

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4064458号  
(P4064458)

(45) 発行日 平成20年3月19日(2008.3.19)

(24) 登録日 平成20年1月11日(2008.1.11)

(51) Int.Cl.	F I
<b>A 6 1 K 49/00</b> (2006.01)	A 6 1 K 49/00 C
<b>A 6 1 K 49/04</b> (2006.01)	A 6 1 K 49/04 A
<b>C 0 7 F 9/09</b> (2006.01)	C 0 7 F 9/09 U
<b>C 0 7 F 5/00</b> (2006.01)	C 0 7 F 5/00 D

請求項の数 19 (全 44 頁)

(21) 出願番号	特願平8-523543
(86) (22) 出願日	平成8年1月16日(1996.1.16)
(65) 公表番号	特表平10-513445
(43) 公表日	平成10年12月22日(1998.12.22)
(86) 国際出願番号	PCT/US1996/000164
(87) 国際公開番号	W01996/023526
(87) 国際公開日	平成8年8月8日(1996.8.8)
審査請求日	平成14年12月19日(2002.12.19)
(31) 優先権主張番号	08/382, 317
(32) 優先日	平成7年2月1日(1995.2.1)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	エピックス ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02 142-1118, ケンブリッジ, ロジ ヤーズ ストリート 71
(74) 代理人	弁理士 山本 秀策
(72) 発明者	マックマーリー, トーマス ジェイ. アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01 890, ウィンチェスター, ボナド ロ ード 4
(72) 発明者	佐治木 弘直 岐阜市不動町4-9

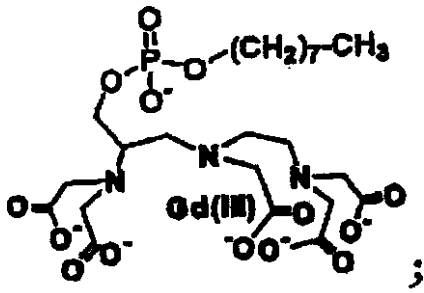
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 延長された血液保持を有する診断画像造影剤

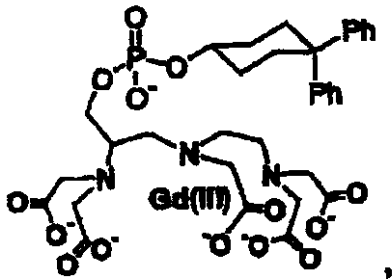
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下：

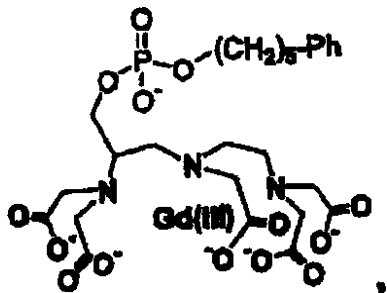


10



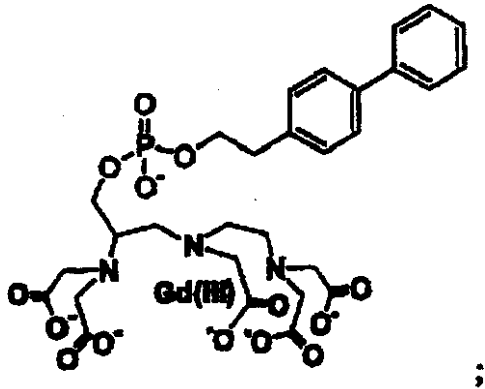
ここで、Phはフェニルである；

20

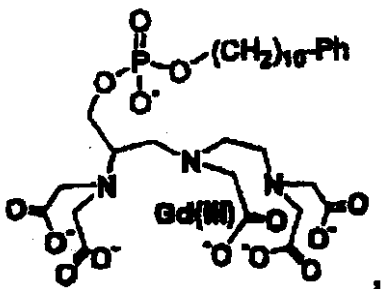


ここで、Phはフェニルである；

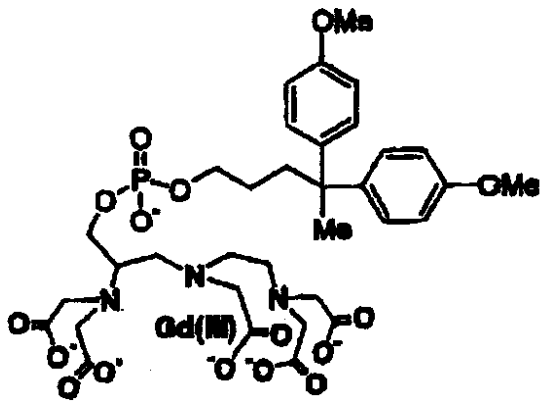
30



40

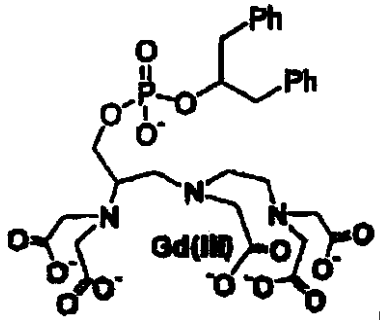


ここで、Phはフェニルである；



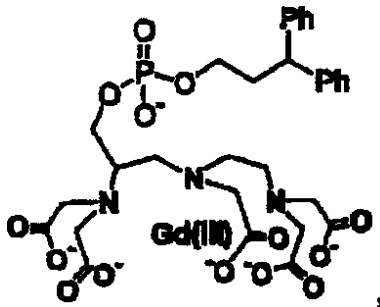
10

ここで、Me はメチルである；



20

ここで、Ph はフェニルである；および



30

ここで、Ph はフェニルである、  
から選択される構造を有する、診断用画像化造影剤。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の診断用画像化造影剤およびキャリア、アジュバントまたはビヒクルを含む、薬学的組成物。

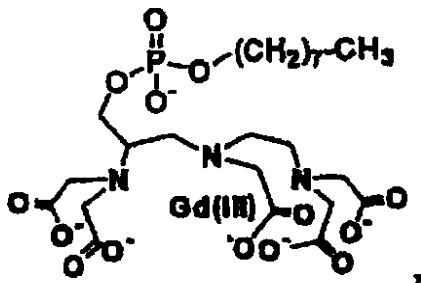
【請求項 3】

遊離の有機配位子またはその薬学的に受容可能な塩をさらに含む、請求項 2 に記載の薬学的組成物。

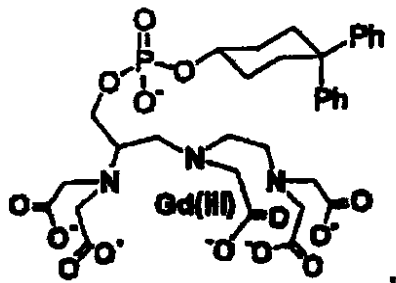
【請求項 4】

以下：

40

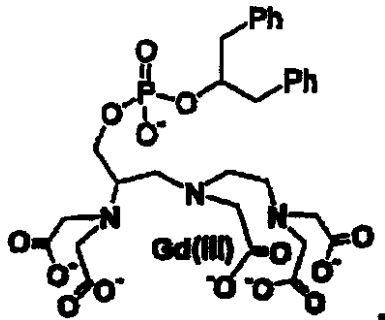


10



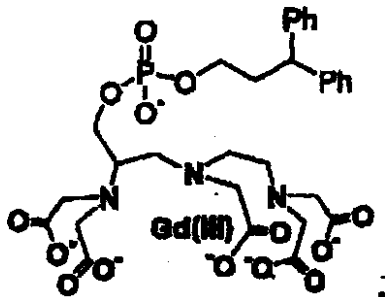
ここで、Phはフェニルである；

20



ここで、Phはフェニルである；および

30



ここで、Phはフェニルである；

からなる群より選択される構造を有する診断用画像化造影剤の薬学的に受容可能な塩。

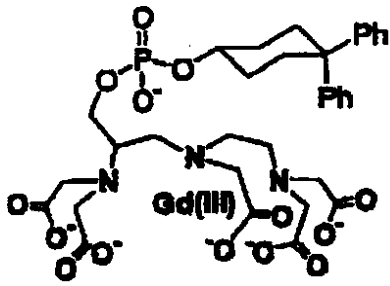
【請求項5】

前記塩が、カルシウム塩、ナトリウム塩、N-メチル-D-グルカミン塩およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項4に記載の薬学的に受容可能な塩。

40

【請求項6】

前記診断用画像化造影剤が、以下の構造：

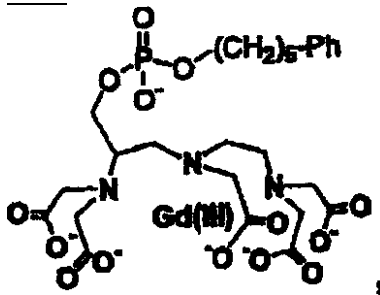


ここでPhがフェニルであり、かつ前記塩ナトリウムである、  
を有する、請求項4に記載の薬学的に受容可能な塩。

10

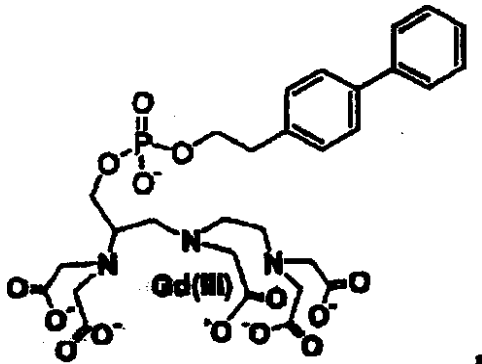
【請求項7】

以下：

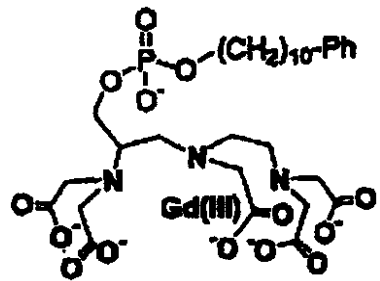


20

ここで、Phはフェニルである；

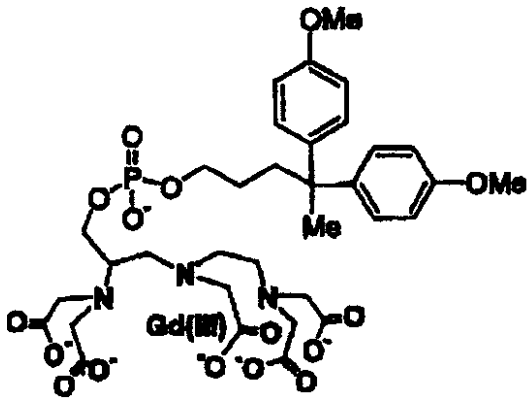


30



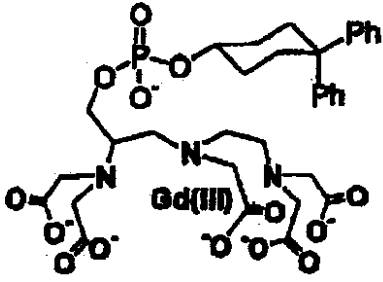
40

ここで、Phはフェニルである；



10

ここで、Me はメチルである；または

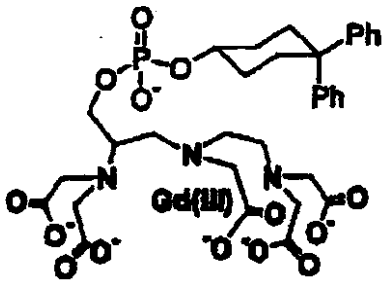


20

ここで Ph がフェニルであり、かつ前記塩が N - メチル - D - グルカミンである 構造 を有する 診断用画像化造影剤 の薬学的に受容可能な塩。

【請求項 8】

前記診断用画像化造影剤が、以下の構造：



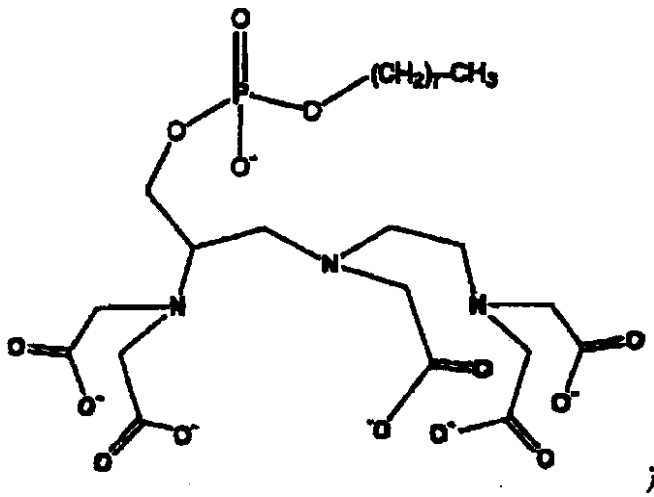
30

ここで Ph がフェニルであり、かつ前記塩がナトリウムと N - メチル - D - グルカミンとの混合物である、

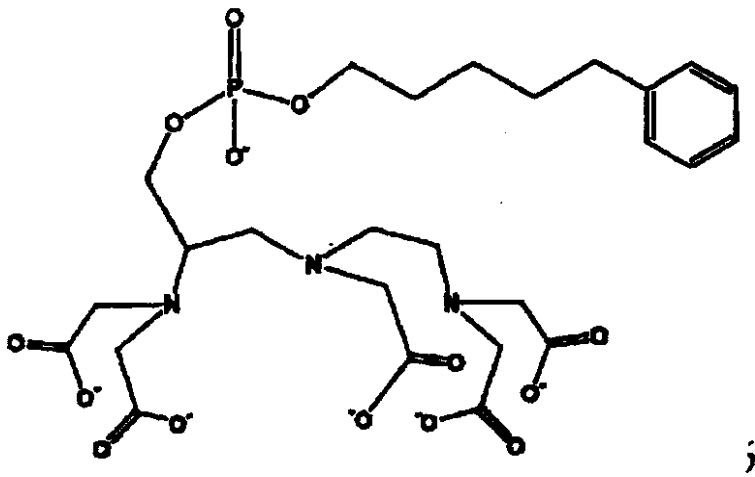
を有する、請求項 4 に記載の薬学的に受容可能な塩。

【請求項 9】

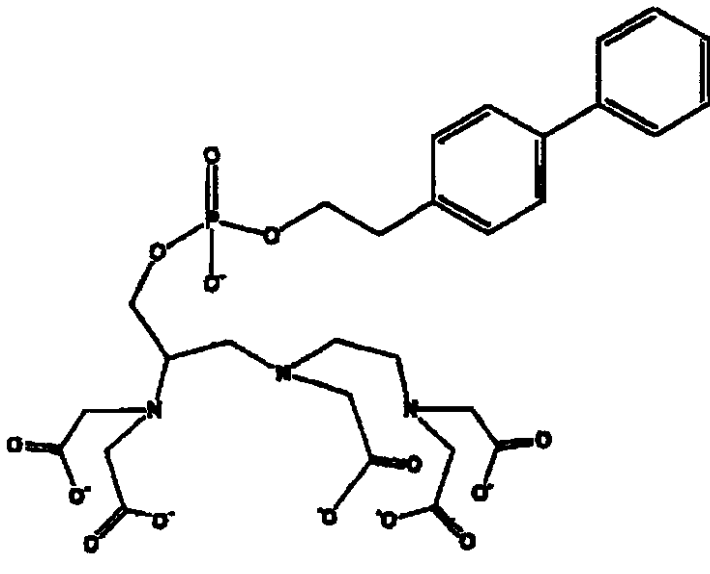
以下の構造：



10

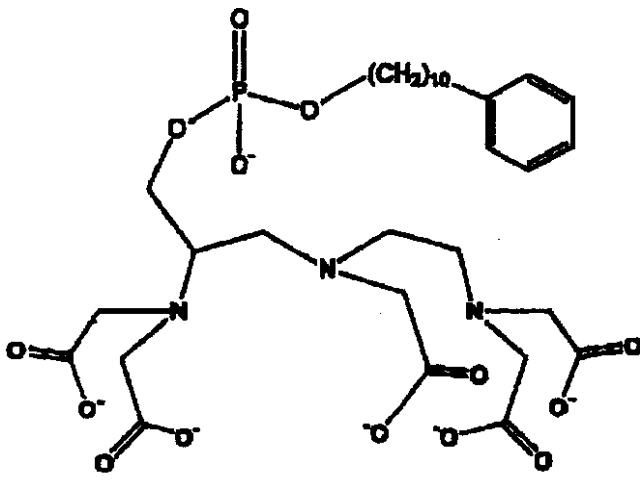


20



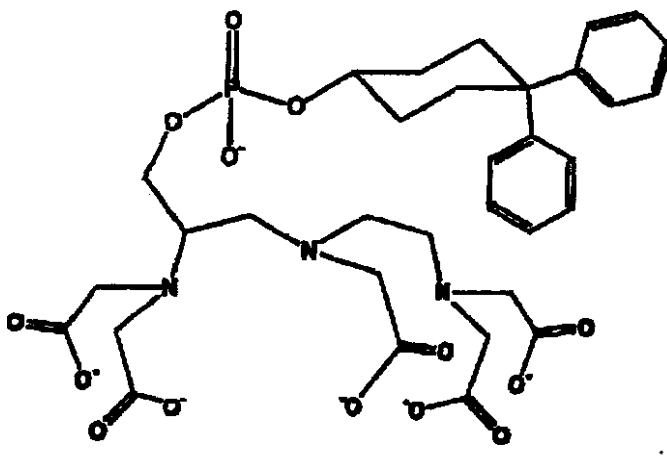
10

;



20

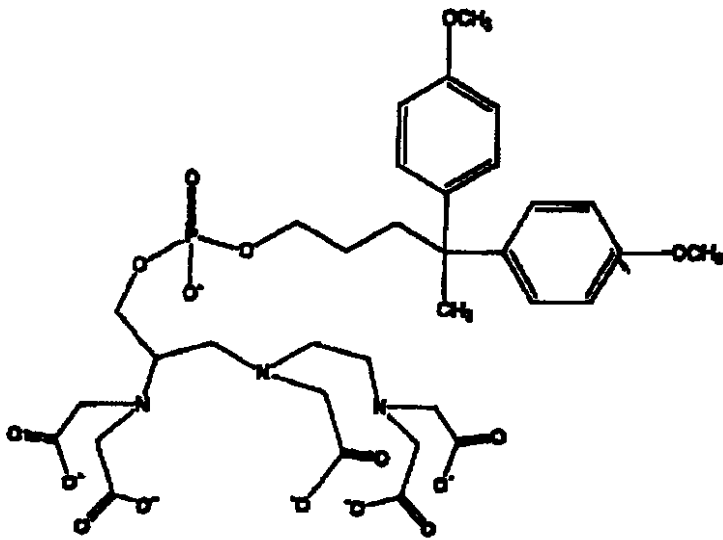
30



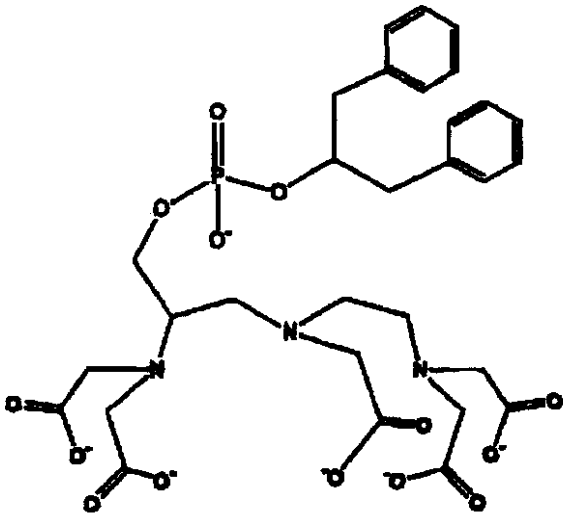
40

;





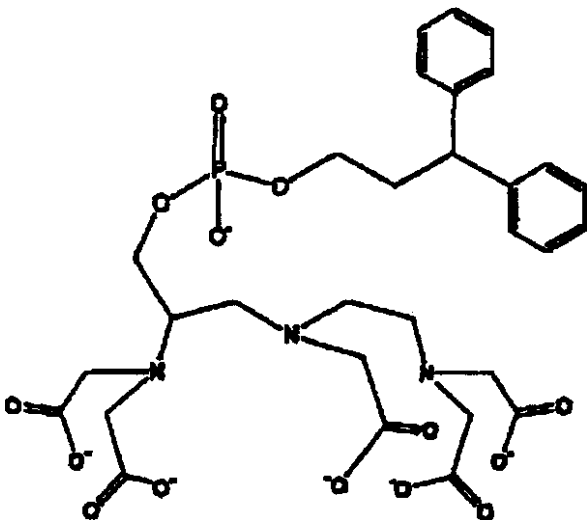
10



20

: および

30



40

から選択される構造を有する、キレート配位子。

【請求項10】

請求項9に記載のキレート配位子の薬学的に受容可能な塩。

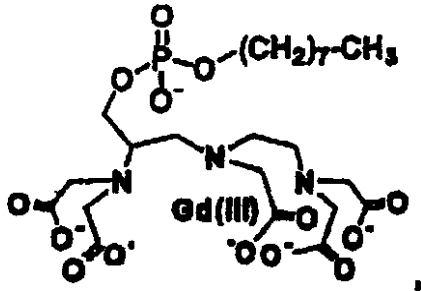
【請求項11】

前記塩が、カルシウム塩、ナトリウム塩、N-メチル-D-グルカミン塩およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項10に記載の薬学的に受容可能な塩。

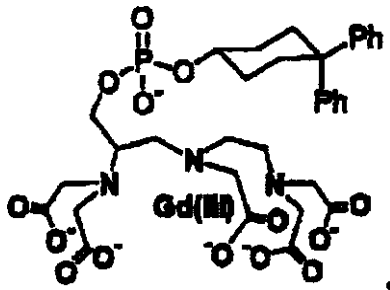
50

【請求項12】

ヒトにおいて、ヒト血清アルブミンを含む組織の血管を検査するための診断用組成物を製造するための、診断用画像化造影剤またはその薬学的に受容な可能な塩の使用であって、該診断用画像化造影剤は、以下：

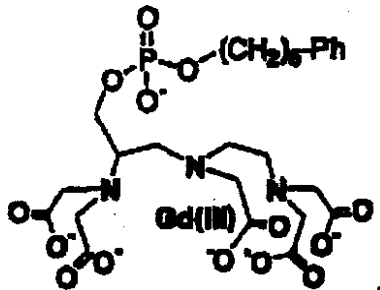


10



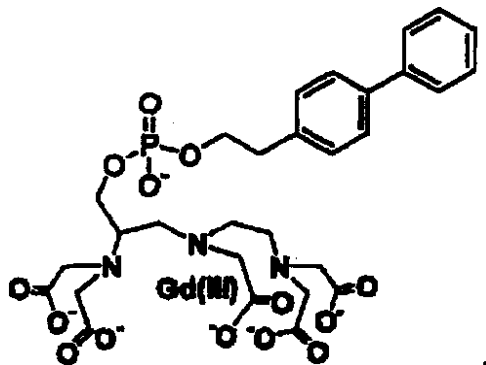
20

ここで、Phはフェニルである；

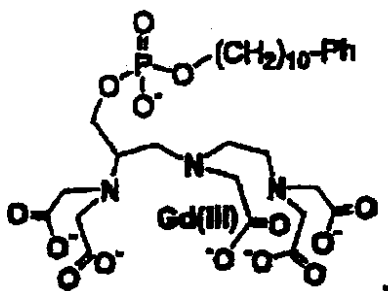


30

ここで、Phはフェニルである；

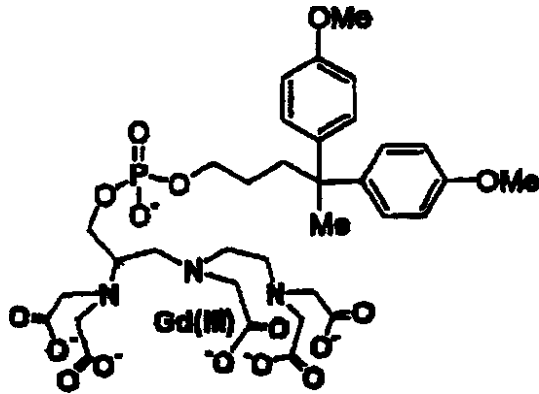


40



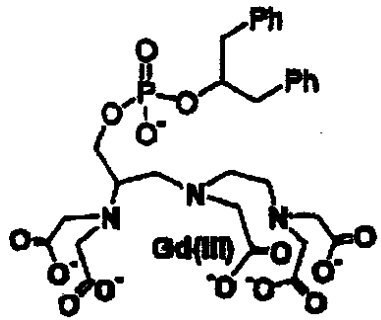
50

ここで、P hはフェニルである；



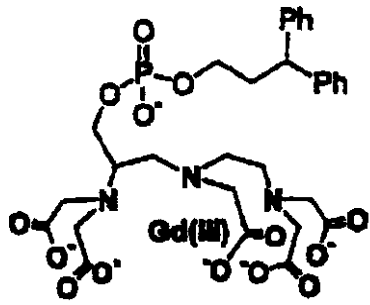
10

ここで、M eはメチルである；



20

ここで、P hはフェニルである；および



30

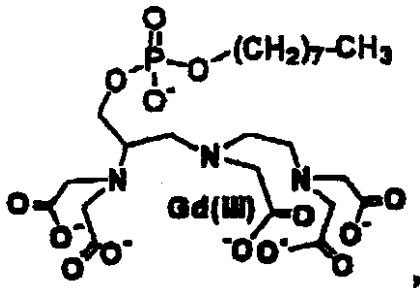
ここで、P hはフェニルである、  
からなる群より選択される構造を有する、使用。

【請求項 1 3】

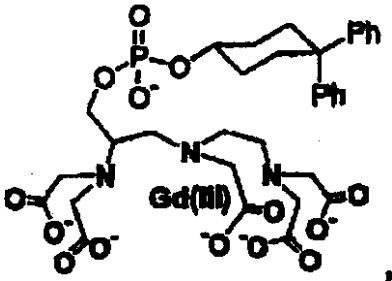
前記組織が、腫瘍、心臓、脳、脚、肺および腎臓からなる群より選択される、請求項 1 2  
に記載の使用。

【請求項 1 4】

ヒトにおいて、ヒト血清アルブミンを含む組織の灌流を検査するための診断用組成物を製  
造するための、診断用画像化造影剤またはその薬学的に受容可能な塩の使用であって、  
該診断用画像化造影剤は、以下：

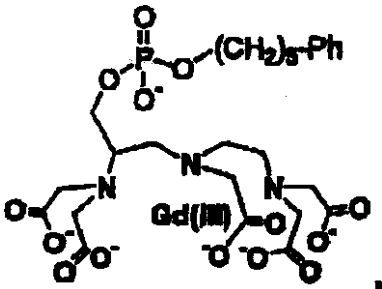


10



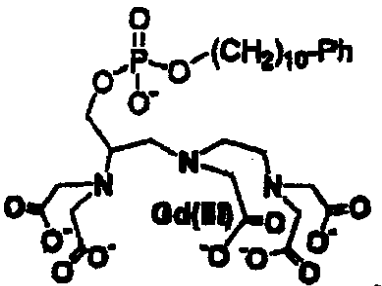
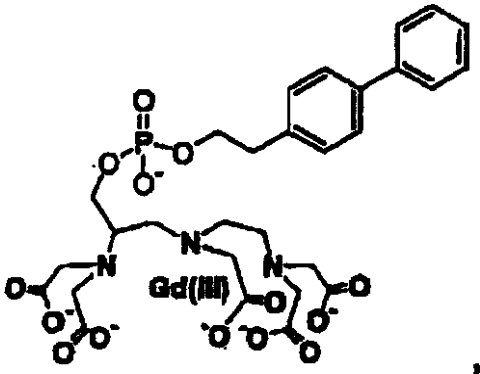
ここで、Phはフェニルである；

20



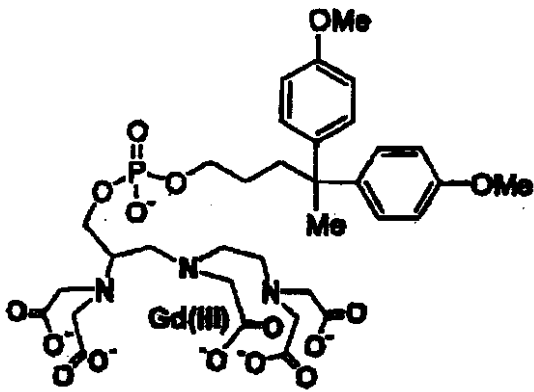
ここで、Phはフェニルである；

30



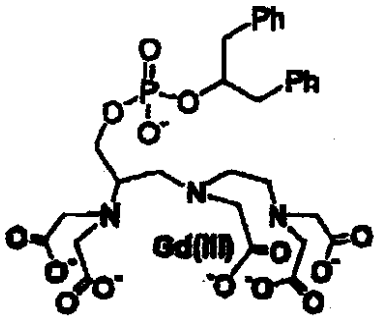
ここで、Phはフェニルである；

40



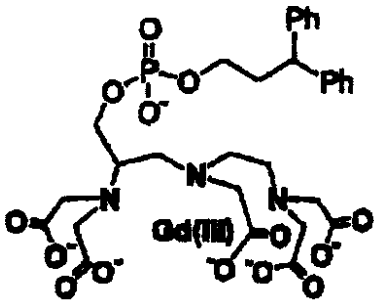
10

ここで、Meはメチルである；



20

ここで、Phはフェニルである；および



30

ここで、Phはフェニルである、  
からなる群より選択される構造を有する、使用。

【請求項15】

前記組織が、腫瘍、心臓、脳、脚、肺および腎臓からなる群より選択される、請求項14に記載の使用。

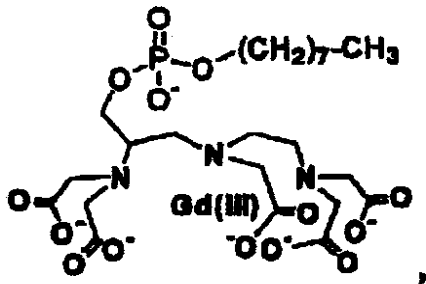
【請求項16】

前記組織が、狭窄を含む、請求項12または14に記載の使用。

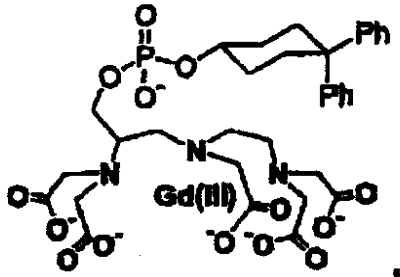
【請求項17】

認知行為の間、ヒトの脳をモニターするための診断用組成物を製造するための、診断用画像化造影剤またはその薬学的に受容可能な塩の使用であって、該診断用画像化造影剤は、以下：

40

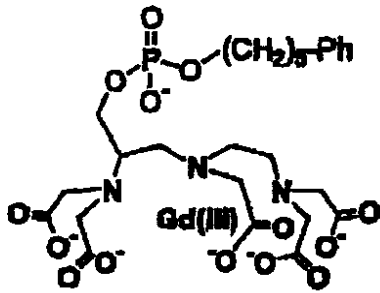


10



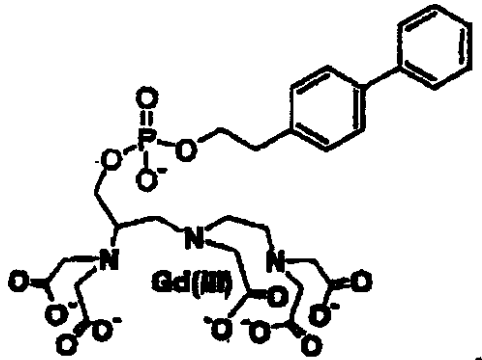
ここで、Phはフェニルである；

20

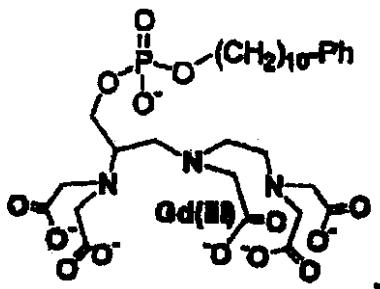


ここで、Phはフェニルである；

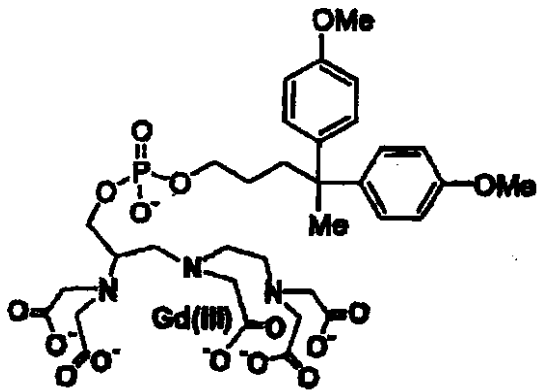
30



40

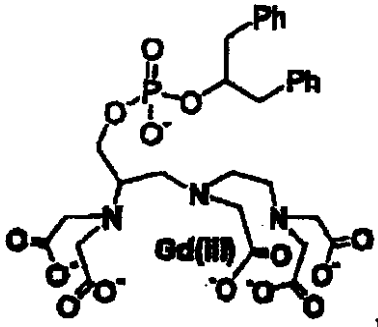


ここで、Phはフェニルである；



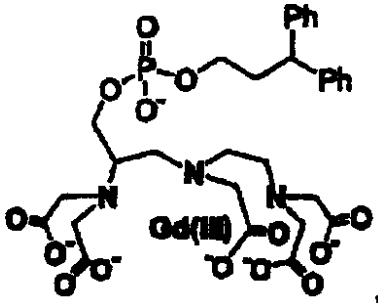
10

ここで、Meはメチルである；



20

ここで、Phはフェニルである；および

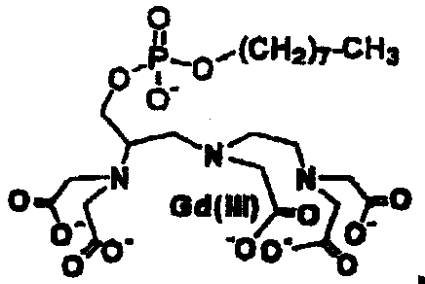


30

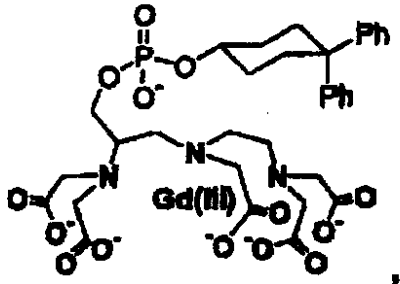
ここで、Phはフェニルである、  
からなる群より選択される構造を有する、使用。

【請求項18】

ヒトにおいて、ヒト血清アルブミンを含む組織における血流容量を測定するための診断用組成物を製造するための、診断用画像化造影剤またはその薬学的に受容な可能な塩の使用であって、該診断用画像化造影剤は、以下：

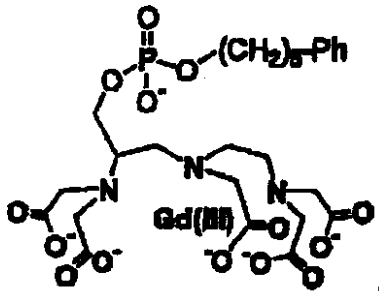


10



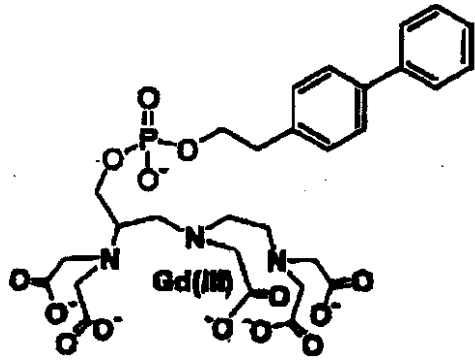
ここで、Phはフェニルである；

20

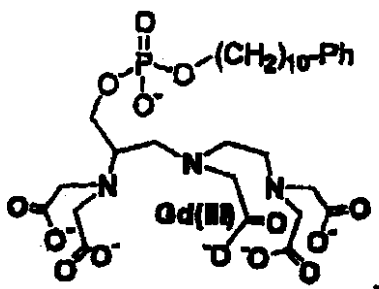


ここで、Phはフェニルである；

30

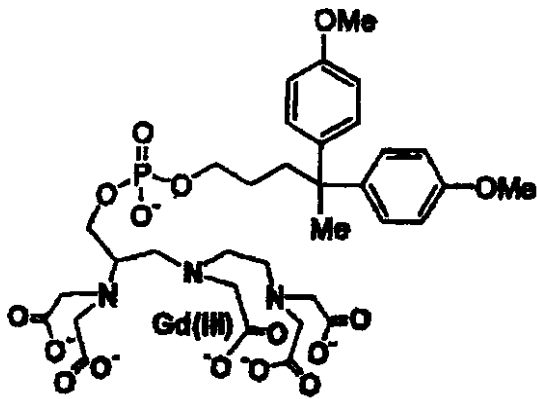


40



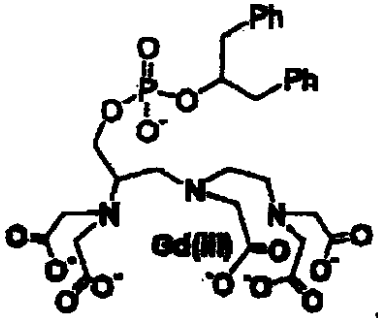
ここで、Phはフェニルである；





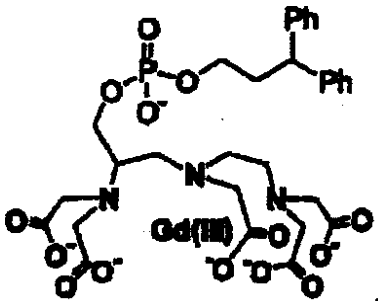
10

ここで、Meはメチルである；



20

ここで、Phはフェニルである；および



30

ここで、Phはフェニルである、  
からなる群より選択される構造を有する、使用。

#### 【請求項19】

前記組織が、腫瘍、心臓、脳、脚、肺および腎臓からなる群より選択される、請求項18に記載の使用。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 本発明の技術範囲

本発明は、診断画像用の造影剤に関する。詳細には、この発明は改良された血液保持を示す新規の化合物に関する。化合物は以下のものを包含する：

- a) 画像増強（またはシグナル発生）部分(IEM)；
- b) 血漿タンパク質結合部分(PPBM)；および
- c) 血液半減期延長部分(BHEM)。

40

本発明はまた、これらの化合物を含む薬学的組成物、ならびに血液半減期延長および診断画像のコントラスト増強のための化合物および組成物を使用する方法に関する。

##### 本発明の背景

診断画像技術（例えば、磁気共鳴画像法(MRI)、X線、核放射性薬学的画像法、紫外線/可視光/赤外光、および超音波）は、長年、医療診断に使用されてきた。いくつかの場合において、画像の質を改善するため、または特定の情報を提供するための造影媒体の使用は、長年進歩してきた。他の場合において、造影媒体の導入（例えば、光または超音波を用いた画像化）は、切迫している。

50

造影剤は、画像技術に使用される電磁放射の波長を干渉し、組織の物理的特性を変えて変化シグナルを発生させるか、または放射性薬品の場合のように、放射源自身を供給しなければならない。一般に使用される物質として、有機分子、金属イオン、塩またはキレート、粒子（特に、鉄粒子）、あるいは標識されたペプチド、タンパク質、ポリマーまたはリポソームが挙げられる。投与後、薬剤は、代謝され、および/または排出される前に、非特異的に体の区画中に拡散し得る；これらの薬剤は、非特異的薬剤として一般的に知られている。あるいは、薬剤は特定の体の区画、細胞、器官、または組織に特異的な親和性を有し得る；これらの薬剤は、標的化された薬剤としてみなされ得る。

体に注入され、または吸収され、そして血液により分配された薬剤について、適切な血液半減期を有することは望ましい。極端に長い半減期（すなわち、数日または数週）は、臨床画像化状況において不必要であり、そしておそらく危険である（毒性についての機会の増加、およびより毒性のある分子への代謝分解のため）が、一方、短い半減期もまた望ましくない。画像増強が短すぎる時間でしか続かない場合、患者の高質の画像を得ることが難しい。さらに、標的化薬剤の急速なクリアランスは、標的部位への結合に利用可能な薬剤量を低下させ、従って画像における標的部位の「明るさ」を低下させる。

画像剤の血液半減期の増加は、以下の1つ以上のクリアランス機構を妨害する工程を包含する：

1) 腎臓の排出。60,000ダルトン分子量以下の分子、特に小分子は、腎臓における非特異性糸球体濾過により血液から取り除かれ得る。分子が血漿タンパク質または他の血液成分に対してある程度の結合を示す場合、遊離の画分のみが濾過に利用可能になり、そして腎臓の排出率をそれに応じて低下させる。

2) 肝臓細胞の取り込み。分子が疎水性特性を有する場合、ある画分の複合体は、肝臓細胞により摂取され、そして胆汁に排出される。一般に、分子がより大きな程度の疎水性を有するほど、肝臓の取り込み率は大きくなる。疎水性はまた、血漿タンパク質結合、および明らかな分子の遊離濃度の減少を導き、肝臓細胞の取り込み率はなお非常に高くあり得る(D.Sorrentinoら、Prog.Liver Disease,203~24頁(1990))、従って血液半減期を低下させる。血液半減期の低下は、総肝胆汁排出の増加（すなわち、実際に便に現れる投与用量の画分）に付随してもよいし、付随しなくてもよい。後者の量は、肝細胞の取り込み率とは別の多くの因子（肝細胞内のサイトゾルタンパク質結合の程度、小管（肝臓から胆汁への）輸送系に対する親和性、胆汁流に対する効果、および腸肝臓再循環を含む）により決定される。血液半減期の延長は、単に総肝胆汁排出の減少の測定によらず、血液または血漿のサンプリングにより示されなければならない。同様に、意図された造影剤の著しい血漿タンパク質結合の獲得および測定は、より低い腎臓排出に帰因して、その血液半減期がより長いことを示すのに十分ではない。

3) 細網内皮細胞(RE)系または他の系。高分子量物質（例えば、リポソーム、ポリマー、タンパク質、および粒子）は、認識（例えば、オプソニン作用、または細胞内取り込み前のタンパク質によるコーティング）および細胞（特に、肝臓(Kupfer細胞)、脾臓および骨髄のRE細胞）への取り込みにより血液から急速にクリアランスされ得る。

画像剤について血液半減期を増加させるために、2つの一般的な戦略が報告されている。

1つの方法は、強力な、または代謝可能な化学結合を介して、高分子量ポリマー、タンパク質、リポソーム、または粒子に対して画像化剤を共有結合で接着することである。例えば、ガドリニウムジエチレントリアミン-ペンタ酢酸(Gd-DTPA)は、ヒト血清アルブミン(HSA)、ポリ-L-リジン、またはデキストランに接着されている(A.N.Oksendalら、J.Magn.Reson.Imaging, 3,157~165頁(1993);S.M.Rocklage,「造影剤(Contrast Agents)」,Magnetic Resonance Imaging,Mosby Year Book,372~437頁(1992))。これは、腎臓における糸球体濾過率を減少させ、そして血液中の薬剤を維持するために行われる。しかし、これは、薬剤の長期の維持を導き得る。さらに堅固に結合した画像剤は、潜在的に毒性の副産物（例えば、高分子の代謝部位における遊離の金属イオン）を放出する。さらに、大きな共役体は、体内の特定の部位を標的化し難い。

第2の方法は、RE系または他の方法により、通常循環から急速に取り出されるリポソーム

10

20

30

40

50

、ポリマー、タンパク質、および粒子に適用されている。物質の表面上の長い親水ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール(PEG)）を配置させることで、RE系または他の系による取り込みを減少させる(C.Tilcockら、Biochimica et Biophysica Acta,1148,77~84頁(1993);A.A.Bogdanoyら、Radiology,187,701~706頁(1993))。大きな、強力に水和したポリマー基は、物質の認識および取り込みに必要とされる分子プロセスを妨げると仮定される。この方法の欠点として以下のものが挙げられる：a)高いコストおよび煩雑な製造プロセス；b)大きな共役体の標的可能性の欠失；およびc)適用可能性は高分子量物質に限定されるらしいこと。

特別な挑戦は、いくつかの親油性の特性を有する標的化小分子についてである。これらは、急速な肝細胞の取り込み、および血液クリアランスを受け得、恐らく標的部位での「明るさ」を減少させる。これは、親油性がタンパク質または他の生物学的標的の標的化を達成するのに必要か否かの特別な問題である。

この問題の特別な事例は、小分子血液プール剤の発生である。現在の小分子非特異的薬剤（例えば、MRI用のGd-DTPA）は、血液から比較的速いクリアランスを有し、従って血管を画像化するため（すなわち、MR血管造影）、あるいは心臓、脳、腫瘍、あるいは他の器官または病変への血流をモニターするためには最適でない。血漿タンパク質を標的化する親油性薬剤は当該分野では公知である。米国特許第4,880,008および同第5,250,285号を参照のこと。これらの薬剤は血漿タンパク質（特に、ヒト血清アルブミン）に結合するが、それらはまた、急速な肝細胞の取り込み、および減少した血液半減期に供され得る。

時間の延長された期間、血液により維持される造影剤の必要性が依然として存在する。

#### 本発明の要旨

本発明は、改良された血液保持を示す診断画像造影剤を提供する。新規の化合物は、以下のものを含む：

- a)画像増強（またはシグナル発生）部分(IEM)；
- b)血漿タンパク質結合部分(PPBM)；および
- c)血液半減期延長部分(BHEM)。

本発明はまた、これらの化合物を含む薬学的組成物、ならびに血液半減期延長および診断画像のコントラスト増強のための化合物および組成物を使用する方法に関する。

これらの造影剤は、腎臓と肝細胞の両方の取り込み減少率およびRE系による不明瞭な取り込みを示す。この薬剤は、血液プールまたは他の任意の生物学的成分に標的化され得る。この薬剤は血流から急速には失われないので、より少ない用量が、より高い安全限界で使用され得る。このアプローチは大きい分子と小さな分子の両方に普遍的である。

#### 本発明の詳細な説明

本明細書中に記載された発明がより十分に理解され得るために、以下の詳細な説明が記載される。

本明細書において使用する、用語「特異的な親和性」または「分子親和性」は、他の成分より実質的に大きな程度で特定の生物学的成分により取り込まれ、保持され、または結合する造影剤の能力をいう。この特性を有する造影剤は、「標的」成分に「標的化」されたとされる。

本発明は、診断画像化においてコントラストを増強する新規の化合物に関する。これらの化合物は以下のものを含む：

- a)画像増強（またはシグナル発生）部分(IEM)；
- b)血漿タンパク質結合部分(PPBM)；および
- c)血液半減期延長部分(BHEM)。

診断画像化は、MRI、X線、核放射性薬品画像化、紫外線/可視光/赤外光、および超音波を含むが、これらに限定されない。

#### 画像増強部分（「IEM」）

本発明に従って、第1のドメインであるIEMは、画像化におけるシグナルまたはコントラストを提供するために使用される、任意の化学薬品または物質であり得る。

シグナル増強ドメインは、有機分子、金属イオン、塩またはキレート、粒子（特に、鉄粒

10

20

30

40

50

子)、あるいは標識されたペプチド、タンパク質、ポリマーまたはリポソームであり得る。

特に有用なIEMは、原子番号21~29、42、44、または57~83を有する1つ以上の金属イオンと錯体化した1つ以上の環状または非環状有機キレート剤からなる生理学的に適合し得る金属キレート化合物である。

X線画像化について、IEMは、ヨウ素化有機分子または原子番号57~83の重金属イオンのキレートからなり得る。適切な化合物の例は、M.Sovak編、「放射性造影剤(Radiocontrast Agents)」, Springer-Verlag, 23~125頁(1984)および米国特許第4,647,447号に記載される。

超音波画像化について、IEMは、ガスで充填した泡(例えば、Albunex、Echovist、またはLevovist)、あるいは粒子または金属キレートからなり、ここで金属イオンは原子番号21~29、42、44または57~83である。適切な化合物の例は、Tylerら、Ultrasonic Imaging, 3, 323~29頁(1981)およびD.P.Swanson, 「超音波用の増強剤: 原理(Enhancement Agents for Ultrasound: Fundamentals)」, Pharmaceuticals in Medical Imaging, 682~87頁(1990)に記載される。

10

核放射性薬学的画像化または放射線療法について、IEMは、放射性分子からなる。Tc、Re、Co、Cu、Au、Ag、Pb、Bi、In、およびGaのキレートがより好ましい。Tc-99mのキレートが、さらにより好ましい。適切な化合物の例は、Rayudu GVS, Radiotracers for Medical Applications, 1, 201頁、およびD.P.Swansonら編、Pharmaceuticals in Medical Imaging, 279~644頁(1990)に記載される。

20

紫外線/可視光/赤外光画像化について、IEMは、任意の有機または無機染料あるいは任意の金属キレートからなる。

MRIについて、IEMは、原子番号21~29、42、44、または57~83を有する金属イオンの常磁性形態の金属リガンド錯体からなる。

NMR画像を有効に増強するために、錯体は、水プロトンあるいは他の画像または分光核(spectroscopic nuclei) (他の生体分子または注入された生体マーカー上のプロトンまたはP-31、C-13、Na-23、またはF-19を含む)の緩和率 $1/T_1$  (縦、またはスピン-格子)、および/または $1/T_2$  (横、またはスピン-スピン)を増強し得なければならない。 $R_1$ および $R_2$ の緩和(relaxivities)は、 $1/T_1$ または $1/T_2$  (それぞれ、金属イオンのmMあたり; 単位は $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ である)を増大する能力として定義される。臨床MRIの最も一般的な形態である水プロトンMRIについて、緩和は最適であり、ここでキレートリガンドに結合する常磁性イオンはなお、水交換のための1つ以上の開かれた(open)配位部位を有する(R.B.Laufffer, Chemical Reviews, 87, 901-927頁(1987))。しかし、これを、一般に開かれた配位部位の増加数と共に一般に減少する金属キレート(以下を参照のこと)の安定性と平衡に保たなければならない。従って、より好ましくは、錯体は1つのみ、または2つの開かれた配位部位を含む。

30

双極子-双極子相互作用を介する組織核の $1/T_1$ または $1/T_2$ の増加に加えて、MRI薬剤は、2つの他の磁気特性に影響し得、従って臨床的に使用し得る:

1) 高磁化率の鉄粒子または金属キレート、特にDy、Gd、またはHoのキレートは、微小な磁化率勾配を作り出すことにより、組織のMRIシグナル強度を変化させ得る(A.Villringerら、Magn. Reson. Med. 6, 164~174頁(1988))。キレートに対する開かれた配位部位は、この適用には必要とされない。

40

2) 鉄粒子または金属キレートはまた、水プロトン、あるいは他の画像化または分光核(他の生体分子または注入された生物マーカー上のプロトン、P-31、C-13、Na-23、またはF-19を含む)の共鳴頻度をシフトするために使用され得る。ここでは、使用した核および方法に依存して、0~3つの開かれた配位部位が使用され得る。

好ましい常磁性金属は、Gd(III)、Fe(III)、Mn(IIおよびIII)、Cr(III)、Cu(II)、Dy(III)、Tb(III)、Ho(III)、Er(III)およびEu(III)からなる群より選択される。最も好ましい常磁性金属は、Gd(III)である。

常磁性金属は、複合形態において使用されるが、複合体から金属イオンの解離により、毒

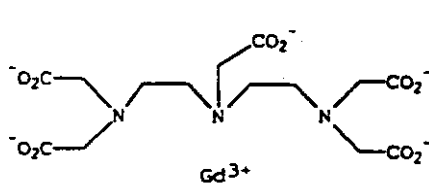
50

性作用がなお存在し得る。有機キレートリガンドは、生理学的に適合すべきである。キレートリガンドの分子の大きさは、常磁性金属の大きさに適合すべきである。従って、 $0.938 \times 10^{-10} \text{ m}$  (0.938 Å) の結晶イオン半径を有するガドリニウム(III)は、 $0.64 \times 10^{-10} \text{ m}$  (0.64 Å) の結晶イオン半径を有する鉄(III)イオンより大きなキレートリガンドを要求する。一般に、金属キレートの毒性の程度は、排出前のインピボでのその解離の程度に関係する。一般に、毒性は、遊離の金属イオン量と共に増加する。動力学的安定性が低い錯体について、高い熱力学的安定性（少なくとも  $10^{15} \text{ M}^{-1}$  およびより好ましくは少なくとも  $10^{20} \text{ M}^{-1}$  の形成定数）が、解離およびその付随の毒性を最小にすることが望ましい。動力学安定性が比較的高い複合体について、解離はより低い形成定数（すなわち、 $10^{10} \text{ M}^{-1}$  またはそれ以上）で最小にされ得る。

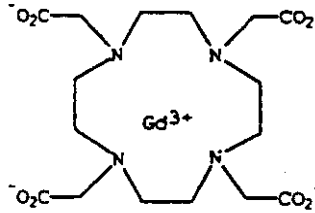
10

毒性はまた、錯体における開かれた配位部位の数との関数である。一般に、配位部位が少なければ少ないほど、キレート剤が常磁性物質を放出する傾向が少なくなる。従って、好ましくは、錯体は、2つの、1つまたは0の開かれた配位部位を含む。一般に、2つ以上の開かれた部位の存在は、インピボでの金属イオンの放出により毒性を受容不可能に増加させる。

MRI薬剤用の多くの適切なキレートリガンドは、当該分野で公知である。これらはまた、他の形態の生物学的画像化のための金属キレートについて使用され得る。MRI画像化について、好ましいIEMは以下のものを含む：

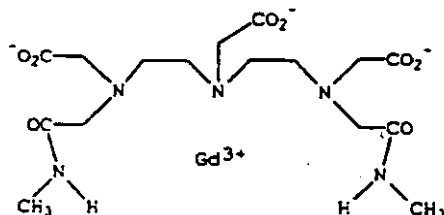


マグネピスト  
ガドペンテテートジメグルミン  
**DTPA**

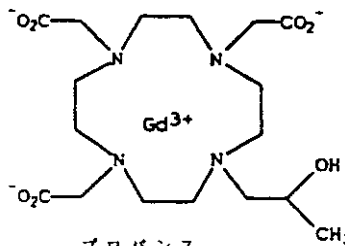


ドタレム  
ガドテレートメグ  
**DOTA**

20



オムニスキャン  
カドジアミド  
**DTPA-BMA**



プロバンス  
ガドテリドール  
**HP-DO3A**

30

#### 血漿タンパク質結合部分(「PPBM」)

本発明に従って、本発明の造影剤の第2の成分はPPBMである。化合物のこの部分は、血漿タンパク質に造影剤を結合させ、そして腎臓排出率を減少させる。

目的の血漿タンパク質として、いくつかの親油性部分、ならびに生理学的pHでの負電荷または部分的に負に帯電した酸素または硫黄あるいはフッ素を有する分子を結合する、アルブミン(特に、ヒト血清アルブミン(HSA))；主に正に荷電した分子に結合する、酸糖タンパク質；ステロイド分子に結合する、グロブリン；および親油性または脂肪酸型分子に結合する、リポタンパク質が挙げられる。従って、PPBMは適切なタンパク質への結合を達成するように正確に選択されなければならない。HSAは血清中に最も高い濃度で存在し、そして広範な分子に結合するための高い親和性および能力を有するので、血液半減期を増大するために用いられるのが好ましい血漿タンパク質である。HSAはまた、好ましい血漿タンパク質標的である。なぜなら、HSAは正に帯電した分子より少ない毒性傾向を有する、負に帯電した分子に結合するからである。

40

HSAに結合するために、広範な疎水性または両親媒性の物質は、PPBMとして有用である(U.

50

Kragh-Hansen, Pharm. Rev., 33, 17 ~ 53頁(1981); X.M. Heら、Nature, 358, 209 ~ 215頁(1992); D.C. Carter, Adv. Protein Chem., 45, 153 ~ 203頁(1994)。これらは、1 ~ 60個の炭素を有する脂肪族基またはアリール基、ならびに任意の数の窒素、酸素、硫黄、ハロゲン、アルキル基、アミド、エステル、およびスルホンアミド置換基を含むが、これらに限定されない。あるいは、PPBMは、疎水性アミノ酸残基、および/あるいは疎水性末端基または親水性末端基が存在するか、または存在しない置換基を含むペプチドであり得る。血漿において10%の結合を得るために、好ましいPPBMは、少なくとも7個の炭素原子、より好ましくは13個、および最も好ましくは18個の炭素原子を有する。

上記のように、HSAに対する結合について、広範な疎水性物質が、PPBMとして有用である。一般に、HSAおよびおそらく他のタンパク質に対する結合親和性は、PPBMの疎水性と共に増加する。置換基(例えば、PPBM)の疎水性の理論上の評価は、置換基についてHansch,  $\pi$ 定数を用いて、PPBM自体に対するオクタノール-水(またはオクタノール-緩衝液)分配係数の対数(log P)への寄与を計算することにより得られ得る。A. LeoおよびC. Hansch, 「分配係数とその用途(Partition Coefficients and their Uses)」, Chemical Reviews, 71, 525 ~ 616頁(1971); K.C. Chu, 「構造活性関係の定量分析(The Quantitative Analysis of Structure-Activity Relationships)」, Burger's Medicinal Chemistry, Part 1, 393 ~ 418頁(第4版、1980)を参照のこと。結合親和性は、log P寄与の増加と共に増加する。例えば、脂肪族基の置換基について、以下の定数が使用され得る：

基	-脂肪族
CH <sub>3</sub>	0.50
フェニル	2.15

アリール基の置換基について、以下の定数が使用され得る：

基	-脂肪族
CH <sub>3</sub>	0.56
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.02
フェニル	1.96

従って、IEMに接着したp-メチルベンジル基に対するlog P寄与(contribution)は、以下のように計算される(-CH<sub>2</sub>-基に対する評価のようにCH<sub>3</sub>に対する-脂肪族値を用いて)：

$$\log P \text{ 寄与} = 0.50 + 2.15 + 0.56 = 3.21$$

HSAへの結合において、2の最小のlog P寄与(4つのCH<sub>3</sub>基または1つのフェニル環と同等)は、著しい結合を達成するために必要とされる。3のlog P寄与は、より好ましい。4のlog P寄与は、さらにより好ましい。

HSA結合は、pH7.4緩衝液中の4.5%(重量/体積)HSAを用いる平衡透析または限外濾過により評価され得る。好ましくは少なくとも10%、およびより好ましくは少なくとも50%、より好ましくは少なくとも80%、および最も好ましくは少なくとも95%の造影剤が、生理学的に適切な濃度(MRI、X線、光、および超音波については血漿中に0.01 ~ 10mM; 放射性薬品については< 1 μM)でHSAに結合する。この適用において、HSAへの造影剤の結合パーセントの測定は、約+/- 5%の誤差を有する。他のタンパク質または血清へのタンパク質結合は、同様の様式で評価され得る。

造影剤への親油性基の付加は、薬剤の可溶性を減少させるようである。臨床的に効果的な投与レベルまたはより高い投与レベルでの、造影剤の効率的な溶解性を保持するために、1つ以上の水素結合基(酸素、窒素等)をPPBMに組み込むことは、好ましくあり得る。純粋に脂肪族基がPPBMとして使用され得るが、これらは混合脂肪アリール基または純粋にアリール基ほど好ましくなくてもよい。特に、負の電荷が純粋に脂肪基、特に長く、かつ可変性のものに接着される場合、造影剤は、内因性分子(脂肪酸)の代謝あるいは膜タンパク質と脂質との間の相互作用を妨げ得る。これは、薬剤の毒性を増加し得る。従って、PPBMは少なくとも1つのアリール環を含むことが好ましい。

血液プール、腫瘍、または組織増強に対するHSA結合MRI剤の場合において、造影剤が、タンパク質に結合する場合、薬剤を十分に固定する2つ以上の異なる親油性基を含有することは特に好ましい。これらの基は、1つのPPBM、または造影剤に接着した2つ以上の別の

10

20

30

40

50

化学基上であり得る。それらの扱いにくい性質および剛性のため、2つ以上の基それぞれが芳香族環からなることは好ましく、全分子内の2つ以上の環は、固定された非二次元方向に配置される。

一般に、MRI薬剤の磁気効力または緩和は、薬剤がHSAにほぼ等しい回転相関時間を有する場合最も高い(R.B.Lauffer, Chemical Reviews, 87, 901~927頁(1987))。Gd-DTPAのような小分子は、約0.1ナノ秒(nsec)の回転相関時間を有するが、HSAは5~10nsecより大きな相関時間を有する；キレートがこのより長い相関時間を有する場合、常磁性イオンと水プロトンとの間の磁気変動は、Larmor周波数と同じ時間スケールで起こり、最も効率的な可能性のある縦( $T_1$ )緩和、従って最も高い可能性のある緩和を生じる。タンパク質に結合する場合、キレートの可変性はいずれも、有効な回転相関時間を減少させ、従って緩和を減少

10

させると予想される。タンパク質に対する接着の1つの部位は、いくつかの方向における可変性を生じるため、さらなる接着部位が好ましくあり得る。薬剤が最大緩和に戻された程度は、HSAの存在下で緩和-結合( $R_1$ -結合)を測定することにより評価され得る。これは遊離のキレートの緩和( $R_1$ -遊離)、ならびに緩和( $R_1$ -観察)、および4.5% HSA中の薬剤の結合パーセントの測定を必要とする。 $R_1$ -観察は、 $R_1$ -遊離および $R_1$ -結合の平均を加重したモル画分である。

$$R_1\text{-観察} = (\text{画分-遊離 } R_1\text{-遊離}) + (\text{画分-結合 } R_1\text{-結合})$$

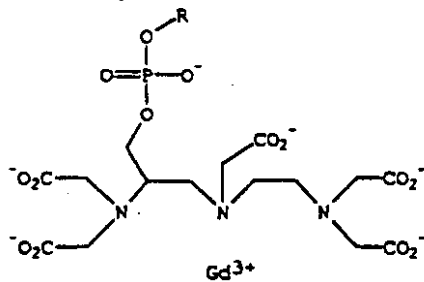
従って：

$$R_1\text{-結合} = \frac{R_1\text{-観察} - (\text{画分-遊離 } R_1\text{-遊離})}{\text{画分-結合}}$$

画分-結合

20

固定した、非二次元方向に保持された2つ以上のアリール環を有する利点は、MS-322( $56 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )およびMS-325( $42 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )対MS-317( $34 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )の緩和-結合値を示す以下の表に示され得る。MS-322およびMS-325のビフェニル基またはジフェニル基は、HSA結合造影剤の移行性を制限しているらしい。この適用において、緩和-結合値の測定に関連する誤差は、約 $\pm 5\%$ である。



30

R	$R_1$ -結合, $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$
MS-317	34
MS-322	56
MS-325	42

40

上記の表に示され得るように、非二次元方向に固定されて保持される2つの環を有する化合物は、より高い緩和-結合値を有した。

上記の方程式に示され得るように、真の $R_1$ -観察は画分結合の増加により増加され得る、

50

すなわちHSAに対する薬剤の結合親和性を増加させる。これはまた、より低い腎臓排出およびより長い血液半減期を導き、従って相互依存的である。しかしながら、最も低い用量を使用し、そして最も高い安全の余裕を有するために、 $R_1$ -結合を最大にすることにより薬剤の有効性を最大にすることは、なお重要である。

#### 血液半減期延長部分(「BHEM」)

本発明の造影剤の第3のドメインであるBHEMは、造影剤の肝細胞取り込み率を減少させる。親水性および親油性の平衡、ならびに分子の正確な分子構造は、その肝細胞取り込み率を決定する。

本発明の造影剤において、本発明のBHEMは、PPBMの効率を過度に妨げることなしに、肝細胞取り込みを減少するか、または除去する。BHEMは、水と水素結合し得る極端な親水性基である。親水性BHEMの造影剤の存在は、薬剤の肝細胞取り込みを減少させる。

BHEMとして作用する化学基の例として、炭素、リン、タングステン、モリブデン、または荷電した硫黄原子または中性ヘテロ原子(例えば、2つ以上の孤立電子対(すなわち、完全なまたは部分的な負の電荷)を有する酸素、窒素、硫黄、またはハロゲン(特にフッ素)、あるいは水との水素結合のための正に荷電した水素原子(すなわち、プロトン化アミン))が挙げられる。これらは、スルホン、エーテル、ウレア、チオ-ウレア、アミンスルホンアミド、カルバメート、ペプチド、エステル、カーボネート、およびアセタールのような基を含む。好ましい基として、生理学的pHの水溶液において(ここで負に荷電した原子は、IEMへの共有結合、または配位共有結合により部分的または完全に中和され得ない)、1つ以上の部分的または完全に負の電荷を有する基が挙げられる。これらの好ましいBHEMの例として、リン酸モノエステル、リン酸ジエステル、カルボキシレート、およびスルホネートのような負に荷電した基が挙げられる。リン酸基またはその任意のエステル形態を有する基は、さらに好ましい。リン酸ジエステルはなおさらに好ましい。なぜなら：a)それらは4つの水素結合する酸素により非常に親水性である；b)それらは以下に示す技術を用いて比較的容易に合成される；c)それらはIEMとPPBMとの間の優秀なリンカーとして作用する；そしてd)リン酸化合物は体内において自然に存在し、そして代謝されるので、リン酸ジエステル結合造影剤は非毒性であることが予想されるからである。

次いで、上記の基の全ては、IEM、PPBM、またはその両方のいずれかにそれらの基を結合するリンカー部分に接着され得る。リンカー部分は、IEM、PPBM、またはBHEMの機能を妨げない任意の生理学的に適合し得る化学基である。好ましいリンカーは、造影剤に合成的に組み込むのは容易である。それらはまた、それら自身の所望でない生物学的機能または造影剤への標的化の影響を明らかにするのに過度に大きすぎない。好ましくは、リンカーの長さは、1~50オングストロームであり、より好ましくは1~10オングストロームである。

BHEMの本発明の造影剤への組み込みは、薬剤の延長された血液保持をもたらす。好ましくは、血液保持は、ラット血漿薬物動力学実験、特定の長さの時間(例えば、0~10分、0~30分、0~60分、0~120分または0~無限大)に対する血漿濃度下の領域対時間曲線(「曲線下の領域」または「AUC-濃度」)の計算により測定される。(AUC-濃度により測定されるように)血液保持は、ラット、ウサギ、またはより高等な哺乳動物に対する造影剤の投与により実験的に評価され得る。血液半減期延長は、ラットにおいてよりウサギおよび高等哺乳動物においてより高いことが観察された。この適用において、AUC-濃度により測定されたような血液半減期データは、ラットにおける実験を表す。このデータに関連する誤差は、約 $\pm 10\%$ である。

半減期測定自体が使用されない理由は、この量の数学的な定義がしばしば明確でなく、そして得られた評価は、使用した薬動力学モデルおよび血液サンプルが得られた時間の長さに依存して変化し得ることである。

例えば、2匹のラットにおける $0.1\text{mmol/kg}$ の $\text{Gd}^{153}$ 標識Gd-DTPAを尾静脈注入した後に観察された平均血漿濃度を、以下に示す。MacintoshプログラムKaleidaGraphを用いて、0~10分からのこのAUC-濃度を、 $3.5\text{mM分}$ として計算した。

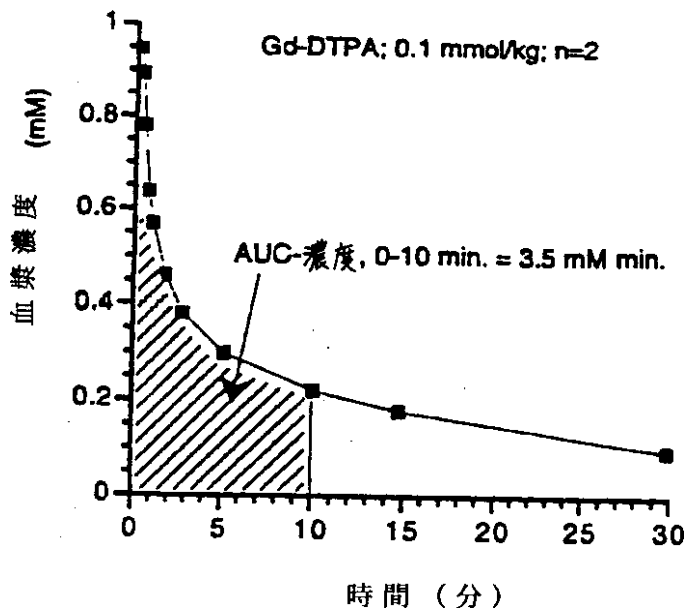
10

20

30

40





10

本発明の造影剤は、BHEMがIEMおよびPPBMに添加された場合、少なくとも20%のAUC-濃度増加を示す。それらは、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも70%、およびさらにより好ましくは少なくとも100%のAUC-濃度増加を示す。一般に、BHEMにより引き起こされたAUC-濃度の増加は、血漿における結合が著しい場合、より高い（例えば、20%～50%、またはそれ以上）。AUC-濃度の計算された増加パーセントは、異なった時間にわたって測定されたAUC-濃度の増加パーセントとは異なり得る。一般に、BHEMにより引き起こされたAUC-濃度の増加パーセントは、より長い期間（例えば、0～30分）にわたるAUC-濃度の増加パーセントに対して0～10分の場合よりむしろ高い。

20

全造影剤分子の構造および物理的特性は、血漿中のその結合を支配するので、所望の結合に適合するIEMおよびBHEMを選択することは重要である。例えば、HSA上の正に帯電した結合部位に対する結合を達成するために、実効中性電荷または実効負電荷のIEMおよびBHEMを有し、斥力の可能性を低下させ、そしておそらく結合親和力を増加しさえすることは好ましい。アルファ酸糖タンパク質への結合について、造影剤の少なくともいくつかの部分は正に荷電すべきである。グロブリンへの結合について、造影剤の少なくともいくつかの部分は実質上ステロイド性であるべきである。リポタンパク質に対する結合について、造影剤の少なくともいくつかの部分は、親油性または脂肪酸様であるべきである。

30

本発明の造影剤は、一般に3つのカテゴリーに分類される。

1) 血液プール剤。血漿タンパク質に対する結合親和性が高い（すなわち、50%結合より大きい、または好ましくは80%結合より大きい、あるいはより好ましくは95%結合より大きい）場合、薬剤は主に血液プール剤として作用する傾向がある。薬剤は血液毛細管外の間隙空間（細胞間における細胞外空間）に接近し得るが、一般に、適切な血漿タンパク質（例えば、HSA）の濃度は、血漿と比較してその空間においてより低い。従って、薬剤の血漿濃度は間隙濃度より高く、従って体内における構造（例えば、血管または多量の血管を含有する組織）は、低い血液含有量を有する構造より強く増強される。この型の薬剤についての適用として、血管造影（血管の画像化）、灌流（迅速な画像化に使用する組織または腫瘍への血流速度の測定）、ならびに血液容量測定（例えば、低い血液容量を有する良性腫瘍からの良好な血液供給と悪性腫瘍を分類するため）が挙げられる。

40

2) 組織増強剤または腫瘍増強剤。ある場合において、造影剤を急速に間隙空間に接近させ、そしてそこで血漿タンパク質に結合させ得ることが所望される。例えば、MRIにおいて、注入後できるだけ早く組織または腫瘍から最も大きな可能性のある増強を得ることが所望され得る。タンパク質結合MRI薬剤は、遊離の薬剤より大きな増強を生じるので、最も良い薬剤は間隙空間に侵入し、そしてタンパク質に結合し得る薬剤である。しかし、薬剤が血漿中に高度に結合する（すなわち95%結合より大きい）場合、（遊離濃度により決定される）毛細血管を通るその移入率はあまりにも遅く、薬剤のほとんどは間隙空間へ入

50

らず、そして組織のシグナル増強を生じる。同様に、結合が10%のみである場合、その時は薬剤は間隙空間に自由に侵入するが、シグナル増強力をほとんど有さない。従って、移入率の正確な平衡および結合親和性が必要とされる。これらの適用のために、血漿中の薬剤の結合は、10%より大きく、そして95%未満であるか、または好ましくは50%より大きくそして95%未満である。

このアプローチは、MRIを用いた腫瘍画像化において特に有用である。悪性腫瘍はしばしば良性腫瘍より多い血流を有し、従って腫瘍（および間隙）の取り込みの迅速な画像化は、しばしばこれらの腫瘍型を区別し得る。しかし、臨床への応用のために、より明確な区別が可能な2つの組織間の最も大きなシグナル差異が必要とされる。タンパク質結合を介するシグナル増強は、これに関して助けとなる。さらに、新しい、急速に成長する悪性腫瘍の毛細血管は漏出して、これらの腫瘍の間隙空間におけるより高濃度の血漿タンパク質を導いている。これは、より少ない漏出毛細血管を有する良性腫瘍と比較して、悪性腫瘍におけるより大きなシグナル増強を導き得る。

3) 標的化薬剤。薬剤が体内の特定の組織または病巣に標的化される場合、上記の2つの段落に記載されるものと類似の論理が適用される。血漿タンパク質および標的部位に対する薬剤の適切な親和性は、薬剤が標的に結合するいくつかの接近を有し、そして同時に血漿タンパク質に対するいくつかの結合を有し、血液半減期を増加させるように平衡化される必要がある。標的化適用のために、血漿中の薬剤の結合は、10%より大きく、そして95%未満であるか、または好ましくは50%より大きくそして95%未満であるべきである。標的化部分は、画像化されるために所望される特定の生物学的成分に集まることが知られる親油性物質、レセプターリガンド、抗体、または他の生体分子であり得る。

#### 構造的な配置

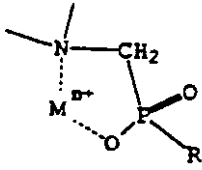
本発明の造影剤の3つの部分は互いに関して種々の位置で配置され得ることが意図される。しかし、これらの部分の位置は、1つの部分が、他の部分の意図された機能を妨害するような位置ではあり得ない。例えば、HSA結合造影剤の場合、BHEMの配置は、PPBMの造影剤をHSAに結合する能力を妨げるべきではない。HSAにおける主な結合部位が、疎水性の内部（特に、「つま先(toe)」領域付近）および正電荷を帯びた「足首(ankle)」領域を有する靴下様(sock-like) (X. M. Heら, *Nature*, 358, 209-215頁(1992); D. C. Carter, *Adv. Protein Chem.*, 45, 153-203頁(1994)) であるので、PPBMの遠位部分を極めて親水性にした場合、PPBMの結合親和性は減少する。例えば、PPBMがフェニル環である場合、環上において最も好ましいBHEMの位置はオルト、続いてメタである。パラ位の親水基は、HSAに対するPPBMの結合親和性を低減させる。

金属キレートからなるIEMに対して、金属イオンとキレートリガンドとの間の結合の強度が顕著に低下するので、BHEMおよびPPBMはIEMに結合させないのが好ましい。例えば、キレート化アーム(chelating arm)がアセテートである場合、好ましくは、BHEMまたはPPBMをアセテート酸素に結合させない。

別の位置的な必要条件は、BHEMの負電荷を帯びた原子を、IEMとの共有結合または配位共有結合によって、部分的または完全に中和し得ないことである；この条件は、水溶液系において、BHEMの非常に親水性の原子がかなり溶媒和されることを確実にする。例えば、IEMが金属キレートである場合、BHEMの負電荷を帯びた原子が、最も安定な環サイズである5-または6-員キレート環の形成を経て、配位共有結合を通してIEMの正電荷を帯びた金属イオン( $M^{n+}$ )によって中和され得ない位置に置くことが重要である。5-員キレート環はIEMに関する目的の金属イオン（例えば、ガドリニウム）に対して最も安定であり、これらの形成を妨げるに最も重要である。従って、以下の図に示すように、ホスフィネート(- $PO_2^-$ )またはホスホネート(- $PO_3^-$ ) BHEMは、- $CH_2$ -リンカーを介してアミノカルボキシレートキレート剤の窒素原子に結合し得ない。なぜなら、ホスフィネートまたはホスホネートBHEMは非常に安定な5-員キレート環を形成するためである。同様に、ホスホジエステル(- $OPO_3^-$ ) BHEMは、- $CH_2$ -リンカーを介してアミノカルボキシレートキレート剤の窒素原子に結合させるべきでない。なぜなら、ホスホジエステルBHEMは6-員キレート環を形成するためである。しかし、これらのBHEMの両方は他の位置（例えば、リガンドのエチレン骨格

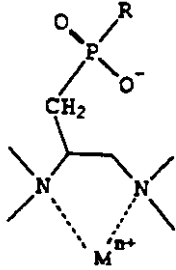
)に結合してもよい。いくつかの場合において、示されるように、リンカー基の長さを増長させて、5-または6-員環を確実に形成できなくすることが好ましい。

### ホスフィネートBHEM



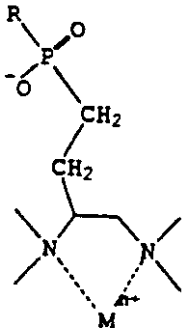
非常に好ましくない  
(5-員キレート環、  
電荷が中和される)

10



好ましくない  
(6-員キレート環、  
電荷が中和される)

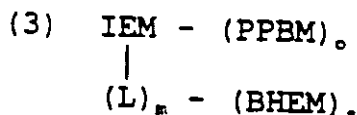
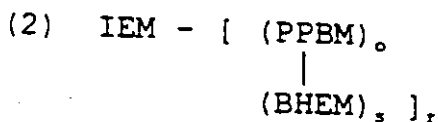
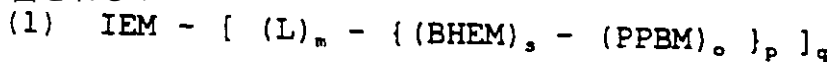
20



より好ましい  
(5-または6-員キレート環、  
あるいは電荷中和の可能性なし)

本発明の部分が、造影剤において、以下の構造式であり得るように配置され得ることが意図される：

30



40

ここで、IEMは画像増強部分であり、

Lはリンカー部分であり、

BHEMは血液半減期延長部分であり、

PPBMは血漿タンパク質結合部分であり、

mは、0から4に等しくあり得、

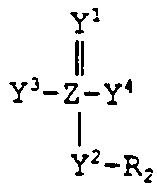
s、oおよびpは、同じであっても異なってもよく、1~4に等しくあり得、

そしてrおよびqは少なくとも1である。

本発明の部分が上記の構造(1)のように造影剤に配置される場合、BHEMは好ましくはス

50

ルホン、尿素、チオ尿素、アミン、スルホンアミド、カルバメート、ペプチド、エステル、カルボネート、アセタールであり、そしてより好ましくは、



またはエステル形態であり、

ここで、ZはP、W、MoまたはSであり、

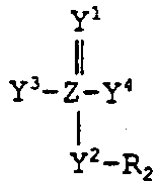
Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>はOまたはSであり、

Y<sup>3</sup>、Y<sup>4</sup>は、O、Sであるか、または存在せず、

R<sub>2</sub>は、H、C<sub>1-6</sub>アルキルであるか、または存在しない。

最も好ましくは、BHEMはホスフェート基である。

本発明の部分が上記の構造(2)のように造影剤に配置される場合、BHEMは好ましくはスルホン、尿素、チオ尿素、アミン、スルホンアミド、カルバメート、ペプチド、エステル、カルボネート、アセタールであり、そしてより好ましくは、BHEMは以下の式を有する：



またはエステル形態であり、

ここで、ZはP、WまたはMoであり、

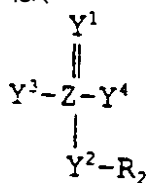
Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>はOまたはSであり、

Y<sup>3</sup>、Y<sup>4</sup>は、O、Sであるか、または存在せず、

R<sub>2</sub>は、H、C<sub>1-6</sub>アルキルであるか、または存在しない。

最も好ましくは、BHEMはホスフェート基である。

本発明のこの部分が上記の構造(3)のように造影剤に配置される場合、BHEMは好ましくはSO<sub>3</sub><sup>-</sup>またはエステル形態、スルホン、尿素、チオ尿素、アミン、スルホンアミド、カルバメート、ペプチド、エステル、カルボネート、アセタールであり、そしてより好ましくは、



またはエステル形態であり、

ここで、ZはP、W、MoまたはSであり、

Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>はOまたはSであり、

Y<sup>3</sup>、Y<sup>4</sup>は、O、Sであるか、または存在せず、

R<sub>2</sub>は、H、C<sub>1-6</sub>アルキルであるか、または存在しない。

最も好ましくは、BHEMはホスフェート基である。

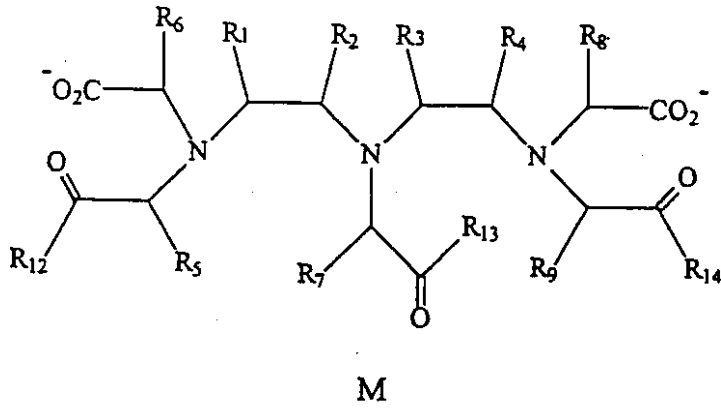
本発明の部分が上記の構造(3)のように造影剤に配置される場合、好ましい造影剤は以下の式を有することが意図される：

10

20

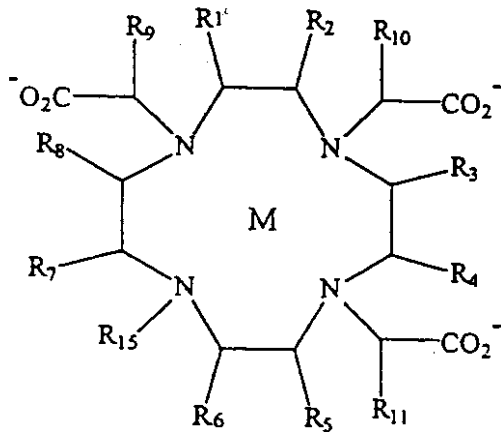
30

40



10

または



20

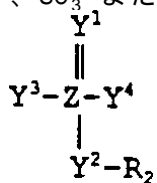
ここで、Mは原子番号21~29、42、44または57~83を有する金属イオンであり、  
 ここで、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>およびR<sub>16</sub>は、同じであっても  
 異なってもよく、そしてH、PPBM、BHEMおよびC<sub>1-6</sub>アルキルからなる群より選択され、た  
 だし、これらのR<sub>s</sub>の少なくとも1つがPPBMであり、そして少なくとも他方がBHEMであり、  
 R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub>およびR<sub>14</sub>は、同じであっても異なってもよく、O<sup>-</sup>およびN(H)R<sub>17</sub>からなる群から  
 選択され、

30

R<sub>15</sub>はH、CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>3</sub>、ヒドロキシアルキルまたはCH(R<sub>16</sub>)COR<sub>12</sub>であり、そして  
 R<sub>17</sub>はHまたはC<sub>1-6</sub>アルキルである。

上記の式を有する造影剤に対して、金属イオンMはより好ましくは、Gd(III)、Fe(III)、M  
 n(II)、Mn(III)、Cr(III)、Cu(II)、Dy(III)、Tb(III)、Ho(III)、Er(III)、またはEu(II  
 I)であり、そして最も好ましくはGd(III)である。BHEMは、好ましくはスルホン、エーテ  
 ル、尿素、チオ尿素、アミン、アミド、スルホンアミド、カルバメート、ペプチド、エス  
 テル、カルボネート、アセタールであり、そしてより好ましくはCOO<sup>-</sup>またはエステル形態  
 、SO<sub>3</sub><sup>-</sup>またはエステル形態、および

40



またはエステル形態であり、  
 ここで、ZはP、W、MoまたはSであり、  
 Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>はOまたはSであり、

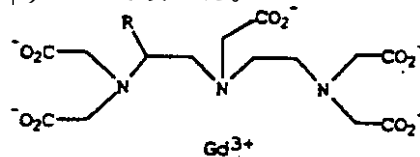
50

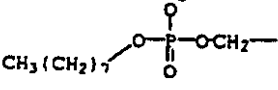
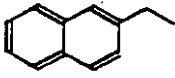
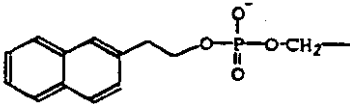
Y<sup>3</sup>、Y<sup>4</sup>は、O、Sであるか、または存在せず、

R<sub>2</sub>は、H、C<sub>1-6</sub>アルキルであるか、または存在しない。

HSA結合造影剤の場合、上記の構造(1)のようにIEMとPPBMとの間か、または上記構造(3)のようにPPBMから離れたIEM上に、BHEMは配置され得る。このように、疎水性PPBM基の完全な結合能は、親水性BHEM基によって妨害されることなく発現され得る。

以下の2対の例は、IEM Gd-DTPAと2つの異なるPPBM(オクチルC<sub>8</sub>脂肪族基とナフチルメチル基)との間に挿入されたホスフェートBHEMの利点を示すのに用いられる。ラットに、Gd<sup>153</sup>放射性標識した錯体(0.1mmol/kg)を静脈内(尾静脈(tail vein))注射した。血漿濃度を30分間にわたって測定し、標準的な2成分の指数関数モデル(bi-exponential two-compartment model)に適合させた。脱離の半減期の結果、ならびに最初の10分間の血漿濃度対時間曲線下面積(AUC-濃度)を示す。さらに、血漿サンプルの1/T<sub>1</sub>(20MHz、37)を記録し、MRI剤としての有効性を評価した。これらの値を、最初の10分間の1/T<sub>1</sub>対時間曲線下面積(AUC-1/T<sub>1</sub>)として表した。



化合物	R	HSAへの結合	t <sub>1/2</sub> , 分	AUC-濃度 mM・分	AUC-1/T <sub>1</sub> s <sup>-1</sup> ・分
DTPA	H	0	15.0	3.5	27
MS-301	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -	44	6.2	2.7	59
MS-315		56	14.0	3.4	87
MS-310		30	6.8	1.8	29
MS-321		40	14.0	3.2	54

上記の表に示されるように、MS-301およびMS-310へのホスフェートBHEMの付加(それぞれ、MS-315およびMS-321が得られる)は、造影剤の血液半減期(AUC-濃度で測定される)を、それぞれ26%および78%増加させた。

IEM Gd-DTPAは比較的親水性であり、そしてHSAへの結合性をほとんど、または全く示さない。従って、血漿中でのその緩和性は最適化されず、そして時間内の1/T<sub>1</sub>(およびMRIにおける血液シグナル)を変えるその能力は制限される(比較的低いAUC-1/T<sub>1</sub>の値を参照のこと)。これは、比較的長い血液半減期(15分)にもかかわらず起こる。

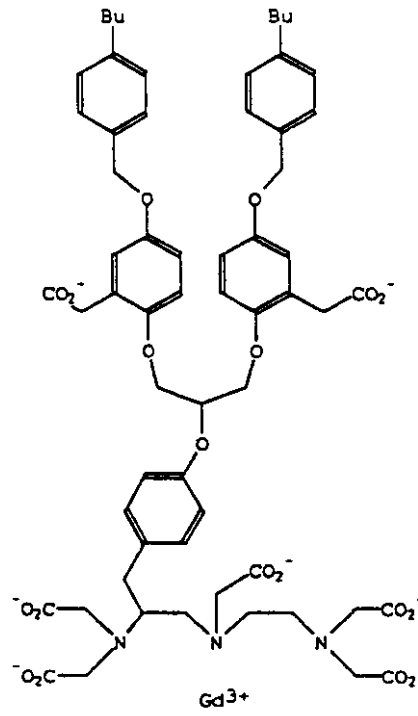
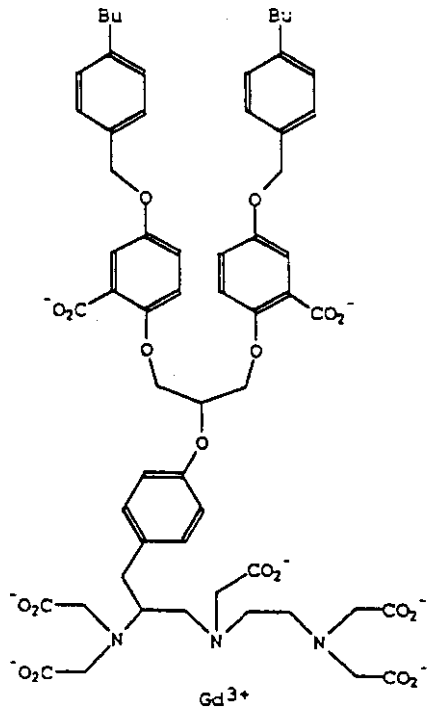
HSA結合および緩和性を改善するために、C<sub>8</sub>オクチル基はDTPA骨格の1位上に配置され得る。これは、キレートへのHSA結合および血液シグナルのいくつかの改善を与える一方で、親油基は単独で、血漿半減期を非常に短くする。ホスフェートベースのBHEMの挿入は実際に、HSA結合を増大させ、そして血漿半減期をGd-DTPAに近い値まで回復させる。結果として、血液シグナルはかなり改善される。

これらの例におけるBHEMの適切な配置は、本発明のこの局面が重要であることを示す。MS-301またはMS-310への非常に親水性の基の付加は、結合をある程度増大させる。MS-315およびMS-321においてIEMとPPBMとの間にホスフェート基を配置することにより、PPBMの十

分に疎水性の表面が、HSA部位の内部と相互作用し得、そして同時に、化合物とHSA部位の「足首」領域との間で新しい有益な相互作用（例えば、静電的結合または水素結合）が生じ得る。特に、負電荷を帯びたホスフェート基は、「足首」領域を一系列に並べる（line）正電荷を帯びた残基と相互作用するに十分に配置されることが可能である。

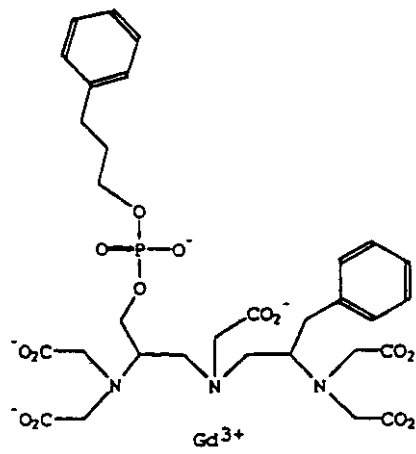
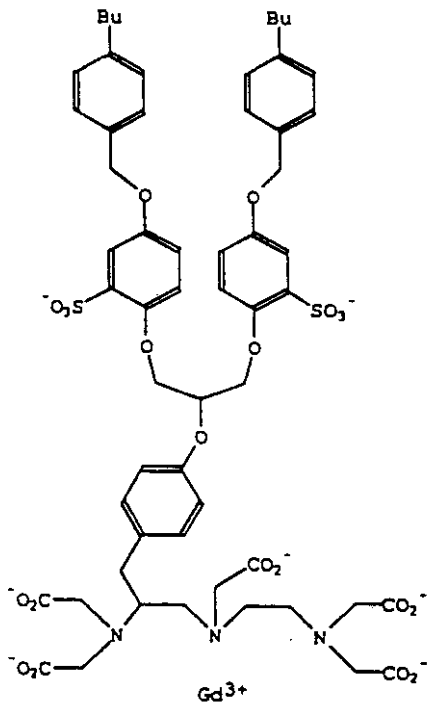
上記のように、AUC-濃度の増加の割合の増加は、測定が行われる時間に依存し得る。例えば、MS-310上へのホスフェートBHEMの付加は、MS-321を生成し、0～10分間のAUC-濃度を1.8mM分から3.2mM分まで増加させた（78%の増加）。しかし、0～30分間のAUC-濃度は、2.46mM分から5.57mM分まで増加した（126%の増加）。

以下の造影剤が作製される：



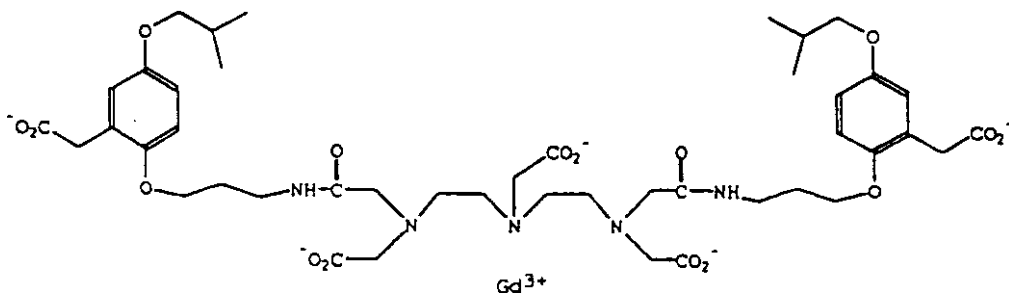
10

20

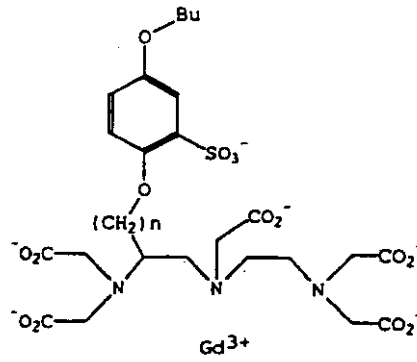
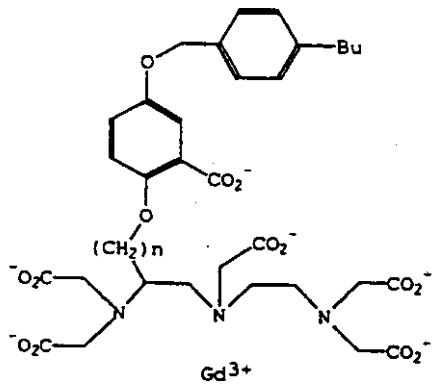


30

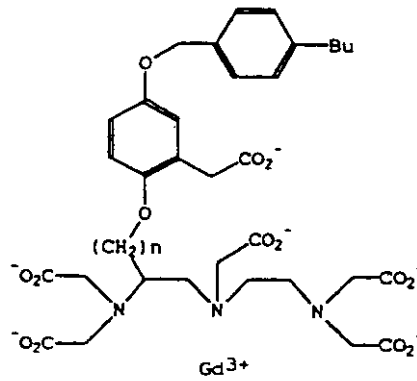
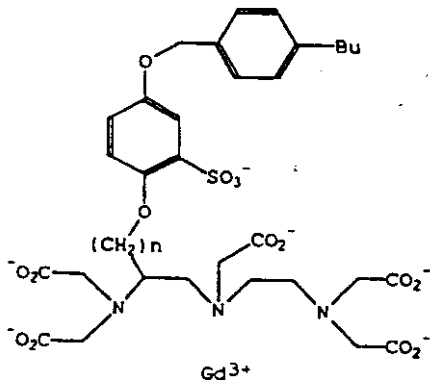
40



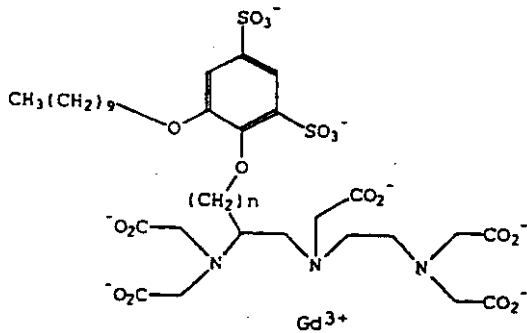




10

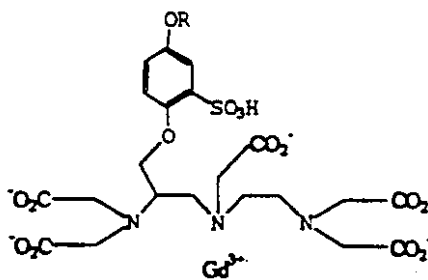
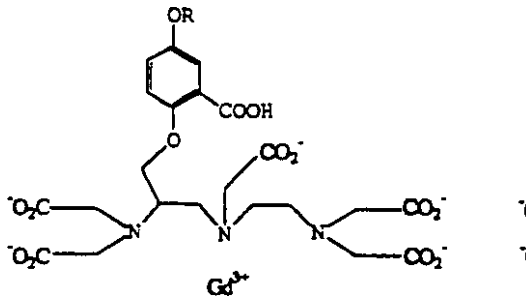


20



30

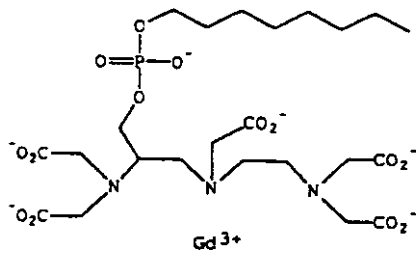
上記薬剤において、 $n$  は 1 ~ 4 に等しくあり得る。



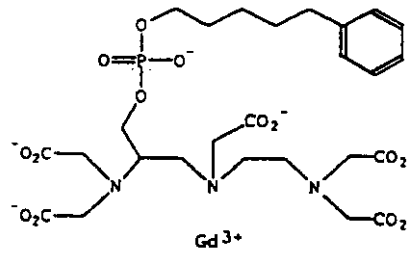
40

ここで、Rは、脂肪族基および/または少なくとも1個のアリール環を包含するか、あるいは疎水性アミノ酸残基および/または疎水性または親水性の末端基があってもなくともよい置換基を含むペプチドを包含する。

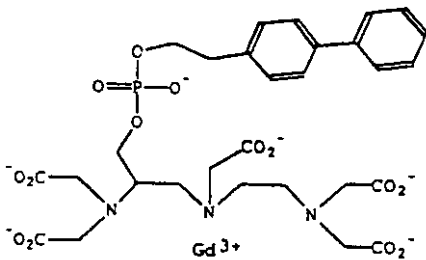
本発明の好ましい造影剤は、以下の通りである：



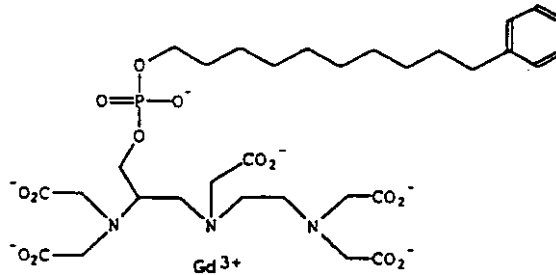
MS-315



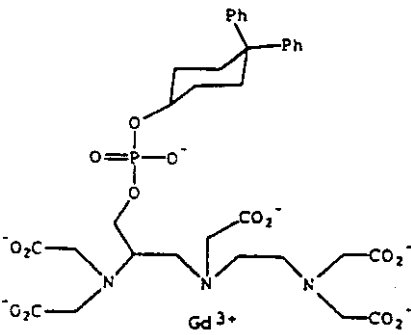
MS-317



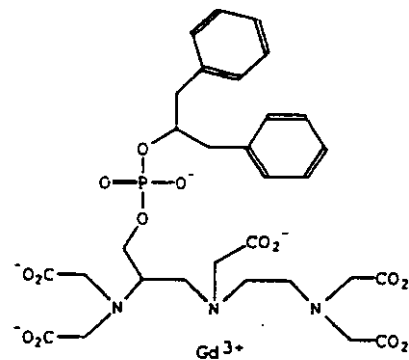
MS-322



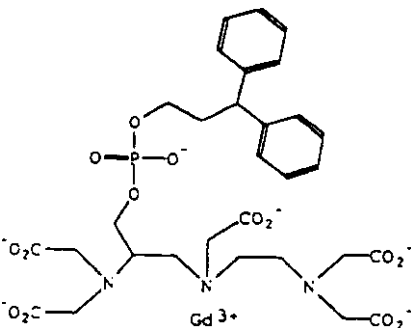
MS-323



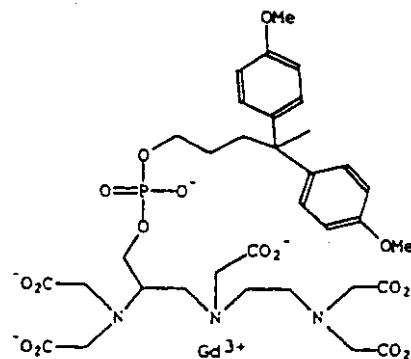
MS-325



MS-326



MS-327



MS-328

本発明のより好ましい造影剤は、MS-317、MS-322、MS-325およびMS-328である。最も好ましくはMS-325である。

#### 造影剤のさらなる特性

薬剤または生体分子のキラル形態の相違はインビボでのこれらの挙動に影響し得るので、同一性は本発明の造影剤の真実であると思われる。全ての所定のキラル中心に対して、一方の形態は、より高い緩和性、血液半減期、より低い毒性、より少ない代謝、またはいくらかの他の利点もしくはこれらの利点の組み合わせを有し得る。これらのキラル形態が好

10

20

30

40

50

ましい。

投与および摂取の促進のために、本発明の造影剤は、良好な水溶性を有するべきである。好ましくは、この造影剤は、室温において、少なくとも1.0mM、好ましくは10mM、そしてより好ましくは100mMの濃度まで、水に溶解する。

注射のために、製剤化された薬剤は、迅速で、簡便な注射を可能にするよう、適度な粘度のみを有するべきである。粘度は、 $10.20 \times 10^{-4} \text{kg}\cdot\text{s}/\text{m}^2$  (10センチポアズ)未満、または好ましくは $5.10 \times 10^{-4} \text{kg}\cdot\text{s}/\text{m}^2$  (5センチポアズ)未満、またはより好ましくは $2.04 \times 10^{-4} \text{kg}\cdot\text{s}/\text{m}^2$  (2センチポアズ)未満であるべきである。

注射のために、製剤化された薬剤はまた、過度の浸透圧を有するべきではない。なぜなら、これは毒性を増加させ得るからである。浸透圧は、3000ミリオスモル/kg未満、または好ましくは2500ミリオスモル/kg未満、または最も好ましくは900ミリオスモル/kg未満であるべきである。

#### 造影剤の使用

LEMが薬学的に受容可能な塩を包含し得ることもまた意図される。本発明の薬学的に受容可能な塩は、無機または有機の酸および塩基から誘導されるものを含む。以下がこのような酸性塩に包含される：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、クエン酸塩、ショウノウ酸塩、ショウノウスルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、シュウ酸塩、パモエート、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トシル酸塩およびウンデカン酸塩。塩基性塩は、アンモニウム塩、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウムおよびカリウム塩）、アルカリ土類金属塩（例えば、カルシウム、マグネシウムおよび亜鉛塩）、有機塩基を有する塩（例えば、ジシクロヘキシルアミン塩、N-メチル-D-グルカミン）、およびアミノ酸（例えば、アルギニン、リジン）を有する塩などを包含する。また、塩基性窒素含有基は、低級アルキルハライド（例えば、メチル、エチル、プロピルおよびブチルクロライド、プロマイドおよびヨーゾド）；ジアルキル硫酸（例えば、ジメチル、ジエチル、ジブチルおよびジアミル硫酸）、長鎖

ハライド（例えば、デシル、ラウリル、ミリスチルおよびステアリルクロライド、プロマイドおよびヨーゾド）、アラルキルハライド（例えば、ベンジルおよびフェネチルプロマイド）、ならびにその他のような薬剤で4級化され得る。それによって、水溶性または油溶性あるいは水分散性または油分散性の生成物が得られる。本発明の好ましい塩は、N-メチル-D-グルカミン、カルシウムおよびナトリウム塩である。

本発明の薬学的組成物は、任意の薬学的に受容可能なキャリア、アジュバントもしくはビヒクルと共に、本発明の任意の複合物、または薬学的に受容可能なその塩を含有する。本発明の薬学的組成物中に使用され得る薬学的に受容可能なキャリア、アジュバントおよびビヒクルは、イオン交換物質、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン）、緩衝性物質（例えば、ホスフェート）、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、TRIS（トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン）、植物性飽和脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質（例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩）、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよびラノリンを包含するが、これらに限定されない。

本発明によれば、薬学的組成物は、注射可能な無菌の調合薬の形態（例えば、注射可能な無菌の水溶性または油性の懸濁液）であり得る。この懸濁液は、当該分野で公知の技術に従い、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて製剤され得る。注射可能な無菌の調

10

20

30

40

50

合薬はまた、無毒性の非経口で受容可能な希釈剤または溶媒中における、無菌の注射可能な溶液または懸濁液（例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液として）であってもよい。用いられ得る受容可能なビヒクルおよび溶媒は、水、リンガー溶液および等張食塩水である。さらに、従来では、無菌の不揮発油が溶媒または懸濁媒体として使用される。この目的のために、合成のモノ-またはジ-グリセリドを含む任意の刺激のない不揮発油が使用され得る。脂肪酸（例えば、オレイン酸およびそのグリセリド誘導体）は、天然の薬学的に受容可能なオイル（例えば、オリーブオイルまたはヒマシ油）と同様に、注射可能物の調製、特にこれらのポリオキシエチル化した変形物において有用である。これらのオイル溶液または懸濁液はまた、長鎖アルコールの希釈剤または分散剤（例えば、Ph. Helvまたは類似のアルコール）を含み得る。

10

本発明の造影剤は血漿タンパク質に結合するので、注射の用量および速度に依存するいくつかの場合において、血漿タンパク質上の結合部位が飽和になり得る。これは、薬剤の結合を減少させ、そして半減期または耐性を損ね得る。従って、無菌アルブミンまたは血漿置換溶液にあらかじめ結合させた薬剤を注射することが所望され得る。あるいは、器具/シリンジ（これは造影剤を含み、そして造影剤をシリンジ中に引き上げられた血液と混合する）が使用され得る；次いでこれは患者に再び注射される。

本発明の化合物および薬学的組成物は、経口投与、非経口投与、吸入スプレーによる投与、局所投与、直腸投与、鼻腔投与、頬投与、膈投与または従来の無毒性の薬学的に受容可能なキャリア、アジュバントおよびビヒクルを含有する投薬製剤中に埋め込まれたリザーバを介して投与され得る。本明細書に使用されるように用語「非経口」は、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑液包内、胸骨内、くも膜下、肝臓内、病変内および頭蓋内注射または点滴技術を含む。

20

経口投与される場合、本発明の薬学的組成物は任意の経口的に受容可能な投薬形態（カプセル、錠剤、水性の懸濁液または溶液が挙げられるがこれらに限定されない）で投与され得る。錠剤を経口使用する場合、一般的に使用されるキャリアには、ラクトースおよびコーンスターチが挙げられる。代表的には、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤もまた添加される。カプセル形態の経口投与に対して、有用な希釈剤としては、ラクトースおよび乾燥コーンスターチが挙げられる。経口使用に水性懸濁液を必要とする場合、活性成分は乳化剤および懸濁剤と配合される。所望の場合、特定の甘味料、香味料または着色料もまた添加してもよい。

30

あるいは、直腸投与のために座薬形態で投与される場合には、本発明の薬学的組成物は、この薬剤と室温で固体であるが直腸温で液体である適切な非刺激性の賦形剤とを混合して調製され得、その結果直腸内で溶解薬剤を放出する。このような物質として、ココアバター、ビーズワックスおよびポリエチレングリコールが挙げられる。

また、前述のように、特に、処置標的が局所施用によって容易に接近可能な領域または器官（目、皮膚または下部腸道（lower intestinal tract）を含む）を含む場合に、本発明の薬学的組成物は局所投与され得る。適切な局所製剤は、これらの各領域または器官用に容易に調製される。

下部腸道に対する局所施用は、直腸用座薬製剤（上記を参照のこと）または適切な浣腸製剤でなされ得る。局所-経皮性パッチもまた使用してよい。

40

局所施用に対して、薬学的組成物は、1つ以上のキャリア中に懸濁または溶解される活性成分を含有する、適切な軟膏に製剤され得る。本発明の化合物の局所投与のためのキャリアは、鉱油、液体ペトロラタム、白色ペトロラタム、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化ワックスおよび水を包含するが、それらに限定されない。あるいは、薬学的組成物は、1つ以上の薬学的に受容可能なキャリア中に懸濁または溶解された活性成分を含有する、適切なローションまたはクリームに製剤されてもよい。適切なキャリアは、鉱油、ソルピタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリアルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水を包含するが、それらに限定されない。

眼使用に対して、薬学的組成物は、防腐剤（例えば、ベンジルアルコニウムクロライド）

50

を含有してもしなくてもどちらでもよい、pH調節された等張の無菌生理食塩水中に微小化された懸濁液として、または好ましくは、pH調節された等張の無菌生理食塩水中の溶液として、製剤され得る。あるいは、眼使用に対して、薬学的組成物は、ペトロラタムのような軟膏に製剤され得る。

鼻腔エーロゾルまたは吸入による投与に対して、本発明の薬学的組成物は、製薬的製剤の分野で周知の技術に従って調製され、そしてベンジルアルコールもしくは他の適切な防腐剤、生体利用性を増大させる吸収促進剤、フルオロカーボン、および/または他の従来の可溶化剤もしくは分散剤を使用し、生理食塩水中の溶液として調製され得る。

投薬は、診断用画像化機器の感度、ならびに造影剤の組成に依存する。例えば、MRI画像化に対して、高常磁性の物質（例えば、ガドリニウム(III)）を含有する造影剤は、一般的に、より低い磁気モーメントを有する常磁性物質（例えば、鉄(III)）を含有する造影剤より、より低い投薬を必要とする。好ましくは、投薬は、1日当たり約0.001~1mmol/kg体重の活性金属-リガンド錯体の範囲である。より好ましくは、投薬は、1日当たり約0.005mmol/kg体重~約0.05mmol/kg体重の範囲である。

しかし、任意の特定の患者に対する特定の投薬処方もまた、種々の因子（年齢、体重、健康状態、性別、治療食、投与時間、排泄速度、薬物の組み合わせおよび処置する内科医の判断を含む）に依存することが理解されるべきである。

本発明の適用がMRI画像化である場合、造影剤の適切な投薬の投与に続いて、MRI画像化が行われる。パルス系列（反転回復（IR）；スピンエコー（SE）；エコー断層（EPI）；飛行時間（TOF）；ターボフラッシュ；グラディエントエコー（GE））および画像化パラメーターの値（エコー時間（TE）；反転時間（TI）；繰り返し時間（TR）；フリップ角など）の選択は、要求される診断情報に支配される。一般的には、 $T_1$ -加重された画像を得ることが望まれる場合、TEは、 $T_1$ -加重を最大とするために30ミリ秒未満（または最小値）であるべきである。逆に、 $T_2$ の測定が所望される場合、TEは、競合する $T_1$ 効果を最小にするために30ミリ秒より大きいべきである。TIおよびTRは $T_1$ -および $T_2$ -加重された画像の両方に対して、ほぼ同じに保たれる；一般的に、TIおよびTRは、それぞれ、約5~1000ミリ秒および2~1000ミリ秒のオーダーである。

本発明のMRI造影剤は、腫瘍、血液脳関門破裂、および他の病変の一般的な画像化に有用である。さらに、これらは、灌流、すなわち組織（心臓、脳、脚、肺、腎臓、腫瘍など）内への、および組織からの血液流および血管の検査に非常に有用である（MR血管造影法）。さらに、この薬剤を使用し、認知行為の間、脳におけるシグナル変化を増大し得る（機能的MRI）。

また、本発明の造影剤を使用し、診断用X線画像化、ならびに超音波および光画像化を増強し得ることが意図される。これらの場合、薬剤の用量は、MRIにおける用量（0.001~10mmol/kg）とほぼ等しい。しかし、核画像化において、用量はトレーサーレベルである。

これらの技術の全てに対し、造影剤の使用および投与ならびに画像化機械のセッティングは、当該分野において公知であるか、または一般的に受容された原理を使用する。

本発明がより完全に理解され得るために、以下の実施例を示す。これらの実施例は、例示目的のみであり、いかなる観点においても、本発明の範囲を制限するようには解釈されない。

#### 実施例

##### 実験

他に述べられていなければ、全ての物質は業者から得、さらに精製することなく使用した。THFは、使用直前に、ベンゾフェノンケチルカリウムから蒸留した。塩化メチレンは、水素化カルシウムから蒸留した。全てのカラムクロマトグラフィーは、シリカゲル(230~400メッシュ、EM Separation)を用いて、Stillが記述したフラッシュ法により、窒素下で行った。全ての反応は、アルミニウム支持シリカゲル60 F<sub>254</sub>、0.2mmプレート(EM Separation)上で行った薄層クロマトグラフィー(TLC)により追跡し、化合物は、UV光(254nm)、Ninhydrin-Plus試薬またはDragendorff's試薬(共に、Alltech)に続く加熱下にて、視覚化した。通常のプロトンNMRスペクトルは、そのスペクトルをD<sub>2</sub>O中で記録したこと以外は

10

20

30

40

50

、内標準としてTMSを用いて、 $\text{CDCl}_3$ 中にて300MHzで記録した。結合定数(J)は、ヘルツ(Hz)で報告する。 $^{31}\text{P}$  NMRスペクトルは、121.4MHzで得た。

#### ホスホロアミダイト中間体の調製

##### A. セリンエチレンジアミンアミド

セリンメチルエステル塩酸塩(36.03g、232mmol)をエチレンジアミン400mLに溶解し、そして室温で16時間攪拌した。このエチレンジアミンを、減圧下にて蒸発により、除去した。その残留物を4N NaOH(80mL)に溶解し、そして減圧下にて溶解した。この物質をメタノール(150mL)に溶解し、濾過し、そして2回濃縮した。この残留物を塩化メチレン(150mL)に懸濁し、そして油状残留物が溶解するまで、加熱しながら、メタノール(5~10mL)を添加した。この溶液を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥し、セリットで濾過し、そして濃縮した。この粘稠な油状生成物を、さらに精製することなく、引き続き使用した。

10

##### B. 2-ヒドロキシメチルジエチレントリアミン三塩酸塩

この粗アミド(<230mmol)をTHF(100mL)に溶解した。この攪拌溶液に、ボラン・THF(1150mL、1.0M)をゆっくりと添加した。次いで、この反応系を、Ar下にて16時間還流した。過剰のボランを、0 で、メタノール250mLを注意深く添加することにより、反応停止した。この反応混合物を減圧下にて濃縮した。冷却しつつ、濃HCl(100mL)をゆっくりと添加し、次いで、この溶液を24時間還流した。この生成物混合物を減圧下にて濃縮し、そしてMeOH/EtOHから結晶化した。これにより、白色固形物39.92g(メチルエステルから71%)が得られた。

##### C. 1-ヒドロキシメチル-DTPA-ペンタ-t-ブチルエステル(1)

20

このヒドロキシメチルジエチレントリアミン三塩酸塩(30.25g、124.70mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(218ml、1.25mol)の無水DMF(300ml)溶液に、室温で $\text{N}_2$ 下にて、プロム酢酸t-ブチル(126ml、0.78mol)を添加し、そして室温で24時間攪拌した。次いで、真空下にて、溶媒を蒸発させ、その残留物をEtOAcに溶解し、そして $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaHCO}_3$ (飽和)、 $\text{H}_2\text{O}$ およびNaCl(飽和)で抽出した。この残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $\text{CHCl}_3$ のみ -  $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 100 : 1)により精製すると、純粋な生成物(オイル、70.12g、81.7%)が得られた。

R<sub>f</sub> ( $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 10 : 1) 0.54, (エーテル:ヘキサン = 2 : 1)

0.23;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) d 1.44 (brs, 45H), 2.44-3.06

30

(m, 6H), 3.24および3.29 (各 d, 各 1H, J = 16.8),

3.34-3.58 (m, 10H), 3.66 (dd, 1H, J = 11.2, 5.3), 4.20-

4.70 (br, 1H).

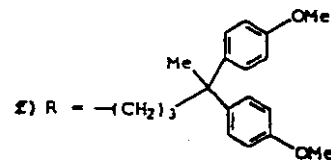
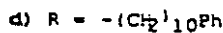
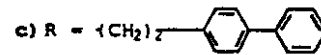
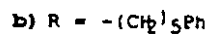
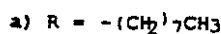
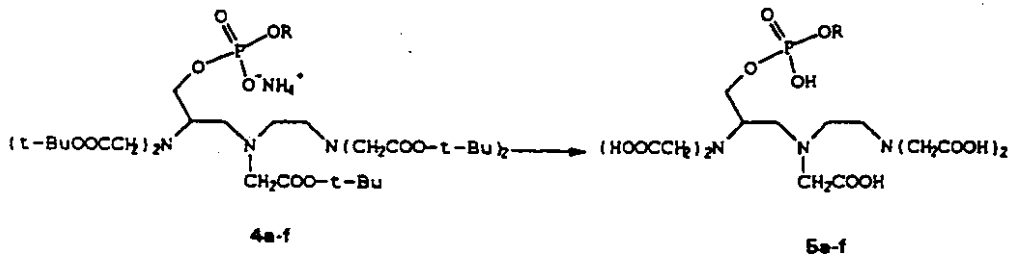
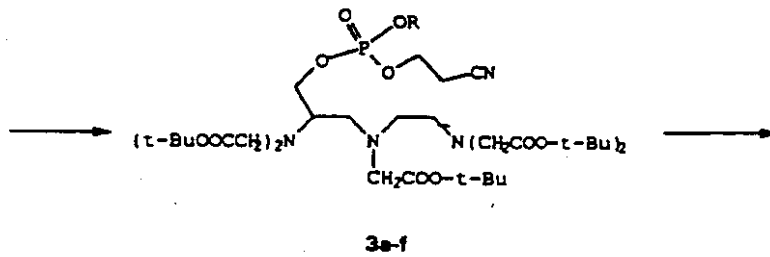
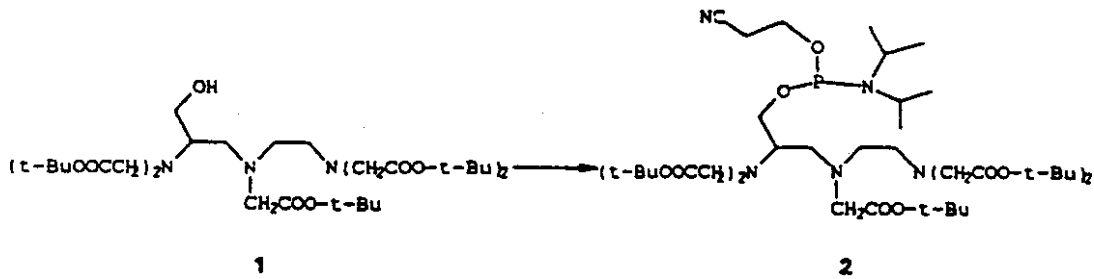
##### D. ホスホロアミダイト中間体(2)

このペンタt-ブチルエステル(1)(12.88g、18.72mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(4.55g、36mmol)の蒸留 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100ml)攪拌溶液に、室温にて、2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルクロロホスホロアミダイト(5.92g、25mmol)を添加した。この混合物を室温で2時間攪拌し、この溶液を $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100ml)で希釈し、そして氷冷した10%  $\text{NaHCO}_3$ 溶液(100ml)、 $\text{H}_2\text{O}$ (100ml)およびブライン(100ml)で洗浄し、 $\text{MgSO}_4$ で乾燥した。その有機層を蒸発させて、青黄色のオイル(2)として、粗生成物を得た。この粗オイルは、さらに精製することなく、次のカップリング反応に使用できる。

40

以下の実施例1~6は、以下の一般図に従って、本発明の好ましい造影剤のいくつかの合成を示す：

## ホスホジエステルリガンドの合成



## 実施例 1

## MS-315 - (2) - (3a) - (4a) - (5a) の調製

## A. n-オクチルオキシリン酸エステル(3a)

(3d)について記述した方法と同じ方法により、粗ホスホロアミダイト中間体(2)(これは、1-ヒドロキシメチル-DTPA-ペンタ-t-トブチルエステル(1)(4.40 g、6.40mmol)から調製した)から調製し、そしてシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ ) [2.71 g、(2)からの全収率44.7%]により精製した。Rf( $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 10 : 1$ ) 0.33。

## B. n-オクチルホスホジエステル(4a)

(4e)について記述の方法と同じ方法により、このリン酸エステル(3a)(2.70 g、2.84mmol)から調製した(2.17 g、85.1%)。 40

## C. MS-315(5a)

(4a)(2.16 g、2.41mmol)のトリフルオロ酢酸(20ml)溶液を、室温で1時間放置した。この溶媒を蒸発させ、その残留物を $\text{H}_2\text{O}$ (5ml)に溶解した。この溶液を、 $\text{C}_{18}$ 逆相シリカゲルカラム(Sep-Pak予備充填カートリッジ、Waters)( $\text{H}_2\text{O}$ のみ -  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 4$ )で精製して、純粋生成物(5a)(1.13 g、76.2%)を得た。 $^{31}\text{P}$ -NMR( $\text{D}_2\text{O}$ ) d2.3。

## 実施例 2

## MS-317 - (2) - (3b) - (4b) - (5b) の調製

## A. 5-フェニル-1-ペンチルオキシリン酸エステル(3b)

そしてこの粗生成物(3b)をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけることなく次の反 50

応に使用したこと以外は、(3d)について記述した方法と同じ方法により、粗ホスホロアミダイト中間体(2)(これは、1-ヒドロキシ-DTPA-ペンタ-t-ブチルエステル(1)(2.72 g、3.96 mmol)から調製した)から調製した(粗製物4.28 g)。Rf(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1)0.26。

#### B. 5-ペンチル-1-フェニルホスホジエステル(4b)

この粗生成物をSephadex LH 20クロマトグラフィーで精製したこと以外は、(4e)について記述の方法と同じ方法により、このリン酸エステル(3b)から調製した(粗製物2.72 g)。Rf(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1)0.11。

#### C. MS-317(5b)

(5a)について記述の方法と同じ方法により、この粗製物(4b)(2.72 g)から調製した[1.12 g、ホスホロアミダイト中間体(2)からの全収率43.5%]。<sup>31</sup>P-NMR(D<sub>2</sub>O)d0.1。

10

#### 実施例 3

##### MS-322 - (2) - (3c) - (4c) - (5c)の調製

#### A. 2-(4-ビフェニルイル)-1-エポキシリン酸エステル(3c)

(3c)の粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけることなく次の反応に使用したこと以外は、(3d)について記述した方法と同じ方法により、精製したホスホロアミダイト中間体(2)(3.50 g、3.87 mmol)から調製した。

#### B. 2-(4-ビフェニルイル)-1-エチルホスホジエステル(4c)

この粗生成物をSephadex LH 20クロマトグラフィーで精製したこと以外は、(4e)について記述の方法と同じ方法により、このリン酸エステル(3c)(粗製物4.13 g)から調製した(粗製物2.34 g)。

20

#### C. MS-322(5c)

(5a)について記述の方法と同じ方法により、この粗製物(4c)(2.34 g)から調製した[1.15 g、ホスホロアミダイト中間体(2)からの全収率43.5%]。<sup>31</sup>P-NMR(D<sub>2</sub>O)d3.7。

#### 実施例 4

##### MS-323 - (2) - (3d) - (4d) - (5d)の調製

#### A. 10-フェニル-1-デカノキシリン酸エステル(3d)

蒸留CH<sub>3</sub>CN(50ml)中の精製ホスホロアミダイト(2)(15.20 g、16.81 mmol)に、蒸留CH<sub>3</sub>CN中の10-フェニル-1-デカノール(9.00 g、38.39 mmol)および1H-テトラゾール(2.36 g、33.70 mmol)を添加した。t-ブチルヒドロパーオキシド(90%、2.33 ml、21.00 mmol)を添加し、室温で1時間反応させて放置した。この溶媒を真空下にて濃縮し(約10 ml)、その残留物をAcOEtとH<sub>2</sub>Oの間で分配した。その有機層をH<sub>2</sub>OおよびNaCl(飽和)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、そして蒸発させた。この残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサンのみ - ヘキサン : エーテル = 1 : 1 に次いで、CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 100 : 1 ~ 50 : 1)により精製して、生成物(3d)(14.12 g、79.7%)を得た。Rf(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1)0.35。

30

#### B. 10-フェニル-1-デカニルホスホジエステル(4d)

(4e)について記述の方法と同じ方法により、このリン酸エステル(3d)(12.27 g、11.65 mmol)から調製した(10.52 g、90.3%)。Rf(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1)0.15。

#### C. MS-323(5d)

濃HCl(微量金属等級、15 ml)中の(4d)(10.50 g、10.50 mmol)およびエーテル(15 ml)の混合物を、室温で一晩攪拌し、そしてエーテルを真空下にて蒸発させた。得られた水層(pH < 0)に、濃NH<sub>4</sub>OHを添加して、そのpHを1.5に調整した。沈殿した白色固形物を濾過により集め、そして希HCl溶液(pH 1.5、3回、各100 ml)およびエーテル(3回、各200 ml)で洗浄した。この白色固形物を、ポンプ圧下にて室温で24時間乾燥して、純粋な生成物(5d)を得た(6.80 g、90.0%)。<sup>31</sup>P-NMR(D<sub>2</sub>O+NaOD、pH = 13.5)d4.9。

40

#### 実施例 5

##### MS-325 - (2) - (3e) - (4e) - (5e)の調製

#### A. 4,4-ジフェニルシクロヘキシルオキシリン酸エステル(3e)

シリカゲルカラムクロマトグラフィー溶媒(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>のみ - CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 100 : 1)(2.97 g、55.4%)を使用したこと以外は、(3d)について記述した方法と同じ方法により、精製したホスホロアミダイト中間体(2)(4.52 g、5.00 mmol)から調製した。

50



B. 4,4-ジフェニルシクロヘキシルホスホジエステル(4e)

(3e) (2.14 g、2.00mmol) の 2 M  $\text{NH}_3$ -MeOH(30ml) 溶液を、室温で 5 時間攪拌した。この溶媒を蒸発させ、その残留物(4e) (2.00 g、98.3%) を、さらに精製することなく、次の反応に使用した。Rf( $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 10 : 1) 0.12。

C. MS-325(5e)

濃HCl(微量金属等級、5 ml)中の(4b) (2.00 g、1.96mmol) およびエーテル(5 ml)の混合物を、室温で一晩攪拌した。この溶媒を蒸発により除き、その残留物を、 $\text{H}_2\text{O}$ (100ml)と共に粉碎した。得られた沈殿物を濾過し、そして $\text{H}_2\text{O}$ (5回、各10ml)およびエーテル(5回、各50ml)で洗浄した。この固体生成物を、ポンプ圧下にて室温で24時間乾燥して、純粋な生成物(5b)を得た(1.18 g、81.5%)。 $^{31}\text{P}$ -NMR( $\text{D}_2\text{O}$  + NaOD、pH=13.5) d-0.3。

10

実施例 6MS-328 - (2) - (3f) - (4f) - (5f) の調製A. 4,4-ビス(4-メトキシフェニル)ペンチルリン酸エステル(3f)

(3d)について記述した方法と同じ方法により、粗ホスホロアミダイト(2) 32.5 g (36mmol) および4,4-ビス(4-メトキシフェニル)ペンタノール(21.06 g、70mmol)から調製した。50% EtOAc/ヘキサン中にてクロマトグラフィーを行って、黄色のオイル18.27 gを得、これは、出発アルコールで著しく汚染されていた。Rf(50% EtOAc/ヘキサン) 0.4。

B. 4,4-ビス(4-メトキシフェニル)ペンチルホスホロジエステル(4f)

(4e)について記述の方法と同じ方法により、(3f) (18.27 g)の溶液を調製した(17.26 g)。

C. MS-328(5f)

(5a)について記述の方法と同じ方法により、(4f) (17.26 g)から調製して、白色固形物(4.87mmol、ホスホロアミダイトからの収率13%)を得た。 $^{31}\text{P}$ -NMR( $\text{D}_2\text{O}$ ) d2.3。

20

実施例 7

5a(MS-315) (200mM、5 mL) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩のその場での調合  
酸化ガドリニウム( $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ) (0.181 g、0.5mmol)、化合物(5a) (92重量%、0.703 g、1.05mmol) およびN-メチルグルカミン(NMG) (4.1 g、3.6mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水(3.5mL)を添加し、この混合物を95 で7時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、5.0mLに調整した。この溶液を2ミクロンのフィルターで濾過して、表題化合物の水溶液を得た。

実施例 8

5b(MS-317) (200mM、4 mL) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩のその場での調合  
酸化ガドリニウム( $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ) (0.145 g、0.4mmol)、化合物(5b) (81重量%、0.706 g、0.84mmol) およびN-メチルグルカミン(NMG) (0.60 g、8.1mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水(3 mL)を添加し、この混合物を95 で6時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、4.0mLに調整した。この溶液を2ミクロンのフィルターで濾過して、表題化合物の水溶液を得た。

30

実施例 9

5c(MS-322) (200mM、4 mL) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩のその場での調合  
酸化ガドリニウム( $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ) (0.145 g、0.4mmol)、化合物(5c) (79重量%、0.729 g、0.84mmol) およびN-メチルグルカミン(NMG) (0.61 g、3.1mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水(3 mL)を添加し、この混合物を95 で6時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、4.0mLに調整した。この溶液を2ミクロンのフィルターで濾過して、表題化合物の水溶液を得た。

40

実施例 10

5e(MS-325) (200mM、5 mL) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩のその場での調合  
酸化ガドリニウム( $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ) (0.181 g、0.5mmol)、化合物(5e) (95重量%、0.820 g、1.05mmol) およびN-メチルグルカミン(NMG) (0.68 g、3.5mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水(3.5mL)を添加し、この混合物を95 で6時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、5.0mLに調整した。この溶液を2ミクロンのフィルターで濾過して、表題化合物の水溶液を得た。

50

実施例11

5f (MS-328) (200mM、5 mL) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩のその場での調合  
 酸化ガドリニウム ( $Gd_2O_3$ ) (0.181 g、0.5mmol)、化合物 (5e) (97重量%、0.850 g、1.05mmol) およびN-メチルグルカミン (NMG) (0.62 g、3.2mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水 (3.5mL) を添加し、この混合物を95 で6時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、5.0mLに調整した。この溶液を2ミクロンのフィルターで濾過して、表題化合物の水溶液を得た。

実施例125b (MS-317) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩の調製

酸化ガドリニウム ( $Gd_2O_3$ ) (0.50 g、1.38mmol)、化合物 (5b) (87重量%、1.87 g、2.5mmol) およびN-メチルグルカミン (NMG) (1.53 g、7.8mmol) を、試験管中で重量測定した。脱イオン水 (8 mL) を添加し、次いで、この混合物を95 で6時間攪拌し、その後、この溶液を室温まで冷却し、その容量を、脱イオン水を用いて、9.0mLに調整した。この溶液を10-g Sep-Pak (登録商標) カラムに充填し、そして水で溶離した。減圧下にて、溶媒を蒸発させ、その固体状の白色ガラス状残留物を、高真空下にて48時間乾燥した。収量：3.50 g (2.48mmol、99%)。 ( $NMGH^+$ )<sub>3</sub>[Gd( $5e^{5-}$ )(H<sub>2</sub>O)] (C<sub>47</sub>H<sub>91</sub>GdN<sub>6</sub>O<sub>30</sub>P) の分析計算値：C、40.08；H、6.51；N、5.97；Gd、11.16。実測値：C、40.24；H、6.69；N、5.88；Gd、10.11。

10

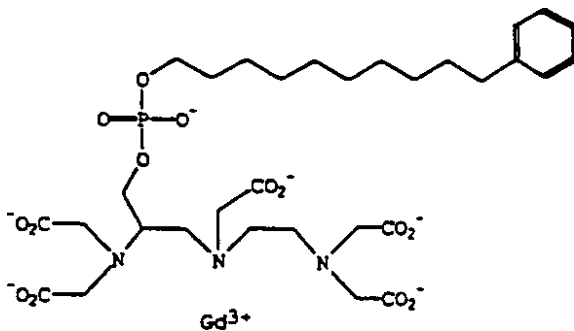
実施例135d (MS-323) のガドリニウム錯体のN-メチルグルカミン塩の調製

塩化ガドリニウム六水和物 ( $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ ) (2.11 g、5.68mmol)、化合物 (5d) (74重量%、5.82 g、5.98mmol) およびN-メチルグルカミン (NMG) (6.06 g、31mmol) を、50mL丸底フラスコ中で重量測定した。脱イオン水 (16mL) を添加し、次いで、この混合物を95 で4時間攪拌し、そして室温まで冷却した。この溶液をC-18カラム (200 g) に充填し、そして水-メタノールの1：1混合物で溶離した。減圧下にて、溶媒を蒸発させ、白色ガラス状固形物を得た。収量：8.0 g (5.41mmol、95%)。 ( $NMGH^+$ )<sub>3</sub>[Gd( $5d^{5-}$ )(H<sub>2</sub>O)] (C<sub>52</sub>H<sub>100</sub>GdN<sub>6</sub>O<sub>30</sub>P) の分析計算値：C、42.27；H、6.82；N、5.69；Gd、10.64。実測値：C、42.04；H、7.03；N、5.83；Gd、9.55。

20

実施例14

以下の造影剤は、HSAへの結合が95%以上である：

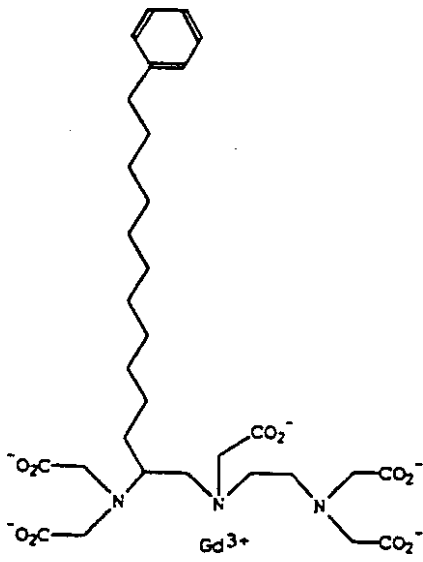


30

**MS-323**

それは、以下の類似物よりも、100%以上高いAUC濃度 (0 ~ 10分間) を有することが明らかである：

40



---

フロントページの続き

- (72)発明者 スコット, ダニエル エム.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01720, アクトン, ナイランダー ウェイ 42
- (72)発明者 ローファー, ランドール ビー.  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02146, ブルックリン, サムナー ロード ナンバー  
2 23

審査官 伊藤 清子

- (56)参考文献 特開2006-342181(JP, A)  
特開平5-50307(JP, A)  
特開2004-026793(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A61K 49/00 - 04  
REGISTRY(STN)  
CAplus(STN)