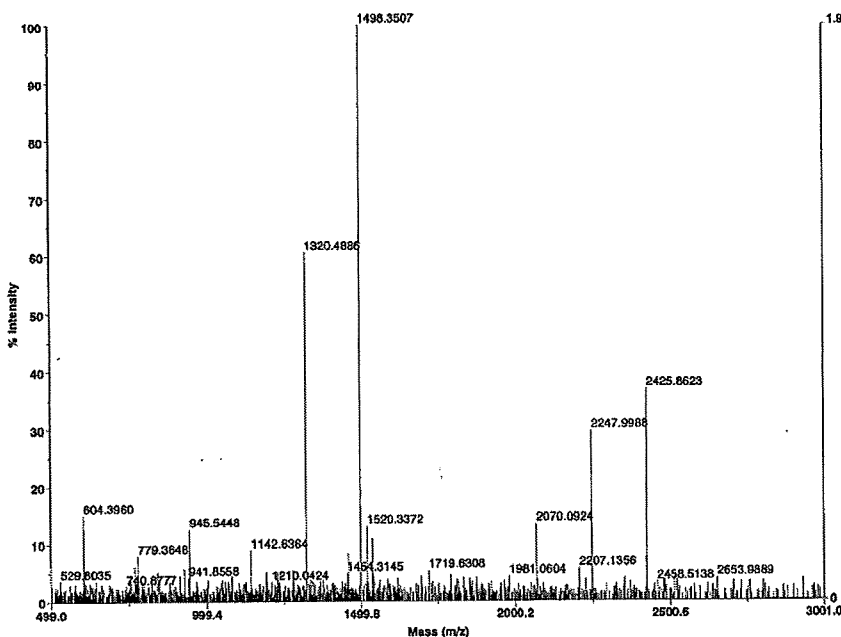


Fig. 2-6-28 化合物 12 の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)->NF0.7=>DI[BP = 1498.4, 18993]

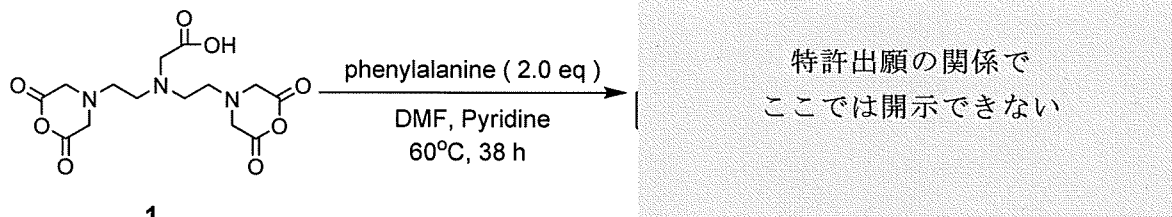


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Negative
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire D:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	500 - 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1526
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	a-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	500 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	22.4255
Bin size:	0.5 nsec
Number of data points:	64689
Vertical scale G:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth G:	500 MHz
Sample well:	85
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:	21958.8
Absolute y-position:	6381.45
Relative x-position:	51.1141
Relative y-position:	-288.048
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	3.209e-007
Mirror pressure:	6.375e-008
TC2 pressure:	0.001544
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-29 化合物 12 の MS スペクトル

Fig. 2-6-28 の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルより 2.94-3.62 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. 2-6-29 の MS スペクトルより 1498.35  $[\text{M}-3\text{H}]$  のピークを確認した。以上から化合物 **12** の構造を同定した。

### DTPA-Phenylalanine **13**



Scheme 2-6-12 DTPA-Phenylalanine **13**

DMF 中、ピリジン触媒下、60°C で DTPA dianhydride **1** に対して L-Phenylalanine を 2 当量反応させることで DTPA-Phenylalanine **13** を収率 64% で合成した。

以下に化合物 **13** の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトル (Fig. 2-6-30)、MS スペクトル (Fig. 2-6-31) のデータを示す。

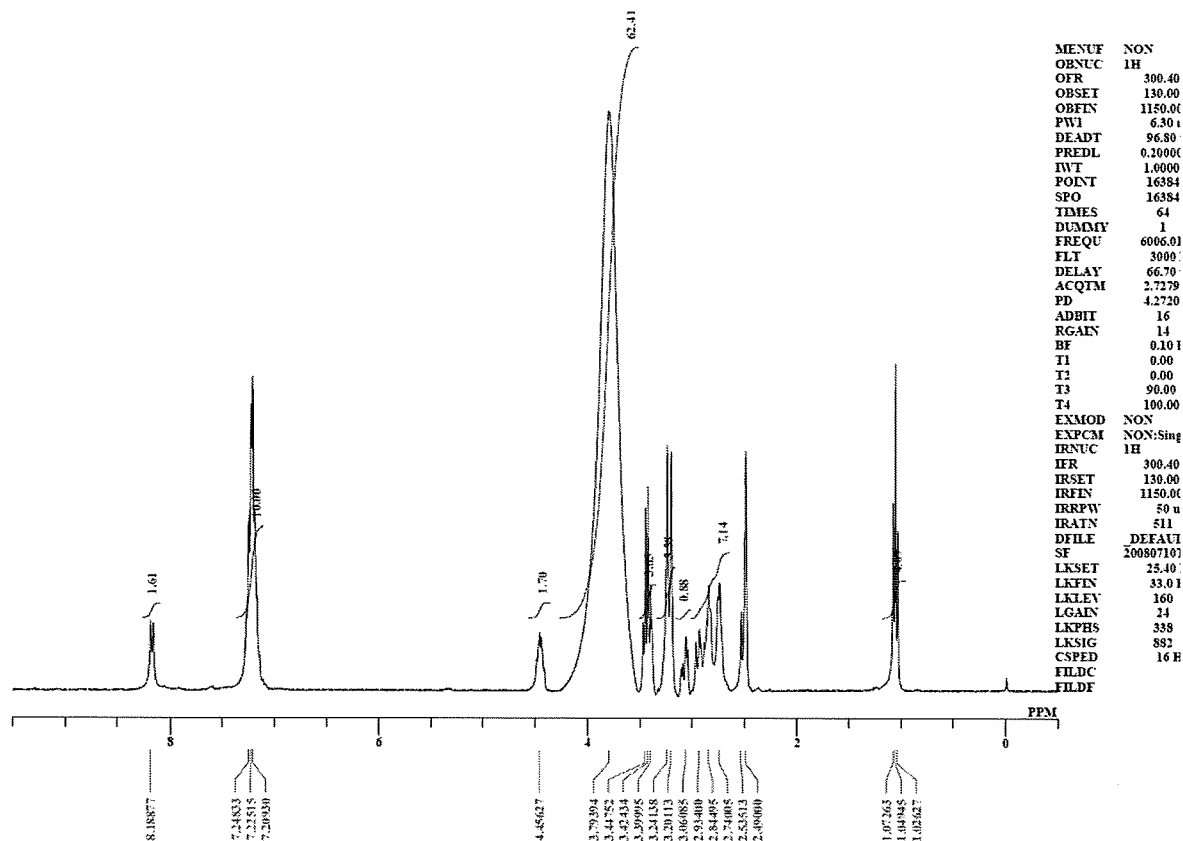
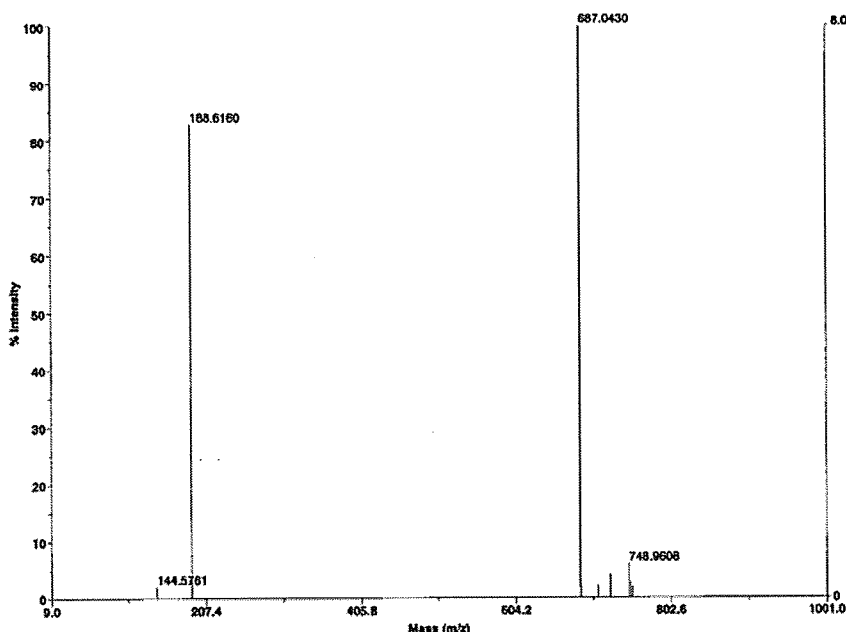


Fig. 2-6-30 化合物 **13** の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 687.0, 80184]

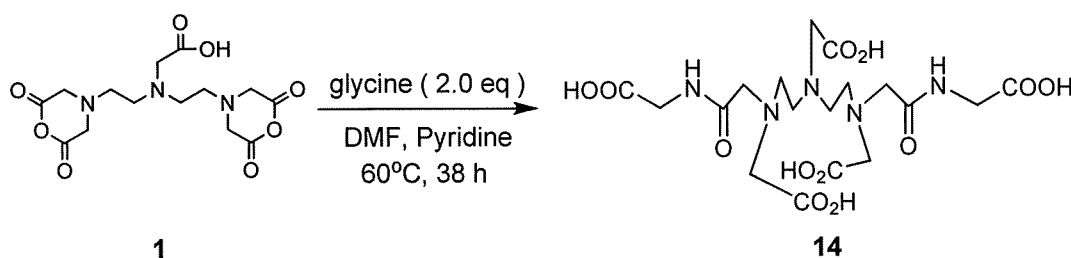


Mode of operation: Reflector  
 Extraction mode: Delayed  
 Polarity: Negative  
 Acquisition control: Manual  
 Accelerating voltage: 20000 V  
 Grid voltage: 75%  
 Mirror voltage ratio: 1.12  
 Guide wire ID: 0.0025  
 Extraction delay time: 125 nsec  
 Acquisition mass range: 10 - 1000 Da  
 Number of laser shots: 50/spectrum  
 Laser intensity: 2718  
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz  
 Calibration type: Default  
 Calibration matrix:  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid  
 Low mass gate: Off  
 Timed ion selector: Off  
 Digitizer start time: 3.271  
 Bin size: 0.5 nsec  
 Number of data points: 56788  
 Vertical scale ID: 500 mV  
 Vertical offset: 0.65%  
 Input bandwidth ID: 500 MHz  
 Sample well: 27  
 Plate ID: PLATE1  
 Serial number: 6384  
 Instrument name: Voyager-DE PRO  
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.plt  
 PE Biosystems  
 Absolute x-position: 31240.5  
 Absolute y-position: 34639.6  
 Relative x-position: -727.048  
 Relative y-position: -2507.89  
 Shots in spectrum: 60  
 Source pressure: 2.282e-007  
 Mirror pressure: 8.048e-008  
 TIC2 pressure: 0.003695  
 TIS gate width: 7  
 TIS flight length: 688

Fig. 2-6-31 化合物 13 の MS スペクトル

Fig. 2-6-30 の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルより 7.21-7.25 ppm にフェニ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. 2-6-31 の MS スペクトルより 687.04 [M-H]<sup>-</sup>のピークを確認した。以上から化合物 13 の構造を同定した。

DTPA-Glycine 14



Scheme 2-6-13 DTPA-Glycine 14

DMF 中、ピリジン触媒下、60°C で DTPA dianhydride 1 に対して L-Glycine を 2 当量反応させることで DTPA-Glycine 14 を収率 80% で合成した。

以下に化合物 14 の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトル (Fig. 2-6-32)、MS スペクトル (Fig. 2-6-33) のデータを示す。

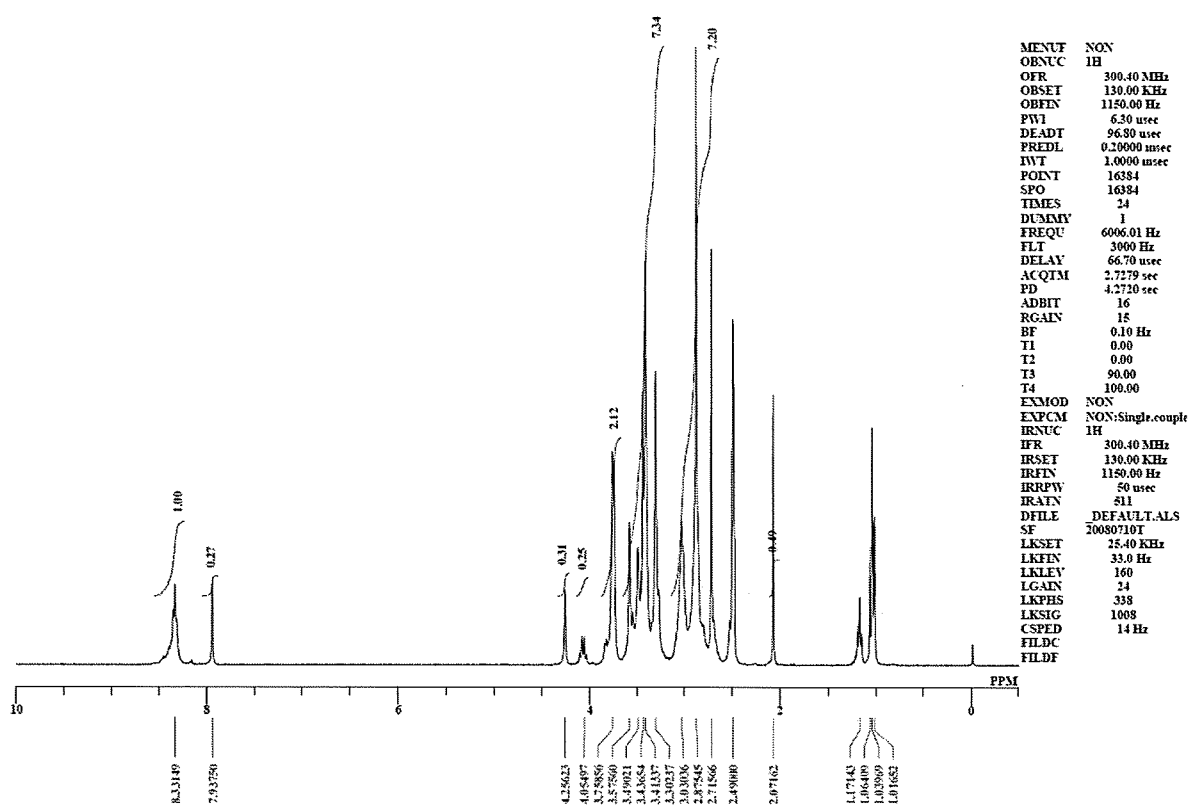
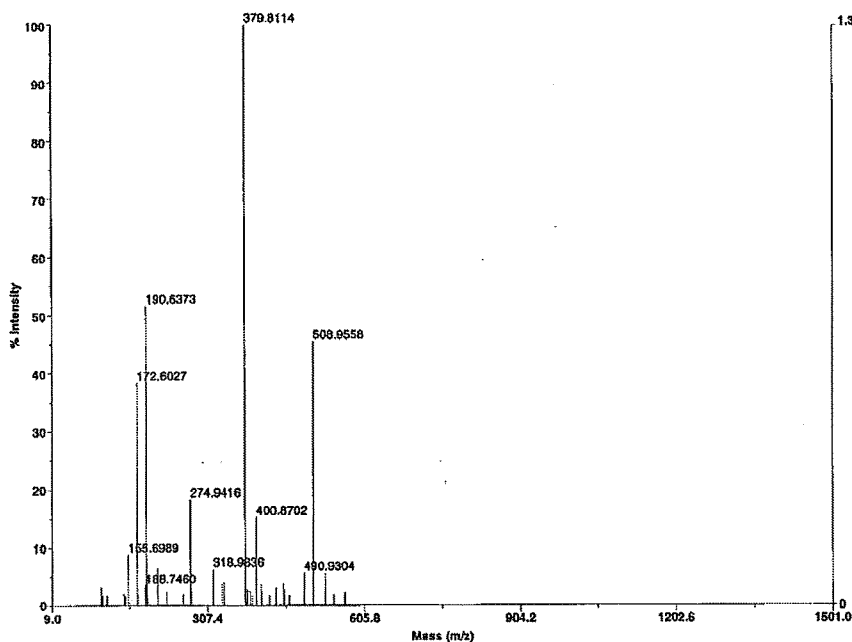


Fig. 2-6-32 化合物 14 の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>D[BP = 379.8, 12733]

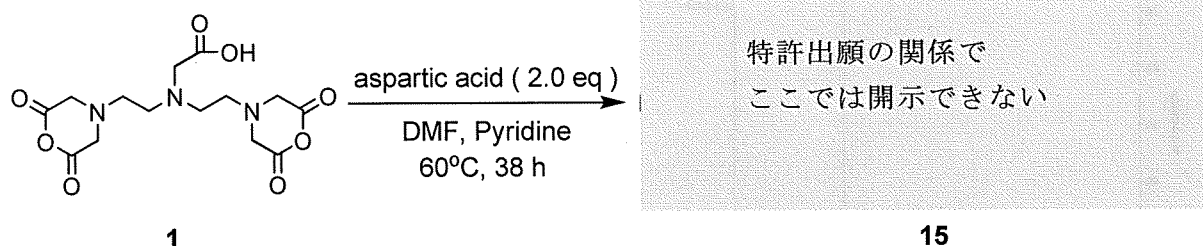


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Positive
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	22000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire D:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	10 - 1500 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	2516
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	n-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	Off
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	3.271
Bin size:	0.5 nsec
Number of data points:	70961
Vertical scale G:	500 mV
Vertical offset:	0.85%
Input bandwidth D:	500 MHz
Sample well:	48
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\00 well plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	36507.1
Absolute y-position:	26777.4
Relative x-position:	-840.351
Relative y-position:	-190.115
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	4.232e-007
Mirror pressure:	1.208e-007
TC2 pressure:	0.006501
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-33 化合物 14 の MS スペクトル

Fig. 2-6-32の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルより8.33 ppmにアミド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. 2-6-33のMSスペクトルより508.96 [M-H]<sup>-</sup>のピークを確認した。以上から化合物 **14** の構造を同定した。

### DTPA-Aspartic acid **15**



Scheme 2-6-14 DTPA-Aspartic acid **15**

DMF中、ピリジン触媒下、60°CでDTPA dianhydride **1**に対してL-Aspartic acidを2当量反応させることでDTPA-Aspartic acid **15**を収率66%で合成した。

以下に化合物 **15**の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル (Fig. 2-6-34)、MSスペクトル (Fig. 2-6-35)のデータを示す。

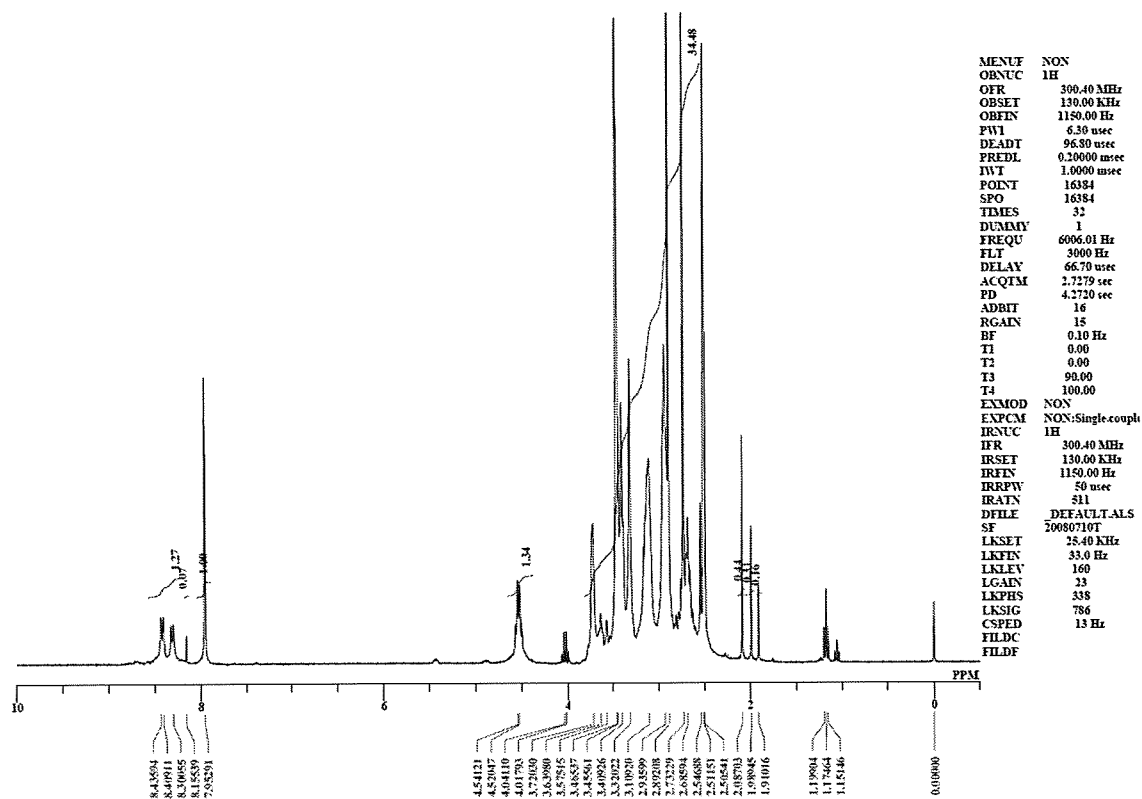
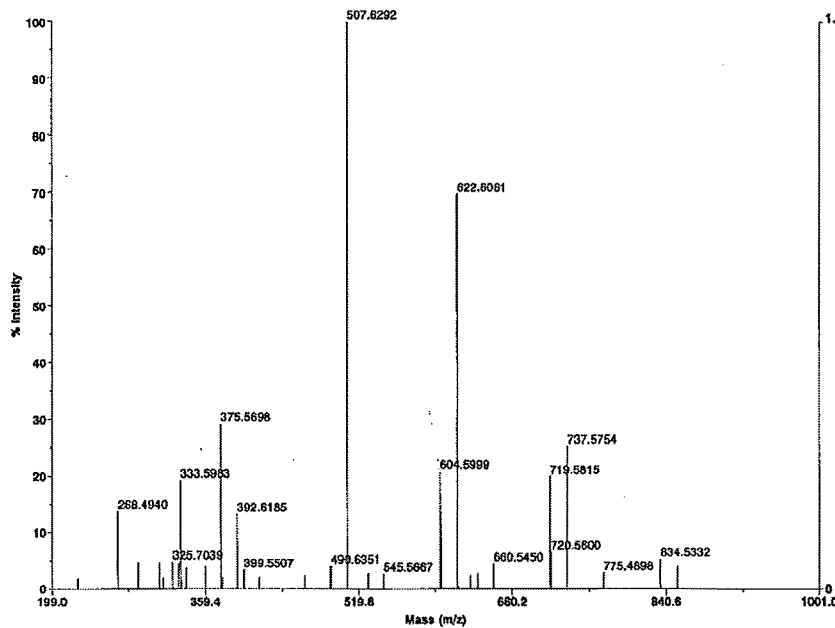


Fig. 2-6-34 化合物 **15**の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0,5,0,1)=>NF0.7=>DI[BP = 507.6, 128631]

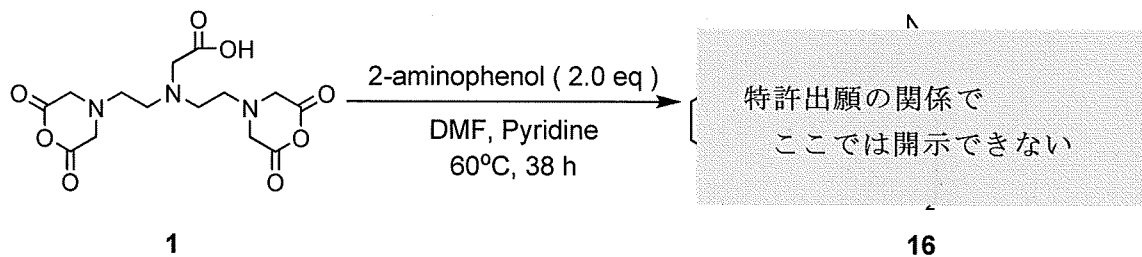


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Negative
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire D:	0.032%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	200 -- 1000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1412
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	200 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	14.224
Bin size:	0.5 msec
Number of data points:	34890
Vertical scale 0:	500 mV
Vertical offset:	0.55%
Input bandwidth 0:	500 MHz
Sample well:	69
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\100 wall plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	42254.1
Absolute y-position:	17080.3
Relative x-position:	26.6001
Relative y-position:	232.823
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	1.281e-007
Mirror pressure:	4.516e-008
TC2 pressure:	0.001
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-35 化合物 15 の MS スペクトル

Fig. 2-6-34 の <sup>1</sup>H-NMR スペクトルより 7.95 ppm にアミド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. 2-6-35 の MS スペクトルより 622.61 [M-H] のピークを確認した。以上から化合物 15 の構造を同定した。

DTPA-2-Aminophenol 16



Scheme 2-6-15 DTPA-Aminophenol 16

DMF 中、ピリジン触媒下、60°C で DTPA dianhydride 1 に対して 2-Aminophenol を 2 当量反応させることで DTPA-2-Aminophenol 16 を収率 73% で合成した。

以下に化合物 16 の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル (Fig. 2-6-36)、MS スペクトル (Fig. 2-6-37) のデータを示す。

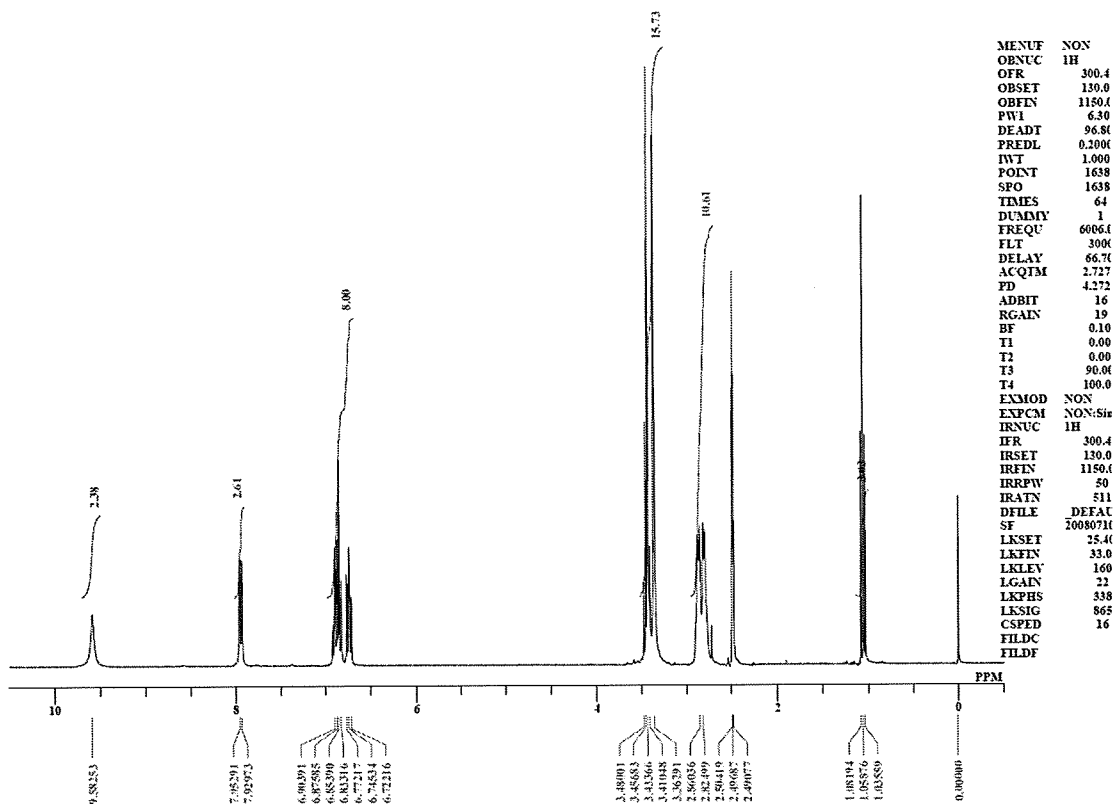


Fig. 2-6-36 化合物 16 の <sup>1</sup>H-NMR スペクトル

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 188.6, 233392]

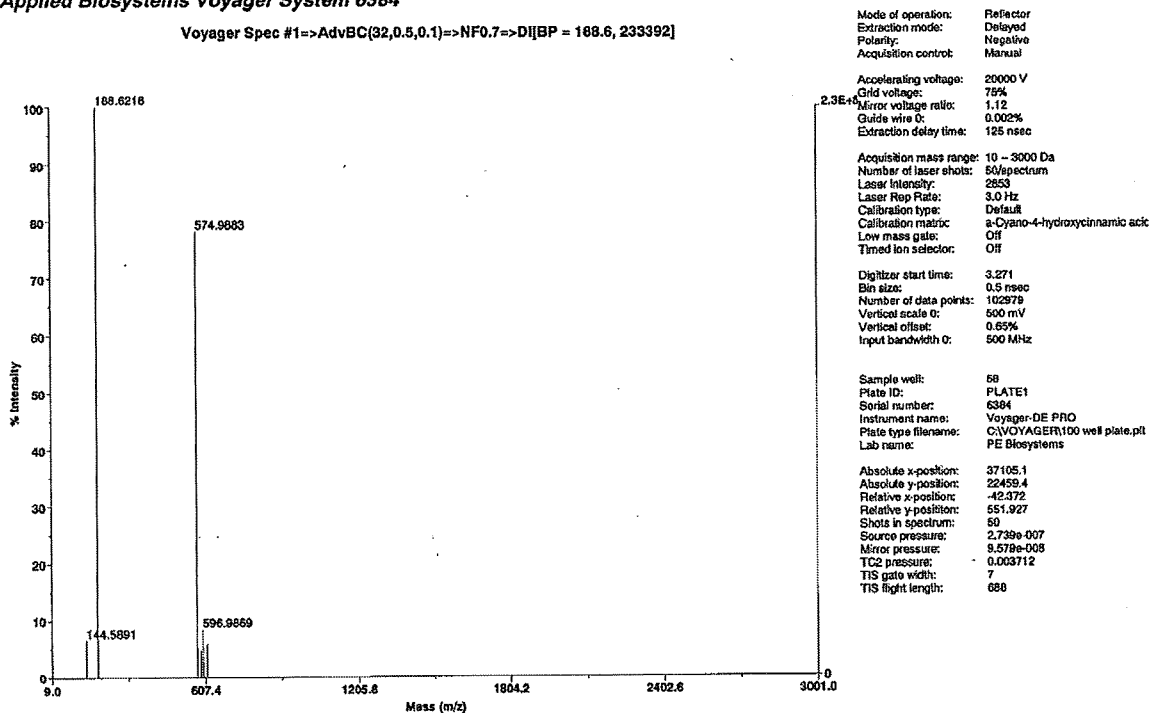


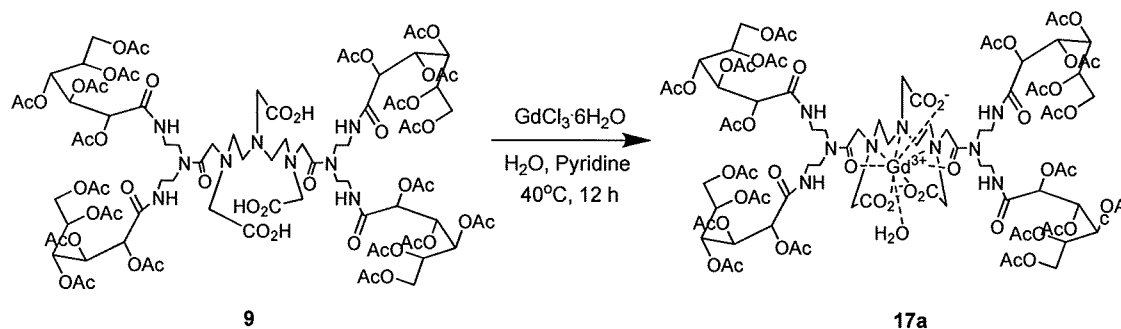
Fig. 2-6-37 化合物 16 の MS スペクトル

Fig. 2-6-36 の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルより 7.93-7.95 ppm にフェニ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. 2-6-37 の MS スペクトルより 574.99  $[\text{M-H}]^-$  のピークを確認した。以上から化合物 **16** の構造を同定した。

#### 2-6-2-4 Gd 錯体の合成

2-6-2-3 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) 六水和物を主に用いたが、化合物 **17** および **19** においてはガドリニウム源として酸化ガドリニウムも用いた。化合物 **17** および **19** の構造解析および *In-vitro* 評価の比較を行なうことでガドリニウム源の違いが及ぼす影響を検討した。以下に各反応の詳細について述べる。

#### Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) **17a**

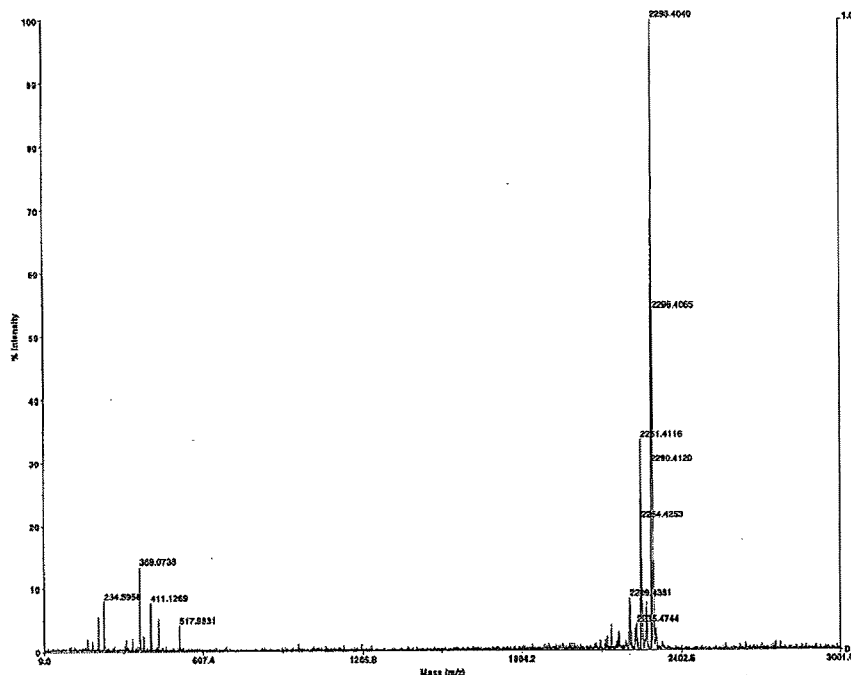


Scheme 2-6-16 Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) **17a**

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、 $40^\circ\text{C}$  で DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) **9** 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-DETA-D2-4Glc(OAc) **17a** を収率 93% で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex<sup>®</sup>100 Resin を用いて除去した。化合物 **17a** は再結晶 (2-propanol) による単離精製を行なった。

以下に化合物 **17a** の MS スペクトル (Fig. 2-6-38) のデータを示す。



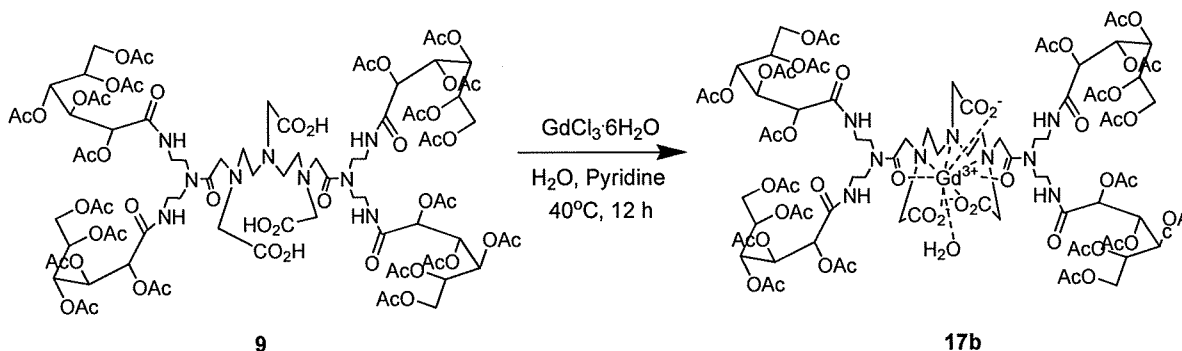


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Positive
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire O:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	10 - 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1376
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:	3.2715
Bin size:	0.5 nsec
Number of data points:	102984
Vertical scale O:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth O:	500 MHz
Sample well:	76
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:	22222.1
Absolute y-position:	11850.6
Relative x-position:	314.576
Relative y-position:	103.068
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	7.035e-007
Mirror pressure:	1.021e-007
TC2 pressure:	0.004056
TIS gate width:	7
TIS light length:	688

Fig. 2-6-38 化合物 17a の MS スペクトル

Fig.2-6-38 の MS スペクトルより 2293.40  $[M+Na]^+$  のピークを確認した。以上から化合物 17a の構造を同定した。

## Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) 17b

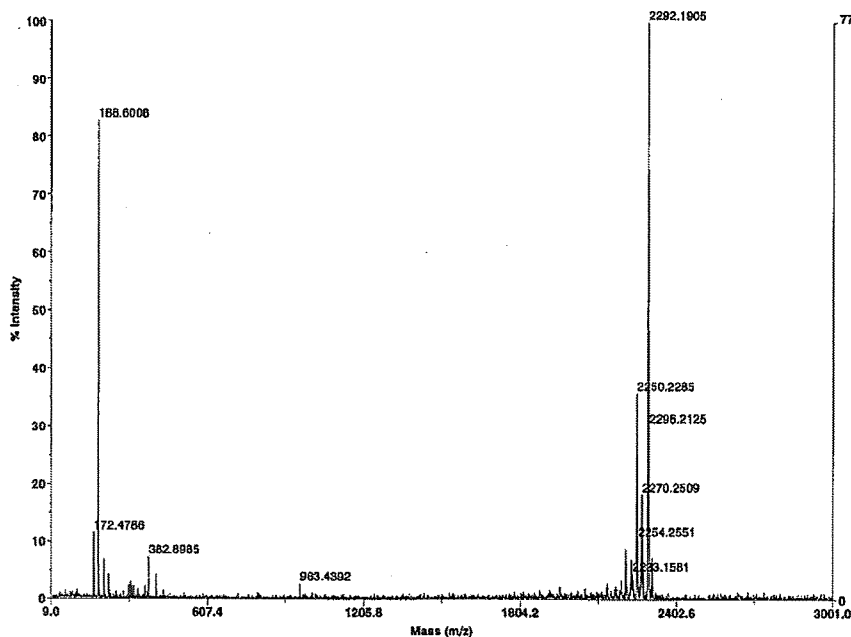


Scheme 2-6-17 Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) 17b

酸化ガドリニウムをガドリニウム源とし、水中、40°C で DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc) 9 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-DETA-D2-4Glc(OAc) 17b を収率 88% 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。化合物 17b は再結晶 (2-propanol) による単離精製を行なった。以下に化合物 17b の MS スペクトル (Fig. 2-6-39) のデータを示す。

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7[BP = 2292.2, 7732]



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: 10 -- 3000 Da  
 Number of laser shots: 50/spectrum  
 Laser intensity: 1426  
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz  
 Calibration type: Default  
 Calibration matrix: 3-Cyano-4-hydroxycinnamic acid  
 Low mass gate: Off  
 Timed ion selector: Off

Digitizer start time: 3.2716  
 Bin size: 0.5 nsec  
 Number of data points: 102984  
 Vertical scale O: 500 mV  
 Vertical offset: 0.65%  
 Input bandwidth O: 500 MHz

Sample well: 06  
 Plate ID: PLATE1  
 Serial number: 6384  
 Instrument name: Voyager-DE PRO  
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.plt  
 Lab name: PE Biosysteme

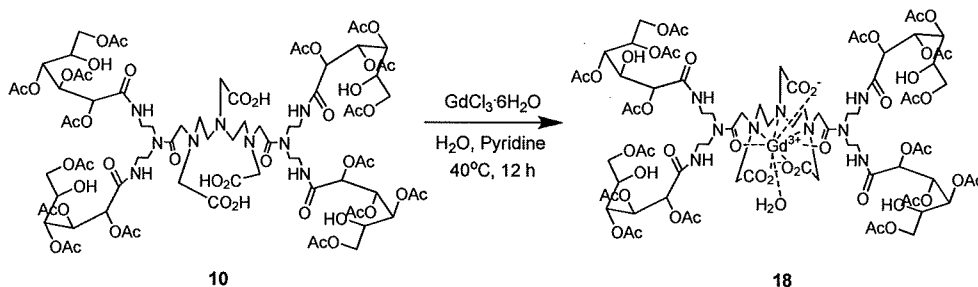
Absolute x-position: 2786.7  
 Absolute y-position: 1164.21  
 Relative x-position: 995.235  
 Relative y-position: -423.233  
 Shots in spectrum: 50  
 Source pressure: 5.238e-007  
 Mirror pressure: 8.024e-008  
 TC2 pressure: 0.002669  
 TIS gate width: 7  
 TIS flight length: 668

Fig. 2-6-39 化合物 17b の MS スペクトル

Fig. 2-6-39 の MS スペクトルより 2292.19  $[M+Na]^+$  のピークを確認した。以上から化合物 17b の構造を同定した。

化合物 17a および 17b の MS スペクトル (Fig. 2-6-38 および Fig. 2-6-39) より共に 2292  $[M+Na]^+$  のピークを確認した。以上の結果からガドリニウム源の違いが Gd 錯体形成においてその分子構造へ及ぼす影響は見られなかった。

Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) 18



Scheme 2-6-18 Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) 18

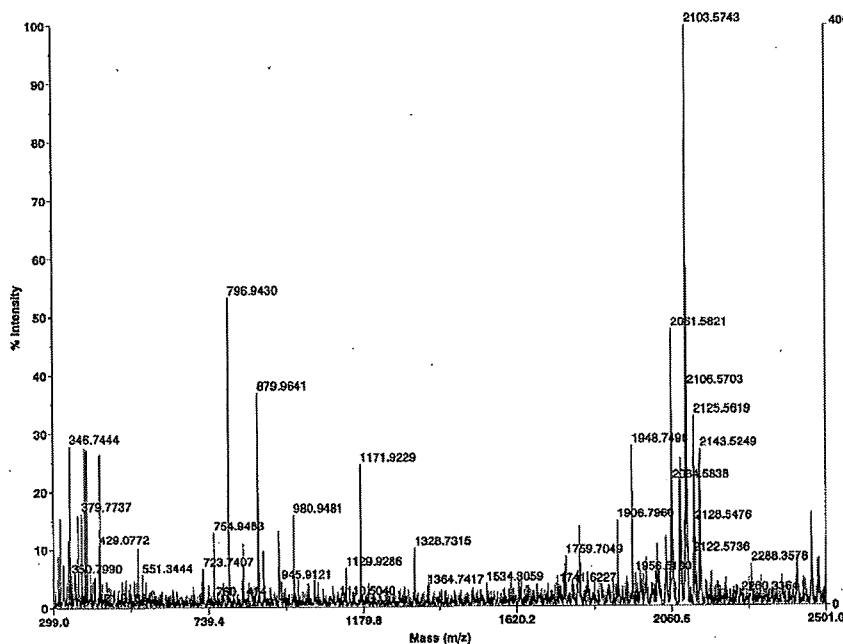
塩化ガドリニウム (III) 六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、40°C で DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) 10 に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH) 18 を収率 82% で合成した。錯体を

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。化合物 **18** は再結晶 (2-propanol) による単離精製を行なった。

以下に化合物 **18** の MS スペクトル (Fig. 2-6-40) のデータを示す。

**Applied Biosystems Voyager System 6384**

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7[BP = 2103.6, 4068]

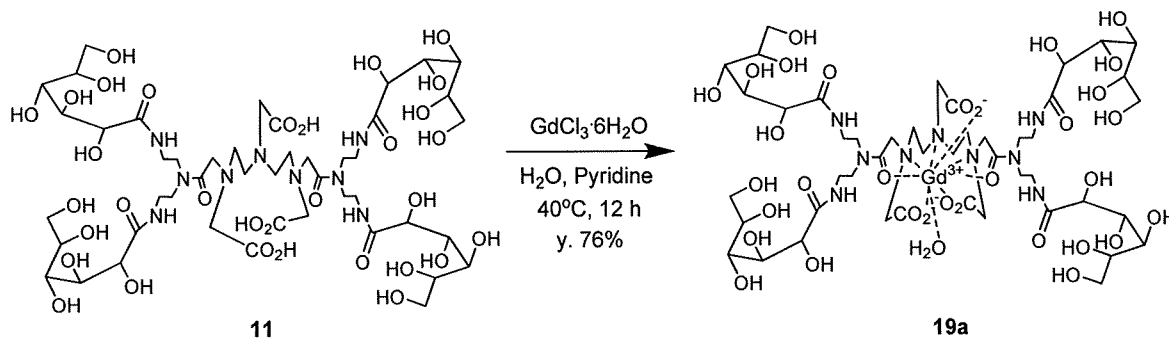


Mode of operation: Reflector  
 Extraction mode: Delayed  
 Polarity: Positive  
 Acquisition control: Manual  
 Accelerating voltage: 20000 V  
 4068.2 Grid voltage: 75%  
 Mirror voltage ratio: 1.12  
 Guide wire O: 0.002%  
 Extraction delay time: 125 nsec  
 Acquisition mass range: 300 - 2500 Da  
 Number of laser shots: 50/spectrum  
 Laser intensity: 2046  
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz  
 Calibration type: Default  
 Calibration matrix:  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid  
 Low mass gate: 300 Da  
 Timed ion selector: Off  
 Digitizer start time: 17.3915  
 Bin size: 0.5 nsec  
 Number of data points: 65208  
 Vertical scale G: 500 mV  
 Vertical offset: 0.65%  
 Input bandwidth G: 500 MHz  
 Sample well: 17  
 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: 32391.7  
 Absolute y-position: 42757.5  
 Relative x-position: 324.247  
 Relative y-position: 529.983  
 Shots in spectrum: 50  
 Source pressure: 2.949e-007  
 Mirror pressure: 9.219e-009  
 TC2 pressure: 0.004039  
 TIS gate width: 7  
 TIS flight length: 688

Fig. 2-6-40 化合物 **18** の MS スペクトル

Fig. 2-6-40 の MS スペクトルより 2103.57 [M+Na]<sup>+</sup> のピークを確認した。以上から化合物 **18** の構造を同定した。

**Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 19a**



Scheme 2-6-19 Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **19a**

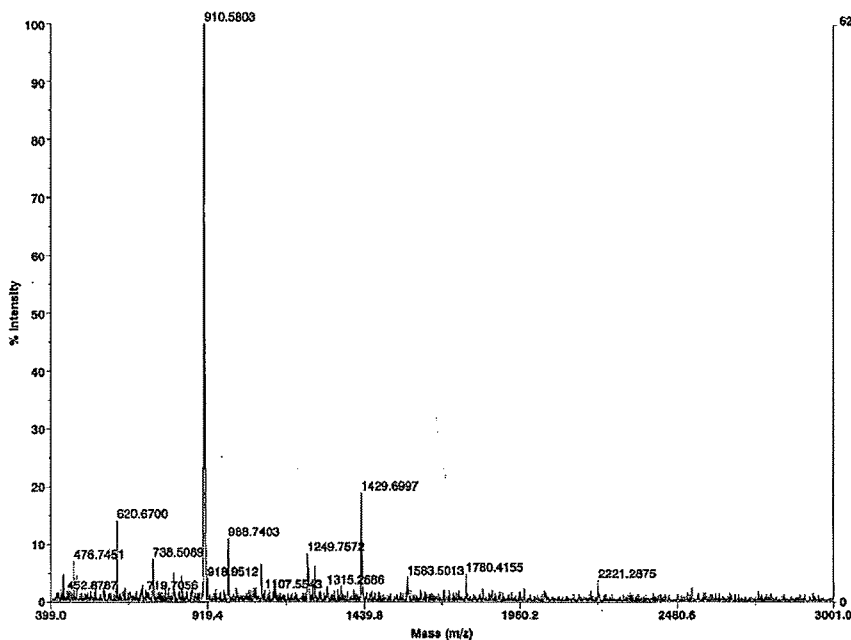
塩化ガドリニウム (III) 六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、40°C で DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **11** と DTPA の混合物に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **19a** を収率 97% で合成した。メ

メタノールによる洗浄を3回行なうことで副生成物であるピリジン塩およびGd-DTPAを除去した。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 **19a** の MS スペクトル (Fig. 2-6-41) のデータを示す。

**Applied Biosystems Voyager System 6384**

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)>>NF0.7[BP = 910.6, 6218]

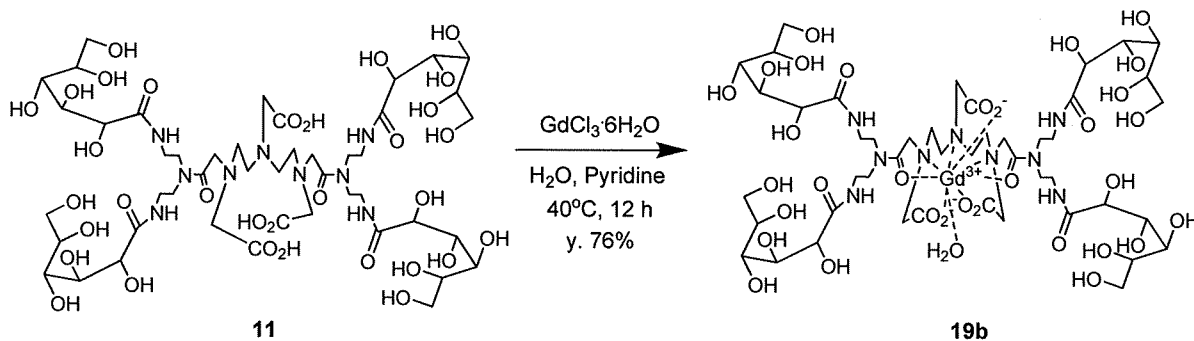


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Negative
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Minor voltage ratio:	1.12
Guide wire O:	0.002%
Extraction delay (lms):	125 nsec
Acquisition mass range:	400 -- 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	2611
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:	20.0965
Bin size:	0.5 nsec
Number of data points:	69388
Vertical scale O:	500 mV
Vertical offset:	0.63%
Input bandwidth O:	500 MHz
Sample well:	39
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\100 well plate.pt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	42200.8
Absolute y-position:	32202
Relative x-position:	-26.7244
Relative y-position:	134.531
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	3.105e-007
Minor pressure:	8.934e-008
TC2 pressure:	0.003082
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-41 化合物 **19a** の MS スペクトル

Fig. 2-6-41 の MS スペクトルより 1429.70 [M-H]<sup>-</sup> のピークを確認した。以上から化合物 **19a** の構造を同定した。

**Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) 19b**



Scheme 2-6-20 Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **19b**

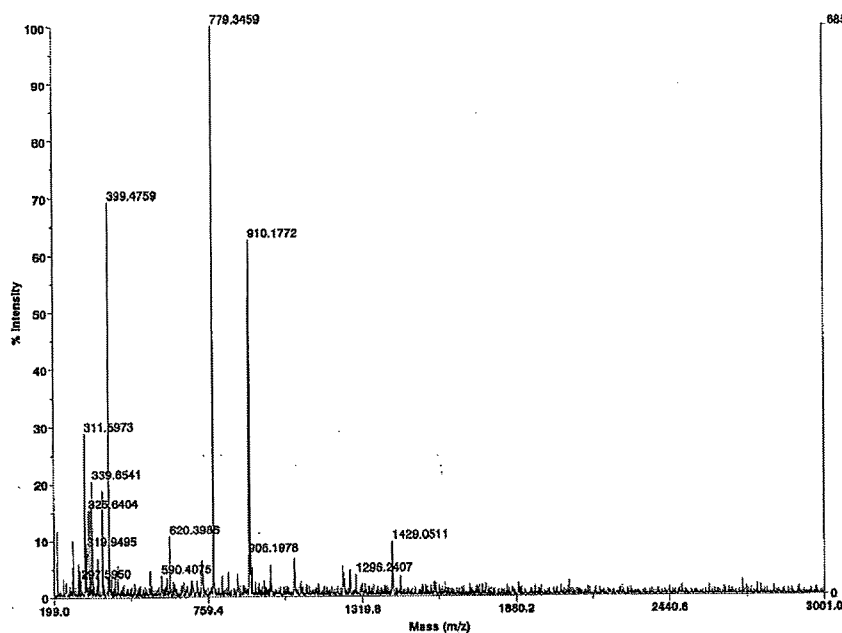
酸化ガドリニウムをガドリニウム源とし、水中、40°C で DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **11** と DTPA の混合物に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH) **19b** を収率 73% で合成した。メタノールによる洗浄を 3

回行なうことで副生成物である Gd-DTPA を除去した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex<sup>®</sup>100 Resin を用いて除去した。

以下に化合物 **19b** の MS スペクトル (Fig. 2-6-42) のデータを示す。

**Applied Biosystems Voyager System 6384**

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0,5,0,1)=>NF0.7[BP = 779.3, 6853]



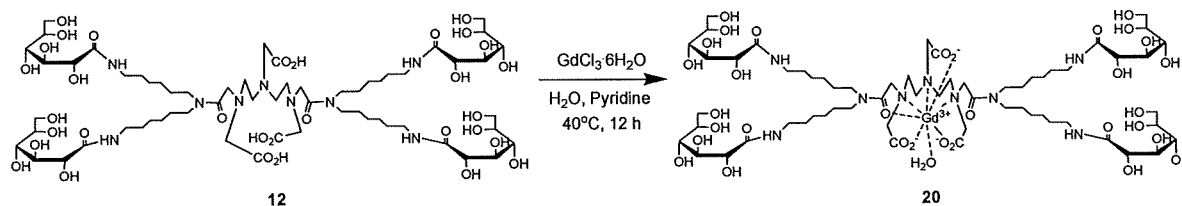
Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Negative
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire C:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	200 -- 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	1462
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	a-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	200 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	14.224
Bin size:	0.5 msec
Number of data points:	61069
Vertical scale C:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth C:	500 MHz
Sample well:	79
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6384
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\1100 well plate.pt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	41810.6
Absolute y-position:	11182.8
Relative x-position:	-316.985
Relative y-position:	-586.65
Shots in spectrum:	60
Source pressure:	1.327e-007
Mirror pressure:	4.616e-008
TCD pressure:	0.001
TIS gate width:	7
TIS flight length:	688

Fig. 2-6-42 化合物 **19b** の MS スペクトル

Fig. 2-6-42 の MS スペクトルより 1429.05 [M-H]<sup>-</sup> のピークを確認した。以上から化合物 **19b** の構造を同定した。

化合物 **19a** および **19b** の MS スペクトル (Fig. 2-6-41 および Fig. 2-6-42) より共に 1429 [M-H]<sup>-</sup> のピークを確認した。以上の結果からガドリニウム源の違いが Gd 錯体形成においてその分子構造へ及ぼす影響は見られなかった。

**Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) 20**



Scheme 2-6-21 Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) **20**

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°C で DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) **12** と DTPA の混合物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-D2-4Glc(OH) **20** を収率 49%で合成した。メタノールによる洗浄を 3 回行なうことで副生成物であるピリジン塩および Gd-DTPA を除去した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex<sup>®</sup>100 Resin を用いて除去した。以下に化合物 **20** の MS スペクトル (Fig. 2-6-43) のデータを示す。

**Applied Biosystems Voyager System 6384**

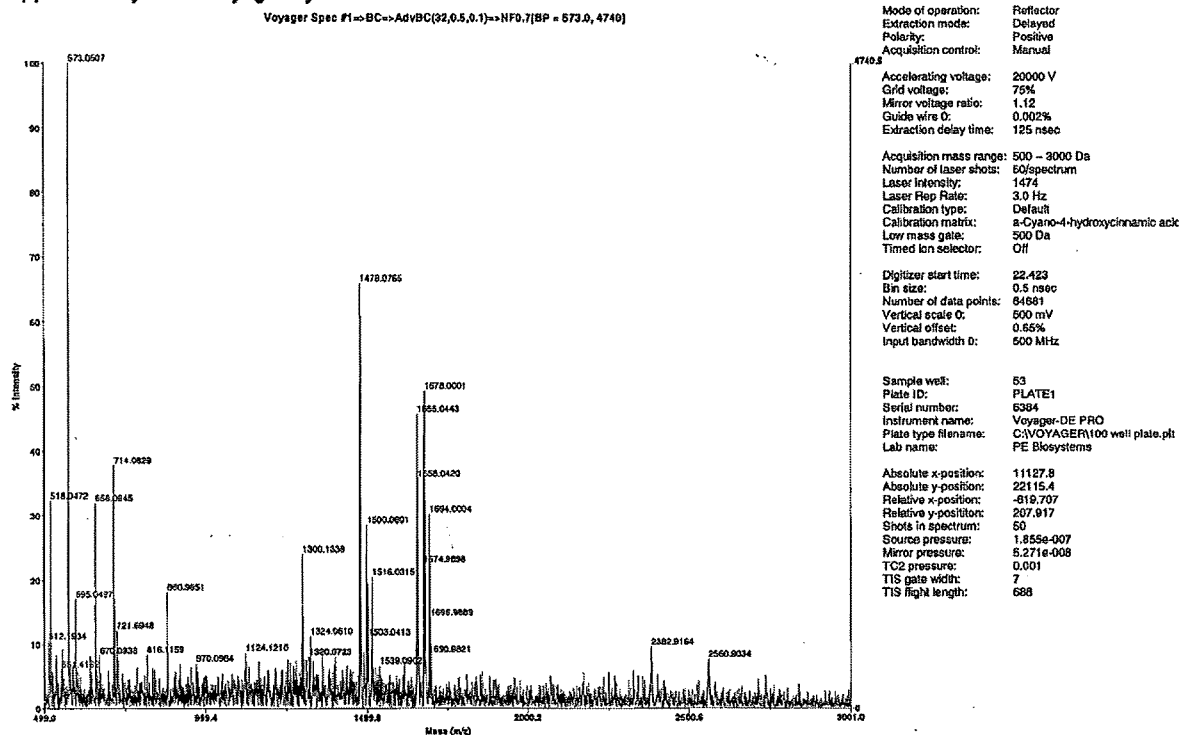
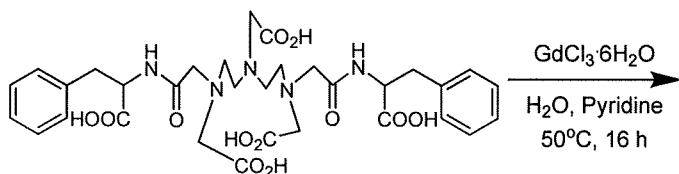


Fig. 2-6-43 化合物 **20** の MS スペクトル

Fig. 2-6-43 の MS スペクトルより 1655.04 [M-H]<sup>-</sup>のピークを確認した。以上から化合物 **20** の構造を同定した。

**Gd-DTPA-Phenylalanine 21**



**13**

**21**

特許出願の関係で  
 ここでは開示できない

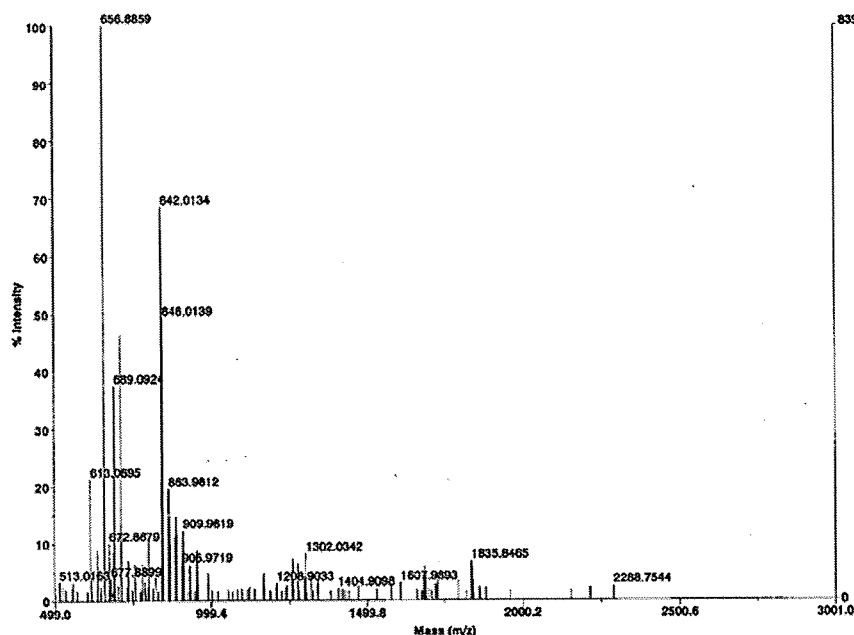
Scheme 2-6-22 Gd-DTPA-Phenylalanine **21**

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、50°C で DTPA- Phenylalanine **13** 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-Phenylalanine **21** を収率 92%で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex<sup>®</sup>100 Resin を用いて除去した。

以下に化合物 **21** の MS スペクトル (Fig. 2-6-44) のデータを示す。

**Applied Biosystems Voyager System 6384**

Voyager Spec #1=>AdvBC(32,0.5,0.1)=>NF0.7=>DI[BP = 656.9, 8399]

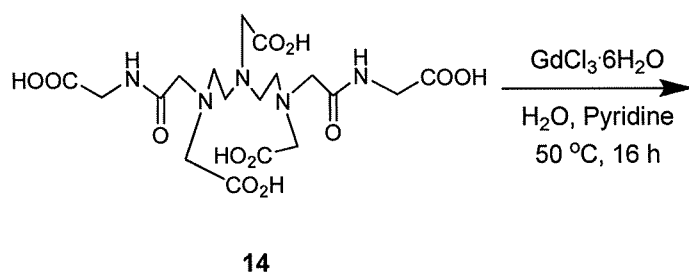


Mode of operation:	Reflector
Extraction mode:	Delayed
Polarity:	Positive
Acquisition control:	Manual
Accelerating voltage:	20000 V
Grid voltage:	75%
Mirror voltage ratio:	1.12
Guide wire 0:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	500 - 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	2647
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	500 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	32.42
Bin size:	0.5 msec
Number of data points:	64671
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:	C:\VOYAGER\100 well plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	33239.4
Absolute y-position:	37648.5
Relative x-position:	1171.9
Relative y-position:	388.965
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	4.219e-007
Mirror pressure:	1.412e-007
TCZ pressure:	0.005484
TIS gate width:	7
TIS Egate length:	688

Fig. 2-6-44 化合物 **21** の MS スペクトル

Fig. 2-6-44 の MS スペクトルより 842.01 [M+H]<sup>+</sup> のピークを確認した。以上から化合物 **21** の構造を同定した。

**Gd-DTPA-Glycine 22**



特許出願の関係で  
ここでは開示できない

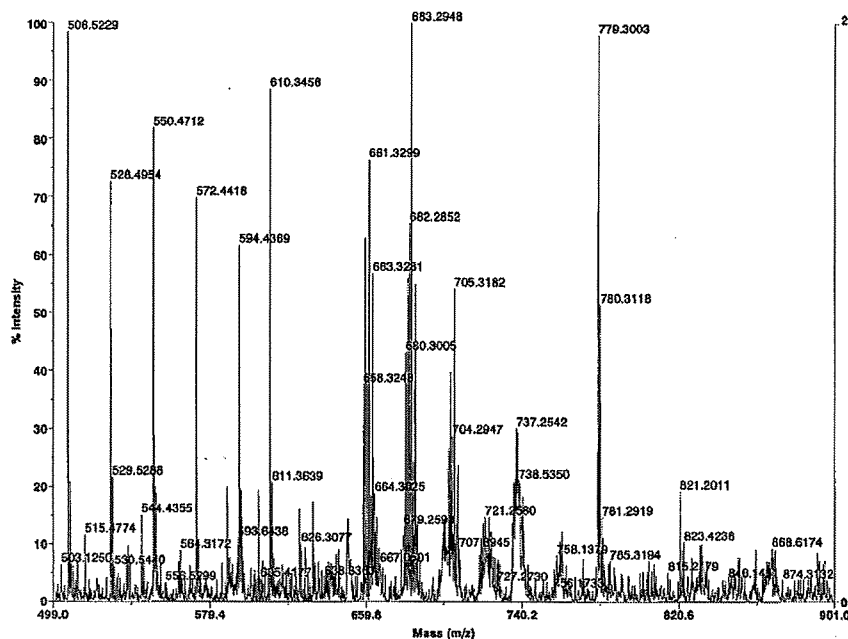
Scheme 2-6-23 Gd-DTPA-Glycine **22**

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、50°C で DTPA- Glycine **14** 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-Glycine **22** を収率 94% で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex<sup>®</sup>100 Resin を用いて除去した。

以下に化合物 **22** の MS スペクトル (Fig. 2-6-45) のデータを示す。

Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1=>BC=>AdvBC(32,0.5,0.1)>NF0.7[BP = 663.3, 2937]

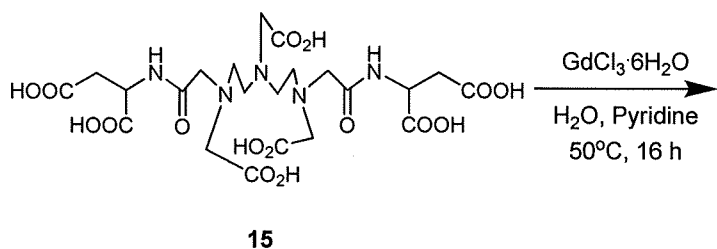


Mode of operation: Reflector  
 Extraction mode: Delayed  
 Polarity: Negative  
 Acquisition control: Manual  
 Accelerating voltage: 20000 V  
 Grid voltage: 75%  
 Mirror voltage ratio: 1.12  
 Guide wire 0: 0.002%  
 Extraction delay time: 125 nsec  
 Acquisition mass range: 500 - 900 Da  
 Number of laser shots: 50/spectrum  
 Laser intensity: 1412  
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz  
 Calibration type: Default  
 Calibration matrix:  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid  
 Low mass gate: 500 Da  
 Timed ion selector: Off  
 Digitizer start time: 22.4255  
 Bin size: 0.5 nsec  
 Number of data points: 18248  
 Vertical scale 0: 500 mV  
 Vertical offset: 0.65%  
 Input bandwidth 0: 500 MHz  
 Sample well: 70  
 Plate ID: PLATE1  
 Serial number: 6384  
 Instrument name: Voyager-DE PRO  
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.pit  
 Lab name: PE Biosystems  
 Absolute x-position: 4660.11  
 Absolute y-position: 16732.4  
 Relative x-position: -706.37  
 Relative y-position: -85.009  
 Shots in spectrum: 50  
 Source pressure: 1.534e-007  
 Mirror pressure: 4.65e-008  
 TIC2 pressure: 0.001  
 TIS gate width: 7  
 TIS light length: 688

Fig. 2-6-45 化合物 22 の MS スペクトル

Fig. 2-6-45 の MS スペクトルより 661.92 [M-H]<sup>-</sup> のピークを確認した。以上から化合物 22 の構造を同定した。

Gd-DTPA-Aspartic acid 23



特許出願の関係で  
 ここでは開示できない

Scheme 2-6-24 Gd-DTPA-Aspartic acid 23

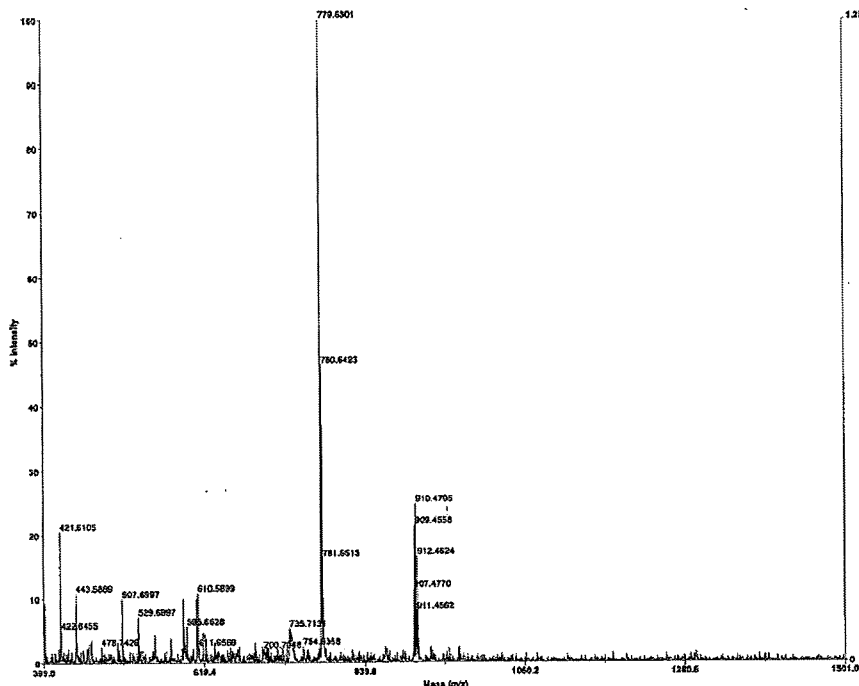
塩化ガドリニウム (III) 六水和物をガドリニウム源とし、水中、ピリジン触媒下、50°C で DTPA- Aspartic acid 15 に対してガドリニウムを 1.2 当量反応させることで Gd-DTPA-Aspartic acid 23 を収率 95% で合成した。錯体を形成していないガドリニウムは Chelex®100 Resin を用いて除去した。

以下に化合物 23 の MS スペクトル (Fig. 2-6-46) のデータを示す。



Applied Biosystems Voyager System 6384

Voyager Spec #1->B-C->AdvBC(32,0.5,0.1)->HF0.7[BP = 779.6, 12360]

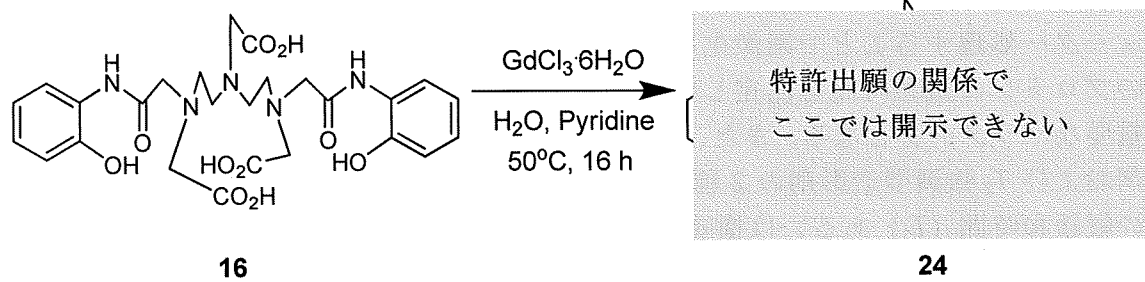


Mode of operation: Reflector  
 Extraction mode: Delayed  
 Polarity: Negative  
 Acquisition control: Manual  
 Accelerating voltage: 20000 V  
 Grid voltage: 75%  
 Mirror voltage ratio: 1.12  
 Guide wire C: 0.002%  
 Extraction delay time: 125 nsec  
 Acquisition mass range: 400 -- 1500 Da  
 Number of laser shots: 50/spectrum  
 Laser intensity: 1364  
 Laser Rep Rate: 3.0 Hz  
 Calibration type: Default  
 Calibration matrix: a-Cyano-4-hydroxycinnamic acid  
 Low mass gate: 400 Da  
 Timed ion selector: Off  
 Digitizer start time: 20.0695  
 Bin size: 0.5 msec  
 Number of data points: 37363  
 Vertical scale C: 500 mV  
 Vertical offset: 0.85%  
 Input bandwidth C: 500 MHz  
 Sample well: 75  
 Plate ID: PLATE1  
 Serial number: 6384  
 Instrument name: Voyager-DE PRO  
 Plate type filename: C:\VOYAGER\100 well plate.ph  
 Lab name: PE Biosystems  
 Absolute x-position: 22078.1  
 Absolute y-position: 11856.3  
 Relative x-position: 188.57  
 Relative y-position: 148.817  
 Shots in spectrum: 50  
 Source pressure: 2.499e-007  
 Mirror pressure: 1.033e-007  
 TC2 pressure: 0.00265  
 TIS gate width: 7  
 TIS flight length: 688

Fig. 2-6-46 化合物 23 の MS スペクトル

Fig. 2-6-46 の MS スペクトルより 779.63 [M-H]<sup>-</sup> のピークを確認した。以上から化合物 23 の構造を同定した。

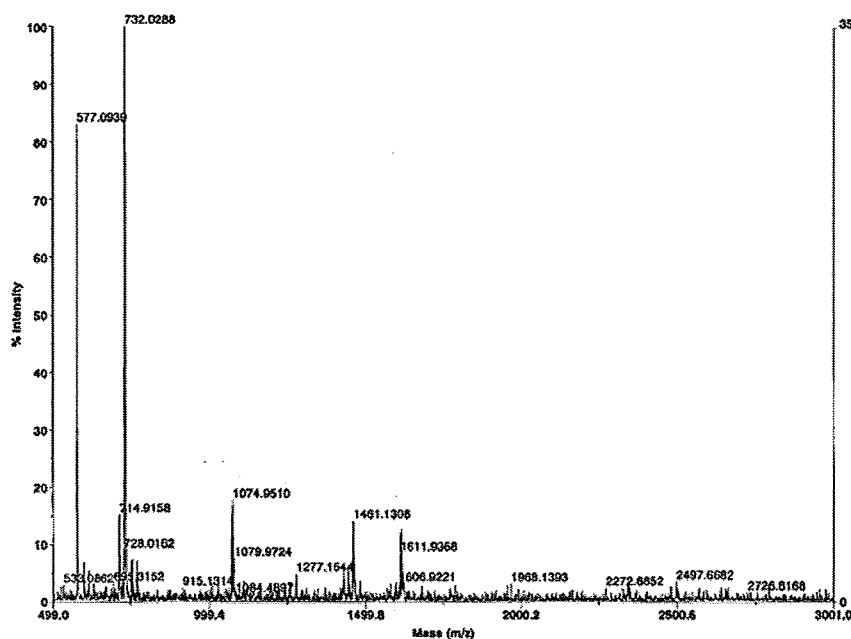
Gd-DTPA-2-Aminophenol 24



Scheme 2-6-25 Gd-DTPA-2-Aminophenol 24

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、50°C で DTPA- 2-Aminophenol 16 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-2-Aminophenol 24 を収率 99% 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 24 の MS スペクトル (Fig. 2-6-47) のデータを示す。



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 ID:	0.002%
Extraction delay time:	125 nsec
Acquisition mass range:	500 -- 3000 Da
Number of laser shots:	50/spectrum
Laser intensity:	2647
Laser Rep Rate:	3.0 Hz
Calibration type:	Default
Calibration matrix:	α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid
Low mass gate:	500 Da
Timed ion selector:	Off
Digitizer start time:	22.42
Bin size:	0.5 nsec
Number of data points:	64671
Vertical scale ID:	500 mV
Vertical offset:	0.65%
Input bandwidth ID:	500 kHz
Sample well:	37
Plate ID:	PLATE1
Serial number:	6304
Instrument name:	Voyager-DE PRO
Plate type filename:	C:\VOYAGER\100 well plate.plt
Lab name:	PE Biosystems
Absolute x-position:	53121.6
Absolute y-position:	32184
Relative x-position:	1054.12
Relative y-position:	116.538
Shots in spectrum:	50
Source pressure:	3.918e-007
Mirror pressure:	1.317e-007
TO2 pressure:	0.905123
TIS gate width:	7
TIS fight length:	658

Fig. 2-6-47 化合物 24 の MS スペクトル

Fig. 2-6-47 の MS スペクトルより 732.03 [M+H]<sup>+</sup> のピークを確認した。以上から化合物 24 の構造を同定した。

### 2-6-2-5 合成した Gd 錯体の *in vitro* 評価

緒言でも述べたように MRI は体内に存在する水のプロトンの緩和速度を測定しコンピューター処理することで画像化を行っている。そのため、造影剤により増強された水のプロトンの緩和時間を測定し緩和特性を調べることは、造影剤としての性能を知る重要なパラメータとなる。また、緩和時間に関して言えば MRI 造影剤は  $T_1$  強調型造影剤および  $T_2$  強調型造影剤の 2 種類が知られている。それぞれの造影剤は水のプロトンの縦緩和時間 ( $T_1$ ) あるいは横緩和時間 ( $T_2$ ) を短縮させる効果を持っている<sup>7-9)</sup>。ランタノイド系金属である Gd は、従来プロトンの縦緩和時間 ( $T_1$ ) の強い短縮効果を持つ造影剤であるため、合成した Gd 錯体は  $T_1$  強調型造影剤と言える。そこで、*in vitro* における水のプロトンの縦緩和時間 ( $T_1$ ) を測定することにより合成した Gd 錯体の造影剤としての性能評価を試みた。

#### 2-6-2-5-1 錯体を形成していないガドリニウムの除去

錯体を形成していないガドリニウムが緩和時間の測定に影響を及ぼさないよう合成した全ての Gd 錯体はその水溶液の pH を 7.0 に調整後、Chelex<sup>®</sup>100 Resin を加え 6 時間攪拌した。その後、呈色試験により錯体を形成していないガドリニウムの有無を確認した。

呈色試験の手順としてはまずサンプルチューブに微量の Gd 錯体を入れ、続けて pH

を 5.0 に調整した酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を加えピリジンを一滴滴下した。溶液を均一にした後、キシレノールオレンジを加えた。溶液の色が赤褐色のまま変化していない場合、錯体を形成していないガドリニウムが存在していないことを示している。溶液の色が青紫色に変化した場合、錯体を形成していないガドリニウムが存在していることを示しているので呈色試験で色に変化しなくなるまで Chelex<sup>®</sup>100 Resin による除去を繰り返し行なった。

#### 2-6-2-5-2 縦緩和時間 ( $T_1$ ) の測定

合成した Gd 錯体を超純水に溶解させ卓上核磁気共鳴装置 Minispec (TD-NMR) と呼ばれる緩和時間測定器を用いて水のプロトンの縦緩和時間 ( $T_1$ ) を測定した。緩和時間は温度依存性が大きく温度が上昇するほど緩和時間は長くなることが知られている。また、造影剤は体内に投与されることを考慮に入れ水溶液の温度を 37°C に固定して測定を行なった。測定誤差が極小になるよう一つの Gd 錯体につき 5 回の測定を行ない得られた値の平均を縦緩和時間 ( $T_1$ ) とした。

#### 2-6-2-5-3 Gd 濃度の測定

緩和時間は造影剤の Gd 濃度に依存しているため、ICP 発光分光分析装置を用いて緩和時間の測定に使用した水溶液の Gd 濃度を測定した。また、各水溶液の Gd 濃度を測定する際に基準となる検量線は 3 つの濃度に調整した Gd 水溶液を用いて作成した。

#### 2-6-2-5-4 縦緩和率 ( $r_1$ ) の測定

前述したように造影剤により増強された水のプロトンの緩和時間を測定し緩和特性を調べることは、造影剤としての性能を知る重要なパラメータとなる。しかし、緩和時間は造影剤の Gd 濃度に依存するため緩和時間を Gd 濃度で割った緩和率が指標として用いられている。縦緩和率 ( $r_1$ ) は以下の式から求めることが出来る。

$$r_1 = \frac{\frac{1}{T_1} \times 1000 - r_1^{H_2O}}{[Gd^{3+}]} \quad (1)$$

$r_1$ ; 縦緩和率 [ $s^{-1}mM^{-1}$ ]

$T_1$ ; 縦緩和時間 [ms]

$r_1^{H_2O}$ ; 水の縦緩和率 [ $s^{-1}mM^{-1}$ ]

$[Gd^{3+}]$ ; Gd 濃度 [mM]

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  $r_1$  を表にして示す。

Table 2-6-01 水中における各 Gd 錯体の縦緩和率 ( $r_1$ )

Entry	Compound No. & Abbreviation	$r_1$ [ $s^{-1}mM^{-1}$ ] (37°C)
1	Gd-DTPA (Magnevist)	3.5
2	<b>17a</b> Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc)	6.4
3	<b>17b</b> Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OAc)	5.8
4	<b>18</b> Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(4OAc)(1OH)	5.9
5	<b>19a</b> Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH)	6.3
6	<b>19b</b> Gd-DTPA-DETA-D2-4Glc(OH)	5.8
7	<b>20</b> Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH)	8.1
8	<b>21</b> Gd-DTPA-Phenylalanine	5.8
9	<b>22</b> Gd-DTPA-Glycine	5.5
10	<b>23</b> Gd-DTPA-Aspartic acid	5.4
11	<b>24</b> Gd-DTPA-2-Aminophenol	4.8

Table 2-6-01 から Entry 1 の 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 Entry 7 の Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) (**20**) は  $r_1$  が  $8.1 [s^{-1}mM^{-1}]$  と 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<sup>49-55)</sup>。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 Entry 7 の Gd-DTPA-HMTA-D2-4Glc(OH) (**20**) 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、Entry 2, 3 および 5, 6 をそれぞれ比較したところ若干異なる  $r_1$  を示したが、ガドリニウム源の違いではなく測定誤差によるものだと考えられる。この結果から水中における  $r_1$  においてもガドリニウム源の違いが及ぼす影響は見られなかった。

#### 2-6-2-5-5 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ことが報告がなされている<sup>41,42,56-62)</sup>。Blood Pool Agents の一つである MS-325 (Vasovist) は血液中に最も多く存