

Fig. 2-6-03 Gd-DTPA 糖錯体の分子モデル

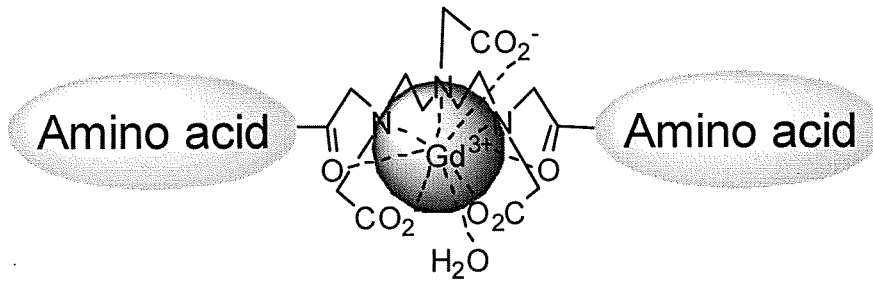


Fig. 2-6-04 Gd-DTPA アミノ酸錯体の分子モデル

2-6-2 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、優れた撮像能力を有する新規 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。

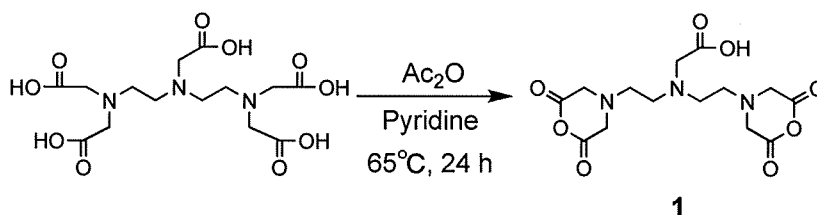
以下にそれぞれの項目の詳細について述べる。

2-6-2-1 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。以下に反応の詳細について述べる。

DTPA dianhydride 1



Scheme 2-6-01 DTPA dianhydride 1

DTPA dianhydride 1 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⁴¹⁾。本研究でも、この合成方法と同様の方法で DTPA dianhydride 1 を粗収率 98% 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. 2-6-05)、¹³C-NMR スペクトル (Fig. 2-6-06) のデータを示す。

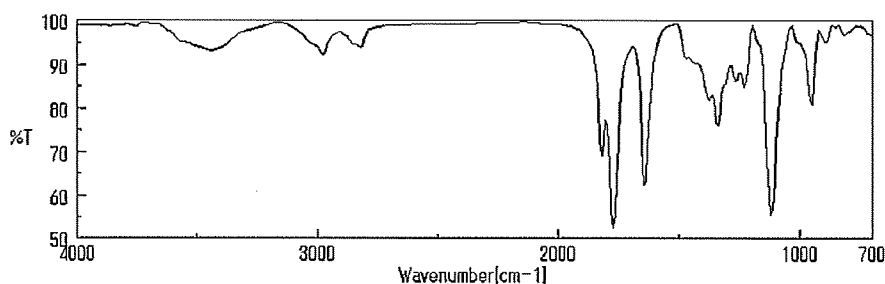


Fig. 2-6-05 化合物 1 の IR スペクトル

ファイル名 C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\
 MITSUJI YAMASITAMU\DOCUMENTEN
 TSI\青木MI実験\DTPA DIANHYDRID
 EQ007.11.20_DTPA DIANHYDRIDE.A
 LS
 初期ファイル名
 測定日時 Tue Nov 20 18:43:01 2007
 主観
 観測核種 ^{13}C
 測定モード BCM
 観測周波数(粗) 75.45 MHz
 観測周波数offset 124.0 kHz
 観測周波数Fine 1840.0 Hz
 スケール点数 32768
 観測範囲 20356.23 Hz
 累積回数 32
 1D 取込時間 1.6097 s
 待ち時間 1.39 s
 プルス幅 4.7 μs
 decouple核種 ^1H
 プログラム -02
 装置 ALICE

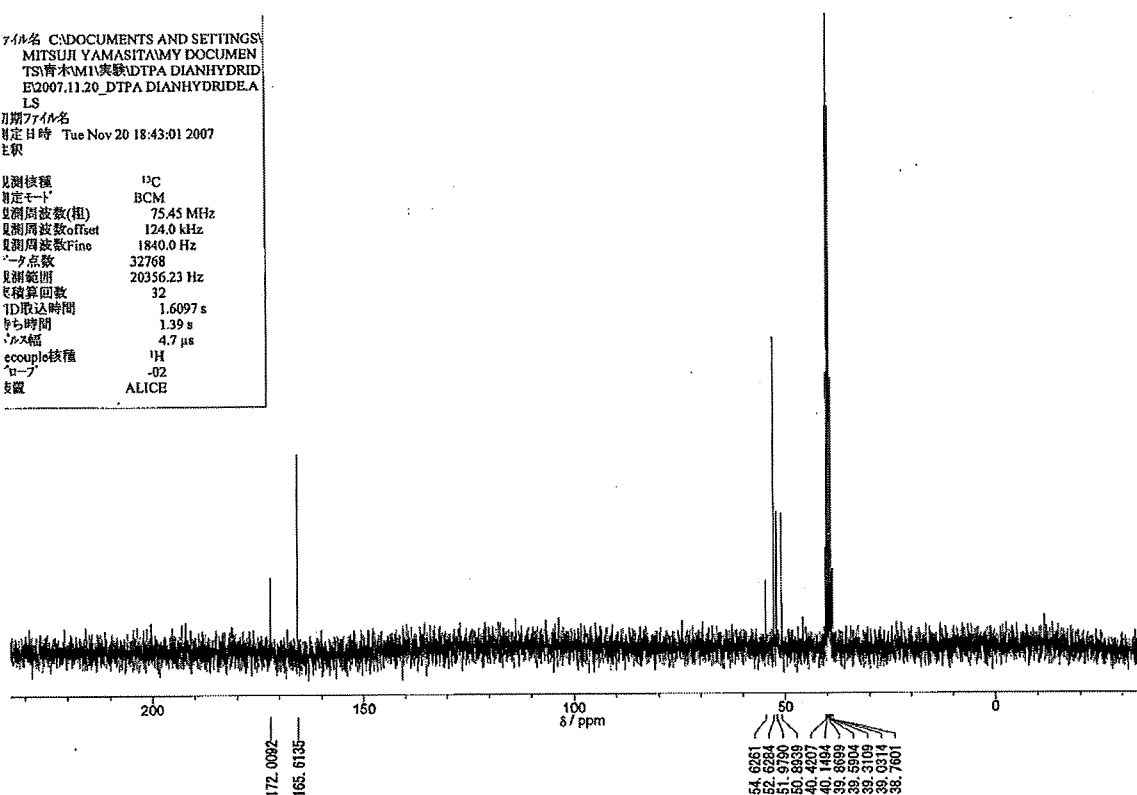


Fig. 2-6-06 化合物 1 の ^{13}C -NMR スペクトル

Fig. 2-6-05 の IR スペクトルより $1820, 1774 \text{ cm}^{-1}$ に $\text{C}=\text{O}$ 伸縮による吸収と $1118, 949 \text{ cm}^{-1}$ に $\text{C}-\text{O}$ 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 $\text{C}=\text{O}$ 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. 2-6-06 の ^{13}C -NMR スペクトルより 165.6 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。

2-6-2-2 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^{42,43)}。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^{42,43)}。過去、目的に応じた末端部の合成方法が報告されている^{38,39,44)}。以下にそれぞれの合成方法の詳細について述べる。

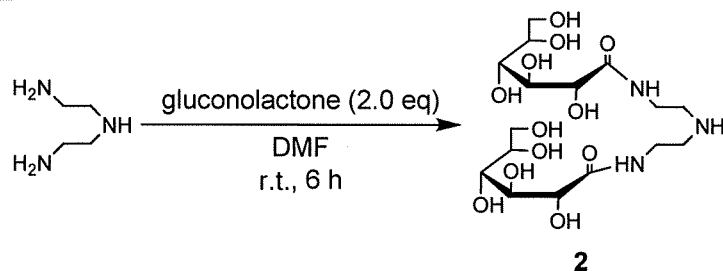
2-6-2-2-1 t-ブトキシカルボニル保護を用いた末端 (Terminal) 部の合成

デンドリマー合成の段階において末端部を構成する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、ヒドロキシル基を全てパーアセチル保護した。また、この反応において末端部を構成するスペーサーであるジエチレントリアミンの第 2 級アミンもパーアセチル保護されてしまい、コア部との反応点として働かなくなってしまうよう、アセチル化の前段階としてアミノ基を t-ブトキシカルボニル (Boc) により

保護した。

合成経路は、糖とジエチレントリアミンとの求核反応、アミノ基の Boc 基による保護、糖のヒドロキシル基のアセチル化、Boc 基の脱保護の順とした。以下に各反応の詳細について述べる。

DETA-2Glc(OH) 2



Scheme 2-6-02 DETA-2Glc(OH) 2

DMF 中、ジエ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 DETA-2Glc(OH) 2 を粗収率 91% 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に対して D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンを 2 当量反応させることで、ジエチレントリアミンの第一級アミンに対して選択的に糖が導入された。また、生成物 2 は DMF に溶解せず生成と同時に結晶となり析出してくるため、これを反応進行の目安とした。

通常の dendrimer 合成において、末端部とコア部の中間に位置するブランチ (Branch) 部を合成する途中の段階では基質の片方の反応部位を保護することによって反応点を制御していく方法が主流である^{45,46}。しかし、ジエチレントリアミンの第一級アミンに対する選択的アミド化反応は不必要な反応点における保護・脱保護の過程を省略することが出来るため、一般的な dendrimer 合成において非常に利用価値の高い反応である。

以下に化合物 2 の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-07)、MS スペクトル (Fig. 2-6-08)、IR スペクトル (Fig. 2-6-09) のデータを示す。

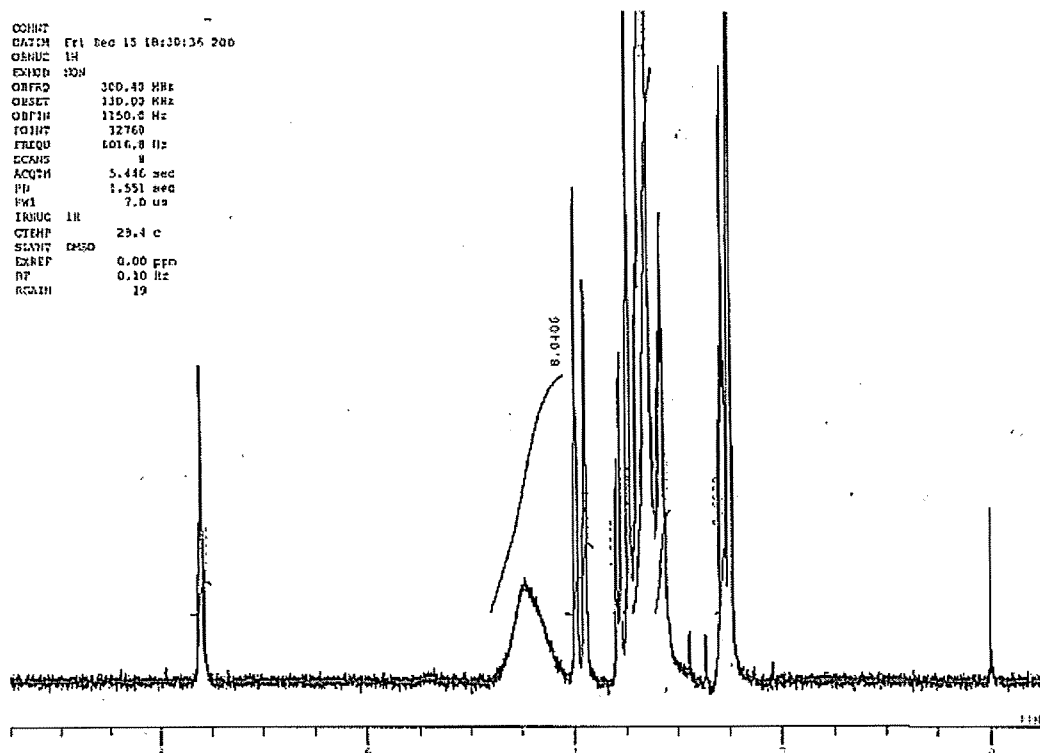
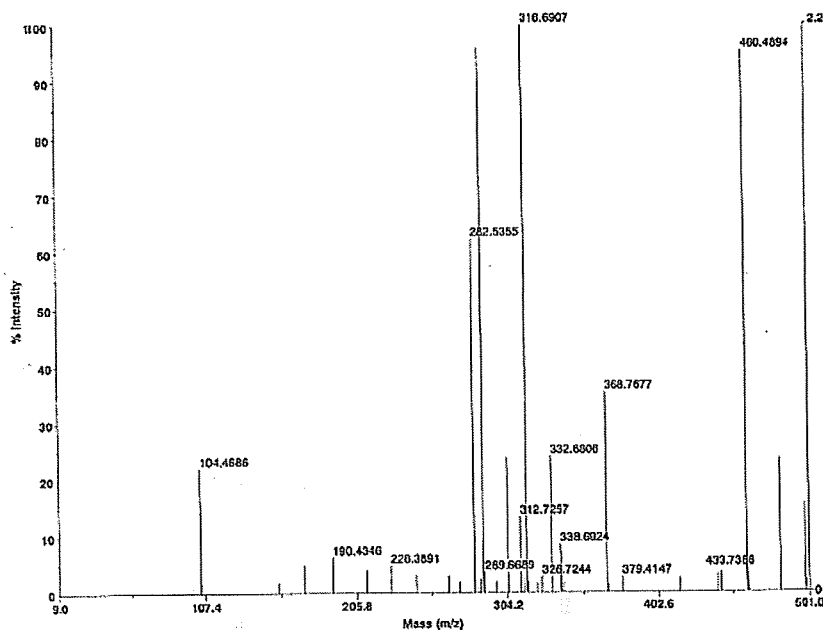


Fig. 2-6-07 化合物 2 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI(BP = 316.7, 22041)



Mode of operation: Reflector
 Extraction mode: Delayed
 Polarity: Positive
 Acquisition control: Manual
 Accelerating voltage: 20000 V
 Grid voltage: 2.2E+
 Mirror voltage ratio: 1.12
 Guide wire 0: 0.002%
 Extraction delay time: 125 nsec
 Acquisition mass range: 10 - 500 Da
 Number of laser shots: 50/spectrum
 Laser intensity: 1819
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz
 Calibration type: Diluent
 Calibration matrix: α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid
 Low mass gate: Off
 Time of ion selector: Off
 Digital start time: 3.272
 Bin size: 0.5 msec
 Number of data points: 38311
 Vertical scale 0: 500 mV
 Vertical offset: 0.65%
 Input bandwidth 0: 500 MHz
 Sample well: 32
 Plate ID: PLATE1
 Serial number: 6384
 Instrument name: Voyager-DE PRO
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.plt
 Lab name: PE Biosystems
 Absolute x-position: 7044.52
 Absolute y-position: 31898.4
 Relative x-position: 377.02
 Relative y-position: -169.064
 Shots in spectrum: 50
 Source pressure: 3.58e-007
 Mirror pressure: 6.018e-008
 TC2 pressure: 0.001503
 TIS gate width: 7
 TIS Right length: 688

Fig. 2-6-08 化合物 2 の MS スペクトル

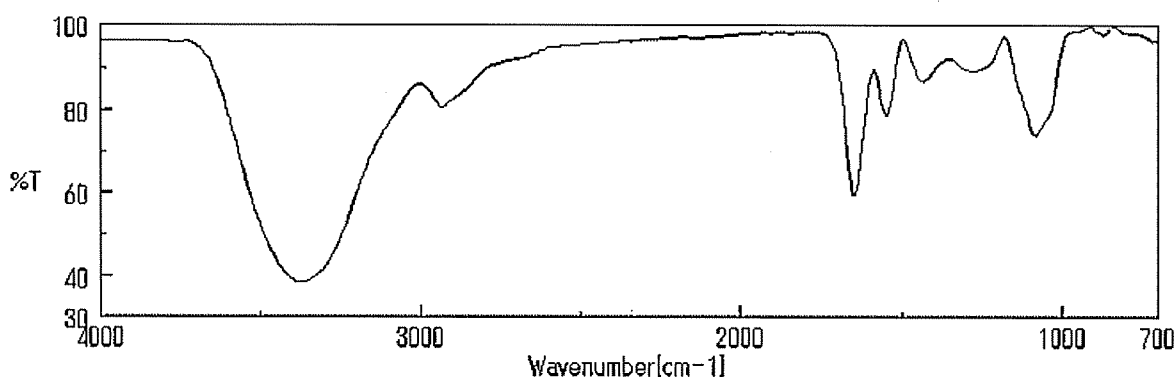
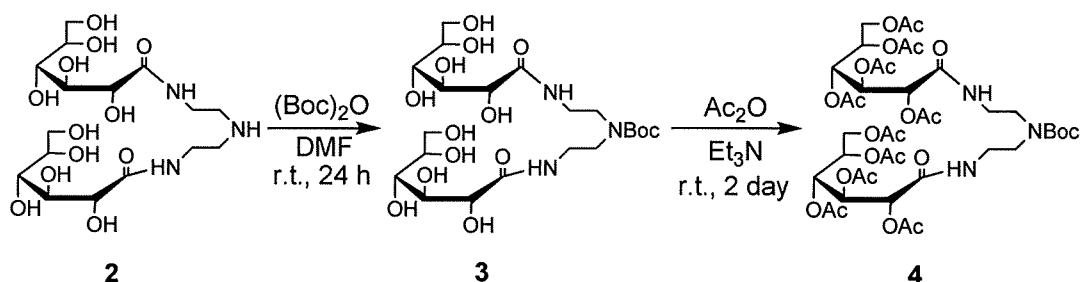


Fig. 2-6-09 化合物 2 の IR スペクトル

Fig. 2-6-07 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 4.43 ppm にヒドロキシル基由来のピークを確認し、そのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig. 2-6-08 の MS スペクトルより 460.49 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。Fig. 2-6-09 の IR スペクトルより 3371 cm^{-1} に O-H 伸縮による吸収を示すことからヒドロキシル基の存在を、 1651 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1543 cm^{-1} に N-H 変角による吸収を示すことからアミド基の存在をそれぞれ確認した。以上から化合物 2 の構造を同定した。

DETA-2Glc(OAc)-Boc 4



Scheme 2-6-03 DETA-2Glc(OAc)-Boc 4

DMF 中、DETA-2Glc(OH) 2 と二炭酸ジ-*t*-ブチル ((Boc)₂O) を反応させた後、トリエチルアミンを触媒として加え、さらに無水酢酸と反応させることで DETA-2Glc(OAc)-Boc 3 を収率 85% で合成した。一段階目の反応は化合物 2 の第二級アミンと二炭酸ジ-*t*-ブチルとの求核アシル置換反応によるアミド化反応であり、二段階目の反応は化合物 2 のヒドロキシル基と無水酢酸との求核アシル置換反応によるアセチル化反応である。これまでの研究において化合物 3 の単離精製を行わずに反応を進めても目的化合物 4 が高収率で得られる事がわかっているため、目的化合物 4 まで合成した後でシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : methanol = 15 : 1) による単離精製を行なった。

以下に化合物 4 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-6-10) のデータを示す。

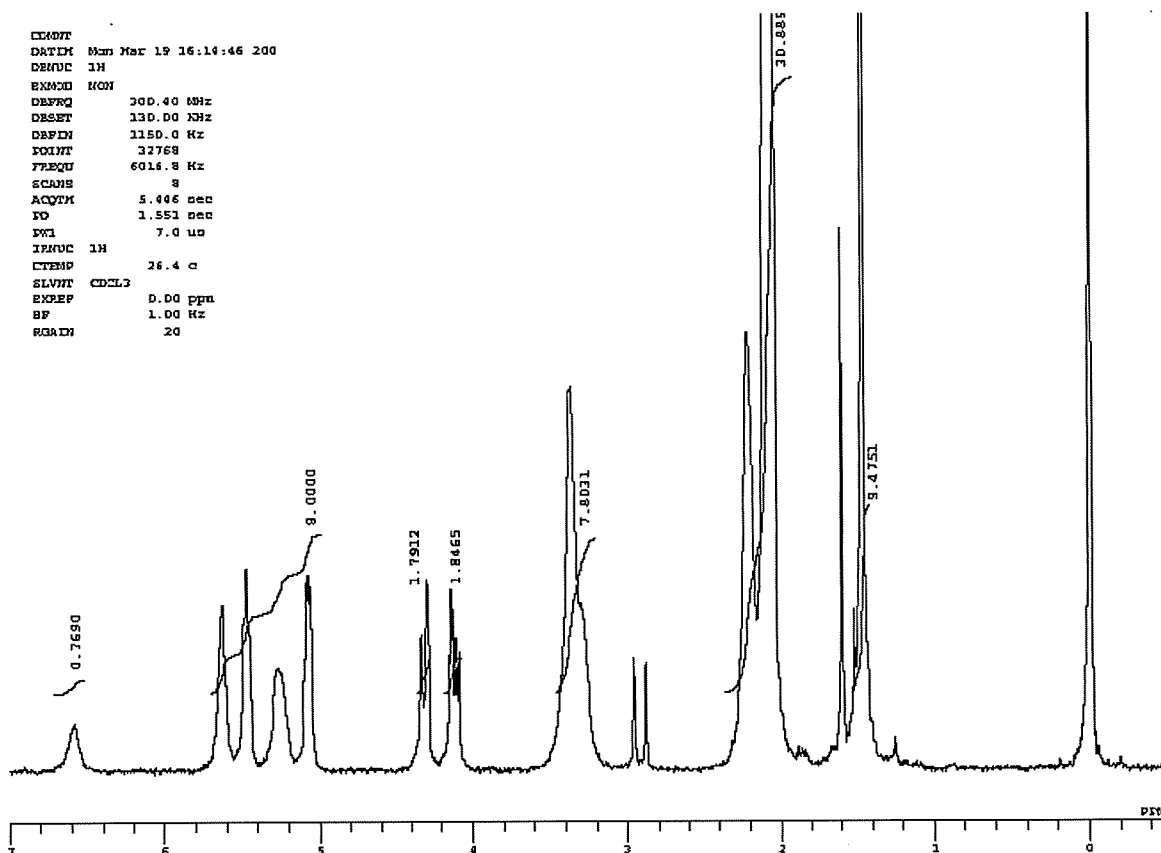
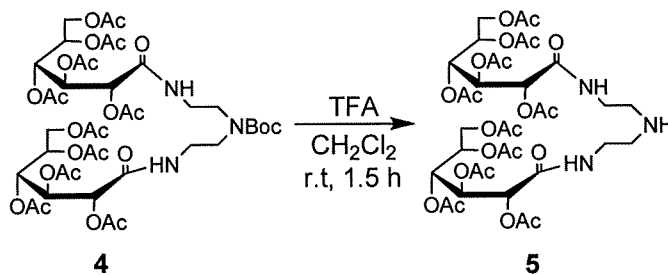


Fig. 2-6-10 化合物 **4** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Fig. 2-6-10 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 1.47 ppm に Boc 基の t-Bu 由来のピークを、2.05-2.21 ppm にアセチル基由来のピークをそれぞれ確認し、それらのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較することで、化合物 **4** の構造を同定した。

DETA-2Glc(OAc) **5**



Scheme 2-6-04 DETA-2Glc(OAc) **5**

ジクロロメタン中、トリフルオロ酢酸を用いて DETA-2Glc(OAc)-Boc **4** の Boc 基の脱保護を行ない DETA-2Glc(OAc) **5** を収率 68% で合成した。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⁴⁷⁾、この反応では化合物 **4** 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。化合物 **5** はシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : methanol = 15 : 1) による単離精製を行なった。

以下に化合物 **5** の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-11)、MS スペクトル (Fig. 2-6-12) のデータを示す。

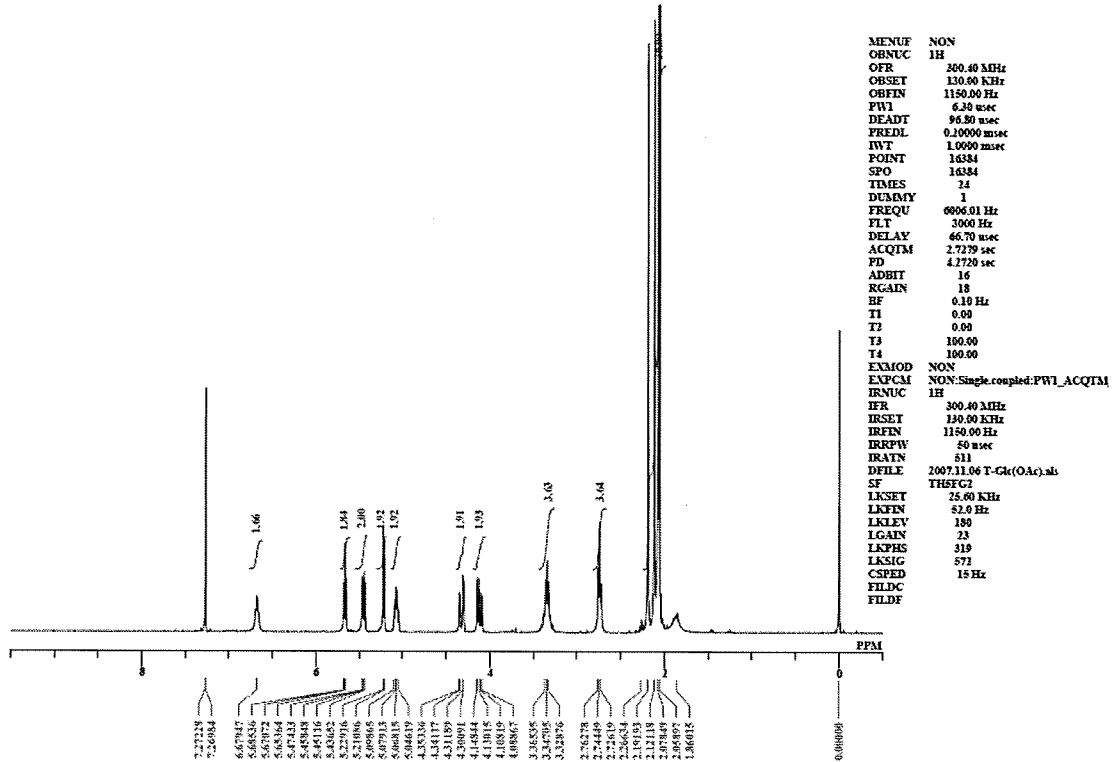


Fig. 2-6-11 化合物 **5** の ¹H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)->NF0.7->D[BP = 880.8, 82042]

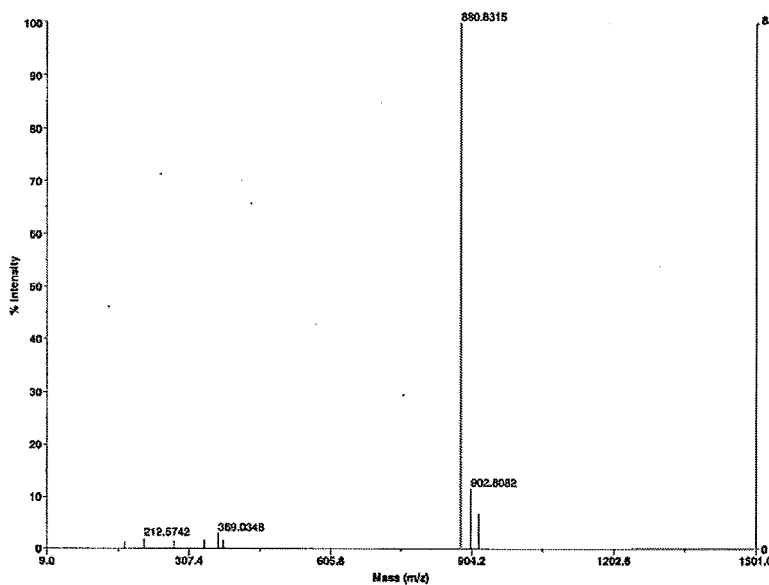


Fig. 2-6-12 化合物 **5** の MS スペクトル

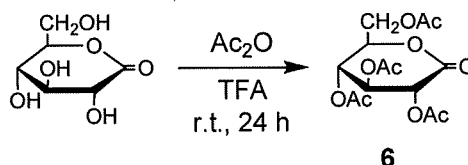
Fig. 2-6-11 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより Boc 基の t-Bu 由来のピークが消滅していることから Boc 基は脱保護されたと考えられる。また、2.06-2.22 ppm にアセチル基由来のピークを確認し、そのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig. 2-6-12 の MS スペクトルより 880.04 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。以上から化合物 5 の構造を同定した。

2-6-2-2-2 糖のアセチル化による末端 (Terminal) 部の合成

t-ブトキシカルボニル基を用いて末端部を合成する方法ではアミノ基の保護および脱保護を含むため、反応が多段階におよびまた繁雑であった。そこで、この 2 段階の反応を省略することを考えた。そのために、まず糖のヒドロキシル基を全てパーアセチル保護し、次にアセチル化した糖誘導体とジエチレントリアミンとを反応させ末端部を合成した。この反応はジエチレントリアミンの第一級アミンに対する選択的アミド化反応と同じく、不必要な反応点における保護・脱保護の過程を省略することが出来るため一般的な dendrimer 合成において非常に利用価値の高い反応である。また、合成した末端部は既存のものとは異なり、糖が有する 5 個のヒドロキシル基のうち 4 個がアセチル化され、1 個のみヒドロキシル基のまま残った構造となっている。

合成経路は、糖のヒドロキシル基のアセチル化、糖誘導体とジエチレントリアミンとの反応の順とした。以下に各反応の詳細について述べる。

2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-D(+)-グルコノ-1,5-ラクトン 6



Scheme 2-6-05 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-D(+)-グルコノ-1,5-ラクトン 6

2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-D(+)-グルコノ-1,5-ラクトン 6 は D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンをトリフルオロ酢酸触媒下、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⁴⁸⁾。本研究でも、この合成方法と同様の方法で化合物 6 を収率 83% で合成した。しかし、参考文献⁴⁷⁾においてこの化合物の精製は行われていなかったため、本研究ではシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 : methanol = 20 : 1) による単離精製を行なった。この反応は、D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンのヒドロキシル基と無水酢酸との求核アシル置換反応によるヒドロキシル基のアセチル化反応である。この反応において、D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンは無水酢酸に溶解しないが生成物は溶解するため、反応溶液の濁りがなくなることを反応進行の目安とした。

以下に化合物 6 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-6-13)、IR スペクトル (Fig. 2-6-14) のデータを示す。

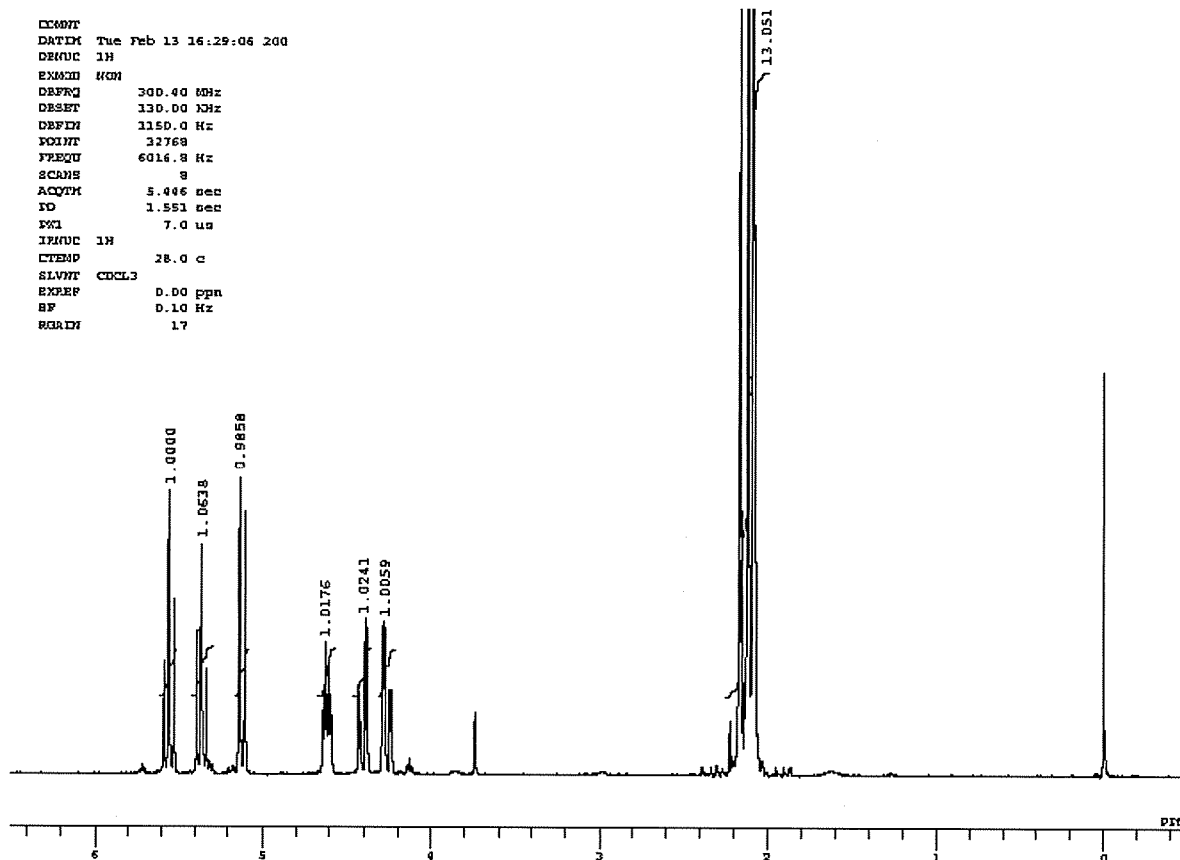


Fig. 2-6-13 化合物 6 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

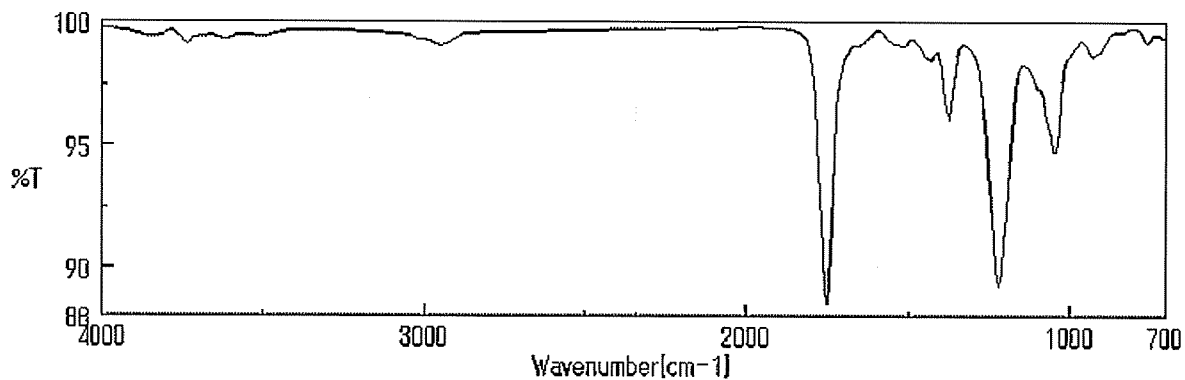
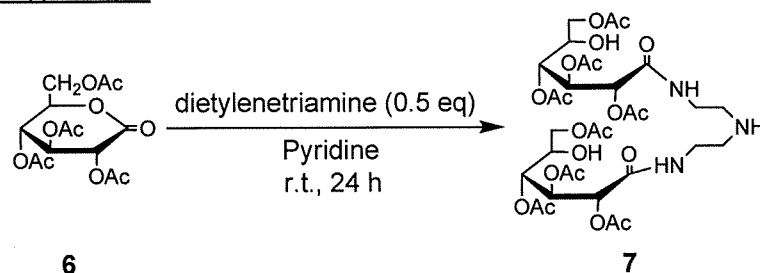


Fig. 2-6-14 化合物 6 の IR スペクトル

Fig. 2-6-13 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 2.09-2.22 ppm にアセチル基由来のピークを確認し、そのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig. 2-6-14 の IR スペクトルより 1751 cm^{-1} に $\text{C}=\text{O}$ 伸縮による吸収と 1218 cm^{-1} に $\text{C}-\text{O}$ 伸縮による吸収を示すことからエステルの存在を確認した。また、 $\text{O}-\text{H}$ 伸縮による吸収を示していないことからヒドロキシル基はすべてアセチル化されたと考えられる。以上から化合物 6 の構造を同定した。

DETA-2Glc(4OAc)(1OH) 7



Scheme 2-6-06 DETA-2Glc(4OAc)(1OH)

ピリジン中、ジエチレントリアミンと 2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-D(+)-グルコノ-1,5-ラクトン **6** との求核反応により化合物 **7** を粗収率 90%で合成した。この反応は化合物 **6** 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に対して化合物 **6** を 2 当量反応させることで、ジエチレントリアミンの第一級アミンに対して選択的に糖が導入された。合成した末端部は既存のものとは異なり、糖が有する 5 個のヒドロキシル基のうち 4 個がアセチル化され、1 個のみヒドロキシル基のまま残った構造となっており、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに吸着してしまうためこれによる単離精製が出来なかった。そのため、デンドリマー分子まで誘導し、そこで再結晶による単離精製を行なうこととした。

以下に化合物 **7** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (Fig. 2-6-15)、MS スペクトル (Fig. 2-6-16)、IR スペクトル (Fig. 2-6-17) のデータを示す。

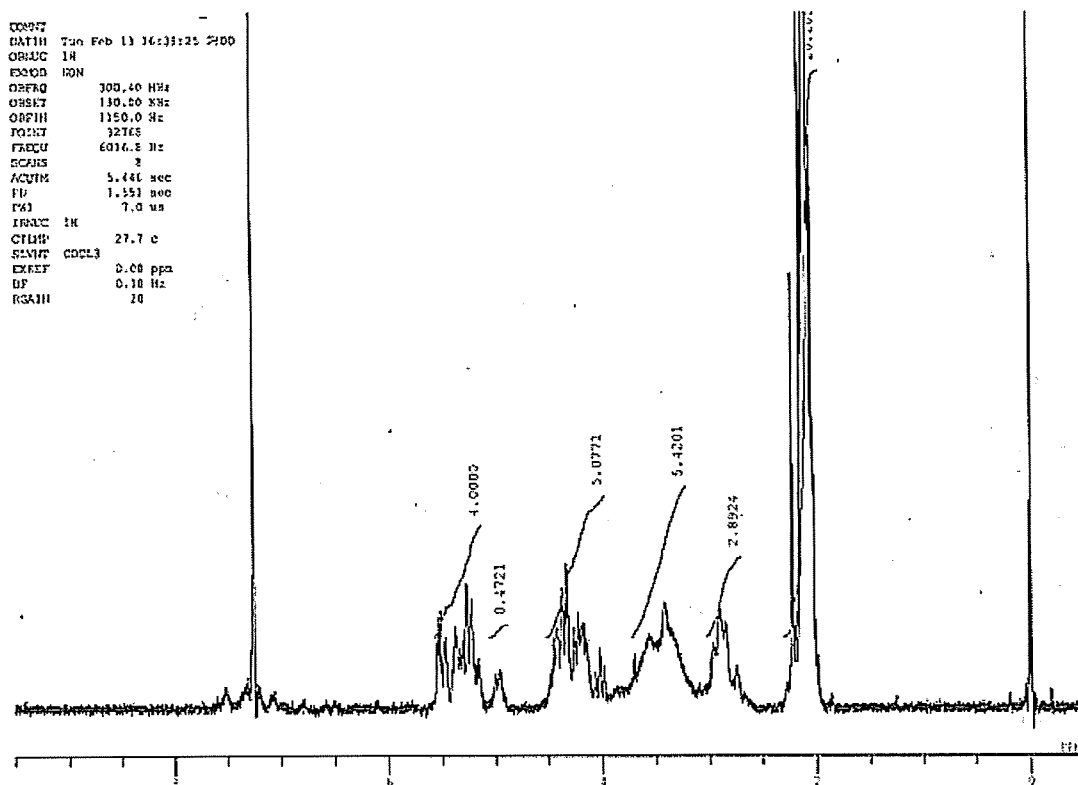
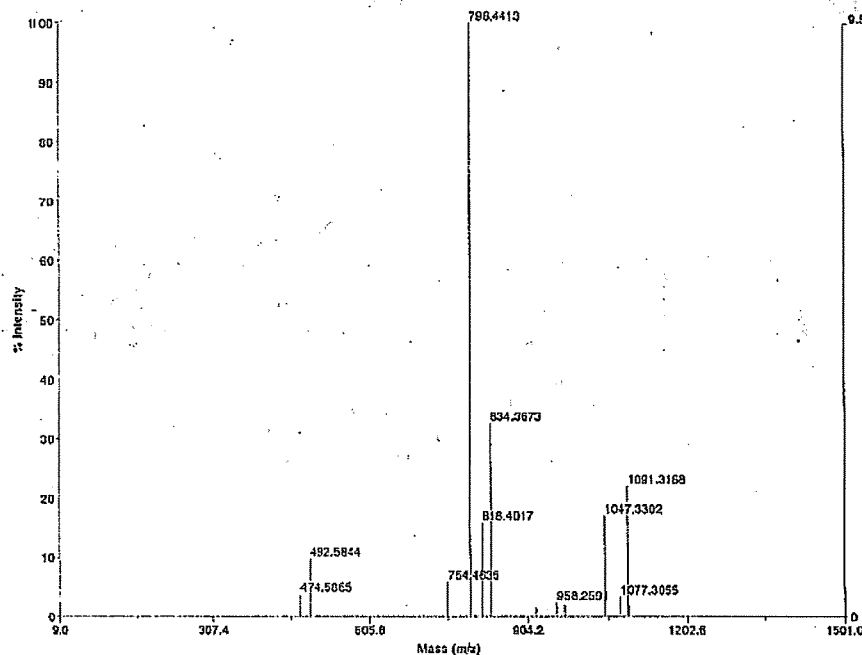


Fig. 2-6-15 化合物 **7** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)>NF0.7=>DI[BP = 796.4, 94802]



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 0:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	10 - 1500 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1040
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	a-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	Off
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	3.272
Bin size:	0.5 m/z
Number of data points:	70982
Vertical scale 0:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth 0:	500 MHz
Sample well:	27
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	CSV\YAGEN100 well plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	34197.9
Absolute y-position:	34938.4
Relative x-position:	2130.44
Relative y-position:	-2292.14
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	2.050e-007
Mirror pressure:	5.633e-009
TC2 pressure:	0.001
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-16 化合物 7 の NMS スペクトル

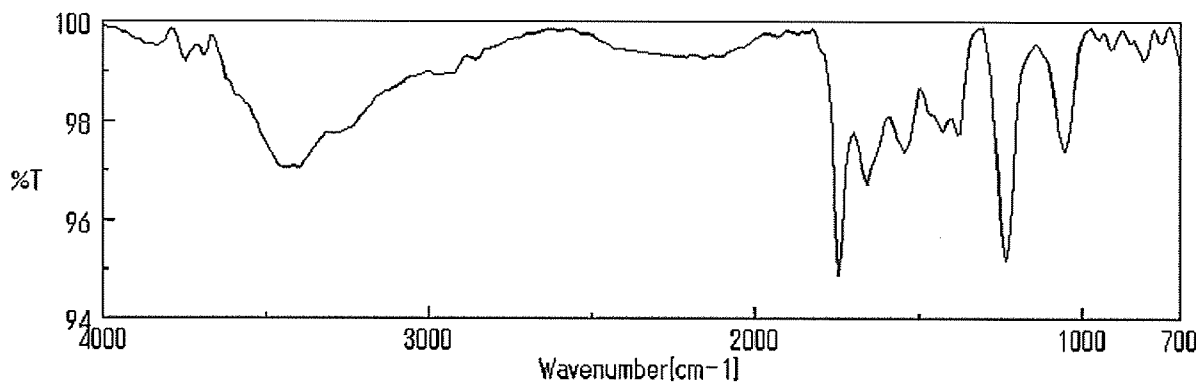


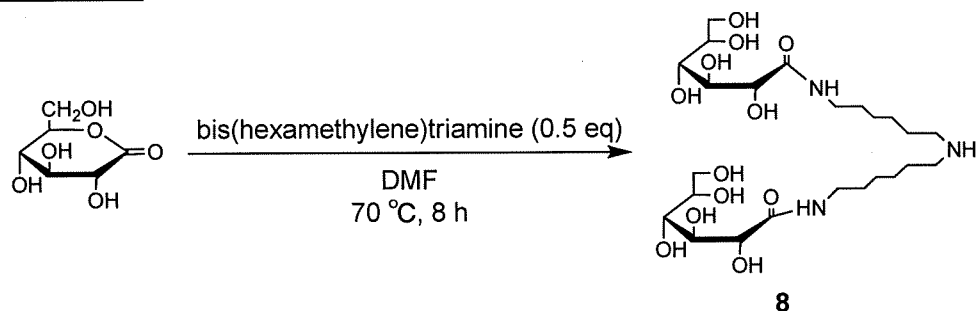
Fig. 2-6-17 化合物 7 の IR スペクトル

Fig. 2-6-15 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 2.07-2.23 ppm にアセチル基由来のピークを、2.74-3.70 ppm にヒドロキシル基由来のピークをそれぞれ確認し、それらのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。ここで、ヒドロキシル基由来のピークは D_2O 置換することで確認した。Fig. 2-6-16 の MS スペクトルより 796.44 $[\text{M}+\text{H}]^+$ のピークを確認した。Fig. 2-6-17 の IR スペクトルより 3463 cm^{-1} に O-H 伸縮による吸収を示すことからヒドロキシル基の存在を、 1743 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1234 cm^{-1} に C-O 伸縮による吸収を示すことからエステルの存在を、 1658 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1542 cm^{-1} に N-H 変角による吸収を示すことからアミド基の存在をそれぞれ確認した。以上から化合物 7 の構造を同定した。

2-6-2-2-3 炭素数の多いスペーサーを用いた末端 (Terminal) 部の合成

糖とコア部である DTPA との距離の増加が緩和率や組織特異性などへ及ぼす影響を検討するため、ジエチレントリアミンに比べて炭素数の多いヘキサメチレントリアミンをスペーサーとして用いた末端部を合成した。以下に反応の詳細について述べる。

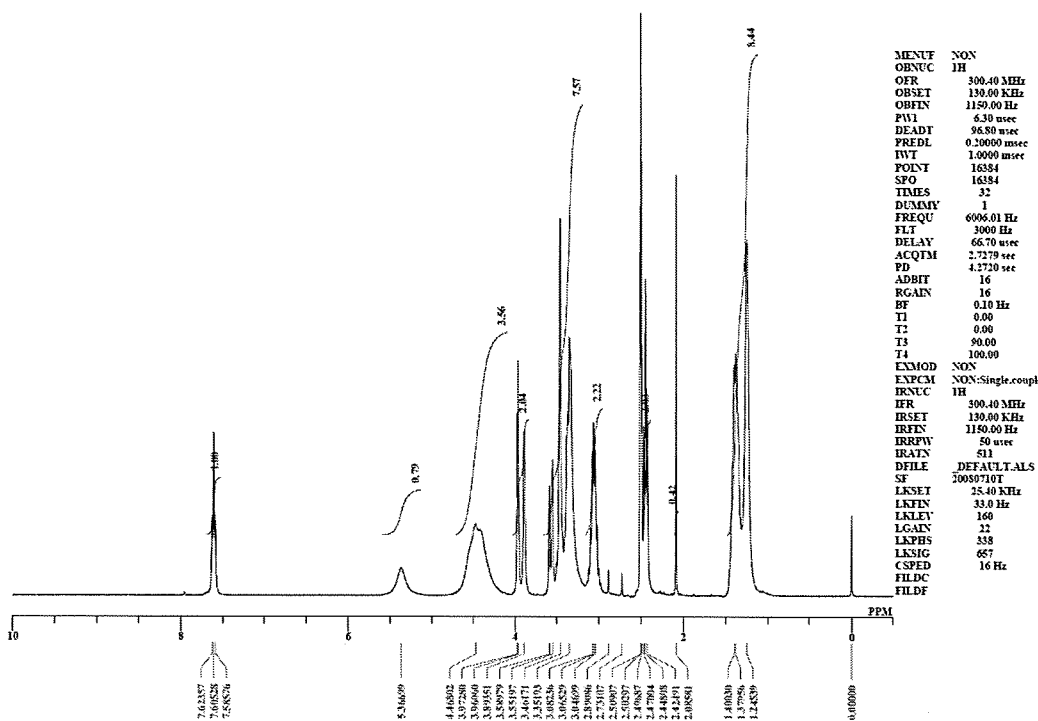
HMTA-2Glc(OH) **8**



Scheme 2-6-07 HMTA-2Glc(OH) **8**

DMF 中、70°C で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-2Glc(OH) **8** を粗収率 75%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ヘキサメチレントリアミンによる求核アシル置換反応であり、ヘキサメチレントリアミンに対して D(+)-グルコノ-1,5-ラクトンを 2 当量反応させることで、ヘキサメ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。また、生成物 **8** は DMF に溶解せず生成と同時に結晶となり析出してくるため、これを反応進行の目安とした。

以下に化合物 **8** の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-18)、MS スペクトル (Fig. 2-6-19) のデータを示す。

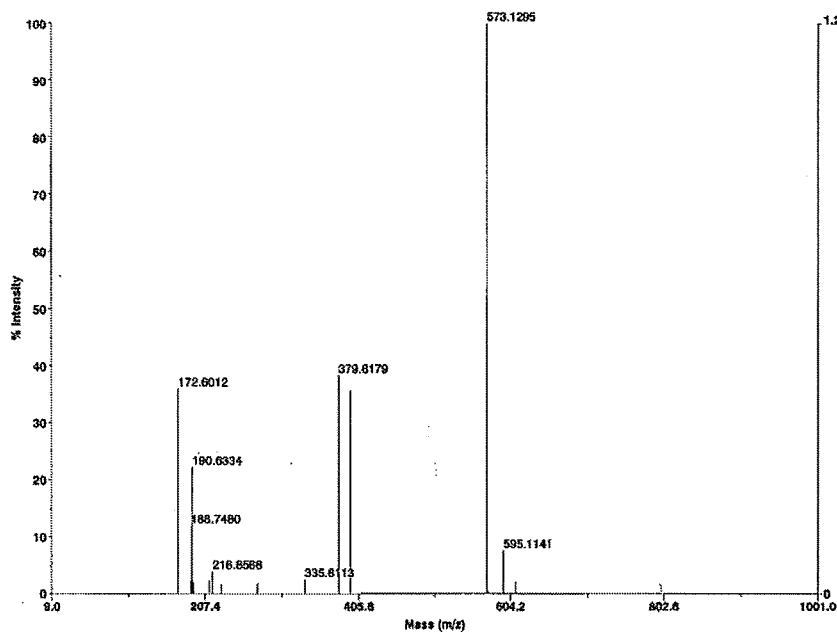


MENUC	NON
OBNUC	1H
OFR	300.40 MHz
OBSET	130.00 KHz
OBFIN	1150.00 Hz
PW1	6.30 usec
DEAD1	96.80 usec
PREBL	0.20000 msec
INT	1.0000 msec
POINT	16384
SPO	16384
TIMES	32
DUMMY	1
FREQ	6096.01 Hz
FLT	3000 Hz
DELAY	66.70 usec
ACQTM	2.7279 sec
PD	4.2720 sec
ADBIT	16
RGAIN	16
BF	0.10 Hz
T1	0.00
T2	0.00
T3	90.00
T4	100.00
EXMOD	NON
EXPC1	NON:Single-coopl
IRNUC	1H
IFR	300.40 MHz
IRSET	130.00 KHz
IRFIN	1150.00 Hz
IRRPW	50 usec
IRATN	511
DFILE	DEFAULT.ALS
SF	700897101
LKSET	25.40 KHz
LKFIN	33.0 Hz
LKLEV	160
LGAIN	22
LKPHS	318
LKSIG	657
CSPED	16 Hz
FILDC	
FILDF	

Fig. 2-6-18 化合物 8 の ¹H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6364

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)>NF0.7=>D[BP = 573.1, 124841]



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 D:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	10 - 1000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1077
Laser Flip Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	o-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	Off
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	3.2715
Siz Size:	0.5 msec
Number of data points:	56789
Vertical scale 0:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth 0:	500 MHz
Sample well:	46
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
State type filename:	C:\VOYAGER\100 well plate.pf
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	27138.7
Absolute y-position:	26990
Relative x-position:	151.249
Relative y-position:	2.50992
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	5.064e-007
Mirror pressure:	9.523e-008
TCE pressure:	0.002089
TIS gate width:	7
TIS light length:	688

Fig. 2-6-19 化合物 8 の MS スペクトル

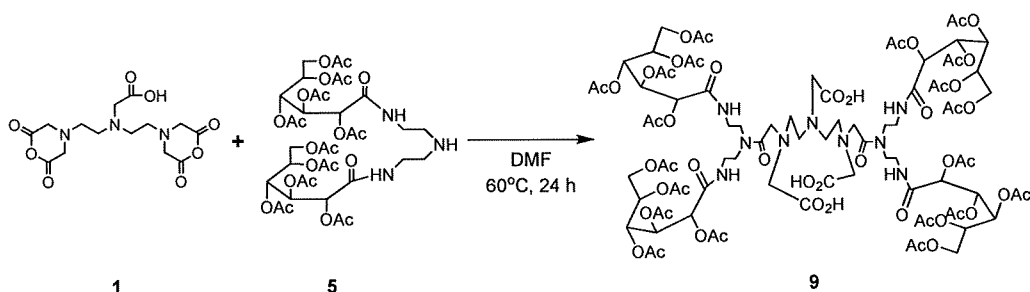
Fig. 2-6-18 の ¹H-NMR スペクトルより 4.47-5.37 ppm にヒドロキシル基由来のピークを確認し、そのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig.

2-6-19のMSスペクトルより573.12 [M+H]⁺のピークを確認した。以上から化合物 **8** の構造を同定した。

2-6-2-3 リガンド (Ligand) の合成

2-6-2-1において合成したコア部の DTPA dianhydride **1** に対して 2-6-2-2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⁴⁰⁾。末端部を構成するスペーサーは主にトリアミンを用いていたが、分子の回転を抑制するために芳香環をスペーサーにすることを考えた。本研究では糖との結合は行っていないが Gd 錯体まで誘導しその性能を他の Gd 錯体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-DETA-D2-4Glc(OAc) **9**



Scheme 2-6-08 DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) **9**

DMF 中、40°C で DTPA dianhydride **1** に対して DETA-2Glc(OAc) **5** を 2 当量反応させることで DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) **9** を収率 84% で合成した。化合物 **9** は再結晶 (イソプロパノール) による単離精製を行なった。

以下に化合物 **9** の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-20)、MS スペクトル (Fig. 2-6-21)、IR スペクトル (Fig. 2-6-22) のデータを示す。

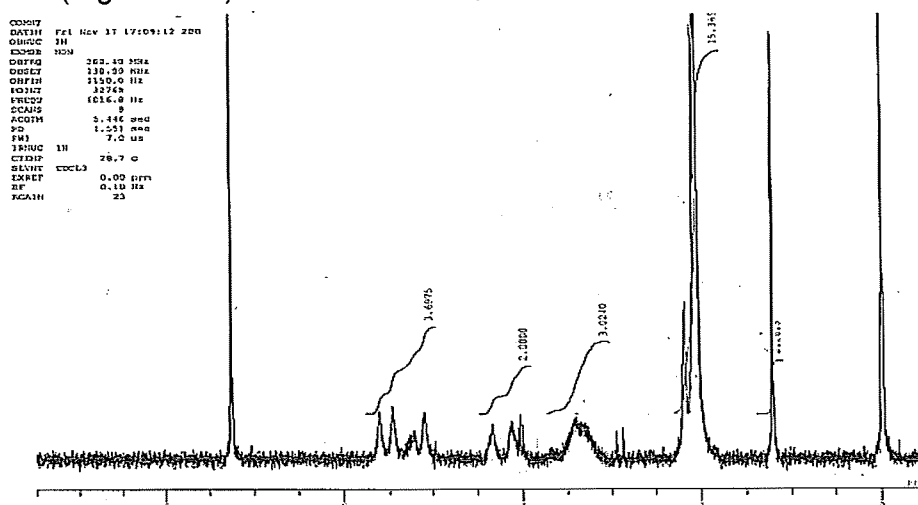
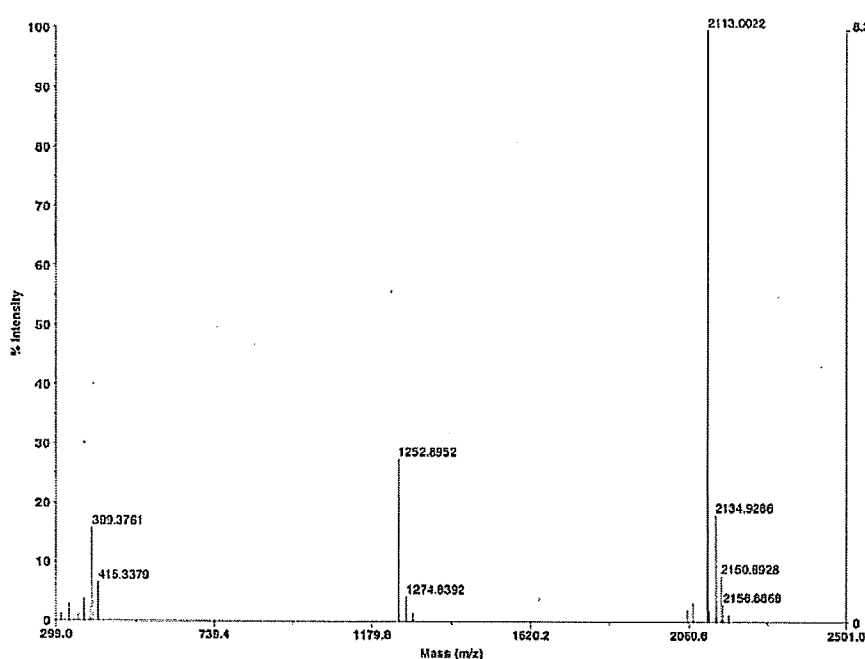


Fig. 2-6-20 化合物 **9** の ¹H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0,5,0.1)=>NF0.7=>D|BP = 2113.0, 83295]



Mode of operation: Reflector
 Extraction mode: Delayed
 Polarity: Negative
 Acquisition control: Manual

Accelerating voltage: 20000 V
 Grid voltage: 75%
 Mirror voltage ratio: 1.12
 Guide wire 0: 0.002%
 Extraction delay time: 125 nsec

Acquisition mass range: 300 - 2500 Da
 Number of laser shots: 50/spectrum
 Laser intensity: 1904
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz
 Calibration type: Default
 Calibration matrix: α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid
 Low mass gate: 300 Da
 Timed ion selector: Off

Digitizer start time: 17.3285
 Ba size: 0.5 nsec
 Number of data points: 65232
 Vertical scale 0: 500 mV
 Vertical offset: 0.65%
 Input bandwidth 0: 500 MHz

Sample well: 86
 Plate ID: PLATE1
 Serial number: 6384
 Instrument name: Voyager-DE P/FIO
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.plt
 Lab name: PE Biosystems

Absolute x-position: 27419.1
 Absolute y-position: 6426.08
 Relative x-position: 431.611
 Relative y-position: -241.421
 Shots in spectrum: 50
 Source pressure: 1.437e-007
 Mirror pressure: 4.462e-008
 TCZ pressure: 0.001
 TIS gate width: 7
 TIS flight length: 688

Fig. 2-6-21 化合物 9 の MS スペクトル

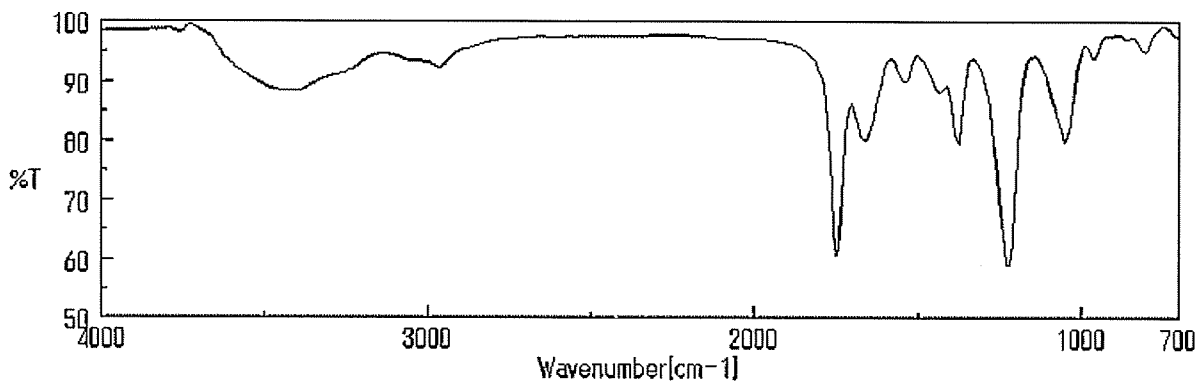
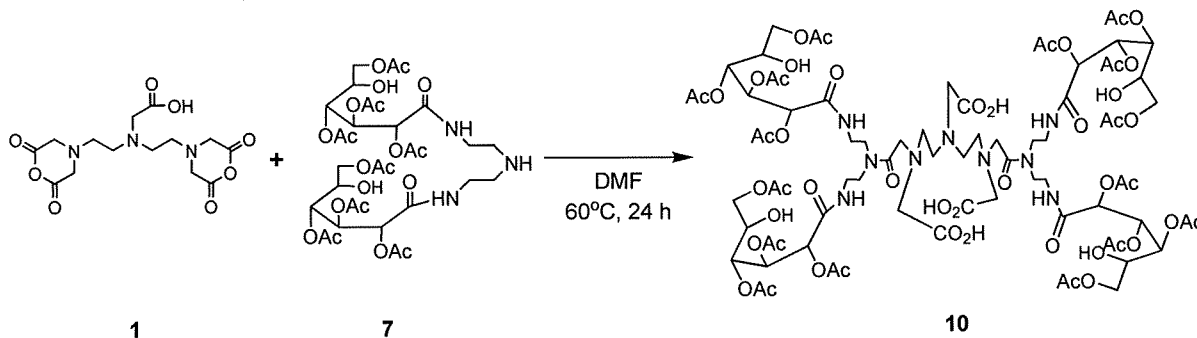


Fig. 2-6-22 化合物 9 の IR スペクトル

Fig. 2-6-20 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 2.05-2.28 ppm にアセチル基由来のピークを確認し、そのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig. 2-6-21 の MS スペクトルより 2113.00 [M-3H] $^+$ のピークを確認した。Fig. 2-6-22 の IR スペクトルより 1751 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1226 cm^{-1} に C-O 伸縮による吸収を示すことからエステルの存在を、 1666 cm^{-1} に C=O 伸縮による吸収と 1542 cm^{-1} に N-H 変角による吸収を示すことからアミド基の存在をそれぞれ確認した。以上から化合物 9 の構造を同定した。

DTPA-DETA-2Glc(4OAc)(1OH) 10



Scheme 2-6-09 DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) 10

DMF 中、60°C で DTPA dianhydride **1** に対して DETA-2Glc(4OAc)(1OH) **7** を 2 当量反応させることで DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) **10** を収率 74% で合成した。化合物 **10** は再結晶 (イソプロパノール) による単離精製を行なった。

以下に化合物 **10** の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-23)、MS スペクトル (Fig. 2-6-24)、IR スペクトル (Fig. 2-6-25) のデータを示す。

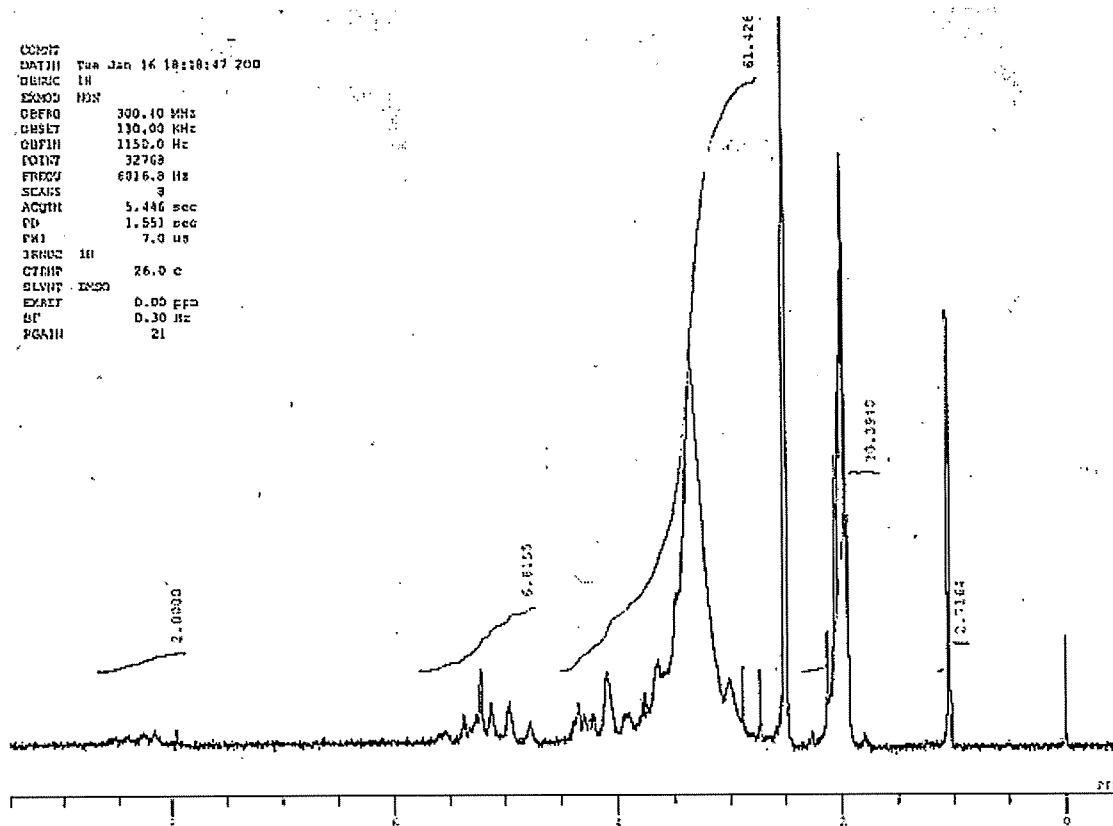
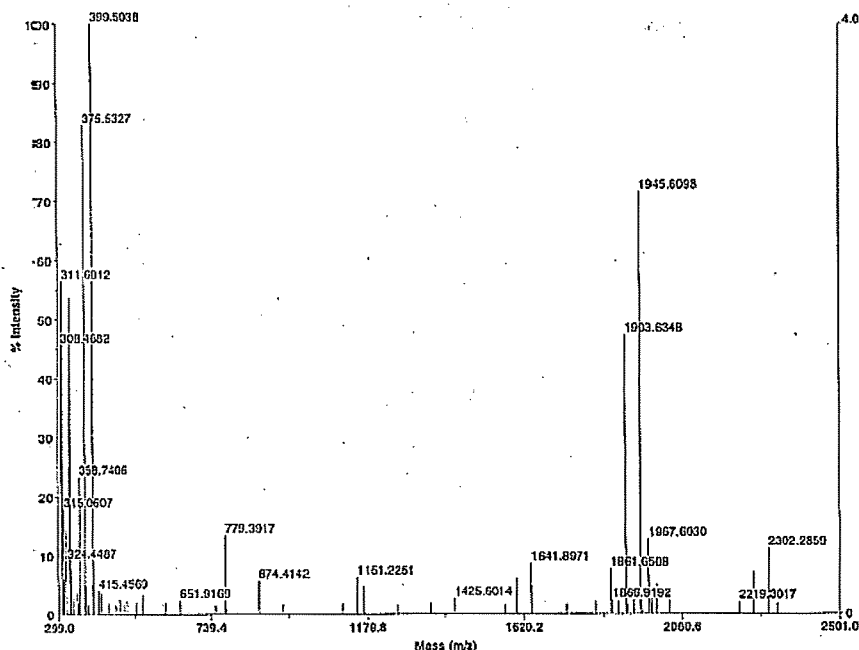


Fig. 2-6-23 化合物 **10** の ¹H-NMR スペクトル



Mode of operation: Reflector
 Extraction mode: Delayed
 Polarity: Negative
 Acquisition control: Manual

Accelerating voltage: 20000 V
 Grid voltage: 75%
 Mirror voltage ratio: 1.12
 Guide wire ID: 0.002%
 Extraction delay time: 125 nsec

Acquisition mass range: 300 - 2500 Da
 Number of laser shots: 50/spectrum
 Laser intensity: 2111
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz
 Calibration type: Default
 Calibration molecule: *o*-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
 Low mass gate: 300 Da
 Timed ion collector: Off

Digitizer start time: 17.3985
 Bin size: 0.5 nsec
 Number of data points: 05232
 Vertical scale 0: 500 mV
 Vertical offset: 0.65%
 Input base/mich 0: 500 kHz

Sample well: 26
 Plate ID: PLATE1
 Serial number: 6304
 Instrument name: Voyager-DE PRO
 Plate type filename: CAVYAGER100 well plate.plt
 Lab name: PE Biosystems

Absolute x-position: 26655
 Absolute y-position: 30971.7
 Relative x-position: -332.453
 Relative y-position: -175.833
 Shots in spectrum: 50
 Source pressure: 1.738e-007
 Mirror pressure: 6.295e-008
 TG2 pressure: 0.001
 TIS gate width: 7
 TIS Right length: 686

Fig. 2-6-24 化合物 10 の MS スペクトル

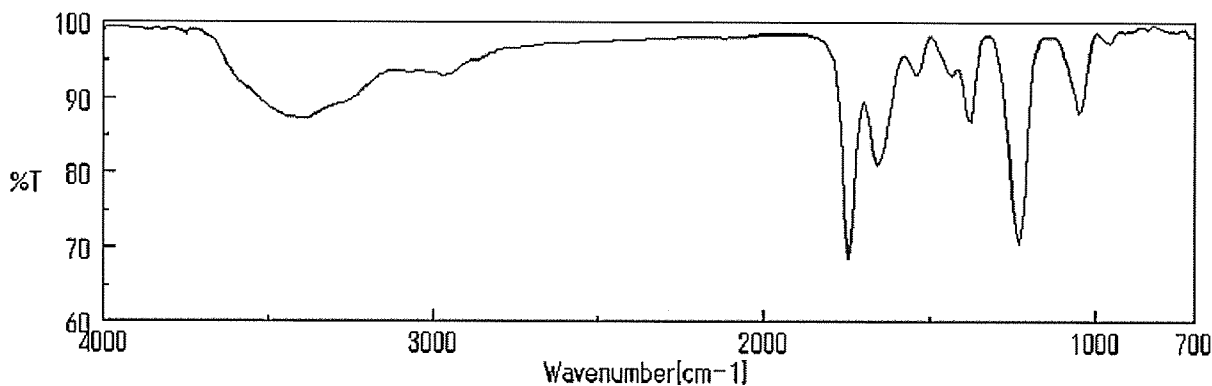
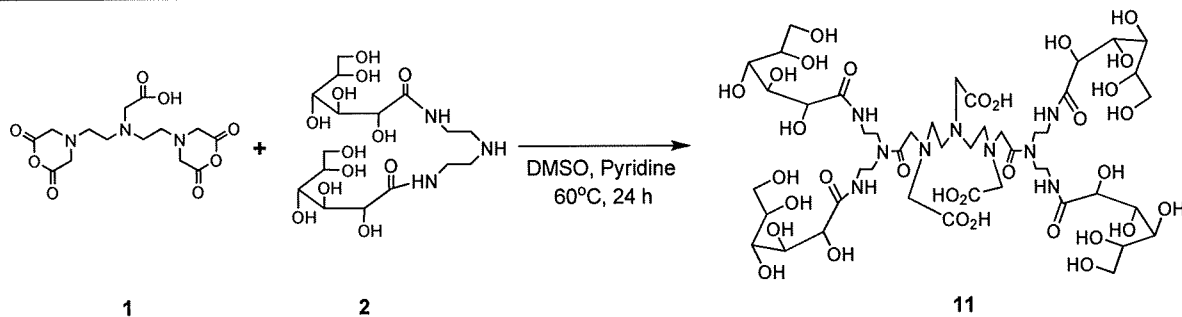


Fig. 2-6-25 化合物 10 の IR スペクトル

Fig. 2-6-23 の ¹H-NMR スペクトルより 1.97-2.13 ppm にアセチル基由来のピークを、3.00-3.84 ppm にヒドロキシル基由来のピークをそれぞれ確認し、それらのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。ここで、ヒドロキシル基由来のピークは D₂O 置換することで確認した。Fig. 2-6-24 の MS スペクトルより 1945.61 [M-3H]⁻のピークを確認した。Fig. 2-6-25 の IR スペクトルより 3440 cm⁻¹ に O-H 伸縮による吸収を示すことからヒドロキシル基の存在を、1743 cm⁻¹ に C=O 伸縮による吸収と 1226 cm⁻¹ に C-O 伸縮による吸収を示すことからエステルの存在を、1658 cm⁻¹ に C=O 伸縮による吸収と 1542 cm⁻¹ に N-H 変角による吸収を示すことからアミド基の存在をそれぞれ確認した。以上から化合物 10 の構造を同定した。

DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 11



Scheme 2-6-10 DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 11

DMSO 中、ピリジン触媒下、60°C で 2 当量の DETA-2Glc(OH) 2 に対して DTPA dianhydride 1 を 1.2 当量反応させることで DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 11 と DTPA の混合物を粗収率 97% で合成した。

※DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 11 が 1 当量に対して DTPA が 0.2 当量含まれていると仮定して粗収率を算出した。

以下に化合物 11 の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-26)、MS スペクトル (Fig. 2-6-27) のデータを示す。

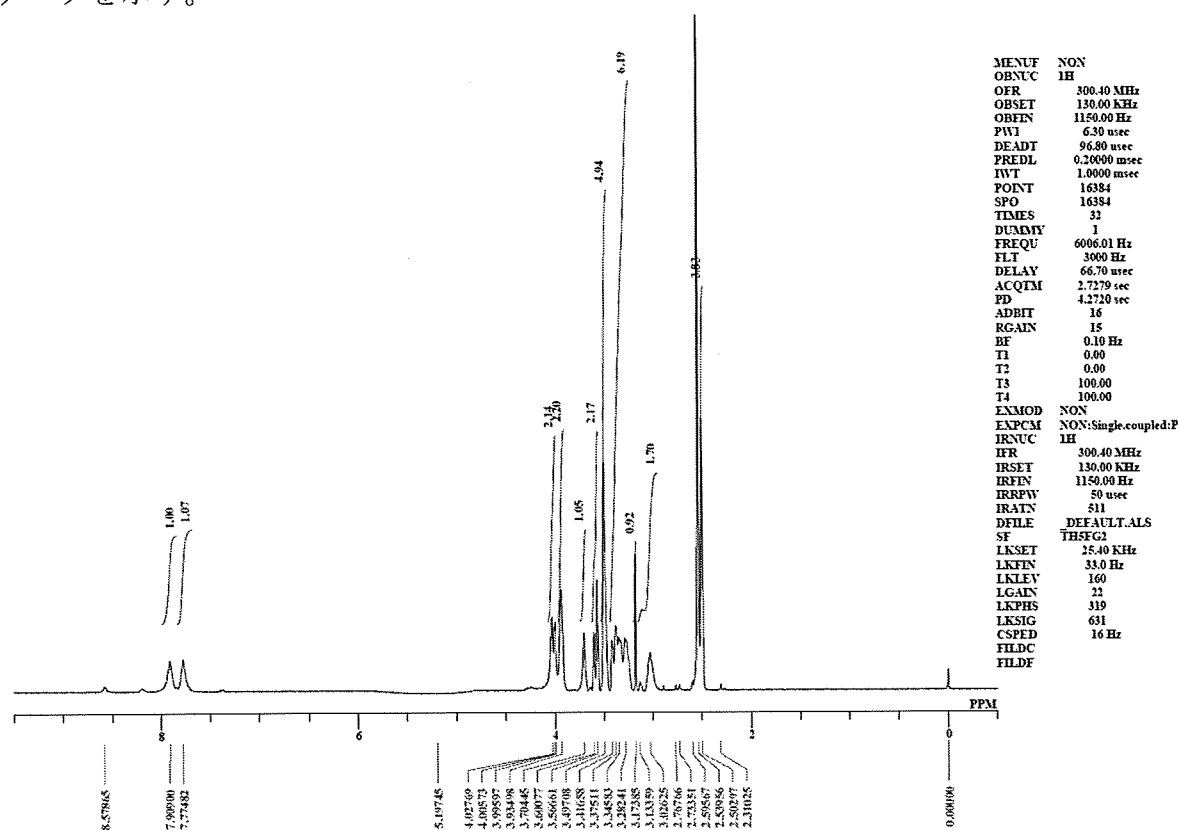
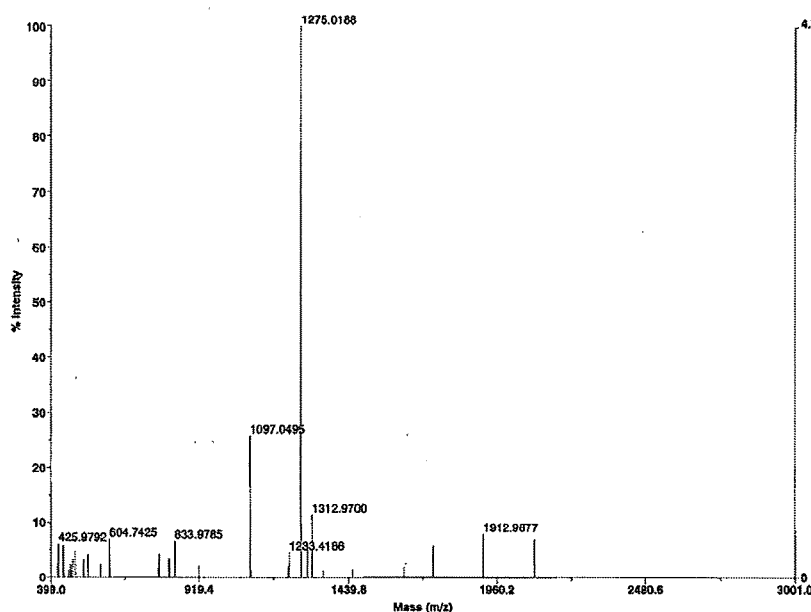


Fig. 2-6-26 化合物 11 の ¹H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 1275.0, 46843]

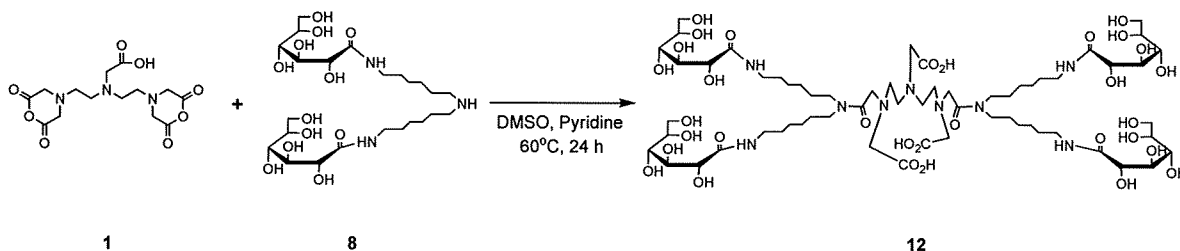


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Negative
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire Ø:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	400 - 8000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	2803
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	400 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	20.0685
Bin size:	0.5 msec
Number of data points:	65388
Vertical scale 0:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth 0:	500 MHz
Sample well:	58
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\100 well plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	37143.4
Absolute y-position:	21836
Relative x-position:	-4.11176
Relative y-position:	-71.5003
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	2.934e-067
Mirror pressure:	7.503e-068
TC2 pressure:	0.003498
TIS gate width:	7
TIS Right length:	688

Fig. 2-6-27 化合物 11 の MS スペクトル

Fig. 2-6-26 の ¹H-NMR スペクトルより 3.57-4.03 ppm にヒドロキシル基由来のピークを確認し、それらのプロトン数とメチンおよびメチレンのプロトン数を比較した。Fig. 2-6-27 の MS スペクトルより 1274.54 [M-3H]⁻のピークを確認した。以上から化合物 11 の構造を同定した。

DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) 12



Scheme 2-6-11 DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) 12

DMSO 中、ピリジン触媒下、60°C で 2 当量の HMTA-2Glc(OH) 8 に対して DTPA dianhydride 1 を 1.2 当量反応させることで DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) 12 と DTPA の混合物を粗収率 76% で合成した。

※DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) 12 が 1 当量に対して DTPA が 0.2 当量含まれていると仮定して粗収率を算出した。

以下に化合物 12 の ¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-28)、MS スペクトル (Fig. 2-6-29) のデータを示す。