

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：95106893

※ 申請日期：95.3.1

※IPC 分類：C07C229/36, 229/76

一、發明名稱：(中文/英文)

以環烷基三胺基五羧酸化合物作為配位子之具順磁性金屬錯合物/
Cycloalkyl triamine pentacarboxylate as ligands for paramagnetic metal complexes

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

高雄醫學大學 / KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY

代表人：(中文/英文)

王國照 / WANG, GWO-JAW

住居所或營業所地址：(中文/英文)

807 高雄市三民區十全一路100號 / No. 100, Shih-Chuan 1st Road, San Ming District, Kaohsiung City, Taiwan, ROC

國籍：(中文/英文)

中華民國 / TW

三、發明人：(共3人)

姓名：(中文/英文)

王雲銘

邱芝瑋

劉金昌

國籍：(中文/英文)

均為 中華民國 / TW

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明提供一種環烷基三胺基五羧酸化合物，其可與順磁性金屬離子配位而形成具有高穩定性的金屬錯合物，該金屬錯合物可作為磁振造影對比劑。

六、英文發明摘要：

The present invention provides a cycloalkyl triaminepentaacetate coordinating to metal ion to form high stability metal complexes in serum. The metal complexes of the present invention can be used as contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI).

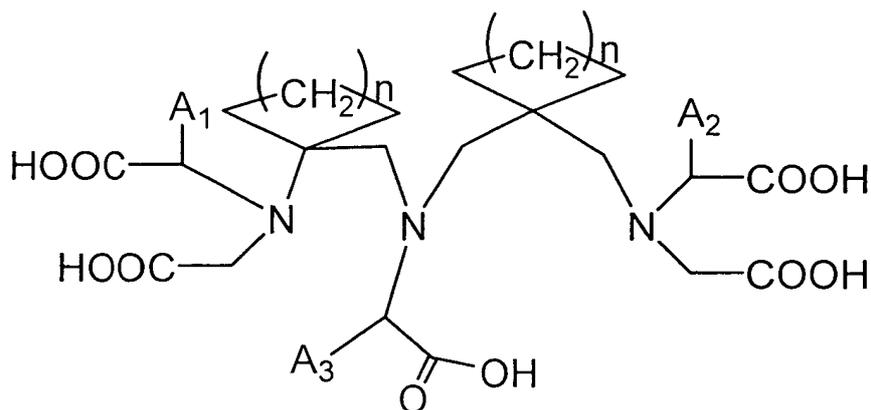
七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(一)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一新穎環烷基三胺基五羧酸化合物，及其進一步與一中心金屬離子反應而形成之具順磁性金屬錯合物，本發明尤其有關於利用此類順磁性金屬錯合物來作為磁振造影對比劑。

【先前技術】

由於磁振造影(Magnetic Resonance Imaging, MRI)技術之快速發展，近年來已成為疾病診斷的重要工具之一，為了更進一步提高磁振造影診斷的敏感性及準確性，發展安全、穩定具有高弛緩率的磁振造影對比劑即成為目前磁振造影研究的重要方向之一。一般磁振造影對比劑使用之金屬離子有 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 及 Gd^{3+} ，其中以 Gd^{3+} 使用最多，因 Gd^{3+} 具有七個未成對電子，有最大之磁矩(magnetic moment, μ_M)，但此金屬離子若滯留體內其毒性亦最大，故必須利用有機配位子使其形成穩定之錯合物以抑制其毒性。

在設計新磁振造影用之對比劑時，金屬錯合物之穩定度為重要考慮之因素，對比劑金屬錯合物在生物體內之穩定度，即意謂其排出體外前，滯留於體內期間之穩定性。如 Cacheris et al 等人於 1990 年 *Magn. Reson. Imag.*, 第 8 卷第 467 頁中揭示，釷金屬錯合物在生物體內之穩定度必須考慮下列三種因素：(1) 釷金屬錯合物的熱力學穩定常數，即有機配位子在完全去質子化的狀態下與釷金屬離子之親

合力 (Affinity)。(2) 釷金屬錯合物的條件化穩定常數 (Conditional Stability Constant)，即釷金屬錯合物在生物體內生理酸鹼值條件下之穩定常數。(3) 有機配位子對於釷金屬離子之選擇常數 (Selectivity Constant)，由於生物體內存在有鈣、鋅、銅及鐵等金屬離子，這些金屬離子會和釷金屬離子互相競爭有機配位子，若有機配位子對於釷金屬離子的選擇性較差，則釷金屬離子可能會從釷金屬錯合物中被釋放出。

金屬錯合物之弛緩率亦是做為磁振造影對比劑之必要條件之一。一般而言，影響弛緩率之因素可由式 (1) 示之。

$$r_1 \approx q(\mu_{\text{eff}})^2 \tau_c / r^6 \quad (1)$$

其中 q 為內層水分子數， μ_{eff} 為金屬離子的有效磁矩 (針對釷金屬錯合物 $\mu_{\text{eff}}=0.94$ Bohr Magneton，如 Cotton, F.A.W. 等人於 1982 年 *Advanced Inorganic Chemistry* (New York: Wiley.) 第 4 卷第 23 章所揭示， τ_c 為在固定磁場下一順磁性物質之相關時間 (correlation time)， r 為金屬離子至內層水分子之質子的距離 ($r = 2.50 \pm 0.04$ Å (埃) 針對 $\text{Gd}^{3+}\text{OH}_2$ 系統 (如 Schauer C.K.A. 等人於 1989 年 *J. Chem. Soc., Dalton Trans* 第 185 頁所揭示)，對於具有相似官能基之釷金屬錯合物而言， μ_{eff} 及 r 值可視為定值，所以 q 值和 τ_c 為影響弛緩率之主要因素。

相關時間 (τ_c) 主要受到下列三種因素影響 (1) 分子

轉動相關時間 (molecular rotational correlation time, τ_r) ,
 (2) 電子縱向及橫向自旋弛緩時間 (electron longitudinal
 and transverse spin relaxation time, $T_{1,2e}$) 及 (3) 內層水
 分子存在時間或其交換速率 (water residence lifetime or
 exchange rate, $\tau_m^{-1} = k_{ex}$)。如 Tóth, E. 等人於 2001 年 *Coord.*
Chem. Rev 第 216-217 卷第 363 頁所揭示, 其關係如式(2)
 所示:

$$\tau_c^{-1} = \tau_r^{-1} + T_{ie}^{-1} + \tau_m^{-1} \quad i = 1, 2 \quad (2)$$

當相關時間 τ_c 之值等於質子拉莫頻率倒數之值時, 其弛緩
 率可達極大值。因此可推算出在磁場為 0.5 T (21 MHz ^1H
 frequency) 時, τ_c 之最佳值為 7.4 ns; 磁場為 1.5 T (64.5 MHz)
 時, τ_c 之最佳值為 2.5 ns。Luz Z.M. 等人於 1964 年 *Chem Phys.*
 第 40 卷第 2686 頁中提出縱向弛緩率主要與鍵結溶媒分子
 之縱向弛緩時間 (longitudinal relaxation of bound solvent
 molecule, T_{1m}) 及 τ_m 有關, 其關係如式 (3) 所示:

$$r_1 = \frac{1}{T_1} = \frac{qP_m}{T_{1m} + \tau_m} \quad (3)$$

其中, P_m 為鍵結溶媒分子之莫耳分率 (mole fraction)。
 由此一公式可知, 若水分子的交換速率很快, 亦即 $\tau_m \ll$
 T_{1m} , 則 r_1 主要與鍵結溶媒分子之弛緩率 ($1/T_{1m}$) 有關。
 因此, 要達到較高的弛緩率一般皆要求釷金屬錯合物之 τ_m
 值要很短。然而, 假如 τ_m 值太短, 則 T_{1m} 將開始受到 τ_m 的

影響，所以 τ_m 值並不是無限制的縮短就會使其弛緩率愈高。Caravan, P.E. 等人於 1999 年 Chem Rev. 第 99 卷第 2293 頁中揭示，在模擬 $q = 1$ 和 $r = 3.1 \text{ \AA}$ 的條件下 T_{1e} 、 τ_r 及 τ_m 在兩個臨床上最常使用到之磁場（0.5 T 及 1.5 T）下對弛緩率之影響，其結果可推得 τ_m 之理論最佳值為 10 ns。

一般而言，磁場的增加會使其 T_{1e} 增長，由 Caravan, P.E. 等人於 1999 年 Chem Rev. 第 99 卷第 2293 頁中揭示的研究中可發現，在磁場強度 0.5 T 下， T_{1e} 對其弛緩率有很大之影響，然而，在磁場強度 1.5 T 下， T_{1e} 對其弛緩率卻沒有很明顯之影響，亦即在較高之磁場下弛緩率只要是受到 τ_r 及 τ_m 的影響。 τ_m 之最佳值在上一段已提過，其值約為 10 ns，至於 τ_r 之最佳值約為 20 ns。目前，所有已上市之磁振造影對比劑，其縱向弛緩率皆距離理論最高值有一段差距，主要是因為這些對比劑之分子轉動過於快速所造成。

新一代的磁振造影對比劑是將小分子（低分子量）之金屬錯合物，如 Brasch R.C. 於 1991 年 Magn. Reson. Med. 第 22 卷第 282 頁所述 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 或 $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ 與高分子量之物質結合（conjugation），期能改變其生物物理學（biophysical）及藥理學（pharmacological）之特性。從生物物理學之觀點，小分子之釷金屬錯合物若與聚合的物質（polymeric）結合，將會使得整個分子的轉動變慢而使弛緩率增加。另外，若將釷金屬錯合物與特殊組織目標化之部分（tissue-specific targeting moieties）結合，此一聚合之結合物將藉由許多之攜帶者（carrier）將釷金屬錯合物帶

往低濃度之受體 (receptors) , 使得受體能夠在核磁共振下被顯影出來。除此之外, 高分子量之結合物由於分子較大, 因此能夠停留在血管中較長的時間, 所以適合用在血池造影。

Micskei K.H. 等人於 1993 年 *Inorg. Chem.* 第 32 卷第 3844 頁揭示由於 $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ 之 τ_m 值為 303 ns, 遠大於 τ_m 之最佳值, 且其 τ_r 值為 59 ps 如 Laurent S.E. 等人於 2000 年 *Helv. Chim. Acta* 第 83 卷第 394 頁所述, 遠小於 τ_r 之最佳值, 因此目前此一領域之科學家們皆積極地尋找具有快速水分子交換速率以及慢速轉動之的金屬錯合物, 希望藉此能提高金屬錯合物之弛緩率 (r_1) 。

1985 年時, 科學家們開始設法降低對比劑分子轉動之速度用以增加弛緩率如 Lauffer R.B. 等人於 1987 年 *Chem. Rev.* 第 87 卷第 901 頁, 與 Aime S.A. 等人於 1992 年 *Inorg. Chem.* 第 31 卷第 2422 頁中揭示利用含苯環或較多羥基的巨大官能基取代 DOTA 結構中其中一個羧酸基, 將其與 Gd^{3+} 結合形成金屬錯化合物, 其 r_1 值分別為 4.03、4.33、4.49 及 5.19 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 均高於 $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ (3.56 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)。由此一結果可知, 有機配位子的分子量愈大, 由於會增加其 τ_r 值因而使得其 r_1 值上升。

文獻上有許多方法可以將釷金屬錯合物鍵結 (linking) 至高分子量之物質 Brinkley M. 於 1992 年 *Bioconjugate Chem.* 第 3 卷第 2 頁中揭示, 其中較常使用到的方法包括醯基化反應 (acylation)、烷基化反應 (alkylation)、尿素

(Ureas) 形成法及胺基化 (amination) 的還原等方法。目前文獻上最常用來與高分子量物質結合的試劑，包含 DTPA 本身或其衍生物以及 DTPA-雙酐 (DTPA-dianhydride)。利用高分子量物質上之一級胺 (primary amine) 來與 DTPA 本身或其衍生物或 DTPA-雙酐反應，藉由醯胺鍵 (amide bond) 的形成，即能將有機配位子與高分子量物質結合。如 Sieving P.F.W. 等人於 1990 年 *Bioconjugate Chem.* 第 1 卷第 65 頁揭示利用不同分子量之多離氨基酸 (polylysine) 與 DTPA-雙酐及 DTPA 之衍生物反應，然而利用 DTPA-雙酐與蛋白質結合很容易產生交叉鍵結 (cross-linking) 之情形，因此 Spanoghe M.L. 等人於 1992 年 *Magn. Reson. Imaging* 第 10 卷第 913 頁揭示利用 *N*-hydroxysuccinimide 與 DTPA 反應形成一 *N*-hydroxysuccinic ester 即可避免交叉鍵結之情況發生。DTPA-(*N*-hydroxysuccinic ester) 不但可以與蛋白質形成共價鍵結，Paxton R.J.J. 等人於 1985 年 *Cancer Res.* 第 45 卷第 5694 頁揭示更利用 DTPA-(*N*-hydroxysuccinic ester) 與單株抗體 (monoclonal antibody) 形成共價鍵結，藉由此一攜帶者便能將對比劑帶到 anticarcinoembryonic 之抗原 (antigen) 上。不過，此一合成方法會形成醯胺鍵，亦即會減弱此一有機配位子與釷金屬離子之鍵結能力。為了克服此一問題，Aime S. 等人揭示將 DO3A (1,4,7-trikis(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane) 與蛋白質利用金屬方酸鹽 (squarate) 當作鍵橋 (linker) 來形成共價鍵結 (1999 年

Bioconjugate Chem.第 10 卷第 192 頁) , 除了希望能增加其金屬錯合物之穩定度之外, 亦希望分子量的提高而增加其釷金屬錯合物之弛緩率, 並藉由與蛋白質共價鍵結達到具有特殊生物活性之功效。

由於大部分之磁振造影對比劑能目標化至病灶(如受體或抗原)之濃度只有奈摩爾(nanomolar)之量, 此一濃度在受體-誘發磁化量增加(receptor-induced magnetization enhancement, RIME)運用在磁振造影方面而言太低, 所以近幾年來陸續有科學家利用酵素來活化釷金屬錯合物, 這是增加對比劑在目標化位置濃度的一種趨近方法。此一方法除了能增加弛緩率之外, 還能提高目標位置-背景值(target-to-background)之比值。Moats R.A.F.等人於 1997 年 Chem. Int. Engl.第 36 卷第 726 頁揭示將大環有機配位子其中之一官能基接上半乳喃糖(galactopyranose), 合成出釷半乳喃糖甘(Egad:4,7,10-tri(aceticacid)-1-(2- β -galactopyranosylethoxy)-1,4,7,10-tetraagacyclododecane) gadolinium(III)), 由於此時半乳喃糖甘(Egad)是以九配位之形式與釷金屬離子結合, 因此釷半乳喃糖甘(Egad)之內層水分子數為 0.7; 當釷半乳喃糖甘(Egad)進入生物體內遇到半乳糖酵素(β -galactosidase enzyme, β -gal)時, 可將半乳喃糖甘(Egad)中之半乳喃糖水解除去, 此時並可鍵結上 1.2 個內層水分子, 使其磁振造影信號增強。

Nivorozhkin A.L.K.等人於 2001 年 Angew. Chem. Int.

Ed.第 15 卷第 2903 頁揭示合成出受體-誘發磁化量增加的前趨物 (Pro-RIME)，此一試劑主要是由四個部分所組成：1)三段離氨基酸 (lysine) 所組成之掩蔽部位；2)HSA 鍵結部位；3)氨基乙酸 (glycine) 連結部位及 4)訊號產生部位。其作用機制如下：最外層之離氨基酸能夠輕易地被一種人類羧化脞 (human carboxypeptidase B) 凝血纖維蛋白溶解抗化劑 (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI) 所裂解。一旦三段離氨基酸均被裂解，所裸露出來之脂溶性芳香族便能與 HSA 產生強大之鍵結力，因得到較高之弛緩率。

Fulvio U.等人於 1995 年 Inorg. Chem.第 34 卷第 633 頁揭示合成出一新型磁振造影對比劑 $[\text{Gd}(\text{BOPTA})]^{2-}$ ，可與鈦金屬形成穩定之錯合物，且弛緩率為 $4.39 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 高於 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 的 $3.77 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。研究發現其內層水分子存在時間 (τ_m) 為 289 ns，明顯高於理論計算最佳值的 10 ns。而 $[\text{Gd}(\text{BOPTA})]^{2-}$ 與人類血清蛋白之鍵結弛緩率為 $33.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 也低於 MS-325 之 $47.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。

Marina A.等人於 2000 年 12 月 19 日於美國專利局第 6162947 號專利揭示 $[\text{Gd}(\text{BOPTA})]^{2-}$ 之合成方法，專利中詳細敘述 $[\text{Gd}(\text{BOPTA})]^{2-}$ 之各種合成方法及其優缺點，最後總結了一個合成 $[\text{Gd}(\text{BOPTA})]^{2-}$ 之最佳路徑。

Silvio A 等人分別於 1996 年 JBIC 第 1 卷第 312 頁與 1999 年 JBIC 第 4 卷第 766 頁揭示 $[\text{cis-Gd}(\text{DOTA-BOM}_2)]^-$ ， $[\text{trans-Gd}(\text{DOTA-BOM}_2)]^-$ ， $[\text{Gd}(\text{DOTA-BOM}_3)]^-$ ，

$[\text{Gd}(\text{DTPA}-\text{BOM}_3)]^{2-}$ 與 MS-325 之熱力學鍵結常數 (K_A) 分別為 $3.2 \pm 0.4 \times 10^2$, $3.6 \pm 0.4 \times 10^2$, $1.7 \pm 0.1 \times 10^3$, $4.0 \pm 0.3 \times 10^4$ 與 $3.0 \pm 0.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, 鍵結弛緩率 (r_1^b) 則分別為 35.7, 44.2, 53.2, 44.0 與 $47.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 研究發現含有越多之苄氧甲基, 其熱力學鍵結常數與鍵結弛緩率也越高。

Silvio A 等人於 2004 年 *Inorg. Chem.* 第 43 卷第 7588 頁合成出新一代的磁振造影對比劑 $[\text{Gd}(\text{AAZTA})]^-$, 其結構含有三個氮原子與四個羧酸基, 可與釷金屬形成七配位之錯合物, 由 Dy(III) 金屬離子誘導水中 ^{17}O 核種之化學位移變化 (d.i.s.), 可求得其內層水分子數 $q = 2$, 而在 20MHz, 298K 下所求得之弛緩率為 $7.1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, 明顯高於 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ ($3.89 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)。而在熱力學穩定性方面, $[\text{Gd}(\text{AAZTA})]^-$ ($\log K_{\text{GdL}} = 19.26$) 雖然低與 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ ($\log K_{\text{GdL}} = 22.46$), 但卻高於 $[\text{Gd}(\text{DTPA}-\text{BMA})]$ ($\log K_{\text{GdL}} = 16.85$), 顯示其穩定性足夠用於 MRI 磁振造影對比劑。而由 NMRD 數據, 可求得 $\tau_r = 74 \text{ ps}$, $\tau_M = 90 \text{ ns}$, 另外經由理論計算, 當 τ_r 增加至 30ns 時, 其弛緩率可高達 $100 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。

目前經由美國食品藥品管理局 (FDA, Food and Drug Administration) 認可供臨床使用靜脈注射之磁振造影對比劑有 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ (gadopentetate dimeglumine)、 $[\text{Gd}(\text{DOTA})]^-$ (gadoterate meglumine)、 $[\text{Gd}(\text{DTPA}-\text{BMA})]$ (bis-methylamide) (gadodiamide injection)、 $[\text{Gd}(\text{HP}-\text{DO3A})]$ (gadoteridol)、 $[\text{Gd}-\text{BOPTA}]^{2-}$ (gadobenate dimeglumine) 及

MnDPDP(Teslascan)等六種。此六種為細胞外對比劑(extracellular agent)，其中[Gd(DTPA-BMA)]與[Gd(HP-DO3A)]為非離子性(nonionic)對比劑，[Gd(DTPA)]²⁻、[Gd(DOTA)]⁻、[Gd-BOPTA]²⁻及MnDPDP為離子性(ionic)對比劑，[Gd(DOTA)]⁻與[Gd(HP-DO3A)]具有大環結構(macrocyclic)，而MnDPDP、[Gd(DTPA)]²⁻、[Gd(DTPA-BMA)]與[Gd-BOPTA]²⁻為直鏈結構(open-chained)。

Wang等人曾合成二乙基三胺五羧酸(DTPA)之衍生物三羧甲基三胺十二烷二酸(TTDA, 3,6,10-tri-(carboxymethyl)-3,6,10-triazadodecanedioic acid)、並研究此一配位子對Gd³⁺、Zn²⁺、Ca²⁺及Cu²⁺等金屬錯合物之物性與化性，結果顯示鈆三羧甲基三胺十二烷二酸([Gd(TTDA)]²⁻)具備較[Gd(DTPA)]²⁻更佳之物性及化性，所以有潛力作為磁振造影對比劑(如Y. M. Wang等人於1998年J. Chem. Soc., Dalton Trans.第4113-4118頁中揭示)。

因此，鑑於目前磁振造影對比劑之不穩定與其潛在毒性，急需開發直鏈且具有高熱力學及動力學穩定性及快速水交換速率之高弛緩率的金屬錯合物來做為磁振造影對比劑。

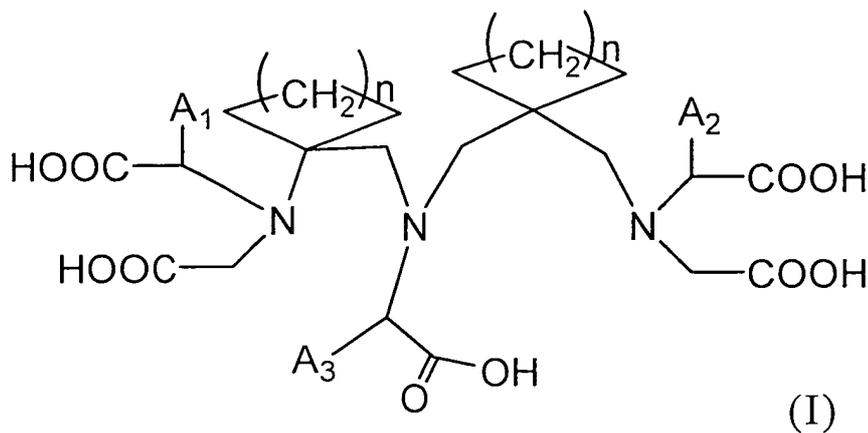
職是之故，申請人鑑於習知技術中所產生之缺失，乃經悉心試驗與研究，並一本鍥而不捨之精神，終構思出本發明之「以環烷基三胺基五羧酸化合物作為配位子之具順磁性金屬錯合物」，以下為本發明之簡要說明。

【發明內容】

本發明係關於環烷基三胺基五羧酸基化合物，且以此化合物進一步與一中心金屬離子反應而合成出與血清具有高弛緩率的金屬錯合物，特別有關於一種利用此類順磁性金屬錯合物來作為磁振造影之對比劑。

本發明之次要目的係揭示一種可用作為一磁振造影對比劑具有高弛緩率之順磁性金屬錯合物。

本發明之一構想係提供一種環烷基三胺基四羧酸基化合物，其如下列化學式(I)所示：



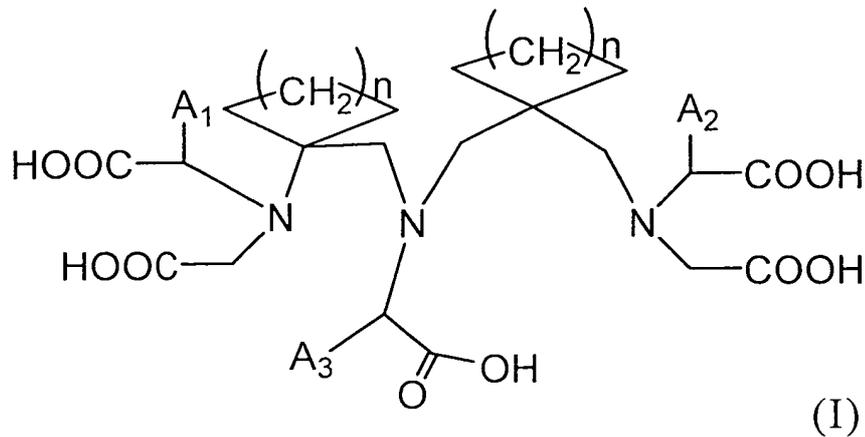
其中 A_1 、 A_2 以及 A_3 為能與具生物相容性之大分子結合之取代基。

依據本發明之一實施例，其中 n 為 1 至 3。

依據本發明之另一實施例，其中 A_1 、 A_2 及 A_3 係分別選自由甲基 (methyl)、苯甲基 (benzyl)、甲氧基苯甲基 (2-methoxybenzyl) 及雙苯甲基 (diphenylmethyl)、異硫氰酸苯甲基 (isothiocyanato-benzyl) 及 3,5-雙碘-4-氫氧苯甲基 (3,5-diiido-4-hydroxybenzyl) 所組成之群組之一。

本發明之另一構想係提供一種可用作為磁振造影對比

劑之具順磁性之金屬錯合物，具有 ML 的化學結構，其中該 M 為中心金屬離子，其係選自由鑰系金屬、錳、鐵、鈷、銅、鎳、及鉻金屬離子所組成之族群之一，以及該 L 為一有機配位子，其具有如下所示之化學式：



其中 A_1 、 A_2 以及 A_3 為能與具生物相容性之大分子結合之取代基。

依據本發明之一實施例，其中該金屬離子為鈦(+3 價)，鐵(+3 價)或錳(+2 價)。

較佳者，其中該金屬離子為鈦(+3 價)。

依據本發明之另一實施例，其中 $n=1\sim 3$ 。

依據本發明之另一實施例，其中 A_1 選自由苯甲基 (benzyl)、異硫氰酸苯甲基 (isothiocyanato-benzyl) 和 3,5-雙碘-4-氫氧苯甲基 (3,5-diiodo-4-hydroxybenzyl) 所組成之群組之一。

依據本發明之另一實施例，其中 A_2 及 A_3 分別為苯甲氧甲基 (benzyloxymethyl, BOM) 或 H 原子。

依據本發明之另一構想，本發明所提供之環丁基三胺基五羧酸基化合物擁有的特性：

1. 對於釷金屬錯合物有較高的選擇性。
2. 藉著含有環丁基以增加結構之剛硬性，提高釷金屬錯合物之穩定度。
3. 其釷金屬錯合物具有較快之水交換速率及弛緩率。

為了易於說明，本發明得藉由下述之較佳實施例及圖示而得到充分瞭解，並使得熟習本技藝之人士可以據以完成之，然本發明之實施型態並不限於下列實施例中。

【實施方式】

如化學式(I)所示之環丁基三胺基五羧酸化合物CB-TTDA之合成方法係如第1圖所示，取氰乙酸甲酯(methyl cyanoacetate)於10至20°C下，加入1,8-二氮雜雙環[5,4,0]十一烯(1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene)，加熱至50°C後，持續反應15分鐘。在冰浴下(-5至-10°C)加入1,3-二溴丙烷(1,3-dibromopropane)，於25°C反應15分鐘後，再將溫度升至70°C，反應30分鐘。待反應結束後，以減壓濃縮將溶液抽乾，加入二氯甲烷與去離子水萃取。收集有機層並以減壓濃縮機抽乾，再透過矽膠管柱層析法，以丙酮：己烷=8：1沖提，收集沖提液，以減壓濃縮抽乾後可得化合物(1)之1-氰基-環丁基羧酸甲酯(1-cyano-cyclobutylcarboxylic acid methyl ester)。

取化合物(1)溶於甲醇，慢慢滴入乙二胺(ethylenediamine)，置於室溫下反應15小時。反應結束後，以減壓濃縮將溶液抽乾可得黃色油狀物，並以陽離子交換樹脂進行純化。可得產物化合物(2)之1-氰基-環丁基羧

101年9月26日修(更)正替換頁

酸 -2- 胺基乙基 - 醯胺 (1-cyano-cyclobutylcarboxylic acid(2-amino-ethyl)amide) 。

取化合物(2)與無水的四氫呋喃 (tetrahydrofuran , THF) , 在冰浴 (-10 °C) 及氮氣存在下 , 加入甲硼烷-四氫呋喃 (BH₃-THF) , 於 -5~0 °C 下反應1小時後 , 將溫度加熱至70 °C , 並反應36小時。反應結束後 , 以減壓濃縮將溶液抽乾。將抽乾之固體加入乙醇和鹽酸 , 加熱迴流反應12小時。反應結束後 , 以減壓濃縮將溶液抽乾可得黃色油狀物 , 以陽離子交換樹脂進行純化 , 所得產物即為化合物(3)之 1- 胺基甲基 - 環丁基 - 甲基 - 乙烷 -1,2- 二胺 (N'-((1-(aminomethyl)-cyclobutyl)methyl)ethane-1,2-diamine) 。

取化合物(3)溶於氰甲烷 (CH₃CN) 中 , 加入碳酸鉀 (K₂CO₃) 並反應 1 小時後 , 再加入三級丁基溴乙酸 (BrCH₂COOt-Bu) 加熱迴流 48 小時 , 並將反應混合物過濾 , 將濾液以減壓濃縮抽乾。加入氯仿及水進行萃取 , 取其氯仿層並將之抽乾 , 加入鹽酸於室溫下反應 24 小時。反應結束後 , 以減壓濃縮將溶液抽乾後 , 以陰離子交換樹脂進行純化 , 可得化合物(4)之產物 8-環丁基-3,6,10,三羧基甲基 -3,6,10- 三氮十二烷二酸 (8-cyclobutyl-3,6,10-tri-(carboxymethyl)-3,6,10-triazadodecanedioic acid , 即 CB-TTDA) 。

將 0.2 毫莫耳環丁基三胺基五羧酸化合物 CB-TTDA 與 0.25 毫莫耳氯化釷混合 , 並加入去離子水 , 加熱迴流反應

後，將溶液 pH 分段調整後過濾，再將溶液抽乾，即可析出無色晶體釷環丁基三胺基五羧酸錯合物 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 。

依序以去離子水等溶液萃取，係指使用去離子水及乙酸乙酯萃取，或係選用去離子水及三氯甲烷進行萃取，亦可選用去離子水、碳酸氫鈉及飽和食鹽水萃取，隨產物之性質而調配。將溶液 pH 分段調整，係將溶液 pH 先調到 8 後讓固體呈現析出狀態，再將 pH 調到 7。

質子化常數之探討

將有機配位子 (H_nL) 加入鹼性溶液將其去質子化 (L^{n-}) 後，慢慢加入酸性溶液，此時去質子化之有機配位子將逐步與質子 (H^+) 結合形成質子化之型態。此一質子化之方程式如式 (4) 所示。

$$K_i^{\text{H}} = \frac{[\text{H}_i\text{L}]}{[\text{H}_{i-1}\text{L}][\text{H}]} \quad i=1,2,3,4 \quad (4)$$

有機配位子 CB-TTDA 在離子濃度 $I = 0.1 \text{ M Me}_4\text{NCl}$; 溫度 $T = 25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ 下利用自動滴定儀所求得之電位滴定曲線如第 2 圖所示。再利用 FORTRAN 電腦程式 PKAS 計算出 CB-TTDA 之質子化常數，與 TTDA 及 DTPA 有機配位子之質子化常數如表一所示。

表一

Equilibrium	$\log K_n^H$		
	CB-TTDA	TTDA	DTPA
$[\text{HL}]/[\text{L}][\text{H}]$	11.08(0.03)	10.60	10.49
$[\text{H}_2\text{L}]/[\text{HL}][\text{H}]$	9.17(0.05)	8.92	8.60
$[\text{H}_3\text{L}]/[\text{H}_2\text{L}][\text{H}]$	5.23(0.02)	5.12	4.28
$[\text{H}_4\text{L}]/[\text{H}_3\text{L}][\text{H}]$	3.11(0.04)	2.80	2.64
ΣpK_a	28.59	27.44	26.01

CB-TTDA, TTDA 及 DTPA 之質子化常數在 $I=0.1 \text{ M Me}_4\text{NCl}$; $T=25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$

在電位滴定曲線中，質子化常數之間的差距愈大，其曲線則呈現陡峭上升，另由滴定曲線上升的情形亦可估算質子化常數的大小。

請參閱第 2 圖，其顯示當 a 值（鹼滴定液之毫莫耳數/有機配位子之毫莫耳數）等於 3 時，曲線均呈現陡峭上升的現象，此乃由於 CB-TTDA 之第二質子化常數（ $\log K_2^H = 9.17$ ）與第三質子化常數（ $\log K_3^H = 5.23$ ）差距較大所造成。

第一質子化常數而言，CB-TTDA 比 TTDA (Y. M. Wang 等人於 2005 年 *Inorg. Chem.* 第 44 卷第 382 頁) 及 DTPA (P. Caravan 等人於 2001 年 *Inorg. Chem.* 第 40 卷第 2170 頁) 有機配位子高，主要是因為其在碳鏈骨架上多了環丁基之緣故，而第三質子化常數則與 TTDA 相似。以 ΣpK_a 而言，則是 $\text{CB-TTDA} > \text{TTDA} > \text{DTPA}$ 。

第一質子化常數而言，CB-TTDA 比 TTDA 及 DTPA 等有機配位子高，主要是因為其在碳鏈骨架上多了環丁基之緣故，而第三質子化常數則與 TTDA 相似。以 ΣpK_a 而言，

則是 $CB\text{-}TTDA > TTDA > DTPA$ 。

熱力學穩定常數之探討

目前利用電位滴定法有二種方法可以求得金屬錯合物之穩定常數：(1) 直接電位滴定法。先將金屬離子與配位子以 1:1 (莫耳數比) 混合，再以每次 0.005 毫升之 KOH 來滴定此混合溶液，將所求得之滴定數據利用 BEST 程式即可求得金屬錯合物之穩定常數。此法適用於金屬錯合物在低 pH 值時必須要有 25% 的解離。(2) 配位子-配位子競爭滴定法 (ligand-ligand competition titration)。此法是金屬離子、配位子及 EDTA 以 1:1:1 (莫耳數比) 混合，在滴定 pH 範圍內，鹼滴定液每點需間隔 10-15 分鐘使之平衡，所得滴定數據利用 BEST 程式即可求得金屬錯合物之穩定常數。此法適用於金屬錯合物在低 pH 值 (pH=2 時) 小於 25% 的解離。以本研究之釷金屬錯合物為例，在 pH=2 附近大部份無法和有機配位子形成錯合物，因此釷金屬錯合物之穩定常數必須(1)方法求得。穩定常數如方程式 (5) 所示。



M：金屬離子；L：有機配位子；ML：金屬錯合物。

利用電位滴定法在 $I = 0.1 \text{ M Me}_4\text{NCl}$; $T = 25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ 下求得 CB-TTDA 與 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 及 Cu^{2+} 等金屬離子形成錯

合物之電位滴定曲線如第 2 圖所示。再利用 FORTRAN 電腦程式 BEST 計算出 CB-TTDA 與金屬形成錯合物的熱力學穩定常數與 TTDA (Y. M. Wang 等人於 2005 年 Inorg. Chem. 第 44 卷第 382 頁)，及 DTPA (P. Caravan 等人於 2001 年 Inorg. Chem. 第 40 卷第 2170 頁) 與金屬形成錯合物的熱力學穩定常數如表 2 所示。

表 2

Parameter	log K_{ML}		
	CB-TTDA	TTDA	DTPA
[GdL]/[Gd][L]	20.28(0.03)	18.96	22.46
[CaL]/[Ca][L]	9.52(0.02)	9.13	10.75
log K_{CaHL}	6.24(0.02)	8.20	6.11
log K_{CaL} (pH=7.4)	4.06	4.42	6.43
[ZnL]/[Zn][L]	16.06(0.03)	16.03	18.70
log K_{ZnHL}	8.13(0.04)	7.80	5.60
log K_{ZnL} (pH=7.4)	10.60	11.32	14.38
[CuL]/[Cu][L]	17.71(0.02)	16.77	21.38
log K_{CuHL}	5.29(0.03)	5.69	4.81
log K_{CuL} (pH=7.4)	12.25	12.06	17.00
log K (Gd/Ca)	11.76	9.83	11.71
log K (Gd/Zn)	4.22	2.93	3.76
log K (Gd/Cu)	2.57	2.19	1.08
log K_{sel}	8.24	7.18	7.06
pGd	15.82	15.25	19.14
pCa	4.09	6.28	7.46
pZn	12.41	12.86	15.39
pCu	13.26	13.06	18.06

CB-TTDA, TTDA 及 DTPA 之金屬錯合物的穩定常數、條件化常數、選擇常數及修飾化選擇常數在 $I = 0.1 \text{ M Me}_4\text{NCl}$; $T = 25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$

$[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 之熱力學穩定常數低於

$[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ ，而高於 $[\text{Gd}(\text{TTDA})]^{2-}$ 。由此結果得知，碳鏈骨架上含環丁基可能會讓整個金屬錯合物結構更加剛硬（rigid），因而增加其穩定常數。由結果發現 CB-TTDA 與 Gd^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 及 Cu^{2+} 等金屬離子所形成錯合物之穩定常數，依序大小分別為 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ (20.28) > $[\text{Cu}(\text{CB-TTDA})]^{3-}$ (17.71) > $[\text{Zn}(\text{CB-TTDA})]^{3-}$ (16.06) > $[\text{Ca}(\text{CB-TTDA})]^{3-}$ (9.52)，其主要原因是和金屬離子的電荷密度（charge density, Z/r ）有關。一般而言，金屬離子的電荷密度愈大其金屬錯合物之穩定度愈高，由於 Gd^{3+} 的離子半徑為 1.247 埃（CN = 9）， Zn^{2+} 的離子半徑為 1.04 埃（CN = 8）， Ca^{2+} 的離子半徑為 1.26 埃（CN = 8）， Cu^{2+} 的離子半徑為 0.87 埃（CN = 6），因此電荷密度之順序為鈳金屬離子 > 銅金屬離子 > 鋅金屬離子 > 鈣金屬離子。此一順序與表二中金屬錯合物之穩定常數的順序一致。

條件化穩定常數之探討

要瞭解金屬錯合物在生物體內之穩定性，條件化穩定常數則比熱力學穩定常數較為重要，條件化穩定常數是指金屬錯合物在生物體內生理酸鹼值（ $\text{pH} = 7.4$ ）條件下之穩定常數。

金屬離子與有機配位子形成金屬錯合物之反應方程式可由下式表示之：



M：金屬離子，L：有機配位子，ML：金屬錯合物

條件化穩定常數之定義是指不同 pH 值條件下之穩定常數，其定義如方程式 (7)：

$$K_{cond} = \frac{[ML]}{[M]} \{ [L] + [HL] + [H_2L] + \dots \}^{-1} \quad (7)$$

而條件化穩定常數與熱力學穩定常數之關係如方程式 (8) 所示：

$$K_{cond} = K_{therm} \frac{[L]}{[L_T]} \quad (8)$$

L_T ：未發生錯合反應之有機配位子總濃度，如方程式 (9) 所示：

$$L_T = \{ [L] + [HL] + [H_2L] + \dots \} \quad (9)$$

將方程式 (8) 代入方程式 (9)：

$$\begin{aligned} K_{cond} &= K_{therm} \{ 1 + K_1^H [H^+] + K_1^H K_2^H [H^+]^2 + \dots \}^{-1} \\ &= K_{therm} \alpha_H \end{aligned} \quad (10)$$

其中 $\alpha_H = \{ 1 + K_1^H [H^+] + K_1^H K_2^H [H^+]^2 + \dots \}^{-1}$

由方程式 (5) 求得條件化穩定常數其大小依序分別為 $[Gd(DTPA)]^{2-}$ (18.14) > $[Gd(CB-TTDA)]^{2-}$ (15.83) > $[Gd(TTDA)]^{2-}$ (14.25)，表示 CB-TTDA 在 pH=7.4 的條件下，依然和鈹 (III) 金屬形成很穩定的錯化合物。

選擇常數之探討

磁共振造影對比劑之毒性，主要來自對比劑解離時產生游離之 Gd^{3+} 金屬離子。由於生物體內之金屬離子如 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 及 Cu^{2+} 等金屬離子會與釷金屬錯合物發生金屬交換反應，致使 Gd^{3+} 金屬離子游離出來，而與生物體內之配位子如胺基酸、檸檬酸或血清蛋白等形成錯合物，造成生理現象不平衡而產生毒性。

生物體內的鈣、鋅及銅等金屬離子中，鋅金屬離子為主要造成釷金屬錯合物在體內解離的最大因素，其原因是鋅金屬離子在血漿之濃度介於 $10\sim 50\mu M$ ，若與有機配位子形成穩定之金屬錯合物，則能進行取代反應釋出較多之釷金屬離子；銅金屬離子雖然可與有機配位子形成很穩定之金屬錯合物，但在血漿中的濃度僅有 $1\sim 10\mu M$ ，所以無法取代較多的釷金屬離子；至於鈣金屬離子在血漿中的濃度高達 $2.5\sim 4mM$ ，一般而言，鈣金屬離子與有機配位子所形成之金屬錯合物的穩定常數較低，因此無法將釷金屬離子從釷金屬錯合物中取代出。

選擇常數只是單獨探討釷金屬錯合物與鈣、鋅及銅金屬錯合物之間穩定常數的差異而已，但在生物體內同時有鈣、鋅及銅金屬離子的存在，於是要將 pH 值、有機配位子之質子化常數及其與釷、鈣、鋅及銅等金屬離子之穩定常數以及鈣、鋅及銅金屬離子濃度同時列入考慮中，因而可得到另一定義的選擇常數，稱之為修飾化選擇常數

(modified selectivity constants), 以 $K_{sel'}$ 表示之, 其公式如方程式 (11) 所示:

$$K_{sel'} = K_{therm}(\alpha_H^{-1} + \alpha_{CaL}^{-1} + \alpha_{CuL}^{-1} + \alpha_{ZnL}^{-1})^{-1} \quad (11)$$

$$\text{其中 } \alpha_H^{-1} = 1 + K_1^H[H^+] + K_1^H K_2^H[H^+]^2 + \dots \quad (12)$$

$$\alpha_{CaL}^{-1} = 1 + K_{CaL}[Ca^{2+}] \quad (13)$$

$$\alpha_{CuL}^{-1} = 1 + K_{CuL}[Cu^{2+}] \quad (14)$$

$$\alpha_{ZnL}^{-1} = 1 + K_{ZnL}[Zn^{2+}] \quad (15)$$

將鋅、鈣及銅等金屬離子在體內血漿中之濃度分別為 $50\mu\text{M}$ 、 2.5mM 及 $1\mu\text{M}$ 以及金屬錯合物之穩定常數, 即可計算出在 pH 7.4 條件時, 金屬錯合物之修飾化選擇常數。

化合物 CB-TTDA、TTDA 及 DTPA 與鈎、鋅、鈣和銅等金屬離子間之選擇常數及修飾化選擇常數如表 2 所示。由結果發現, $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 對鋅金屬離子間之選擇常數較 $[\text{Gd}(\text{TTDA})]^{2-}$ 、 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 高, 且 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 修飾化選擇常數皆大於 $[\text{Gd}(\text{TTDA})]^{2-}$ 及 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 。

鈎金屬錯合物動力學穩定性之探討

生物體內的鈣、鋅及銅等金屬離子中, 鋅金屬離子為主要造成鈎金屬錯合物在體內解離的最大因素, 在第 3 圖中, 將 2.5mM 的 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 及 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 置於 pH 7.4 的 PBS 緩衝液中, 分別加入 2.5mM 的 ZnCl_2 , 在 37

$\pm 0.1^\circ\text{C}$ 下反應，利用 20MHz 核磁共振光譜儀，於不同時間下測量其縱向弛緩時間 $T_1(t)$ ，其倒數為縱向弛緩速率 $R_1^P(t)$ ，以 $R_1^P(t)/R_1^P(0)$ 表示其釷金屬錯合物之對 Zn^{2+} 之穩定性。若 Gd^{3+} 與 Zn^{2+} 進行交換，則會產生 Gd^{3+} 的磷酸鹽沉澱，使 R_1 下降，藉此可測得釷金屬錯合物對 Zn^{2+} 的動力學穩定性。

表 3

complex	$R_1^P(t=3\text{d}) / R_1^P(t=0)$ [%]
$[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$	47.4
$[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$	49.79
$[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})]$	9

釷金屬錯合物與鋅(II)金屬交換反應三天後之 $R_1^P(t=3\text{d}) / R_1^P(t=0)$ 百分比 (20 MHz and $37.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$)

在表 3 中列出了 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 、 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 及 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})]$ (S. Laurent 等人於 2001 年 Invest. Radiol. 第 36 卷第 115 頁) 與 ZnCl_2 反應三天後之 $R_1^P(t=3\text{d}) / R_1^P(t=0)$ 百分比。

由表 4 中結果發現， $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 之百分比分別為 47.4%，與已商業化之對比劑 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^-$ (49.79%) 相似，表示其動力學穩定度與 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 相近，但若與另一也已商業化的對比劑 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})]$ (9%) 做比較，可發現 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 較 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})]$ 高很多，有此結果可證明 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 對 Zn^{2+} 有足夠動力學穩定性。

表 4

Complex	pH	relaxivity $r_1 / \text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$
$[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$	7.4 ± 0.1	4.12 ± 0.05
$[\text{Gd}(\text{TTDA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$	7.5 ± 0.1	3.85 ± 0.03
$[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-b}$	7.6 ± 0.1	3.89 ± 0.03

$[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$, $[\text{Gd}(\text{TTDA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$, $[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ 之弛緩率 r_1 在 $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 20 MHz

內層水分子數探討

利用 ^{17}O -NMR 測定鎘(III)金屬離子誘導水 ^{17}O 核種之化學位移變化(d.i.s.)，並以其鎘(III)錯合物濃度對 d.i.s. 作圖，可得一線性關係，如式(16)所示：

$$\text{d.i.s.} = q\Delta[\text{Dy}(\text{ligand})_n(\text{H}_2\text{O})_q]/[\text{H}_2\text{O}] \quad (16)$$

斜率為 $q\Delta/[\text{H}_2\text{O}]$ ， q 即為所求知內層水分子數，在第 4 圖中，鎘三胺基五羧酸基環丁基錯合物 $[\text{Dy}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 所求得之斜率為 -48.2 ppm/mM ，而鎘(III)誘導 ^{17}O 之斜率為 -414.8 ppm/mM 。由於鎘(III)水合物可結合 8 個水分子，且與斜率成正比關係，因此可求得 $[\text{Dy}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 之 q 值為 0.9。

金屬錯合物弛緩率之研究

順磁性金屬錯合物之弛緩率，主要由二個部分所貢獻，

亦即內層與外層弛緩率。本發明之有機配位子具有內層水分子存在，所以弛緩率的貢獻主要是來自內層弛緩率的改變所造成，而外層弛緩的貢獻可以假設是相似的。利用 20 MHz 之核磁共振儀測得 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 在 37 °C 下之縱向弛緩率 r_1 如表四所示， $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 之弛緩率皆大於 $[\text{Gd}(\text{TTDA})]^{2-}$ (Y. M. Wang 等人於 2005 年 *Inorg. Chem.* 第 44 卷第 382 頁) 及 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ (P. Caravan 等人於 2001 年 *Inorg. Chem.* 第 40 卷第 2170 頁)。

以下特舉數個實施例以更詳細說明本發明之方法、特徵及優點，但並非用以限制本發明。

環丁基三胺基五羧酸化合物有機配位子(ligand)之合成

實施例 1：1-氰基-環丁基羧酸甲酯 (1-cyano-cyclobutyl-carboxylic acid methyl ester)，化合物(1)之合成方法

取氰乙酸甲酯 (methyl cyanoacetate) (10 克，0.1 莫耳) 置於 250 毫升雙頸瓶中，抽真空灌氮氣，加入無水二甲基甲醯胺 (*N,N*-dimethyl formamide, DMF) (10 毫升)，攪拌 10 分鐘。於 10 - 20 °C 下，加入 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene (DBU, 33.4 克，0.22 莫耳)，加熱至 50 °C 後，持續反應 15 分鐘。以液態氮及丙酮混和的冰浴中 (-5 ~ -10 °C) 加入溶於 10 毫升無水二甲基甲醯胺 (DMF) 之 1,3-二溴丙烷 (1,3-dibromopropane)

(20.4 克, 0.10 莫耳), 將溫度控制於 25 °C, 反應 15 分鐘, 再將溫度升至 70 °C, 反應 30 分鐘。反應結束後, 以減壓濃縮將溶液抽乾, 加入二氯甲烷與去離子水萃取。收集有機層以減壓濃縮機抽乾, 再以矽膠管柱層析法, 以丙酮: 己烷 = 8:1 沖提, 收集沖提液, 以減壓濃縮抽乾後可得產物 8.74 克 (0.063 莫耳), 其產率為 62.85 %。

MS (ESI): m/z : 140.08 $[M + H]^+$. Anal. Calcd (Found) for $C_7H_9NO_2$: C, 60.42 (60.74); H, 6.52 (6.58); N, 10.07 (10.21). 1H NMR (D_2O , 400 MHz), δ (ppm): 3.84 (s, 3H, $-OCH_3$), 2.73-2.63 (m, 4H, $-C-CH_2-CH_2-CH_2-$), 2.17-2.32 (m, 2H, $-C-CH_2-CH_2-CH_2-$). ^{13}C NMR (D_2O , 100 MHz), δ (ppm): 169.17, 128.11, 53.50, 39.38, 31.22, 17.18.

實施例 2：1-氰基-環丁基羧酸-2-胺基乙基-醯胺 (1-cyanocyclobutyl carboxylic acid (2-amino-ethyl) amide)，化合物 (2) 之合成方法

取 8.74 克，0.063 莫耳的化合物 (1) 與 50 毫升甲醇置於 250 毫升單頸燒瓶中，慢慢滴入乙二胺 (ethylenediamine) (3.77 克，4.25 毫升)，於室溫下反應 15 小時。反應結束後，以減壓濃縮將溶液抽乾可得黃色油狀物，將此一油狀物加水溶解並以鹽酸將 pH 值調至 2，再以 AG 50W × 8 陽離子交換樹脂 (200 - 400 mesh, H⁺ form, 100 mL of resin, 3.0 × 20 cm) 進行純化。先以去離子水將未反應之乙二胺沖提出來，再以不同濃度之鹽酸沖提，收集 0.5 ~ 1.0 N 的鹽酸沖提液，抽乾後得固體產物 6.37 克 (0.038 莫耳)，產率為 60.49 %。

MS (ESI): m/z : 168.08 [M + H]⁺. Anal. Calcd (Found) for C₈H₁₃N₃O: C, 57.46 (57.21); H, 7.84 (7.56); N, 25.13 (24.88). ¹H NMR (D₂O, 400 MHz), δ (ppm): 3.46 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -NHCH₂CH₂NH₂), 3.07 (t, J = 6.0 Hz, 2H, -NHCH₂CH₂NH₂), 2.60-2.50 (m, 4H, -CCH₂CH₂CH₂-), 1.94-2.14 (m, 2H, -CCH₂CH₂CH₂-). ¹³C NMR (D₂O, 100 MHz), δ (ppm): 168.99, 119.95, 41.39, 40.59, 39.38, 31.13, 17.09.

實施例3：1-胺基甲基-環丁基-甲基-乙烷-1,2-二胺 (*N'*-((1-(amino methyl)-cyclobutyl)methyl) ethane-1,2- diamine) ，
化合物 (3) 之合成方法

取6.37克，0.038莫耳的化合物 (2) 與無水的四氫呋喃 (tetrahydrofuran, THF) (50毫升) 置於250毫升雙頸燒瓶，以液態氮及丙酮混和的冰浴中 (-10 °C) 及氮氣下，加入甲硼烷-四氫呋喃 (BH₃-THF) (300毫升，1 M) ，於-5 ~ 0 °C下反應1小時後，將溫度加熱至70 °C，反應36小時。反應結束後，以減壓濃縮將溶液抽乾。將抽乾之固體加入乙醇 (100毫升) 和鹽酸 (10毫升，6 N) ，加熱迴流反應12小時。反應結束後，以減壓濃縮將溶液抽乾可得黃色油狀物，將此一油狀物加水溶解並以鹽酸將pH值調至2，再以AG 50W × 8陽離子交換樹脂 (200 - 400 mesh, H⁺ form, 100 mL of resin, 3.0 × 20 cm) 進行純化。以不同濃度之鹽酸沖提 (0.5N, 1N, 1.5N, 2N, 2.5N, 3N) ，收集3.5 ~ 4.0 N的鹽酸沖提液，以減壓濃縮抽乾後得產物2.98克 (0.019莫耳) ，產率為50 %。

MS (ESI): *m/z*: 158.23 [M + H]⁺. Anal. Calcd (Found) for C₉H₁₉N₃: C, 61.10 (60.83); H, 12.18 (12.41); N, 26.72 (26.36). ¹H NMR (D₂O, 400 MHz), δ(ppm): 3.39-3.33 (m, 4H, -NHCH₂CH₂NH₂), 3.25 (s, 2H, -NH₂CH₂CCH₂NH-), 3.16 (s, 2H, -NH₂CH₂CCH₂NH-), 1.95-1.86 (m, 6H, -CCH₂CH₂CH₂-). ¹³C NMR (D₂O, 100 MHz), δ(ppm): 52.73, 45.51, 43.64, 38.32, 35.50, 26.64, 14.16.

實施例 4：8-環丁基-3,6,10,三羧基甲基-3,6,10-三氮十二烷二酸

(8-cyclobutyl-3,6,10-tri-(carboxymethyl)-3,6,10-triazadodecanedioic acid, 即 CB-TTDA), 化合物 (4) 之合成方法
 取 2.98 克, 0.019 莫耳的化合物 (3) 溶於氘甲烷 (CH_3CN) (250 毫升) 中, 加入碳酸鉀 (K_2CO_3) (10 克) 使溶液維持在 pH 10 左右後, 加入 $\text{BrCH}_2\text{COO}t\text{-Bu}$ (21.19 毫升, 0.143 莫耳) 加熱迴流 48 小時後, 將反應混合物過濾, 將濾液以減壓濃縮抽乾。加入氯仿及水進行萃取, 取氯仿層並將其抽乾, 加入鹽酸 (100 毫升, 3 N) 於室溫下反應 24 小時。反應結束後, 以減壓濃縮將溶液抽乾後, 加水溶解並以氨水將 pH 值調至 11.2, 再以 AG1×8 陰離子交換樹脂 (200-400 mesh, HCOOH form, 3.0×20 cm) 進行純化。以不同濃度的甲酸沖提, 收集 1.2 N 甲酸沖提液, 抽乾後可得產物 2.72 克 (0.006 莫耳), 產率為 31.98%。

MS (ESI): m/z : 448.34 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. Calcd (Found) for $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{10}$: C, 48.32 (48.03); H, 6.53 (6.82); N, 9.39 (9.63). ^1H NMR (D_2O , 400 MHz), δ (ppm): 3.90 (s, 4H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 3.79 (s, 4H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 3.65 (s, 2H, $-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{NH}-$), 3.55 (s, 2H, $-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{NH}-$), 3.41 (s, 4H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2-$), 3.37 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{COOH}$), 1.99 (m, 6H, $-\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$). ^{13}C NMR (D_2O , 100 MHz), δ (ppm): 171.61, 171.48, 170.15, 61.36, 61.08, 56.62, 56.23, 53.73, 51.17, 50.16, 38.41, 30.86, 15.92.

釷金屬錯合物之合成

實施例 5：釷環丁基三胺基五羧酸錯合物 $[\text{Gd}(\text{CB-TTDA})]^{2-}$ 的製備

將 0.2 毫莫耳環丁基三胺基五羧酸化合物 CB-TTDA（實施例 4 所製得之化合物）與 0.25 毫莫耳氯化釷混合，並加入 5 毫升去離子水，加熱迴流 24 小時，反應結束後，將溶液 pH 調到 8 後有固體析出再將 pH 調到 7 後過濾之，再將溶液抽乾，即可析出無色晶體 0.081 克，其產率 90.3%。

本發明得由熟悉本技藝之人士任施匠思而為諸般修飾，然皆不脫如附申請專利範圍所欲保護者。



【圖式簡單說明】

第 1 圖係為本發明之化合物合成流程之示意圖；

第 2 圖係為本發明之化合物於特定條件下之滴定曲線；

第 3 圖係為本發明之化合物之相對縱向遲緩速度；以及

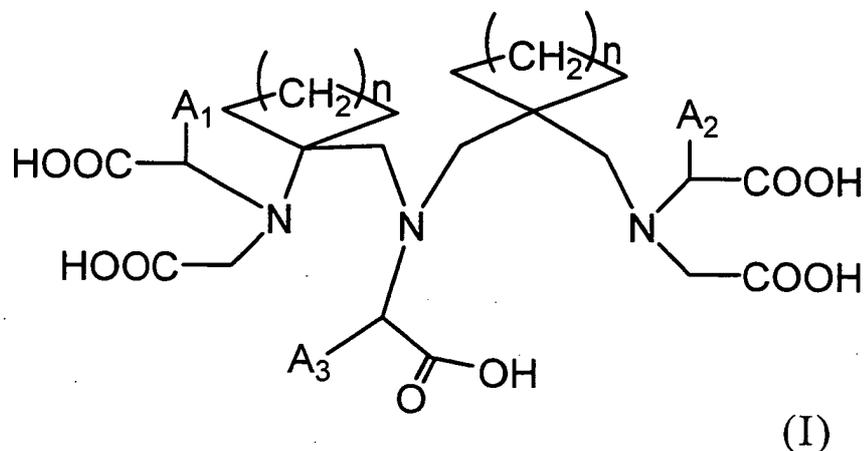
第 4 圖係為本發明之化合物之 ^{17}O -NMR 位移作圖。

【主要元件符號說明】

無。

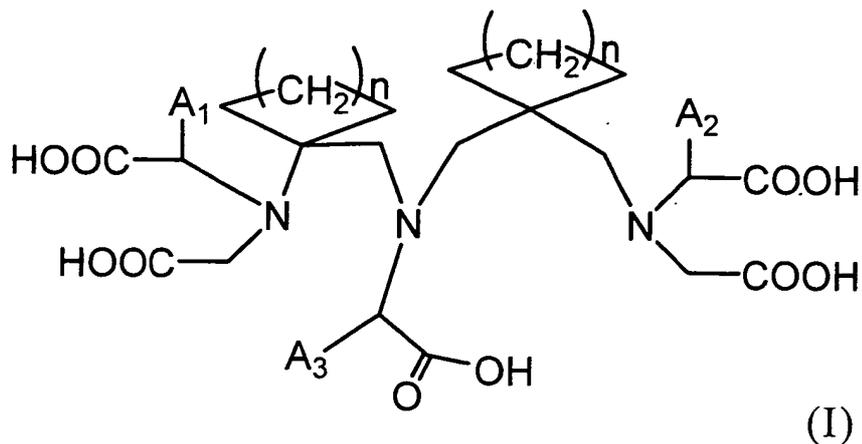
十、申請專利範圍：

1. 一種環烷基三胺基四羧酸基化合物，其如下列化學式(I)所示：



其中 A_1 、 A_2 以及 A_3 為能與具生物相容性之大分子結合之苯衍生物取代基， n 為 1 至 3，以及 A_1 、 A_2 及 A_3 係分別選自由甲基 (methyl)、苯甲基 (benzyl)、甲氧基苯甲基 (2-methoxybenzyl) 及雙苯甲基 (diphenylmethyl)、異硫氰酸苯甲基 (isothiocyanato-benzyl) 及 3,5-雙碘-4-氫氧苯甲基 (3,5-diiodo-4-hydroxybenzyl) 所組成之群組之一。

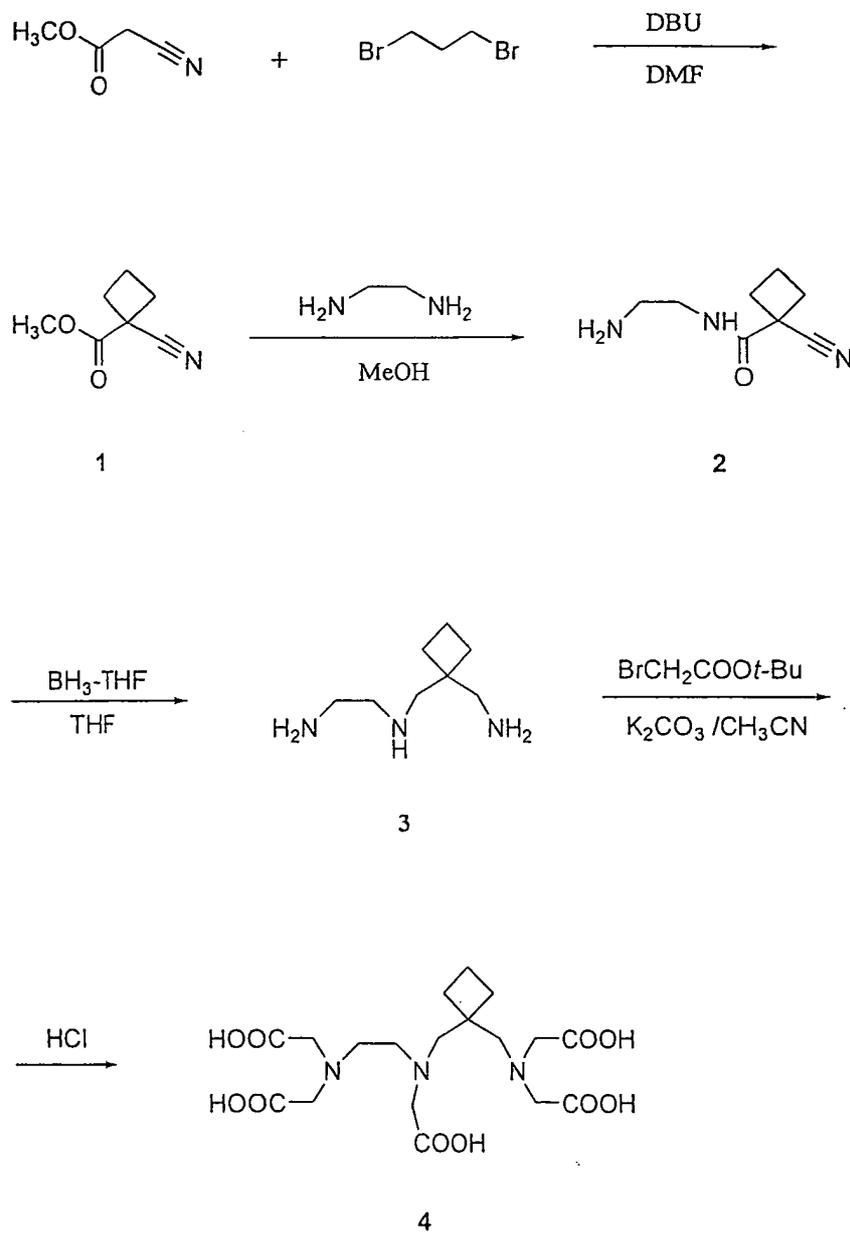
2. 一種可用作為磁共振造影對比劑之具順磁性之金屬錯合物，具有 ML 的化學結構，其中該 M 為中心金屬離子，其係選自由鐳系金屬、錳、鐵、鈷、銅、鎳、及鉻金屬離子所組成之族群之一，以及該 L 為一有機配位子，其具有如下所示之化學式：



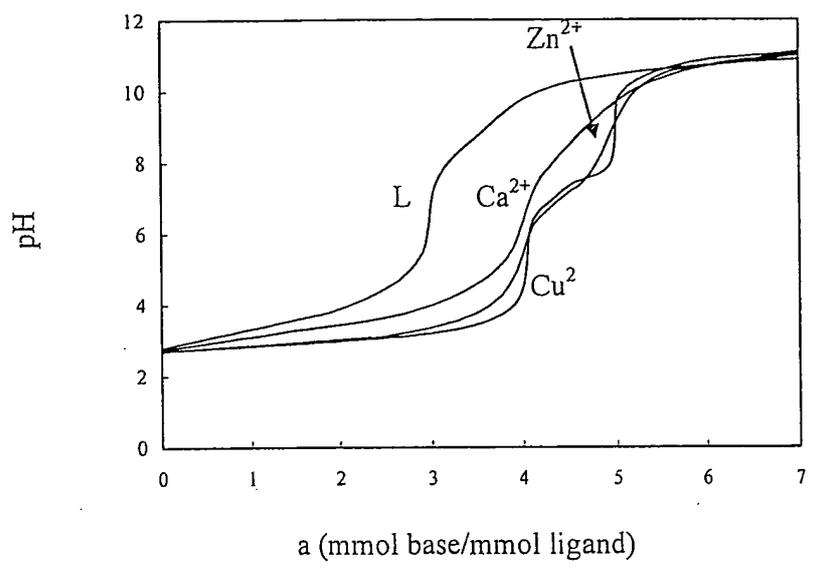
其中 A_1 、 A_2 以及 A_3 為能與具生物相容性之大分子結合之苯衍生物取代基， $n=1\sim 3$ ， A_1 選自由苯甲基 (benzyl)、異硫氰酸苯甲基 (isothiocyanato-benzyl) 和 3,5-雙碘-4-氫氧苯甲基 (3,5-diiodo-4-hydroxybenzyl) 所組成之群組之一，以及 A_2 及 A_3 分別為苯甲氧甲基 (benzyloxymethyl, BOM) 或 H 原子。

3. 如申請專利範圍第 2 項所述之金屬錯合物，其中該金屬離子為釷(+3 價)，鐵(+3 價)或錳(+2 價)。
4. 如申請專利範圍第 3 項所述之金屬錯合物，其中該金屬離子為釷(+3 價)。

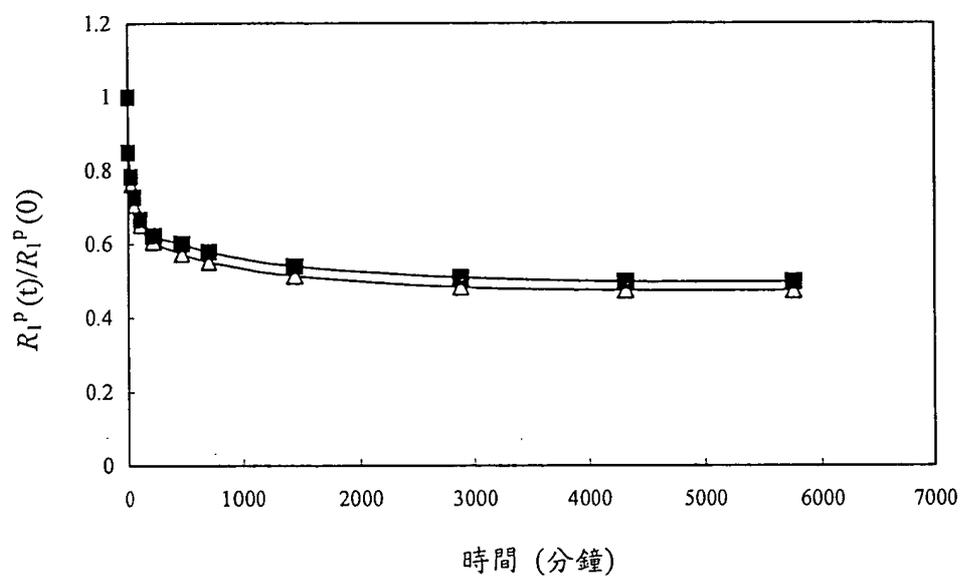
十一、圖式：



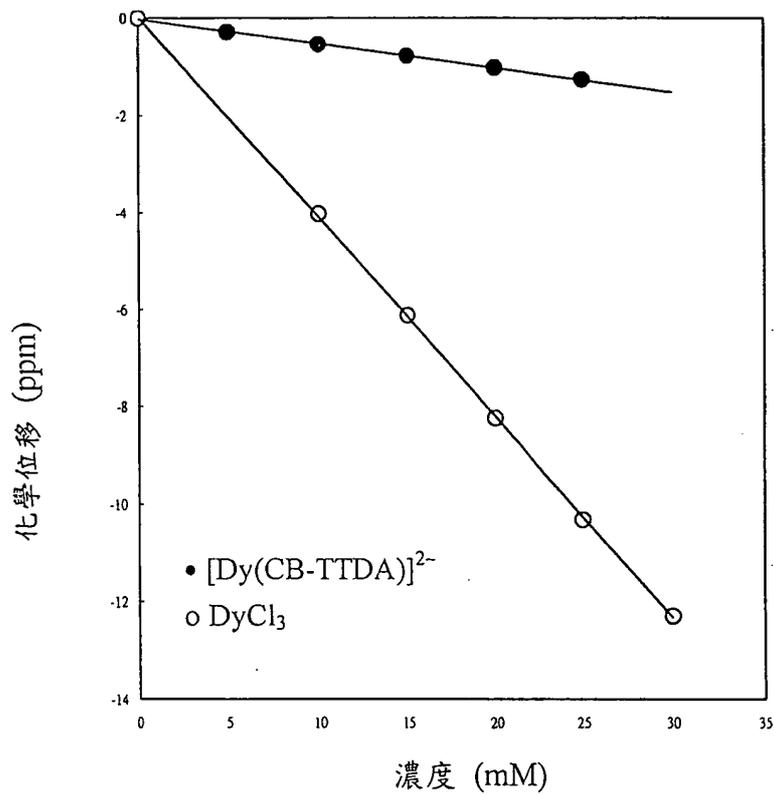
第 1 圖



第2圖



第 3 圖



第 4 圖