

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/19

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00118469.5

[43] 公开日 2001 年 5 月 2 日

[11] 公开号 CN 1293036A

[22] 申请日 1995.5.8 [21] 申请号 00118469.5
分案原申请号 95106015.5

[30] 优先权

[32] 1994.12.16 [33] DE [31] P4446712.5

[71] 申请人 舍林股份公司

地址 联邦德国柏林

[72] 发明人 H·J·威曼 A·牧勒

H·施密特威利奇 B·拉杜彻尔

J·普拉泽克

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 郭建新

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 4-(4-乙氧苄基)-3,6,9-三(羧化甲
基)-3,6,9-三氮杂十一烷二酸钙配合
物用途

[57] 摘要

本发明涉及 4-(4-乙氧基苄基)-3,6,9-三(羧
化甲基)-3,6,9-三氮杂十一烷二酸钙配合物及其盐
用于制备降低由重金属引起的作用的药物的用途。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 4-(4-乙氧基苄基)-3, 6, 9-三(羧化甲基)-3, 6, 9-三氮杂十一烷二酸钙配合物及其与生理相容阳离子的盐用于制备降低重金属引起的作用的药物的用途。

2. 4-(4-乙氧基苄基)-3, 6, 9-三(羧化甲基)-3, 6, 9-三氮杂十一烷二酸钙配合物及其与生理相容阳离子的盐用于制备抗重金属中毒的药物的用途。

说明书

4-(4-乙氧苄基)-3, 6, 9-三(羧化甲基) -3, 6, 9-三氮杂十一烷二酸钙配合物用途

本发明涉及4-(4-乙氧基苄基)-3, 6, 9-三(羧化甲基)-3, 6, 9-三氮杂十一烷二酸的钙配合物及其盐用于制备降低由重金属引起的作用的药物的用途。

在药物中, 各种配位化合物特别是用于治疗重金属中毒、缺铁疾病以及用于制备显影诊断用的药物。

在 EP 71564 中, 描述了用二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 钆(III) 配合物的麦格鲁明 (meeglumine) 盐作为 NMR 层面 X 线照相术的造影剂。商品名为 Magnevist^(R) 的含该复合物的制剂作为第一 NMR 造影剂得到了全球范围内的认可。这种造影剂经静脉注射后在细胞外分散, 并且经肾小球分泌由肾脏排出。实际上未观察到通过完整的细胞膜。Magnevist[®] 最适用于病理部位 (例如炎症、肿瘤) 的造影术。

含 DTPA 或 Ca-DTPA 的化合物临床上还用于金属中毒。铁配合物通常用于缺铁性贫血，而放射性同位素配合物（例如^{99m}Tc-DTPA）用于闪烁法。

当用作 NMR 和 X 线诊断造影剂时，EP 405704 建议，这些化合物在肾外排出，因而适合于肝、胆囊和胃肠道造影术。

这些已知的配合物及其盐在其临床应用中会引起相容性和/或配合物体内稳定性的问题。迄今为止还不能有利地将重金属元素本身用作 X 线造影剂的成分，因为这些化合物的相容性是不令人满意的。对于到目前为止所建议的和用于核旋转层面 X 线照相术的顺磁物质来说，其在动物试验中的有效剂量和毒性剂量的差距比较小。

因此，需要能降低由重金属所造成的影响的药物。

本发明的目的是有效地制备这种化合物和药物，以及提供其制备方法。通过权利要求书中特征化的主题可以达到该目的。

已经发现，4—（4—乙氧基苄基）—3, 6, 9—三（羧化甲基）—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸的钙配合物（Ca-EOB-DTPA）及其盐特别适用于制备可降低由重金属引起的影响的药物。尤其是，Ca-EOB-DTPA 适合于除去肝脏中沉积的重金属。

术语 EOB-DTPA 可以使用下列同义语，即各种对映体（4S 或 4R）形成或其任何混合物。

Ca-EOB-DTPA 能够出人意料地消除金属沉积，例如在重金属中毒后从体内、特别是从肝脏中排除。如实施例所述，通过服

用 Ca—EOB—DTPA 可以降低肝和肾中锌的含量。

此外还发现，将 Ca—EOB—DTPA 加至用于 NMR 诊断的 Gd—EOB—DTPA 中可以降低肝脏和骨中钆的含量（参见实施例）。通过对动物模型的药物动力学检查表明 Ca—EOB—DTPA... 与 Gd—EOB—DTPA 类似——出人意料地主要通过肝脏消除了（参见实施例）。由于消极加入的同样 3 倍量的 Ca—DTPA 没有进入肝脏，因而是特别出人意外的。因此加入 Ca—EOB—DTPA 还从肝脏中定量消除了非配位结合的钆。

因此，本发明涉及 4—（4—乙氧基苄基）—3, 6, 9—三（羧化甲基）—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸的钙配合物以及这些配合物与生理相容的无机和/或有机阳离子的盐，这些阳离子是例如钠、钾、麦格鲁明、乙醇胺、二乙醇胺、吗啉、葡糖胺、二甲基葡糖胺、赖氨酸、精氨酸和/或鸟氨酸。

本发明还涉及用 Ca—EOB—DTPA 及其盐制备药物制剂、特别是抗重金属中毒的解毒药的用途。

制备本发明化合物

从 4—（4—乙氧基苄基）—3, 6, 9—三（羧化甲基）—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸—五叔丁基酯 [如 EP 405704A 2(实施例 8) 所述] 开始制备本发明化合物。

首先将该五酯与三氟乙酸反应制备游离的配位剂。按照 EP

71564、EP 130934 和 DE—OS 3401052 专利说明书中公开的方法从该配位剂制备本发明的配合物。

通过与氢氧化钙溶液反应将此配位剂转化为钙配合物 (Ca—EOB—DTPA)。然后, 如果需要, 用无机和/或有机碱或氨基酸将所存在的酸基上的氢原子取代。

在这种情况下, 用无机碱 (例如氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐) 如钠、钾或锂盐和/或有机碱如伯、仲和叔胺 (例如乙醇胺、葡糖胺、N—甲基—和 N, N—二甲基葡糖胺) 以及碱性氨基酸如赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸进行中和。

由于该配合物含有 3 个游离酸基, 它可以形成既含无机阳离子、又含有机阳离子作为抗衡离子的中性混合盐。

可以通过例如下述方法实现这一目的, 即将此配位剂在水悬浮液或溶液中与氧化钙或钙盐反应, 得到所需元素的氧化物或盐, 用 1/3 或 2/3 量的所需有机碱中和, 分离所形成的配位盐, 任意地进行纯化, 然后与所需量的无机碱混合, 以完全中和。加碱的顺序也可以反过来。

通过 Gd—EOB—DTPA 与 DTPA 的钙配合物在升高的温度下反应, 可以制备由 Ca—EOB—DTPA 与 Gd—EOB—DTPA 组成的混合物。通过再配合, 可以得到所需 Ca—EOB—DTPA 配合物与 Gd—EOB—DTPA 的混合物。在该方法中也可以进行上述中和。

可以按照本领域已知的方法制备本发明的药物, 即将本发明配

位化合物—任意地加入盖仑制剂常用的添加剂—悬浮或溶解于含水介质中，然后任意地将此悬浮液或溶液灭菌。适合的添加剂是例如生理上无害的缓冲液（例如三甲胺）、电解质（例如氯化钠）和抗氧化剂（例如抗坏血酸）。

如果本发明药物的悬浮液或溶液需要是肠道服用的或用于其他目的的水溶液或生理盐溶液，则将其与一种或多种盖仑制剂常用的辅剂混合，这些辅剂是例如甲基纤维素、乳糖或甘露糖醇和/或表面活性剂（例如卵磷脂、吐温^(R)或 Myri^(R)）和/或改善味觉的调味物质（例如香精油）。

原则上甚至可以分离该配位盐，即制备本发明的药物。但是一定要采取具体的保护以保证螯合，这样在本发明的盐和盐溶液中实际上就不存在有毒性作用的未配合金属离子。

本发明药物含有 $1\mu\text{mol/l}$ — 1mol/l 配位盐，优选 0.5mmol/l — 250mmol/l ，一般的剂量为 0.005 — 2mmol/kg 体重，优选 $50\mu\text{mol/kg}$ — $500\mu\text{mol/kg}$ 。该药物经肠道和非肠道施用。

因此，本发明还涉及这些化合物和药物的上述制备方法。

下列实施例用于更详细地解释本发明的目的。

实施例

制备 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸钙配合物三钠盐

方法 1

a) 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸

将 3.64g 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸—五叔丁基酯 (其制备方法参见 EP 0405704A2, Schering AG, Berlin, 实施例 8a) 溶于 25ml 三氟乙酸。将其在室温搅拌 1 小时, 与 150ml 乙醚混合, 吸滤出沉淀。于 40℃ 真空干燥该沉淀, 然后将其溶于 200ml 水中, 并与 2g 阴离子交换剂 Amberlite IRA 67 一起搅拌 15 分钟。将其过滤, 并将此溶液与 0.5g 活性炭一起搅拌 30 分钟。滤出活性炭, 将其冻干 3 次以除去残余的三氟乙酸, 得到 1.2g 所需化合物, 为白色粉末。

分析 (相对于无水物质):

计算值: C52.36% H6.31% N7.97%

实测值: C52.21% H6.39% N7.84%

b) 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸钙配合物三钠盐

将 4.22g 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸 (8mmol) 在 100ml 水中与 0.59g (8mmol) 氢氧化钙混合。搅拌 15 分钟, 同时将其与 24ml 1N 氢氧化钠溶液混合。将所得溶液经膜过滤器过滤以除去少量悬浮物质, 然

后冻干。得到 4.9g 白色粉末状的所需化合物，其中水含量为 9.4%。

分析（相对于无水物质）：

计算值： C 43.74% H 4.47% Ca 6.35% N 6.65% Na 10.92%

实测值： C 43.91% H 4.60% Ca 6.27% N 6.61% Na 10.62%

熔点：至 300℃ 该配合物仍不熔化。

旋光率： $[\alpha]_D = +7.2^\circ$ ($c=1.0$ ，在甲醇中)

c) 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸钙配合物麦格鲁明盐

如果用 24ml 1N 甲基葡糖胺溶液代替实施例 b 中的氢氧化钠溶液，则可以得到相应的三麦格鲁明盐。

方法 2

另一种方法是从 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸—五叔丁基酯开始，在该方法中，不分离配体 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸，而是在溶液中同样地将其进一步转化为 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸钙配合物三钠盐：

将 21.4g (26.5mmol) 4—(4—乙氧基苄基)—3, 6, 9—三(羧化甲基)—3, 6, 9—三氮杂十一烷二酸—五叔丁基酯在 150ml 甲

醇中的溶液与 16ml 15N 氢氧化钠溶液一起回流 5 小时。

在旋转蒸发器上真空除去甲醇,与 190ml 水混合,在搅拌下分批加入足够量的阳离子交换剂 IR—120,直到 pH 达到 3.0。滤出离子交换剂,用水洗涤该残余物并纯化滤液。

将如此得到的 4—(4—乙氧基苄基)—3,6,9—三(羧化甲基)—3,6,9—三氮杂十一烷二酸—钠盐溶液与 1.96g 氢氧化钙混合,通过加入 40% 氢氧化钠溶液将 PH 调至 10.2。在室温将该溶液与活性炭一起搅拌 1 小时,然后用硝酸纤维素滤膜 (0.2 μ m) 过滤。

冻干后,得到 17.84g 4—(4—乙氧基苄基)—3,6,9—三(羧化甲基)—3,6,9—三氮杂十一烷二酸钙配合物的三钠盐,为白色粉末,其中水含量为 7.5%。

其他分析数据与第一种方法的值一致。

制备 Gd—EOB—DTPA 和 Ca—EOB—DTPA 混合物的方法

将 20ml 250 μ mol/ml (5000 μ mol) Gd—EOB—DTPA 水溶液与 20ml 1 μ mol/ml (20 μ mol) CaNa₃—DTPA 水溶液混合。在 121℃ 加热处理 20 分钟后,观察到在 20 μ mol Ca—EOB—DTPA、4980 μ mol Gd—EOB—DTPA 和 20 μ mol Gd—DTPA 中准完成了再配合。

下列实施例是该新化合物作用方式的具体实施例。

药物动力学:给雄性大鼠静脉内注射 25 μ mol/kg 剂量的¹⁴C—标记的 Ca—EOB—DTPA/Na₃。在注射后 24 小时在不同时间测量各器官血液中的浓度。在另一组动物中分别测定腹膜注射最多 7 天的尿

和粪中排出的量。

血液中的浓度迅速下降，其半衰期为 8 分钟。0.45 L/kg 的分布体积表明聚积在细胞内，可能是在肝细胞内。

用药后 24 小时，只有 4.2% 剂量保留在体内，而在肾和肝中的值最高。

从粪中排除了 2/3 剂量，在尿中收集到 1/3。

所观测到的值非常相似或与 Gd 配合物实际上一致 (G. schuhmann—Giampieri, H. schmitt—Willich, W. —R. press, C. Negishi, H. —J. Qeinnann, 和 U. Speck, Radiolgy, 1992, 183, 59)。

通过静脉注射 Ca—EOB—DTPA 降低生物体中金属的浓度：

锌的例子

以 200 μ mol/kg 的剂量给雄性大鼠静脉内注射 Ca—EOB—DTPA/Na₃ 水溶液，2 天后通过 ICP—AES 测定肝和肾中锌的浓度。

器官	浓度	Zn
		[μ mol/g]
肝	注射前	5.3
	注射 Ca—EOB—DTPA 后	4.4
肾	注射前	0.9
	注射 Ca—EOB—DTPA 后	0.5

注射 Ca—EOB—DTPA/Na₃ 降低了肝和肾中锌的金属浓度。

在此方面,已知的解毒药 Ca-DTPA/Na_3 是无效的,因为该物质不通过肝细胞。

通过在 NMR 造影剂中加入 Ca-EOB-DTPA 降低生物体中金属的浓度:

Gd-EOB-DTPA 的例子

以 $250\mu\text{mol/kg}$ 的剂量给雄性大鼠静脉内注射 Gd-EOB-DTPA/Na_2 水溶液 (溶液 A、B、C、D), 7 天后通过 ICP—AES 测定骨和肝中 Gd 的浓度。溶液 A 不含任何添加剂, 而 B、C、D 中加入了不同浓度的 Ca-EOB-DTPA/Na_3

溶液 A: 0mg/ml
 溶液 B: 0.1mg/ml
 溶液 C: 0.5mg/ml
 溶液 D: 1.0mg/ml

Gd 含量	A	B	C	D
[nmol/g]				
肝	1.12 ± 0.014	1.14 ± 0.028	0.90 ± 0.13	0.79 ± 0.15
骨	1.51 ± 0.08	1.39 ± 0.13	1.04 ± 0.12	0.67 ± 0.09

通过加入 Ca 配合物, 明显降低了肝和骨中 Gd 的浓度。

这种发现是非常有利的, 因为已经在生物体中所剩较少量的 Gd

也会引起配合禁忌反应。由于新的 Ca 配合物实际上还出人意料地同时进入了肝细胞，因而可以保证将从配合物中可能释出 Gd 的影响减至最小。

Ca—EOB—DTPA 改善了 Gd—EOB—DTPA 的消除速度，并且可以降低生物体中毒性金属的浓度。

①

Abstract

The invention relates to use of the calcium complex of 4-(4-ethoxybenzyl)-3,6,9-tris (carboxylatomethyl)-3,6,9-triazaundecanedioic acid and its salts for the production of agents for reducing effects that are caused by heavy metals.

/