

Gd-DTPA-EDA-D1-2Glc(OH) (26), Gd-DTPA-EDA-D1-2Gal(OH) (27), Gd-DTPA-EDA-D1-2Man(OH) (28)は mouse の尾静脈から緩徐に 0.05 mmol/kg 注入した。そして、1分後、5分後、1時間後、2時間後に撮像を繰り返した。また、比較として Gd-DTPA 水溶液 マグネビスト、(日本シェーリング社製) 0.1 mmol/kg での 1分後、5分後、1時間後の撮像も行った。

また、得られたそれぞれの写像から臓器ごとの信号強度を計測した。

#### ・ 血清中での T1 緩和速度測定

100 %, 50 %, 25 %, 0 % の 4 種類の濃度のウシ胎児血清 (蛋白 4.5 g/dl) 水溶液 (生理的食塩水に溶解) 中での Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) (8) 0.5mM の緩和速度を計測した (17 °C)。また、同様の濃度の Gd-DTPA 水溶液 (マグネビスト、日本シェーリング社製) と造影剤なしでの同一撮像面内において比較した。

#### 参考文献

- 1) M. Takahashi, Y. Hara, K. Aoshima, H. Kurihara, T. Oshikawa and M. Yamashita, *Tetrahydon Lett.*, **41**, 8485-8488 (2000).
- 2) K. Muramatsu, Y. Takehara, H. Sakahara, M. Yamashita, T. Nishikawa, N. Sadato, *ISMRM2005*, フロリダ講演ポスター(2005)
- 3) M. Yamashita, S. Laurent, L. V. Elst, and R. N. Muller, *ISMRM2004*, 京都講演ポスター(2005)
- 4) 上陰那央, 平成 17 年度静岡大学理工学研究科修士論文, 2005.
- 5) C. F. Geraldés and A. M. Urbano, *J. Magn. Reson.*, **13**, 401- (1995).
- 6) H. Kobayashi, S. Kawamoto, T. Saga, N. Sato, T. Ishimori, J. Konishi, K. Ono, K. Togashi, *M. W. Bioconjug. Chem.* **12** (2001) 587-593.
- 7) H. Kobayashi, S. Kawamoto, S. K. Jo, H. L. Bryant Jr., M. W. Brechbiel R. A. Star, *Bioconjug. Chem.* **14** (2003) 388-394.
- 8) D. M. J. Doble, M. Botta, J. Wang, S. Aime, A. Barge, K. N., *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 10758-10759.
- 9) S. Langereis, Q. G. Lussanet, M. H. P. Genderen, W. H. Backes, E. W. Meijer, *Macromolecules* **37** (2004) 3084-3091.
- 10) V. J. Venditto, C. Aida, M. W. Brechbiel, *Mol. Pharmacol.* **2** (2005) 302-311.
- 11) R. Arebizak, M. Schaefer, E. Dellacherie, *Bioconjug. Chem.* **8** (1997) 605-610.
- 12) C. Corot, M. Schaffer, S. Beaute, P. Bourrinet, S. Zehaf, V. Benize, M. Sabatou, D. Meyer, *Physical, Acta Radiol.* **38** (Supplement 412) (1997) 91-99.
- 13) M. V. Knopp, S. O. Shoenberg, C. Rehm, and F. Floemer, *Investigative Radiology*, **37**(12), 706-715 (2002).

## 2-3 新規非対称糖鎖導入型造影剤

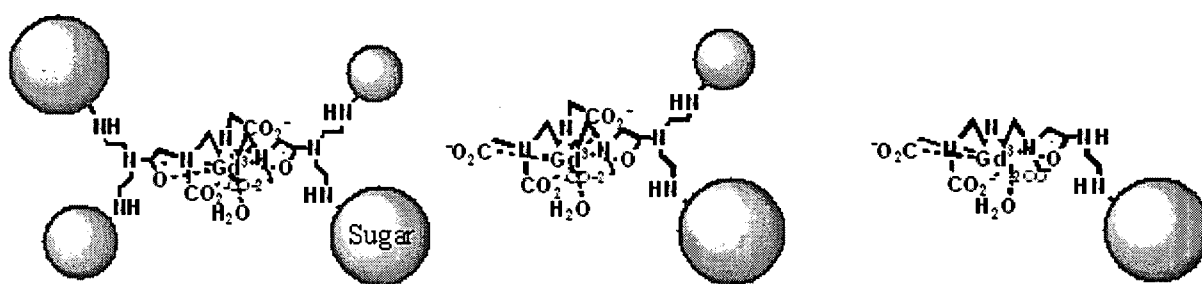
### 概要

現在、最も広く使用されている Gd-DTPA は組織認識部位を有しておらず、その分子サイズの小ささ故に血管から滲み出し、細かい血管や、特定の臓器や疾患を選択的に映し出すことができない。

本研究室では、これを改善するために、組織認識部位として Gd-DTPA の末端に糖を 4 分子導入したデンドリマー型の Gd-DTPA-DETA-D2-4Sugar (Fig. 2-3-01) が既に開発されている<sup>1)</sup>。Gd-DTPA-DETA-D2-4Sugar の造影剤としての能力は、糖末端がヒドロキシル基のもの (OH 型) で血管、腎臓、肝臓に高い臓器特異性を有しており<sup>2)</sup>、糖末端がパーアセチル基のもの (OAc 型) でも腎臓に高い特異性を有しているということが報告されており<sup>3)</sup>、いずれも Gd-DTPA より高い緩和率を示したことから、実用化が期待されている。また、OH 型では、肝細胞がんでの増強効果も確認されており、疾病の早期発見のためにも有用であると考えられる<sup>2)</sup>。

しかしながら、それらの組織との強い結合力のために投与後 2 日が経過しても体外に排出されないという欠点が新たに生じた<sup>2)</sup>。

そこで、本研究ではこの Gd-DTPA-DETA-D2-4Sugar の長所を引き継ぎ、各組織と適度な結合力を持たせるため、組織認識部位と考えられる糖鎖の形状は変化させず、Gd-DTPA の片側にのみ糖鎖を配位し、分子量の小さい造影剤を合成した。この新しい造影剤は Gd-DTPA-DETA-D2-4Sugar に倣い、Gd が配位する DTPA 部分と糖とをアミド結合を介して接合でき、なおかつ二つの糖が非対称に配置できるように従来どおりジエチレンジアミンをスペーサーとして用いた Gd-DTPA-DETA-AS2-2Sugar (Fig. 2-3-01) のような分子設計をし、合成を進めた。また、確立した合成経路を応用して、糖鎖を 1 つだけ配置した Gd-DTPA-EDA-AS1-1Sugar を合成した。



Gd-DTPA-DETA-D2-4Sugar Gd-DTPA-DETA-AS2-2Sugar Gd-DTPA-EDA-AS1-1Sugar

Fig. 2-3-01

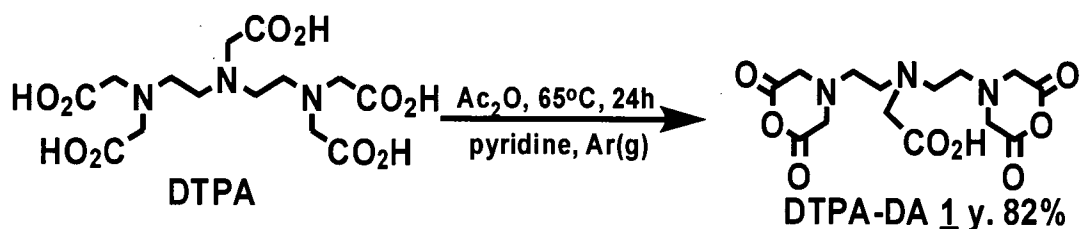
### 2-3-1 結果と考察

#### 2-3-2-1 新規非対称型 MRI 造影剤 Gd-DTPA-DETA-AS2-2Sugar

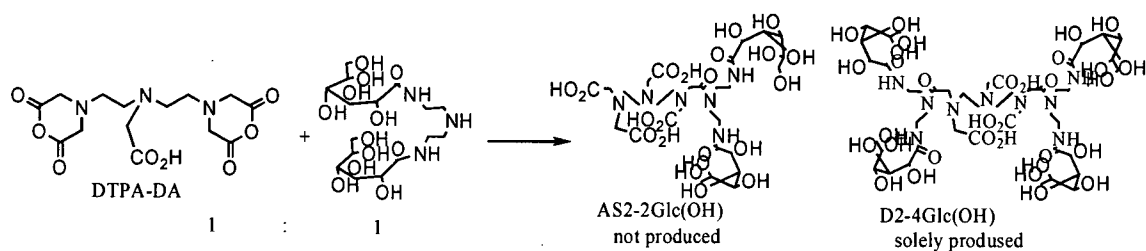
##### (1) DTPA-MA の合成

非対称型の造影剤を合成する方法としてまず、従来の対称型造影剤の合成経路と同様に、DTPA(ジエチレントリアミン五酢酸)から DTPA-DA(ジエチレントリアミン五酢酸二無水物) 1 を合成し更にジグルコシルアミン (糖鎖部位) を 1 対 1 で反応させたが、従来の対称型の配位子のみが選択的に合成された。(Scheme 2-3-01) (Scheme 2-3-02)

このことは、DTPA-DA のアミド化は、1 段階目よりも二段階目のほうが速いことを示す。



Scheme 2-3-01



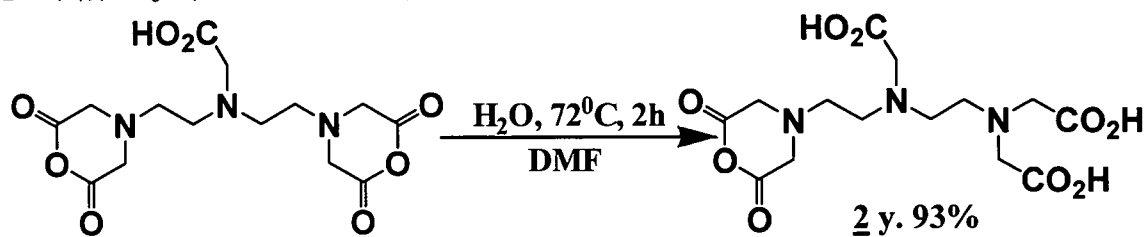
Scheme 2-3-02

そこで、DTPA-DA を過剰に加えて糖鎖部位と反応させたが、この場合も DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH) ではなく 1 : 1 モル比の時と同様に DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) が選択的に合成されることが確認された。これは、DTPA-DA と糖鎖部位が 1 対 1 で反応した物は、DTPA-DA に比べ溶解力が高くなり、一段階目の反応が進行した物から選択的に糖鎖部位が再度反応したと考えられる。そこで 新規合成経路として、DTPA に一箇所だけ反応活性点を合成すること、即ち DTPA を二無水物ではなく一無水物とすることで選択的に片側に組織認識部位のジグルコシルアミン残基を導入することにした。

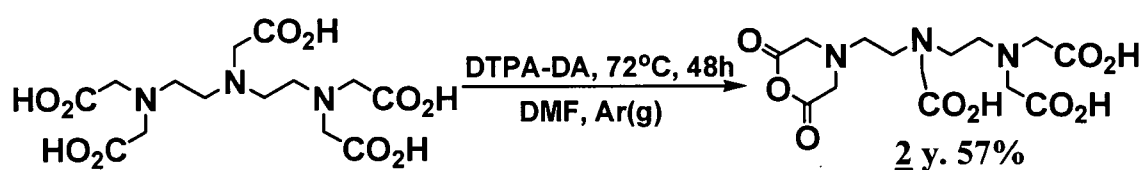
DTPA-MA (ジエチレントリアミン五酢酸一無水物) は、DTPA を従来方法 (Scheme 2-3-01) で DTPA-DA とした後、DTPA-DA を 1 当量の水と反応させることで DTPA-MA とし、反応活性点を選択的に一箇所にするようにした。合成方法は、EDTA-DA (エチレンジアミン四酢酸二無水物) から EDTA-MA (エチレンジアミン四酢酸無水物) を合成する方法<sup>4)</sup> に従い DTPA-DM を DMF に懸濁させ 1 当量の水と  $72^\circ\text{C}$  で 4 時間かけて反応させた。反応が進行するに従い、懸濁物が溶解していき、目的生成物の DTPA-MA を原料の DTPA-DA からろ過により単離が可能であった。これは、DTPA-DA の対称性に対し、DTPA-MA は構造の歪みから生じる極性のため、溶解力に差が出たと考えられる。また、DTPA も、DMF にあまり溶解しないので DTPA が混在していたとしても DTPA-MA のみをろ過により簡単に単離することが出来た。DTPA-DA と 1 当量の水との反応において 4 時間経過後、懸濁している成分をろ過により除き、大まかに減圧下温度をかけながら溶媒を留去し、残渣にアセトニトリルを加え結晶化させ、結晶をろ過し DMF をアセトニトリルで洗い流すことで DTPA-MA 2 を収率 93% で得た (Scheme 2-3-03)。DTPA-MA は空気中の水分と容易に反応し DTPA になるため操作を素早く行なう必要があった。

また、新規な DTPA-MA の合成方法として DTPA と DTPA-DA を DMF 中  $72^\circ\text{C}$  で 2 日間攪

拌反応させ残った結晶をろ別し、ろ液を大まかに減圧下留去した後に、アセトニトリルを加え結晶化し、ろ過により DMF を洗い流すことで DTPA-MA を収率 57% で得ることが出来た。(Scheme 2-3-04)



Scheme 2-3-03



Scheme 2-3-04

DTPA-MA 2 の確認は FT-IR (Fig. 2-3-02(c)) 熱分析及 (Fig. 2-3-2(a)), (Fig. 2-3-02(b)) 及びその後の反応において選択的に非対称型の化合物を合成することで確認した。また熱分析から DTPA あるいは DTPA-DA とは違う明らかな変化を確認した。また IR において  $1890\text{cm}^{-1}$  の環状無水物の吸収に大きな ( $0\text{cm}^{-1}$  シフト) (Fig. 2-03) 変化が出た。

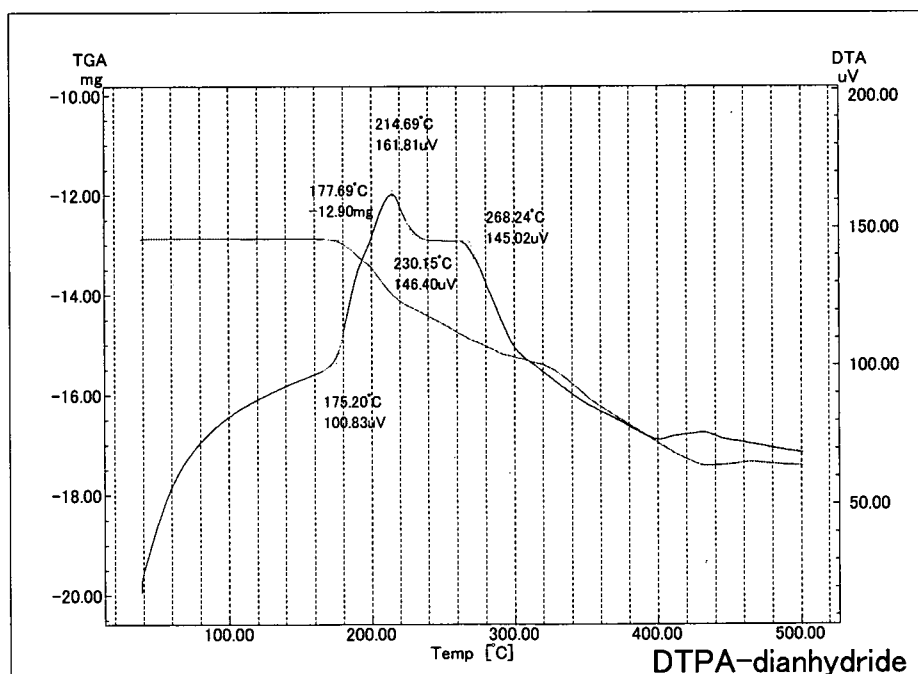


Fig. 2-3-02(a). DTPA-MA の熱分析の結果

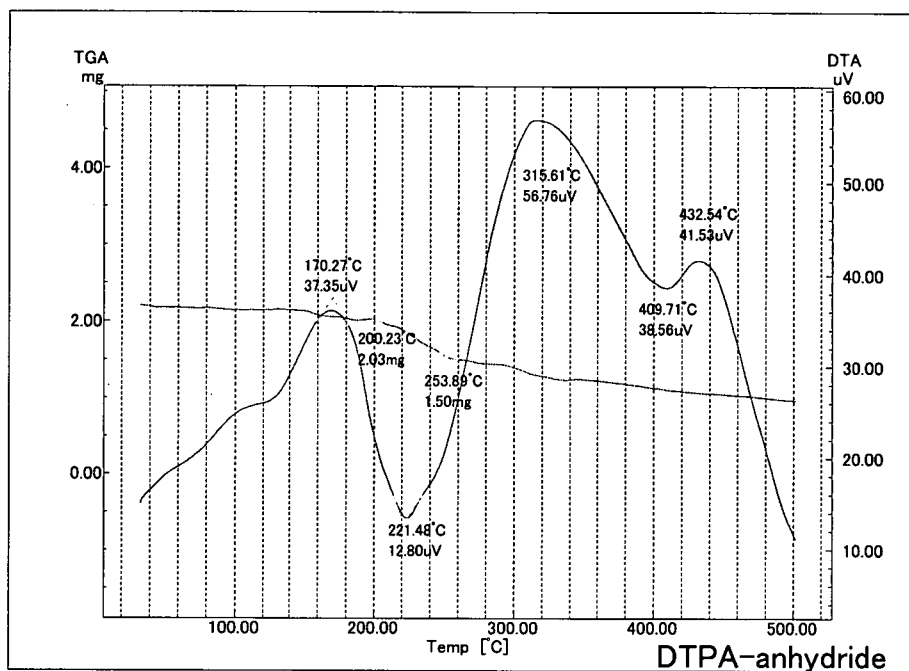


Fig. 2-3-02 (b). DTPA-MA の熱分析による結果

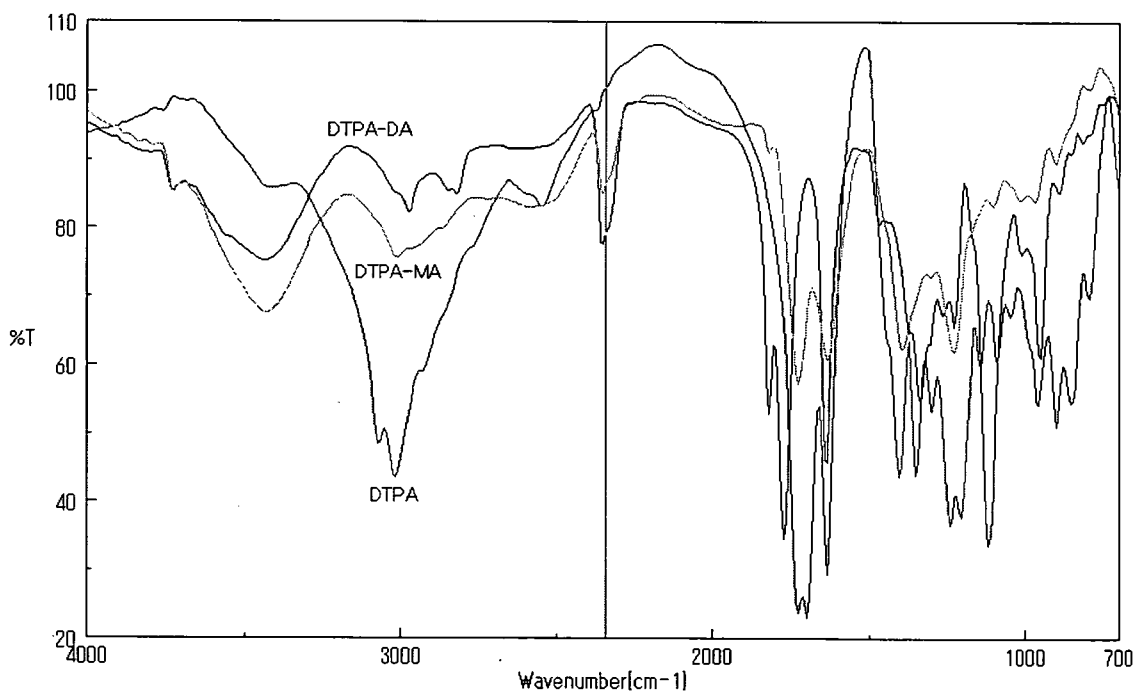


Fig. 2-3-02 (c). FT-IR による比較

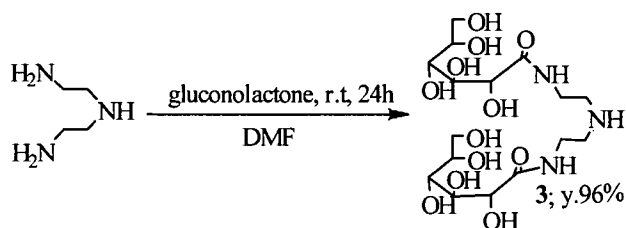
## (2) 末端(Terminal)部の合成

当研究では従来末端部の合成は、まずジエチレントリアミンとグルコノラクトンを出発物質として行い<sup>5,6)</sup>デンドリマー合成の段階において糖のヒドロキシル基による反応の複雑化を抑制するため、遊離のヒドロキシル基をパーアセチル保護していた。しかし、当研究室小川により、保護基を用いず配位子を合成する経路<sup>7)</sup>が確立された。

そのため本研究では、従来の合成経路を用いて糖末端がアセチル保護された造影剤を合成し、糖末端がヒドロキシル基のものに関しては、新規の保護基を用いない合成経路により目的物を合成した。

### 1) ジグリコシルアミン 3 の合成

DMF 中室温でジエチレントリアミン 1 当量に対して D-(+)-グルコノ-1,5-ラク톤を 2 当量反応させることによって、ジエチレントリアミンの第一級アミンに対して選択的に糖が導入されたジグリコシルアミン 3 を収率 96% で得た (Scheme 2-3-05)。この場合には反応が進行すると、生成物 3 は DMF 中から結晶として析出するので精製が容易であった。



Scheme 2-3-05

化合物 3 の構造は  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルでアミドプロトンの存在を確認し (Fig. 2-3-3(a))、さらに  $^{13}\text{C-NMR}$  スペクトルで糖の 4 種類のメチン炭素と 1 種類のメチレン炭素の存在を確認することにより同定した (Fig. 2-3-3(b))。

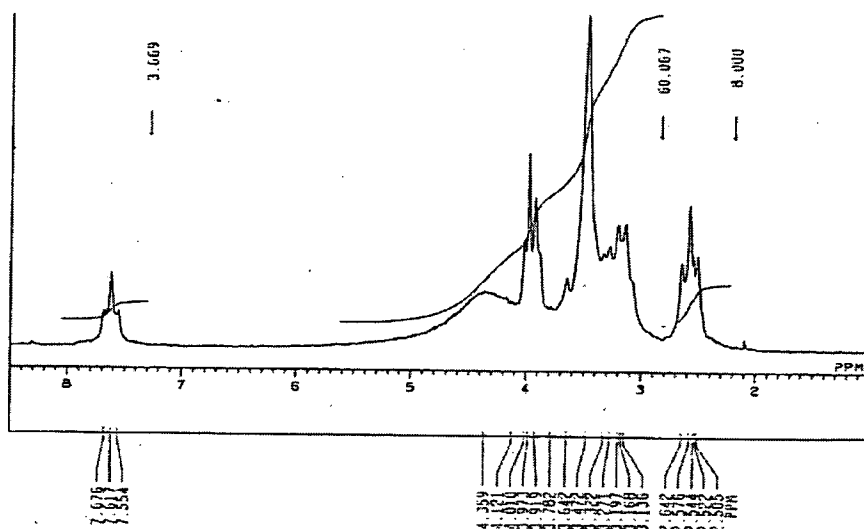


Fig. 2-3-03 (a). ジグリコシルアミン 3 の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトル

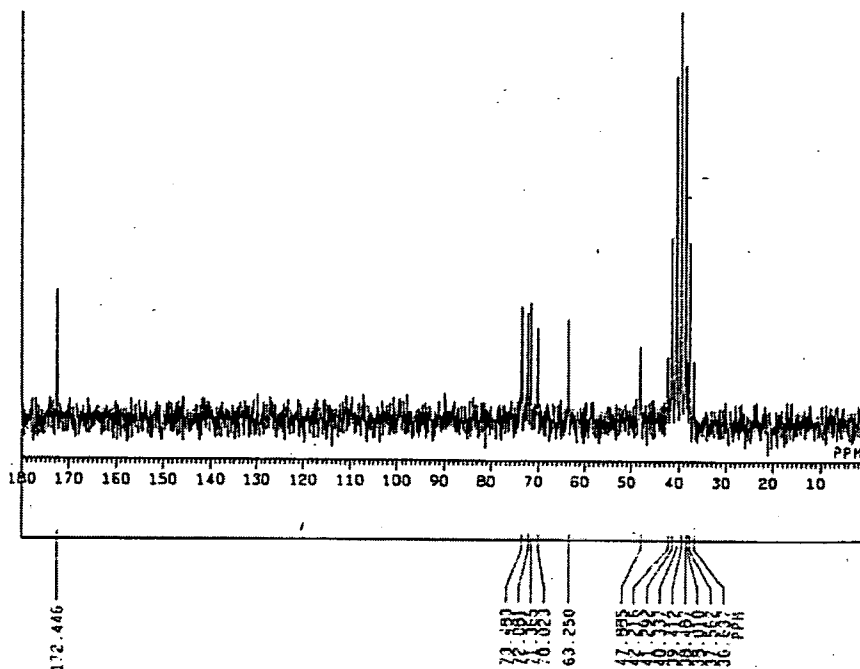
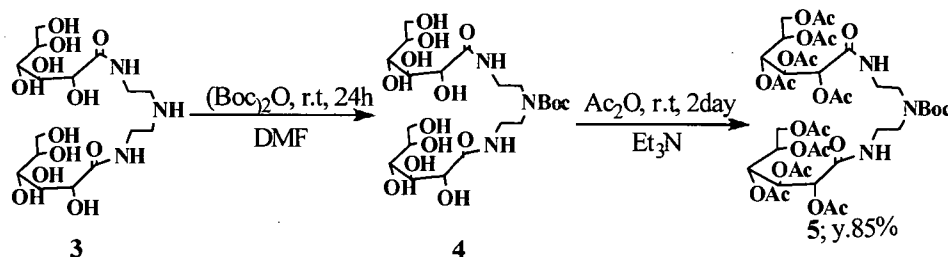


Fig. 2-3-03 (b). ジグリコシルアミン 3 の  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル

次に従来の合成経路に従い糖のヒドロキシル基をアセチル基により保護を行った。この際、ジグリコシルアミンの 2 級アミンをまず Boc により保護することで選択的に糖のヒドロキシル基のみをアセチル化した。

## 2) ジグリコシルアミン 3 の Boc 化およびヒドロキシル基のアセチル化

ジグリコシルアミン 3 を DMF 中で二炭酸ジ-*t*-ブチルと室温で反応させ、反応終了後、トリエチルアミンを加え、さらに無水酢酸を当量加えることで化合物 4 を収率 85% で合成した (Scheme 2-3-06)。以前の研究では化合物 4 を一旦精製した後、4 のヒドロキシル基をアセチル化して化合物 5 を得ていた。しかし、化合物 4 の反応系に無水酢酸、トリエチルアミンを加え化合物 5 を合成し生成物を精製した後でも化合物 5 が高収率で得られたため、本研究では、化合物 3 を取り出さずに反応を行なうことにした。



Scheme 2-3-06

化合物 5 の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル (Fig. 2-3-04) で出現したアセチル基のプロトン数と他のメチン、及びメチレンのプロトン数を比較することで化合物 5 の構造の同定を行った。

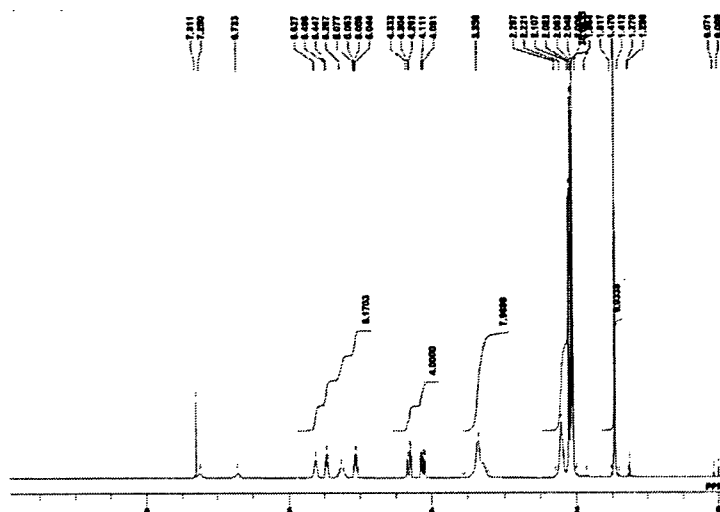
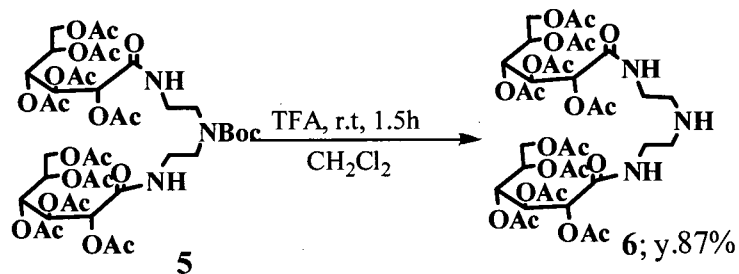


Fig. 2-3-04. 化合物3の<sup>1</sup>H-NMR スペクトル

### 3) 化合物5の脱Boc化(化合物6の合成)

Boc基の脱保護は酸性条件下で行われることが知られている<sup>8)</sup>。ここでは反応させる化合物5のアセチル基が外れない程度の強さの有機酸であるトリフルオロ酢酸を用いることでBoc基の選択的脱保護を行い6を得た。収率は87%であった(Scheme 2-3-07)。



Scheme 2-3-07

化合物6の構造の同定は<sup>1</sup>H-NMR スペクトル(Fig. 2-3-05)と<sup>13</sup>C-NMR スペクトルにおいてBoc基のメチルプロトンのピークが消滅したことから確認した。



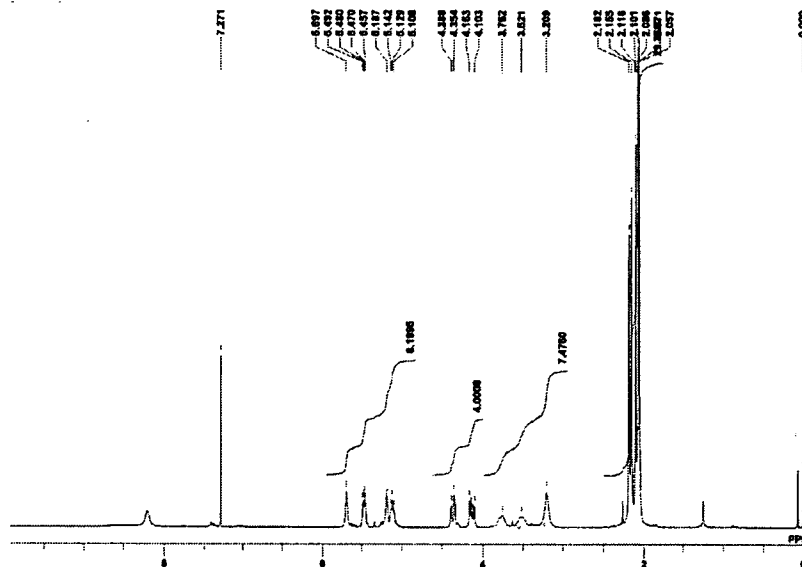
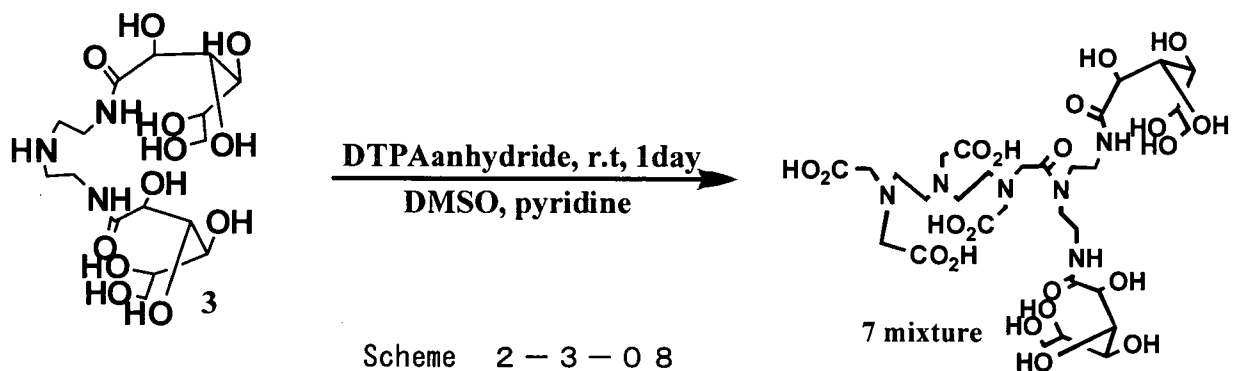


Fig. 2-3-05. 化合物6の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル

### (3) DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH) 7の合成

糖末端がヒドロキシル基のDTPA-AS1-2Glc(OH)は、当研究室小川により新規に確立されたDMSOを溶媒にしてピリジンを触媒として用いる経路<sup>7)</sup>で合成した。DTPA-MAには反応活性点が1点のみであり、小川のDTPA-DETA-D2-4Glc(OH)と同じ合成経路が使用できた。DTPA-MAとジグルコシルアミン**3**との反応を当モルで行った場合、DTPA-MAに不純物として含まれるDTPA-DAと**3**が反応しDTPA-D1-4Sugarが合成されてしまいDTPA-DETA-AS2-2Glc(OH)をDTPA-DETA-D2-4Glc(OH)との混合物から単離が非常に困難なため、DTPA-MAを1.5当量加え反応を行いDTPA-DETA-AS2-2Sugarを合成した。反応終了後溶媒を大まかに留去したのち、MeOHで結晶化しろ過し結晶に付着したDMSOをMeOHで洗い流した。ここでは、未反応のDTPAは回収せず混合物のまま次の反応に進み次の反応後にDTPA-DETA-AS2-2Glc(OH)の精製を行った。



DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH)の構造確認はマスペクトルを使い判断したMSによりMALDI I-TOF-MS(-)833,  $[M-H]^-$ の目的物のピークを確認した(Fig. 2-3-06)。得られたDTPA-DETA-AS2-2Glc(OH)はDTPAとの混合物であったためNMRでは、混合物のスペクトルを与え、NMRスペクトルの解析は出来なかった。



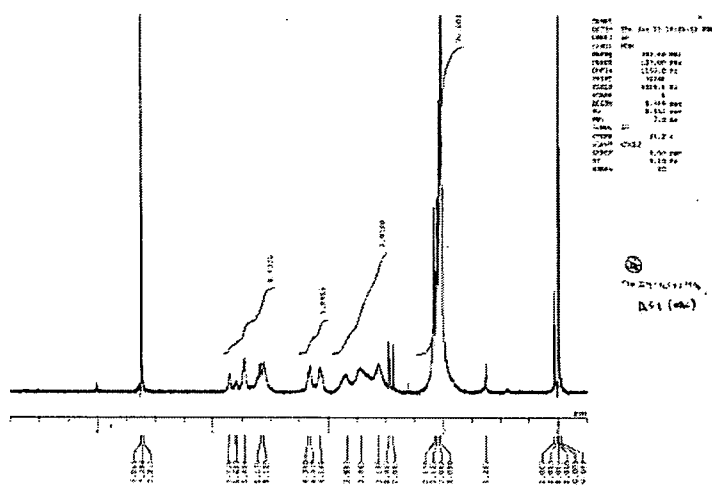


Fig. 2-3-7-01. DTPA-DETA-AS2-2Glc(OAc) 8 の H-NMR データ

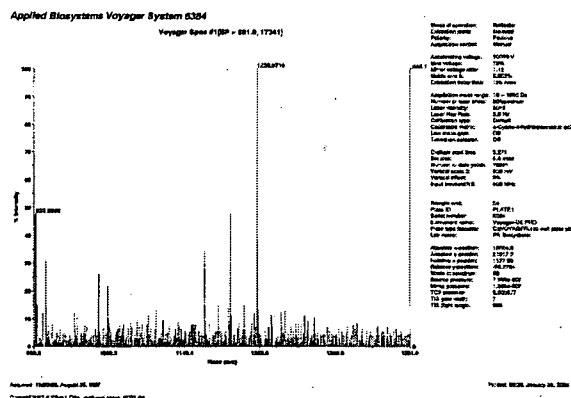
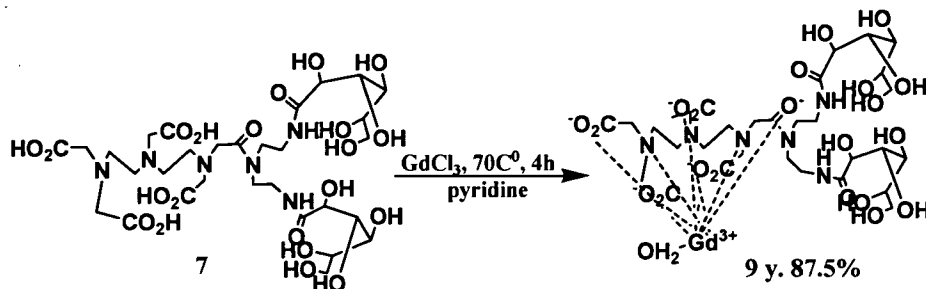


Fig. 2-3-7-02. DTPA-DETA-AS2-2Glc(OAc) 8 の MS データ

### (5) Gd-DTPA-DETA-AS2-2Sugar の合成

反応により得られた 7, 8 を配位子として  $GdCl_3$  を用いて Gd 錯体 9, 10 を合成した。反応の際、反応場が酸性になるのを防ぐためにピリジンを溶媒として用いた。 $Gd$ -DTPA、塩化ピリジン、 $GdCl_3$  は MeOH に可溶である事が当研究室小川により確認されている<sup>7)</sup>。そこで、 $Gd$ -DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH) は、 $GdCl_3$  を過剰量の 1.5 当量使用することにより、狭雑物の DTPA を  $Gd$ -DTPA とし、配位子の 7 または 8 をそれぞれ目的の Gd 錯体 9 または 10 とし、未反応の  $GdCl_3$  及び不要で溶解度の大きな  $Gd$ -DTPA 錯体を MeOH で洗浄して溶解除去することにより生成物を精製した。MS スペクトルおよび複合 TEM により Gd 錯体の構造を確認した。(Fig. 2-3-08(a)及び Fig. 2-3-08 (b))



Scheme 2-3-10

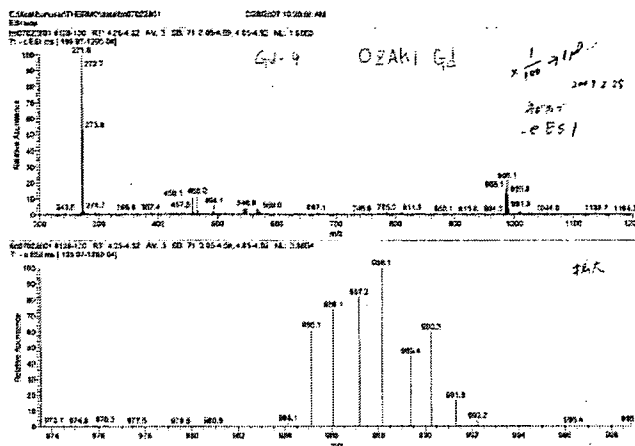


Fig. 2-3-08 (a). Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH) のマスペクトル (上段)  
 目的の分子イオンピークの拡大 (下段)

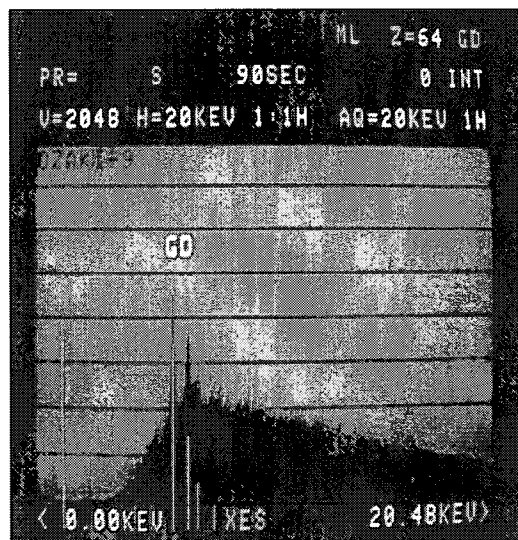


Fig. 2-3-08 (b). Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc(OH) 9 の複合電顕の結果

Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc(OAc) は反応後、溶媒を留去し残渣をジエチルエーテル/水で抽出し、水相を回収することで未反応の配位子を除き、乾燥させイソプロパノールで結晶化し精製し、収率 1.8% で目的物の Gd-DTPA-DETA-AS2-2Glc(OAc) を得た (Scheme 2-3-11)。スペクトルデータを以下に示す (Fig. 2-3-09)。



AS1-1Sugar の開発をおこなった。

### (1) T3 (ethylenediamine monosugar) の合成

生体認識部位となるターミナルは、小川により特許申請がなされている方法を用いて合成した。合成方法は、大過剰のエチレンジアミン中に DMF に溶解した糖を徐々に滴下し2つのアミノ基に糖ラクトンが反応するのを抑制する条件で反応を行った。反応終了後溶媒を留去し残渣にクロロホルムを加え一晚攪拌することで、未反応のエチレンジアミンと DMF を溶出し白色パウダーの目的物 11 を収率 89% で得た。

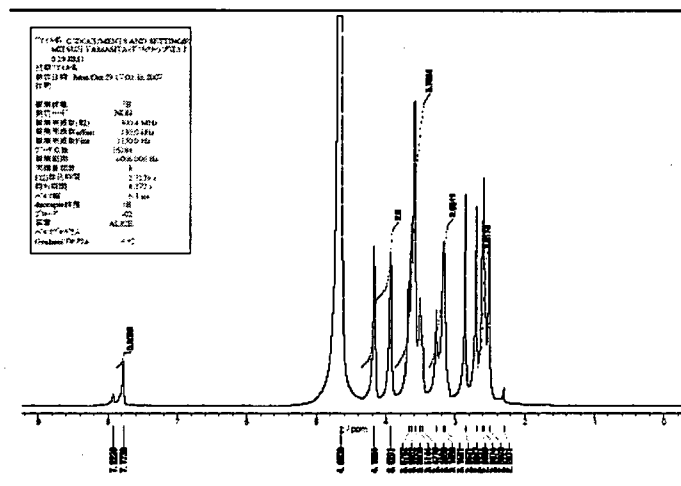
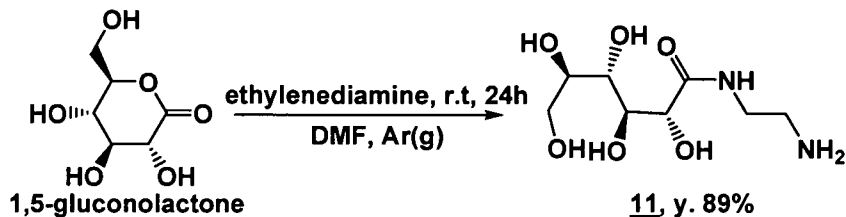


Fig. 2-3-10(a). 化合物 11 の NMR データ

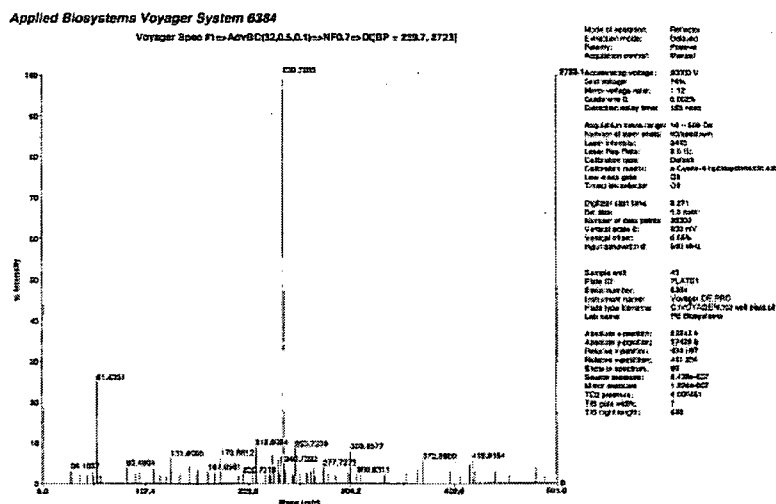
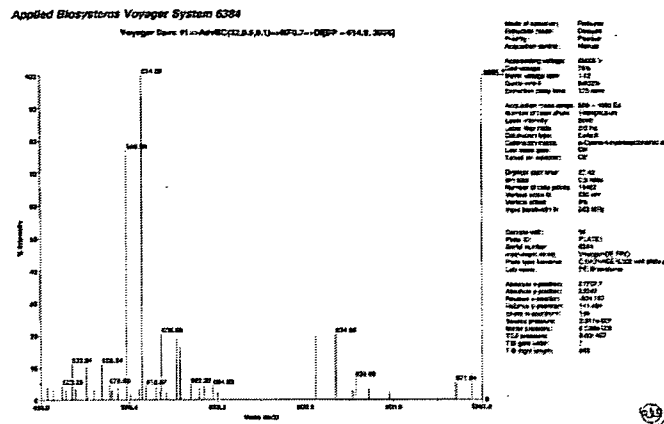


Fig. 2-3-10(b). 化合物 11 のマスターデータ







MESH 100-200) を用い除去し緩和率測定に影響が出ないようにした。フリーGd の検出にはキシレノールオレンジを用いて確認を行った。

### (1) フリーGd の検出

キシレノールオレンジは、pH により呈色がことなるため、測定は 1ml の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液(pH を 5 に調製)にピリジンを一滴加えサンプルをごく少量加え、最後にキシレノールオレンジを加え溶液の色を確認した。錯形成をしていないフリーGd が存在している場合、ピンク-紫色に呈色し、フリーGd が含まれていない場合キシレノールオレンジはサンプルを加えても色に変化はなく褐色となった。また、ろ紙を用いたペーパークロマトグラフィーのようにサンプル水溶液をろ紙に一滴落とし、そこにキシレノールオレンジを加えることでもフリーGd の存在を確認できた。この場合、フリーGd が存在すると青色を示し、存在しない場合ピンク色となった。

### (2) フリーGd の除去

キレックスは pH の変化により捕捉しやすい金属原子の半径が異なる。Gd を捕捉する場合溶液の pH を 6 - 7 に調製するのが最も良いため、サンプルを水に溶かし pH を pH メーターで正確に測定し Gd 錯体を調整した溶液が酸性の場合は濃度の薄い NaOH (0.1N) 水溶液を用いて pH 6 - 7 に調整した。また、Gd 錯体を調製した溶液がアルカリ性の場合そのまま次の工程に進んだ。pH は重要な要素であるため pH メーターを使い測定する必要があった。キレックスを 5 g 程度とりサンプル溶液に加え 6 時間攪拌した。攪拌後、キレックスを吸引ろ過によりろ別した。溶液を一滴取り、上記の方法でフリーGd の検出を行ない、フリーGd が確認された場合、もう一度キレックスを用いて同じ操作を行った。

### (3) ミニスペックによる T1 測定

フリーGd を除いたサンプルをサンプル管に 3 ml 程度入れ測定をおこなった。緩和時間は温度に影響を受けるため、サンプルを測定前に測定温度に保たれたブロックヒータにサンプルをいれあらかじめサンプルを測定温度にした。緩和率は温度に多大な影響を受けるためミニスペックは 37 度に設定していた。測定は測定範囲の補正をするため、まず T1 を測定し出てきた緩和時間を参考に測定範囲の数値を入力しなおしてから測定した。T1 測定は積算を 8 行い、測定ポイントも 8 ポイントとった。各サンプル 3 回ずつ測定し平均値を導いた。測定後、T1 時間から換算式より緩和率  $r_1$  を計算した。

### (4) ミニスペックによる濃度未知サンプルの Gd モル数の測定

ミニスペックの測定限界が緩和時間 25ms なのでサンプルの T1 緩和時間の値により測定濃度を 2 種類用意した。T1 緩和時間が 25ms 以下のサンプルはサンプルに対して 7 倍の concn. 硝酸を加えて T1 緩和時間が 25ms 以上のものは、サンプルと同量の concn. 硝酸を加えたサンプルを 12 時間経過後ミニスペックで T1' を測定した。

### (5) 緩和時間から緩和率計算

以下の式に測定値を当てはめて緩和率  $r_1$  を計算した。

#### 1) モル数の計算

$$mol数 = \frac{\frac{1}{T1'} \times 1000 - 0.3645}{11.76} \times (8or2)$$

#### 2) 緩和率の計算

$$r_1 = \frac{\frac{1}{T1} \times 1000 - Gd定数}{mol数} = \frac{\frac{1}{T1} \times 1000 - 0.2826}{mol数}$$

Concn. 硝酸を7倍量加えたものは×8、同量加えたものは×2をする。測定値は [ms] で出てきているため [s] に換算した。

### (6) 緩和率の計算結果と比較

測定により得られた緩和時間とモル濃度を基に各サンプルにおける緩和率 [ $s^{-1}M^{-1}$ ] を計算しまとめた。(Fig. 2-3-13) (サンプル K6 は特許等の関係上詳細は公開できない。)

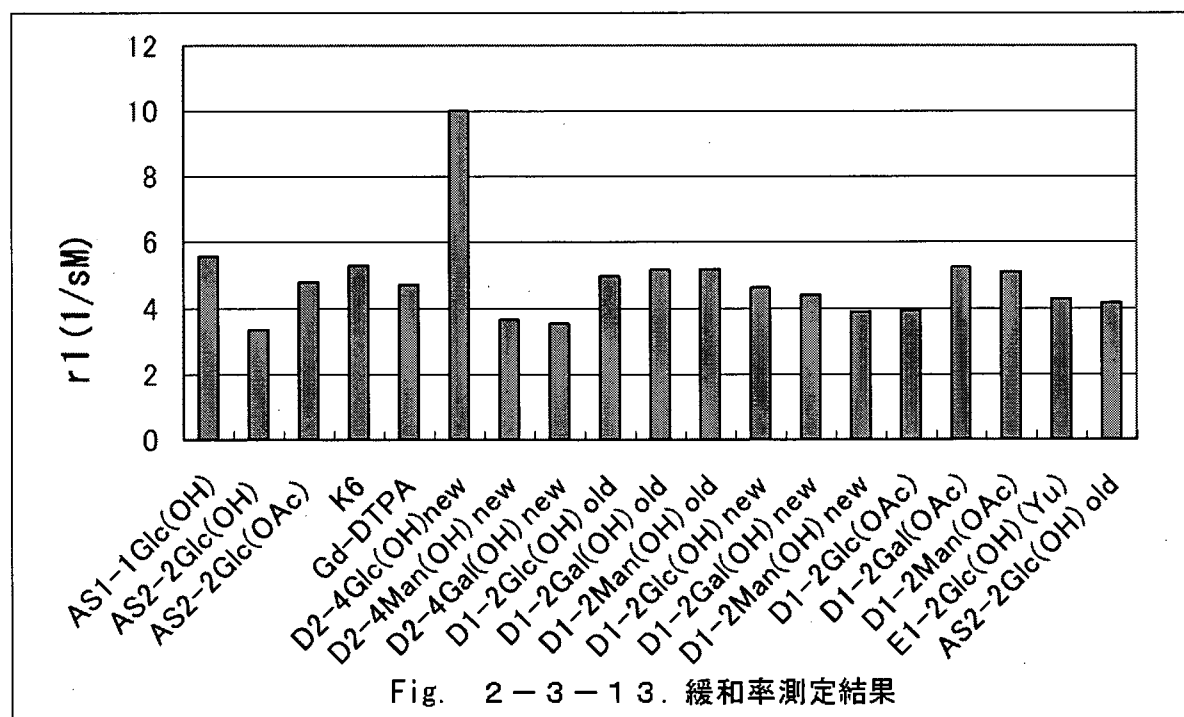


Fig. 2-3-13. 緩和率測定結果

当研究室により既に合成され構造が確認されている造影剤の緩和率の結果との比較により、2つの糖鎖を対称的に配置した D1-2Glc(OH) と片側のみに糖鎖を配置した AS1-1Glc(OH) を比較すると、緩和率の上昇が見られた。しかし、対称的に糖鎖を4つ配置した D2-4Glc(OH) と片側のみに糖鎖を配置した AS2-2Glc(OH) を比較すると緩和率

が低いことが明らかとなった。構造を非対称にする事で緩和率の上昇は見られなかった。しかし、現在使用されている造影剤に近いまたはそれ以上の緩和率が得られた。この結果から、比較的よい緩和率を示した化合物 Gd-DTPA-AS1-1Glc(OH) **13** はがん化ラットに対して、また Gd-DTPA-AS2-2Glc(OH) **9** を市販されているラットを用いて造影を評価する *in vivo* による検討を行い、Gd-DTPA-EDA-AS1-1Glc(OH) 0.1mmol/kg において肝臓がんの造影に成功した。

## 2-3-2 実験項

### 2-3-2-1 測定機器

FT-IR: JASCO FT/IR-410 赤外分光計

NMR: JEOL JNM-AL300 核磁気共鳴分光計

重溶媒としては重クロロホルム (chloroform-*d*)、重水 (D<sub>2</sub>O) 重ジメチルスルホキシド (DMSO-*d*<sub>6</sub>) を使用し、内部標準としては TMS を使用した。

MALDI-TOF-MS: GL Science 社製 Voyager-DE porimerix  
マトリクスとして α-CHCA を使用した。

ESI-Q-MS: finnigan mat 製 ssq7000c

試料溶液を直接導入した。

示差熱・熱重量測定: 島津製作所 DTG60A/60AH

薄層クロマトグラフィー: 和光純薬工業のクロマトシートを用いた。スポットの呈色にはヨウ素蒸気を利用した。

複合 TEM; 元素分析装置付き高圧透過型電子顕微鏡  
日本電子製 JEM200CX 型

元素分析装置部 (KEVEX 7025 J型エネルギー分散形)

MR イメージング: 3.0T 超伝導磁気共鳴画像撮影装置 Signa 3.0T (General Electric 社製、米国 WI) を使用し、撮像 pulse sequence は 3-dimensional Fourier transform fast spoiled gradient recalled acquisition in steady state (3DFSPGR) で撮像 parameters は TR(ms)/TE(ms)/FA=5.6/1.5/40, FOV (cm)=24, matrix=256x224, slice thickness=2.4mm, zero filled interpolation (ZIP)=2, NEX=1 周波数選択脂肪抑制反転回復 pulse を併用して脂肪信号を消去した。

### 2-3-2-2 試薬

全ての試薬類および溶媒類は、和光純薬工業株式会社・シグマ アルドリッチ・東京化成工業株式会社・関東化学株式会社からの市販品を使用した。

### 2-3-2-3 合成項

#### (1) DTPA dianhydride の合成 1 の合成

アルゴン雰囲気下、ナスフラスコに DTPA (10.0g, 25.5mmol) を入れ、乾燥ピリジン (15ml) に溶解し、無水酢酸 (9.6ml, 102mmol) を加え、65°C で 1 日攪拌した後、沈殿物を減圧ろ過し、無水酢酸 (50ml) で 3 回とアセトニトリル (50ml) で 3 回洗浄し、真空乾燥することにより白色結晶の DTPA-二無水物 **1** (7.82g, 20.9mmol) を収率 82% で得た。

Elem. Anal. Calcd. (found):  $C_{14}H_{19}N_3O_8$ ; C, 47.06 (45.85), H, 5.36 (5.54), N, 11.76 (11.23).

MALDI-TOF-MS (+) 380,  $[M+Na]^+$ .

$^{13}C$ NMR (DMSO- $d_6$ ),

$\delta$  (ppm): 50.7, 51.8 ( $2 \times N-CH_2-CH_2$ )

; 52.6 ( $CH_2-O=C-O-C=O$ )

; 54.5 ( $N-CH_2-CO_2H$ )

; 65.8 ( $O=C-O-C=O$ )

; 172.0 ( $O=C-OH$ )

IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 1818 ( $O=C-O-C=O$ ), 1764 ( $O=C-O-C=O$ ), 1637 ( $C=O-OH$ )

Rf=0.6 (MeOH)

m. p. =178-179°C

## (2) DTPA-DA と水による DTPA monoanhydride 2 の合成

アルゴン雰囲気下 DTPA-DA (1.20g, 3.38mmol) を DMF (5ml) 中に懸濁させ 72°C で当量の水 (60.9  $\mu$ l, 3.38mmol) と反応させた。水はイオン交換水を使用しマイクロピペットで 5.9  $\mu$ l 滴下後 5.0  $\mu$ l ずつ 6 分おきに 11 回に分けて滴下した。滴下後 1 時間反応させた。反応終了後結晶が残る場合、ろ過により取り除いた。ろ液から減圧下溶媒を除き、アセトニトリルを加えることで白色粉体を析出させ、結晶をろ過し乾燥させることで目的物の DTPA-MA (1.32g, 3.38mmol) を収率 97.9% で得た。

MALDI-TOF-MS (+) 376,  $[M+H]^+$ .

IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 1728 ( $O=C-O-C=O$ ), 1658 ( $O=C-O-C=O$ ), 1388 ( $C=O-OH$ ),  
1226 ( $C=O-OH$ )

$^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ );

$\delta$  (ppm): 2.85-3.07 (m, 4H;  $NHCH_2 \times 2$ )

; 3.45 (br s, 6H;  $CH_2COOH$ )

; 3.72 (br s, 4H;  $CH_2O=C-O-C=O-CH_2$ )

$^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ );

$\delta$  (ppm): 51.6 ( $2 \times N-CH_2-CH_2$ )

; 52.53 ( $CH_2-O=C-O-C=O$ )

; 54.85 [] ( $N-CH_2CO_2H$ )

; 65.8 ( $O=C-O-C=O$ )

; 165.6, 165.7 ( $O=C-OH$ )

; 172.5, 172.4 ( $O=C-OH$ )

## (3) DTPA-DA と DTPA による DTPA-MA 2 の合成

当量の DTPA-DM (0.46g, 1.29mmol) と DTPA (0.50g, 1.26mmol) を DMF 中 72°C で 2 日間反応させた。反応終了後、ろ過により結晶を除き、ろ液から溶媒を減圧下のぞき、アセトニトリルで結晶化した。得られた結晶をろ過し、乾燥させることで目的物の DTPA-MA (0.54g, 1.45mmol) を収率 57% で得た