

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-531422

(P2009-531422A)

(43) 公表日 平成21年9月3日(2009.9.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	C 4 C 0 8 5
C 0 7 C 51/41 (2006.01)	C 0 7 C 51/41	4 H 0 0 6
C 0 7 C 59/19 (2006.01)	C 0 7 C 59/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2009-502708 (P2009-502708)	(71) 出願人	396019387
(86) (22) 出願日	平成19年3月21日 (2007. 3. 21)		ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セル
(85) 翻訳文提出日	平成20年9月26日 (2008. 9. 26)		スカブ
(86) 国際出願番号	PCT/N02007/000109		ノルウェー国 0401・オスロ ニイダ
(87) 国際公開番号	W02007/111515		レン ピーオーボックス・4220 ニイ
(87) 国際公開日	平成19年10月4日 (2007. 10. 4)		コベイエン 2
(31) 優先権主張番号	20061435	(74) 代理人	100093908
(32) 優先日	平成18年3月29日 (2006. 3. 29)		弁理士 松本 研一
(33) 優先権主張国	ノルウェー (N0)	(74) 代理人	100105588
			弁理士 小倉 博
		(74) 代理人	100129779
			弁理士 黒川 俊久
		(74) 代理人	100137545
			弁理士 荒川 聡志

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 過分極カルボン酸塩及びスルホン酸塩の製造方法

(57) 【要約】

本発明は、過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を製造するための動的核分極法であって、使用する過分極カルボン酸塩又はスルホンが特定の無機陽イオンを含む方法に関する。本発明は、本方法に用いる組成物にも関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

カルボン酸塩、スルホン酸塩又はそれらの混合物と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンを含む組成物であって、カルボン酸塩又はスルホン酸塩が、 NH^{4+} 、 K^{+} 、 Rb^{+} 、 Cs^{+} 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む、組成物。

【請求項 2】

当該組成物が、カルボン酸塩、好ましくは内在性カルボン酸塩、さらに好ましくはヒト又はヒト以外の動物の体内の代謝過程で役割を果たす内在性カルボン酸塩を含む、請求項 1 記載の組成物。

10

【請求項 3】

前記カルボン酸塩が ^{13}C 濃縮カルボン酸塩である、請求項 2 記載の組成物。

【請求項 4】

前記カルボン酸塩が、リンゴ酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、ピルビン酸塩、重炭酸塩、マロン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、オキサロ酢酸塩、 α -ケトグルタル酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩又はイソクエン酸塩である、請求項 2 又は請求項 3 記載の組成物。

【請求項 5】

前記無機陽イオンが NH^{4+} 、 K^{+} 、 Rb^{+} 又は Cs^{+} 、好ましくは K^{+} 、 Rb^{+} 又は Cs^{+} 、さらに好ましくは Rb^{+} 又は Cs^{+} である、請求項 1 乃至請求項 4 のいずれか 1 項記載の組成物。

20

【請求項 6】

当該組成物が 1 種以上の溶剤に溶解して溶液としたものである、請求項 1 乃至請求項 5 のいずれか 1 項記載の組成物。

【請求項 7】

前記溶液が、カルボン酸塩、スルホン酸塩又はそれらの混合物を 5 M 以上含む、請求項 6 記載の組成物。

【請求項 8】

前記 DNP 剤が、安定な酸素系、硫黄系又は炭素系トリチル基である、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の組成物。

30

【請求項 9】

当該組成物が常磁性金属イオン、好ましくは原子番号 58 ~ 70 のランタニド金属又は原子番号 21 ~ 29、42 又は 44 の遷移金属の常磁性金属イオンを含む、請求項 1 乃至請求項 8 のいずれか 1 項記載の組成物。

【請求項 10】

前記常磁性金属イオンがキレート形態又は塩の形態である、請求項 9 記載の組成物。

【請求項 11】

動的核分極用の請求項 1 乃至請求項 10 のいずれか 1 項のいずれか記載の組成物。

40

【請求項 12】

過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はそれらの混合物を含む組成物であって、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩が、 NH^{4+} 、 K^{+} 、 Rb^{+} 、 Cs^{+} 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む、組成物。

【請求項 13】

当該組成物が、過分極カルボン酸塩、好ましくは過分極内在性カルボン酸塩、さらに好ましくはヒト又はヒト以外の動物の体内の代謝過程で役割を果たす過分極内在性カルボン酸塩を含む、請求項 12 記載の組成物。

【請求項 14】

前記過分極カルボン酸塩が ^{13}C 濃縮カルボン酸塩である、請求項 13 記載の組成物。

【請求項 15】

50

前記過分極カルボン酸塩が、リンゴ酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、ピルビン酸塩、重炭酸塩、マロン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、オキサロ酢酸塩、 α -ケトグルタル酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、及びイソクエン酸塩からなる群から選択される過分極カルボン酸塩である、請求項13又は請求項14記載の組成物。

【請求項16】

無機陽イオンが、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ 、好ましくは K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ 、さらに好ましくは Rb^+ 又は Cs^+ である請求項12乃至請求項15のいずれか1項記載の組成物。

【請求項17】

当該組成物が1種以上の溶剤に溶解して液体としたものである、請求項12乃至請求項16のいずれか1項記載の組成物。

【請求項18】

前記溶剤が水性担体又は非水性溶剤である、請求項17記載の組成物。

【請求項19】

DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとをさらに含む、請求項12乃至請求項18のいずれか1項記載の組成物。

【請求項20】

動的核分極によって得られる請求項12乃至請求項19のいずれか1項記載の組成物。

【請求項21】

過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物の製造方法であって、
 a) NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むカルボン酸塩及び/又はスルホン酸塩と、DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製する段階、
 b) 上記溶液を凍結する段階、
 c) 凍結溶液で動的核分極を実施して、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はそれらの混合物を含む凍結溶液を得る段階、及び
 d) 適宜、段階c)で得られた凍結溶液を液体とする段階
 を含んでなる方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を製造するための動的核分極法であって、使用する過分極カルボン酸塩又はスルホンが特定の無機陽イオンを含む方法に関する。本発明は、本方法に用いる組成物にも関する。

【背景技術】

【0002】

磁気共鳴(MR)画像(MRI)は、X線のような潜在的に有害な放射線に患者及び医療従事者を被曝させることなく、患者の身体又はその一部の画像を非侵襲的な方法で得ることができるため、医師にとって特に魅力的な撮像技術である。高画質の画像が得られるため、MRIは、軟組織及び器官の好適な撮像法であり、正常組織と腫瘍や病巣等の患部組織との識別が可能になる。

【0003】

MRIは、MR造影剤の使用の有無を問わず実施できる。しかし、コントラスト強調MRIでははるかに微小な組織病変を検出ことができ、例えば小さな腫瘍や転移等の初期組織変化の検出のための強力なツールである。

【0004】

何種類かの造影剤がMRIに用いられている。水溶性の常磁性金属キレート、例えばOmniscan(登録商標)(GE Health care社)のようなガドリニウムキレートは、広く用いられているMR造影剤である。これらは低分子量であるので、血管系

10

20

30

40

50

に投与されると速やかに細胞外空間（血液及び間質）に分配される。これらは、体内から比較的速やかに排出される。

【 0 0 0 5 】

一方、血液プールMR造影剤、例えば超常磁性酸化鉄粒子は、血管系に長時間残留する。これらは肝臓でのコントラストの強調だけでなく、腫瘍における血管新生等に起因する「漏出性」の毛細血管壁等の、毛細血管の透過性異常の検出にも極めて有用であることが判明している。

【 0 0 0 6 】

上述の造影剤が優れた特性を備えていることに議論の余地はないが、それらの利用にリスクがないわけではない。常磁性金属キレート錯体は通常は高い安定度定数を有しているが、投与後に体内で有毒な金属イオンが放出される可能性がある。さらに、この種の造影剤は特異性に劣る。

10

【 0 0 0 7 】

国際公開第99/35508号には、高 T_1 造影剤の過分極溶液をMRI造影剤として用いて患者をMR検査する方法が開示されている。「過分極」という用語は、高 T_1 造影剤中に存在するNMR活性核種、つまり核スピニングがゼロでない核種、好ましくは ^{13}C 又は ^{15}N 核種の核分極を高めることを意味する。NMR活性核種の核分極を高めると、これらの核種の励起状態と基底状態の核スピニングの分布差が大きく増大し、MRの信号強度が100倍以上増強される。過分極 ^{13}C 及び/又は ^{15}N 濃縮高 T_1 造影剤を用いると、 ^{13}C 及び/又は ^{15}N の天然存在比は無視できるほど小さいので、バックグラウンド信号の干渉がほぼなくなり、画像コントラストが好都合に高まる。従来MRI造影剤と過分極高 T_1 造影剤の主な相違点は、前者では、体内の水のプロトンの緩和時間に影響することによってコントラスト変化が生じるのに対して、後者の造影剤は、投与した造影剤のみからMR信号が得られるので非放射性トレーサーとみなすことができることである。

20

【 0 0 0 8 】

国際公開第99/35508号には、MR造影剤として使用できる可能性のある様々な高 T_1 造影剤が開示されており、非内在性及び内在性の化合物、例えば酢酸塩、ピルビン酸塩、シュウ酸塩又はグルコン酸塩、グルコース又はフルクトース等の糖、尿素、アミド、グルタミン酸塩、グリシン、システイン又はアルパラギン酸塩等のアミノ酸、ヌクレオチド、アスコルビン酸等のビタミン、ペニシリン誘導体及びスルホンアミド等が例示されている。国際公開第99/35508号には、さらに、クエン酸回路のような代謝サイクルの中間体（例えばフマル酸及びピルビン酸）が代謝活性のMRIイメージング用の好ましい造影剤であると記載されている。

30

【 0 0 0 9 】

ヒト及びヒト以外の動物の体内の代謝過程で特定の役割を果たす過分極MR造影剤を使用すると、インビボMR検査で組織の代謝状態に関する情報が得られ、代謝活性のインビボイメージングに有用であるので、かかる過分極MR造影剤は極めて重要である。組織の代謝状態についての情報は、例えば、正常組織と患部組織との識別などに利用できる。

【 0 0 1 0 】

ピルビン酸塩は、クエン酸回路で役割を果たす化合物であり、過分極 ^{13}C ピルビン酸塩から代謝産物である過分極 ^{13}C 乳酸塩、過分極 ^{13}C 重炭酸塩、及び過分極 ^{13}C アラニンへの転化は、インビボの人体でMRを用いて代謝過程を調べる際に利用できる。過分極 ^{13}C ピルビン酸塩は、MR造影剤として、例えば、国際公開第2006/011810号に詳述されているようにして、インビボでの腫瘍の造影に用いたり、国際公開第2006/054903号に詳述されているようにして、MR造影によって心筋組織の生存性を評価するのに用いたりすることができる。

40

【 0 0 1 1 】

過分極造影剤の信号は、患者の体内への投与時、つまり希釈時には、緩和によって減衰することをしっかり踏まえておく必要がある。したがって、血液などの体液中での造影剤の T_1 の値は十分長いもの（すなわち、国際公開第99/35508号の基準で高いもの

50

)として、造影剤が、患者の体内の標的部位まで、高度の過分極状態のまま分配されるようにする必要がある。T₁が長い造影剤という以外にも、高度の分極レベルを実現することが極めて重要かつ有利である。

【0012】

国際公開第99/35508には、いくつかの過分極の技術が開示されており、その一つが、分極対象化合物、すなわちサンプル中のMR活性核の分極を、分極剤、すなわち、孤立電子を含む化合物であるいわゆるDNP剤によって実現する動的核分極(DNP)の技術である。DNPの過程の間は、エネルギーを、通常はマイクロ波の照射のかたちで供給し、このエネルギーによって、まずDNP剤を励起させる。基底状態まで減衰した時点で、DNP剤の孤立電子からサンプルのNMR活性核に分極が移行している。一般に、DNPの過程では、DNPの過程を液体ヘリウム中かつ約1T以上の磁界中で実施するなどによって、中程度又は高度の磁界と極度の低温が使用される。或いは、中程度の磁界と十分な分極が達成できる任意の温度を用いることもできる。DNPの技術については、例えば国際公開第98/58272号及び同第01/96895号に記載されており、そ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。

10

【0013】

DNP剤の選択が、どの程度に分極レベルを実現できるかに大きな影響を及ぼすことから、DNP剤は、DNPの過程で決定的な役割を果たすといえる。多種多様なDNP剤(国際公開第99/35508号には「OMRI造影剤」と記載)が公知であるが、DNP剤として、国際公開第99/35508号、同第88/10419号、同第90/00904号、同第91/12024号、同第93/02711号、同第98/39277号、及び同第96/39367号に開示された酸素系、硫黄系又は炭素系の安定なトリチル基を使用することによって、各種のサンプルで、高い分極レベルを実現することができた。

20

【0014】

また、DNPの過程で、DNP剤からサンプルのNMR活性核に分極が移行するためには、DNP剤とサンプルが互いに密接に接触していることが必要であることも見いだした。こうした密接な接触は、サンプルに対して可溶性DNP剤を選択することによって実現できる。また、DNP剤がサンプル中に均一に分布していることも大切である。冷却/凍結すると結晶化してしまうサンプルについては、分極レベルが低かったり、或いはまったく分極が不能であったりした。ただし、冷却/凍結すると結晶化してしまうサンプルについては、ガラス形成剤を加えることによって分極レベル改善できることがすでに報告されている。これは、DNP剤と、サンプルとガラス形成剤の混合物が、冷却/凍結時に非晶質の固体(「ガラス」)を形成するためである(Ardenkjær-Larsen et al., PNAS 100(18), 10158-10163, 2003)。

30

【0015】

適当なガラス形成剤としては、例えば、グリセロール、プロパンジオール又はグリコールを挙げることができる。しかし、ガラス形成剤の添加量は、通常、必要最低量にとどめる必要があり、これは、ガラス形成剤を添加すると、サンプルが「希釈」され、過分極サンプルをMRIの造影剤として使用するといった特定の用途では、不利になるからである。この場合、過分極サンプルは、患者に高濃度で投与する必要があり、すなわち、DNPの過程で、高濃度のサンプルを使用する必要がある。こうした文脈では、サンプル(すなわち、DNP剤と、サンプルと、必要に応じてガラス形成剤及び/又は溶剤)を含有する凍結組成物の質量をなるべく少ない状態に保つことも重要で、これは、質量が大きいと、造影剤で使用するなどの目的で、DNP過程後に固体の過分極組成物を液体状態とするために溶解を行う場合に、この溶解過程での効率に負の影響が及ぶからである。これは、溶解過程で用いる所定容量の溶剤に対して、サンプルの質量を増大させてしまうと、サンプルの質量対溶剤の比が減少するという事実ゆえである。また、分極サンプルを造影剤として使用しようとする場合は、添加したガラス形成剤は、造影剤を患者に投与する前に除去しておく必要がある場合もある。

40

50

【0016】

代謝活性を有する化合物の相当数がカルボン酸塩、すなわち、カルボン酸の塩である。例としては、ピルビン酸塩、乳酸塩、重炭酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、イソクエン酸塩、 α -ケトグルタル酸塩又はオキサロ酢酸塩を挙げることができる。これらの化合物は、ナトリウム塩として市販されており、その大半は、水に可溶で、DNP剤と混合して、DNP過程用の組成物を調製することができる。しかし、冷却/凍結を行うと、こうした混合物は結晶化し、ガラス形成剤を加えなかった場合には、分極カルボン酸塩を代謝活性のMRによる造影を行う際のMR造影剤として使用するには低すぎる分極レベルになってしまうことがある。ピルビン酸塩及び乳酸塩のようなこうした化合物のいくつかは、これらの酸が室温では液体であるため、DNP剤をこれらの液体に直接溶解できるので、遊離酸の形態で分極することができる。液体である酸/DNP混合物は、冷却/凍結しても結晶化せず、したがって、ガラス形成剤を加えなくてもすむ。欠点は、DNP剤がこうした酸に対して安定である必要があることが挙げられ、この点で、適当なDNP剤の幅が相当狭まってしまう。また、溶解工程又はその後の工程で、塩基を用いて遊離酸をカルボン酸塩に転化する必要もある。この過程でも、強酸及び強塩基に耐えられる消耗品（容器、瓶、チューブ等）が必要となる。

10

【特許文献1】国際公開第99/35508号パンフレット

【特許文献2】国際公開第2006/011810号パンフレット

【特許文献3】国際公開第2006/054903号パンフレット

【特許文献4】国際公開第98/58272号パンフレット

20

【特許文献5】国際公開第01/96895号パンフレット

【特許文献6】国際公開第88/10419号パンフレット

【特許文献7】国際公開第90/00904号パンフレット

【特許文献8】国際公開第91/12024号パンフレット

【特許文献9】国際公開第93/02711号パンフレット

【特許文献10】国際公開第98/39277号パンフレット

【特許文献11】国際公開第96/39367号パンフレット

【非特許文献1】Ardenkjaer-Larsen et al., PNAS 100(18), 10158-10163, 2003

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

30

【0017】

本発明者らは、今回、ガラス形成剤を加えずにカルボン酸塩を分極する方法を見いだした。すなわち、本発明者らは、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含有するカルボン酸塩溶液が、こうした溶液は、冷却/凍結を行っても結晶化しないので、ガラス形成剤を加えなくても、動的核分極によって分極できることを見いだした。利点は、分極したカルボン酸塩をガラス形成剤で「希釈」し、その後、分極したカルボン酸塩からガラス形成剤を除去する過程が、もはや問題とならない点にある。したがって、DNPによって分極するサンプルを保持するサンプルカップの所定のサイズに対して、はるかに高濃度のカルボン酸塩を分極できる。カルボン酸塩を直接分極することの利点としては、他にも、遊離カルボン酸を分極する間接的なルート、及びこの上記段落のルートのあらゆる欠点を防止できるを挙げることができる。その結果、これらのDNP剤が分極する酸中で安定である必要がなくなるに、より広範なDNP剤が利用可能となる。上述の方法が、スルホン酸塩のDNPによる分極にも使用できることも見いだした。

40

【0018】

したがって、本発明は、一態様では、過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を製造する方法であって、

a) カルボン酸塩及び/又はスルホン酸塩と、DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製し、ここでカルボン酸塩及び/又はスルホン酸塩が、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンであ

50

り

b) 溶液を凍結し、

c) 凍結溶液に対して動的核分極を実施して、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はそれらの混合物を含む凍結溶液を得、そして

d) 工程 c) で得られた凍結溶液を必要に応じて液体とする

工程を含む方法を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

「過分極」及び「分極」という用語は、以下では、互換的に使用するものであり、0.1%超、さらに好ましくは1%超、特に好ましくは10%超の核分極レベルを示す。

10

【0020】

分極のレベルは、例えば、凍結過分極サンプルのNMR活性核を固体NMRで測定することによって決定することができる。例えば、過分極サンプルのNMR活性核が ^{13}C である場合には、このサンプルの固体 ^{13}C -NMRを取得する。固体 ^{13}C -NMRの測定は、小さいフリップ角を使用した単純パルス獲得NMRとするのが好ましい。NMRスペクトルでの過分極サンプルの信号強度を、動的核分極過程の前に取得したNMRスペクトルでのサンプルの信号強度と比較する。その後、DNP前とDNPの信号強度の比から、分極のレベルを計算する。

【0021】

同様に、溶解した過分極サンプルの分極レベルは、NMR活性核を液体過分極サンプル中で、液体NMRで測定することによって決定することができる。この場合も、溶解した過分極サンプルの信号強度を、動的核分極過程の前の溶解したサンプルの信号強度と比較する。その後、DNP前とDNP後のサンプルの信号強度の比から、分極レベルを計算する。

20

【0022】

「カルボン酸塩」という用語は、カルボン酸の塩を、「スルホン酸塩」という用語は、スルホン酸の塩を示す。塩は、陽イオンと陰イオンから構成されるイオン化合物である。本発明の方法では、陽イオンは、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択された無機陽イオンであり、陰イオンは、カルボン酸塩の陰イオン又はスルホン酸塩の陰イオンである。以下では、「カルボン酸塩」及び「スルホン酸塩」という用語は、カルボン酸/スルホン酸の塩又はカルボン酸陰イオン/スルホン酸陰イオンを示す。これらの用語が塩を指すのか、塩の陰イオンを指すのかは、文脈から明らかである。

30

【0023】

以下の段落で使用する「カルボン酸塩/スルホン酸塩」という用語は、その段落の叙述内容が、カルボン酸塩とスルホン酸塩に等しくあてはまることを意味する。

【0024】

「カルボン酸塩」及び「スルホン酸塩」という用語は単数形で書いてあるものの、これらの用語は、単数又は複数の化学的実体、例えば特定のカルボン酸塩又は特定のスルホン酸塩だけでなく、複数の異なるカルボン酸塩又は複数の異なるスルホン酸塩、すなわち複数の異なるカルボン酸塩の混合物又は複数の異なるスルホン酸塩の混合物についても示す。このことは、次の段落でカルボン酸塩について示すものの、スルホン酸塩についても同様である。

40

【0025】

例を挙げると、ピルビン酸塩は、特定のカルボン酸塩であり、本発明の方法を使用して、工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンと、DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含むピルビン酸塩含有溶液を調製することによって、過分極ピルビン酸塩を製造できる。溶液の具体例としては、例えば、ピルビン酸セシウムと、DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液、ピルビン酸ストロンチウムと、DNP剤と、必要に応じて常磁性金属イオ

50

ンとを含む溶液とを挙げることができる。特定のカルボン酸塩の別の例としては、重炭酸塩を挙げることができ、本発明の方法は、工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンと、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む、重炭酸塩含有溶液を調製することによって過分極重炭酸塩を製造できる。こうした溶液の具体例としては、例えば、 Cs 重炭酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液又は Rb 重炭酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を挙げることができる。

【0026】

また、例を挙げると、ピルビン酸塩と乳酸塩は、複数の異なったカルボン酸塩であり、本発明の方法を使用して、工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むピルビン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む乳酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンを含む溶液を調製することによって、過分極ピルビン酸塩と過分極乳酸塩の混合物を製造できる。こうした溶液の具体例としては、例えば、ピルビン酸セシウムと、乳酸鉛と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液又はピルビン酸セシウムと、乳酸セシウムと、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を挙げることができる。

【0027】

上記定義については、「又はその混合物」という用語は、i) 特定のカルボン酸塩と特定のスルホン酸塩の混合物又は ii) 複数の異なるカルボン酸塩と特定のスルホン酸塩との混合物又は iii) 特定のカルボン酸塩と複数の異なるスルホン酸塩の混合物又は iv) 複数の異なるカルボン酸塩と複数の異なるスルホン酸塩との混合物を示す。この点については、次の段落で説明する。

【0028】

i) の例では、本発明の方法の工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むピルビン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むメタンスルホン酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製する。ii) の例では、本発明の方法の工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンピルビン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むメタンスルホン酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製する。iii) の例では、本発明の方法の工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むピルビン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むメタンスルホン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むベンゼンスルホン酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製する。iv) の例では、本発明の方法の工程 a) で、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むピルビン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むメタンスルホン酸塩と、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含むベンゼンスルホン酸塩と、DNP 剤と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む溶液を調製する。

【0029】

好ましい実施形態では、本発明の方法の工程 a) で調製する溶液は、カルボン酸塩、すなわち、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、及び Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む特定のカルボン酸塩又は複数の異なったカルボン酸塩を含む。

【0030】

好適な無機陽イオンは、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ であり、より好適な無機陽イオンは、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ であり、特に好適な無機陽イオンは、 Rb^+ 及び Cs^+ である。

【0031】

本発明で使用するカルボン酸塩は、モノカルボン酸、例えば炭酸、酢酸、パルミチン酸、オレイン酸、ピルビン酸又は乳酸の塩とすることができる。別の実施形態では、カルボン酸塩は、ジ又はポリカルボン酸、例えばリンゴ酸、フマル酸、コハク酸、マロン酸又はクエン酸の塩とすることができる。カルボン酸塩がジ又はポリカルボン酸の塩である場合には、塩は、モノカルボン酸塩、ジカルボン酸塩又はポリカルボン酸塩とすることができる。例えば、トリカルボン酸であるクエン酸の場合には、カルボン酸塩は、(モノ)クエン酸塩、すなわち、自由なカルボキシル基を2つ持つもの、ジクエン酸塩、すなわち、自由なカルボキシル基を1つ持つもの又はトリクエン酸塩、すなわち、自由なカルボキシル基を持たないことができる。本発明の方法で使用するカルボン酸塩が、ジ又はポリカルボン酸のカルボン酸塩であるばあいには、カルボン酸塩が自由なカルボキシル基を持たないことが好ましい。上記の例からも明らかなように、カルボン酸塩は、酢酸のような飽和カルボン酸の塩であっても、パルミチン酸のような不飽和カルボン酸の塩であっても、他の官能基を持つカルボン酸、例えば乳酸のようなヒドロキシ基を持つカルボン酸の塩であっても、ピルビン酸のようなカルボニル基を持つカルボン酸の塩であっても、 α -カルボキシグルタミン酸のようなアミノ基を持つカルボン酸の塩であってもよい。アミノ基の存在に関しては、本発明の方法では、アミノ酸、すなわち α -アミノカルボン酸は、内部塩を形成しがちなので、あまり好ましくない。しかし、アスパラギン酸及びグルタミン酸のような特定のアミノ酸は、本発明の方法で使用するのに適したアミノ酸である。また、カルボン酸塩は、ヘテロ原子を含む、例えば窒素原子を2つ含むピリジン-2,3-ジカルボン酸(キノリン酸)のようなカルボン酸塩であってもよい。

10

20

【0032】

スルホン酸塩の例としては、メタンスルホン酸又は

-トルオールスルホン酸を挙げることができ、スルホン酸塩についても、ヒドロキシ基のような他の官能基を含むスルホン酸の塩とすることもできる。

【0033】

好適なカルボン酸塩/スルホン酸塩は、好ましくは分子量200Da未満の小型分子であるような薬剤候補物質であり、過分極薬剤候補物質は、NMRアッセイにおいて、例えば、特定の受容体との結合アフィニティを決定するのに使用したり、酵素アッセイで使用したりすることができる。こうしたアッセイについては、国際公開第2003/089656号又は同第2004/051300号に記載されており、こうしたアッセイは、液体NMRスペクトロスコピーで使用するのが好ましく、すなわち、固体過分極薬剤候補物質は、分極後に、好ましくは溶解又は融解によって液状とする必要がある。カルボン酸塩/スルホン酸塩は、アイソトープ濃縮型であってもなくてもよい。

30

【0034】

別の好ましい実施形態では、カルボン酸塩/スルホン酸塩は、造影剤として用いることのできる化合物であり、この過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を、生きているヒト又はヒト以外の動物でのMR造影及び/又は化学シフト造影での造影剤として使用する。この実施形態では、好適なカルボン酸塩/スルホン酸塩は、内在性カルボン酸塩/スルホン酸塩であり、このうち、内在性カルボン酸塩が好適な化合物である。代謝過程を造影する際には、ヒト又はヒト以外の動物の体内の代謝過程で何らかの役割を果たすカルボン酸塩が好適である。好適なカルボン酸塩は、リンゴ酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、ピルビン酸塩、重炭酸塩、マロン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、オキサロ酢酸塩、 α -ケトグルタル酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸塩、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、イソクエン酸塩である。最も好適なカルボン酸塩は、重炭酸塩、フマル酸塩、炭酸塩、酢酸塩、乳酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン

40

50

酸塩、ピリジン - 2 , 3 - ジカルボン酸塩、ピルビン酸塩である。

【 0 0 3 5 】

本発明の方法での分極対象化合物として、ヒト又はヒト以外の動物の体内での代謝過程で特定の役割を果たす内在性カルボン酸塩を使用する場合には、本発明の方法によって得る過分極カルボン酸塩を、生きているヒト又はヒト以外の動物の体内での代謝活性についてインビボでの分子MR造影及び/又は化学シフト造影を行う際の造影剤として用いることが好ましい。こうしたカルボン酸塩のうち、縦緩和時間(T₁)が長く、分極が、ヒト又はヒト以外の動物の体内への移動及びその後の造影に十分な時間にわたって維持されるような分極NMR活性核を含むものが好適である。好適なカルボン酸塩は、磁場の強さが0.01~5T、温度が20~60の範囲である場合に、縦緩和時間定数(T₁)が10秒超、好ましくは30秒超、さらに好ましくは60秒超であるようなNMR活性核を含んでいる。

10

【 0 0 3 6 】

一般に、インビボでのMR造影及び/又は化学シフト造影での造影剤として使用するカルボン酸塩は、好ましくは、アイソトープ濃縮カルボン酸塩であり、ここで、同位体濃縮は、さらに好ましくは、NMR活性核の同位体濃縮、好ましくは¹³C及び/又は少なくとも窒素原子が存在する場合には¹⁵Nの濃縮である。同位体濃縮は、カルボン酸塩内の1以上の部位の選択的な濃縮であっても、全部位の均一な濃縮であってもよい。濃縮は、例えば、化学合成又は生物学的標識によって行うことができ、これらの方法は、いずれも、当協会が公知であり、同位体濃縮を行う具体的なカルボン酸塩の種類に応じて、適当な方法を選択することができる。

20

【 0 0 3 7 】

MR造影/化学シフト造影で造影剤として使用するのに好ましい実施形態のカルボン酸塩は、分子の1箇所のみで同位体が濃縮されたカルボン酸塩であり、濃縮は好ましくは10%以上、さらに好ましくは25%以上、さらに好ましくは75%以上、特に好ましくは90%以上である。理想的には、濃縮は100%である。

【 0 0 3 8 】

同位体の最適な濃縮位置は、NMR活性核の緩和時間に応じて決まる。カルボン酸塩は、T₁緩和時間が長くなるような位置で同位体が濃縮されているのが好ましい。¹³C濃縮カルボン酸塩は、カルボキシルのC原子、カルボニルのC原子又は第四C原子で濃縮されているものを使用することが好ましい。

30

【 0 0 3 9 】

MR造影/化学シフト造影で特に好適なカルボン酸塩は、¹³Cピルビン酸塩、¹³C酢酸塩、¹³C乳酸塩、¹³C重炭酸塩、¹³C炭酸塩、¹³C-フマル酸塩であり、¹³Cピルビン酸塩が特に好ましい。¹³Cピルビン酸塩は、C₁位(¹³C₁ピルビン酸塩)、C₂位(¹³C₂ピルビン酸塩)、C₃位(¹³C₃ピルビン酸塩)で同位体が濃縮されていてもよく、C₁位及びC₂位(¹³C_{1,2}ピルビン酸塩)、C₁位及びC₃位(¹³C_{1,3}ピルビン酸塩)、C₂位及びC₃位(¹³C_{2,3}ピルビン酸塩)又はC₁位、C₂位、及びC₃位(¹³C_{1,2,3}ピルビン酸塩)で濃縮されているのが好ましい。¹³Cについては、C₁位で同位体が濃縮されているのが好ましい。

40

【 0 0 4 0 】

上述したように、生きたヒト又はヒト以外の動物でのMR造影剤としては、スルホン酸塩も使用できる。こうしたスルホン酸塩は、同位体が濃縮されていることが好ましく、同位体は、NMR活性核、好ましくは¹³Cで濃縮されていることがさらに好ましい。同位体濃縮は、同位体濃縮は、スルホン酸塩内の1以上の部位の選択的な濃縮であっても、全部位の均一な濃縮であってもよい。濃縮は、例えば、化学合成又は生物学的標識によって行うことができ、これらの方法は、いずれも、当協会が公知であり、同位体濃縮を行う具体的なスルホン酸塩の種類に応じて、適当な方法を選択することができる。

【 0 0 4 1 】

MR造影/化学シフト造影で造影剤として使用するのに好ましい実施形態のスルホン酸

50

塩は、分子の1箇所のみで同位体が濃縮されたスルホン酸塩であり、濃縮は好ましくは10%以上、さらに好ましくは25%以上、さらに好ましくは75%以上、特に好ましくは90%以上である。理想的には、濃縮は100%である。

【0042】

スルホン酸塩での同位体の最適な濃縮位置は、NMR活性核の緩和時間に応じて決まる。スルホン酸塩は、T1緩和時間が長くなるような位置で同位体が濃縮されているのが好ましい。¹³C濃縮スルホン酸塩が、好ましく、これらのスルホン酸塩のうち、カルボキシルのC原子、カルボニルのC原子又は第四C原子で濃縮されているものを使用することが好ましく、この場合、これらの基は分子内に位置する。

【0043】

生きたヒト又はヒト以外の動物でMR造影剤として使用する過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩については、生理学的に許容される無機陽イオンを選択することが好ましい。MR造影剤に使用され、生理学的に十分許容されることが公知の陽イオンとしては、例えば、Na⁺又はメグルミンがあり、本発明の方法で使用する無機陽イオンは、いずれも、陽イオン交換カラムを使用するなど、当業界で公知の方法によって、こうした生理学的に十分許容される陽イオンで置換されていてもよい。

【0044】

別の好ましい実施形態では、本発明の方法で得た過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を、固体NMRスペクトロスコピーに使用し、つまり、必要に応じて行う工程d)を実施しない。固体NMRスペクトロスコピーでは、過分極固体カルボン酸塩/スルホン酸塩を、静止又はマジック角回転固体NMRスペクトロスコピーのいずれかによって分析することができる。固体NMRでは、カルボン酸塩/スルホン酸塩は、特定の特性又は化学構造を持つカルボン酸塩/スルホン酸塩に限定されず、任意のサイズ及び種類のカルボン酸塩陰イオン/スルホン酸塩陰イオンを、本発明の方法のカルボン酸塩/スルホン酸塩として使用することができる。

【0045】

本発明の方法で使用するカルボン酸塩/スルホン酸塩の多くは、市販の化合物である。具体的な個々のカルボン酸塩/スルホン酸塩を得るうえでは、市販のカルボン酸塩/スルホン酸塩を出発原料として使用することができ、市販の化合物に含まれる陽イオンを、イオン交換カラムやカートリッジを使用するなど当業界で公知の方法によって、NH⁴⁺、K⁺、Rb⁺、Cs⁺、Ca²⁺、Sr²⁺又はBa²⁺と交換することができる。簡単に述べると、所望のカルボン酸塩/スルホン酸塩を得るには、第一の工程で、適当なクロマトグラフィーカラムに、NH⁴⁺、K⁺、Rb⁺、Cs⁺、Ca²⁺、Sr²⁺、Ba²⁺からなる群の所望の無機陽イオンを充填することによってイオン交換カラムを調製する。第二の工程で、市販のカルボン酸塩/スルホン酸塩を適当な溶剤に溶解し、得られた溶液をイオン交換カラムに通し、溶出液を集め、溶剤を、好ましくは蒸発や凍結乾燥など当業界で公知の方法で除去して、本発明の方法で使用するNH⁴⁺、K⁺、Rb⁺、Cs⁺、Ca²⁺、Sr²⁺、Ba²⁺からなる群から選択される無機陽イオンを含むカルボン酸塩/スルホン酸塩を製造する。

【0046】

本発明の方法の工程a)で調製する溶液は、特に、カルボン酸塩/スルホン酸塩をインビボでのMR造影及び/又は化学シフト造影での造影剤として使用する場合には、水溶液とするのが好ましい。別の実施形態では、溶液は、非水溶液である。そうした非水溶液の場合に適当な溶剤又は溶剤混合物は、DMSO、メタノールなどであるが、それらを含むことが好ましい。さらに別の実施形態では、溶液は、溶剤と水の混合物、例えばDMSO及び/又はメタノールと水の混合物を含む。

【0047】

インビボでのMR造影及び/又は化学シフト造影で造影剤として使用する過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩では、過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を高濃度で得ることが、すなわち、DNPの過程で使用する濃縮溶液を調製することによって過分極カルボン酸塩

10

20

30

40

50

/スルホン酸塩を高濃度で得ることが特に重要である。したがって、この実施形態では、本発明の方法の工程 a) で調製する溶液は、カルボン酸塩/スルホン酸塩を 3 M 以上、好ましくは 5 M 以上、特に好ましくは 7 M 以上含む。所定の用途に最も適した陽イオンを選ぶうえでは、溶解度のデータが文献として入手可能である(例えば、『Merck Index 13 版』John Wiley and Sons (2001))。過分極酢酸塩を、インビボでの MR 造影/化学シフト造影の造影剤として使用する場合には、本発明の方法で酢酸セシウム又は酢酸カリウムを使用することが好ましい。これは、これらの化合物は、酢酸アンモニウム又は酢酸カルシウムなどより水への溶解度が高く、したがって、より高濃度の酢酸塩水溶液を調製できるためである。

【0048】

本発明の方法の工程 a) で調製される溶液は、さらに、DNP 法で必須の DNP 剤を含んでいる。分極対象カルボン酸塩/スルホン酸塩を高レベルで核分極するには、DNP 剤は安定で、溶解したカルボン酸塩/スルホン酸塩に可溶である必要がある。この文脈では、安定なトリチル基が好適な DNP 剤で、こうした安定な酸素系、硫黄系又は炭素系トリチル基は、例えば、国際公開第 99/35508 号、同第 88/10419 号、同第 90/00904 号、同第 91/12024 号、同第 93/02711 号、同第 96/39367 号、同第 98/39277、及び同第 2006/011811 号に記載されている。

【0049】

DNP 剤として最適なものを選択するうえでは、いくつかの点について考慮する必要がある。上述したように、DNP 剤とカルボン酸塩/スルホン酸塩は、カルボン酸塩の分極レベルを至適化するうえでは、相互に密接に接触する必要がある。したがって、好ましい実施形態では、DNP 剤は、溶解したカルボン酸塩に可溶である。分極対象のカルボン酸塩/スルホン酸塩が親油性(親水性)の化合物である場合には、DNP 剤も、親油性(親水性)とするのが適当である。DNP 剤がトリチル基である場合には、適当な親油性又は親水性の残基を選ぶことによって、トリチル基を親油性又は親水性とすることができる。さらに、DNP 剤は、溶解したカルボン酸塩/スルホン酸塩の存在下で安定である必要がある。したがって、カルボン酸塩/スルホン酸塩が反応性の基を含む場合には、DNP 剤は、こうした反応性の基に対して比較的不活性であるようなものを使用する必要がある。以上から、DNP 剤の選択が、カルボン酸塩/スルホン酸塩の科学的性質や特性に高度に依存することが明らかだろう。

【0050】

好ましい実施形態では、本発明の方法のカルボン酸塩としてピルビン酸塩を使用し、より好ましい実施形態では、 ^{13}C ピルビン酸塩を使用し、特に好ましくは、 $^{13}\text{C}_1$ ピルビン酸塩を使用し、無機陽イオンは NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ 、好ましくは K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ 、さらに好ましくは Rb^+ 又は Cs^+ 、特に好ましくは Cs^+ である。この場合、DNP 剤は、好ましくは、式(1)のトリチル基である。

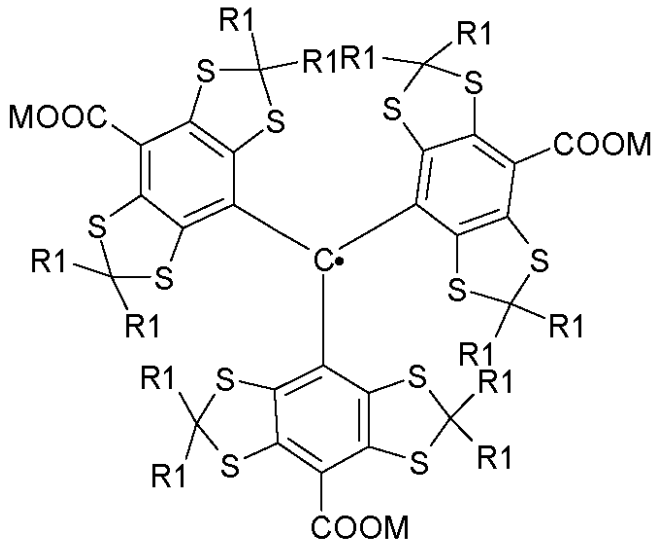
【0051】

10

20

30

【化1】



式中、Mは水素又は一価陽イオンであり、R1は同一又は異なるもので、直鎖もしくは枝分れC₁~C₆アルキル基、C₁-C₆ヒドロキシアルキル基又は-(CH₂)_n-X-R₂基(式中、nは1、2又は3であり、XはO又はSであり、R₂は直鎖又は枝分れC₁~C₄アルキル基である。)である。

【0052】

好ましい実施形態では、Mは水素又は一価の生理学的に許容される陽イオンを表す。「生理学的に許容される陽イオン」とは、ヒト又はヒト以外の動物の生体で許容される陽イオンをいう。好ましくは、Mは、水素又はアルカリ陽イオン、アンモニウムイオン又は有機アミンイオン、例えばメグルミンである。最も好ましくは、Mは水素又はナトリウムである。

【0053】

別の好ましい実施形態では、R1はいずれも同一であり、さらに好ましくは直鎖又は枝分れC₁~C₄アルキル基、最も好ましくはメチル、エチル又はイソプロピル、或いはC₁~C₄ヒドロキシアルキル基、最も好ましくはヒドロキシメチル又はヒドロキシエチルである。

【0054】

別の好ましい実施形態では、R1は同一又は異なるもの、好ましくは同一であって、-CH₂-OCH₃、-CH₂-OC₂H₅、-CH₂-CH₂-OCH₃、-CH₂-SCH₃、-CH₂-SC₂H₅又は-CH₂-CH₂-SCH₃を表し、最も好ましくは-CH₂-CH₂-OCH₃である。

【0055】

本発明の方法で用いるトリチル基は、国際公開第88/10419号、同第90/00904号、同第91/12024号、同第93/02711号、同第96/39367号、同第2006/011811号に記載の通り合成することができる。

本発明の方法の工程a)で調製する溶液は、カルボン酸塩/スルホン酸塩を適当な溶剤又は溶剤混合物に溶解することによって調製するのが好ましい。この溶液に、DNP剤を加えて溶解させる。DNP剤は、固体として加えても、適当な溶剤に溶解してから加えてもよい。好ましくは、カルボン酸塩/スルホン酸塩、そして溶解する場合にはDNP剤を溶解させる溶剤の量は、最低量とする。別の好ましい実施形態では、DNP剤を適当な溶剤に溶解しておいてから、カルボン酸塩/スルホン酸塩をこの溶液に加える。化合物をしっかりと混合するうえでは、当業界で公知のいくつかの方法、例えば、攪拌、ボルテックスを使用した攪拌、超音波処理を用いることができる。

【0056】

また、本発明の方法の工程a)で調製した溶液は、必要に応じて常磁性金属イオンを含んでいる。常磁性金属イオンの存在は、国際公開第06/00449号に詳述されているように、カルボン酸塩/スルホン酸塩の分極レベルが増大するので好適である。

【0057】

本発明の方法で使用する常磁性金属イオンは、原子数58~70のランタニド金属又は原子数21~29、42又は44の遷移金属の常磁性金属イオンである。1種又は複数の異なる金属の常磁性金属イオンを使用することができるが、金属1種の常磁性金属イオンを使用するのが好ましい。適当な常磁性イオンとしては、 Cr^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Nd^{2+} 、 Sm^{2+} 、 Gd^{2+} 、 Tb^{2+} 、 Dy^{2+} 、 Ho^{2+} 、 Er^{2+} 、 Yb^{2+} を挙げることができる。好ましい実施形態では、常磁性金属イオンを、 Cr^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Gd^{2+} 、 Tb^{2+} からなる群から選択し、より好ましい実施形態では、 Cr^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Gd^{2+} からなる群から選ぶ。

10

【0058】

常磁性金属イオンは、キレートの状態又はその塩の状態を使用するのが適当である。したがって、「常磁性金属イオン」という用語は、陽イオンである常磁性金属イオンと、有機陰イオン又は無機陰イオンのいずれかである陰イオンとを含む塩のことを指す。また、「常磁性金属イオン」という用語は、キレート状の常磁性金属イオン、すなわち、いわゆる常磁性キレートも指す。常磁性キレートは、常磁性金属イオンとキレート剤との錯体である。

20

【0059】

分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩が、固体NMRに使用予定である場合、常磁性金属イオンは、塩の状態を使用することが好ましい。適当な塩としては、例えば、 CrCl_3 、 MnCl_2 、 FeCl_2 、 FeCl_3 、 GdCl_3 又は常磁性金属のカルボン酸塩/スルホン酸塩を挙げることができ、好ましくは、分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩である。したがって、酢酸塩を分極する場合には、常磁性金属の酢酸塩、例えば Fe(III) の酢酸塩を常磁性金属イオンとして用いることができる。カルボン酸塩/スルホン酸塩とDNP剤との溶液に可溶性常磁性金属塩を選ぶのが有利である。別の実施形態では、キレート状態の常磁性金属イオンを加えることができる。

【0060】

液体NMR又はヒト又は動物の体内で使用する造影剤に使用するには、本発明の方法で得た固体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を溶解又は溶融して、溶液又は液体とする必要がある。しかし、溶液又は液体中の遊離常磁性金属イオン、すなわち、キレートを形成していない常磁性金属イオンでは、カルボン酸塩/スルホン酸塩の分極核のT1緩和時間が劇的に短くなり、分極の自然な減衰が加速され、分極したカルボン酸塩/スルホン酸塩が高いMR信号強度を示す時間が短くなってしまふ。また、分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩を、生きたヒト又は動物の体内で用いる造影剤として使用する場合には、遊離常磁性金属イオンは往々にして生理学的に許容されないか、わずかにしか許容されず、すなわち望ましくない効果、すなわち毒性の効果を有する。

30

【0061】

こうした遊離常磁性金属イオンの効果を克服するには、常磁性金属イオンをキレート状態を使用することができ、すなわち、本発明の方法では、常磁性キレートを使用することができる。この利点は、こうした常磁性キレートは、液体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩から除去しなくてもよい点にある。しかし、常磁性キレートの液体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩からの除去が必要な場合には、除去は、上述のようなT1の短縮を防止するための高い時間的負荷のもとで実施する必要はない。遊離カルボン酸/スルホン酸を分極するのではなく、本発明の方法にしたがってカルボン酸塩/スルホン酸塩を用いることにより、相当程度広範囲の常磁性キレートを使用することが可能となる。ちなみに、こうした常磁性キレートの大半は、キレート剤中に一般に存在する窒素原子及びカルボキシル基のプロトン化のために、遊離カルボン酸/スルホン酸中では安定には存在しえない。

40

50

【0062】

上述の効果は、さらに、塩の状態の常磁性金属イオンを使用し、固体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を溶解又は溶融した後は、迅速に常磁性金属イオンを除去することによって克服することができる。常磁性金属イオンを除去する方法については、本出願で後述する。

【0063】

別の実施形態では、上述の効果は、塩の状態の常磁性金属イオンを使用し、キレート剤を溶解用溶媒に加え、固体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を溶解して、遊離常磁性金属イオンを迅速に錯体形成することによって克服することができる。このケースでは、キレート剤は、溶解用溶媒に可溶で安定であり、遊離常磁性金属イオンとともに安定な錯体を迅速に形成するものを選ぶ。

10

【0064】

上述したように、常磁性金属イオンは、本発明の方法では、キレート状態、すなわち、常磁性金属イオンとキレート剤とからなる常磁性キレートの状態で使用することができる。

【0065】

こうした目的では、各種のキレート剤が公知である。一般に、環状及び非環状キレート剤はヘテロ原子、例えばN、O、P又はSを含むことが多く、こうしたキレート剤も使用できる。好適なのは、環状キレート剤である。適当な非環状キレート剤としては、例えば、DTPA及びその化合物、例えばDTPA-BMA、DTPA-BP、DTPA-BME A、EOB-DTPA、BOPTA、及びMS-325、EDTA、及びその化合物、例えばEDTA-BMA、DPDP、PLED、HPTA、アミド又はジアミド、例えばTOGDA、クリプタンド又はスルホン酸塩を挙げることができる。適当な環状キレート剤としては、例えば、PCTA-[12]、PCTP-[12]、PCTP-[13]、DOTA、DO3A、及びそれらの化合物、例えば、HP-DO3A及びDO3A-ブトリオールを挙げることができる。DOTA、DO3A、およしそれらの化合物が好適な環状キレート剤である。これらのキレート剤は、当業界で公知であり、当業者は、キレート剤及びその調製について記載した広範な文献を見いだすことができる。

20

【0066】

別の好ましい実施形態では、例えばフラーレン又はゼオライトのような比較的不活性な化学物質であるキレート剤を使用する。分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩が、より反応性の高いキレート剤と反応する可能性があるような反応性の官能基を含む場合には、こうした(Gd^{3+} などの常磁性金属イオンを包含した)キレート剤の使用が好ましい。

30

【0067】

本発明の方法では、常磁性キレートは、モノマーの常磁性キレート、すなわちキレート剤と単一の常磁性金属イオンから構成される化学的実体、例えばGdDTPA-BMA又はMnDPDPとすることができる。一方、常磁性キレートは、多量体の常磁性キレート、すなわち、2以上のサブユニットから構成され、各サブユニットがキレート剤と単一の常磁性金属イオンから構成されているような化学的実体とすることもできる。

【0068】

上述のDNP剤と同じく、分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩は、常磁性金属イオンとも密接に接触している必要がある。以下では、特記しない限り、「常磁性金属イオン」という用語は、塩の状態の常磁性金属イオンと、常磁性キレートの双方について使用する。本発明の方法の工程a)での溶液の調製は、いくつかの方法で実施することができる。第一の実施形態では、カルボン酸塩/スルホン酸塩を適当な溶剤又は適当な複数の溶剤に溶解して、溶液を得る。この溶液にDNP剤を加え、溶解させる。DNP剤は、固体として加えても、溶液として加えてもよい。DNP剤を溶解する溶剤の量は、最小量とするのが好ましい。その次の工程で、常磁性金属イオンを加える。常磁性金属イオンは、固体として加えても、溶液として加えてもよい。この場合も、常磁性金属イオンを溶解する溶剤の量は、最小量とするのが好ましい。別の実施形態では、DNP剤と常磁性金属イオンと

40

50

を、適当な溶剤又は2種以上の溶剤に溶解して溶液を形成し、カルボン酸塩/スルホン酸塩をこの溶液に加える。さらに別の実施形態では、DNP剤(又は常磁性金属イオン)を適当な溶剤又は2種以上の溶剤に溶解して溶液を形成し、カルボン酸塩/スルホン酸塩をこの溶液に加える。その次の工程で、この溶液に、常磁性金属イオン(又はDNP剤)を固体又は適当な溶剤又は2種以上の溶剤への溶液として加える。常磁性金属イオン(又はDNP剤)を溶解する溶剤の量は、最小量とするのが好ましい。化合物同士の密接な混合は、攪拌、ボルテックス、超音波処理など、当業界で公知のいくつかの手段で実施できる。

【0069】

常磁性金属イオンは、カルボン酸塩/スルホン酸塩とDNP剤の溶液に可溶なものを使用するのが好ましい。分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩が、親油性(親水性)化合物であって、使用する常磁性金属イオンが常磁性キレートである場合には、このキレートも親油性(親水性)とする必要がある。常磁性キレートが親油性である親水性であるかは、例えば、適当な親油性又は親水性残基を含むキレート剤の選択によって左右される。また、常磁性キレートが、カルボン酸塩/スルホン酸塩の存在下で安定であることも好ましく、これは、固体過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を液体とした後に常磁性金属イオンを速やかに除去しない限り、常磁性キレートが解離(脱キレート化)すると遊離常磁性イオンが生じ、分極の減衰に悪影響を及ぼし、その結果、上述の液体化した過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩の分極レベルに悪影響が及ぶからである。分極するカルボン酸塩/スルホン酸塩が反応性の基を含む場合、こうした反応性の基に対して相対的に不活性な常磁性金属イオンを用いる必要がある。以上から、常磁性金属イオンの選択が、カルボン酸塩/スルホン酸塩の化学的性質と、その最終用途(固体NMRなのか、液体NMRなのか、インピボで使用するMR造影剤/化学シフト剤なのか)に大きく左右されることは明らかである。

【0070】

DNP剤としてトリチル基を使用する場合、工程a)で調製した溶液でのトリチル基の適当な濃度は、5~25mM、好ましくは10~20mMである。工程a)で調製した溶液中に常磁性金属イオンが存在する場合には、常磁性金属イオンの適当な濃度は、0.1~6mM(金属イオン)であり、濃度は0.5~4mMとするのが好ましい。

【0071】

本発明の方法では、工程a)で溶液を調製した後、工程b)で、この溶液を凍結する。この凍結は、当業界で公知の方法によって行うことができ、例えば、溶液を冷凍庫で凍結しても、液体窒素で凍結し、好ましくは、工程a)で調製した溶液の液滴を液体窒素に加えることによって「ビーズ」状に凍結しても、或いは単に適当な容器に入れてDNP分極剤中に挿入し、その段階で液体ヘリウムによって凍結させてもよい。高濃度のカルボン酸塩/スルホン酸塩を含有する溶液は、凝固点が低い、溶液は、温度が約-18の冷凍庫で凍結することで、十分凍結溶液となる。

【0072】

常磁性金属イオンが溶液中に存在する場合には、この溶液は、凍結の前に脱気しておくのがよい。脱気は、溶液にヘリウムガスを(例えば、2~15分間にわたって)通気させることによって行うことができるが、他の通常用いられる方法によって行うこともできる。

【0073】

本発明の方法の工程c)では、動的核分極(DNP)を凍結溶液に対して実施し、この動的核分極の結果、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はそれらの混合物を含有する凍結溶液が得られる。

【0074】

DNP法については、例えば、国際公開第98/58272号及び同第01/96895号に記載されており、これらの文献は、双方とも、ここに言及することをもって、本明細書に組み込む。一般に、DNPの過程では、DNPの過程を液体ヘリウム中かつ約1T

10

20

30

40

50

以上の磁界中で実施するなどによって、中程度又は高度の磁界と極度の低温が使用される。或いは、中程度の磁界と十分な分極が達成できる任意の温度を用いることもできる。好ましい実施形態では、DNPの過程を液体ヘリウム中、かつ約1 T以上の磁界中で実施する。適当な分極単位 (= 分極装置) は、例えば、国際公開第02/37132号に記載されている。好ましい実施形態では、分極装置は、クリオスタットと、磁界生成手段、例えば超伝導磁石で囲まれた中央ボア内の分極手段、例えば導波管によってマイクロ波源と接続されたマイクロ波チャンパーとを備えている。ボアは、鉛直方向下方に向かって、少なくとも超伝導磁石付近の領域Pのレベルまで延在し、ここでは、磁界の強さがNMR活性核の分極が生じるのに十分なレベル、例えば、1 ~ 25 Tの範囲となっている。プローブ (= 分極対象凍結溶液) 用のボアは、封止可能で、低圧、例えば、1 ミリバール以下のレベルまで排気可能であることが好ましい。ボア内には、プローブ導入手段、例えば、取り出し可能な搬送チューブを収納することができ、このチューブは、ボアの上部から下に向かって、マイクロ波チャンパーの領域P内の位置まで挿入可能とすることができる。領域Pは、液体ヘリウムによって、分極が生じるのに十分な程度の低温、好ましくは0.1 ~ 100 K、さらに好ましくは0.5 ~ 10 K、特に好ましくは1 ~ 5 Kまで冷却しておく。プローブ導入手段は、ボアの内部を部分真空状態に保てるよう、上端を任意の手段で封止可能とすることが好ましい。プローブ導入手段の下端内側には、プローブ保持用の容器、例えばプローブ保持用のカップを着脱可能に嵌合させておくことができる。プローブ保持用の容器は、比熱用量が低く低温特性が良好な軽量の材料、例えばKel F (ポリクロロトリフルオロ-エチレン) 又はPEEK (ポリエーテルエーテルケトン) 製とするのが好ましく、複数のプローブを保持できるよう設計することもできる。

10

20

【0075】

プローブ (液体又は凍結積み) をプローブ保持用の容器に挿入し、液体ヘリウムに浸漬し、周波数約94 GHzマイクロ波を200 mWで照射する。分極レベルは、例えば、マイクロ波照射中のプローブについて、固体NMRの信号を得ることによって監視することができる。

【0076】

NMR信号を時間に対して示すグラフでは、一般に飽和曲線が得られる。したがって、最適な分極レベルに達した時点を判断することが可能である。固体¹³C-NMRの測定は、小さいフリップ角を使用した単純パルス獲得NMRとするのが適当である。NMRスペクトルでの過分極カルボン酸塩 / スルホン酸塩の信号強度を、動的核分極過程の前に取得したNMRスペクトルでの過分極カルボン酸塩 / スルホン酸塩の信号強度と比較する。その後、DNP前とDNPの信号強度の比から、分極のレベルを計算する。

30

【0077】

過分極カルボン酸塩 / スルホン酸塩を、液体NMRスペクトロスコーピーでMR造影剤 / 化学シフト剤として使用しようとする場合には、過分極カルボン酸塩 / スルホン酸塩を含む凍結溶液を、固体の状態から液体の状態に移行させる、つまり、液体とすることが必要である。したがって、本発明の方法は、さらに工程d)を含んでもよく、この工程d)では、工程c)で得た凍結溶液を液体化する。この過程は、工程c)で得た凍結溶液を、適当な溶剤又は溶剤混合物に溶解することによって実施できる。過分極カルボン酸塩 / スルホン酸塩をインビボでのMR造影剤 / 化学シフト剤として使用する場合には、特に、溶剤としては、水性担体、好ましくは、生理学的にも製剤学的にも許容される水、緩衝液又は生理食塩水のような水性担体を使用するのが適当である。また、非水性溶剤又は溶剤の混合物、例えばDMSO又はメタノールのような溶剤又は水性担体と非水性溶剤を含む混合物、例えば、例えばDMSOと水の混合物又はメタノールと水の混合物を用いることもできる。或いは、工程d)で凍結溶液を融解することによって液体とすることもできる。融解が好ましく、DNP分極化合物を含む凍結溶液の融解過程及び融解に用いる適当な装置については、国際公開第02/37132号に詳述されている。溶融過程及び溶融に用いる適当な装置については、例えば、国際公開第02/36005号に詳述されている。

40

50

【0078】

好適な態様では、工程c)で得られた、過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を含む凍結溶液を、水に溶解する。

【0079】

動的核分極の後に凍結溶液を液体とすることにより、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はその混合物を得、ここで過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩は、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む。

【0080】

その次の工程では、DNP剤と必要に応じて存在させる常磁性金属イオンを液体から除去することができる。過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩をMR造影剤/化学シフト剤としてインピボで使用する場合には、好ましくはトリチル基であるDNP剤と常磁性金属イオンを、液体から除去する。

10

【0081】

トリチル基と常磁性金属イオンの部分的、実質的又は完全な除去に用いることができる方法は、当業界で公知である。一般に、用いることのできる方法は、トリチル基と常磁性金属イオンの性質に左右される。凍結溶液の溶解時には、また溶剤の化学的性質によっては、トリチル基及び/又は常磁性金属イオンは沈殿し、その結果、過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を含む液体から濾過によって容易に分離しうる可能性がある。

【0082】

沈殿が生じない場合には、トリチル基と常磁性金属イオンは、クロマトグラフィーを用いた分離技術、例えば、当業界で公知の液相クロマトグラフィー、例えば逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、(固相)抽出を始めとするクロマトグラフィーなどの分離法によって除去することができる。一般に、トリチル基と常磁性金属イオンの両方を、T1緩和によって液体中のカルボン酸塩/スルホン酸塩の分極が減衰する過程で一工程で除去できるような方法を用いることが好適である。望ましくない化合物の液体からの除去をより迅速かつ効率的に実施できるほど、カルボン酸塩/スルホン酸塩で保持される分極のレベルが高くなる。したがって、互いに似通った化学的特性を持つトリチル基と常磁性金属イオン、例えば、双方とも親油性又は親水性の化学的化合物であったり、特定の官能基を共通して持っている化合物であったりするようなトリチル基と常磁性金属イオンを選択することは有利である。例えば、親油性トリチル基と親油性常磁性キレートを使用する場合には、両方の化合物を逆相液体クロマトグラフィーで除去することができる。

20

30

【0083】

遊離常磁性金属イオンが、(例えば、常磁性金属塩を使用したという理由で)液体中に存在する場合には、こうしたイオンは、陽イオン交換カラム又はVigneau et al., Anal. Chim. Acta 435 (1), 2001, 75-82に開示されたようなイオン・インプリント樹脂を用いることによって除去することが好ましい。利用可能な方法としては、他にも、帯電有機膜への遊離常磁性金属イオンの選択的錯体形成によるナノ濾過があり、この方法は、A. Sorin et al., J. Membrane Science 267 (1-2), 2005, 41-49に開示されている。また、遊離常磁性金属イオンは、S. Donald et al. J. Inorg. Biochem. 56 (3), 1994, 167-171に開示されたのと同様のアフィニティークロマトグラフィーによっても除去できる。

40

【0084】

トリチル基は、特徴的な紫外/可視域の吸収スペクトルを持っているので、トリチル基の除去後にトリチル基が液中に残っていないかを確認する方法として、紫外/可視域の吸収の測定を利用することができる。定量的な結果を得るためには、すなわち、液中のトリチル基の濃度を得るためには、光学分光計は、液体サンプルでの特定波長の吸収から、サンプル中のトリチル基の対応濃度が得られるよう、キャリブレーションを行っておくこと

50

ができる。トリチル基を除去することは、過分極カルボン酸塩/スルホン酸塩を含有する液体をインピボでの造影剤/化学シフト剤として使用する場合には、特に好適である。

【0085】

キレートが(強力な)発色団を含む場合には、蛍光又は紫外線/可視域での吸収の測定を、常磁性キレートの存在を確認する方法として使用できる。常磁性キレートの存在を確認する別の方法としては、電気化学的実体がキレート中に存在する場合には、電気化学的検出を挙げるができる。

【0086】

本発明の方法の工程a)で、溶液の調製に常磁性金属塩を使用した場合には、液体から遊離常磁性金属イオンを除去した後に、蛍光測定を用いて、遊離常磁性金属イオンの有無を確認することができる。例えば、 Gd^{2+} 塩を使用した場合、励起波長が275nmの蛍光と、314nmでの発光の監視を、特異性の高い遊離 Gd^{2+} の検出法として使用することができる。また、遊離 Gd^{2+} を、比色分析用物質であるPAR(4-(2-ピリジラゾ)レゾルシノール)との錯体形成後に、530~550nmの可視域での吸収によって検出することもできる。常磁性金属イオンに適した他の比色分析用物質は当業界で公知であり、同様にして使用することができる。

【0087】

以下では、本発明の方法の好適な一実施形態を説明する。この好ましい実施形態では、本発明の方法の工程a)で調製した溶液は、 ^{13}C ピルビン酸塩、好ましくは $^{13}C_1$ ピルビン酸塩又は ^{13}C 重炭酸塩と、 K^+ 、 Rb^+ 、及び Cs^+ からなる群から選択される陽イオン、好ましくは Cs^+ とを含有する水溶液である。はなしを簡略化するために、以下では、好ましい実施形態を ^{13}C ピルビン酸セシウムについて説明する。水溶液は、さらに、トリチル基、好ましくは式(1)のトリチル基と、常磁性金属イオンとして、 Gd^{2+} (Gd キレート)を含有する常磁性キレート又は Gd^{2+} 塩(Gd 塩)、例えば $GdCl_3$ を含有している。 ^{13}C ピルビン酸セシウムは、市販の ^{13}C ピルビン酸塩、好ましくは ^{13}C ピルビン酸ナトリウムの陽イオン交換によって、すなわち、 ^{13}C ピルビン酸ナトリウムの水溶液を、可溶性の Cs 塩、例えば $CsCl$ の水溶液を用いて充填したイオン交換カラム又はカートリッジに通過させて陽イオン交換を行うことによって行うことによって調製する。得られた ^{13}C ピルビン酸セシウムを凍結乾燥する。本発明の方法で使用する水溶液は、トリチル基と Gd キレート又は Gd 塩のそれぞれを、最低量の水に溶解することによって調製する。 ^{13}C ピルビン酸セシウムの水溶液を、水溶液が好ましくは5モル以上のピルビン酸塩を含有するように調製する。その後、この水溶液を、溶解したトリチル基及び溶解した Gd キレート又は Gd 塩と一緒にする。得られた水溶液を、工程b)で、冷凍庫などで凍結し、その後、工程c)で動的核分極に用いる。DNPの過程の後に実施する工程d)では、過分極 ^{13}C ピルビン酸セシウムを含有する凍結溶液を、水性担体、好ましくは水に溶解し、その結果、過分極 ^{13}C ピルビン酸セシウムを含む液体が得られる。常磁性金属イオンとして Gd^{2+} 塩を使用した場合、溶解した過分極 ^{13}C ピルビン酸セシウムから、 Gd^{2+} イオンをなるべく早く除去することが、特に、過分極 ^{13}C ピルビン酸セシウムを、インピボでのMR造影剤/化学シフト剤インピボとして使用する場合には重要である。適当な方法としては、陽イオン交換カラム又はVigneau et al., Anal. Chim. Acta 435(1), 2001, 75-82に開示されたようなイオン・インプリント樹脂を用いた除去法を挙げるができる。利用可能な方法としては、他にも、帯電有機膜への遊離 Gd^{2+} の選択的錯体形成によるナノ濾過があり、この方法は、A. Sorin et al., J. Membrane Science 267(1-2), 2005, 41-49に開示されている。また、遊離 Gd^{2+} は、S. Donald et al., J. Inorg. Biochem. 56(3), 1994, 167-171に開示されたアフィニティークロマトグラフィーによっても除去できる。

【0088】

常磁性金属イオンとして Gd キレートを使用し、式(1)のトリチル基も使用した場合には、このキレートは、逆相液体クロマトグラフィーを用いて除去することができ、この

方法を用いると、式(1)のトリチル基も同時に除去できる。

【0089】

過分極¹³Cピルビン酸セシウムを含有する液体中に残存している遊離Gd²⁺、Gdキレート、及び式(1)のトリチル基について確認する適当な方法は、25/26ページ(英文)に記載してある。

【0090】

過分極¹³Cピルビン酸セシウムを含有する液体をインビボでMR造影剤/化学シフト剤として使用しようとする場合には、Cs⁺を、生理学的に許容されることが公知の他のタイプの陽イオン、例えばナトリウム又はメグルミンと置換し、つまり、例えば、過分極¹³Cピルビン酸ナトリウムを、インビボでのMR造影剤/化学シフト剤として使用するのが望ましい可能性がある。こうした陽イオン交換を行う方法については、当業界で公知であり、過分極¹³Cピルビン酸塩の分極は時間の経過とともに減衰するので、迅速な方法を使用することが好ましい。好ましい実施形態では、所望の陽イオン、例えばナトリウム又はメグルミンを充填した陽イオン交換カラム又はカートリッジを用いて、陽イオン交換を実施し、過分極¹³Cピルビン酸セシウムを含む液体を、カラム又はカートリッジに通過させる。陽イオン交換の総時間は、10秒未満とするのが適当であり、7秒未満とするのが好ましく、5秒未満とするのが特に好ましい

本発明の方法によって製造した過分極¹³Cピルビン酸塩を含む液体は、「従来」のMR造影剤と同様にして使用することができ、すなわち、解剖学的造影に際して優れたコントラストの増強が可能となる。本発明の方法で製造した液体過分極¹³Cピルビン酸塩のさらなる利点は、ピルビン酸塩が内在性化合物であるために、高濃度でも、ヒト又はヒト以外の動物体内で十分許容される点である。クエン酸回路での前駆体としては、ピルビン酸塩は、ヒト/哺乳動物の体内で重要な代謝上の役割を果たしており、ピルビン酸塩は、代謝によって各種の化合物に転化される。すなわち、トランスアミネーションによってアラニンを生じ、酸化脱カルボキシル化によって、ピルビン酸塩からアセチル-CoA及び重炭酸塩への転化が生じ、ピルビン酸塩が還元されると乳酸塩が生じ、カルボキシル化によって、オキサロ酢酸塩が生じる。

【0091】

また、代謝による過分極¹³Cピルビン酸塩から、過分極¹³C乳酸塩、過分極¹³C重炭酸塩(¹³C₁ピルビン酸塩、¹³C_{1,2}ピルビン酸塩又は¹³C_{1,2,3}ピルビン酸塩の場合のみ)及び過分極¹³Cアラニンへの転化は、ヒトの体内での代謝過程をインビボでMRによって調べる際に利用できる。¹³Cピルビン酸塩のヒト全血(37℃)での緩和時間T₁は約4.2秒であるが、過分極¹³Cピルビン酸塩から過分極¹³C乳酸塩、過分極¹³C重炭酸塩、及び過分極¹³Cアラニンへの転化は、十分速やかに進行して、¹³Cピルビン酸塩親化合物及びその代謝産物の信号を検出可能であることがわかった。アラニン、重炭酸塩、及び乳酸塩の量は、検査中の組織の代謝状態に左右される。過分極¹³C乳酸塩、過分極¹³C重炭酸塩、及び過分極¹³CアラニンのMR信号の強度は、こうした化合物の量及び検出の時点で残存している分極の程度に関係しており、したがって、¹³Cピルビン酸塩の過分極¹³C乳酸塩、過分極¹³C重炭酸塩、及び過分極¹³Cアラニンへの転化を監視することによって、ヒト又はヒト以外の動物の体内でのインビボの代謝過程を、非侵襲的なMRでの造影を用いることによって調べることができる。

【0092】

各種のピルビン酸塩代謝産物から発せられるMR信号の振幅は、組織の種類によって異なることがわかっている。アラニン、乳酸塩、重炭酸塩、及びピルビン酸塩によって形成される固有の代謝ピークパターンを、検査中の組織の代謝状態のフィンガープリントとして使用することができるので、健全な組織と腫瘍組織との区別が可能となる。そのため、本発明の組成物は、インビボでのMRによる腫瘍の造影で、優れた造影剤となる。腫瘍の造影へのピルビン酸塩の使用については、国際公開第2006/011810号に詳述されている。

【0093】

10

20

30

40

50

また、心臓の造影への過分極¹³Cピルビン酸塩の使用は、国際公開第2006/054903号に記載されている。

【0094】

本発明の別の態様は、カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物と、DNP剤と、好ましくはトリチル基と、必要に応じて常磁性金属イオンとを含む組成物に関するものであり、ここで、カルボン酸塩又はスルホン酸塩は、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、及び Ba^{2+} からなる群より選択される無機陽イオンを含む。

【0095】

好ましくは、この組成物は、カルボン酸塩、すなわち特定のカルボン酸塩又は複数の異なるカルボン酸塩、好ましくは、内在性カルボン酸塩、さらに好ましくは、ヒト又はヒト以外の動物の体内の代謝過程で何らかの役割を果たす内在性カルボン酸塩である。別の好ましい実施形態では、このカルボン酸塩は、好ましくは、カルボキシル原子、カルボニル原子又は第四C原子で濃縮された¹³C濃縮カルボン酸塩である。

【0096】

好適なカルボン酸塩は、リンゴ酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、ピルビン酸塩、重炭酸塩、マロン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、オキサロ酢酸塩、 α -ケトグルタル酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸塩、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、及びイソクエン酸塩である。特に好適なカルボン酸塩は、重炭酸塩、フマル酸塩、炭酸塩、酢酸塩、乳酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸塩、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、及びピルビン酸塩である。

【0097】

好適な無機陽イオンは、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ 、さらに好ましくは K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、特に好ましくは Rb^+ 又は Cs^+ である。

【0098】

好ましい実施形態では、本発明の組成物は、溶剤又は溶剤混合物に溶解し、溶液、好ましくは水溶液とする。又は、溶液は、非水溶液とする。こうした非水溶液での溶剤又は溶剤混合物は、DMSO、メタノールなどであるか、それらを含むことが好ましい。さらに別の実施形態では、溶液は、溶剤と水の混合物、例えばDMSO及び/又はメタノールと水の混合物を含む。さらに別の実施形態では、溶液は、溶剤と水の混合物、例えばDMSO及び/又はメタノールと水の混合物を含む。好適な溶剤は、水である。

【0099】

さらに別の好ましい実施形態では、溶液は、過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を3M以上、好ましくは5M以上、特に好ましくは7M以上含む。

【0100】

本発明の組成物のさらに別の好ましい実施形態では、DNP剤は安定な酸素系、硫黄系又は炭素系トリチル基であるか、及び/又は、組成物は、常磁性金属イオン、好ましくは、原子数58~70のランタニド金属の常磁性金属イオン又は原子数21~29、42又は44の遷移金属の常磁性金属イオンを含む。常磁性金属イオンは、キレートの状態又は塩の状態とするのが適当である。

【0101】

本発明の組成物は、動的核分極に用いることができる。

【0102】

本明細書の7~20ページ(英文)で本発明の方法について記載した定義及び好ましい実施形態は、上述の組成物にも同様にあてはまる。

【0103】

本発明のさらに別の態様は、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩又はそれらの混合物を含む組成物に関するものであり、ここで、過分極カルボン酸塩又は過分極スルホン酸塩は、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、及び Ba^{2+} からなる群より選択される無機陽イオンを含む

10

20

30

40

50

好ましい実施形態では、この組成物は、過分極カルボン酸塩、すなわち特定のカルボン酸塩又は複数の異なるカルボン酸塩、好ましくは、過分極の内在性カルボン酸塩、さらに好ましくは、ヒト又はヒト以外の動物の体内の代謝過程で何らかの役割を果たす過分極の内在性カルボン酸塩である。過分極カルボン酸塩は、好ましくは、カルボキシル原子、カルボニル原子又は第四C原子で濃縮された¹³C濃縮カルボン酸塩である。

【0104】

別の好ましい実施形態では、過分極カルボン酸塩は、リンゴ酸塩、酢酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、ピルビン酸塩、重炭酸塩、マロン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、オキサロ酢酸塩、 α -ケトグルタル酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸塩、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、及びイソクエン酸塩からなる群から選択される過分極カルボン酸塩である。特に好適な過分極カルボン酸塩は、重炭酸塩、フマル酸塩、炭酸塩、酢酸塩、乳酸塩、2-オキソブタン酸塩、2-オキソ-5-メチルペンタン酸塩、 α -カルボキシグルタミン酸塩、ピリジン-2,3-ジカルボン酸塩、及びピルビン酸塩からなる群から選択される過分極カルボン酸塩である。。

10

【0105】

無機陽イオンは、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 又は、 Cs^+ であるのが好ましく、 K^+ 、 Rb^+ 又は Cs^+ であるのがさらに好ましく、 Rb^+ 又は Cs^+ であるのが特に好ましい。

【0106】

別の実施形態では、組成物は、さらに、DNP剤と必要に応じて常磁性金属イオンを含み、この組成物は動的核分極によって得られる。

20

【0107】

さらに別の実施形態では、過分極過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を含み、この過分極過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩が、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含んでいる組成物が、1種又は2種以上の溶剤に溶解されている。

【0108】

溶剤は、水性担体であるのが好ましく、生理学的にも製剤学的にも許容される水、緩衝液又は生理食塩水のような水性担体又は、非水性溶剤であるのがさらに好ましい。別の好ましい実施形態では、溶剤は非水性の溶剤である。2種類以上の溶剤を使用する場合には、溶剤は、例えばDMSO又はメタノールの混合物又は水性担体と非水性溶剤を含む溶剤混合物、例えばDMSOと水の混合物又はメタノールと水の混合物とすることができる。

30

【0109】

好ましい実施形態では、過分極過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩又はそれらの混合物を含み、この過分極過分極カルボン酸塩又はスルホン酸塩が NH_4^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ 、 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} からなる群から選択される無機陽イオンを含む組成物を、水性担体に溶解する。別の好ましい実施形態では、上記の溶解した組成物を、インビボで、MR造影剤/化学シフト剤として使用する。無機陽イオンは、必要に応じて、生きたヒト又はヒト以外の動物の体内で極めて許容度の高い陽イオンと交換されていてもよく、例としては、例えばメグルミン又はナトリウム陽イオンを挙げることができる。

40

【0110】

ここでも、本願の原文明細書7~21頁で本発明の方法について記載した定義及び好ましい実施形態は、上述の組成物にも同様にあてはまる。

【実施例】

【0111】

実施例1：セシウム充填イオン交換カラムの調製

Varian Bond Elution SCXクロマトグラフィーカラム(60 ml、10 g、8.7 meq)を1カラム量のメタノールで洗浄し、さらに1カラム量の水で洗浄した。1カラム量の塩化セシウム水溶液(0.8 M、48 mmol)をカラムに徐々に通過させた。溶出液の最初の部分は強酸性(pH 0)であったが、イオン交換の過程

50

を通じて pH は上昇した。溶出液の最後の数 ml は、pH 4 ~ 5 であった。イオン交換完了後、カラムを 2 カラム量の水で洗浄した。

【0112】

実施例 2 : ピルビン酸セシウムの調製

$^{13}\text{C}_1$ ピルビン酸ナトリウム (425 mg、3.8 mmol) を 20 ml の水に溶解した。得られた溶液を、実施例 1 の濡らしたカラムに通過させた。溶出液 (1 回目の溶出液) を回収した。カラムを 20 ml の水で洗浄し、洗浄過程での溶出液を回収し、1 回目の溶出液と一緒にし、これを凍結乾燥した。合計で 0.9 g のピルビン酸セシウムがオフホワイトの塩として得られた。

【0113】

分析

^{13}C s - NMR 分析 : シングルパルス実験での積分値を、標準セシウム溶液と比較した。得られたピルビン酸セシウムの純度を計算したところ、97 ~ 98 % であった。

【0114】

^{23}Na - NMR 分析 : 極めて弱いナトリウム信号のみが検出された。

【0115】

^1H - NMR 分析では、水分含量が 1 モル / ピルビン酸塩 1 モル未満であることが示された。ピルビン酸塩のメチル基は、2.2 ppm で共鳴した。これに加えて、共鳴ピークが 1.3 ppm に現れ (実施例 2 で使用したピルビン酸ナトリウム (購入品) の溶液にも存在)、小型のピークが 1.4 ppm 及び 3.0 ~ 3.2 ppm に現れた。これらのピークは、ピルビン酸塩の水和物 (1.3 ppm) 及びパラピルビン酸塩 (1.2 及び 3.0 ~ 3.2 ppm) から生じた。調製物中のパラピルビン酸塩の量は、4 % 未満であった。

【0116】

実施例 3 : ピルビン酸セシウムとトリチル基 (DNP 剤) とを含有する水溶液の動的核分極

$^{13}\text{C}_1$ ピルビン酸セシウム (99 mg、0.45 mmol) を 16 μl の水に溶解した。国際公開第 98 / 39277 号の実施例 7 に記載されたようにして調製したトリチル基であるトリス - (8 - カルボキシ - 2, 2, 6, 6 - テトラ (1 - ヒドロキシエチル) ベンゾ - [1, 2 - d : 4, 5 d'] ビス (1, 3) ジチオール 4 - イル) メチルナトリウム塩の水 (67.3 mM) への溶液 16 μl を加えたところ、トリチル基が 14.5 mM の水溶液が得られた。この溶液の 70 μl (ピルビン酸セシウムの 94 mg / 95 % を含有、すなわち、ピルビン酸塩を 7 モル含有) をプローブカップに移し、DNP 分極剤に挿入した。凍結プローブを、1.2 K、磁場 3.35 T の DNP 条件で、マイクロ波 (93.950 GHz) を照射しながら分極した。2 時間後、分極を停止した。

【0117】

分極を停止した後、凍結プローブを 100 mg / l の EDTA を含む水 7 ml に溶解し、過分極ピルビン酸セシウム中の ^{13}C 核の液体での分極度を、液体 ^{13}C NMR によって 400 MHz で測定したところ、15 % であった。

【0118】

実施例 4 : 1, 3, 5 - トリス - (N - (DO3A - アセトアミド) - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1, 3, 5] トリアジナン - 2, 4, 6 - トリオンの Gd キレート (10) の合成

4a) 2 - メチル - 4 - ニトロフェニルイソシアネート (1) の調製

【0119】

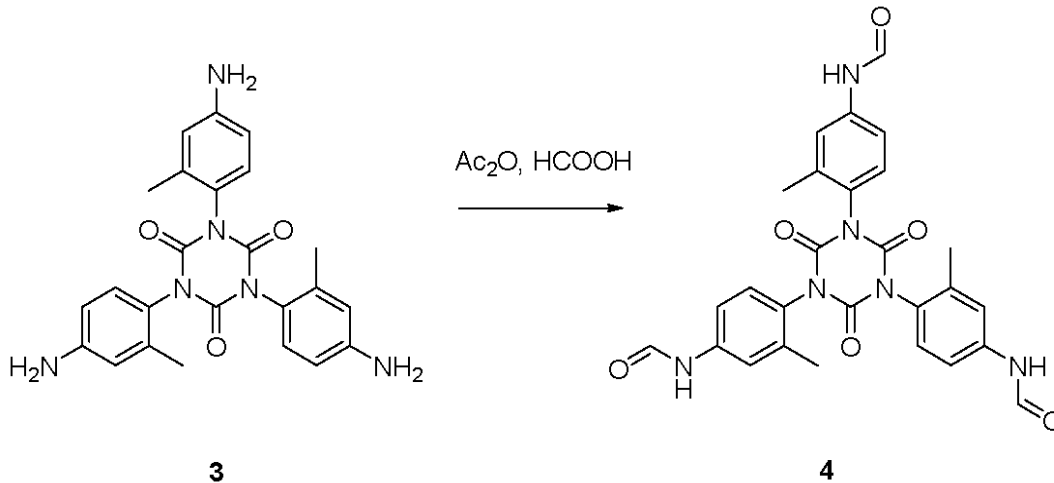
10

20

30

40

【化3】



10

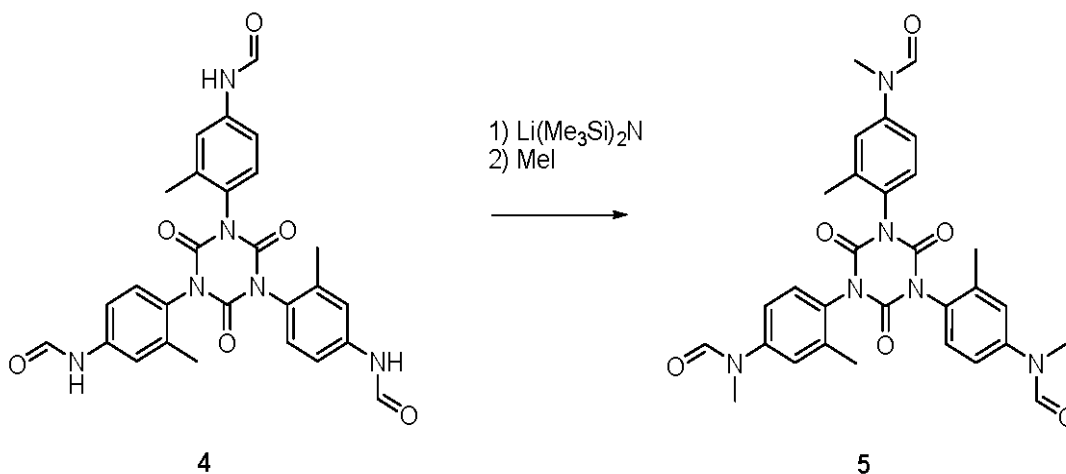
4 d) トリス - (4 - ホルムアミド - 2 - メチル - フェニル) - [1 , 3 , 5] トリアジナン - 2 , 4 , 6 - トリオン (4) の調製

ギ酸 (175 ml) を、氷冷した 500 ml の丸底フラスコに加えた。無水酢酸 (15 ml、0.16 mol) を加え、黄色の溶液を、アルゴン中で 1 時間 0 にて攪拌した。この溶液に、トリアミン 3 (8.7 g、0.020 mol) を加え、氷浴をはずした。アルゴン中で室温にて 30 分間攪拌したところ、HPLC で反応が完了したことが示された。溶剤を真空下で除去し、褐色の粘着性残留物を H₂O に懸濁し、濾別した。さらに H₂O で十分に洗浄して、酸を確実にすべて除去するようにした。生成物は、淡褐色の固形物 (10.2 g、99%) であった。

20

【0123】

【化4】



30

40

4 e) 1 , 3 , 5 - トリス - (N - ホルミル - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1 , 3 , 5] トリアジナン - 2 , 4 , 6 - トリオン (5) の調製

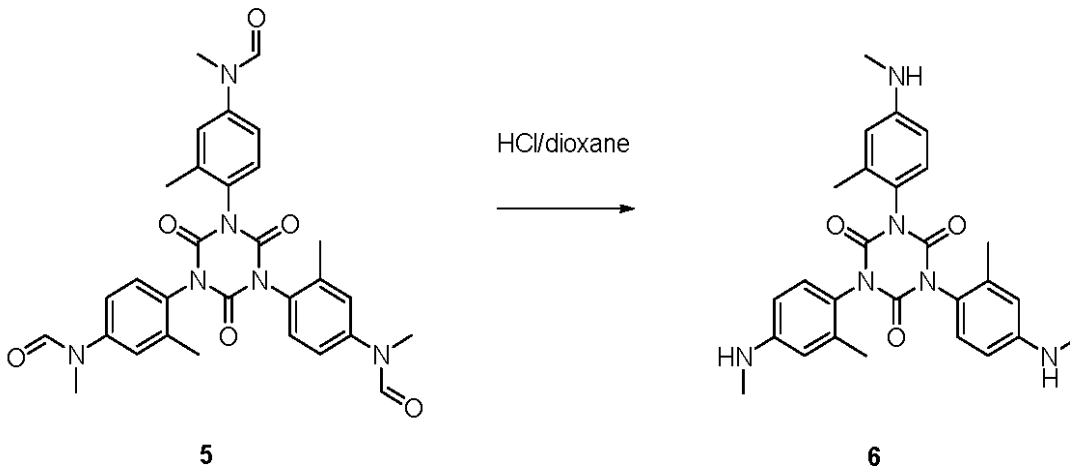
すべてのガラス器具を炉内で注意深く乾燥し、DMFを、4オングストロームの分子ふるい上で乾燥した。Li (Me₃Si)₂N (116 ml、0.116 mol、1 Mヘキサン溶液) を、500 ml の丸底フラスコ中で、4 (10.2 g、0.0193 mol) の DMF 溶液 (115 ml) に加えた。淡褐色の溶液から煉瓦色のスラリーに変化した反応混合物を、アルゴン中で 1 時間攪拌した。ヨウ化メチル (12.2 ml、0.196 mol) を加え、反応混合物を 2 時間又は HPLC でメチル化の完了が示されるまで攪拌した。その後、ヘキサンをロータリーエバポレーターで乾燥し、残留物を NaH₂PO₄ (1300 ml、100 mM) 溶液に激しくかきまぜながら加えた。生成した 5 の沈殿を、淡色

50

の固形物 (6 . 7 g 、 6 0 %) として濾別した。

【 0 1 2 4 】

【 化 5 】



10

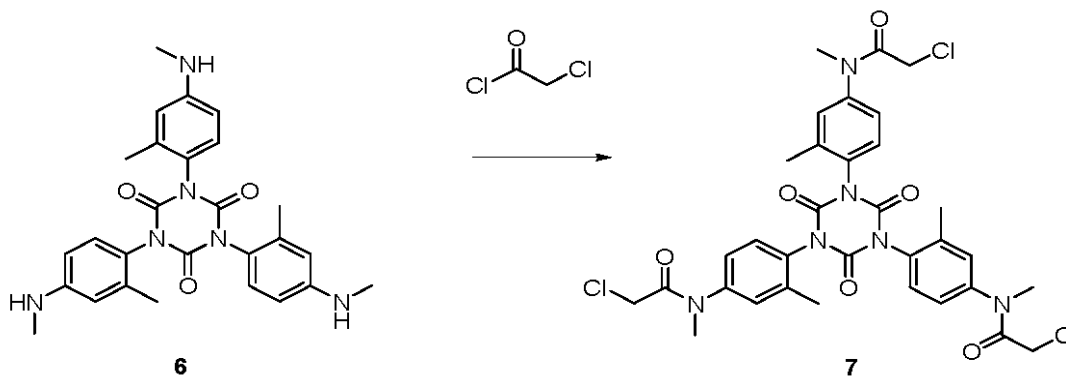
4 f) 1 , 3 , 5 - トリス - (N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1 , 3 , 5] トリアジナン - 2 , 4 , 6 - トリオン (6) の調製

ジオキサン (5 2 m l) 、 H C l (5 2 m l 、 6 M) 、 5 (6 . 5 g 、 1 1 m m o l) を、 2 5 0 m l の丸底フラスコで混合し、淡色のスラリーを形成した。反応混合物を、アルゴン中で 3 0 分間加熱還流した。黄色となった溶液を室温まで冷却し、ロータリーエバポレーターで溶剤を除去した。その後、橙色の残留物を 5 0 0 m l の H₂O に溶解し、N a H C O₃ (飽和) 溶液で、激しくかきまぜながら中和した。形成した沈殿を濾別し、H₂O で数回洗浄して淡色の固形物を得た (4 . 7 g 、 8 4 %) 。

20

【 0 1 2 5 】

【 化 6 】



30

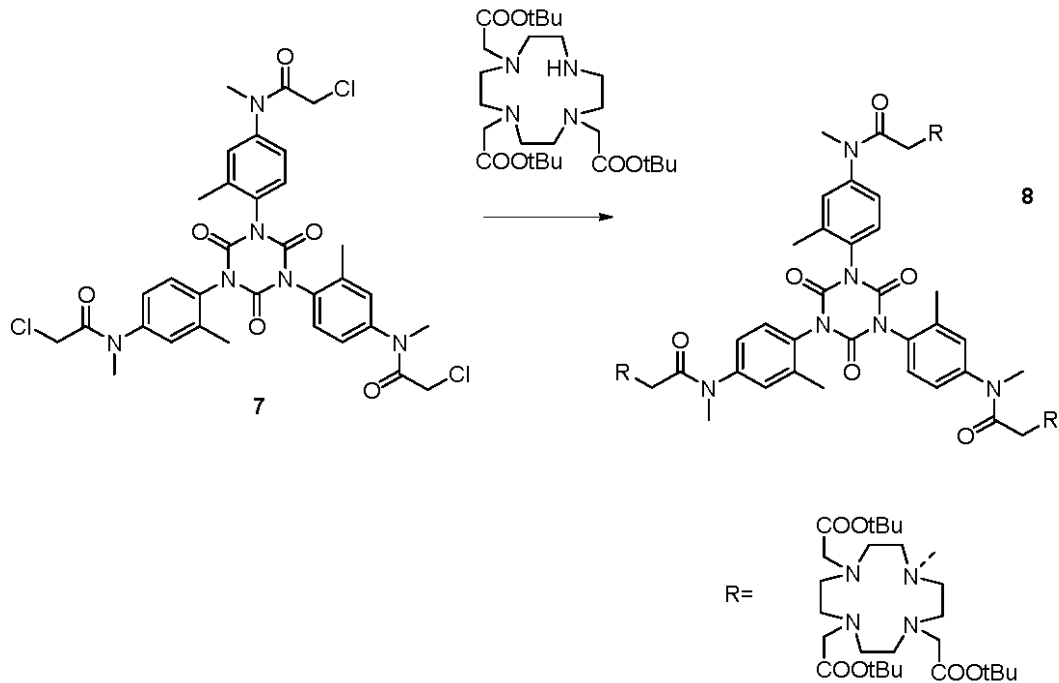
4 g) 1 , 3 , 5 - トリス - (N - クロロアセチル - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1 , 3 , 5] トリアジナン - 2 , 4 , 6 - トリオン (7) の調製

1 0 0 m l の丸底フラスコで、6 (4 . 6 g 、 9 . 5 m m o l) を、DMA (1 5 m l) 及びクロロアセチルクロリド (2 . 6 m l 、 3 3 m m o l) に、攪拌しながら 0 で加えた。反応を、アルゴン中で、室温にて、3 0 分間又は H P L C でクロロアセチル化の完了が示されるまで攪拌した。その後、スラリーを、激しい機械的攪拌を行いながら水 (5 0 0 m l) の入った大型のビーカーに加えた。精製した沈殿を濾別し、0 . 3 m b a r の真空下で乾燥させた (6 . 3 g) 。淡色の固形物を 7 0 m l のアセトニトリルに溶解し、激しい機械的攪拌を行いながら 5 0 0 m l の H₂O に加えた。精製した沈殿を濾別し、デシケーターで乾燥させた (6 . 1 g 、 8 9 %) 。

40

【 0 1 2 6 】

【化 7】



10

20

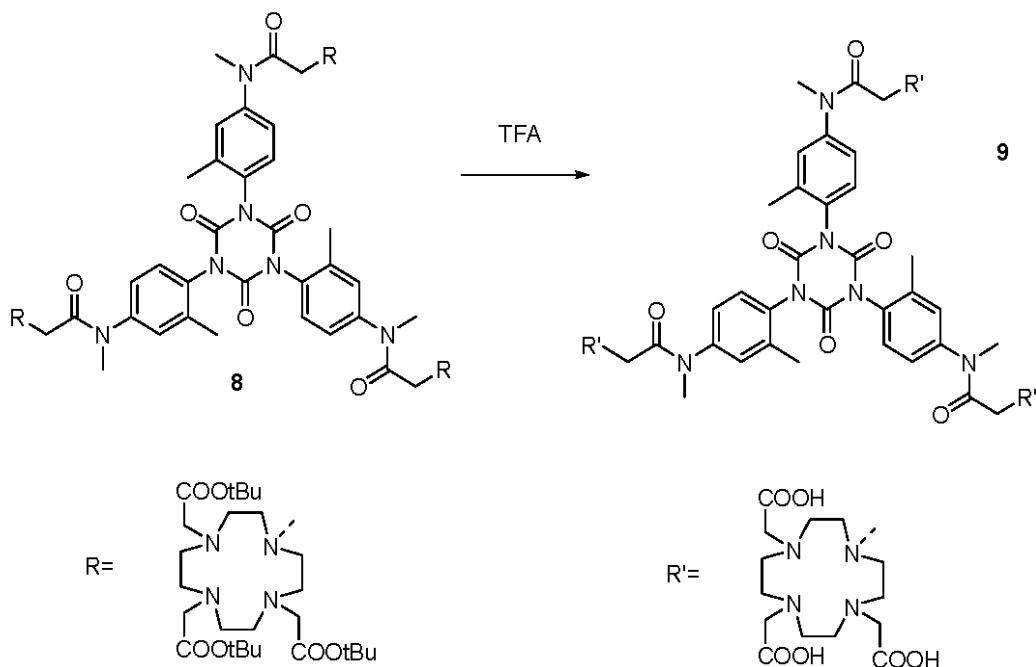
4 h) 1, 3, 5 - トリス - (N - (DO3At - ブチルエステル - アセトアミド) - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1, 3, 5] トリアジナン - 2, 4, 6 - トリオン (8) の調製

50 ml の丸底フラスコに、7 (0.50 g、0.70 mmol) を、DO3At - ブチルエステル (2.5 g、4.2 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (910 μ l、5.2 mmol)、及びアセトニトリル (15 ml) とともに懸濁した。超音波処理後、LC / MS でカップリングの完了が示されるまで、反応混合物をアルゴン中で 75 で攪拌した。その後、溶剤をロータリーエバポレーターで除去し、粗生成物 (2.9 g) を次の反応で使用した。

【 0 1 2 7 】

30

【化 8】



40

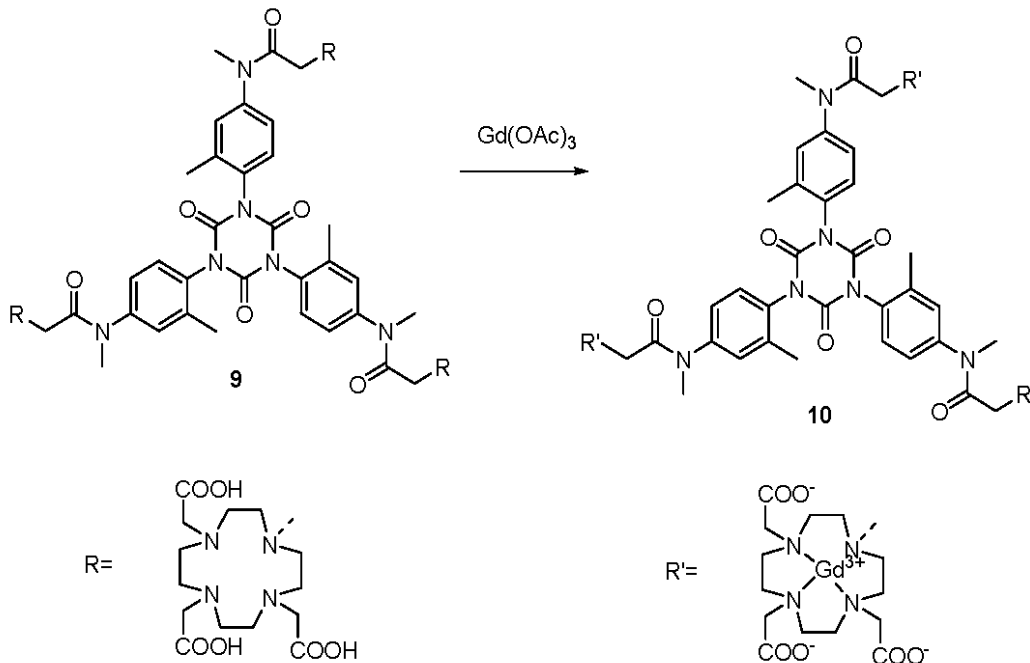
50

4 i) 1, 3, 5 - トリス - (N - (D O 3 A - アセトアミド) - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1, 3, 5] トリアジナン - 2, 4, 6 - トリオン (9) の調製

8の粗生成物(1.9g)をTFA(130ml)及びCH₂Cl₂(130ml)に溶解し、アルゴン中で50℃にて撹拌した。溶液を1時間又はLC/MSで脱保護の完了が示されるまで撹拌した。溶剤をロータリーエバポレーターで蒸発させ、残留物を真空下一晩乾燥させた。その後、粗生成物(2.4g)を最終工程で使用した。

【0128】

【化9】



10

20

4 j) 1, 3, 5 - トリス - (N - (D O 3 A - アセトアミド) - N - メチル - 4 - アミノ - 2 - メチル - フェニル) - [1, 3, 5] トリアジナン - 2, 4, 6 - トリオン (10) のガドリニウムキレートの調製

30

9の粗生成物(2.4g)を水に溶解しGd(OAc)₃(1.4g、4.2mmol)を撹拌しながら加えた。その後、真空(0.3mbar)を引き、反応をLC/MSで連続的に監視した。錯体形成の完了が検出された時点で、溶剤を真空下で除去した。その後、粗生成物3.1gを、調製用HPLC(410mg、42%、7由来)で精製した。

【0129】

実施例5：ピルビン酸セシウムとトリチル基(DNP剤)とGdキレート(常磁性金属イオン)とを含有する水溶液の動的核分極

実施例3に記載したピルビン酸セシウムとトリチル基とを含有する水溶液を調製した。この溶液に、実施例4のGdキレートの水溶液3μlを加えた。最終的に得られた水溶液では、トリチル基が約1.4mM、実施例4のGdキレートが0.7mM(Gd²⁺に関しては、2.1mM)であった。この溶液の65μlをプローブカップに移し、DNP分極剤に挿入した。凍結プローブを、1.2K、磁場3.35TのDNP条件で、マイクロ波(93.950GHz)を照射しながら分極した。2時間後、分極を停止した。

40

【0130】

分極を停止した後、凍結プローブを100mg/lのEDTAを含む水7mlに溶解し、過分極ピルビン酸セシウム中の¹³C核の液体での分極度を、液体¹³CNMRによって400MHzで測定したところ、24%であった。

【0131】

実施例6：ピルビン酸セシウムとトリチル基(DNP剤)とGdキレート(常磁性金属

50

イオン)とを含む水溶液の動的核分極と、セシウムのイオン交換

DNP及び溶解は、実施例5に記載した手順で実施した。溶解後、過分極ピルビン酸セシウムを含む液体を、実施例1と同様の手順で調製した濡らしたナトリウム充填イオン交換カラムに強制的に通過させた。最初の2mlの溶出液は廃棄した。イオン交換過程は、合計約4~5秒実施した。

【0132】

過分極ピルビン酸ナトリウム中の ^{13}C 核の液体での分極度を、液体 ^{13}C NMRによって400MHzで測定したところ、17%であった。

【0133】

実施例7：重炭酸セシウムとトリチル基(DNP剤)とを含む水溶液の動的核分極

国際公開第97/09633号の実施例29に記載された手順で調製したトリス-(8-カルボキシ-2,2,6,6-テトラ(ヒドロキシエトキシ)メチルベンゾ[1,2-d:4,5-d']ピス(1,3)-ジチオール-4-イル)メチルナトリウム塩を、21mgの ^{13}C 重炭酸セシウムの5 μl のグリセロール及び8 μl の水への溶液に溶解することによって、10mMのトリチル基を含有する溶液を調製した。溶液を、ボルテックス、軽度の加熱、超音波処理の組合せによって均一になるまで混合し、プローブカップに入れ、DNP分極剤に挿入した。凍結プローブを、1.2K、磁場3.35TのDNP条件で、マイクロ波(93.950GHz)を照射しながら分極した。3時間後、分極を停止した。

10

【0134】

過分極 ^{13}C 重炭酸セシウム中の ^{13}C 核の固体での分極度を、固体 ^{13}C NMRによって測定したところ、70(積分値/1mmolの ^{13}C)であった。

20

【0135】

実施例8：重炭酸セシウムとトリチル基(DNP剤)とGdキレート(常磁性金属イオン)を含有する水溶液の動的核分極

実施例7にしたがって、溶液を調製した。この溶液に、実施例4のGdキレートを加え、実施例4のGdキレートを0.7mM含有する溶液(Gd $^{2+}$ については2.1mM)を得た。溶液を、ボルテックス、軽度の加熱、超音波処理の組合せによって均一になるまで混合し、プローブカップに入れ、DNP分極剤に挿入した。実施例7に記載した手順でDNPを実施した。

30

【0136】

過分極 ^{13}C 重炭酸セシウム中の ^{13}C 核の固体での分極度を、固体 ^{13}C NMRによって測定したところ、390(積分値/1mmolの ^{13}C)であった。

【0137】

実施例9：重炭酸セシウムとトリチル基(DNP剤)とGdキレート(常磁性金属イオン)を含有する水溶液の動的核分極

国際公開第97/09633号の実施例29に記載された手順で調製したトリチル基であるトリス-(8-カルボキシ-2,2,6,6-テトラ(ヒドロキシエトキシ)メチルベンゾ[1,2-d:4,5-d']ピス(1,3)-ジチオール-4-イル)メチルナトリウム塩を、0.205mmolの ^{13}C 重炭酸セシウムの12 μl のグリセロール及び16 μl の水への溶液に溶解することによって、12mMのトリチル基を含有する溶液を調製した。実施例4のGdキレートをこの溶液に加えたところ、Gdキレートが0.2mM(Gd $^{2+}$ が0.6mM)の溶液が得られた。この溶液を、ボルテックス、軽度の加熱、超音波処理の組合せによって均一になるまで混合し、プローブカップに入れ、DNP分極剤に挿入した。凍結プローブを、1.2K、磁場3.35TのDNP条件で、マイクロ波(93.950GHz)を照射しながら分極した。3時間後、分極を停止し、凍結溶液を、国際公開第02/37132にしたがって溶解装置を使用して水溶液に溶解した。過分極 ^{13}C 重炭酸セシウムが10mMの溶液が得られた。

40

【0138】

過分極重炭酸セシウム中の ^{13}C 核の液体での分極度を、液体 ^{13}C -NMRによって40

50

0 M H z で測定したところ、18%であった。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/NO2007/000109
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K49/10 A61K49/18 A61K49/20		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, SCISEARCH		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/35508 A (NYCOMED IMAGING AS [NO]; COCKBAIN JULIAN [GB]; ARDENKJAER LARSEN JAN H) 15 July 1999 (1999-07-15) cited in the application page 1, paragraph 3 page 9, paragraph 2 page 10, paragraph 3 - page 11, paragraph 1 page 11, paragraph 4 page 25, paragraph 2 - page 26, paragraph 3 page 29, paragraph 2 page 30, paragraph 5 - page 31, paragraph 2 page 34, paragraph 2 - page 35, paragraph 1 examples 2-4 claims 1,29,37-42,60,79,81,82,84,86 ----- -/--	1-8, 11-21
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *B* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 February 2008		06/03/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. 5616 Palenstein 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Cielen, Elsie

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/NO2007/000109

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 91/12024 A (HAFSLUND NYCOMED INNOVATION [SE]) 22 August 1991 (1991-08-22) cited in the application page 1, paragraph 1 page 39, paragraph 2 examples I-III, VII, VIII claims 1,2,19,21 -----	1,2,5-11
X	WO 2006/011810 A (AMERSHAM HEALTH AS [NO]; THANING MIKKEL [SE]; ZANDT RENE IN T [SE]) 2 February 2006 (2006-02-02) cited in the application page 1, lines 5-7 page 3, lines 5-16 page 4, lines 28,29 page 5, line 17 - page 6, line 5 page 6, line 16 - page 7, line 6 page 9, lines 4-19,31-36 page 10, line 35 - page 11, line 11 page 11, lines 29-35 page 12, lines 36,37 claims 1-3 -----	1-20
X	WO 2006/011809 A (AMERSHAM HEALTH AS [NO]; THANING MIKKEL [SE]) 2 February 2006 (2006-02-02) page 1, lines 5-7 page 3, line 21 - page 4, line 15 page 5, lines 10-14 page 6, lines 12-25 page 7, lines 5-35 page 9, line 28 - page 10, line 2 page 10, lines 15-19 page 11, lines 16-30 page 12, lines 5-18 page 13, lines 25-28 page 18, lines 20-27 claims 1,4-6,10,11,13,16,17 -----	1-20
X	US 5 530 140 A (ANDERSSON SVEN [SE] ET AL) 25 June 1996 (1996-06-25) column 2, lines 5-33,54-56 column 16, lines 29-46 examples 11,23 claims 5,6 -----	1,2,5-8, 11
X	IRVING C S ET AL: "CARBON-13 NMR STUDY OF THE COMPLEXATION OF CALCIUM BY TAURINE" JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY, vol. 13, no. 2, 1980, pages 137-150, XP002470358 ISSN: 0162-0134 abstract page 138, paragraph 3 page 139, paragraphs 2,3 -----	12, 16-18,20

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/NO2007/000109

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KANAMORI KEIKO ET AL: "Localized 15N NMR spectroscopy of rat brain by ISIS" MAGNETIC RESONANCE IN MEDICINE, vol. 41, no. 3, March 1999 (1999-03), pages 456-463, XP002470359 ISSN: 0740-3194 abstract page 456, column 2, paragraph 4 - page 457, column 1, paragraph 2 page 457, column 2, paragraph 2	12,13, 15-18,20
A	WO 91/13636 A (COCKBAIN JULIAN R M [GB]; NYCOMED AS [NO]) 19 September 1991 (1991-09-19) page 1, lines 5-16 page 4, lines 12-23 page 6, line 22 - page 8, line 9 page 8, line 33 - page 9, line 17 page 13, line 19 - page 14, line 7 claims 1-5,13,14	
A	WO 03/089656 A (AMERSHAM HEALTH AS [NO]; ARDENKJAER LARSEN JAN HENRIK [DK]; CLARKE BIL) 30 October 2003 (2003-10-30) page 1, lines 3-9 page 8, lines 6-10 page 10, lines 26-29 page 11, lines 24-30	1,9,10
T	WO 2007/069909 A (GE HEALTHCARE AS [NO]; THANING MIKKEL [NO]; GRAM KARL ANDREAS [NO]) 21 June 2007 (2007-06-21) page 1, lines 3-5 page 4, lines 5-17 page 5, line 4 - page 6, line 6 page 7, lines 1-14,26-34 page 8, lines 26-30 page 9, lines 4-11,20-34 page 12, line 20 - page 13, line 4 page 15, lines 1-29 examples 1-3 claims 1,2,4-7,10-14,16-22	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No PCT/N02007/000109	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 9935508	A	15-07-1999	NONE		
WO 9112024	A	22-08-1991	AT 126707 T	15-09-1995	
			AU 651570 B2	28-07-1994	
			AU 7235091 A	03-09-1991	
			CA 2075818 A1	13-08-1991	
			DE 69112384 D1	28-09-1995	
			DE 69112384 T2	28-03-1996	
			DK 515458 T3	25-09-1995	
			EP 0515458 A1	02-12-1992	
			ES 2076522 T3	01-11-1995	
			FI 923589 A	11-08-1992	
			GR 3017947 T3	29-02-1996	
			IE 910462 A1	14-08-1991	
			JP 3175940 B2	11-06-2001	
			JP 5506428 T	22-09-1993	
			US 5599522 A	04-02-1997	
WO 2006011810	A	02-02-2006	AU 2005267669 A1	02-02-2006	
			CA 2576202 A1	02-02-2006	
			CN 101031811 A	05-09-2007	
			EP 1784227 A2	16-05-2007	
			KR 20070061806 A	14-06-2007	
WO 2006011809	A	02-02-2006	AU 2005267668 A1	02-02-2006	
			CA 2575601 A1	02-02-2006	
			CN 101035796 A	12-09-2007	
			EP 1797102 A1	20-06-2007	
			KR 20070063504 A	19-06-2007	
US 5530140	A	25-06-1996	NONE		
WO 9113636	A	19-09-1991	AT 141519 T	15-09-1996	
			AU 645544 B2	20-01-1994	
			AU 7345191 A	10-10-1991	
			CA 2076861 A1	10-09-1991	
			CN 1056058 A	13-11-1991	
			CS 9100619 A2	15-09-1991	
			DE 69121562 D1	26-09-1996	
			DE 69121562 T2	16-01-1997	
			DK 521880 T3	09-09-1996	
			DZ 1506 A1	13-09-2004	
			EG 19889 A	31-03-1996	
			ES 2090315 T3	16-10-1996	
			FI 923962 A	04-09-1992	
			GR 3020842 T3	30-11-1996	
			HK 1003563 A1	30-10-1998	
			HU 62490 A2	28-05-1993	
			HU 217075 B	29-11-1999	
			IE 910775 A1	11-09-1991	
			IL 97455 A	27-11-1995	
			JP 5504953 T	29-07-1993	
			JP 3215703 B2	09-10-2001	
			LV 10058 A	10-05-1994	
			NO 923485 A	05-11-1992	
			OA 9667 A	15-05-1993	
			PT 96978 A	31-10-1991	
			RO 111543 B1	29-11-1996	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/NO2007/000109

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9113636	A	TR 25738 A US 5328680 A	01-09-1993 12-07-1994
WO 03089656	A	30-10-2003 AU 2003228149 A1 EP 1497448 A1 JP 2005523441 T US 2005233470 A1	03-11-2003 19-01-2005 04-08-2005 20-10-2005
WO 2007069909	A	21-06-2007 NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 レルチェ, マティルダ・エイチ
デンマーク、ディーケイ - 1 9 0 3 ・フレデリクスベルグ・シー、1、サンクト・クヌッツ・フェイ・2 4 番

(72)発明者 カールソン, マグナス
スウェーデン、エス - 2 1 2 4 3 ・マルモ、ライッタレガタン・1 シー番

Fターム(参考) 4C085 HH07 JJ02 KA30 KB42 KB52 LL18
4H006 AA02 AA03 AB20 AB91 AC84 AC90 BR10 BS10 BS70