

特許出願の関係で
ここでは開示できない

Fig. 2-3-03 Gd-DTPA-NHS

2-3-2 結果と考察

デンドリマー分子は、末端 (Terminal) 部、コア (Core) 部に分割したデンドリマーパーツをそれぞれ合成し、それらを分子表面から分子中央部へと順次結合させていくコンバージェント法または、Gd-DTPA を合成後、Terminal 部を結合させる方法を用いて合成した。また、コア部である DTPA に対して糖やアミノ酸等からなる末端部を反応させることで合成したリガンドへのガドリニウムのキレーションにも成功し、優れた緩和率を有する新規 MRI 造影剤である Gd-DTPA 糖錯体および Gd-DTPA アミノ酸錯体、Gd-DTPA-NHS の合成を達成した。

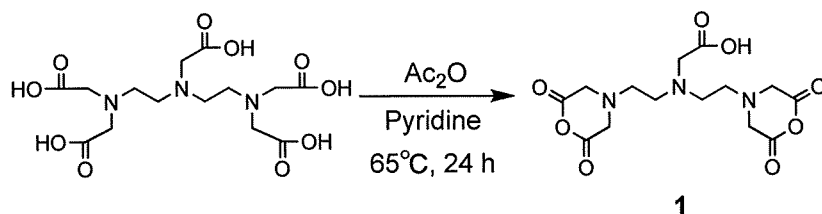
以下にそれぞれの項目の詳細について述べる。

2-3-2-1 コア (Core) 部の合成

コア部は DTPA であるが、他のカルボン酸誘導体に比べて反応性が劣る、5 個のカルボキシル基を有しているため反応点が限定できない等の問題点があった。

このことから、コア部はアミノ基との反応性の向上および反応点を限定するため、DTPA の脱水反応を行ない DTPA 二無水物へと誘導した。これにより、5 個のカルボキシル基のうち 4 個を環状酸無水物とし、残り 1 個のカルボキシル基を相対的に不活性基とし、反応点を 2 個に限定した。また、1 級アミンとの反応性の向上のため、DTPA のカルボキシル基に N-ヒドロキシスクシンイミドを修飾することで、2 級アミンと相対的に反応を生じないようにした。以下に反応の詳細について述べる。

DTPA 二無水物 1 の合成



Scheme 2-3-01 DTPA 二無水物の合成

DTPA 二無水物は DTPA をピリジン触媒下、65°C で無水酢酸と反応させることで得ることが出来ると報告されている⁵⁾。本研究でも、この合成方法と同様の方法で DTPA 二無水物 1 を粗収率 95.8% で合成した。この反応は求核アシル置換反応によるカルボキシル基のエステル化反応である。

以下に化合物 1 の IR スペクトル (Fig. 2-3-04)、¹³C-NMR スペクトル (Fig. 2-3-05) のデータを示す。

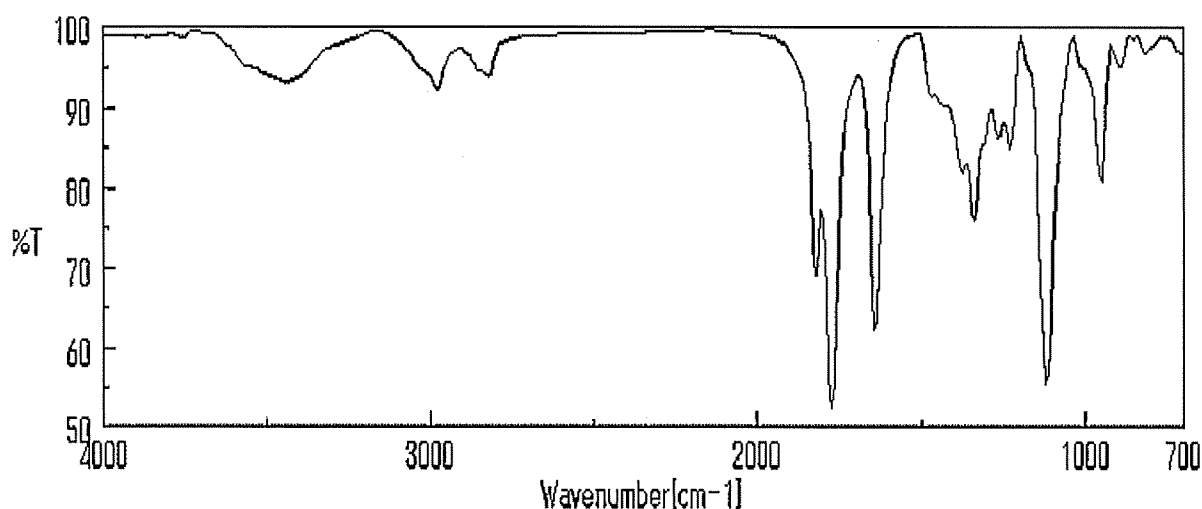


Fig. 2-3-04 化合物 1 の IR スペクトル

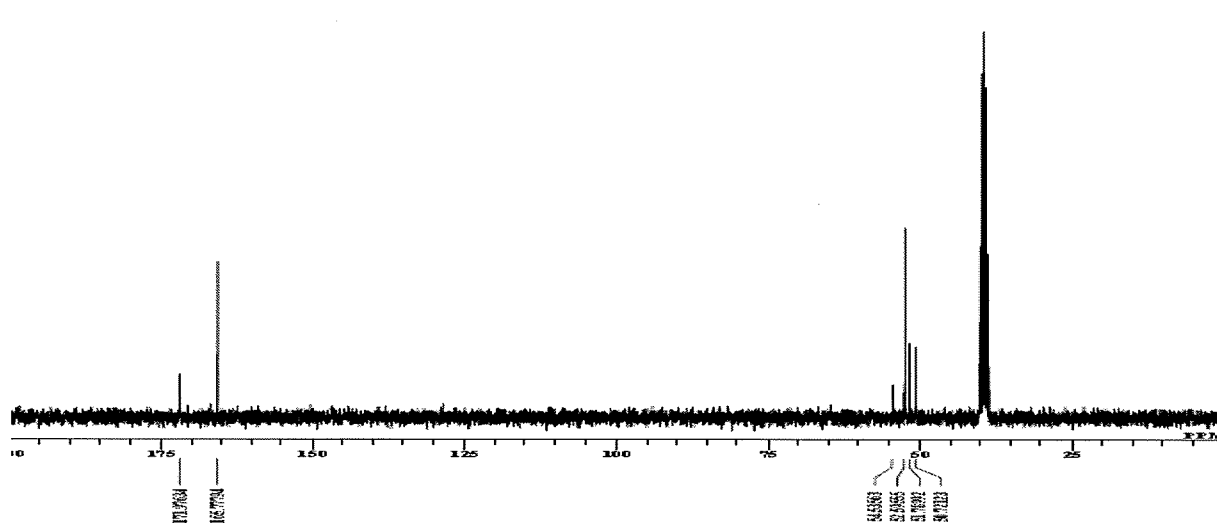
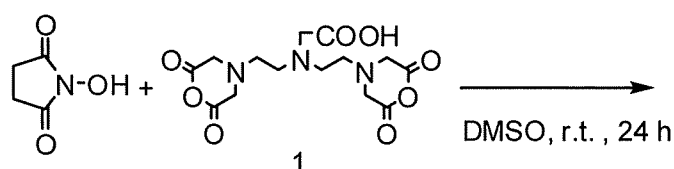


Fig. 2-3-05 化合物 1 の ¹³C-NMR スペクトル

Fig. 2-3-04 の IR スペクトルより 1820, 1774 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1118, 949 cm^{-1} に C-O 伸縮による吸収を示すことからカルボン酸無水物の存在を、1643 cm^{-1} に C=C 伸縮による吸収を示すことからカルボキシル基の存在をそれぞれ確認した。Fig. 2-3-05 の ¹³C-NMR スペクトルより 165.8 ppm に無水環のカルボニル炭素由来のピークを確認した。以上から化合物 1 の構造を同定した。

DTPA-NHS 2 の合成



特許出願の関係で
ここでは開示できない

Scheme 2-3-02 DTPA-NHS の合成

DMSO 中、DTPA 二無水物 1 と N-ヒドロキシスクシンイミドの反応により、DTPA-NHS 2 を粗収率 70.6 %で合成した。以下に化合物 2 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-3-06)、MS (Fig. 2-3-07)を示す

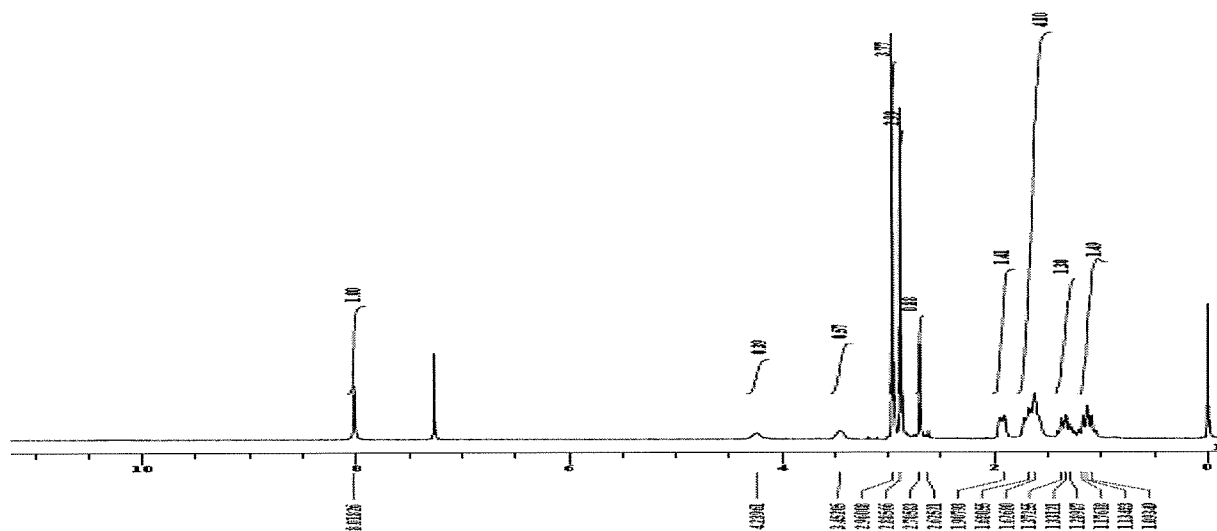


Fig. 2-3-06 化合物 2 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 394.6, 75979]

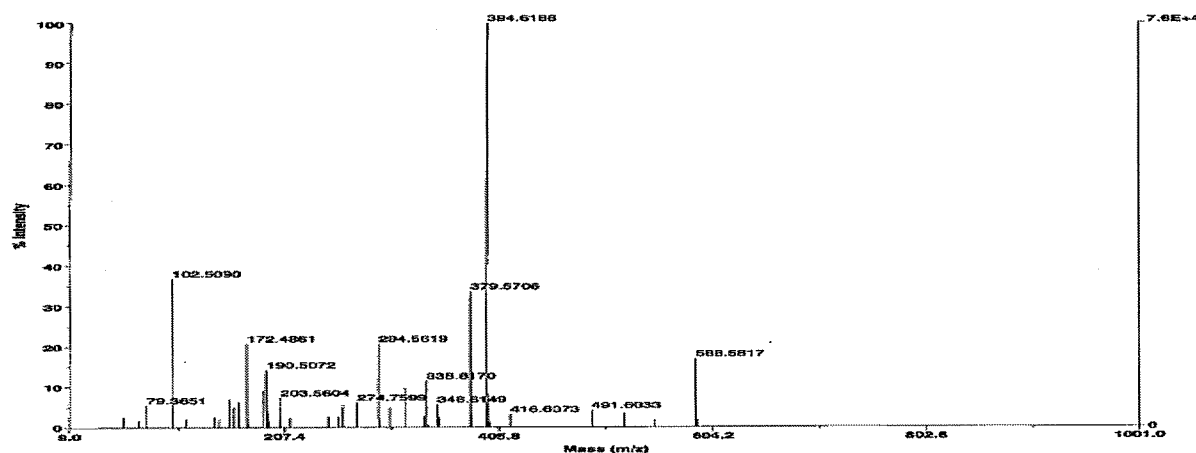


Fig. 2-3-07 化合物 2 の MS

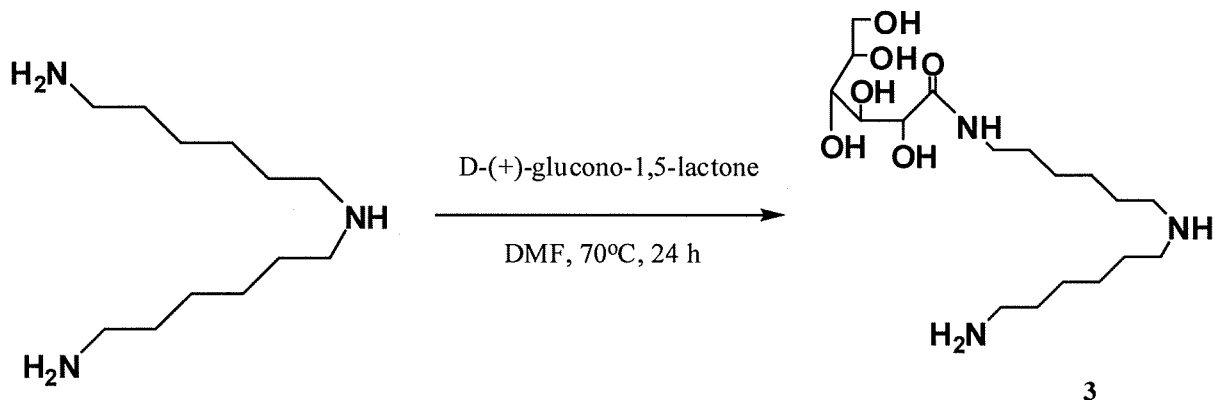
Fig. 2-3-06 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 2.7 ppm に N-ヒドロキシスクシンイミド由来のメチンプロトンピーク、3.4 ppm に DTPA 由来のメチンプロトンピークを確認し、Fig. 2-3-07 の MS より 588 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 2 を同定した。

2-3-2-2 末端 (Terminal) 部の合成

末端部は糖とスペーサーから構成され、糖とスペーサーおよび DTPA とスペーサーを共にアミド結合により結合させるため、スペーサーはトリアミンを用いた^{6, 7)}。また、反応点を限定するために、糖はラクトン化したものとした^{6, 7)}。過去、目的に応じた末端部の合成方法が報告されている^{2, 3, 8)}。以下にそれぞれの合成方法の詳細について述

べる。

HMTA-1Glc 3 の合成



Scheme 2-3-03 HMTA-1Glc の合成

DMF 中、ヘキサメチレントリアミンと D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンとの求核反応により HMTA-1Glc 3 を粗収率 90.1 % で合成した。この反応は D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンのカルボニル炭素と求核試薬であるジエチレントリアミンによる求核アシル置換反応であり、ジエチレントリアミン 25 当量に対して D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンを 1 当量を滴下し、反応させることで、ジエチレントリアミンの第一級アミンの一方に対して糖が導入された。また、生成物 3 は DMF に難溶なため、氷浴中で結晶となり析出してくるため、未反応の原料を分離することができた。

以下に化合物 3 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-3-08)、MS (Fig. 2-3-09) を示す。

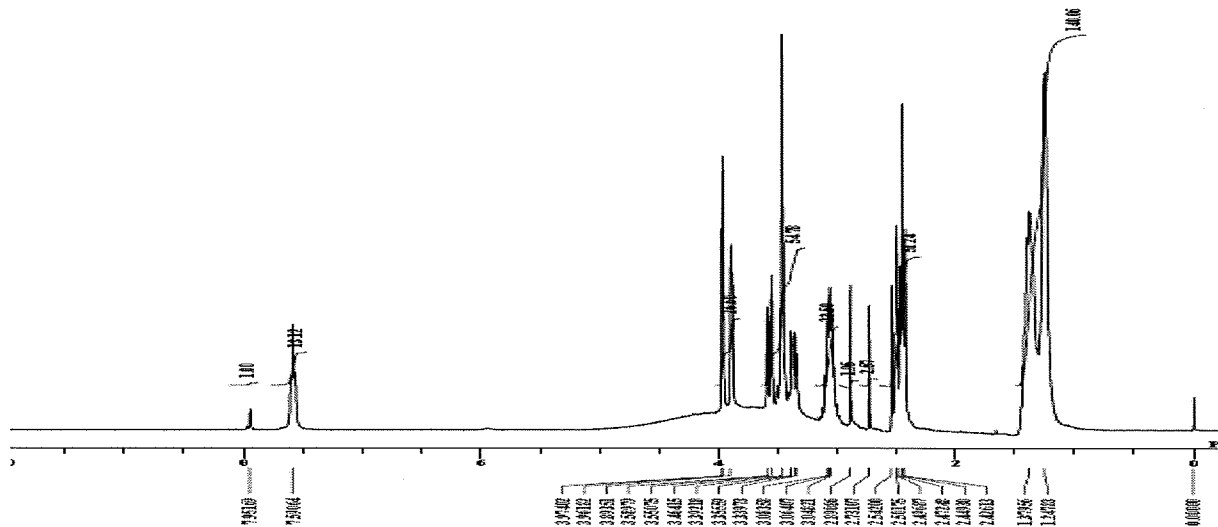


Fig. 2-3-08 化合物 2 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

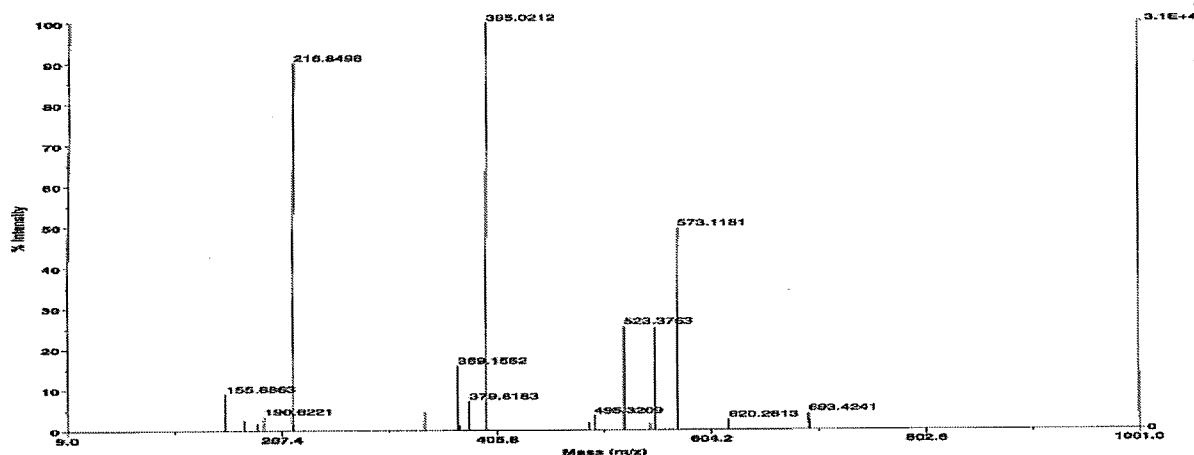


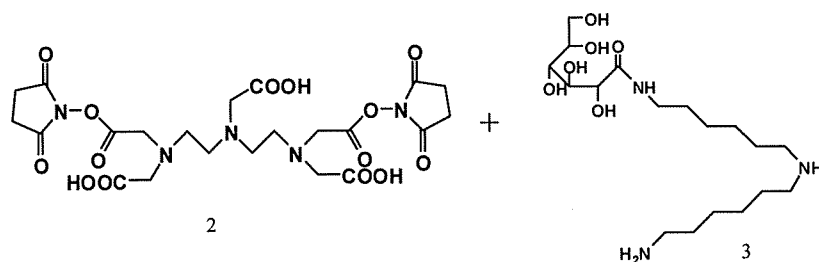
Fig. 2-3-09 化合物 2 の MS

Fig. 2-3-08 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより、7.9 ppm にアミド結合のアミン由来のプロトンピーク、2.7 ppm に 1 級アミンの α 位のメチンのプロトンピークを確認し、Fig. 2-3-09 の MS より 395 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 3 を同定した。

2-3-2-3 リガンド (Ligand) の合成

2-3-2-1 において合成したコア部の DTPA-NHS 1 に対して 2-3-2-2 において合成した末端部を 2 当量反応させることでリガンドの合成を行なった。また、末端部として糖以外にアミノ酸を用いたリガンドの合成方法が報告されている⁴⁾。本研究でも同様の操作によって DTPA-アミノ酸錯体を合成し、Gd 錯体まで誘導した。また、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を含むエステルは、pH の変化によって加水分解を生じる可能性があるため、Gd-DTPA に NHS を修飾する方法で合成した (2-3-2-4)。合成したそれぞれの Gd 錯体の性能を Gd-DTPA と比較することとした。以下に各反応の詳細について述べる。

DTPA-HMTA-1Glc 4 の合成



DMSO, r.t., 24 h

特許出願の関係で
ここでは開示できない

4

Scheme 2-3-04 DTPA-HMTA-1Glc の合成

DMSO 中で、DTPA-NHS 2 に対して、HMTA-1G1c 3 を 2 当量反応させることで DTPA-HMTA-1G1c 4 を粗収率 73.0 %で合成した。化合物 4 は、再結晶 (THF) により単離精製を行った。また、コア部の原料として DTPA-NHS を用いることで、HMTA-1G1c の 1 級アミンを選択的に反応させることができた。

以下に化合物 4 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-3-10)、MS (Fig. 2-3-11)を示す。

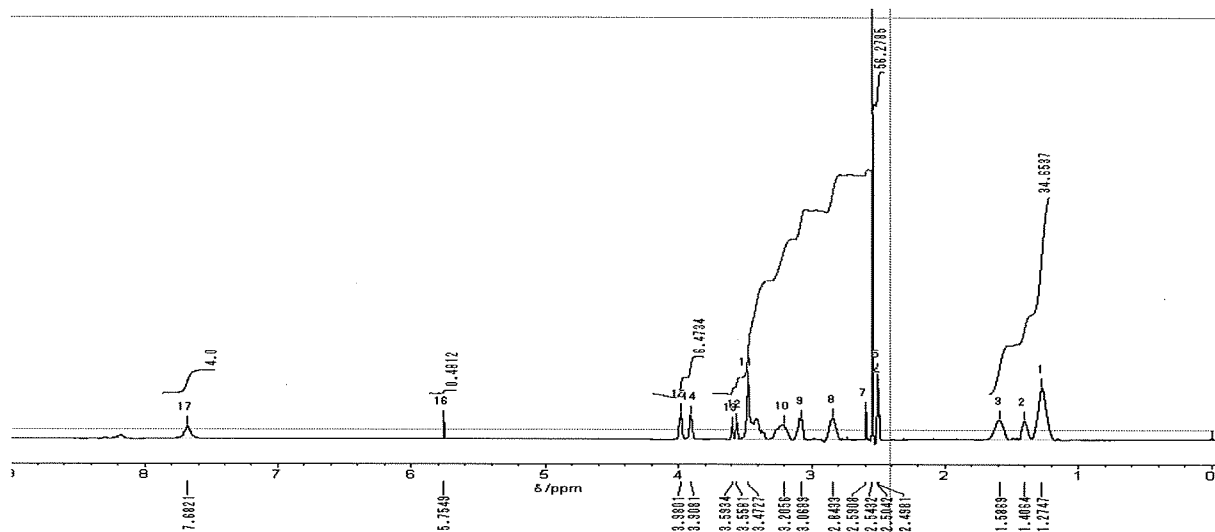


Fig. 2-3-10 化合物 4 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)->NF0.7->DI[BP = 1144.6, 22753]

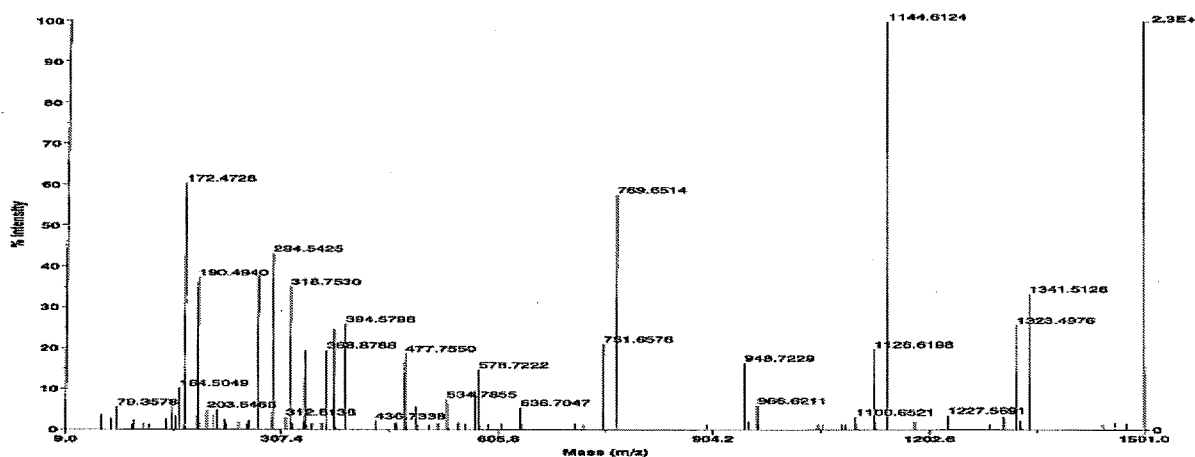
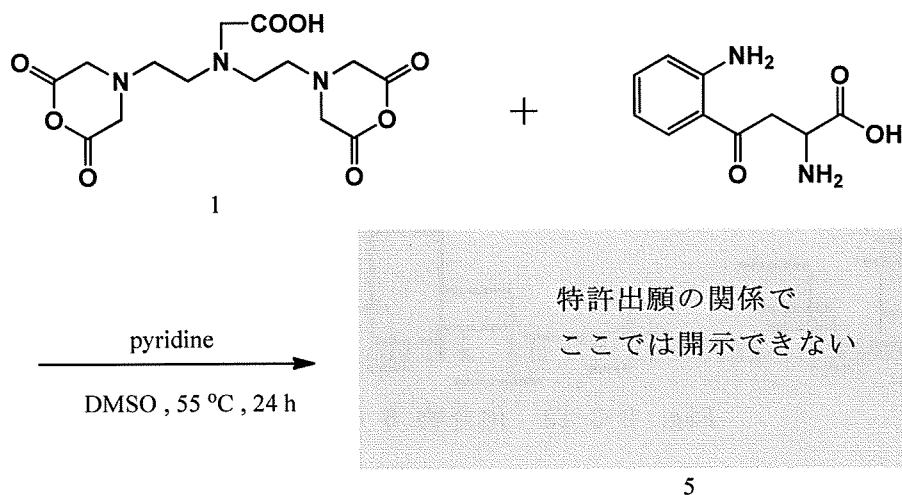


Fig. 2-3-11 化合物 4 の MS

Fig. 2-3-12 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより、7.6 ppm にアミド結合のアミン由来のプロトンピーク、1.2~1.5 ppm にスペーサー部のアミド結合の α 位以外のメチンプロトンのピーク積分比が、約 4 : 32 であること、及び Fig. 2-3-13 の MS より 1144 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 4 を同定した。

DTPA-キヌレニン 5 の合成



Scheme 2-3-05 DTPA-キヌレニン の合成

ピリジン触媒下、DMSO 中、55 °C で DTPA 二無水物 1 に対して、キヌレニンを 2 当量反応させることで、DTPA-キヌレニンを粗収率 91.8% で合成した。触媒にピリジンを用いたことで、キヌレニンのアミノ酸部のアミノ基を選択的に DTPA と反応させることができた。以下に化合物 5 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-3-12)、MS (Fig. 2-3-13) を示す。

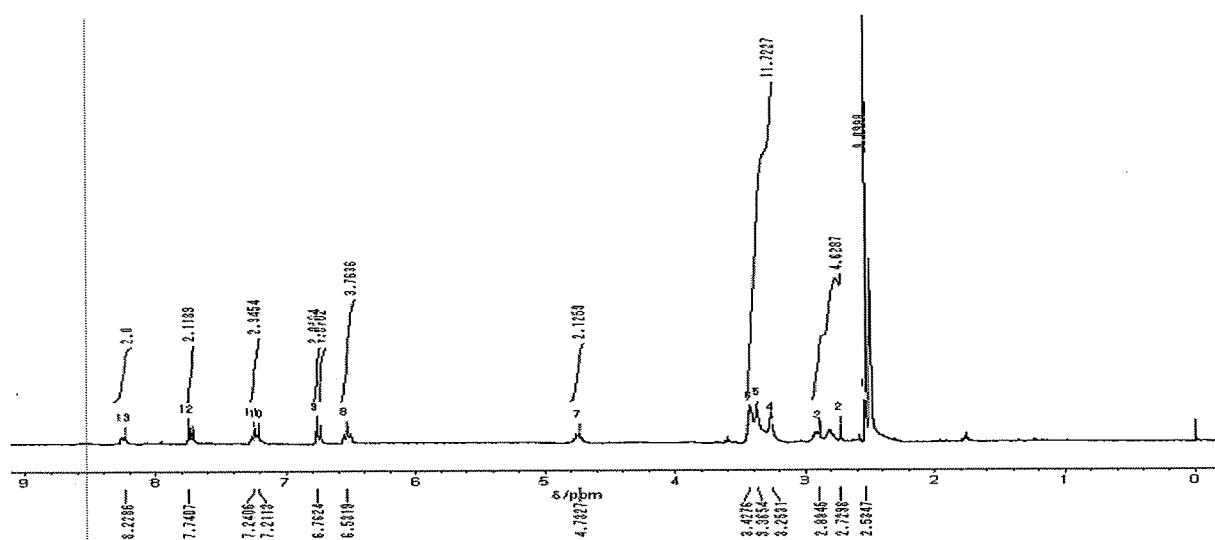


Fig. 2-3-12 化合物 5 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

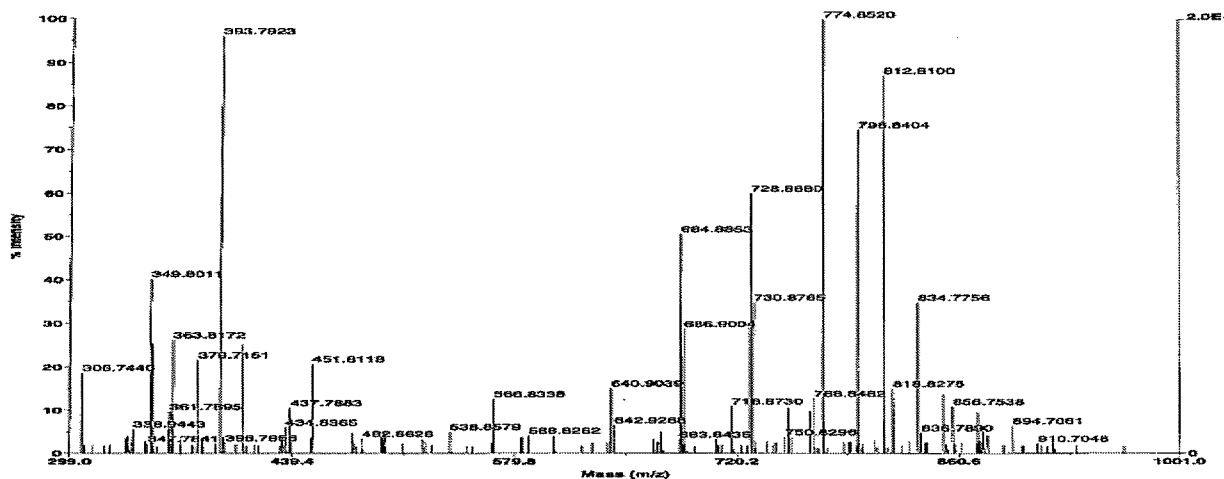


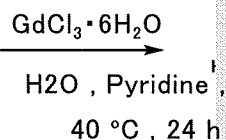
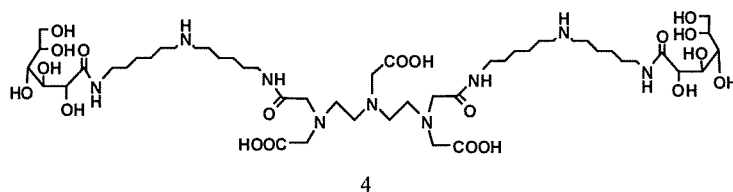
Fig. 2-3-13 化合物 5 の MS

Fig. 2-3-12 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより、8.2 ppm にアミド結合由来のプロトンピークを確認し、4.0~6.0 ppm の間にピークが 4.7 ppm のみであることを確認した。Fig. 2-3-13 の MS より 774 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 5 を同定した。

2-3-2-4 Gd 錯体の合成

2-3-2-3 において合成したリガンドへのガドリニウムのキレーションを行なうことで目的の Gd-DTPA 糖錯体および Gd-DTPA アミノ酸錯体を合成した。ガドリニウム源としては塩化ガドリニウム (III) 六水和物を用いた。また、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を含むエステルは、pH の変化によって加水分解を生じる可能性があるため、Gd-DTPA を合成し、Gd-DTPA に NHS を修飾する方法で合成した。以下に各反応の詳細について述べる。

Gd-DTPA-HMTA-1Glc 6 の合成



特許出願の関係で
ここでは開示できない

6

Scheme 2-3-06 Gd-DTPA-HMTA-1Glc の合成

塩化ガドリニウム（Ⅲ）六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、40℃でDTPA-HMTA-1Glc 4 に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-HMTA-1Glc 6 を粗収率 83.2 %で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex®100 Resin を用いて除去した。以下に化合物 6 の MS (Fig. 2-3-14)のデータを示す。

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 769.9, 3456]

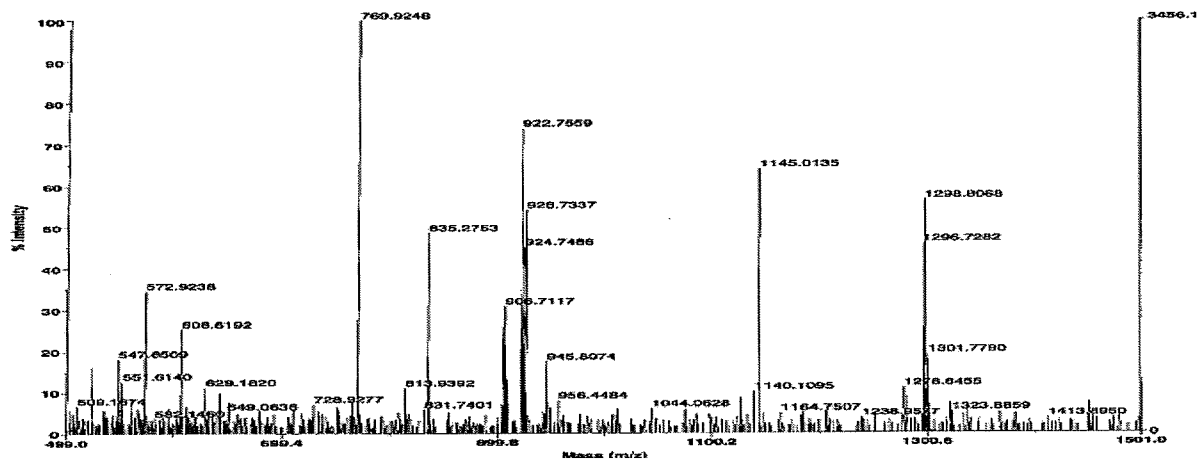
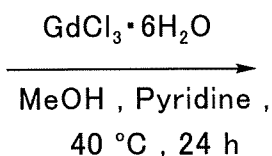
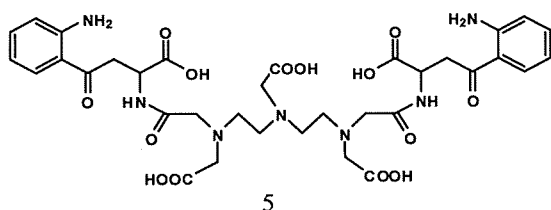


Fig. 2-3-14 化合物 6 の MS

Fig. 2-3-16 の MS より、1301 [M+H]⁺のピークを確認した。以上から化合物 6 を同定した。

Gd-DTPA-キヌレニン 7 の合成



特許出願の関係で
ここでは開示できない

7

Scheme 2-3-07 Gd-DTPA-キヌレニン の合成

塩化ガドリニウム（Ⅲ）六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、40℃でDTPA-キヌレニン 5 に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-キヌレニン 7 を粗収率 93.9%で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex®100 Resin を用いて除去した。以下に化合物 7 の MS (Fig. 2-3-15) のデータを示す。

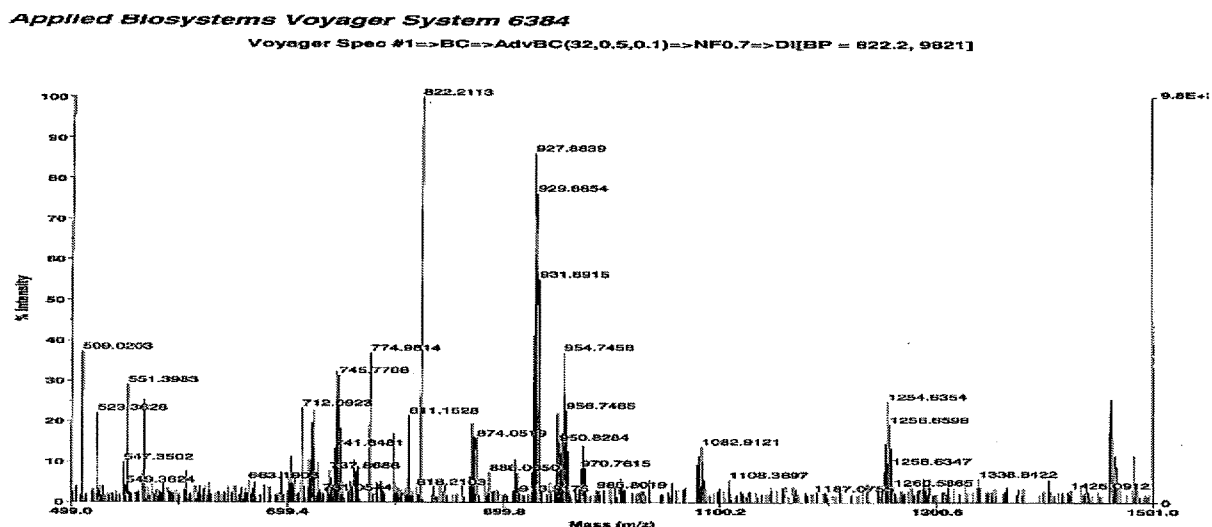
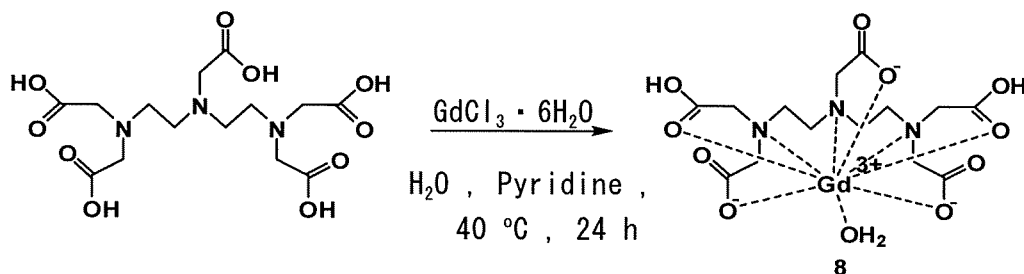


Fig. 2-3-15 化合物 7 の MS

Fig. 2-3-15 の MS より、931 [M+H]⁺ のピークを確認した。以上から化合物 7 を同定した。

Gd-DTPA 8 の合成



Scheme 2-3-08 Gd-DTPA の合成

塩化ガドリニウム（Ⅲ）六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、40℃でDTPA に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA 8 を粗収率 72.7 %で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex®100 Resin を用いて除去した。以下に化合物 8 の MS (Fig. 2-3-16) のデータを示す。

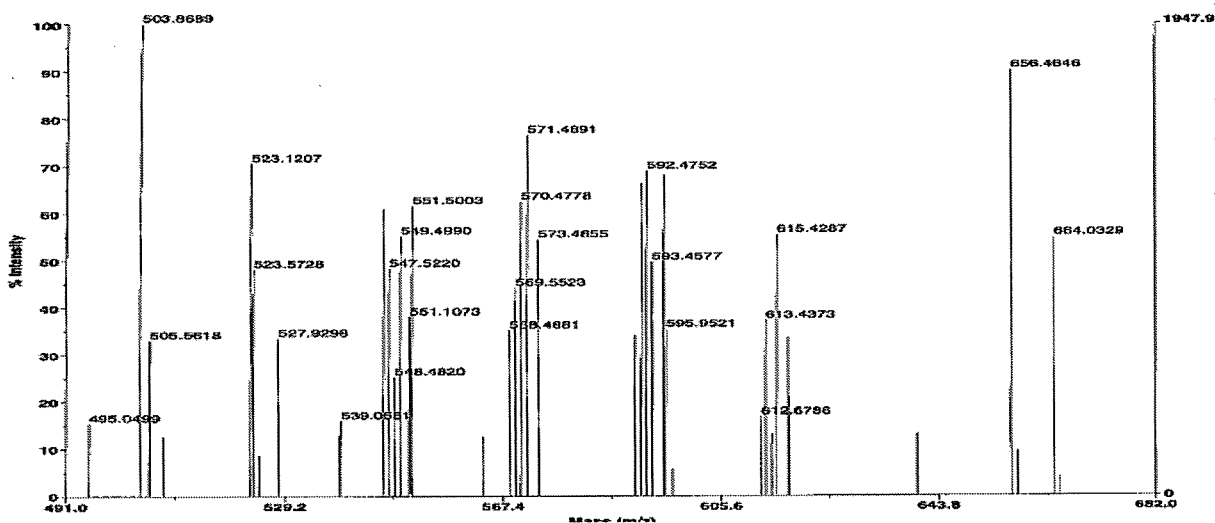
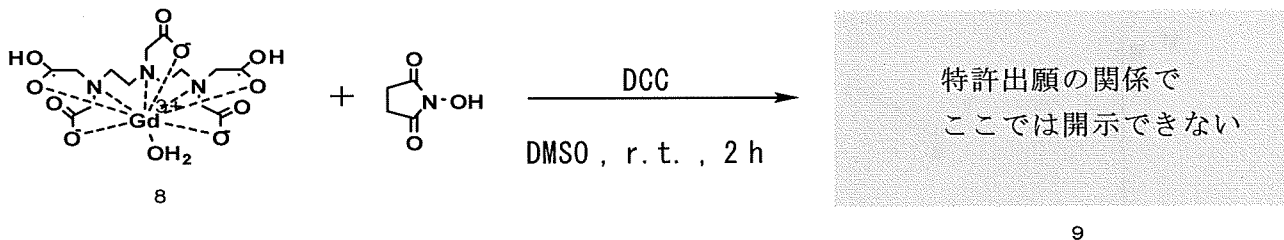


Fig. 2-3-16 化合物 8 の MS

Fig. 2-3-16 の MS より、551 $[M+H]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 8 を同定した。

Gd-DTPA-NHS 9 の合成



Scheme 2-3-09 Gd-DTPA-NHS の合成

DMSO 中で、Gd-DTPA 8 に対して N-ヒドロキシスクシンイミドを 2 当量をジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) 2 当量で脱水縮合させることで、Gd-DTPA-NHS 9 を粗収率 73.6% で合成した。以下に化合物 9 の MS (Fig. 2-3-17)、IR スペクトル (Fig. 2-3-18) のデータを示す。

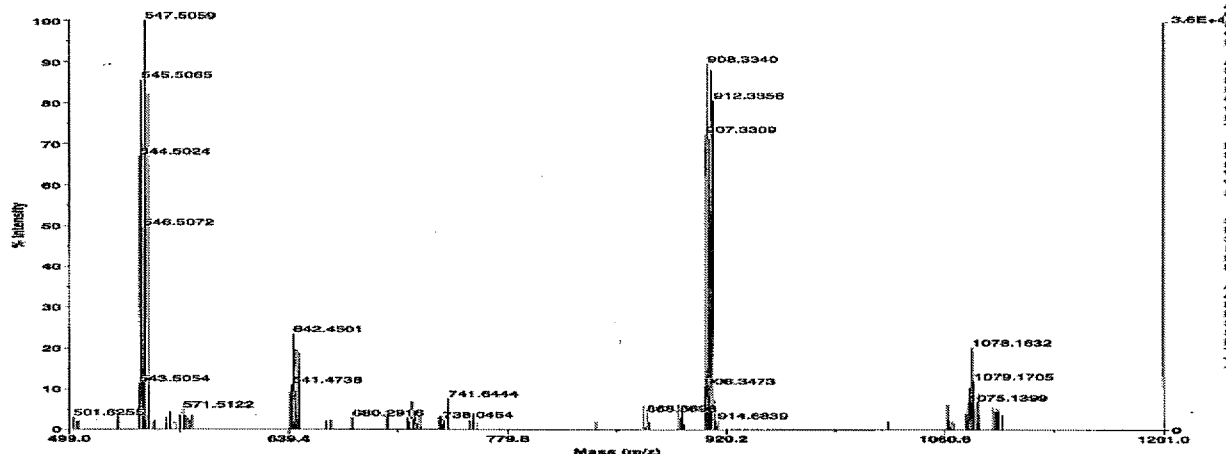


Fig. 2-3-17 化合物 9 の MS

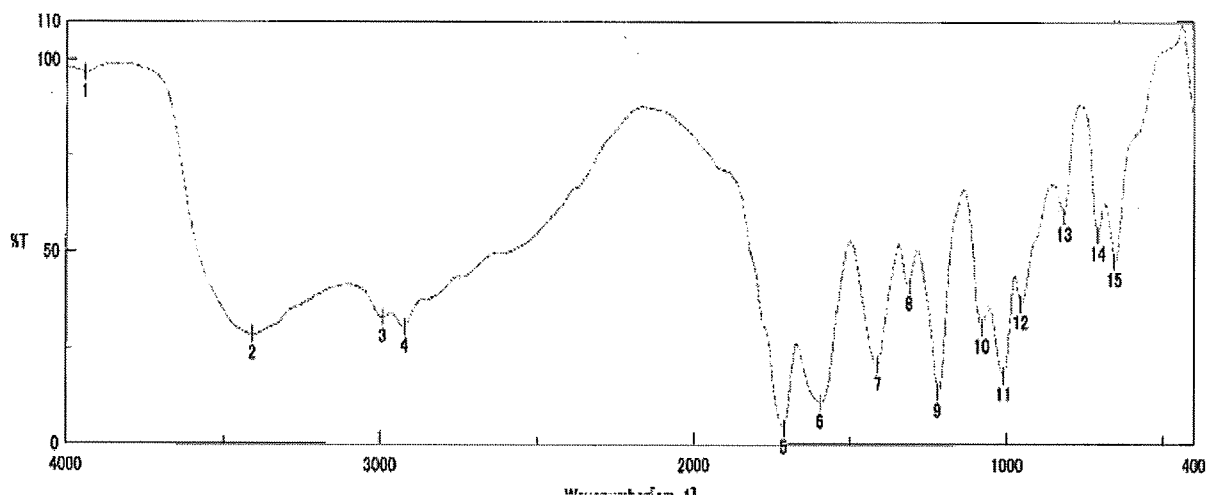


Fig. 2-3-18 化合物 9 の IR スペクトル

Fig. 2-3-17 の MS より、741 $[M+H]^+$ のピークを確認した。また、Fig. 2-3-18 の IR スペクトルより 3409 cm^{-1} の O-H 伸縮による吸収、 1596 cm^{-1} のエステルによる吸収を確認した。以上から化合物 9 を同定した。

2-3-3 血清アルブミン溶液中における縦緩和率 (r_1) の測定

現在注目されている造影剤の中に Blood Pool Agents と呼ばれるものがある。この種の造影剤は投与後に血中に存在している巨大分子であるタンパク質と結合することで緩和率を高めている。大きな分子（ポリエチレングリコール、デンドリマー、デキストリン等）と結合した造影剤はその緩和率が向上するという報告がなされている^{5,6,16-22}。Blood Pool Agents の一つである MS-325 (Vasovist) は血液中に最も多く存在するタンパク質である血清アルブミンをターゲットとしている²³。そこで、本研究で合成した各 Gd 錯体についても血清アルブミンによる緩和率の増強効果を得られるか否かを検討した。血清アルブミンはヒトのものを用いて血中濃度である 37.3 g/l とな

るように血清アルブミン溶液を調整し、 r_1 測定は前項と同様の条件および方法で行なった。

以下に T_1 および $[Gd^{3+}]$ の測定結果から式(1)を用いて求めた各 Gd 錯体の水中及び血清アルブミン溶液中の r_1 を表にして示す。

Table 2-3-01 水中及び血清アルブミン溶液中における各 Gd 錯体の縦緩和率 (r_1)

Compound	r_1 [$s^{-1}mM^{-1}$] at 37°C	
	水中	血清アルブミン溶液中
Gd-DTPA (Magnevist)	3.5	3.5
Gd-DTPA-HMTA-1Glc	5.2	8.9
Gd-DTPA-キヌレニン	9.9	11.3
Gd-DTPA-NHS	5.7	8.7

Table 2-3-01 から Gd-DTPA (Magnevist) は臨床の現場において最も一般的に用いられている。そこで、各 Gd 錯体の造影剤としての性能を評価するために Gd-DTPA をスタンダードとした。

本研究で合成した全ての Gd 錯体は Gd-DTPA と比較して高い r_1 を示した。中でも Gd-DTPA-キヌレニンは Gd-DTPA と比較して、2 倍以上であった。これは臨床において Gd-DTPA よりも低濃度での使用が可能であることを示唆している。欧米ではより鮮明な画像を得るために Gd-DTPA を高濃度で使用した結果、解離した Gd により NSF (Nephrogenic systemic fibrosis ; 腎性全身性線維症) という病に犯されてしまうという問題が起こっている⁹⁻¹⁵⁾。低濃度で使用可能ということが臨床の現場で求められている条件の一つであり、Gd-DTPA-キヌレニンはその条件を満たした新規 MRI 造影剤となるポテンシャルを有している。

また、本研究で合成したすべての Gd 錯体は血清アルブミン溶液中で水中より高い r_1 を示した。中でも、Gd-DTPA-HMTA-1Glc は水中と比べて 1.5 倍であり、Gd-DTPA-キヌレニンは、水中と比べての上昇率は大きくないが、 r_1 の値としては Gd-DTPA と比較して 3 倍以上の r_1 を示した。これらは、血液中での造影効果の上昇が期待できるため、Blood Pool Agents となるポテンシャルを有していると考えられる。

2-3-4 参考文献

1. M. Takahashi, Y. Hara, K. Aoshima, H. Kurihara, T. Oshikawa and M. Yamashita, *Tetrahydron Letters* **2000**, 41, 8485-8488.
2. 小川圭介, 平成 19 年度静岡大学理工学研究科修士論文, **2007**.
3. 水野紗耶香, 平成 19 年度静岡大学工学部卒業論文, **2008**.
4. 小川悠子, 平成 17 年度静岡大学工学部卒業論文, **2006**.
5. C. F. Joseph, H. Regeling, B. Zwanenburg and G. J. F. Chittenden, *Tetrahedron* **2002**, 58, 6910.
6. H. Kobayashi, S. Kawamoto, T. Saga, N. Sato, T. Ishimori, J. Konishi, K. Ono,

- K. Togashi, *M. W. Bioconjug. Chem.* **2001**, 12, 587-593.
7. H. Kobayashi, S. Kawamoto, S. K. Jo, H. L. Bryant Jr., M. W. Brechbiel R.A. Star, *Bioconjug. Chem.* **2003**, 14, 388-394.
 8. 青木峻, 平成 18 年度静岡大学工学部卒業論文, **2007**.
 9. T. Grobner, “a specific trigger for the development of nephrogenic fibrosing dermopathy and nephrogenic systemic fibrosis?” , *Nephrol. Dial. Transplant.*, **2006**, 21, 1104-1108.
 10. A. Khurana, et al., “a review of 6 cases temporally related to Gadodiamide injection (Omniscan)” , *Invest. Radiol.*, **2007**, 42, 139-145.
 11. P. Marckmann, “suspected causative role of Gadodiamide used for contrast-enhanced magnetic resonance imaging” , *J. Am. Soc. Nephrol.*, **2006**, 17, 2359-2362.
 12. JG. Pryor, et al., “a clinicopathologic study of six cases” , *J. Am. Acad. Dermatol.*, **2007**, Apr 3 [published online].
 13. A. Deo, M. Fogel and E. Cowper, “a population study examining the relationship of disease development to Gadolinium exposure” , *Clin. J. Am. Nephrol.*, **2007**, 2, 264-267.
 14. AS. Boyd, JA. Zic and JL. Abraham, “Gadolinium deposition in nephrogenic fibrosing dermopathy” , *J. Am. Acad. Dermatol.* **2007**, 56, 27-30.
 15. WA. High, et al., “Gadolinium is detectable within the tissue of patients with nephrogenic systemic fibrosis” , *J. Am. Acad. Dermatol.* **2007**, 56, 21-26.
 16. T. S. Desser, D. L. Rubin, H. H. Muller, F. Qing, S. Khodor, G. Zanazzi, S. W. Young, D. L. Ladd, J. A. Welloms, K. E. Kellar, J. L. Toner, *J. Magn. Reson. Imaging* **1994**, 4, 467-472.
 17. D. M. J. Doble, M. Botta, J. Wang, S. Aime, A. Barge, K. N, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10758-10759.
 18. S. Langereis, Q. G. Lussanet, M. H. P. Genderen, W. H. Backes, E. W. Meijer, *Macromolecules* **2004**, 37, 3084-3091.
 19. V. J. Venditto, C. Aida, M. W. Brechbiel, *Mol. Pharmacol.* **2005**, 2, 302-311.
 20. R. Arebizak, M. Schaffer, E. Dellacherie, *Bioconjug. Chem.* **1997**, 8, 605-610.
 21. C. Corot, M. Schaffer, S. Beaute, P. Bourrinet, S. Zehaf, V. Benize, M. Sabatou, D. Meyer, *Physical. Acta Radiol.* **1997**, 38 (Supplement 412), 605-610.
 22. M. V. Knopp, S. O. Shoenberg, C. Rehm, and F. Floemer, *Investigative Radiology.* **2002**, 37 (12), 706-715.
 23. Peter Caravan, Jeffrey J. Ellison, Thomas J. McMurry, and Randall B. Lauffer, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2293-2352.

2-4 糖デンドリマー型 MRI 造影剤における糖のアセチル保護基の加水分解及びその評価に関する研究

都築 靖隆

2-4-1 本研究の目的

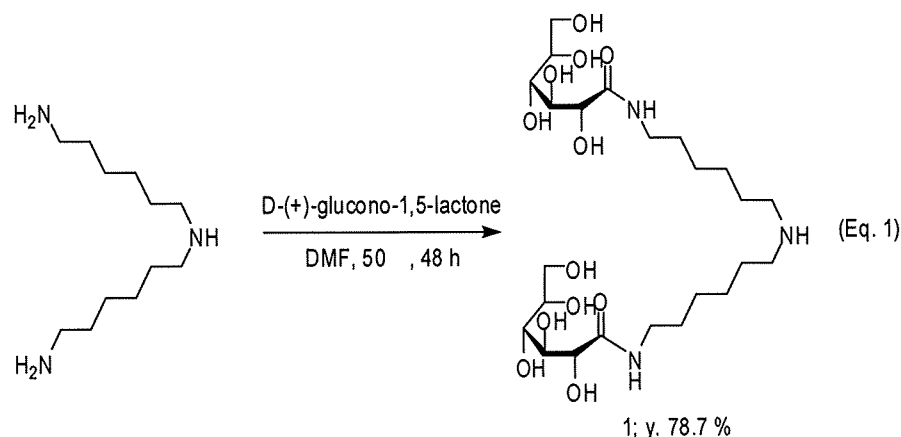
本研究ではパーアセチル保護する合成経路¹⁾を利用し、基本骨格として Gd-DTPA と、組織認識部位である糖鎖との間のブランチ部分の炭素鎖を 6 とした Gd-DTPA-C6-D-4Glc(OAc) を合成し、加水分解経路を経て脱アセチルを行い、Gd-DTPA-C6-D-4Glc(OH) を合成した。そして、アセチル基の脱保護数と緩和率の関係性、加水分解反応の再現性を調べ、アセチル保護を行わない合成経路で合成した Gd-DTPA 誘導体等と MRI 造影剤としての性質を比較検討した。

2-4-2 末端(Terminal)部の合成

本研究では末端部の合成は、ブランチ部の長さは炭素鎖 6 の Triamine と Gluconolactone を出発物質として行った^{2,3)}。また、過去に報告されている合成の段階において、遊離のヒドロキシル基をパーアセチル保護する合成方法と、パーアセチル保護を経由しない合成法が確立されている。本研究では、その内のパーアセチル保護する経路を用いて、糖末端がアセチル体の末端部を合成した。

2-4-2-1 ジグルコシルアミン(C6) 1 の合成

DMF 中室温で Bis(hexamethylene) triamine 1 当量に対して D-(+)-Glucono-1,5-lactone を 2 当量反応させることによって、Bis(hexamethylene) triamine の第一級アミンに対して選択的に糖が導入されたジグルコシルアミン(C6) 1 を収率 78.7% で得た (Scheme 2-4-01)。この場合には反応が進行すると、生成物 1 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 2-4-01

化合物 1 の構造は ¹H-NMR スペクトルでアミドプロトン、ブランチ部のメチレンプロトンの存在を確認し、その水素比により同定した (Fig. 2-4-01)。

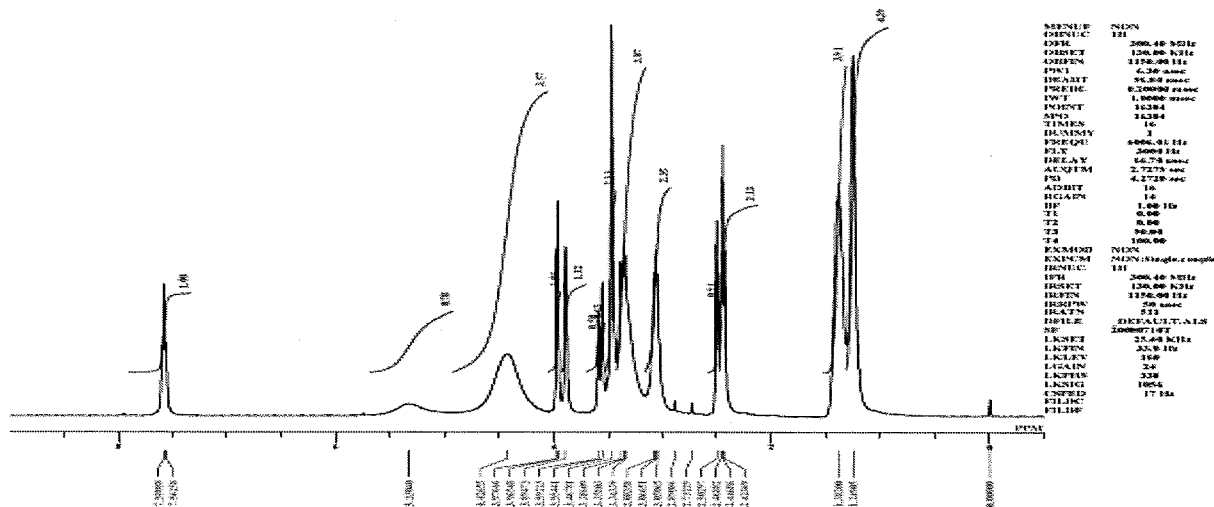
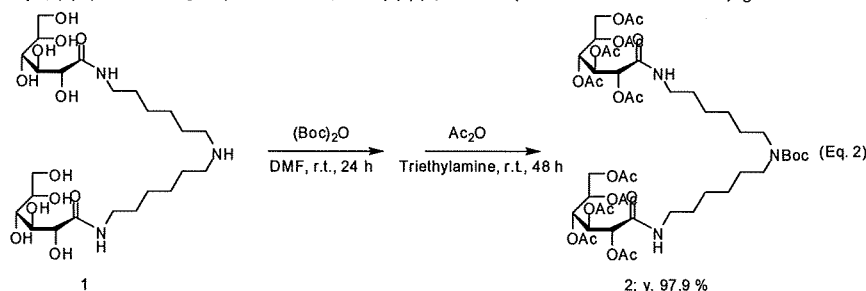


Fig. 2-4-01

2-4-2-2 ジグルコシルアミン(C6) 1 の Boc 化およびヒドロキシル基のアセチル化 (化合物 2 の合成)

ジグルコシルアミン 1 を、DMF 中で Di-*t*-butyl dicarbonate と室温で反応させ、反応終了後、Triethylamine を加え、さらに Acetic acid anhydride 当量加え室温で反応させることで化合物 2 を収率 97.9 % で合成した (Scheme 2-4-02)。



Scheme 2-4-02

化合物 2 の構造は ^1H NMR スペクトルで出現した糖末端のアセチル基のプロトン、ブランチ部のメチレンプロトン、Boc 基のメチルプロトンの存在を確認し、その水素比により同定した (Fig. 2-4-02)。

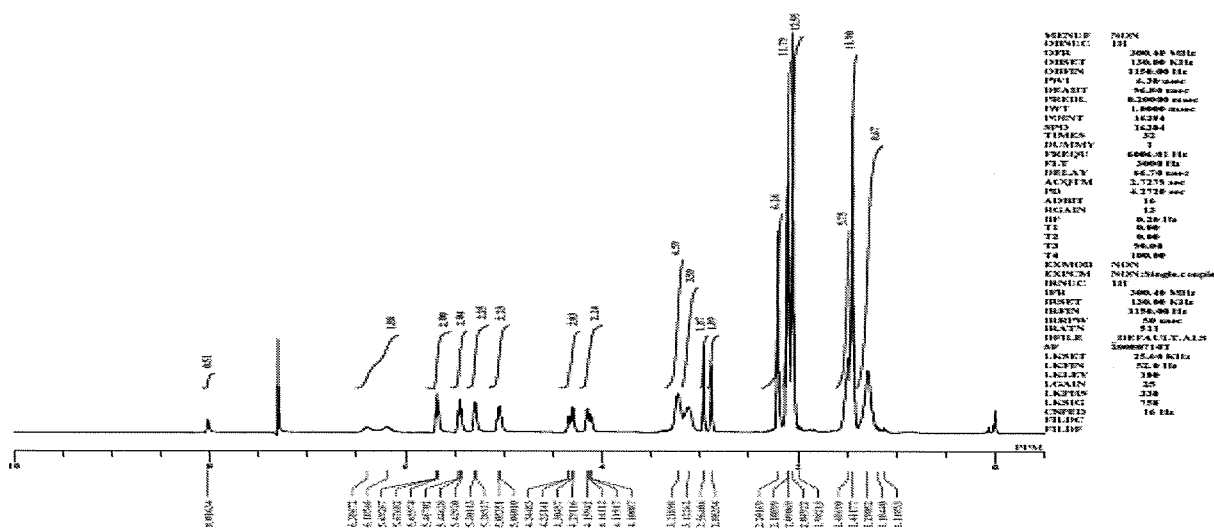
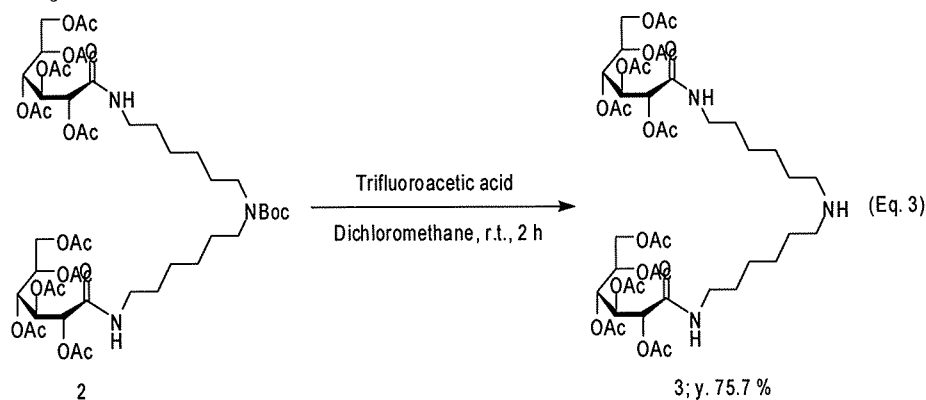


Fig. 2-4-02

2-4-2-3 化合物 2 の脱 Boc 化 (化合物 3 の合成)

化合物 2 を、Dichloromethane 中で Trifluoroacetic acid と室温で反応させることで化合物 3 を収率 75.7 %で合成した (Scheme 2-4-03)。Boc 基の脱保護は酸性条件下、短時間で行われることが知られており⁴⁾、この反応では化合物 3 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 基のみを選択的に脱離させた。



Scheme 2-4-03

化合物 3 の構造は ¹H-NMR スペクトルより Boc 基由来のピークが消滅していることから Boc 基は脱保護されたと考えられる。また、アセチル基のプロトン、ブランチ部のメチレンプロトン基の存在を確認し、その水素比により同定した (Fig. 2-4-03)。

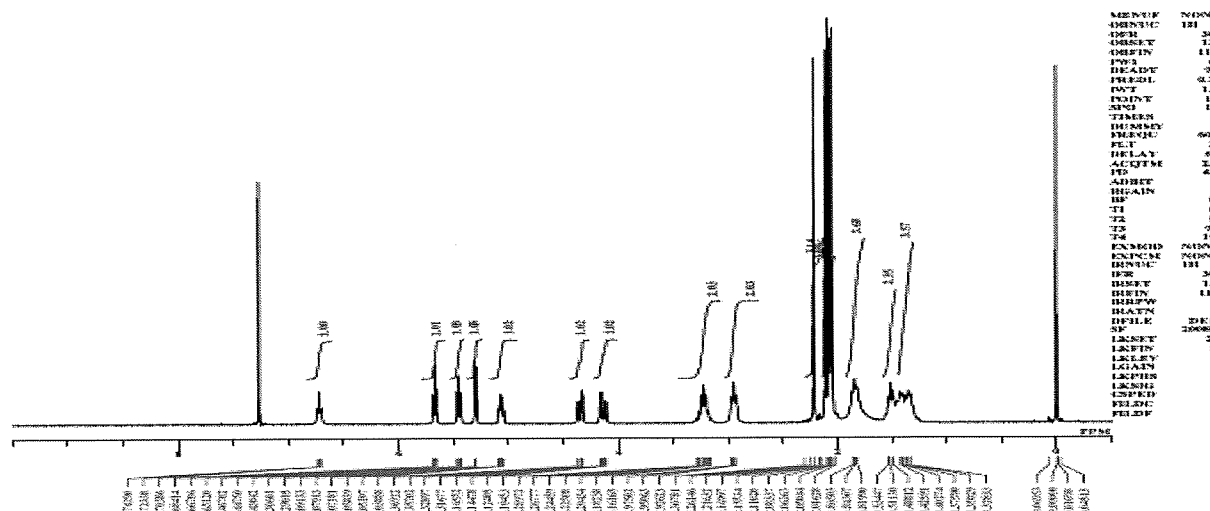
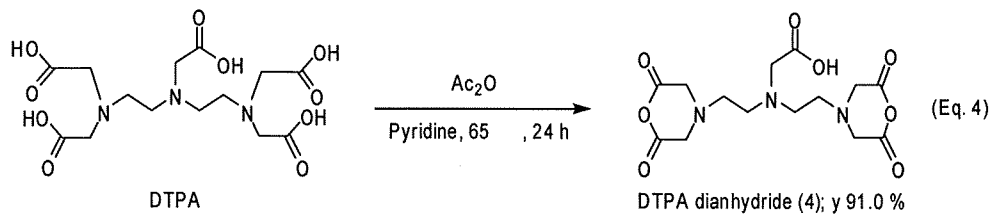


Fig. 2-4-03

2-4-3 Core 部の合成

2-4-3-1 DTPA 二無水物の合成 (化合物 4 の合成)

DTPA を反応させる際に、まず DTPA を脱水させることにより反応点の 4 個のカルボキシル基を活性化させて二無水物とし、反応点でないカルボキシル基を相対的に不活性化するために DTPA 二無水物 4 を合成する方法をとった。DTPA 二無水物 4 は DTPA をピリジン中、65 °C で無水酢酸と反応させることで得ることができると報告されている⁵⁾。本研究でも、この合成方法と同様の方法で DTPA 二無水物 4 を収率 91.0 %で合成した (Scheme 2-4-04)。



Scheme 2-4-04

DTPA 二無水物 4 の構造は ¹³C-NMR スペクトルより、メチレン炭素を確認し、同定した (Fig. 2-4-04)。

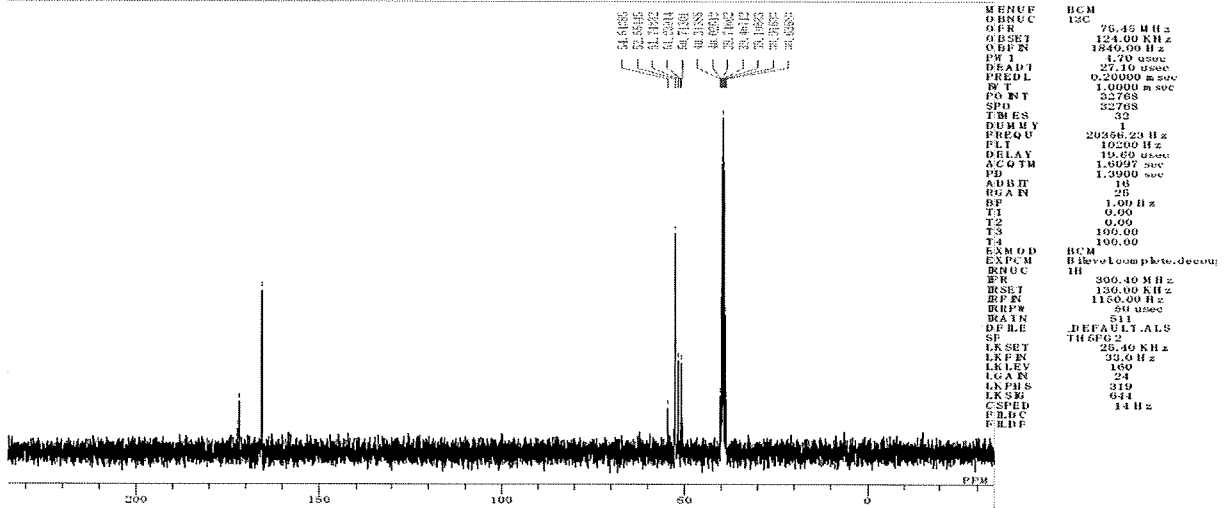
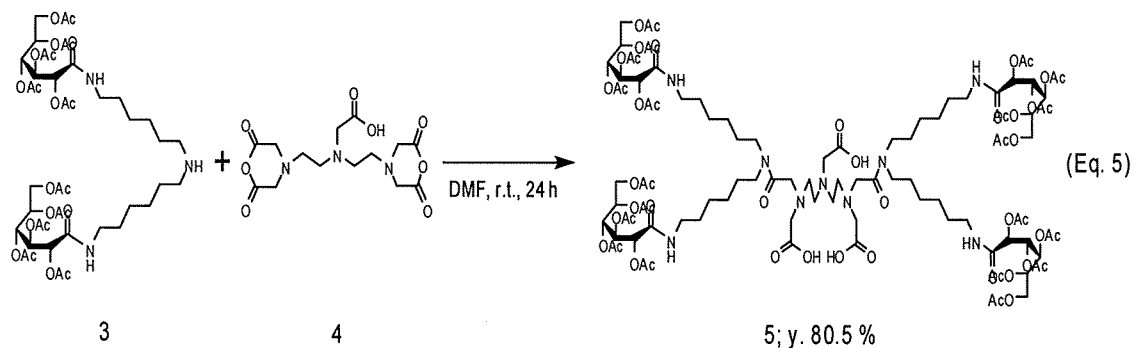


Fig. 2-4-04

2-4-4 配位子の合成

2-4-4-1 DTPA-C6-D-4Glc(OAc)の合成(化合物 5 の合成)

合成した化合物 4 と 2 当量の化合物 3 を DMF 中、室温で反応させることで化合物 5 を収率 80.5 % で得た (Scheme 2-4-05)。



Scheme 2-4-05

化合物 5 は ¹H-NMR スペクトルより糖末端のアセチル基のプロトン、ブランチ部のメチレンプロトン、コア部の DTPA 由来のプロトンを確認し、その水素比により同定した (Fig. 2-4-05)。

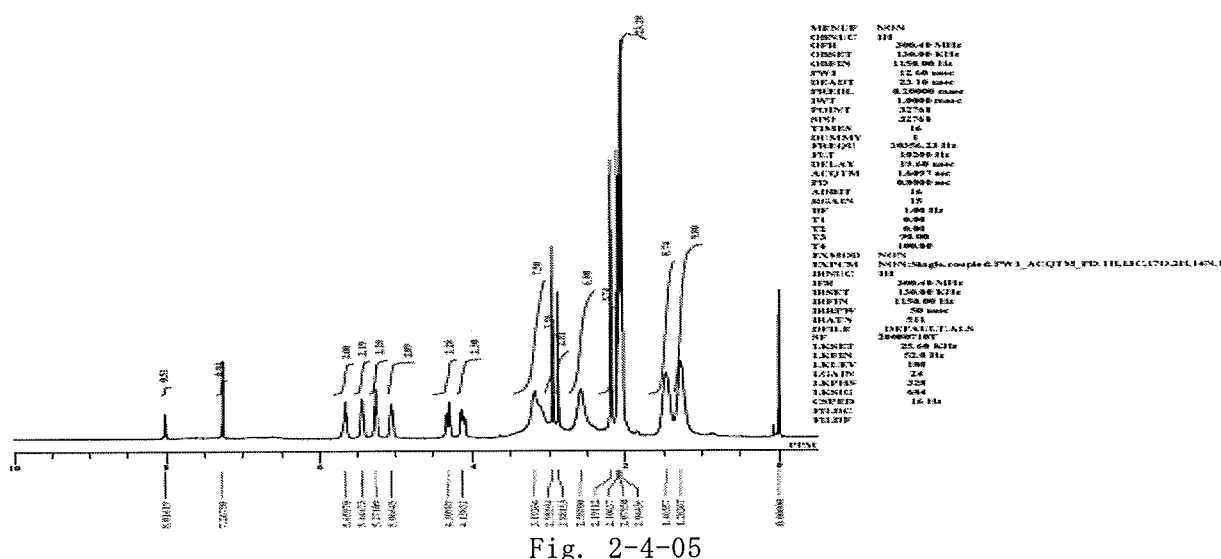


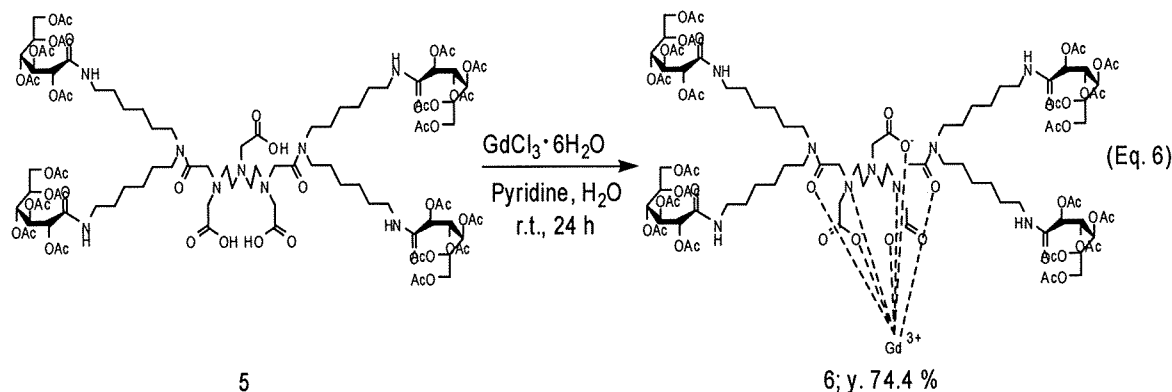
Fig. 2-4-05

2-4-5 Gd 錯体の合成

Gd-DTPA のガドリニウム源として塩化ガドリニウム(III)を用いた合成方法^{6, 7)}を適用した。

2-4-5-1 Gd-DTPA-C6-D-4Glc(OAc) の合成 (化合物 13) の合成

水中、70 °C でピリジン を触媒とし化合物 5 と塩化ガドリニウム(III)六水和物を反応させることで化合物 6 を収率 98.7 % で合成した (Scheme 2-4-06)

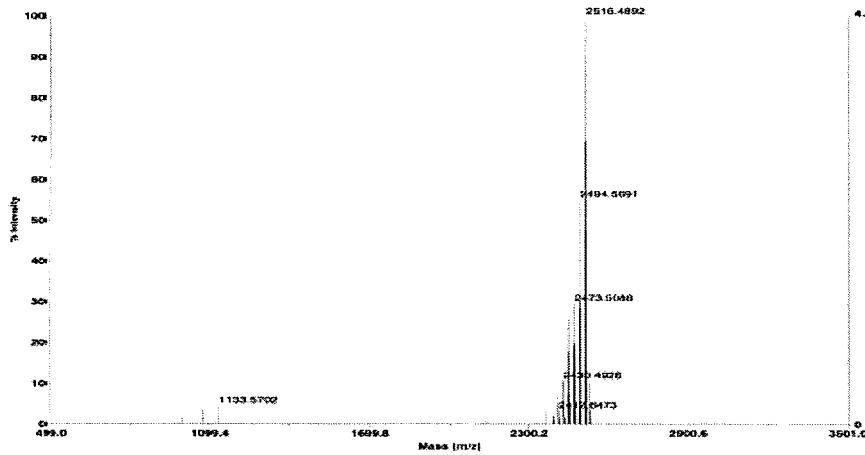


Scheme 2-4-06

化合物 6 の構造は、MALDI-TOF-MS における化合物 6 の分子イオンピーク 2516 ($[M+H]^+$) が確認されたことにより同定した (Fig. 2-4-06)。

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DH[BP = 2516.5, 42299]



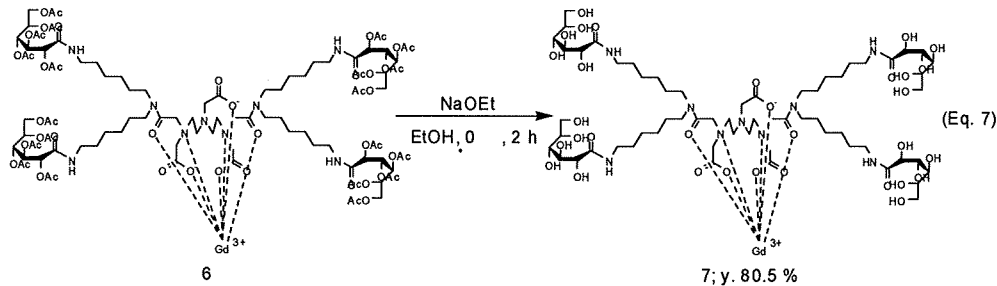
Mode of operation: Reflector
 Extraction mode: Delayed
 Polarity: Positive
 Acquisition control: Manual
 Accelerating voltage: 20000 V
 Grid voltage: 75%
 Mirror voltage ratio: 1.12
 Guide wire O: 0.002%
 Extraction delay time: 125 nsec
 Acquisition mass range: 500 - 2600 Da
 Number of laser shots: 500 spectrum
 Laser intensity: 1800
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz
 Calibration type: Default
 Calibration matrix: α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
 Low mass gate: Off
 Tuned ion selector: Off
 Digitizer start time: 22.5405
 Bin size: 0.5 msec
 Number of data points: 70523
 Vertical scale O: 500 mV
 Vertical offset: 0.65%
 Input bandwidth O: 500 MHz
 Sample well: 56
 Plate ID: PLATE5
 Serial number: 6204
 Instrument name: Voyager-DE P110
 Plate type filename: O:\VOYAGER110 well plate.pl
 Lab name: PE Biosystems
 Absolute x-position: 37291.9
 Absolute y-position: 21817.1
 Relative x-position: 1643088
 Relative y-position: 100377
 Shots in spectrum: 50
 Source pressure: 2.795e-007
 Mirror pressure: 8.832e-008
 TCE pressure: 0.00573
 TIS gate width: 7
 TIS light length: 688

Fig. 2-4-06

2-4-6 Gd 錯体の加水分解

2-4-6-1 Gd-DTPA-C6-D-4Glc(OH)の合成(化合物7)の合成

Ethanol 中、氷浴下で化合物 6 と 0.05 mol/l に調製した Sodium ethoxide を反応させることで化合物 7 を収率 80.5 % で合成した (Scheme 2-4-07)。

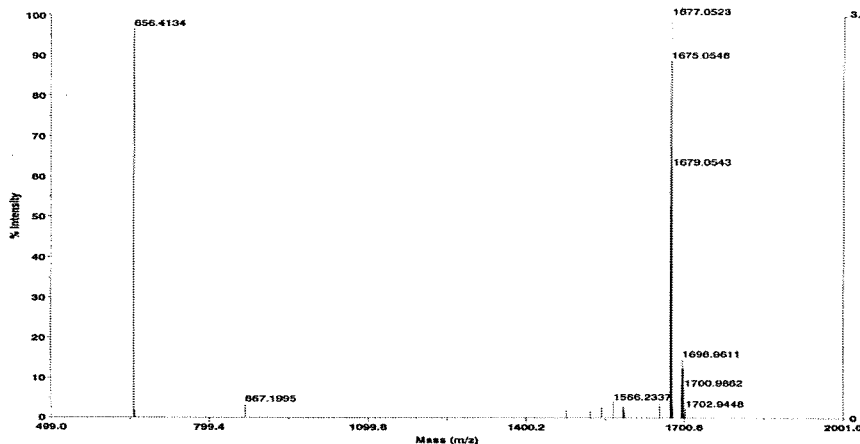


Scheme 2-4-07

化合物 7 の構造は、MALDI-TOF-MS における化合物 7 の分子イオンピーク 1677 ($[M+H]^+$) が確認されたことにより同定した (Fig. 2-4-07)。

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>D[BP = 1677.1, 30168]



Mode of operation: Reflector
 Extraction mode: Delayed
 Polarity: Positive
 Acquisition control: Manual
 Accelerating voltage: 20000 V
 Grid voltage: 75%
 Mirror voltage ratio: 1.12
 Guide wire O: 0.002%
 Extraction delay time: 125 nsec
 Acquisition mass range: 500 - 2000 Da
 Number of laser shots: 500 spectrum
 Laser intensity: 1796
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz
 Calibration type: Default
 Calibration matrix: α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
 Low mass gate: Off
 Tuned ion selector: Off
 Digitizer start time: 22.5405
 Bin size: 0.5 msec
 Number of data points: 44658
 Vertical scale O: 500 mV
 Vertical offset: 0.65%
 Input bandwidth O: 500 MHz
 Sample well: 70
 Plate ID: PLATE1
 Serial number: 6384
 Instrument name: Voyager-DE PRO
 Plate type filename: O:\VOYAGER100 well plate.pl
 Lab name: PE Biosystems
 Absolute x-position: 39886
 Absolute y-position: 10252.8
 Relative x-position: -2341.51
 Relative y-position: -1464.68
 Shots in spectrum: 50
 Source pressure: 2.304e-007
 Mirror pressure: 8.832e-008
 TCE pressure: 0.00205
 TIS gate width: 7
 TIS light length: 688

Fig. 2-4-07