(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0034693
(43) 공개일자 2024년03월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07F 5/00 (2024.01) *A61K 49/12* (2006.01)
C07D 257/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07F 5/003 (2013.01)
A61K 49/122 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7042178
(22) 출원일자(국제) 2022년07월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년12월06일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/070901
(87) 국제공개번호 WO 2023/006721
국제공개일자 2023년02월02일
(30) 우선권주장
21187883.0 2021년07월27일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
브라코 이미징 에스.피.에이.
이탈리아 20134 밀라노 비아 이. 폴리 50
(72) 발명자
바닌 안드레아
이탈리아 10010 콜레레토 지아코사 비아 리베스 넘버 5 브라코 이미징 에스피에이
바랄레 안드레아
이탈리아 10010 콜레레토 지아코사 비아 리베스 넘버 5 브라코 이미징 에스피에이
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 **이량체 조영제의 제조**

(57) 요 약

본 발명은 자기공명영상(MRI)에서 사용하기 위한 이량체 조영제, 특히 [μ-[1-[비스[2-(하이드록시-κO)-3-[4,7,10-트리스[(카복시-κO)메틸]-1,4,7,10-테트라아자시클로도데크-1-일-κN^{1}, κN^{4}, κN^{7}, κN^{10}]프로필]아미노]-1-데옥시-D-글루시톨라토(6-)]]디가돌리늄 착물의 제조를 위한 과정에 관한 것이며, 이것은 (얻어진 중간체의 분리 없이) 원 포트로 수행되는 제조 단계들 및 과량의 유리 가돌리늄 금속 이온 중 적어도 일부의 침전을 포함한다.

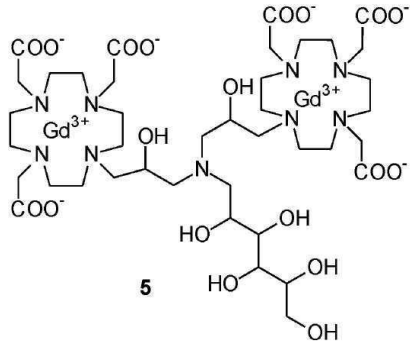
(52) CPC특허분류
C07D 257/02 (2013.01)
(72) 발명자
보이 발레리아
이탈리아 10010 콜레레토 지아코사 비아 리베스 넘버 5 브라코 이미징 에스피에이
가제토 소니아
이탈리아 10010 콜레레토 지아코사 비아 리베스 넘버 5 브라코 이미징 에스피에이
부온산티 페데리카
이탈리아 10010 콜레레토 지아코사 비아 리베스 넘버 5 브라코 이미징 에스피에이

명 세 서

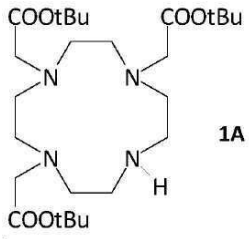
청구범위

청구항 1

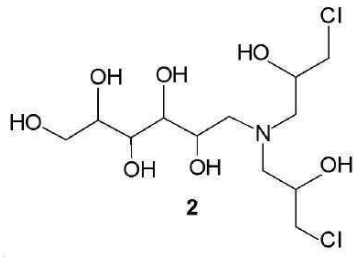
하기 식의 이량체 착물 화합물 5의 제조를 위한 방법으로서,



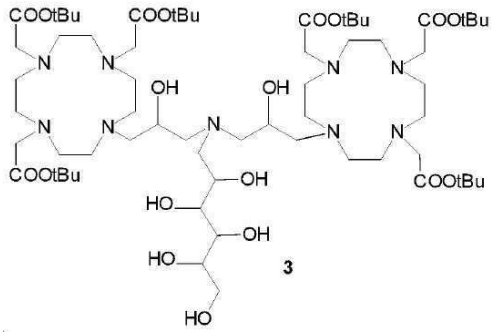
1) 유기 용매에서 식 1A의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 용액을 제조하는 단계;



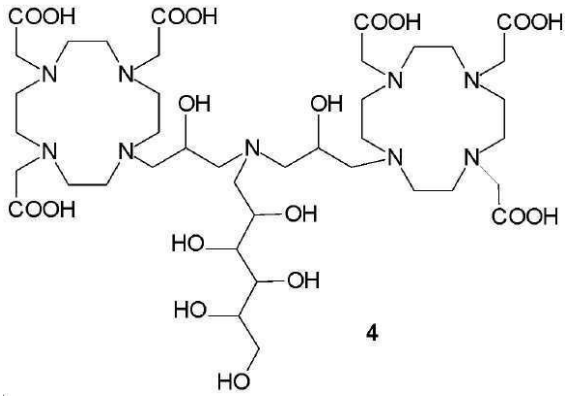
2) 유기 용매에서 식 2의 화합물의 용액을 제조하는 단계;



3) 단계 1)과 2)에 따라서 제조된 용액들을 혼합하여 식 3의 화합물의 용액을 얻는 단계;



4) 단계 3)의 용액으로부터 화합물을 분리하지 않고, 식 3의 화합물로부터 tert-부틸 보호기를 제거하여 식 4의 각 유리 리간드의 용액을 얻는 단계;



4

5) 식 4의 유리 리간드를 분리하지 않고, 단계 4)의 용액에 가돌리늄 금속 이온을 몰 과량으로 첨가하여 식 5의 각 이량체 착물의 용액을 얻는 단계;

6) 식 5의 이량체 착물의 용액에 침전제를 첨가하여 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부를 침전시키는 단계; 및

7) 이량체 착물을 분리하는 단계

를 포함하며, 식 3의 화합물의 제조 후 모든 단계에서 반응 용매는 수성 용매인 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 단계 1)의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액은 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산염으로부터 제조되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 단계 1)은

i) DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산염을 염기 또는 염기성 염과 함께 유기 용매에 현탁하여 현탁액을 얻는 단계;

ii) 현탁액을 여과하는 단계; 및

iii) 여과된 현탁액을 수집하고 선택적으로 농축하여 유기 용매 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액을 얻는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 2)는 D-글루카민과 에피클로로히드린을 반응시켜 유기 용매 중의 식 2의 화합물의 용액을 얻는 단계를 포함하며, 바람직하게

i) 유기 용매 중의 에피클로로히드린의 용액에 D-글루카민의 수성 용액을 첨가하여 물/유기 용매 혼합물 중의 식 2의 화합물을 얻는 단계로서, 바람직하게 에피클로로히드린의 양은 화학량론적 양보다 약간 과량인 단계; 및

ii) 혼합물로부터 물을 제거하여 유기 용매 중의 식 2의 화합물의 용액을 얻는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 유기 용매는 디메틸아세타미드(DMAC)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 3)은

a. 염기의 존재하에 단계 2)로부터의 식 2의 화합물을 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 반응시켜 유기 조 용액을 얻는 단계;

b. 얻어진 유기 조 용액을 물, 물/유기 용매 혼합물, 또는 수성 용액으로 희석하여 물/유기 조물질을 얻는 단계;

c. 물/유기 조물질을 정제하여 물/유기 용매 혼합물 중의 식 3의 화합물을 얻는 단계; 및

d. 혼합물로부터 유기 용매를 제거하여 식 3의 화합물의 수성 용액을 얻는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 단계 c.의 물/유기 조물질의 정제는 크로마토그래피에 의해 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 4)는

i) 단계 3)으로부터의 식 3의 화합물의 수성 용액에 산, 바람직하게 단일 음전하를 갖는 반대이온을 포함하는 무기산을 첨가하고, 이러한 첨가 이후에 및/또는 도중에 용액의 온도를 40℃ 초과, 바람직하게 40℃ 초과 60℃ 이하, 더 바람직하게 45 내지 55℃의 범위 내의 온도로 가열 및/또는 유지하여, 보호한 tert-부틸 기를 제거하고 식 4의 각 유리 리간드의 산성 수성 용액을 얻는 단계;

ii) 산성 용액에 염기를 첨가하여 실질적으로 중성인 유리 리간드의 수성 용액을 얻는 단계;

iii) 얻어진 중성 용액을 정제한 후 선택적으로 농축하여 식 4의 유리 리간드의 수성 용액을 얻는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 단계 iii)는 형성된 t-부탄올을 제거하기 위해 중성 용액을 증류하는 단계; 및 선택적으로 수성 용액을 농축하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 5)에서 가돌리늄 금속 이온은 식 4의 탈보호된 이량체 리간드 1 몰에 대하여 2.05 몰 이상의 양으로 단계 4)의 용액에 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에 pH는 4.5 이상의 값으로 조정 및/또는 유지되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에 pH는 4.7 이상의 값으로 조정 및/또는 유지되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에 pH는 4.9 이상의 값으로 조정 및/또는 유지되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에 pH는 5.5 이상의 값으로 조정 및/또는 유지되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 침전제는 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물의 용액 내

의 가돌리늄 금속 이온 1 몰에 대하여 1.1 내지 5 몰의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 침전제는 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물의 용액 내의 가돌리늄 금속 이온 1 몰에 대하여 1.2 내지 3 몰의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 침전제는 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물의 용액 내의 가돌리늄 금속 이온 1 몰에 대하여 1.4 내지 2.5 몰의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 침전제는 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물의 용액 내의 가돌리늄 금속 이온 1 몰에 대하여 1.4 내지 1.6 몰의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, 침전제는 인산염(PO_4^{3-}), 인산일수소(HPO_4^{2-}), 인산이수소($H_2PO_4^-$), 오르토인산(H_3PO_4), 옥살산염($C_2O_4^{2-}$), 옥살산수소($HC_2O_4^-$), 및 옥살산($H_2C_2O_4$)으로 구성되는 군으로부터 선택된 적어도 1종인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 6) 후 단계 7) 전에 상기 방법은 침전제의 첨가 후 얻어진 가돌리늄 착물(5)의 용액을 여과하여 상기 용액으로부터 침전된 불용성 가돌리늄 염을 제거하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제 1 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 7)은 단계 6)으로부터 직접 수집된 용액의 분무 건조에 의해 흰색 고체로서 식 5의 이량체 착물을 분리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 자기공명영상(MRI)에서 사용하기 위한 조영제의 제조에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 이량체 조영제, 특히 [μ-[1-[비스[2-(하이드록시-κ*O*)-3-[4,7,10-트리스[(카복시-κ*O*)메틸]-1,4,7,10-테트라아자시클로도데크-1-일-κN^1, κN^4, κN^7, κN^{10}]프로필]아미노]-1-데옥시-D-글루시톨라토(6-)]]디가돌리늄 착물(화합물 5)의 제조를 위한 신규 과정에 관한 것이다.

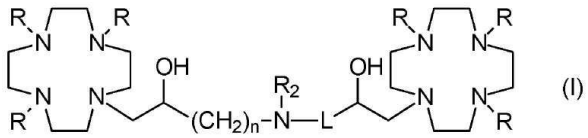
배 경 기 술

[0002] 자기공명영상(MRI)은 많은 적응증에 대한 임상 진단에서 사용이 증가되고 있는 유명한 진단 영상 기술이다. MRI 영상 기술에서 사용하기 위한 조영제는 전형적으로 고리형 또는 비고리형 킬레이트화 리간드, 보다 전형적으로 폴리아미노폴리카복실산 킬레이트제와 착물화된 상자성 금속 이온을 포함한다. MRI 조영제의 가장 중요한 부류는 Gd(III) 킬레이트이며, 이것은 현재 임상 테스트의 약 1/3에서 사용된다. 실제로 Gd(III)는 고도로 상자성으로 7개의 홀전자와 긴 전자적 이완 시간을 가지므로 훌륭한 이완제 후보가 된다. 그러나, 가돌리늄 금속 이온 $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$은 저 용량(10-20 micromol/kg)에서도 살아있는 유기체에 독성이다.

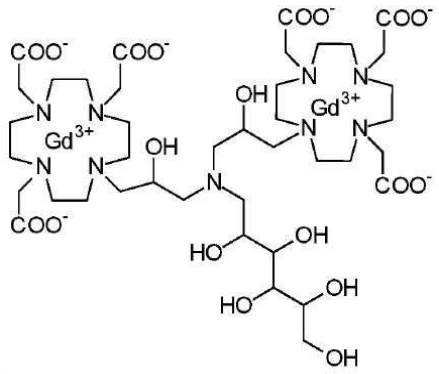
[0003] 따라서, 잠재적으로 가치있는 MRI 조영제로 고려되려면 Gd(III) 착물은 독성 금속 이온의 방출을 방지하기 위해 높은 열역학적(및 가능하다면 동력학적) 안정성을 나타내야 한다. 더욱이, Gd(III) 착물의 제조 과정은 착물화 단계 후 반응 혼합물 내에 존재하는 독성 금속 이온의 유효하고 효과적인 제거가 가능한 것이 유익하다.

[0004] WO 2017/098044(본 출원과 동일한 출원인)는 하기 식의, 구체적으로 자기공명영상(MRI)에서, 조영제로서 유용한

이량체 상자성 착물 및 그 제조를 위한 합성 경로를 개시한다.

[0005] 

[0006] 다수의 구체적인 화합물들 중, 출원은 하기 식:

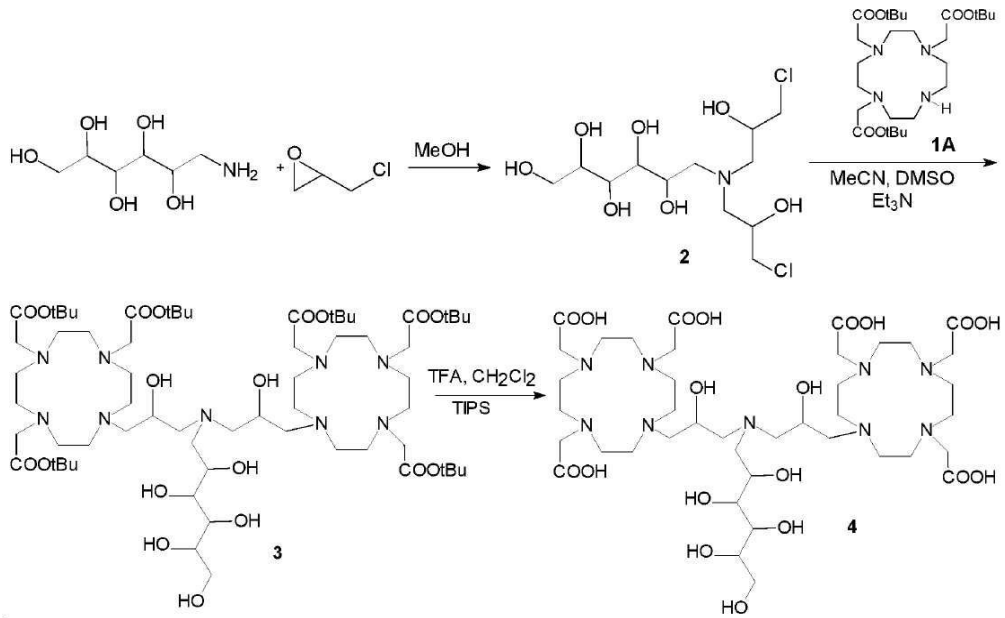
[0007] 

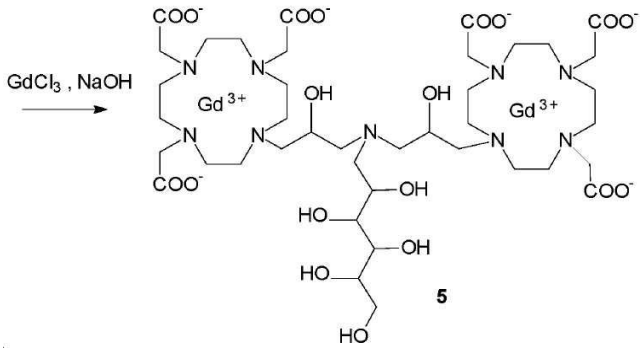
[0008] 의 [1-[비스[2-(하이드록시-3-[4,7,10-트리스[(카복시메틸]-1,4,7,10-테트라아자시클로도데크-1-일]프로필]아미노]-1-데옥시-D-글루시톨 리간드의 디가돌리늄 착물을 개시하며, 이것은 이후 "이량체 착물 화합물 5" 또는 간단히 "화합물 5"로 칭해진다.

[0009] 이 착물 화합물은 흥미로운 특성을 나타내는데, 특히 이완성 및 내약성과 관련하여, 시중의 조영제에서 필요한 것보다 낮은 용량의 상자성 착물을 사용하여 수행되는 생체내 진단 영상에서 사용하기에 적합한 특성을 나타낸다.

[0010] 제조 과정은 상기 국제 출원에 개시되며, 하기 합성안 1에 나타낸다:

[0011] 합성안 1

[0012] 

[0013] 

[0014] 개시된 합성 과정의 주요 단계는 다음과 같다:

[0015] a) *Org. Synth.* 2008, *85*, 10에 개시된 대로 실질적으로 수행된 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(화합물 1A)의 제조 및 분리;

[0016] b) 26시간 동안 50℃에서 MeOH 중에서 에피클로로히드린을 사용한 D-글루카민의 알킬화(몰비 1:4.95)에 의한 중간체(2)의 제조, 및 조 반응물의 증발에 의한 축합 생성물의 분리;

[0017] c) DMSO 및 Et_3N 중에서 중간체(2)를 사용한 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 알킬화, 증발 및 Amberlite XAD® 1600에서 조 잔류물의 정제에 의한 보호된 리간드(3)의 획득;

[0018] d) 디클로로메탄 중에서 TFA 산 및 TIPS에 의한 리간드(3)의 탈보호, 조 반응물의 증발 및 Amberlite XE 750에서 잔류물의 정제;

[0019] e) 염화가돌리늄 6수화물의 화학량론적 첨가에 의해 물에서 리간드(4)의 착물화, 및 용액의 여과 및 증발에 의해 얻어진 조 생성물의 Amberchrome CG161M 수지에서의 정제.

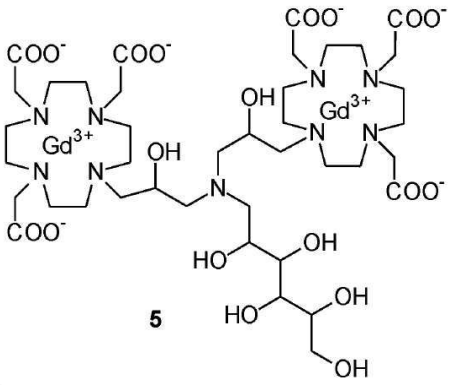
[0020] 상기 과정은 각 개별 중간체의 합성 및 분리를 필요로 하며, 이것은 일반적으로 용매 잔류물의 증발에 의해 수행된다. 이러한 분리 단계는, 대규모 제조에 적합하지 않다는 것 외에도, 불가피하게 과정의 전체 수율 및 효율의 감소를 가져온다. 더욱이, 선행기술의 과정은 대규모 작업시, 예를 들어 산업 공정에 특히 부적합한데, TFA, TIPS 및 DCM과 같은 취급이 어려운 재료들의 사용을 포함하기 때문이며, 이것은 부식을 야기하여 합성 장치를 마모시킬 수 있고 및/또는 작업자의 건강에 위험할 수 있다.

[0021] 마지막으로, WO 2017/098044에 개시된 착물화 단계는 재현이 쉽지 않고, 착물화 단계에서 반응물들의 정확한 칭량 및 정확한 표제 결정에 따라 달라진다. 적어도 이러한 이유 때문에 WO 2017/098044에 개시된 과정의 견고성이 개선되어야 한다.

[0022] 따라서, 상기 언급된 문제들을 극복한 WO 2017/098044에 개시된 Gd(III) 착물의 제조 과정이 필요하며, 특히 재현가능하고, 견고하며, WO 2017/098044에 개시된 이량체 상자성 착물의 대규모 제조에 유익한 과정이 필요하다.

발명의 내용

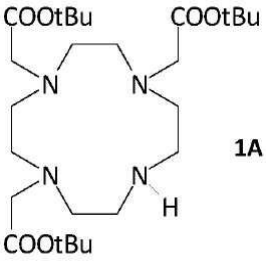
[0023] 본 발명은 일반적으로 결과의 중간체들의 분리 없이 원 포트로 수행되는 제조 단계들을 포함하는 이량체 착물 화합물 5를 제조하기 위한 최적화된 과정에 관한 것이며, 이것은 시간 절약을 허용하는 동시에 전체 수율 및 효율의 개선을 허용하고, 독성이 없는 가돌리늄 금속 이온을 소량으로 함유하는 최종 생성물을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 하기 나타낸 이량체 착물 화합물 5의 제조를 위한 과정에 관한 것이며,



[0024]

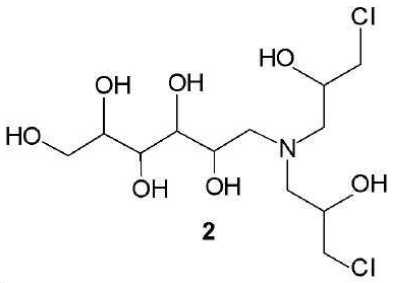
[0025] 이것은 주요 단계로서:

[0026] 1) 식 1A의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 용액, 예를 들어 유기 용매 중의 용액을 제조하는 단계;



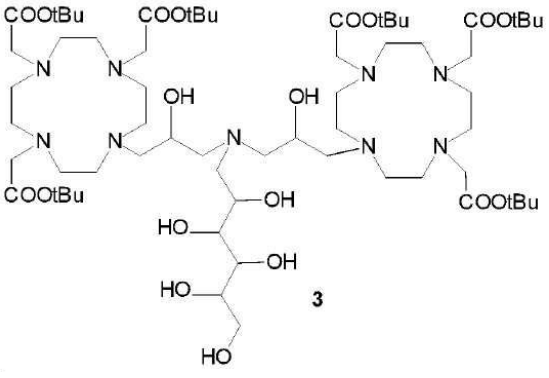
[0027]

[0028] 2) 식 2의 중간체의 용액, 예를 들어 유기 용매 중의 용액을 제조하는 단계;



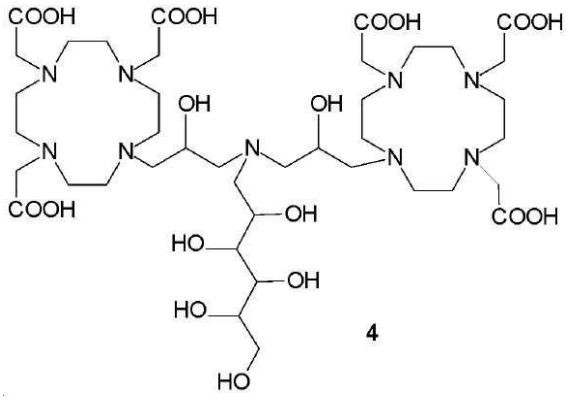
[0029]

[0030] 3) 단계 1)과 2)에 따라서 제조된 용액들을 혼합하여 식 3의 보호된 리간드의 용액을 얻는 단계;



[0031]

[0032] 4) 단계 3)의 용액으로부터 보호된 리간드를 분리하지 않고, 보호된 리간드로부터 tert-부틸 보호기를 제거하여 식 4의 각 유리 리간드의 용액을 얻는 단계;



4

[0033]

[0034] 5) 얻어진 용액으로부터 식 4의 유리 리간드를 분리하지 않고, 단계 4)의 용액에 가돌리늄 금속 이온을 몰 과량으로 첨가하여 식 5의 각 이량체 착물의 용액을 얻는 단계;

[0035] 6) 식 5의 각 이량체 착물의 용액에 침전제를 첨가하여 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부를 불용성 가돌리늄 염으로서 침전시키는 단계; 및

[0036] 7) 이량체 착물을 분리하는 단계

[0037] 를 포함한다.

[0038] 흥미롭게도 청구항 1에 제시된 과정은 선행기술의 과정에서 필요하며 대규모 작업시, 예를 들어 산업 공정의 작업시 취급이 어려운 트리플루오로아세트산(TFA)와 같은 유해한 시약, 및 디클로로메탄과 같은 위험한 용매의 사용을 피하거나 상당히 감소시킨다.

[0039] 또한, 청구항 1에 제시된 과정은 원 포트로 수행되는 단계들을 포함하며, 이것은 대규모 실시에 적합하고, 제조된 전구체(예컨대 1A) 또는 중간체의 분리를 필요로 하지 않는다. 결과적으로, 공정 시간의 감소를 촉진시키고, 상기 언급된 대로 대규모로 쉽게 실시되는 것에 더하여, 상기 과정은 유익하게 10%에서 전체 수율 최대 30% 이상, 예컨대 33%까지 전체 공정 수율의 상당한 증가를 허용한다.

[0040] 또한, 본 발명의 과정은 견고하며, 따라서 특히 대규모 실시에 적합하다. 실제로, 복합체화 단계에서 반응물들의 정확한 칭량 및 표제 결정의 부담이 단계 5)에서 몰 과량의 가돌리늄 금속 이온의 첨가로 인해 상당히 감소되며, 이것은 선행기술의 과정에는 개시되지 않았다.

[0041] 또한, 단계 6)은 침전을 통해 유리 가돌리늄 금속 이온을 제거하는 것을 제공한다. 이 정제 단계는 칼럼을 통한 정제(상기 언급된 선행기술 문헌에서 수행된 바와 같은)에 의해 그것을 제거하는 것보다 덜 과중하다. 몰 과량의 가돌리늄 금속 이온의 첨가는 화학량론적 양, 또는 화학량론적 양 미만의 가돌리늄 금속 이온 첨가와 비교하여 착물화 후 보다 많은 양의 유리 가돌리늄 금속 이온을 제공한다; 그러나, 이러한 많은 양의 유리 가돌리늄 금속 이온은 본 발명의 침전 단계 6)를 수행함으로써, 즉 여기 개시된 바와 같은 침전제로 유리 가돌리늄 금속 이온을 침전시킴으로써 효과적으로 그리고 효율적으로 제거될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 단계 5)와 단계 6)의 조합은 견고하며 대규모 제조에 적합한 과정을 통해 식 5의 이량체 착물의 용액으로부터 유리 가돌리늄 금속 이온의 특히 효과적인 제거를 제공한다.

[0042] 본 발명의 과정은 견고하며, 재현가능하고, 효율적이므로(적어도 수율 측면에서), 이량체 착물(5)의 대규모 제조를 위해 쉽게 실시될 수 있다.

[0043] 상기 과정의 단계 1)은 일반적으로 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액의 제조를 포함한다. 한 구체예에서, 이 용액은 유기 용매에서, 예를 들어 상업용 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르, 또는 공지된 합성 과정을 사용하여 제조된 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르를 용매에 용해함으로써 제조된다.

[0044] 바람직한 구체예에서, 1A의 용액은 사용 직전에 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 염, 예컨대 브롬화수소산염을 각 유리 염기 1A로 전환함으로써 제조된다. 전형적으로 브롬화수소산염의 중화를 포함하는 전환은 바람직하게 유기 용매에서 염기 또는 염기성 염(가수분해하여 염기성 용액을 형성하는 강염기와 약산의 중화 생성물인 염)의 존재하에 수행된다. 다음에, 형성된 염의 제거와 여과된 용액의 선택적인 농축에 의해 유기 용매 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액이 얻어지며, 이것은 그대로 후속 공정 단계에 사용하기에 적합하고, 에스테르의 임의의 정제 또는 분리는 필요하지 않다.

[0045] 적합한 유기 용매는 바람직하게 MeCN, 탄산프로필렌, 에탄올, t-부탄올, 헥산 등을 포함한다. 보다 바람직하게 유기 용매는 MeCN이다.

[0046] 출발 브롬화수소산염의 중화에 적합한 염기 또는 염기성 염은, 예를 들어 강염기 및 음이온 교환 수지, 예컨대 Diaion PA308, Amberlite IRA 400, KOH, tBuOK, Na_2CO_3 및 K_2CO_3을 포함하며, 후자의 2개가 바람직하다. 보다 바람직하게, DO3A 트리-tert-부틸 에스테르 브롬화수소산염의 중화는 K_2CO_3의 존재하에 수행된다.

[0047] 상기 과정의 단계 2)는 식 2의 화합물의 제조를 포함하며, 이것은 에피클로로히드린으로 D-글루카민을 알킬화하여 얻어질 수 있다. 알킬화는 유기 용매, 예컨대 쌍극성 유기 용매에서 또는 이들의 수성 혼합물에서 수행된다. 적합한 유기 용매는, 예를 들어 DMAC, DMF, 알코올, 예컨대 MeOH, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 보다 바람직하게 유기 용매는 DMAC이다. 다음에, 혼합물로부터 과량의 임의의 수성 용매 및/또는 에피클로로히드린을 증류하여 유기 용매 중의 식 2의 화합물의 용액이 얻어지며, 이것은 그대로 후속 공정 단계에 사용하기에 적합하고, 알킬화 생성물의 분리 및/또는 추가의 정제는 필요하지 않다.

[0048] 상기 과정의 단계 3)은 본질적으로 식 2의 중간체 화합물과 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 축합(또는 커플링, 본원에서는 상호 교환하여 사용됨)을 포함하며, 식 3의 보호된 리간드가 형성된다. 축합 반응은 바람직하게 염기의 존재하에 수행되며, 이것은 예를 들어 형성된 HCl의 어셉터로서 작용한다. 적합한 염기는, 예를 들어 음이온 교환 수지, 예컨대 Amberlite GC 400, NMM, tBuOK, Et_3N 및 DIPEA를 포함하며, Et_3N과 DIPEA가 바람직하고, DIPEA가 특히 바람직하다.

[0049] 한 구체예에서, 축합 반응은 단계 2)로부터 수집된 화합물 2의 용액에 단계 1)로부터 직접 수집된 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 유기 용액과 염기를 첨가하여 수행되며, 이로써 유기 용매 혼합물 중에 식 3의 축합 생성물을 포함하는 유기 조 용액이 얻어진다. 다음에, 유기 조 용액의 정제에 의해 물/유기 용매 혼합물 중의 정제된 생성물이 얻어지고, 임의의 유기 용매의 선택적인 최종 증류에 의해 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물 중의 식 3의 보호된 리간드가 얻어지며, 이것은 그대로 후속 공정 단계에 사용될 수 있고, 보호된 리간드 자체의 분리 및/또는 추가의 정제는 필요하지 않다.

[0050] 상기 과정의 단계 4)는 실질적으로 식 3의 보호된 리간드로부터 카복실 보호기의 제거를 포함하며, 이로써 식 4의 각 유리 리간드의 수성 용액 또는 수성 혼합물의 얻어진다. tert-부틸 보호기의 가수분해에 의한 탈보호는 당업자에게 공지된 반응물 및 조건을 사용하여 산성 조건과 염기성 조건에서 모두 수행될 수 있다. 한 구체예에서, 탈보호는 상기 과정의 단계 3)으로부터 직접 수집된 보호된 리간드의 수성 용액 또는 수성 혼합물의 산성화에 의해 수행되며, 이로써 식 4의 유리 리간드의 산성 용액이 얻어진다. 산성화는 바람직하게, 예를 들어 HCl, H_2SO_4 및 H_3PO_4로부터 선택된 산의 첨가에 의해 수행된다. HCl, HBr 등과 같은 단일 음전하를 갖는 반대이온을 포함하는 무기산이 특히 바람직하다. 바람직한 구체예에서, 탈보호는 HCl을 사용하여 수행된다. 특히 바람직한 구체예에서, 탈보호는 산성 반응 혼합물을 40℃를 초과하는 온도, 바람직하게 40℃ 초과 60℃ 이하의 온도, 더 바람직하게 45 내지 55℃의 범위 내의 온도로 가열 및/또는 유지함으로써 수행된다. 다음에, 산성 용액의 중화, 후속 정제 및 결과의 혼합물의 부분 농축에 의해 리간드(4)의 수성 용액 또는 수성 혼합물이 수집되고, 이것은 분리 없이 그대로 착물화 단계에 사용된다.

[0051] 단계 5)는 리간드와 몰 과량의 가돌리늄 금속 이온의 원하는 이량체 착물(5)로의 착물화를 포함한다. 편리하게 착물화 반응은 리간드의 용액에 적합한 Gd(III) 유도체, 특히 산화물, 예컨대 Gd_2O_3의 첨가 또는 가용성 가돌리늄 염의 첨가에 의해 수행될 수 있다. 한 구체예에서, 착물화 반응은 상기 과정의 단계 4)로부터 직접 수집된 리간드의 용액에 가용성 가돌리늄 염 $GdCl_3$의 첨가에 의해 수행된다.

[0052] 단계 6)은 식 5의 이량체 착물의 용액 내에 존재하는 유리 가돌리늄 금속 이온을 침전시키는 것을 포함한다. 이들 유리 이온이 존재하는 이유는 이들이 이전 단계에서 몰 과량으로 첨가되었고, 그리고 아마도 이전 단계에서 첨가된 가돌리늄이 전부 리간드(4)와 반응하여 원하는 이량체 착물(5)을 형성한 것이 아니었기 때문이다. 침전 단계 6)는 침전제를 첨가하여 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부를 불용성 가돌리늄 염으로서 침전시킴으로써 수행된다. 바람직한 침전제는 인산염(PO_4^{3-}), 인산일수소(HPO_4^{2-}), 인산이수소($H_2PO_4^-$), 오르토인산(H_3PO_4), 옥살산염($C_2O_4^{2-}$), 옥살산수소($HC_2O_4^-$), 및 옥살산($H_2C_2O_4$)으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 바람직한 양태에서, 침전제는 이량체 착물(5) 1 몰의 양에 대하여 적어도 1.1 몰의 양으로, 바람직하게 1.1 내지 5 몰의 양으로 첨가된다. 다른 바람직한 양태에서, 단계 6에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에, pH는 4.5 초과, 바람직하게 4.7

초과, 및 아마도 10.0 미만, 바람직하게 9.0 미만의 값으로 조정 및/또는 유지된다. 다른 바람직한 양태에서, 불용성 가돌리늄 염의 침전 후, 얻어진 용액을 제거, 예를 들어 여과하여 용액으로부터 불용성 가돌리늄 염을 제거하는 단계가 제공되며, 이로써 이러한 용액으로부터 불용성 가돌리늄 염이 분리된다.

[0053] 다음에, 결과의 여과된 혼합물은 (추가의 정제 단계를 통해) 더 정제되고 농축되어 원하는 순도를 갖는 원하는 이량체 착물(5)의 용액을 얻을 수 있다.

[0054] 단계 7)은 원하는 가돌리늄 착물(5)의 최종 분리를 포함한다. 이 단계는 공지된 과정에 따라서 편리하게 수행될 수 있다. 한 구체예에서, 단계 5)로부터 수집된 정제된 착물의 용액이 분무 건조되어, 필요한 순도 규격을 만족하는 흰색 고체로서 원하는 생성물이 얻어진다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 본 설명에서 달리 제시되지 않는다면 용어 "중간체"(예를 들어, D-글루카민과 에피클로로히드린의 알킬화 반응으로부터 유도한 식 2의 화합물, 또는 식 3의 보호된 리간드와 관련하여 사용된)는 최종 생성물 자체는 아니지만 상기 과정의 최종 생성물, 즉 이량체 착물 화합물 5를 제공하기 위해 하나(또는 이상의) 추가 반응, 예를 들어 알킬화/탈보호/착물화 반응(들)을 필요로 하는 상기 과정의 화학 합성 또는 제조 단계 중에 생성된 분자를 그 의미 내에 포함한다.

[0056] 달리 제시되지 않는다면 용어 "전구체"(예를 들어, 화합물 1A와 관련하여 사용된)는 전구체를 포함하거나 전구체로부터 유도된 다른 분자로의 변형을 촉진하는 화학 반응에 참여하는 분자를 그 의미 내에 포함한다.

[0057] 본 설명에서, 용어 "수성 용매"는 물, 수성 식염수 용액을 그 의미 내에 포함하며, 이것은 물과 혼화성인 소량의 유기 용매, 예컨대 부피 퍼센트로 10% 이하, 바람직하게 8% 이하, 더 바람직하게 5% 이하의 물과 혼화성인 유기 용매를 포함할 수 있고, 예를 들어 본 발명의 과정이 대부분의 중간체 생성물의 분리 없이 수행되기 때문에, 소량의 유기 용매는 상기 과정의 상류 및 제1 단계를 통해서 보유될 수 있다. 바람직하게 수성 용매는 물이다.

[0058] 표현 "물/유기 용매 혼합물" 또는 보다 간단히 "수성 용매 혼합물"은 본원에서 상호 교환하여 사용되며, 수성 용매를 포함하는 둘 이상의 용매의 혼합물, 예컨대 물과 하나 이상의 유기 용매의 혼합물을 그 의미 내에 포함하며, 모두 서로 혼화성이어서 균질한 용매 혼합물이 제공되고, 여기서 하나 이상의 유기 용매의 부피 퍼센트는 10%를 초과하고, 바람직하게 15%를 초과하며, 더 바람직하게 20%를 초과한다. 적합한 예들은, 예를 들어 식 3의 화합물의 크로마토그래피 정제에서 용리제로서 사용된 아세토니트릴과 물의 혼합물(또는 물/MeCN), 또는 예를 들어 단계 3)의 축합 반응으로부터 생긴 조 혼합물을 물로 희석한 후 얻어진 물/MeCN/DMAC의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 바람직한 양태에 따라서, 수송 용매 혼합물 내의(뿐만 아니라 수성 용매 내의, 존재하는 경우) 하나 이상의 유기 용매는 유해한 용매 또는 물질이 아니다; 실제로 수성 용매 혼합물은 바람직하게 TFA, TIPS 및/또는 DCM과 같은 유해한 용매를 포함하지 않는다.

[0059] 마찬가지로, 표현 "수성 용액" 및 "수성 혼합물"은 각각 물을 함유하는 용액 또는 혼합물을 그 의미 내에 포함한다. 적합한 예들은 각각 물 중의(더 일반적으로는 수성 혼합물 중의) 또는 수성 용매 혼합물 중의 하나 이상의 화합물, 예를 들어 시약, 산, 염기 또는 반응 생성물의 용액, 및 유기 용매 또는 용매 혼합물 중의 반응 혼합물에 물 또는 수성 용액을 첨가하여 생긴 혼합물, 예컨대 물/유기 혼합물을 포함한다.

[0060] 본 설명에서, 용어 "보호기"(예를 들어, 식 3의 화합물과 관련하여 사용된)는 그것이 결합되는 기의 기능을 보존하는데 적합한 보호기를 지칭한다. 구체적으로, 보호기는 카복실 기능을 보존하기 위해 사용된다. 보다 구체적으로, 이 용어는 tert-부틸 에스테르의 형성에 의해 리간드의 카복실 기의 킬레이트화 기능을 보존하는 tert-부틸 기를 지칭한다(보호기 및 탈보호 조건에 대한 일반적인 참고를 위해 T. W. Green and P. G. M. Wuts; *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, N.Y. 1999, third edition을 참조한다].

[0061] 달리 제시되지 않는다면 본원에서 사용된 용어 "침전제"는 단계 6)에서 첨가된 제제를 말하며, 이것은 본 발명의 과정에 따라서 이량체 착물(5)의 용액에 첨가되었을 때 적어도 단계 6)의 조건에서 음이온이거나, 또는 음이온을 생성한다. 이러한 음이온은 유리 가돌리늄 금속 이온과의 이온 결합(들)을 통해 본원에 정의된 바와 같은 불용성 가돌리늄 염을 생성할 수 있다.

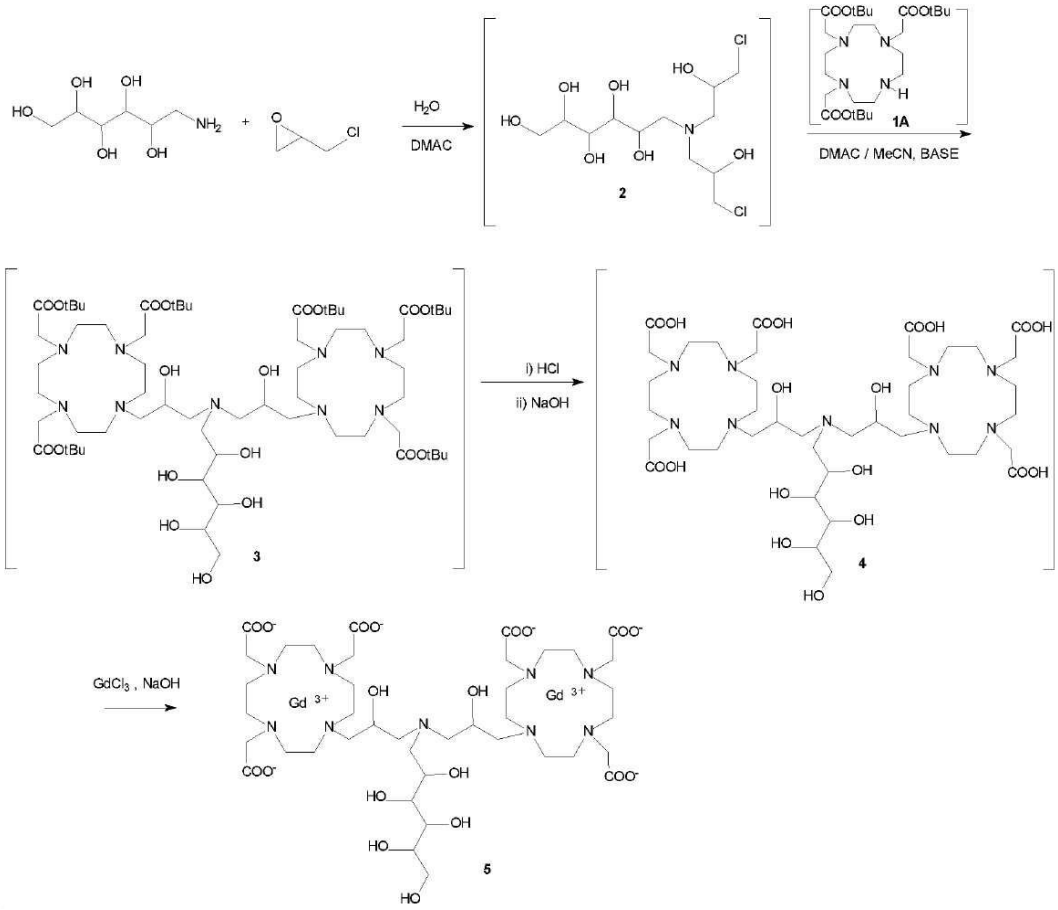
[0062] 달리 제시되지 않는다면 본원에서 사용된 용어 "불용성 가돌리늄 염"은 본원에 정의된 바와 같은 침전제의 첨가 후 생성된 염을 말한다. 불용성 가돌리늄 염은 양이온 Gd^{3+}, 및 반대이온으로서 침전제인, 또는 침전제에 의해

생성된 음이온을 포함한다. 적어도 본 발명의 과정의 단계 6)의 조건에서, 그리고 바람직하게 또한 단계 6의 하류 단계의 조건에서 적어도 여과 단계까지, 불용성 가돌리늄 염은 고체이며 여과가능한 물리적 형태로 반응 혼합물 내에 존재한다; 이들 조건에서 가돌리늄 염 1 질량부를 용해하는데 필요한 용매의 질량부는 바람직하게 100 이상, 더 바람직하게 1,000 이상, 더욱 바람직하게 10,000 이상이다. 불용성 가돌리늄 염의 예는 가돌리늄 인산염 및 가돌리늄 옥살산염이다. 용어 "가용성 가돌리늄 염"은 이량체 리간드(4)의 착물화를 수행하여 착물(5)을 얻기 위해 단계 5) 동안 첨가된 가용성 가돌리늄 염(전형적으로 $GdCl_3$)을 말한다.

[0063] 달리 제시되지 않는다면 본원에서 사용된 용어 "유리 가돌리늄 금속 이온"은 용액 내에 존재하며 이량체 리간드에 의해 킬레이트화되지 않은 가돌리늄 이온, 예컨대 $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$를 말한다.

[0064] 본 발명의 구체예는 본질적으로 하기 일반적인 합성안 2에 요약된 바와 같은 이량체 화합물 5의 제조 과정에 관한 것이며,

[0065] 합성안 2



[0066]

[0067] 이것은 주요 단계로서:

[0068] 1) 유기 용매에서 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산염을 중화하여 유기 용매 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액을 얻는 단계;

[0069] 2) D-글루카민을 에피클로로히드린과 반응시켜 DMAC와 같은 유기 용매 중의 식 2의 화합물의 용액을 얻는 단계; 및 생성물의 분리 없이

[0070] 3) 염기의 존재하에 단계 2)로부터의 식 2의 화합물과 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 반응시키고 용액을 선택적으로 농축하여 유기 조물질을 얻고, 유기 조물질을 물, 물/유기 용매 혼합물 및/또는 선택적인 수성 용액으로 희석하여 물/유기 조물질을 얻고, 물/유기 조물질을 정제하고, 임의의 유기 용매를 선택적으로 제거하여 식 3의 보호된 리간드의 수성 용액 또는 수성 혼합물을 얻는 단계; 및 생성물의 분리 없이

[0071] 4) 반응 혼합물의 온도를 40℃를 초과하는 온도로 가열 및/또는 유지하면서 단계 3)으로부터의 식 3의 보호된 리간드의 용액을 산성화하여 각 탈보호된 리간드(4)의 산성 수성 용액 또는 수성 혼합물을 얻고, 산성 용액을

중화하고, 결과의 중성 용액을 정제하여 탈보호된 리간드(4)의 수성 용액 또는 수성 혼합물을 얻는 단계; 및 후자의 분리 없이

[0072] 5) 리간드(4)의 용액에 몰 과량의 가돌리늄 금속 이온을 첨가하여 상응하는 착물 화합물 5의 용액을 얻는 단계;

[0073] 6) 상응하는 착물 화합물 5의 용액에 침전제를 첨가하여 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부를 불용성 가돌리늄 염으로서 침전시키고, 이로써 상응하는 착물 화합물 5의 용액을 얻는 단계; 및

[0074] 7) 착물을 분리하는 단계

[0075] 를 포함한다.

[0076] 단계 1

[0077] 상기 과정의 제1 단계는 염기 또는 염기성 염의 존재하에 유기 용매에서 직접 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산 염을 각 유리 염기로 전환함으로써 MeCN과 같은 유기 용매 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액을 제조하는 것을 포함한다.

[0078] 바람직한 구체예에서, 상기 과정의 단계 1)은:

[0079] i) MeCN과 같은 유기 용매에 K_2CO_3과 같은 염기 또는 염기성 염과 함께 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산 염을 현탁하여 형성된 염을 포함하는 현탁액을 얻는 단계;

[0080] ii) 현탁액을 여과하는 단계; 및

[0081] iii) 여과된 현탁액을 수집하고 선택적으로 농축하여 유기 용매 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액을 얻는 단계

[0082] 를 포함하며, 이것은 그대로 후속 축합 반응에 사용하기에 적합하고, 에스테르의 임의의 정제 또는 분리는 필요하지 않다.

[0083] 브롬화수소산 에스테르와 K_2CO_3은 바람직하게 실온에서 유기 용매에 현탁되어 혼합물이 얻어지고, 이것은 이후 16-30h, 바람직하게 18-20h의 시간 동안 20-30℃, 바람직하게 약 25℃의 온도에서 교반하에 유지된다. 다음에, 혼합물은 형성된 염을 제거하기 위해 바람직하게 여과 처리된다.

[0084] 바람직한 구체예에서, 여과에 의해 얻어진 용액은, 예를 들어 용매의 부분 증류에 의해 열 농축되고, 이로써 55-65%, 바람직하게 약 60%(w/w)의 최종 농도를 갖는 MeCN 중의 트리-tert-부틸 에스테르(1A)의 용액이 얻어지며, 이것은 그대로 상기 과정의 후속 축합 단계에 사용하기에 적합하다.

[0085] 단계 2

[0086] 이 단계는 D-글루카민과 에피클로로히드린을 반응시킴으로써 식 2의 중간체 화합물의 용액을 제조하는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 이 반응은 용매의 혼합물에서, 바람직하게 물/DMAC에서 화학량론적 양보다 약간 과량의 에피클로로히드린을 사용하여, 예를 들어 D-글루카민 1 몰 당 에피클로로히드린 2-3 몰, 더 바람직하게 약 2.2 몰을 사용하여 수행된다. 바람직하게, 단계 2)의 이러한 반응은 화학량론적 양보다 약간 과량의 에피클로로히드린을 사용하여, 예를 들어 D-글루카민 1 몰 당 에피클로로히드린 2-3 몰, 더 바람직하게 2.05-2.5 몰, 더욱 바람직하게 약 2.2 몰을 사용하여 수행된다.

[0087] 바람직한 구체예에서, 상기 과정의 단계 2는:

[0088] i) DMAC 중의 에피클로로히드린의 용액에 D-글루카민의 수성 용액을 첨가하여 물/DMAC 용매 혼합물 중의 식 2의 중간체 화합물을 얻는 단계; 및

[0089] ii) 용매 혼합물로부터 물을 제거하여 유기 용매 중의 식 2의 화합물의 용액을 얻는 단계

[0090] 를 포함한다.

[0091] 에피클로로히드린의 용액에 D-글루카민의 첨가는 바람직하게 실온에서 약 2h의 시간 내에 수행되어 혼합물이 얻어지고, 이것은 16-24h, 바람직하게 16-20h, 더 바람직하게 약 17h의 시간 동안 15-30℃, 바람직하게 15-25℃, 더 바람직하게 20-25℃의 온도에서 교반하에 유지된다.

[0092] 다음에, 혼합물은 물 및 임의의 선택적인 에피클로로히드린 잔류물을 제거하기 위해 증류된다. 바람직하게 증류

는 감압, 및 바람직하게 40-65℃의 온도에서 수행되고, 이로써 잔류 물 함량이 바람직하게 < 2% w/w인 DMAC 중의 식 2의 원하는 중간체 화합물의 용액이 얻어진다. 다음에, 얻어진 용액은 그대로 후속 축합 반응에 사용되며, 생성물의 임의의 분리 또는 정제는 필요하지 않다.

[0093] 단계 3

[0094] 이 단계는 본질적으로 염기, 예컨대 Et_3N 또는 보다 바람직하게 DIPEA의 존재하에 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 중간체(2)의 축합을 포함한다. 축합은 바람직하게 단계 1)로부터의 MeCN 중의 에스테르(1A)의 용액과 염기를 단계 2)로부터 직접 수집된 DMAC 중의 중간체(2)의 용액과 혼합함으로써 수행되며, MeCN/DMAC 유기 용매의 혼합물 중의 식 3의 보호된 리간드를 포함하는 미정제 용액(또는 조물질)이 얻어지고, 이후 정제된다. 한 구체예에서, 축합 반응으로부터 생긴 유기 조 용액은 물로 희석되거나, 또는 부분적으로 농축된 후 물 또는 수성 용매 혼합물, 바람직하게 물/MeCN으로 희석되며, 이로써 물/유기 조물질, 또는 수성 조물질이 얻어지는데, 이들은 본원에서 상호 교환하여 사용된다.

[0095] 바람직한 구체예에서, 이렇게 얻어진 물/유기 조물질, 또는 바람직하게 축합 반응으로부터 얻어진 유기 조물질에 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르 염산염을 포함하는 반응염의 침전을 촉진하는 수성 용액이 첨가되고, 염은 이후 여과에 의해 제거되어 여과된 물/유기 용액이 제공된다. 다음에, 물/유기 조물질 또는 여과된 물/유기 용액은 바람직하게 크로마토그래피에 의해 정제된다.

[0096] 한 구체예에서, 염산염의 침전을 촉진하기 위해 사용된 수성 용액은 수성 암모니아이다.

[0097] 보다 구체적으로, 상기 과정의 단계 3)은 바람직하게:

[0098] i) 염기, 바람직하게 DIPEA의 존재하에 단계 2)로부터의 식 2의 중간체 화합물과 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 축합하여 유기 용매 혼합물 중의 식 3의 축합 생성물과 반응염을 포함하는 유기 조 용액을 얻고, 유기 조물질을 선택적으로 농축하는 단계;

[0099] ii) 단계 i)의 유기 조물질을 물 또는 물/유기 용매 혼합물, 바람직하게 물/MeCN으로 희석하여 물/유기 조물질을 얻는 단계;

[0100] iii) 물/유기 조물질에 반응염의 침전을 촉진하는 수성 용액을 선택적으로 첨가하고 여과에 의해 반응염을 제거하여, 여과된 물/유기 용액을 얻는 단계; 또는

[0101] iv) 단계 i)의 유기 조물질을 반응염의 침전을 촉진하는 수성 용액으로 희석하고 여과에 의해 반응염을 제거하여, 여과된 물/유기 용액을 얻는 단계;

[0102] v) 단계 ii)의 물/유기 조물질, 또는 단계 iii) 또는 iv)의 여과된 물/유기 용액을 정제하여 물/유기 용매 혼합물 중의 식 3의 보호된 리간드의 용액을 얻고, 이것은 보호된 생성물의 임의의 분리 또는 추가의 정제 없이 상기 과정의 후속 탈보호 단계에서 사용될 수 있는 단계; 및

[0103] vi) 혼합물로부터 임의의 유기 용매를 선택적으로 제거하여 물, 또는 더 일반적으로 수성 용매 중의 식 3의 보호된 리간드의 용액을 얻고, 이것은 보호된 생성물의 임의의 분리 또는 추가의 정제 없이 상기 과정의 후속 탈보호 단계에서 사용되는 단계

[0104] 를 포함한다.

[0105] 축합 반응은 바람직하게 상기 과정의 단계 1)로부터 수집된 MeCN 중의 에스테르(1A)의 용액과 염기를 단계 2)로부터 수집된 DMAC 중의 식 2의 중간체 화합물의 용액에 첨가함으로써 수행된다.

[0106] 반응되는 D-글루카민의 양에 대하여 염기와 에스테르(1A)의 적절한 양이 편리하게 결정된다. 한 구체예에서, 축합 반응은 반응되는 출발 D-글루카민 1 몰 당 에스테르(1A) 1.6-2.4 몰, 바람직하게 약 1.8 몰, 및 DIPEA 2-4 몰, 바람직하게 약 2.3 몰을 사용하여 수행된다.

[0107] 첨가는 바람직하게 40-50℃의 온도에서 수행된다. 다음에, 축합 반응이, 예를 들어 60-80h, 바람직하게 70-75h의 시간 동안 50-80℃, 바람직하게 65-75℃의 온도에서 수행되고, MeCN/DMAC 용매 혼합물 중의 식 3의 원하는 축합 생성물과 염산염을 포함하는 미정제 용액이 얻어진다.

[0108] 한 구체예에서, 미정제 용액은 물로 희석되어, 바람직하게 약 25-30%, 더 바람직하게 약 25%(w/w)의 농도를 갖는 물/유기 조물질이 얻어진다. 한 바람직한 구체예에서, 수성 조물질은 중량 기준으로 혼합물에서 유기 용매, 구체적으로 MeCN의 양과 적어도 동일한 양의 물을 포함한다; 보다 바람직하게, 조물질은 약 60:40의 물:MeCN 비

를 가진다.

[0109] 다음에, 물/유기 조물질은 바람직하게 크로마토그래피에 의해, 더 바람직하게 수지 상에서, 더욱 바람직하게 Amberlite XAD® 1600과 같은 흡착 수지 상에서 정제된다. 바람직한 구체예에서, 수성 조물질은 용리제로서 물/MeCN 혼합물을 사용하여 Amberlite XAD® 1600과 같은 흡착 수지 상에서 정제되며, 이로써 물/MeCN 용매 혼합물 중에 미반응 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 순수한 축합 생성물이 분리된 분획으로서 얻어진다.

[0110] 다른 구체예에서, 축합 반응으로부터 생긴 미정제 용액은 MeCN의 적어도 일부를 제거하기 위해, 예를 들어 증류에 의해 먼저 농축된다. 다음에, 농축된 용액은 물 또는 물:MeCN의 혼합물로 희석되고, 이로써 상기 물:MeCN 비를 갖는 물/유기 조물질이 얻어지며, 이것은 이후 상기 언급된 대로 크로마토그래피에 의해 정제된다.

[0111] 선택적으로, 상기 언급된 대로 얻어진 물/유기 조물질에 수성 암모니아와 같은 수성 용액이 첨가되는데, 이것은 혼합물의 냉각에 의해 미반응 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 염산염으로서의 침전을 촉진하고, 염은 이후 여과에 의해 제거되며, 선택적으로 재순환된다. 다음에, 염화물염이 대부분 제거된 여과된 용액은 크로마토그래피에 의해 Amberlite XAD® 1600과 같은 흡착 수지 상에서 정제되고, 물/유기 용매 혼합물, 예컨대 물/MeCN 혼합물 중에 잔류 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 순수한 축합 생성물이 분리된 분획으로서 얻어진다.

[0112] 바람직한 구체예에서, 예를 들어 수성 암모니아를 포함하는 수성 용액이 축합 반응으로부터 얻어진 유기 미정제 용액에 직접 첨가되어 혼합물의 냉각에 의해 미반응 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 염산염으로서의 침전을 촉진하고, 염은 이후 여과에 의해 제거되며, 선택적으로 재순환된다. 다음에, 염화물염이 대부분 제거된 여과액은 크로마토그래피에 의해 Amberlite XAD® 1600과 같은 흡착 수지 상에서 정제되고, 물/유기 용매 혼합물, 예컨대 물/MeCN 혼합물 중에 잔류 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 순수한 축합 생성물이 분리된 분획으로서 얻어진다.

[0113] 다음에, 예를 들어 감압하에, 순수한 분획으로부터 유기 용매의 선택적인 최종 증류에 의해 5-15%(w/w), 바람직하게 약 10%(w/w)의 최종 농도를 갖는 수성 용액 중의 식 3의 축합 생성물이 얻어지며, 이것은 그대로 후속 탈보호 단계에 사용하기에 적합하고, 중간체의 임의의 분리 또는 추가의 정제는 필요하지 않다.

[0114] 흥미롭게도, 상기 과정상의 단계들은 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물 중의 보호된 축합 생성물(3)을 얻는 것을 허용하며, 이로써 유일한 반응 용매로서 또는 주요 반응 용매 중 하나로서, 물, 더 일반적으로 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물을 사용하여 탈보호 및 최종 착물(5)로의 착물화를 수행하는 것이 가능하다. 수성 용매 중의 보호된 축합 생성물(3)은 당업자에게 공지된 여러가지 방법에 따라서 얻어질 수 있다. 예를 들어, 상기 언급된 대로, 예를 들어 단계 2)로부터의 식 2의 화합물과 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 반응시켜 얻어진, 식 3의 화합물의 유기 조 용액이 물, 물/유기 용매 혼합물, 또는 수성 용액으로 희석될 수 있고, 이로써 물/유기 조물질이 얻어진다. 유기 용매를 제거하기 전에, 물/유기 조물질은 크로마토그래피, 바람직하게 수지, 더 바람직하게 흡착 수지, 예컨대 Amberlite XAD® 1600을 통해 정제될 수 있다. 다음에, 예를 들어 감압하의 증류에 의해 유기 용매가 제거될 수 있고, 이로써 식 3의 화합물의 수성 용액이 얻어진다. 또한, 수성 용매 혼합물 중의 보호된 축합 생성물(3)도 당업자에게 공지된 여러가지 방법에 따라서 얻어질 수 있다. 예를 들어, 단계 2)로부터의 식 2의 화합물과 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 반응시켜 얻어진, 식 3의 화합물의 유기 조 용액이 물, 물/유기 용매 혼합물, 또는 수성 용액으로 희석될 수 있고, 이로써 물/유기 용액이 얻어지며, 생성물(3)의 분리 없이 후속 단계에 사용될 수 있다.

[0115] 따라서, 본 발명의 바람직한 양태에 따라서, 단계 3)은 식 3의 화합물의 용액을 식 3의 화합물의 수성 용액, 또는 수성 혼합물로 전환하는 추가 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직하게, 이 추가 단계는 (i) 식 3의 화합물의 용액을 물, 물/유기 용매 혼합물, 또는 수성 용액으로 희석하여 수성 혼합물(또는 물/유기 용액)을 얻는 단계, 및 (ii) 선택적으로 예를 들어 증류에 의해 유기 용매를 제거하여 수성 용액을 얻는 단계에 의해 수행된다.

[0116] 단계 4

[0117] 이 단계는 카복실 보호기를 제거함으로써 식 3의 보호된 리간드를 탈보호하는 것을 포함하며, 이로써 각 유리 리간드(4)의 수성 용액 또는 수성 혼합물이 얻어진다. 이 반응은 바람직하게 상기 과정의 단계 3)으로부터 직접 수집된 식 3의 보호된 리간드의 수성 용액 또는 혼합물을 산성화하고, 더욱 바람직하게는 용액의 산성화 도중에 및/또는 이후에 반응 혼합물의 온도를 40℃를 초과하는 온도로 가열 및/또는 유지함으로써 수행된다.

[0118] 한 구체예에서, 상기 과정의 단계 4)는:

[0119] i) 단계 3으로부터 수집된 식 3의 화합물의 수성 용액 또는 수성 혼합물에 산을 첨가하고, 이러한 첨가 도중에

및/또는 이후에 용액의 온도를 40℃ 초과, 바람직하게 40℃ 초과 60℃ 이하, 더 바람직하게 45 내지 55℃의 범위 내의 온도로 가열 및/또는 유지하여 유리 리간드(4)의 산성 용액을 얻는 단계;

[0120] ii) 산성 용액에 염기를 첨가하여 리간드(4)의 실질적으로 중화된 용액을 얻는 단계;

[0121] iii) 선택적으로, 중화된 용액을 정제하고(예를 들어, 증류를 통해), 이어서 선택적으로 농축하여 유리 리간드(4)의 수성 용액 또는 수성 혼합물을 얻는 단계

[0122] 를 포함하며, 이것은 그대로 후속 착물화 반응에 사용하기에 적합하고, 리간드의 임의의 분리는 필요하지 않다.

[0123] 한 구체예에서, 식 3의 보호된 화합물의 용액은 산, 바람직하게 무기산, 더 바람직하게 단일 음전하를 갖는 반대이온을 포함하는 무기산, 예컨대 34% 수성 HCl의 첨가에 의해 산성화된다. 단일 음전하를 갖는 반대이온을 포함하는 무기산은 이들 산이 유리 가돌리늄 금속 이온과 상호작용하는 경향을 갖지 않고, 선택적인 하류 정제 과정(예를 들어, 나노여과) 동안 이들이 보다 쉽게 제거될 수 있기 때문에 특히 바람직하다.

[0124] 이 탈보호 단계 4)는 특히 상기 온도 범위 내에서 수행될 때 매우 유익한데, 매우 짧은 탈보호 시간, 특히 24시간 미만의 반응 시간, 예를 들어 8-20시간 이내, 바람직하게 12-18시간, 더 바람직하게 16시간 이내의 반응 시간이 허용되기 때문이다.

[0125] 또한, 이 탈보호 단계 4)는, 특히 상기 온도 범위 내에서 수행되었을 때, 소량의 산을 사용하여 보호된 이량체 리간드를 탈보호하는 것을 제공한다. 실제로 산성화는, 예를 들어 보호된 화합물 3의 1 몰에 대해 상기한 것들과 같은 산, 바람직하게 HCl을 10-45 몰, 바람직하게 10-35 몰, 더 바람직하게 15-25 몰의 양으로 를 사용하여 수행된다. 이것은 시약을 절약하고, 탈보호 단계 동안 염의 생성이 감소된다는 이점을 제공한다. 예를 들어, 용액의 산성화에 HCl이 사용되었을 때, 소량의 HCl의 사용은 탈보호된 이량체 리간드의 중화에 NaOH가 사용되었을 때 형성되는 NaCl 염의 양을 감소시킬 것이다; 다른 산과 염기가 각 단계에서 사용되는 경우에도 유사한 예들이 제시될 수 있다.

[0126] 상기 언급된 대로, 산의 첨가 도중에 및/또는 바람직하게 이후에, 용액의 온도는 바람직하게 40℃ 초과, 더 바람직하게 40℃ 초과 60℃ 이하, 더욱 바람직하게 45 내지 55℃의 범위 내의 온도로 가열 및/또는 유지된다. 다음에, 결과의 용액은 24시간 미만, 예를 들어 8-20시간 이내, 바람직하게 12-18시간, 더 바람직하게 16시간 이내의 시간 동안 상기 온도 범위 내에서 교반하에 유지되고, 이후 예를 들어 크로마토그래피에 의해 리간드가 탈보호된다.

[0127] 다음에, 산성 용액이, 예를 들어 25℃에서 냉각되고, 이후 염기, 바람직하게 NaOH의 첨가에 의해 중화되어 4-7, 바람직하게 5-6, 더 바람직하게 5.3-5.7, 더욱 바람직하게 5.5의 최종 pH를 갖는 미정제 용액이 얻어지며, 이것은 이후 정제될 수 있다.

[0128] 본원에 개시된 바와 같은 탈보호 단계 4)를 수행함으로써 상응하는 탈보호된 이량체 리간드(4)와 알코올 t-부탄올을 포함하는 용액이 얻어진다. 따라서, 추가의 바람직한 구체예에 따라서, 바람직하게 착물화 단계 5) 전에, 탈보호된 이량체 리간드(4)를 포함하는 용액으로부터, 바람직하게 이러한 용액의 증류에 의해 tBuOH가 제거된다. 바람직한 구체예에 따라서, 이량체 리간드(4)를 포함하는 용액은 이량체 리간드(4)의 최종 농도가 8% 내지 12%(w/w), 더 바람직하게 9% 내지 11%(w/w), 더욱 바람직하게 10%(w/w)이 될 때까지 증류된다.

[0129] 유익하게는, 상기 과정은 단독 반응 용매로서 또는 주요 반응 용매 중 하나로서 물을 사용하는 것을 포함하며, 이로써 상기 언급된 선행기술의 과정에서 필요한 유기 용매, 특히 DCM과 같은 유해한 용매, 및 TFA 및 TIPS와 같은 유해한 반응물의 사용이 회피되거나 감소된다. 이들 유해한 물질은 취급이 어렵고, 따라서 대규모 제조시 사용하기에 부적합하다. 또한, 이 단계에 의해 분리할 필요 없이 착물화 반응에 바로 사용이 가능한 수성 용액 또는 수성 혼합물 중의 원하는 리간드가 얻어진다.

[0130] 단계 5

[0131] 이 단계는 식 4의 이량체 리간드와 가돌리늄 이온의 착물화를 포함하며, 원하는 킬레이트화된 착물(5)의 수성 용액 또는 수성 혼합물이 얻어진다.

[0132] 보다 구체적으로, 이 단계는 바람직하게 단계 4)로부터 수집된 리간드의 용액에 $GdCl_3$과 같은 가용성 가돌리늄 염을 몰 과량으로 첨가하는 것을 포함하며, 이로써 이량체 킬레이트화된 착물(5)을 포함하는 혼합물이 얻어진다.

[0133] 식 4의 탈보호된 이량체 리간드는 2개의 킬레이트화 모이어티를 가지며, 따라서 하나의 이량체 리간드가 2개의

가돌리늄 금속 이온과 킬레이트를 형성할 수 있으므로, 본 발명의 과정에서 단계 5)와 관련하여 용어 "몰 과량"은 가돌리늄 금속 이온의 몰량이 식 4의 이량체 리간드의 몰량보다 2배를 넘는 것을 말한다. 따라서, 본 발명의 과정의 단계 5)와 관련하여 용어 "몰 과량"은 이량체 리간드 1 몰에 대하여 가돌리늄 금속 이온이 2 몰을 초과하는 것을 말한다. 예를 들어, 식 4의 탈보호된 이량체 리간드 1 몰에 대하여 단계 4)의 용액에 2.05 몰 이상, 바람직하게 2.05 내지 2.50 몰, 더 바람직하게 2.20 몰 이하, 더욱 바람직하게 2.12 몰 이하의 가돌리늄 금속 이온이 첨가된다.

[0134] 반응은 바람직하게 상기 과정의 선행 단계로부터 수집된 리간드의 용액에 직접 $GdCl_3$을 첨가함으로써 수행된다. 첨가는 바람직하게 20-50℃, 더 바람직하게 30-45℃, 더욱 바람직하게 37-43℃의 범위 내의 온도에서 수행된다. 단계 5)에 따라서 가돌리늄 이온을 첨가한 후, 반응 혼합물은 바람직하게, 예를 들어 상기 제공된 온도 범위에서 1-5시간, 더 바람직하게 2-4시간 동안 유지된 후, 후속 단계(들)이 수행된다.

[0135] 첨가 후, 결과의 혼합물의 pH는, 예를 들어 상기 제공된 시간 동안 및/또는 온도에서, 예를 들어 염기, 바람직하게 NaOH의 첨가에 의해 5.0-7.0, 더 바람직하게 5.0-6.0의 범위의 값으로 조정된다.

[0136] 상기 언급된 대로, 단계 5)는 몰 과량의 가돌리늄 금속 이온의 첨가로 인해 착물화 단계에서 반응물들의 정확한 칭량 및 표제 결정의 부담이 상당히 감소되기 때문에 특히 유익하며, 이로써 전체 과정의 견고성이 개선된다. 이 과정은 특히 견고하고 재현가능하며 효율적이므로 대규모 제조에서 훨씬 더 쉽게 실시될 수 있다.

[0137] 바람직한 구체예에 따라서, 단계 5) 후에, 그리고 선택적으로 단계 6) 전에, 본 발명의 과정은 바람직하게 나노여과를 통해 식 5의 이량체 착물의 용액을 탈염하는 추가 단계를 포함한다. 이 탈염(예를 들어, 나노여과) 단계는 착물화 단계에서 생성된 염, 예를 들어 가용성 가돌리늄 염의 첨가 후 생성된 염뿐만 아니라 탈보호 단계 4)에서 생성된 염의 제거를 허용한다. 탈염 단계는 유리 가돌리늄 금속 이온이나 모노가돌린화 착물은 제거하지 않으며, 염을 제거하는데 유용하며, 이로써 침전제를 제거하기 위한 선택적인 후속 단계를 개선할 수 있다.

[0138] 탈염 단계는 용액의 전도도 값이 5.0 mS/cm 이하, 바람직하게 1 mS/cm 이하, 더욱 바람직하게 0.8 mS/cm 이하가 될 때까지 수행될 수 있다.

[0139] 단계 6

[0140] 본 발명의 과정의 단계 6)은 선행 단계의 용액에 침전제를 첨가하여 이러한 용액 내에 존재하는 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부를 침전시키는 것을 제공한다. 실제로 이 단계는 유리 가돌리늄 금속 이온의 일부, 특히 그것의 실질적인 부분을 침전시키는 것을 허용한다: 하기 실험 섹션에 나타낸 대로, 침전 단계 6)는 착물화 단계 5) 후 존재하는 유리 가돌리늄 금속 이온의 실질적인 부분을 침전시키는 것을 허용하며, 이로써 유리 가돌리늄 금속 이온의 함량이 (이량체 착물(5)의 양에 대하여) 거의 수만 ppm에서 100ppm 또는 심지어 수십 ppm으로 감소된다. 특히, 이 단계는 가돌리늄 착물(5)의 양에 대하여 350ppm 미만, 바람직하게 150ppm 미만, 더 바람직하게 100ppm 미만, 더욱 바람직하게 80ppm 미만의 유리 가돌리늄 금속 이온의 양을 함유하는 이량체 착물(5)을 포함하는 용액의 제조를 제공한다. 본 발명에 따라서, 유리 가돌리늄 금속 이온의 높은 ppm 값, 예를 들어 침전 단계 전, 또는 실시예 8의 경우 주석산수소칼륨의 첨가 후의 ppm 값, 또는 일반적으로 4000ppm 이상의 ppm 값은 자일레놀 오렌지의 존재하에 EDTA에 의한 종래의 착화합물 적정에 의해 결정되지만, 유리 가돌리늄 이온의 낮은 ppm 값, 예를 들어 침전 단계 후의 ppm 값, 또는 일반적으로 4000ppm 미만의 ppm 값은 하기 실험 섹션에 제시된 바와 같은 과정 5를 수행함으로써 결정된다.

[0141] 유리 가돌리늄 금속 이온의 침전을 얻고 모노가돌린화 착물의 생성을 피하기 위해, 침전제는 바람직하게 인산염(PO_4^{3-}), 인산일수소(HPO_4^{2-}), 인산이수소($H_2PO_4^{-}$), 오르토인산(H_3PO_4), 옥살산염($C_2O_4^{2-}$), 옥살산수소($HC_2O_4^{-}$), 및 옥살산($H_2C_2O_4$)으로 구성되는 군으로부터 선택된 적어도 1종이다. 바람직하게, 침전제는 인산염(PO_4^{3-}), 옥살산염($C_2O_4^{2-}$), 및 인산일수소(HPO_4^{2-})로 구성되는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 음이온이고, 더 바람직하게는 인산일수소(HPO_4^{2-})이다.

[0142] 모노가돌린화 착물은 이량체 리간드(5)가 2개 대신 오직 1개의 가돌리늄 이온과 킬레이트를 형성한 Gd(III) 착물이다. 이들 모노가돌린화 착물은 디가돌린화 Gd(III) 착물(5)의 유리한 이완 특성을 나타내지 않는다. 모노가돌린화 착물은 디가돌린화 착물과 매우 유사한 물리적 특성을 가지기 때문에 착물화 단계로부터 얻어진 용액으로부터 이들 모노가돌린화 착물을 효율적으로 제거하는 것은 어렵고 귀찮은 일이다. 따라서, 단계 6)의 바람직

한 구체예는 착물화 단계 도중에 또는 이후에 모노가돌린화 착물의 생성을 가능한 많이 피하는 것을 제공한다; 이것은 많은 양의 모노가돌린화 착물을 포함하는 이량체 가돌리늄 착물의 용액을 제공하는 상기 언급된 선행기술에 개시된 과정과 비교하여 특히 사실이다.

[0143] 단계 6)의 바람직한 구체예에 따라서, 침전제는 바람직하게 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물 용액 내의 유리 가돌리늄 금속 이온에 대하여 적어도 화학량론적 양으로 첨가된다. 유익하게는, 침전체는 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물 용액 내의 가돌리늄 금속 이온 1 몰에 대하여 적어도 1.1 몰, 바람직하게 1.1 내지 5 몰, 더 바람직하게 1.2 내지 3 몰, 더욱 바람직하게 1.4 내지 2.5 몰, 가장 바람직하게 1.4 내지 1.6 몰의 양으로 첨가된다. 또한, 비교예에 의해 실험 섹션에서 증명된 대로, 이들 바람직한 양의 침전제의 첨가는 선택적인 여과 단계 후 선택적인 추가 정제 단계 전에 유리 가돌리늄 금속 이온과 모노가돌린화 착물을 모두 적은 양으로 함유하는 용액, 즉 유리 가돌리늄 금속 이온을 상기 특정된 것보다 적은 양으로 함유하고 모노가돌린화 착물을 550ppm 미만의 양, 바람직하게 모노가돌린화 착물의 양을 결정하는데 사용된 방법의 LoQ 미만의 양(<400ppm *vs.* 가돌리늄 착물의 양)으로 함유하는 용액을 제공한다. 반면, 침전제가 상기 바람직한 양을 초과하는 양으로 단계 6)에서 첨가된 경우, 결과의 용액은 모노가돌린화 착물을 많은 양으로, 즉 600ppm을 초과하는 양으로 함유할 수 있을 것이다. 모노가돌린화 착물의 이들 ppm 값뿐만 아니라 본 발명에서 모노가돌린화 착물의 모든 ppm 값은 하기 실험 섹션에 제시된 과정 6을 수행함으로써 결정된다.

[0144] 본 발명의 과정에서 단계 6)이 상기 특정된 바와 같은 바람직한 양의 침전제를 첨가함으로써 수행된 경우, 본 발명의 과정은 바람직하게 침전제를 첨가하기 전 단계 5)로부터 얻어진 식 5의 이량체 착물 용액 중 유리 가돌리늄 금속 이온의 양을 결정하는 추가 단계를 포함할 수 있고, 이로써 침전제가 상기 특정된 바람직한 양으로 첨가될 수 있다. 이 결정 단계는 유리 가돌리늄 금속 이온의 양을 결정하는 공지된 방법에 따라서, 예를 들어 본원에 개시된 방법에 따라서 수행될 수 있다.

[0145] 단계 6)은 바람직하게 15-40℃, 더 바람직하게 20-30℃의 범위 내에서 용액의 온도를 유지함으로써 수행된다. 침전제의 첨가 후, 반응 혼합물은 바람직하게, 예를 들어 상기 제공된 온도 범위에서 1-4시간, 바람직하게 1.5-3시간, 더 바람직하게 2시간의 시간 동안 유지되며, 이후 선택적인 후속 단계(들)이 수행된다.

[0146] 바람직한 구체예에서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에 pH는, 예를 들어 상기 제공된 바와 같은 시간 동안 및/또는 온도에서 4.5 이상, 바람직하게 4.7 이상, 더 바람직하게 4.9 이상, 더욱 바람직하게 5.5 이상의 값으로 조정 및/또는 유지된다. 바람직하게, 이 pH는 적어도 침전된 불용성 가돌리늄 염이 가돌리늄 착물 용액으로부터 여과될 때까지 유지된다. 또한, 비교예에 의해 하기 실험 섹션에서 증명된 대로, 놀랍게도 출원인은 pH를 이들 값으로 조정 및/또는 유지하면서 유리 가돌리늄 금속 이온을 침전시키는 것에 의해 선택적인 여과 단계 후 선택적인 추가 정제 단계 전에 모노가돌린화 착물을 특히 적은 양으로 함유하는 용액, 예를 들어 가돌리늄 착물에 대하여 모노가돌린화 착물을 550ppm 미만, 바람직하게 400ppm 미만의 양으로 함유하는 용액이 얻어진다는 것을 발견했다.

[0147] 추가의 바람직한 구체예에 따라서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에, pH는, 예를 들어 상기 제공된 시간 동안 및/또는 온도에서, pH가 상기 나타낸 값을 초과하고, 10.0 이하, 바람직하게 9.0 이하, 더 바람직하게 8.5 이하, 더욱 바람직하게 7.5 이하, 가장 바람직하게 6.5 이하가 되도록 조정 및/또는 유지될 수 있다. 바람직하게, 이 pH는 적어도 침전된 불용성 가돌리늄 염이 가돌리늄 착물 용액으로부터 여과될 때까지 유지된다. 놀랍게도 출원인은 이들 pH 값 아래에서 작업함으로써 침전 단계 후 선택적인 추가 정제 단계 전에 용액 내의 유리 가돌리늄 금속 이온의 양이 특히 저하된다는 것을 발견했다.

[0148] 보다 바람직한 구체예에 따라서, 단계 6)에 따른 침전제의 첨가 도중에 및/또는 이후에, pH가 4.5-9.0, 더 바람직하게 4.7-8.5, 더욱 바람직하게 4.9-7.3, 가장 바람직하게 6-6.5 또는 5.5-6.5의 범위로, 예를 들어 상기 제공된 바와 같은 시간 동안 및/또는 온도에서 조정 및/또는 유지될 수 있다. 바람직하게, 이 pH는 적어도 침전된 불용성 가돌리늄 염이 가돌리늄 착물 용액으로부터 여과될 때까지 유지된다. 놀랍게도 출원인은 상기 나타낸 범위 내로 pH를 조정 및/또는 유지하는 것에 의해 선택적인 여과 단계 후 선택적인 추가 정제 단계 전에 유리 가돌리늄 금속 이온과 모노가돌린화 착물의 함량이 특히 적은, 예를 들어 pH가 이러한 pH로 조정 및/또는 유지되지 않는 동일한 과정과 비교하여 더 적은 함량인 용액을 얻을 수 있다는 것을 발견했다.

[0149] pH 조정은, 예를 들어 적합한 산, 예를 들어 HCl, 또는 적합한 염기, 예를 들어 NaOH를 용액에 첨가함으로써 행해질 수 있다. 이러한 조정은 침전제의 첨가에 의해 야기되는 가능한 pH 변화를 상쇄하는데 특히 유용하다. 침전제의 첨가가 결과의 용액의 pH가 상기 개시된 바람직한 범위를 벗어나도록 pH에 변화를 야기하지 않는다면(예를 들어, 침전제의 pKa가 상기 바람직한 값 이내이기 때문에 및/또는 침전제가 소량으로 첨가되어 결과의 용액

의 pH가 상기 개시된 바람직한 범위를 벗어나지 않기 때문에), pH 조정이 필요하지 않을 수 있다는 것이 명백하다.

[0150] 바람직하게, 상기 개시된 바람직한 값에 따른 pH는 적어도 침전된 불용성 가돌리늄 염이 가돌리늄 착물 용액으로부터 여과될 때까지 유지된다.

[0151] 추가의 바람직한 구체예에서, 단계 6) 후에, 그리고 바람직하게 단계 7) 전에, 본 발명의 과정은 침전제의 첨가 후 가돌리늄 착물(5)의 얻어진 용액을 여과하여 용액으로부터 침전된 불용성 가돌리늄 염을 제거하는 단계를 더 포함하며, 이로써 침전된 불용성 가돌리늄 염이 이러한 용액으로부터 분리된다. 이 여과 단계는 당업계에 공지된 임의의 여과 방법에 따라서, 예를 들어 제약학적 멤브레인 필터를 사용하여 수행될 수 있다.

[0152] 추가의 바람직한 구체예에서, 본 발명의 과정은 단계 6) 후에 얻어진 가돌리늄 착물의 용액을 처리하는 추가 단계를 포함하며, 이로써 유리 가돌리늄 금속 이온과 반응하여 불용성 가돌리늄 염을 형성하지 않은 침전제가 있다면 제거된다. 이 처리 단계는 유리 가돌리늄 금속 이온이나 모노가돌린화 착물은 제거하지 않는다.

[0153] 이 처리 단계는, 예를 들어 적어도 하나의 이온 교환 수지 상에, 바람직하게 1-3 BV/h의 유속으로 가돌리늄 착물의 용액을 로딩함으로써 수행될 수 있다. 대안으로서, 또는 적어도 하나의 이온 교환 수지에 착물을 로딩하는 것과 함께, 처리 단계는 (A) 이량체 착물(5)의 용액에 음이온을 침전시킬 수 있는 양이온, 즉 침전제 또는 침전제에 의해 생성된 양이온을 첨가하여 이러한 음이온의 적어도 일부를 이러한 양이온과의 염으로서 침전시키는 단계, 및 (B) 이렇게 형성된 염을 상기 개시된 바와 같은 여과 단계에 의해 제거하는 단계에 의해 수행될 수 있다. 유익하게는, 침전된 불용성 가돌리늄 염과 침전제와 침전한 양이온에 의해 형성된 염 둘 다를 제거하기 위한 오직 한 번의 여과 단계가 수행될 수 있다.

[0154] 한 구체예에서, 본 발명은 단계 6) 이후에, 바람직하게 침전제의 제거를 위한 처리 단계(수행된다면) 이후에 적어도 하나의 추가 정제 단계를 포함한다. 이 추가 정제 단계는 단계 6)의 침전 후 존재하는 유리 가돌리늄 금속 이온의 잔류량을 더 감소시키는데 유용하며, 이로써 유리 가돌리늄 금속 이온의 함량이 가능한 적은 가돌리늄 착물의 용액이 제공된다. 특히, 본 발명의 방법의 이 구체예에 따라서, 유리 가돌리늄 금속 이온의 대부분은 침전 단계 6)에 의해 제거되고(여기서 유리 가돌리늄 금속 이온의 양이 가돌리늄 착물(5)에 대하여 수천 ppm에서 수백 또는 심지어 수십 ppm으로 감소된다), 이들의 적은 부분이 적어도 하나의 추가 정제 단계에 의해 제거된다.

[0155] 추가 정제 단계는 바람직하게 크로마토그래피에 의해, 바람직하게 수지 상에서, 예컨대 흡착 수지 상에서 수행된다.

[0156] 한 구체예에서, 추가 정제 단계는 고분자 수지, 바람직하게 Amberlite XAD® 1600 수지 상에서 착물화 반응으로부터 얻어진 혼합물의 용출을 포함한다.

[0157] 다른 구체예에서, 정제는, 예를 들어 Hi Trap IMAC FF, Lewatit MonoPlus TP 260, Lewatit TP 208, IRC748I, DIAION CR11, SiliaMets AMPA 및 SiliaMets DOTA, 바람직하게 Diaion CR11 및 Amberlite IRC748로부터 선택된 킬레이트화 수지 상에서 착물화 반응으로부터 얻어진 혼합물의 제1 용출을 포함하며, 이로써 임의의 선택적인 유리 가돌리늄 함량이 최소화되고, 수집된 용출액은 Amberlite XAD® 1600 수지와 같은 고분자 수지 상에서 추가로 정제된다.

[0158] 실제 실시에서, 대략 중성 pH 값으로 조정된 혼합물이 Amberlite XAD® 1600 수지 상에서 용출되어 적절히 정제된다.

[0159] 대안으로서, 용액 pH를 낮은 값, 예컨대 5-5.6으로 조정하여 얻어진 혼합물은 바람직하게 Amberlite IRC748 또는 Diaion CR11 수지와 같은 킬레이트화 수지 상에서 먼저 용출된다. 다음에, 수집된 용출액은 바람직하게 약 5.5-6의 pH 값으로 재조정되고, 바람직하게 50℃에서 진공하에 농축되어, 바람직하게 약 25%(w/w)의 농도를 갖는 이량체 착물의 수성 용액 또는 수성 혼합물이 얻어지고, 이것은 이후 Amberlite XAD® 1600 수지 상에서 정제된다.

[0160] 다음에, 수집된 분획은 차콜로 선택적으로 처리되고 여과된다. 다음에, 결과의 여과된 용액은 바람직하게, 예를 들어 45-55℃에서 진공하에 증류에 의해 농축되며, 이로써 약 25%(w/w)의 최종 농도를 갖는 이량체 착물(5)의 용액이 얻어진다.

[0161] 단계 7

[0162] 다음에, 식 5의 이량체 착물이 분리된다. 착물은, 예를 들어 동결건조 또는 분무건조에 의해 단계 6)으로부터의 수성 용액 또는 수성 혼합물로부터 분리될 수 있다. 한 바람직한 구체예에서, 상기 과정의 단계 6)으로부터 직접 수집된 용액을 분무건조함으로써 원하는 이량체 착물이 흰색 고체로서 얻어진다.

[0163] 유리 염기 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)인 제한된 반응물로부터 결정된 상기 과정의 전체적인 수율은 30%를 초과하며, 예컨대 33%이다.

[0164] 흥미롭게도, 상기 과정은 원 포트로 수행되는 단계들을 포함하며, 이것은 대규모 실시에 적합하고, 임의의 전구체(예컨대 식 1A의 화합물) 또는 반응 중간체의 분리를 필요로 하지 않는다. 결과적으로, 본 발명의 합성 접근법은 WO2017098044에 개시된 과정과 비교하여 전체 수율이 >3배 증가된 최종 생성물을 얻는 것을 허용한다.

[0165] 또한, 중간체 분리의 부재는 전체적인 시간 과정의 단축을 허용한다.

[0166] 또한, 제안된 과정은 커플링 생성물(3)의 제조 후 모든 단계에서 반응 용매로서 물의 사용, 또는 더 일반적으로 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물의 사용을 포함한다. 특히, 식 3의 화합물이 단계 3)에서 유기 용매 중에서 제조된 경우, 예를 들어 단계 2)로부터의 식 2의 화합물과 단계 1)로부터의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 반응시킴으로써 제조된 경우, 유기 용매는 당업자에게 공지된 방법에 의해 수성 용매 또는 수성 혼합물로 대체될 수 있으며, 예를 들어 먼저 식 3의 화합물의 유기 용액을 물, 물/유기 용매 혼합물, 또는 수성 용액으로 희석한 다음, 선택적으로 유기 용매를 제거함으로써 식 3의 화합물의 수성 용액을 얻을 수 있다. 커플링의 제조 후 모든 단계에서 반응 용매로서 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물의 사용은 특히 비용, 환경 영향, 및 산업 규모 실시 용이성의 관점에서 매우 유익하다. 실제로 WO2017098044에 개시된 과정은 DCM과 같은 용매와 TFA 및 TIPS과 같은 물질을 사용하는데, 이들은 특히 산업 규모로 과정을 확장할 때 비용이 많이 들 뿐만 아니라 취급하기 어렵고 안전하지 않을 수도 있다. 본 발명의 과정은 식 3의 화합물의 제조 후 모든 단계에서 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물을 사용함으로써 유기 용매의 사용을 피하거나 상당히 감소시키기 때문에, 본 발명에 의해 선행기술 과정의 문제가 해결되며, 본 발명은 대규모 작업, 예를 들어 산업 과정의 작업에 적합하고 쉽게 실시될 수 있다. 또한, 놀랍게도 본 발명의 과정은, 식 3의 화합물의 제조 후 수성 용매 또는 수성 용매 혼합물을 사용하는 것만을 포함함에도 불구하고, 분리된 이량체 착물의 매우 높은 수율, 특히 선행기술 과정의 수율을 초과하는 수율을 제공한다.

[0167] 또한, 본 발명의 과정은 보다 견고하며 신속하고 안전하며 높은 수율을 제공하고, 선행기술 WO 2017/098044의 과정과 비교하여 더 순수한 생성물을 제공한다.

[0168] 상기 언급된 모든 이점을 보면, 본 발명의 과정이 이량체 착물(5)의 대규모 합성을 위해 쉽게 실시될 수 있다는 것이 이해될 수 있다.

[0169] 에피클로로히드린, D-글루카민 및 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산염과 같은 반응물들을 포함하는 모든 용매 및 출발 물질은 상업적으로 입수가능하거나, 또는 공지된 과정에 따라서 얻어질 수 있다.

[0170] 바람직한 구체예에서, 각 에스테르(1A)의 용액의 제조를 위해 출발 물질로서 사용된 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르의 브롬화수소산염은 동시계류중인 특허 출원EP19215900.2(본 출원과 동일한 출원인)에 설명되고 하기 실험 섹션에 예시된 제조 과정을 사용하여 제조되고 사용시까지 저장된다.

[0171] 본 발명을 범위 제한 없이 보다 상세히 예시하기 위해 본 발명의 과정의 바람직한 구체예의 비제한적 예들이 하기 섹션에 보고된다.

[0172] 실험 부문

[0173] 약자 및 용어의 정의

[0174] DO3A 트리-tert-부틸 에스테르: 트리-tert-부틸 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리아세테이트

[0175] DO3A 트리-tert-부틸 에스테르-HBr: 트리-tert-부틸 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리아세테이트 브롬화수소산염

[0176] TAZA: 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸

[0177] tBuOK: 칼륨 tert-부톡사이드

[0178] DMAC: N,N-디메틸아세타미드

[0179] DMC: 디클로로메탄

[0180] DIPEA: N,N-디이소프로필에틸아민

[0181] HCl: 염산

[0182] MeCN: 아세토니트릴

[0183] NaOH: 수산화나트륨

[0184] NH_3: 암모니아

[0185] MRI: 자기공명영상

[0186] MeCN: 아세토니트릴

[0187] NMM: N-메틸몰폴린

[0188] K_2CO_3: 탄산칼륨

[0189] TFA: 트리플루오로아세트산

[0190] TIPS: 트리이소프로필실란

[0191] FLD: 형광 검출기

[0192] UV/Vis: 자외선/가시광선

[0193] 얻어진 화합물의 HPLC 특성화 및 유리 가돌리늄 금속 이온(free-Gd) 또는 모노가돌린화 착물(mono-Gd)의 결정

[0194] 과정 1: HPLC 특성화 및 DO3A-트리-tert-부틸 에스테르의 분석 결정

[0195] 크로마토그래피 조건

[0196] HPLC 시스템: 용매 운반 시스템, 오토샘플러, 칼럼 써모스탓, 탈기장치 및 다이오드 어레이 디텍터 또는 가변 파장 디텍터(또는 등가물)를 구비한 액체 크로마토그래피(예를 들어, Agilent 1100)

[0197] 정지상: Zorbax Eclipse XDB-C8, 5㎛, 150x4.6mm

[0198] 칼럼 온도: 45℃

[0199] 이동상: A: 0.01 M K_2HPO_4, 0.017 M H_3PO_4

[0200] B: 아세토니트릴

[0201]

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	5
	30	80
	35	80
	38	5
	45	5

[0202] 유속: 1 mL/min

[0203] 온도: 45℃

[0204] 검출: UV, 210nm, Bw=8nm; 기준 360nm, Bw=100nm

[0205] 주사 부피: 10㎕

[0206] 정지 시간: 35 min

[0207] 기준 피크: DO3A 3tBu

[0208] 체류 시간: DO3A 3tBu @ 14-15 min

[0209] 과정 2: 중간체(2)의 형성을 모니터링하기 위한 HPLC 방법

[0210] 이 방법은 D-글루카민의 알킬화 종료시 물의 증류 후 혼합물을 모니터링하기 위해 이용된다.

[0211] 크로마토그래피 조건

[0212] HPLC 시스템: 용매 운반 시스템, 오토샘플러, 칼럼 써모스탓, 탈기장치 and 다이오드 어레이 디텍터 또는 가변 파장 디텍터(또는 등가물)를 구비한 액체 크로마토그래피(예를 들어, Agilent 1100)

[0213] 정지상: SeQuant ZIC-cHilic 3㎛, 150x2.1mm(Merck P.N. 1.50658.0001)

[0214] 칼럼 온도: 40℃

[0215] 이동상: 구배 용출

[0216] 용리제 A = 5mm 암모늄 아세테이트

[0217] 용리제 B = ACN/MeOH, 75/25

[0218]

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	97
	5	97
	30	20
	40	20
	45	97
	60	97

[0219] 유속: 0.25 mL/min

[0220] 검출: UV, 210-240nm

[0221] 주사 부피: 10mL

[0222] 런 타임: 60 min

[0223] 희석 용액: ACN/MeOH, 75/25

[0224] 샘플 제조: 혼합물 75㎕L에 5mm 암모늄 아세테이트 용액 200㎕L를 첨가하고 희석 용액으로 5mL로 희석

[0225] 과정 3: 중간체(3)의 형성 및 정제를 모니터링하기 위한 HPLC 방법

[0226] 일반적 과정

[0227] 이 방법은 중간체(3)의 형성 및 정제 단계를 모니터링하기 위해 사용된다.

[0228] 분석 조건

[0229] HPLC 시스템: 액체 크로마토그래피 Agilent 1100

[0230] 정지상: Gemini, 5㎛, 250x4.6mm Phenomenex, item 00G-4435-E0)

[0231] 칼럼 온도: 40℃

[0232] 이동상: A: 이동상 A

[0233] B: MeCN

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	40
	5	40
	30	90
	35	90
	36	40
	45	40

[0234]

[0235] 유속: 0.7 mL/min

[0236] 검출: UV/210nm

[0237] 주사 부피: 10 μL

[0238] 정지 시간: 45 min

[0239] INT 2 R_t: 21 min

[0240] 이동상 A

[0241] 용액의 제조

[0242] 1000mL 부피 플라스크에 암모늄 아세테이트 2.0g을 정확히 칭량하여 넣고 물로 부피까지 희석한다. 암모늄 아세테이트 용액 600mL를 1000mL 부피 플라스크로 옮기고 메탄올 300mL를 가한다. 30분간 초음파 처리한다.

[0243] 과정 4: 킬레이트화 리간드(4)의 형성 및 정제를 모니터링하기 위한 HPLC 방법

[0244] 일반적 과정

[0245] 이량체 리간드(4)의 형성 및 정제의 모니터링은 210nm에서 UV 검출을 동반한 역상 HPLC에 의해 수행되었다.

[0246] 분석 조건

[0247] HPLC 시스템: 액체 크로마토그래피 Agilent 1260 Infinity

[0248] 정지상: Synergi Polar-RP, 4 μm, 150x4.6mm(Phenomenex, item 00F-4336-E0)

[0249] 칼럼 온도: 40℃

[0250] 이동상: A: 10mm KH_2PO_4

[0251] B: 메탄올

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	0
	5	0
	35	60
	40	60
	41	80
	46	80
	47	0
	60	0

[0252]

[0253] 유속: 0.8 mL/min

[0254] 검출: UV/210nm

[0255] 주사 부피: 10 μL

[0256] 정지 시간: 60 min

[0257] 화합물 4 R_t: 2.4 min

[0258] 과정 5: 유리 가돌리늄 금속 이온(free-Gd) 양의 결정

[0259] 화학물 5의 양과 관련하여 유리 가돌리늄 금속 이온의 양의 결정은 FLD(형광 검출기) 검출을 동반한 역상 HPLC(고성능 액체 크로마토그래피)에 의해 수행된다. 이동상 중 EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산)의 사용은 샘플에 유리 Gd(III)가 존재한다면 Gd(EDTA) 착물의 형성을 보장한다.

[0260] 크로마토그래피 조건

[0261] 기기: 용매 운반 시스템, 5℃에서 냉장된 오토샘플러, 칼럼 써모스탓, 탈기장치 및 형광 검출기 또는 등가물을 구비한 Agilent 1100 액체 크로마토그래피

[0262] 칼럼: YMC-PACK ODS-AQ, 250x4.6mm, 5㎛ 입경(YMC, cod. AQ12S05-2546WT)

[0263] 온도: 40℃

[0264] 이동상: A: CH_3COONH_4(1.5 g/L), EDTA(0.55 g/L)

[0265] B: 메탄올

[0266] 유속: 1 mL/min

[0267] 검출(FLD): 여기 파장 = 275nm

[0268] 방출 파장 = 314nm

[0269] 런 타임: 25 min

[0270] 획득 시간: 6 min

[0271] 주사 부피: 20mL

[0272] 기준 피크: Gd(EDTA)

[0273]

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	0
	5	0
	10	50
	15	50
	16	0
	25	0

[0274] 용액 제조

[0275] 이동상

[0276] 1000mL 부피 플라스크에 암모늄 아세테이트 1.5g을 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 용해한 후, 에틸렌디아민테트라아세트산 이나트륨염 탈수물 0.70g을 가하고 정제수로 부피까지 희석한다.

[0277] 희석 용액

[0278] 1000mL 부피 플라스크에 암모늄 아세테이트 3g을 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 용해한 후, 에틸렌디아민테트라아세트산 이나트륨염 탈수물 1.4g을 가하고 정제수로 부피까지 희석한다.

[0279] 블랭크 용액

[0280] 정제수 0.5mL를 바이알에 넣고 희석 용액 0.5mL를 가한다. 잘 혼합해서 크로마토그래피 시스템에 직접 주사한다.

[0281] 기준 용액

[0282] 50mL 부피 플라스크에 가돌리늄 아세테이트 수화물 0.32g(무수물 기준, 사용 전 물 함량 결정)을 칭량하여 넣고 이동상으로 부피까지 희석한다. 가돌리늄의 농도는 3 mg/mL이다. 이 용액 0.1mL를 100mL 부피 플라스크로 옮기고 이동상으로 부피까지 희석한다. 가돌리늄의 농도는 0.003 mg/mL이다.

[0283] LOQ 용액

[0284] 기준 용액 1mL를 5mL 부피 플라스크로 옮기고 이동상으로 부피까지 희석한다. 가돌리늄의 농도는 0.0006 mg/mL이다.

[0285] 테스트 용액

[0286] 10mL 부피 플라스크에 테스트 중인 샘플 600mg(무수물 기준)을 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 부피까지 희석한다. 이량체 가돌리늄 착물(5)의 농도는 약 60 mg/mL이다. 이 용액 0.5mL를 바이알로 옮기고 희석 용액 0.5mL를 가한다. 샘플을 잘 혼합한다. 희석 직후 샘플을 냉장된 오토샘플러(5-8℃)에 넣고 희석 후 5분 이내에 샘플을 주사한다. 화합물 5의 최종 농도는 약 30 mg/mL이다.

[0287] 분석 순서

[0288] 블랭크 n = 1

[0289] LOQ 용액 n = 1

[0290] 기준 용액 n = 6

[0291] 테스트 용액 n = 6

[0292] 기준 용액 n = 1

[0293] 시스템 적합성 테스트

[0294] 방법을 적용할 때마다 시스템 적합성 테스트(SST)를 수행한다.

[0295] - 크로마토그래피 시스템을 평형화한 후, 블랭크 용액을 1회 주사하여 간섭 피크의 부재를 확인한다.

[0296] - LOQ 용액을 1회 주사한다.

[0297] 분석 순서의 결과는 Gd(EDTA) 피크가 S/N≥10을 갖는 경우 유용하다.

[0298] - 제1 기준 용액을 6회 주사하고 Gd(EDTA) 피크에 대해 다음의 요건이 충족되는지 확인한다:

[0299] - Gd(EDTA)의 면적 반복성(퍼센트 상대 표준 편차(RSD%, n=6)로 표시) ≤10%

[0300] - Gd(EDTA) 피크의 체류 시간 반복성(퍼센트 상대 표준 편차(RSD%, n=6)로 표시) ≤2%

[0301] - Gd(EDTA) 피크에 대한 대칭 인자 T(식 1에 따라서 계산) 0.7 - 2.0

[0302] 식 1: $T = w_{0.05} / 2f$

[0303] 식에서,

[0304] $w_{0.05}$ = 피크 높이의 1/20에서의 너비(min)

[0305] f = 피크 최대값으로부터 드롭한 수직선과 피크 높이의 1/20에 있는 피크의 리딩 엣지 사이의 거리(min)

[0306] 계산

[0307] 식 2에 따라서 퍼센트 함량을 계산, *Free Gd %*:

[0308] 식 2: $\text{FreeGd\%} = ((A_t \times W_{RS} \times (100 - K) \times 20) / (A_{std} \times w \times (100 - K_1) \times 50 \times 1000 \times 2.126)) \times 100$

[0309] 식에서,

[0310] A_t = 테스트 용액 중 freeGd의 피크 면적

[0311] A_{std} = SST 기준 용액 주사시 Gd(EDTA) 평균 면적(n=6)

[0312] W_{RS} = 기준 용액 중 Gd의 mg

[0313] w = 테스트 용액을 제조하기 위한 화합물 5 샘플의 중량(mg)

[0314] K = 가돌리늄 아세테이트 수화물 중 H_2O 함량의 %

[0315] K_1 = 샘플 중 H_2O 함량의 %

[0316] *2.126* = 가돌리늄 아세테이트와 가돌리늄 사이의 보정 인자

[0317] freeGd에 대한 정량 한계는 0.002%(w/w)이다.

[0318] LOQ 한계 미만의 값은 < LOQ 또는 n.q.(정량불가)로 표시되어야 한다.

[0319] 상기와 같이 계산된 퍼센트는 이러한 퍼센트에 10,000을 곱함으로써 화합물 5에 대한 유리 가돌리늄의 ppm으로 전환될 수 있다.

[0320] 과정 6: 모노가돌린화 착물(mono-Gd) 양의 결정

[0321] 화합물 5의 이량체 착물 중 monoGd 불순물의 함량이 동일한 크로마토그래피에서 FLD 검출기를 사용하여 역상 HPLC 방법에 의해 정량된다.

[0322] 특정된 불순물인 monoGd(특히, 단지 하나의 가돌리늄 금속 이온을 갖는 리간드(4)의 monoGd 착물)의 정량은 FLD 검출에 의해 나트륨염으로서 기준 샘플 monoGd를 사용하여 행해진다. monoGd 나트륨염(기준 샘플)은 이량체 리간드(4)를 화학량론적 양 미만의 가돌리늄 이온과 착물화하여 monoGd를 얻고, NaOH를 사용하여 pH를 중성으로 조정하고, 이후 잔류물로의 농축에 의해 분리함으로써 얻어질 수 있다.

[0323] 크로마토그래피 조건

[0324] 기기: 용매 운반 시스템, 오토샘플러, 칼럼 써모스탓, 탈기장치, UV 다이오드 어레이 디텍터 및 형광 검출기 2475 Waters 또는 등가물을 구비한 HPLC Agilent 1100

[0325] 칼럼: Xselect® HSS T3, 3.5㎛, 150x3.0mm(Waters, Part No. 186004781)

[0326] 온도: 40℃

[0327] 이동상: 용매 A: 이동상 A(40mm 인산칼륨 - 0.02mm EDTA 수용액, pH 6.2)

[0328] 용매 B: 이동상 B(용매 A/아세토니트릴, 60/40 v/v)

[0329] 유속: 0.35 mL/min

[0330] 검출(FLD): 여기 파장(λex) = 275nm

[0331] 방출 파장(λem) = 314nm

[0332] 검출(UV): 파장 = 210nm/Bw: 8nm; 기준 파장 = 480nm/Bw: 80nm

[0333] 런 타임 분석: 50 min

[0334] 획득 시간: 32 min

[0335] 주사 부피: 10mL

용출: 구배	시간 (분)	%B
	0	0
	4	0
	20	15
	25	15
	30	100
	40	100
	43	0
	50	0

[0336]

[0337] 용액 제조

[0338] 이동상 A

[0339] 2000mL 부피 플라스크에

[0340] - 인산이수소칼륨 8.56g

[0341] - 인산수소이칼륨 삼수화물 3.97g

[0342] - Titriplex® III(EDTA 이나트륨염) 0.015g

[0343] 을 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 부피까지 희석한다. 0.22㎛ 멤브레인 필터를 통해 여과한다.

[0344] 이동상 B

[0345] 이동상 A 600mL를 1000mL 부피 플라스크로 옮기고 아세토니트릴로 부피까지 희석한다. 잘 혼합한다.

[0346] $CaCl_2$ 용액

[0347] 50mL 부피 플라스크에 $CaCl_2$ 165mg(무수물 기준)을 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 부피까지 희석한다. 농도는 약 3.3 mg/mL이다.

[0348] Mono-Gd 스톡 용액

[0349] 50mL 부피 플라스크에 monoGd 나트륨염 25mg(무수물 기준 순도)를 정확히 칭량하여 넣고 정제수로 부피까지 희석한다. monoGd의 농도는 약 0.5 mg/mL이다.

[0350] Mono-Gd의 중량 = Mono-Gd 나트륨염의 중량 x 1140.31/1162.29

[0351] Mono-Gd 기준 용액

[0352] monoGd 스톡 용액 0.45mL을 5mL 부피 플라스크로 정확히 옮긴다. $CaCl_2$ 용액 1mL를 가하고 정제수로 부피까지 희석한다. 이 표준물질의 농도는 0.045 mg/mL이다.

[0353] Mono-Gd LoQ 용액

[0354] monoGd 스톡 용액 0.1mL를 5mL 부피 플라스크로 정확히 옮긴다. $CaCl_2$ 용액 1mL를 가하고 정제수로 부피까지 희석한다. monoGd의 농도는 0.01 mg/mL이다.

[0355] 블랭크 용액

[0356] 수용액 0.8mL를 바이알에 넣고 $CaCl_2$ 용액 0.2mL를 가한다. 잘 혼합한다.

[0357] 테스트 용액

[0358] 5mL 부피 플라스크에 테스트 중인 샘플 125mg(무수물 기준)을 정확히 칭량하여 넣는다. $CaCl_2$ 용액 1mL를 가하고 정제수로 부피까지 희석한다. 화합물 5의 농도는 약 25 mg/mL이다.

[0359] 분석 순서

[0360] 블랭크 n = 1

[0361] LoQ 용액 n = 1

[0362] 기준 용액 n = 6

[0363] 테스트 용액 n = 6

[0364] 기준 용액 n = 1

[0365] 계산

[0366] 식 3에 따라서 FLD 획득에 의한 monoGd의 퍼센트 함량(w/w)을 계산한다.

[0367] 식 3:

[0368] $C_{MonoGd}\% = ((A_T \times V_S \times W_S \times (100 - KF) \times a \times f)/(A_R \times w_T \times 50 \times 100 \times (100 - KF_{compound5}))) \times 100$

[0369] 식에서,

[0370] A_T: 테스트 용액의 피크 면적(존재할 경우, Mono-Gd-1/2/3/4 피크의 면적 합계)

[0371] A_R: 기준 용액 주사시 피크 면적(Mono-Gd-1/2/3/4 피크의 면적 합계)(평균값 n=6)

[0372] w_T: 테스트 용액 중 샘플의 중량(mg)

[0373] V_S: 기준 용액을 제조하기 위해 회수된 monoGd 스톡 용액의 부피(mL)

[0374] W_S: 스톡 용액을 제조하기 위해 사용된 monoGd 나트륨염의 중량(mg)

[0375] *KF*: monoGd 나트륨염 중 H_2O 함량의 %

[0376] $KF_{compound5}$: 화합물 5 중 H_2O 함량의 %

[0377] *a*: monoGd 나트륨염의 분석 %

[0378] *f*: 분자량에 대한 보정 인자 0.98

[0379] monoGd에 대한 정량 한계(4개 피크의 합계)는 0.04%(w/w)이다.

[0380] LOQ 한계 미만의 값은 < LOQ 또는 n.q.(정량불가)로 표시되어야 한다.

[0381] 상기와 같이 계산된 퍼센트는 이러한 퍼센트에 10,000을 곱함으로써 화합물 5의 착물에 대한 모노가돌린화 착물의 ppm으로 전환될 수 있다.

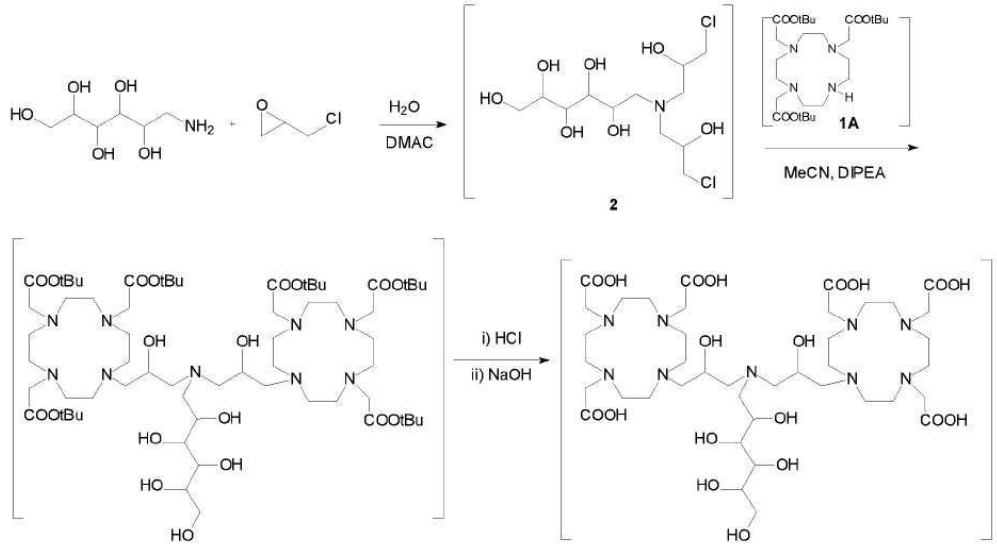
[0382] 실시예 1: DO3A-트리-*tert*-부틸 에스테르 브롬화수소산염의 합성

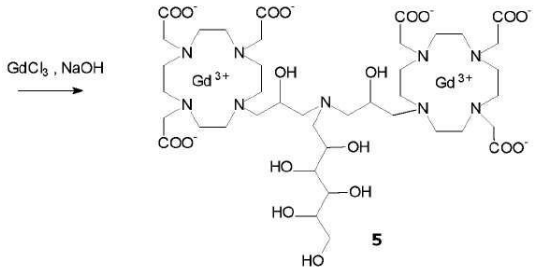
[0383] 동시 계류중인 특허출원 EP19215900.2(본 출원과 동일한 출원인)의 목적을 구성하는 과정을 사용하여 출발 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르 브롬화수소산염의 합성을 수행했다.

[0384] 특히, 상업적으로 입수가능한 TAZA(14.39kg; 83.53mol)와 나트륨 아세테이트(21.58kg; 263.12mol)의 DMAC(98.07kg; 104.33L) 중의 현탁액에 DMAC(50.72kg; 53.96L) 중의 tert-부틸 브로모아세테이트(51.32kg; 263.12mol)의 용액을 2.5h 동안 10℃에서 첨가했다. 다음에, 온도를 25℃로 승온하고 이 온도에서 혼합물을 24h 교반했다. 다음에, 물(57.56kg)을 0.5h 내에 첨가하고, 혼합물을 원심분리하고 물로 세척했다(2x57kg). 축축한 고체를 진공하에 건조하여 36,62kg을 얻었다; DO3A 트리-tert-부틸 에스테르 브롬화수소산염 61.48mol(수율 73.6%). 생성물의 HPLC(표준물질에 대해)에 의해 결정된 분석은 100% w/w이다; NMR(표준물질에 대해)에 의해 결정된 분석은 99.86% w/w이다.

[0385] 실시예 2: 이량체 화합물 5의 제조

[0386] 하기 요약된 합성 과정을 사용하여 이량체 착물 화합물 5를 얻는다:

[0387] 

[0388] 

[0389] 이 과정은 하기 단계를 포함한다:

[0390] a) DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)를 얻기 위한 브롬화수소산염의 중화

[0391] 실시예 1에 설명된 대로 얻어진 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르-HBr(36.60kg; 61.4mol)과 탄산칼륨(16.99kg; 122.9mol)을 실온(25℃)에서 MeCN(72.50kg; 91.77L)에 현탁하고, 혼합물을 24℃에서 19h 동안 교반하여 유지한다. 다음에, 결과의 염을 여과하고, 여과액을 진공하에 50℃에서 부분적으로 증류하여 최종 농도 약 56% w/w의 MeCN 중의 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)(31.07kg; 60.4mol)의 용액을 얻고, 이것을 추가 분리 없이 다음 단계에 사용한다. 용액 중 1A 분석은 HPLC-UV 방법에 의해 결정한다.

[0392] b) 중간체(2)의 합성

[0393] 물(15.1kg) 중의 D-글루카민(6kg; 33.1mol)을 2h 내에 실온에서 DMAC(6.2kg; 6.60L) 중의 에피클로로히드린(6.75kg; 73.0mol)의 용액에 적하한다. 혼합물을 16h 동안 교반하에 유지한다. 다음에, 혼합물을 DMAC(12.2kg; 12.98L)로 희석하고, 진공하에 55-60℃에서 증류하여 잔류 물 함량 < 2.0%의 DMAC 중의 중간체(2)의 용액을 얻고, 이것을 추가 정제 없이 다음 단계에 사용한다.

[0394] c) 보호된 리간드(3)을 얻기 위한 DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)와 중간체(2)의 알킬화

[0395] 50℃로 가열된 중간체(2)의 용액에 DIPEA(9.80kg; 75.8mol)와 단계 a)로부터 수집된 기질(1A)의 용액을 첨가하고, 얻어진 혼합물을 80h 동안 70℃에서 교반한 다음, HPLC-UV 방법에 의해 전환을 모니터링한다. 다음에, 혼합물을 진공하에 60℃에서 부분적으로 농축한다. 잔류물을 25℃로 냉각하고, 미리 제조된 물(12.2kg)과 MeCN(19.0kg; 24.05L)의 혼합물로 희석한 다음, 25% 암모니아 수성 용액(21.7kg; 24.03L)으로 희석하여 혼합물을 얻고, 15h 동안 교반하에 유지하여 염산염을 침전시키고 여과한다. 다음에, 여과액을 수집하고, Amberlite XAD® 1600(450L; 용리제: 물/MeCN의 구배) 상에서 크로마토그래피에 의해 정제한다. 다음에, 순수한 분획(HPLC 면적% ≥90)을 수집하고, 유기 용매를 증류하고, 수성 잔류물을 진공하에 약 50℃에서 농축하여 보호된 리간드(3)의 수용액(농도 약 10% w/w)을 얻으며, 이것은 추가 분리 없이 그대로 다음 단계에 사용하기에 적합하다.

[0396] d) 탈보호된 리간드(4)를 얻기 위한 보호된 리간드(3)의 탈보호

[0397] 이론적 생성물에 대해 계산된, 20%(w/w) 농도의 보호된 이량체 리간드(3)의 물 중의 혼합물(219kg)에 34% w/w 염산 수성 용액(53.3kg, 50.0mol, 보호된 리간드(3)에 대하여 15 mol/mol)을 온도를 30℃로 유지하면서 첨가한다. 첨가 종료시 혼합물을 50℃로 가열하고 16h 동안 교반하에 유지한다. 탈보호가 완료된 후, 30% w/w 수산화나트륨 수성 용액을 pH 5.6이 될 때까지 첨가하여 탈보호된 리간드(4)를 얻는다. 부산물로서 형성된 t-부탄올은 증류에 의해 제거한다. 리간드(4)를 함유하는 용액을 약 10%(w/w)의 최종 농도까지 진공하에 50℃에서 증류에 의해 농축한다.

[0398] e) 이량체 착물(5)을 얻기 위한 리간드(4)의 착물화

[0399] 이전 단계 d)에 의해 얻어진 이량체 리간드(4)의 용액을 제1 반응기에 로딩하고 40℃로 가열한다. 염화가돌리늄 용액(리간드(4) 1 mol에 대해 2.05 mol)을 온도를 37-43℃의 범위로 유지하면서 첨가한다. 첨가 종료시 10% w/w 수산화나트륨 수성 용액을 첨가하여 pH를 5.5로 조정한다. 혼합물을 3h 동안 40℃에서 유지한다. 이로써 가돌리늄 착물(5)을 포함하는 용액이 얻어지며, 모노가돌린화 착물(MonoGd) 및 유리 가돌리늄 금속 이온(FreeGd)의 양을 측정한다. 다음에, 실시예 1 및 착물화 단계에서 생성된 염을 나노여과에 의해 제거한다; 전도도 값이 1.0 mS/cm 미만이 될 때까지 투석여과를 수행한다. 나노여과 종료시 10-12% w/w이 될 때까지 혼합물을 농축하고, 유리 가돌리늄 금속 이온(freeGd)에 대하여 1.5 mol/mol의 Na_2HPO_4를 용액에 첨가한다. Na_2HPO_4의 첨가 후 매 시험마다 용액의 pH를 측정하고 하기 표 I에 기록한다("pH 시작" 칼럼); 흰색 침전물의 형성이 관찰된다. 다음에, 표 I에서 "pH 종료" 칼럼에 기록된 값으로 pH를 조정한다. 혼합물을 2h 동안 교반하에 유지한다. 마지막으로, 현탁액을 여과하고, 모노가돌린화 착물(MonoGd) 및 유리 가돌리늄 금속 이온(FreeGd)의 양을 측정한다. 이들 양뿐만 아니라 착물화 후 얻어진 양도 하기 표 I에 기록한다.

[0400] [표 I]

시험		Free Gd (ppm *vs* 화합물 5)	MonoGd (ppm *vs* 화합물 5)	pH 시작	pH 종료
1	시작	19480	n.q.	7.89	6.13
	여과 후	32	n.q.		
2	시작	13150	n.q.	7.23	6.10
	여과 후	70	n.q.		
3	시작	17052	n.q.	6.78	6.08
	여과 후	52	n.q.		
4	시작	7721	n.q.	7.30	7.30
	여과 후	70	n.q.		
5	시작	10427	n.q.	7.20	4.90
	여과 후	10	n.q.		
6	시작	11888	n.q.	6.50	4.54
	여과 후	15	538		
7	시작	18037	n.q.	8.30	8.30
	여과 후	250	n.q.		
8	시작	7628	n.q.	8.04	8.04
	여과 후	318	n.q.		
9	시작	6030	n.q.	6.50	6.50
	여과 후	75	n.q.		
10	시작	8136	n.q.	7.87	5.71
	여과 후	24	n.q.		
11	시작	9753	n.q.	7.17	5.73
	여과 후	60	n.q.		

[0401]

[0402] 표 I에 기록된 결과에 따르면, 상기 제공된 시험 1-9는 모두 freeGd의 양이 상당히 감소한 것을 관찰할 수 있다. 시험 1-5와 7-11의 용액은 모두 정량불가한 양의 monoGd, 즉 400ppm 미만의 monoGd를 함유한다; 시험 6은 pH 4.54에서 monoGd의 양이 LoQ를 초과한 것을 보여주며, 즉 화합물 5에 대해 monoGd의 양이 538ppm이다. 또한, 표 I은 4.9-8.3의 범위 내에서 pH를 유지하면 LoQ 미만의 monoGd의 양과 적은 양의 freeGd가 얻어진다는 것을 보여준다.

[0403] f) 잔류 인산염의 제거

[0404] 상기 단계 e)에서 얻어진 시험 1의 용액을 1-3 BV/h의 유속으로 이온 교환 수지(Diaion PA 308, 미리 활성화됨)

상에 로딩한다. 이로써 용액으로부터 잔류 인산염이 거의 제거된 것이 얻어진다.

[0405] g) 이량체 가돌리늄 착물의 추가 정제 및 분리

[0406] 상기 단계 f)의 용액을 제2 반응기에 로딩하고, 희석된 HCl을 첨가하여 용액의 pH를 5.7-6.3으로 조정하고, 가돌리늄 착물의 분석이 약 20-25% w/w이 될 때까지 진공하에 45-55℃에서 물을 증류한다. 농축된 용액을 미리 활성화된 Amberlite XAD®1600(수지량: 생성물 g당 30mL) 상에 0.5 BV/h의 유속으로 로딩한다. 물 및 이소프로판올과 물의 혼합물을 사용하여 정제를 수행한다.

[0407] 높은 순도의 분획을 다른 반응기에 로딩한다(HPLC-FLD/UV로 평가). 예비 농축 후 탄소 처리를 수행한다. 현탁액을 여과하여 탄소를 제거하고, 용액을 25% w/w 농도까지 45-55℃에서 진공하에 농축하고, 이로부터 가돌리늄 착물을 분무 건조에 의해 분리하여 최종 적정 분석 99%(w/w%; 무수물 기준)의 흰색 분말 고체(14.1kg, 12.7kg 무수물 기준, 9.83mol)를 얻는다.

[0408] DO3A 트리-tert-부틸 에스테르(1A)로부터 결정된 전체 수율: 33%.

[0409] 실시예 3: 침전제를 사용한 추가 침전 시험

[0410] 시험 12

[0411] 상기 실시예 2의 단계 a) 내지 d)의 과정에 의해 얻어진 유리 가돌리늄을 함유하는 착물(5)의 10% w/w 용액에서 모노가돌린화 착물(MonoGd) 및 유리 가돌리늄 금속 이온(FreeGd)의 함량을 측정한다. 용액에 K_3PO_4를 첨가한다(freeGd 1 mol에 대해 1.5 mol).

[0412] 인산염 첨가 후 pH는 5.42에서 9.00까지 상승하고 흰색 고체의 형성이 즉시 관찰된다. 혼합물을 실온에서 2h 동안 교반하에 pH 9.00에서 유지하고, 이후 고체를 여과하여 용액을 얻는다. 유리 가돌리늄 금속 이온(FreeGd) 및 모노가돌린화 착물(MonoGd)의 함량을 측정하고 하기 표 II에 기록한다.

[0413] [표 II]

[0414]

시험	Free Gd	MonoGd
	ppm *vs* 화합물 5	ppm *vs* 화합물 5
출발	13744	n.q.
여과 후	136	n.q.

[0415] 표 II에 기록된 결과에 따르면, 침전제로서 인산염을 사용하여 침전시킨 경우 freeGd의 양이 상당히 감소한 것을 관찰할 수 있다. 또한, 용액은 정량불가한 양의 monoGd, 즉 400ppm 미만의 monoGd를 함유한다.

[0416] 시험 13

[0417] 상기 실시예 2의 단계 a) 내지 d)의 과정에 의해 얻어진 유리 가돌리늄을 함유하는 착물(5)의 10% w/w 용액에서 모노가돌린화 착물(MonoGd) 및 유리 가돌리늄 금속 이온(FreeGd)의 함량을 측정한다. 용액에 옥살산이나트륨(freeGd에 대해 2.25 mol/mol)을 첨가한다.

[0418] 옥살산염 첨가 후 pH는 5.56에서 7.78까지 상승하고 흰색 고체의 형성이 즉시 관찰된다. 다음에, HCl 1N을 사용하여 pH를 6.43까지 감소시킨다. 종료시 혼합물을 2h 동안 실온에서 유지한다.

[0419] 현탁물을 여과한 후, 모노가돌린화 착물 및 유리 가돌리늄 금속 이온의 함량을 측정한다. 모노가돌린화 착물(MonoGd) 및 유리 가돌리늄 금속 이온(Free Gd)의 함량을 하기 표 III에 기록한다.

[0420] [표 III]

[0421]

시험	Free Gd	MonoGd
	ppm *vs* 화합물 5	ppm *vs* 화합물 5
출발	11730	n.d.
여과 후	64	n.q.

[0422] 표 III은 상기와 같이 시험을 수행하는 것, 특히 침전제로서 적합한 양의 옥살산염을 사용한 시험이 매우 적은

양의 freeGd 및 LoQ 미만의 monoGd의 양을 포함하는 용액을 제공한다는 것을 분명히 보여준다.