 2 8 . 7 μ L 、 0 . 4 6 0 m m o l) を加えた。1, 1, 3, 3 - テトラメチルグアニジン (5 8 μ L 、 0 . 4 6 m m o l) 及びヨードメタン (2 9 μ L 、 0 . 4 6 m m o l) のアリコートを追加した。LC - MSを用いて反応を追跡し、水を添加した。反応混合物を分取HPLCで精製した。106 mg、0.24 mmol (5 1 %) の純粋な化合物を単離した。

【 0 0 6 1 】

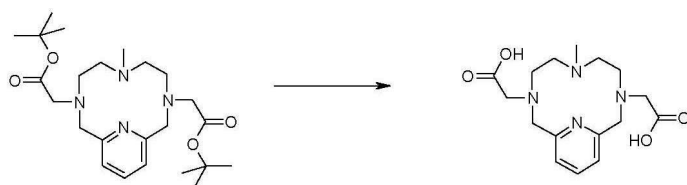
生成物はLC - MSで分析した (実測値 m/z : 449 . 1 M H + 、計算値 m/z : 449 . 3) 。

【 0 0 6 2 】

e) 3 , 6 , 9 , 1 5 - テトラアザ - 3 , 9 - ビス - (カルボキシメチル) - 6 - メチル - ビシクロ [9 . 3 . 1] ペンタデカ - 1 (1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 - トリエンの合成

【 0 0 6 3 】

【 化 1 5 】



ギ酸 (3 0 m L) 中のステップ 1 d で得た化合物 (0 . 1 1 g 、 0 . 2 4 m m o l) を

加熱還流し、室温に冷却した。ギ酸を減圧下で蒸発させた。トルエン（ $2 \times 20 \text{ mL}$ ）を添加し、減圧下で蒸発させた。粗生成物はそれ以上精製せずに次のステップで利用した。

【0064】

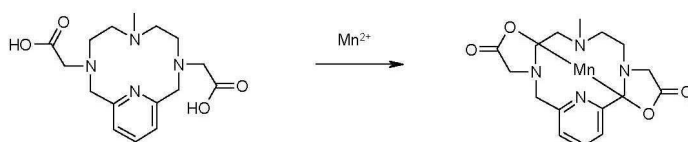
生成物はLC-MSで分析した（実測値 m/z ：337.1MH⁺、計算値 m/z ：336.2）。

【0065】

f) 3, 6, 9, 15-テトラアザ-3, 9-ビス-(カルボキシメチル)-6-メチル-ピシクロ[9.3.1]ペンタデカ-1(14), 11(15), 12-トリエンのマンガン(II)錯体の合成

【0066】

【化16】



ステップ1eで得た化合物（81mg、0.24mmol）を脱気水（15mL）に溶解した後、脱気水中のNaOH 200μL（2.35M）でpHを2.8～6.7に調整した。脱気水中の塩化マンガン(II)（10mL中465mg、0.23M）1.1mLを添加した。pHは3.5に低下した。NaOH（水溶液）のアリコートでpHを5.9に調整した。15分後、NaOH（水溶液）のアリコートでpHを9.3に調整し、混合物を15分間放置した。HCl（脱気水1mL中150μL）のアリコートでpHを7.0に調整した後、溶液を濾過し、C18分取カラムにロードし、生成物を分取HPLCを用いて精製した。0.11mmol、42mg（45%）の純粋な化合物を単離した。

【0067】

生成物はLC-MSで分析した（実測値 m/z ：390.0MH⁺、計算値 m/z ：390.1）。

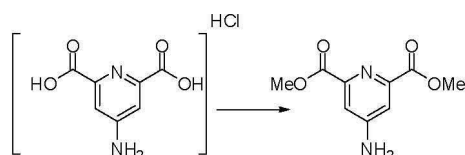
【0068】

実施例2

a) ジメチル4-アミノピリジン-2, 6-ジカルボキシレートの合成

【0069】

【化17】



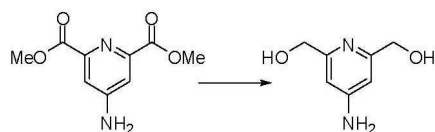
塩化チオニル（2.5mL）を、窒素雰囲気下で氷冷メタノール（20mL）にゆっくりと添加した。次いで、4-アミノピリジン-2, 6-ジカルボン酸（2.5g、11.5mmol）の塩酸塩を回分式に氷冷溶液に添加した。次いで反応混合物を4時間還流し、濃縮して、黄色の無定形固体を得た。固体をHCl水溶液（0.8M、50mL）に溶解し、溶液を濾過し、pH9に塩基性化した。生じた沈殿を濾別して、所望の生成物を得た（1.6g、66%）。生成物はNMRで分析した（（CD₃）₂SO）、7.36（s、2H）、6.70（bs、2H）、3.84（s、6H）。

【 0 0 7 0 】

b) (4 - アミノピリジン - 2 , 6 - ジイル) ジメタノールの合成

【 0 0 7 1 】

【 化 1 8 】



10

ステップ 2 a で得た化合物 (2 . 8 g 、 1 3 . 3 m m o l) に、メタノール (1 0 0 m L) を添加した。水素化ホウ素ナトリウム錠剤 (合計 4 g 、 1 1 m m o l) を 1 時間かけて回分式に添加して、透明溶液を得た。次いで反応混合物を還流し、追加の水素化ホウ素ナトリウム錠剤 (追加の 4 g 、 1 1 m m o l) を、1 時間かけて回分式に添加した。次いで水 (2 5 m L) を添加し、反応混合物を濃縮して、白色無定形粉末を得た。固体を、酢酸エチル中で 7 2 時間ソックスレー抽出に付した。有機相を濃縮し、水 (1 0 0 m L) を添加した。p H を 1 1 に調整し、得られたスラリーを 7 5 °C で 1 時間加熱して透明な溶液を得た。p H を 1 2 に調整し、溶液を 0 °C に冷却した。生じた沈殿を濾別して、所望の生成物を無定形固体として得た (1 . 3 g 、 6 6 %) 。生成物は LC - MS で分析した (実測値 m/z : 1 5 5 . 1 M H + 、計算値 m/z : 1 5 5 . 1) 。

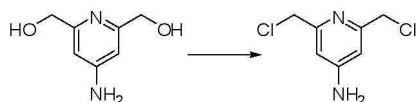
20

【 0 0 7 2 】

c) 2 , 6 - ビス (クロロメチル) ピリジン - 4 - アミンの合成

【 0 0 7 3 】

【 化 1 9 】



30

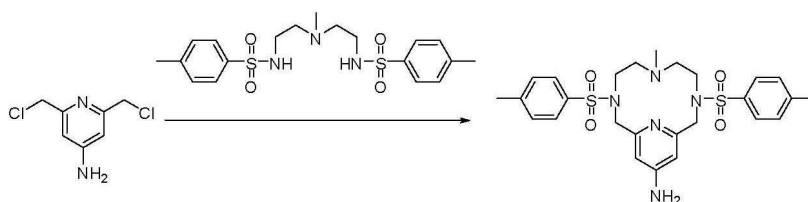
ステップ 2 b で得た化合物 (2 . 3 g 、 1 4 . 9 m m o l) に、塩化チオニル (1 5 m L) を添加し、生じた発泡性ゲルを 2 時間還流した。次いで反応混合物を濃縮して無定形固体を得て、これに水 (3 0 m L) を添加した。得られたスラリーを p H 8 に塩基性化し、沈殿を濾別して所望の生成物を得た (2 . 6 g 、 8 8 %) 。生成物は LC - MS で分析した (実測値 m/z : 1 9 1 . 0 M H + 、計算値 m/z : 1 9 1 . 0) 。

【 0 0 7 4 】

d) 1 3 - アミノ - 3 , 6 , 9 , 1 5 - テトラアザ - 3 , 9 - ビス - (トルエン - 4 - スルホニル) - 6 - メチル - ビシクロ [9 . 3 . 1] ペンタデカ - 1 (1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 - トリエンの合成

【 0 0 7 5 】

【 化 2 0 】



40

ステップ 2 c で得た化合物 (2 . 5 g 、 1 3 . 1 m m o l) と、N , N ' - (2 , 2 ' - (メチルアザンジイル) ビス (エタン - 2 , 1 - ジイル)) ビス (4 - メチルベンゼン

50

スルホンアミド) (2.8 g、6.6 mmol) 及び K_2CO_3 (11 g、79.7 mmol) に、ジメチルホルムアミド (250 mL) を添加した。得られたスラリーを、窒素雰囲気中で 100 °C で 2 時間撹拌した。次いで、追加の N,N' -(2,2'-(メチルアザンジール)ビス(エタン-2,1-ジール))ビス(4-メチルベンゼンスルホンアミド) (2.8 g、6.6 mmol) を添加し、加熱を 4 時間継続した。次いで、ジメチルホルムアミド 125 mL を蒸発させ、残ったスラリーを、水 (1.6 L) を入れた容器に滴下した。得られたスラリーを pH 1 に酸性化し、次いで 75 °C に加熱した。溶液を一晚室温に冷却させ、得られた沈殿を濾別して所望の生成物を得た (5.1 g、72%)。生成物は LC-MS で分析した (実測値 m/z : 544.1 MH^+ 、計算値 m/z : 544.2)。

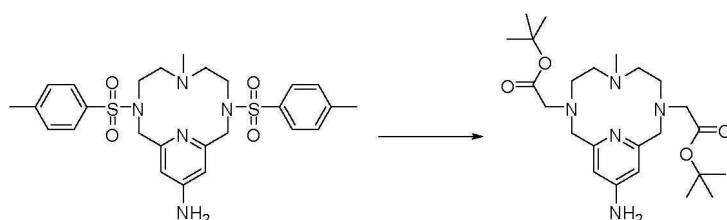
10

【0076】

e) 13-アミノ-3,6,9,15-テトラアザ-3,9-ビス-(tert-ブチルカルボニルメチル)-6-メチル-ピシクロ[9.3.1]ペンタデカ-1(14),11(15),12-トリエンの合成

【0077】

【化21】



20

ステップ 2 d で得た化合物 (2.5 g、4.6 mmol) に、濃硫酸 (15 mL) を添加した。得られたスラリーを 100 °C で 8 時間撹拌し、氷冷水 (40 mL) に浸漬した。 $NaOH$ の水溶液 (25%、90 mL) を添加して、白色スラリーを得た。スラリーに、アセトニトリル (50 mL)、 K_2CO_3 (1.2 g、8.7 mmol) 及び tert-ブチルプロモアセレート (1.36 mL、9.2 mmol) を添加した。二相性スラリーを 5 時間激しく撹拌し、追加の tert-ブチルプロモアセレート (1.36 mL、9.2 mmol) を添加した。12 時間後に有機相を分離し、 $NaCl$ 飽和緩衝液 (0.1 M、pH 10 の $NaHCO_3/Na_2CO_3$) に添加した。二相性溶液に、tert-ブチルプロモアセレート (1.36 mL、9.2 mmol) を添加し、混合物を 24 時間激しく撹拌した。次いで、追加の tert-ブチルプロモアセレート (1.36 mL、9.2 mmol) を添加し、混合物を 24 時間激しく撹拌した。有機相を分離し、リン酸緩衝液 (300 mL、0.1 M、pH 7) に添加した。水溶液をジクロロメタンで繰返し抽出した。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥して、濾過し、濃縮して、所望の生成物を得た (2.7 g)。生成物は LC-MS で分析した (実測値 m/z : 464.2 MH^+ 、計算値 m/z : 464.3)。

30

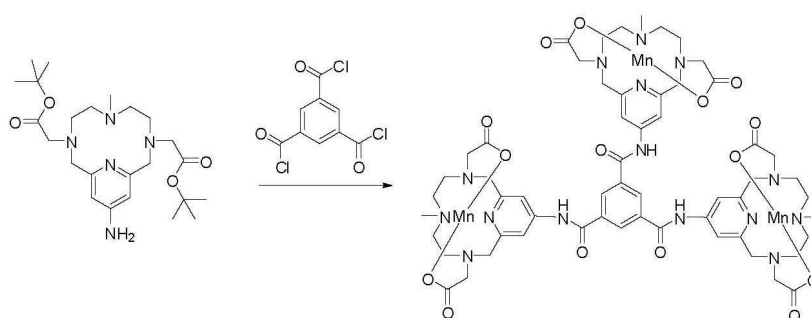
40

【0078】

f) N_1,N_3,N_5 -トリス[3,6,9,15-テトラアザ-3,9-ビス-(カルボニルメチル)-6-メチル-ピシクロ[9.3.1]ペンタデカ-13-トリエニル]ベンゼン-1,3,5-トリカルボキサミドのマンガン(II)錯体の合成

【0079】

【化 2 2】



10

ステップ 2 e で得た化合物 (1 . 0 g 、 1 . 1 m m o l) をアセトニトリル (1 0 m L) に溶解し、次いで、N - エチルジイソプロピルアミン (1 8 5 μ L 、 1 . 1 m m o l) 、及びベンゼントリカルボン酸塩化物 (6 4 μ L 、 0 . 3 6 m m o l) を添加し、反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。次いで反応混合物を濃縮して、白色無定形固体を得た。固体をギ酸 (1 0 m L) に溶解し、1 時間加熱還流した。次いで反応混合物を濃縮し、得られた物質を飽和 N a H C O ₃ 緩衝液に溶解し、8 0 ° で 2 4 時間加熱した。反応混合物を中和し、MnCl₂ (4 3 5 m g 、 2 . 2 m m o l) を添加した。次いで pH を 7 . 6 に調整し、室温で 1 時間攪拌した。次いで反応混合物を濾過し、濃縮した。

20

【 0 0 8 0 】

分取 H P L C によって、三量体マンガン (I I) 錯体を得た。(3 回のステップで 2 3 0 m g 、 4 7 %) 。生成物は L C - M S で分析した (実測値 m / z : 4 5 7 . 0 M 3 H ⁺ 、計算値 m / z : 4 5 7 . 1) 。

【 0 0 8 1 】

実施例 3

緩和度分析

緩和度測定は、0 . 0 5 ~ 1 m M の錯体溶液を使用し、Bruker Minispec PC 1 2 0 b - N A 7 7 0 を用いて 2 0 M H z 又は Bruker Minispec M q 6 0 m を用いて 6 0 M H z 及び 3 7 ° で実施した。溶液は、脱気 Millipore 水又はヒト血清中に適量のキレートを溶解して得た。

30

【 0 0 8 2 】

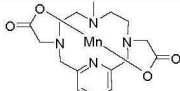
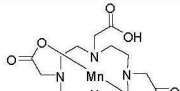
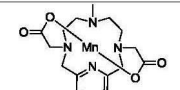
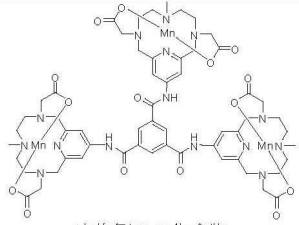
水交換測定

水交換測定は 6 ~ 1 5 m M の錯体溶液を用いて実施した。溶液は、緩衝液 (約 3 原子 % の ¹⁷O 濃縮脱気 Millipore 水中、T R I S 、 0 . 0 5 M 、 pH 7 . 4) 0 . 6 m L 中に適量の錯体を溶解して得た。温度可変フーリエ変換 ¹⁷O N M R スペクトルを、Varian Unity 3 0 0 M H z 分光計を用いて 4 0 . 7 M H z の周波数で記録した。温度はメタノール及びエチレングリコール標準物質を用いて測定した。各システムでの ¹⁷O ラインブロードニングの温度依存性は、2 7 3 . 7 ~ 3 5 6 . 1 K の温度域で測定した。温度はメタノール又はエチレングリコール標準物質を用いて校正した。

40

【 0 0 8 3 】

【表 1】

化合物	緩和度 水 @20MHz, 37°C (mM ⁻¹ s ⁻¹)	緩和度 ヒト血清 @60MHz, 37°C (mM ⁻¹ s ⁻¹)	水滞留時間 (ns)
 実施例 1 の化合物	2.4	4.6	16
 US5334371 に開示された化合物	1.3	NA	NA
 実施例 6 の化合物	NA	8.8	NA
 実施例 2 の化合物	3.8	10.5	14

実施例 4

安定性分析

マンガンキレートの速度論的安定性は、様々な pH に設定した酢酸塩緩衝液 (10 mM) 中の Zn^{2+} との交換反応速度で特徴づけた。遊離マンガンイオンの増加は、Bruker Minispec PC120b-NA770 を用いて 20 MHz 及び 25 でモニターした。全イオン強度は KCl で 0.5 M に調整した。キレート濃度はすべての測定で約 0.5 mM であった。

【0084】

亜鉛イオンを与えた後のキレート化マンガンの濃度変化を分光学的にモニターした。遊離マンガンイオンは、約 $10 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の緩和度を有するが、試験したマンガンキレートは緩和度が低いので、亜鉛がマンガンイオンと入れ替わったとき、緩和度の正味の増大が観察された。

【0085】

疑似一次速度定数 (k_{obs}) は、緩和度データを以下の式にフィットさせて算出した。

【0086】

【数 1】

$$A_t = (A_0 + A_e) e^{(k_{obs} t)} + A_e$$

10

20

30

40

50

式中、 A_t 、 A_0 及び A_e はそれぞれ時間 t 、反応開始時及び平衡状態での緩和度である。
解離半減期は k_{obs} から導いた。

【 0 0 8 7 】

【 表 2 】

		実施例 1 の化合物		US 5334371 に開示された化合物	
		解離半減期		解離半減期	
pH	[Zn] (mM)	$t_{1/2}$ (min)		$t_{1/2}$ (min)	
5.6	10	72		22	
5.4	10	44		15	
5.2	10	30		9	
5.0	10	21		6	
4.6	10	10		3	
5.6	20	77		23	
5.2	20	37		10	

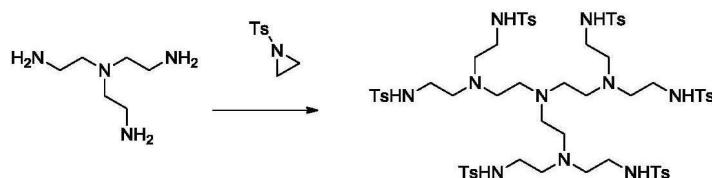
10

実施例 5

a) $N, N', N'', N''', N'''', N''''' - ((\text{ニトリロトリス}(\text{エタン} - 2, 1 - \text{ジイル}))\text{トリス}(\text{アザントリイル}))\text{ヘキサキス}(\text{エタン} - 2, 1 - \text{ジイル}))\text{ヘキサキス}(4 - \text{メチルベンゼンスルホンアミド})$ の合成

【 0 0 8 8 】

【 化 2 3 】



30

トリス - (2 - アミノエチル) - アミン (10 g、68.5 mmol) をアセトニトリル (500 mL) に溶解し、次いでトシルアジリジン (97.2 g、0.49 mol) をゆっくりと添加する。溶液を室温で 24 時間攪拌し、次いで NaOH (2.7 g、68.5 mmol) を添加し、攪拌をさらに 24 時間継続する。次いで反応混合物を水 (2 L) 中に浸漬し、得られた沈殿を濾別して純粋な生成物を得る。

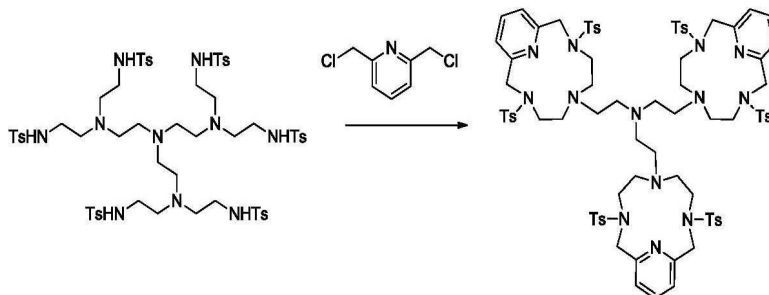
【 0 0 8 9 】

b) $6, 6', 6'' - \text{トリス} - \text{エチル} - [3, 6, 9, 15 - \text{テトラアザ} - 3, 9 - \text{ビス} - (4 - \text{メチルベンゼンスルホンアミド}) - \text{ビシクロ}[9.3.1]\text{ペンタデカトリエン}] - \text{アミン}$ の合成

【 0 0 9 0 】

40

【化 2 4】

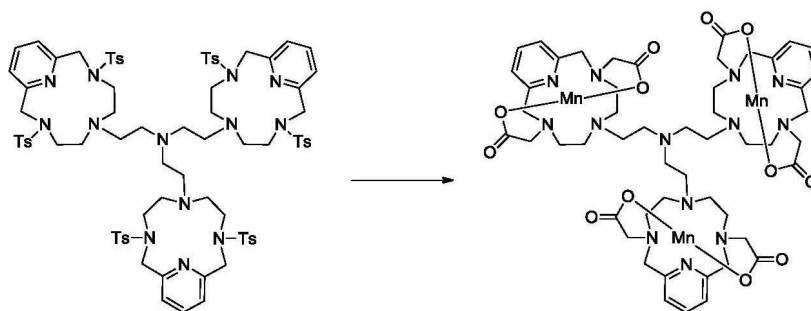


10

実施例 5 a で得た化合物 (10 g、7.5 mmol) を DMF (200 mL) に溶解し、次いで 2,6-ビス(クロロメチル)ピリジン (8.1 g、46 mmol) 及び炭酸カリウム (12.7 g、92 mmol) を添加する。反応混合物を 80 に 24 時間加熱し、次いで水 (1 L) 中に浸漬する。沈殿を濾別して、純粋な生成物を得る。

【0091】

【化 2 5】



20

c) 6,6',6''-トリス-エチル-[3,6,9,15-テトラアザ-3,9-ビス-(カルボニルメチル)-ビシクロ[9.3.1]ペンタデカトリエン]-アミンのマンガン錯体の合成

30

実施例 5 b で得た化合物 (10 g、6.1 mmol) に、濃硫酸 (50 mL) を添加し、得られたスラリーを 100 で 12 時間加熱し、次いで氷冷水 (1 L) 中に浸漬する。次いで NaOH の水溶液 (25%、300 mL) を添加することによって白色スラリーを得る。このスラリーに、アセトニトリル (400 mL)、K₂CO₃ (5.1 g、37 mmol) 及び tert-ブチルプロモアセテート (22.2 mL、0.15 mol) を添加する。二相性スラリーを 15 時間激しく攪拌し、次いで有機相を分離し、リン酸緩衝液 (1 L、0.1 M、pH 7) に添加する。次いで水溶液を、ジクロロメタンで繰返し抽出する。合わせた有機相を濃縮して無定形固体を得る。固体をギ酸 (50 mL) に溶解し、5 時間還流する。反応混合物を濃縮し、得られた無定形固体を水 (100 mL) に溶解し、中和し、次いで MnCl₂ (3.5 g、27.5 mmol) を添加する。次いで pH を 7.6 に調整し、反応混合物を室温で 1 時間攪拌する。次いで反応混合物を濾過し、濃縮する。無定形固体を還流エタノールから結晶化させて、6,6',6''-トリス-エチル-[3,6,9,15-テトラアザ-3,9-ビス-(カルボニルメチル)-ビシクロ[9.3.1]ペンタデカトリエン]-アミンのマンガン錯体を得る。

40

【0092】

実施例 6

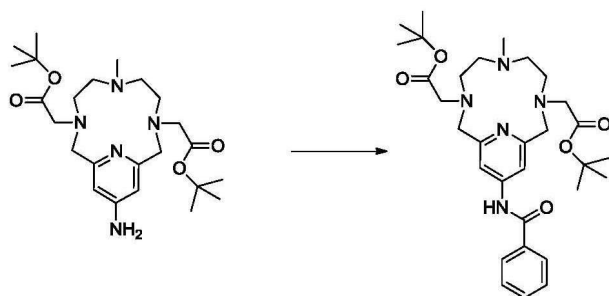
a) N,13-ベンズアミド-3,6,9,15-テトラアザ-3,9-ビス-(tert-ブチルカルボニルメチル)-6-メチル-ビシクロ[9.3.1]ペンタデカ-

50

(1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 トリエンの合成

【 0 0 9 3 】

【 化 2 6 】



10

実施例 2 e で得た化合物 (1 6 0 m g 、 0 . 3 5 m m o l) をアセトニトリル (1 0 m L) に溶解し、0 に冷却する。次いで、塩化ベンゾイル (9 3 μ L 、 0 . 8 0 m m o l) 及び炭酸カリウム (4 8 m g 、 0 . 3 5 m m o l) を添加し、反応物を室温に到達させる。2 4 時間後、反応混合物を濃縮して粗生成物を得る。それ以上精製せずに次のステップで使用する。

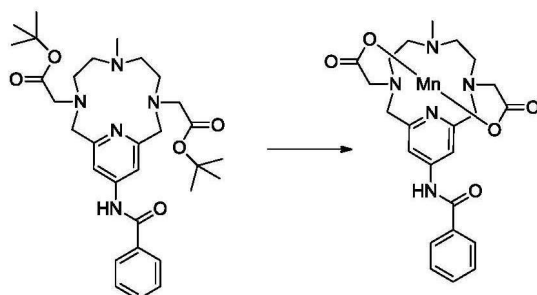
【 0 0 9 4 】

b) N , 1 3 - ベンズアミド - 3 , 6 , 9 , 1 5 - テトラアザ - 3 , 9 - ビス - (カルボキシメチル) - 6 - メチル - ビシクロ [9 . 3 . 1] ペンタデカ - 1 (1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 - トリエンのマンガン錯体の合成

20

【 0 0 9 5 】

【 化 2 7 】



30

実施例 6 a で得た粗化合物をギ酸に溶解し、反応混合物を 1 . 5 時間還流し、次いで溶媒を蒸発させた。粗固体を水 (1 0 m L) に溶解し、NaOH (1 M) で pH を 7 . 1 に調整した。次いで MnCl₂ (6 9 m g 、 0 . 3 5 m m o l) を添加し、NaOH (1 M) で pH を 7 に調整した。2 時間後、反応混合物を濃縮し、分取 HPLC で精製して、N , 1 3 - ベンズアミド - 3 , 6 , 9 , 1 5 - テトラアザ - 3 , 9 - ビス - (カルボキシメチル) - 6 - メチル - ビシクロ [9 . 3 . 1] ペンタデカ - 1 (1 4) , 1 1 (1 5) , 1 2 - トリエンのマンガン錯体を得た (6 0 m g 、 3 3 %) 。

40

フロントページの続き

(72)発明者 メイヤー, アンドレアス

ノルウェー国、エン - 0 4 0 1 オスロ、ニイダレン、ポストボックス 4 2 2 0 ニイコベイエン
2、ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セルスカブ

審査官 黒川 美陶

(56)参考文献 米国特許出願公開第2 0 0 7 / 0 0 9 8 6 4 3 (U S , A 1)

特表2 0 0 7 - 5 2 7 8 5 7 (J P , A)

米国特許第0 5 3 3 4 3 7 1 (U S , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C 0 7 D 4 7 1 / 0 0 - 2 2

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)