

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 033612

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.08

(21) Номер заявки
201792675

(22) Дата подачи заявки
2016.05.30

(51) Int. Cl. C07D 257/02 (2006.01)
C07C 229/16 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)

(54) ХЕЛАТНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГАДОЛИНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

(31) 15170658.7

(32) 2015.06.04

(33) EP

(43) 2018.05.31

(86) PCT/EP2016/062105

(87) WO 2016/193190 2016.12.08

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАЙЕР ФАРМА
АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ (DE)

(56) WO-A1-9732862
US-A1-2007202047

(72) Изобретатель:
Бергер Маркус, Лорке Джессика,
Хильгер Кристоф-Штефан, Йост
Грегор, Френцель Томас, Зюльце
Детлев, Платцек Иоганнес, Панкнин
Олаф, Пич Хубертус (DE)

(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Изобретение относится к новому классу внеклеточных хелатных комплексов гадолиния с высокой релаксивностью на основе низкомолекулярных полиаминов в ядре, к способу получения таких соединений и к применению указанных соединений в качестве контрастных веществ для магнитно-резонансной визуализации (MRI).

B1

033612

033612

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к объектам, охарактеризованным в формуле изобретения, а именно к новым внеклеточным хелатам гадолиния с высокой релаксивностью на основе низкомолекулярных полиаминов в ядре, к способам получения указанных соединений, к применению указанных соединений в качестве MRI контрастных веществ и к их применению в организме млекопитающего.

Предпосылки создания изобретения

1. Введение.

Для клинического применения были одобрены девять контрастных веществ на основе гадолиния (GBCA): гадопентетат димеглюмина (Магневист®), гадотерат меглумина (Дотарем®), гадотеридол (ПроХанс®), гадодиамид (Омнискан®), гадобутрол (Гадовист®), гадоверсетамид (ОптиМАРК®), гадоксетовая кислота (Примовист®), гадобенат димеглюмин (МультиХанс®) и гадофосвезет тринатрий (Вазовист®/Аблавар®). За исключением гадоксетовой кислоты, гадобената димеглюмина и гадофосвезета тринатрия GBCA демонстрируют строго внеклеточное пассивное распределение в организме и выводятся исключительно почками.

Гадоксетовая кислота и гадобенат димеглюмин демонстрируют отличный от других средств фармакокинетический профиль. В дополнение к внеклеточному распределению они поглощаются, а также частично выводятся через печень. Это позволяет помимо классических возможностей визуализации (например, визуализации центральной нервной системы, ангиографии, визуализации конечностей, сердца, головы/лица/шеи, брюшной полости и молочной железы), также выполнение визуализации печени вследствие усиления паренхимы печени, вызываемого поглощением GBCA гепатоцитами.

В отличие от других GBCA гадофосвезет тринатрий не демонстрирует пассивной диффузии в организме и остается в сосудистом пространстве. Длительный период пребывания в кровеносных сосудах, вызванный обратимым связыванием с HSA (сывороточный альбумин человека), делает возможной MR-ангиографию с высоким разрешением.

Различные GBCA различаются по своей эффективности, которая определяется их продольной (r_1) и поперечной (r_2) релаксивностями и зависит от напряженностей магнитного поля, температуры и различных внутренних факторов хелатов металлов. Определяющими внутреннюю релаксивность параметрами являются главным образом число молекул воды, непосредственно связанных с гадолинием (так называемая внутрисферная вода, q), среднее время удержания внутрисферных молекул воды (τ_m), число и время удержания молекул воды во второй гидратационной сфере (так называемая внешнесферная вода) и вращательная диффузия (τ_r) (Helm L. и др., Future Med. Chem. 2010; 2: 385-396). Что касается их релаксивности, все коммерчески доступные GBCA очень похожи друг на друга и характеризуются значением из диапазона от 4 до 7 л ммоль⁻¹ с⁻¹.

Стратегии для увеличения чувствительности GBCA часто описываются в литературе (Caravan P. и др. Chem. Soc. Rev., 2006, 35, 512-523, Helm и др. Future Med. Chem. 2010; 2:385-396, Jacques V. Invest Radiol. 2010; 45:613-624). Одна из стратегий заключается в увеличении числа внутрисферных молекул воды (q), которые являются молекулами воды, которые непосредственно координируются с ионом гадолиния в хелате. Как демонстрируют примеры лигандов на основе AAZTA и HOPO, увеличение числа внутрисферных молекул воды от одного до двух приводит к значительному увеличению релаксивности. Другая стратегия для увеличения релаксивности заключается в замедлении вращательной диффузии молекулы. Так называемая скорость вращения (τ_r , см. введение выше) описывает вращение молекулы в растворе и главным образом зависит от размера молекул и связывания GBCA с белком (Merbach A.S. и др., The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging, 2013, ISBN: 978-1-119-99176-2).

Еще одной важной характеристикой GBCA является устойчивость их комплексов. Потенциальная возможность GBCA высвобождать свободные токсичные ионы Gd^{3+} является основной проблемой безопасности и имеет первостепенное значение, в частности, для пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Нефрогенный системный фиброз (NSF) является редким и серьезным синдромом, который связан с действием GBCA у пациентов с тяжелой почечной недостаточностью. NSF включает фиброзные изменения в коже и многих органах. В 2010 г. Управление по контролю продуктов питания и лекарственных средств (FDA) опубликовало пересмотренные рекомендации по маркировке для четырех GBCA, которые главным образом были связаны с NSF, включая гадодиамид (Омнискан®), гадобенат димеглюмин (МультиХанс®), гадопентетат димеглюмина (Магневист®) и гадоверсетамид (ОптиМАРК®) (Yang L. и др. Radiology. 2012; 265:248-253). На первый взгляд стабильность всех GBCA является очень высокой, но существуют значительные различия между линейными и макроциклическими средствами и между ионными и неионными представителями линейных средств. Макроциклические GBCA обладают самой высокой стабильностью комплексов (Frenzel T. и др. Invest Radiol. 2008; 43:817-828). Вследствие лучшей осведомленности пациентов с риском применения более низких доз и более широкого применения макроциклических GBCA число случаев NSF в последние годы уменьшилось (Wang Y. и др. Radiology. 2011; 260:105-111 и Becker S. и др. Nephron Clin Pract. 2012; 121:c91-c94).

Важнейшей проблемой клинического применения является *in vivo* стабильность. Кинетическая

инертность в сочетании с термодинамической стабильностью является наилучшим предиктором *in vivo* токсичности $q=2$ хелатов, особенно в отношении риска нефрогенного системного фиброза (NSF) (Mergbach A.S. и др., *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, 2013, ISBN: 978-1-119-99176-2, с 157-208). Комплексы с $q=2$ демонстрируют двукратное увеличение релаксивности, но, к сожалению, они обладают более низкой стабильностью, чем $q=1$ соединения (Hermann P. и др. *Dalton Trans.*, 2008, 3027-3047).

2. Описание известного уровня техники, задача, которая должна быть решена, и ее решение.

Некоторые макроциклические соединения описаны в уровне техники.

EP 1931673 B1 и EP 2457914 B1 относятся к pyDO3A ($q=2$), DO3A и DOTA соединениям, содержащим короткие аминокислотные цепи и комплексы металлов, для медицинской визуализации.

Макроциклические лантанидные DO3A- и DOTA-подобные GBCA с высокими релаксивностями описаны в уровне техники.

Ranganathan R.S. и др. (*Investigative Radiology* 1998; 33:779-797) исследовал влияние мультимеризации на релаксивность макроциклических хелатов гадолиния. WO 199531444 относится к мономерным и мультимерным соединениям, обладающим увеличенными релаксивностями.

Документ US 5679810 относится к линейным олигомерным полихелатным соединениям и хелатам, образованным с ними, содержащим чередующиеся хелатные и линкерные фрагменты, соединенные вместе амидными или сложноэфирными фрагментами, и к их применению в диагностической визуализации.

Документ US 5650133 относится к дихелатам, в частности соединениям, содержащим две макроциклические хелатные группы, соединенные мостиком, содержащим сложноэфирную или амидную связь, к их хелатам с металлами и к их применению в диагностической визуализации.

WO 97/32862 A1 описывает полихелаты гадолиния в качестве средств для магнитно-резонансной визуализации, где по меньшей мере две единицы хеланта присоединены к аминокислотам целевой несущей структуры (подобной, например, белку, аминокислоте или пептиду).

Документ US 2007/202047 относится к хелатным соединениям гадолиния для применения в магнитно-резонансной визуализации, которые получают из хелатирующей молекулы, выбранной из 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (DOTA) и диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA), где по меньшей мере одну из карбоксильных групп хелатирующей молекулы подвергают реакции с амином.

GBCA с более высокой релаксивностью обеспечивают, с одной стороны, возможность значительного снижения дозы и, с другой стороны, повышенную чувствительность MRI при многих заболеваниях с применением стандартной дозы (Giesel F.L. и др. *Eur Radiol* 2010, 20: 2461-2474).

Однако существует неудовлетворенная медицинская потребность в обеспечении GBCA для общего применения в магнитно-резонансной визуализации, которые

демонстрируют высокую релаксивность,

демонстрируют благоприятный фармакокинетический профиль,

полностью выводятся из организма,

являются химически стабильными,

демонстрируют высокую растворимость в воде,

обеспечивают потенциал для значительного снижения дозы,

являются подходящими для визуализации различных областей организма и

очень хорошо переносятся.

Существующий уровень техники, описанный выше, не описывает специфическую высокую релаксивность внеклеточных хелатных соединений гадолиния общей формулы (I) настоящего изобретения, как определено в данном документе, или их стереоизомеров, таутомеров, N-оксидов, гидратов, сольватов или солей или смесей таковых, как описано и определено в данном документе, и именуемых в дальнейшем "соединения настоящего изобретения".

Было обнаружено, и это составляет основу настоящего изобретения, что указанные соединения настоящего изобретения обладают неожиданными и выгодными свойствами.

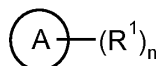
В частности, было обнаружено, что указанные соединения настоящего изобретения демонстрируют сбалансированный профиль высокой релаксивности, благоприятный фармакокинетический профиль, полное выведение, высокую стабильность, высокую растворимость, потенциал для значительного снижения дозы и потенциал для визуализации целого организма, вследствие чего их можно применять в качестве контрастных веществ для магнитно-резонансной визуализации (MRI).

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение описывает новый класс внеклеточных хелатных комплексов гадолиния с высокой релаксивностью, способы их получения и их применение в качестве контрастных веществ для MRI.

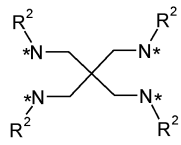
Описание изобретения

В соответствии с первым аспектом настоящее изобретение охватывает соединения общей формулы (I)

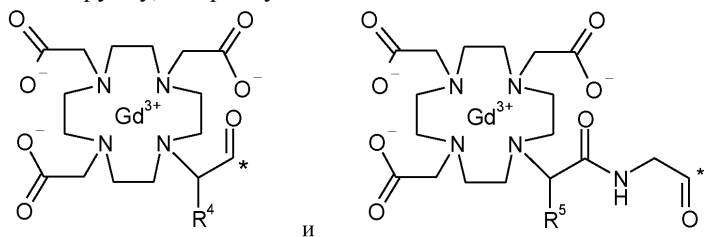


(I),

в которой

 $\textcircled{\text{A}}$ представляет собой группу
в которой * обозначает точку присоединения указанной группы к R^1 ; R^1 представляет собой группу R^3 ;

n представляет собой целое число 4;

 R^2 представляет собой атом водорода; R^3 представляет собой группу, выбранную из

и

в которых * обозначает точку присоединения указанной группы к остальной части молекулы;

 R^4 представляет собой атом водорода; R^5 представляет собой атом водорода или метильную группу;

или их стереоизомеры, таутомеры, гидраты, сольваты или фармацевтически приемлемые соли или смесь таковых.

Соединения данного изобретения могут содержать один или несколько асимметричных центров, в зависимости от местоположения и природы различных желаемых заместителей. Асимметричные атомы углерода могут присутствовать в (R)- или (S)-конфигурации, что может приводить к рацемическим смесям в случае одного асимметричного центра, и диастереомерным смесям в случае нескольких асимметричных центров. В некоторых случаях асимметрия также может присутствовать из-за ограниченного вращения вокруг данной связи, например центральной связи, прилегающей к двум замещенным ароматическим кольцам оговоренных соединений.

Предпочтительными соединениями являются те, которые продуцируют более желательную биологическую активность. Отделенные, чистые или частично очищенные изомеры и стереоизомеры или рацемические или диастереомерные смеси соединений данного изобретения также включены в рамки настоящего изобретения. Очистку и разделение таких веществ можно выполнить с помощью стандартных методов, известных в данной области техники.

Оптические изомеры можно получить путем разделения рацемических смесей в соответствии с обычными способами, например путем образования диастереоизомерных солей с использованием оптически активной кислоты или основания или образования ковалентных диастереомеров. Примерами подходящих кислот являются винная, диацетилвинная, дитолуилвинная и камфорсульфоновая кислота. Смеси диастереоизомеров могут быть разделены на их отдельные диастереомеры на основе их физических и/или химических различий с помощью методов, известных в данной области, например посредством хроматографии или фракционной кристаллизации. Оптически активные основания или кислоты затем высвобождают из разделенных диастереоизомерных солей. Иной способ разделения оптических изомеров включает использование хиральной хроматографии (например, хиральных ВЭЖХ колонок), с обычной дериватизацией или без нее, оптимально выбранной для максимального разделения энантиомеров. Подходящие хиральные ВЭЖХ колонки производит фирма Daicel, например Chiracel OD и Chiracel OJ, среди многих других, обычно выбираемых. Также пригодны методы ферментативного разделения, с дериватизацией или без нее. Оптически активные соединения данного изобретения также можно получить с помощью хирального синтеза, использующего оптически активные исходные вещества.

С целью разграничить друг от друга различные типы изомеров, дается ссылка на правила ИЮПАК, раздел E (Pure Appl Chem 45, 11-30, 1976).

Настоящее изобретение включает все возможные стереоизомеры соединений настоящего изобретения в виде отдельных стереоизомеров или в виде любой смеси указанных стереоизомеров, например R- или S-изомеров или E- или Z-изомеров, в любом соотношении. Выделения отдельного стереоизомера, например отдельного энантиомера или отдельного диастереомера, соединения настоящего изобретения

можно добиться с помощью любого подходящего метода уровня техники, такого как, например, хроматография, в особенности хиральная хроматография.

Кроме того, соединения настоящего изобретения могут существовать в виде N-оксидов, которые определяются тем, что по меньшей мере один атом азота соединений настоящего изобретения окислен.

Настоящее изобретение также относится к пригодным формам соединений, раскрытых в настоящей заявке, таким как гидраты, сольваты, соли, в частности фармацевтически приемлемые соли, и продукты совместного осаждения.

Соединения настоящего изобретения могут существовать в виде гидрата или в виде сольвата, где соединения настоящего изобретения содержат полярные растворители, в частности воду, метанол или этанол, например, в качестве структурного элемента кристаллической решетки соединений. Количество полярных растворителей, в частности воды, может находиться в стехиометрическом или нестехиометрическом соотношении. В случае стехиометрических сольватов, например гидрата, возможны, геми- (полу-), моно-, сескви-, ди-, три-, тетра-, пента- и т.д. сольваты или гидраты соответственно. Настоящее изобретение включает все такие гидраты или сольваты.

Кроме того, соединения настоящего изобретения могут существовать в форме соли. Указанная соль может быть либо неорганической, либо органической солью присоединения, в частности любой фармацевтически приемлемой неорганической или органической солью присоединения, обычно используемой в фармацевтическом деле.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к относительно нетоксичной соли присоединения неорганической или органической кислоты к соединению настоящего изобретения. Например, см. S.M. Berge, и др. "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19. Получение главным образом нейтральных солей описано в US 5560903.

Фармацевтически приемлемые соли соединений в соответствии с изобретением включают соли минеральных кислот и карбоновых кислот, например, без ограничения ими, соли хлористоводородной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, малеиновой кислоты, аспариговой кислоты и глутаминовой кислоты.

Специалисты в данной области техники далее признают, что соли присоединения кислот к заявленным соединениям можно получить по реакции соединений с подходящей неорганической или органической кислотой с помощью любого из ряда известных способов.

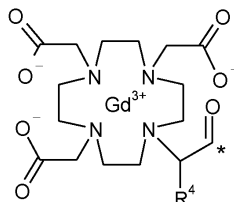
Настоящее изобретение включает все возможные соли соединений настоящего изобретения в виде отдельных солей или в виде любой смеси указанных солей, в любом соотношении.

В настоящем тексте, в частности в Экспериментальном разделе, в случае синтеза промежуточных соединений и соединений-примеров настоящего изобретения, когда соединение упоминается в виде солевой формы с соответствующим основанием или кислотой, точный стехиометрический состав указанной солевой формы, полученной соответствующим описанным способом получения и/или очистки, в большинстве случаев является неизвестным.

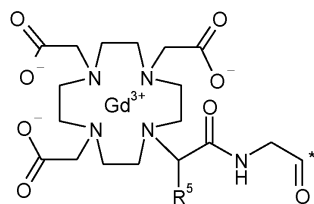
Это аналогичным образом относится к случаям, в которых промежуточные соединения синтеза или соединения-примеры или их соли были получены описанными способами получения и/или очистки в виде сольватов, таких как гидраты с (если он определенного типа) неизвестным стехиометрическим составом.

В соответствии со вторым вариантом осуществления первого аспекта настоящее изобретение охватывает соединения общей формулы (I), указанной выше, в которых R^5 представляет собой метильную группу.

В соответствии с третьим вариантом осуществления первого аспекта настоящее изобретение охватывает соединения общей формулы (I), указанной выше, в которых R^3 представляет собой группу



В соответствии с четвертым вариантом осуществления первого аспекта настоящее изобретение охватывает соединения общей формулы (I), указанной выше, в которых R^3 представляет собой группу



Следует понимать, что настоящее изобретение также относится к любой комбинации описанных выше вариантов осуществления.

Другим вариантом осуществления настоящего изобретения являются соединения формулы (I), выбранные из группы, состоящей из

[4,10-бис(карбоксилатометил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

{4,10-бис(карбоксилатометил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}ацетата тетрагадолиния,

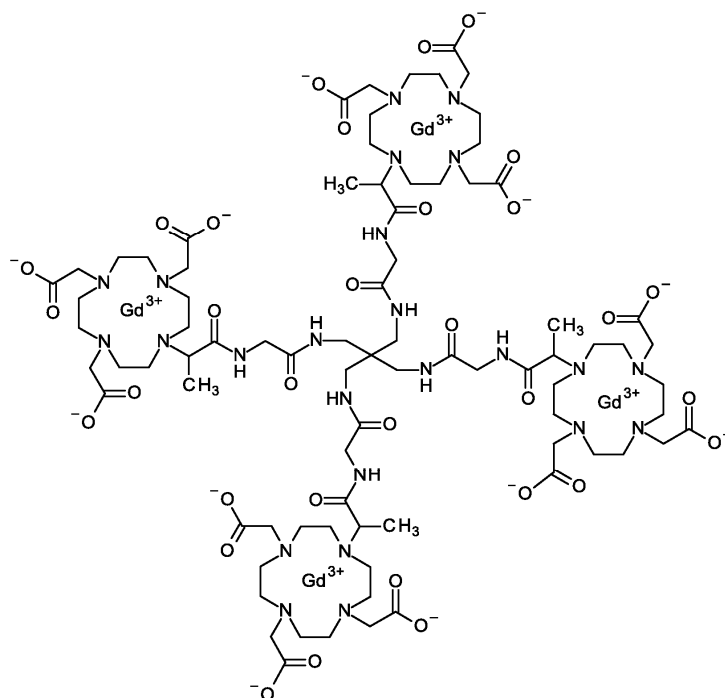
{4,10-бис(карбоксилатометил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}ацетата тетрагадолиния,

{4,10-бис(карбоксилатометил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}ацетата тетрагадолиния, и

[4,10-бис(карбоксилатометил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-8,8-бис({[(4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетил}амино)ацетил]амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

или их стереоизомеры, таутомеры, гидраты, сольваты или фармацевтически приемлемые соли или смеси таковых.

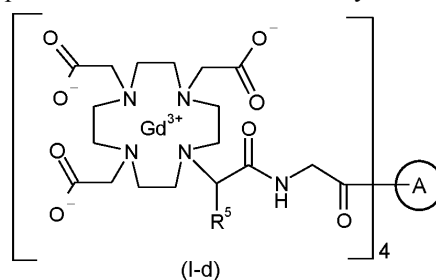
Еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения является соединение формулы (I), которое представляет собой [4,10-бис(карбоксилатометил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетат тетрагадолиния



или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или фармацевтически приемлемая соль или смесь таковых.

В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение охватывает способы получения соединений настоящего изобретения, которые включают стадии, как описано в Экспериментальном разделе настоящего документа.

В частности, настоящее изобретение охватывает способ получения соединения общей формулы (I-d)

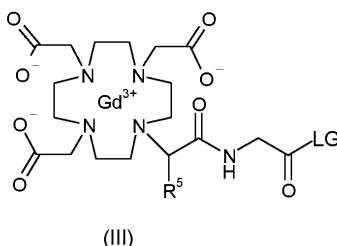


в котором значения R^5 и $\textcircled{A}$ определены выше, который включает взаимодействие группы формулы 4



4 ,

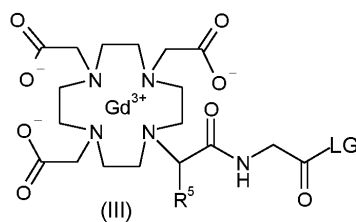
где $\textcircled{A}$ определен выше, или его соли с соединением общей формулы (III)



в которой LG представляет собой активирующую уходящую группу.

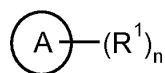
В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение включает промежуточные соединения, которые пригодны для получения соединений общей формулы (I), указанной выше.

В частности, изобретение охватывает применение соединения общей формулы (III)



в которой значения R^5 являются такими, как определено для соединений общей формулы (I), и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как 4-нитрофенол, пентафторфенол, 1-гидрокси-2,5-дион, гидроксипиридин-2,5-дион, гидроксипиридин-2,5-дион или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, для получения соединения общей формулы (I), как определено выше.

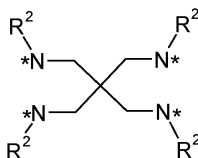
В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение охватывает промежуточное соединение общей формулы (I) для приготовления соединения общей формулы (I)



(I),

в которой

представляет собой группу



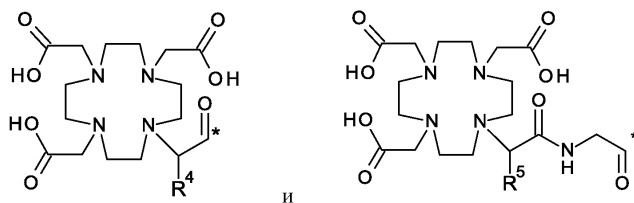
в которой * обозначает точку присоединения указанной группы к R^1 ;

R^1 представляет собой группу R^3 ;

n представляет собой целое число 4;

R^2 представляет собой атом водорода;

R^3 представляет собой группу, выбранную из



в которых * обозначает точку присоединения указанной группы к остальной части молекулы;

R^4 представляет собой атом водорода;

R^5 представляет собой атом водорода или метильную группу;

или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или соль или смесь таковых.

Особенно предпочтительно промежуточное соединение общей формулы (I) выбирают из группы, состоящей из

{4,10-бис(карбоксиметил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,9-бис({[2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)-ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

{4,10-бис(карбоксиметил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,9-бис({[2-(2R)-4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

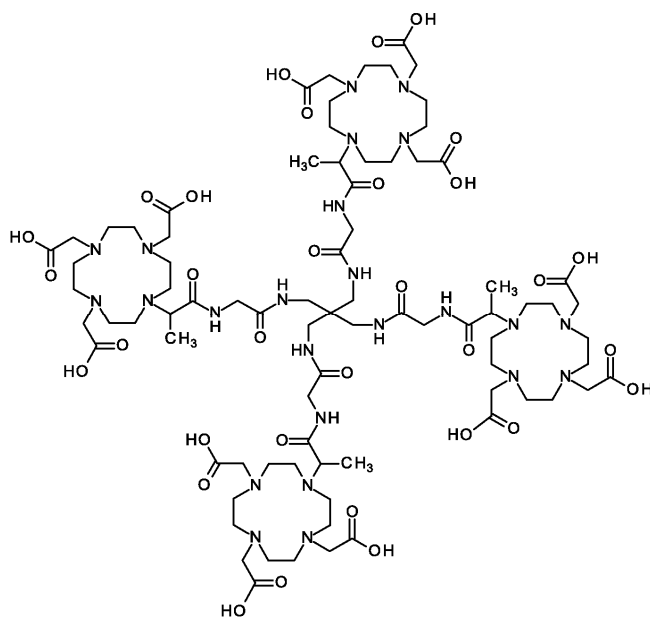
{4,10-бис(карбоксиметил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,9-бис({[2-(2S)-4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}-амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

{4,10-бис(карбоксиметил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)метил]-пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты; и

[4,10-бис(карбоксиметил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-8,8-бис({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)-ацетил]амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

или его стереоизомера, таутомера, гидрата, сольвата или соли или смеси таковых.

Наиболее предпочтительно промежуточное соединение общей формулы (I) представляет собой {4,10-бис(карбоксиметил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,9-бис({[2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусную кислоту



или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или соль или смесь таковых.

Другим аспектом изобретения является применение соединения общей формулы (I) для диагностической визуализации.

Предпочтительно применение соединения изобретения в диагностике выполняют с использованием магнитно-резонансной визуализации (MRI).

Другим аспектом изобретения являются соединения общей формулы (I) для применения в диагностической визуализации.

Другим аспектом изобретения являются соединения общей формулы (I) для применения в магнитно-резонансной визуализации (MRI).

Изобретение также включает соединения общей формулы (I) для изготовления диагностических средств.

Другим аспектом изобретения является применение соединений общей формулы (I) или их смесей для изготовления диагностических средств.

Другим аспектом изобретения является применение соединений общей формулы (I) или их смесей для изготовления диагностических средств для магнитно-резонансной визуализации (MRI).

Другим аспектом изобретения является способ визуализации ткани организма у пациента, включающий стадию, на которой пациенту вводят эффективное количество одного или нескольких соединений общей формулы (I) в фармацевтически приемлемом носителе, и стадию, на которой пациента подвергают ЯМР-томографии. Такой способ описан в US 5560903.

Для изготовления диагностических средств, например для введения людям или животным, соединения общей формулы (I) или смеси удобно готовить в виде состава вместе с фармацевтическими носителями или наполнителями. Контрастная среда в соответствии с изобретением в целях удобства может содержать вспомогательные вещества для приготовления фармацевтического состава, например стабилизаторы, антиоксиданты, регуляторы pH, ароматические добавки и т.п. Изготовление диагностической среды в соответствии с изобретением также выполняют способом, известным в данной области техники, см. US 5560903. Соединения изобретения можно приготовить в виде смеси для парентерального или энтерального введения или для непосредственного введения в полости тела. Например, парентеральные составы содержат стерильный раствор или суспензию соединения формулы (I) в соответствии с настоящим изобретением в дозе 0,0001-5 ммоль гадолиния/кг массы тела, в особенности 0,005-0,5 ммоль гадолиния/кг массы тела. Таким образом, среда в соответствии с изобретением может находиться в обычных фармацевтических составах, таких как растворы, суспензии, дисперсии, сиропы и т.д. в физиологически приемлемой несущей среде, предпочтительно в воде для инъекций. Когда контрастную среду готовят в виде состава для парентерального введения, он предпочтительно должен быть изотоническим или гипертоническим и близким к pH 7.4.

В еще одном аспекте изобретение направлено на способ диагностики и контроля за состоянием здоровья пациентов. Этот способ включает а) введение человеку, нуждающемуся в такой диагностике, соединения изобретения для обнаружения соединения в организме человека, как описано в данном документе, и б) измерение сигнала, возникающего в результате введения соединения человеку, предпочтительно посредством магнитно-резонансной визуализации (MRI).

Общий синтез

Все указанные ниже соединения можно получить в соответствии со следующими схемами 1-12.

Схемы и методики, описанные ниже, иллюстрируют пути синтеза возможных соединений общей формулы (I) и не предназначены для ограничения. Специалисту в данной области очевидно, что порядок превращений, как проиллюстрировано на схемах, можно модифицировать различными путями. Вследствие этого порядок превращений, проиллюстрированный на схемах, не предназначен для ограничения. Подходящие защитные группы и способы их введения и отщепления хорошо известны специалисту в данной области техники (см., например, T.W. Greene и P.G.M. Wuts в *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3-е изд., Wiley, 1999). Специфические примеры описаны в последующих параграфах.

Термин "аминозащитная группа", используемый в данном документе сам по себе или в качестве части другой группы, известен или очевиден специалисту в данной области техники и означает группу, которую выбирают из класса защитных групп, без ограничения ими, а именно карбаматов, амидов, иминов, N-алкиламинов, N-ариламинов, иминов, енаминов, боранов, N-P защитных групп, N-сульфенила, N-сульфонила и N-силила, и означает группу, которую выбирают из перечисленных в пособии Greene и Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, 3 изд., с. 494-653, без ограничения ими, включенному сюда путем ссылки. "Аминозащитная группа" предпочтительно означает карбобензилокси (Cbz), п-метоксибензилкарбонил (Moz или MeOZ), трет-бутилоксикарбонил (BOC), 9-флуоренилметилоксикарбонил (FMOC), бензил (Bn), п-метоксибензил (PMB), 3,4-диметоксибензил (DMPM), п-метоксифенил (PMP), трифенилметил (тритил), метоксифенилдифенилметил (ММТ) или защищенная аминогруппа является 1,3-диоксо-1,3-дигидро-2Н-изоиндол-2-ильной (фталимидо) или азидо-группой.

Термин "карбоксилзащитная группа", используемый в данном документе сам по себе или в качестве части другой группы, известен или очевиден специалисту в данной области техники и означает группу,

которую выбирают из класса защитных групп, без ограничения ими, а именно сложных эфиров, амидов и гидразидов, и означает группу, которую выбирают из перечисленных в пособии Greene и Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, 3 изд., с. 369-453, без ограничения ими, включенному сюда путем ссылки. "Карбоксилзащитная группа" предпочтительно означает метил, этил, пропил, бутил, трет-бутил, аллил, бензил, 4-метоксибензил или 4-метоксифенил.

Содержание документов, на которые имеются ссылки в данном описании, включены в него посредством ссылки.

Путь получения соединений общей формулы (I-a) описан на схеме 1.

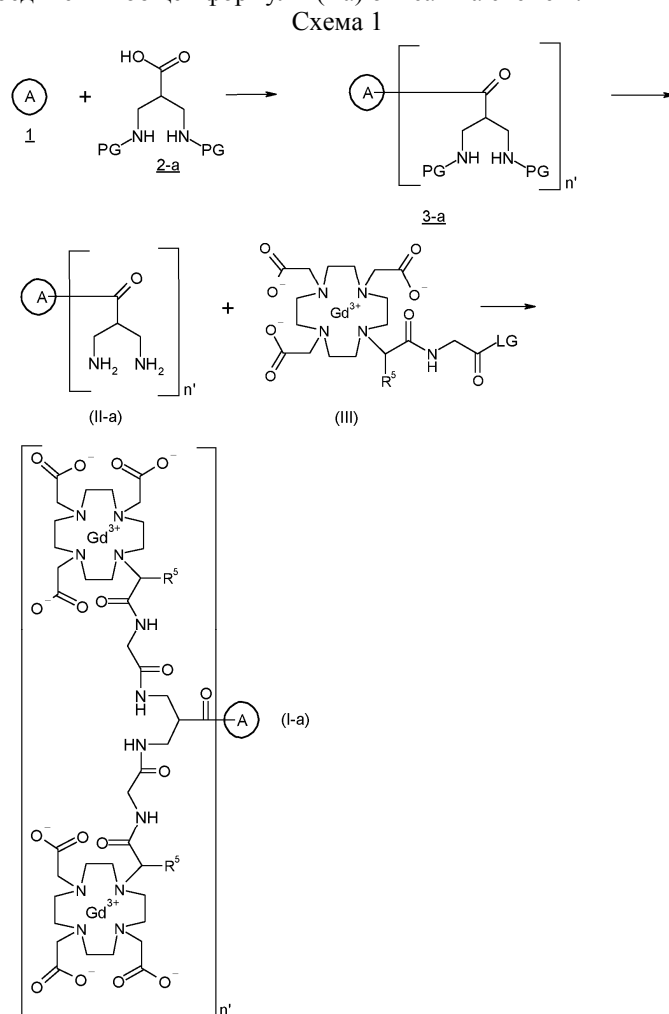


Схема 1. Путь получения соединений общей формулы (I-a), в которой $\textcircled{A}$ и R^5 имеют значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, и PG представляет собой аминозащитную группу, такую как, например, трет-бутилоксикарбонильная группа (BOC) или группа согласно приведенному ниже определению.

Исходные вещества 1 являются либо коммерчески доступными полиаминами или их солями [например, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо полиаминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе или в экспериментальной части ниже [например, CAS 41077-50-3].

Триамин или тетраамин 1 или его соль подвергают реакции с защищенной 3-амино-2-(аминометил)пропионовой кислотой 2-a [например, CAS 496974-25-5] или ее солью, что приводит к промежуточному соединению 3-a. Подходящими аминозащитными группами для 3-амино-2-(аминометил)пропионовой кислоты являются, например, карбобензилокси (Cbz), п-метоксибензилкарбонил (Moz или MeOZ), трет-бутилоксикарбонил (BOC), 9-флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc), бензил (Bn), п-метоксибензил (PMB), 3,4-диметоксибензил (DMPM), п-метоксифенил (PMP), трифенилметил (тритил), метоксифенилдифенилметил (ММТ), или защищенной аминогруппой является 1,3-диоксо-1,3-дигидро-2Н-изоиндол-2-ил (фталимидо) или азидогруппа. Реакцию сочетания полиаминов 1 с производными пропионовой кислоты 2-a проводят с использованием стандартных условий пептидного сочетания, таких как, например, сочетание в присутствии HATU и N,N-диизопропилэтиламина, в подходящем растворителе, таком как, например, N,N-диметилформамид, в температурном диапазоне от ком-

натной температуры до 80°C, с получением промежуточных соединений общей формулы 3-а.

Снятие защитных групп с промежуточных соединений общей формулы 3-а, что приводит к промежуточным соединениям общей формулы (II-а) или их солям, выполняют по аналогии с методами, описанными в пособии Greene и Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, 2 изд., сс. 309-405, включенном сюда путем ссылки. Аминозащитную группу трет-бутилоксикарбонил (BOC) удаляют путем растворения BOC-защищенного промежуточного соединения общей формулы 3-а в подходящем растворителе, таком как, например, спирт, тетрагидрофуран, диоксан или N,N-диметилформамид или их смесь, с помощью добавления подходящих кислот, таких как, например, водный раствор соляной или бромистоводородной кислоты, или трифторуксусная кислота в органических растворителях, таких как дихлорметан. Реакцию снятия защитных групп проводят при температуре в диапазоне от комнатной температуры до температуры кипения соответствующего растворителя или смеси растворителей, предпочтительно реакцию проводят при температуре в диапазоне от комнатной температуры до 80°C.

Промежуточные соединения общей формулы (II-а) или их соли подвергают реакции с Gd-комплексами общей формулы (III), которые активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидроксипирролин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, что приводит к соединениям общей формулы (I-а). Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в *Tetrahedron* 61 (2005), с. 10827-10852. Например, получение 2,2',2''-[10-(1-{2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил}амино)-1-оксопропан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния подробно описано в WO 2001051095 A2. Реакцию промежуточных соединений общей формулы (II-а) с активированными Gd-комплексами общей формулы (III) проводят в подходящем растворителе, таком как, например, диметилсульфоксид, N,N-диметилформамид, пиридин или их смесь, необязательно реакцию проводят в присутствии основания. Подходящими основаниями являются, например, триалкиламины, такие как, например, триэтиламин или N,N-диизопропилэтиламин. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от комнатной температуры до 100°C, предпочтительно реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 70°C.

Путь получения соединений общей формулы (I-b) описан на схеме 2.

Схема 2

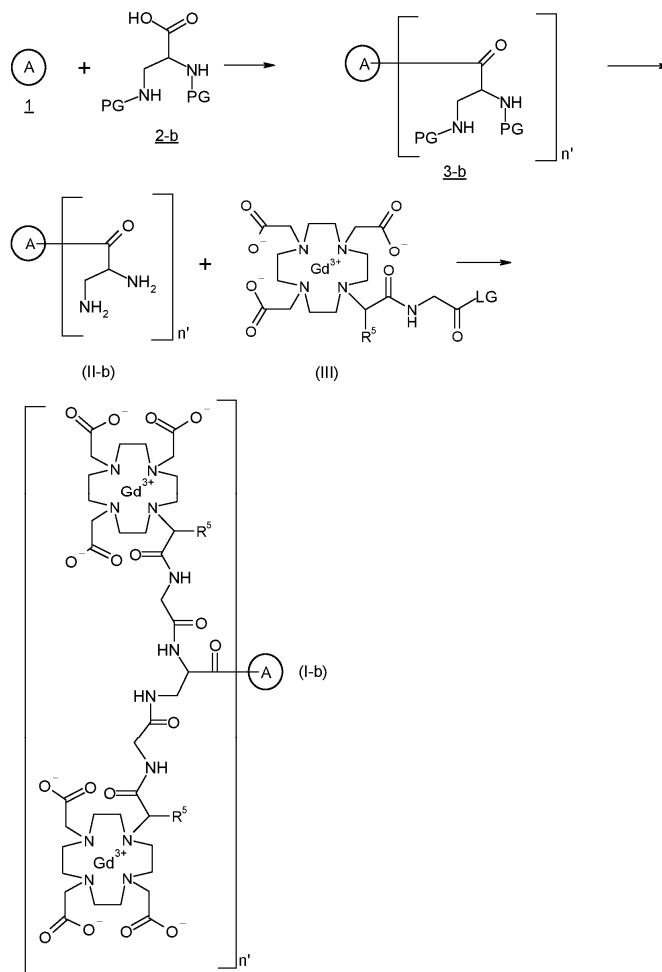


Схема 2. Путь получения соединений общей формулы (I-b), в которой $\textcircled{A}$ и R⁵ имеют значение,

приведенное для общей формулы (I), указанной выше, n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, и PG представляет собой аминозащитную группу, такую как, например, трет-бутилоксикарбонильная группа (BOC) или группа согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

Соединения общей формулы (I-b) синтезируют по аналогии с соединениями общей формулы (I-a), как описано выше.

Исходные вещества 1 являются либо коммерчески доступными полиаминами или их солями [например, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] или полиаминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе или в экспериментальной части ниже [например, CAS 41077-50-3].

Триамин или тетраамин 1 или его соль подвергают реакции с защищенной 2,3-диаминопропионой кислотой 2-b [например, CAS 201472-68-6] или ее солью, с получением промежуточного соединения общей формулы 3-b, которое после снятия защитных групп дает промежуточное соединение общей формулы (II-b) или его соль. На заключительной стадии промежуточное соединение общей формулы (II-b) или его соль подвергают реакции с Gd-комплексом общей формулы (III), что приводит к соединению общей формулы (I-b).

Путь получения соединений общей формулы (I-c) описан на схеме 3.

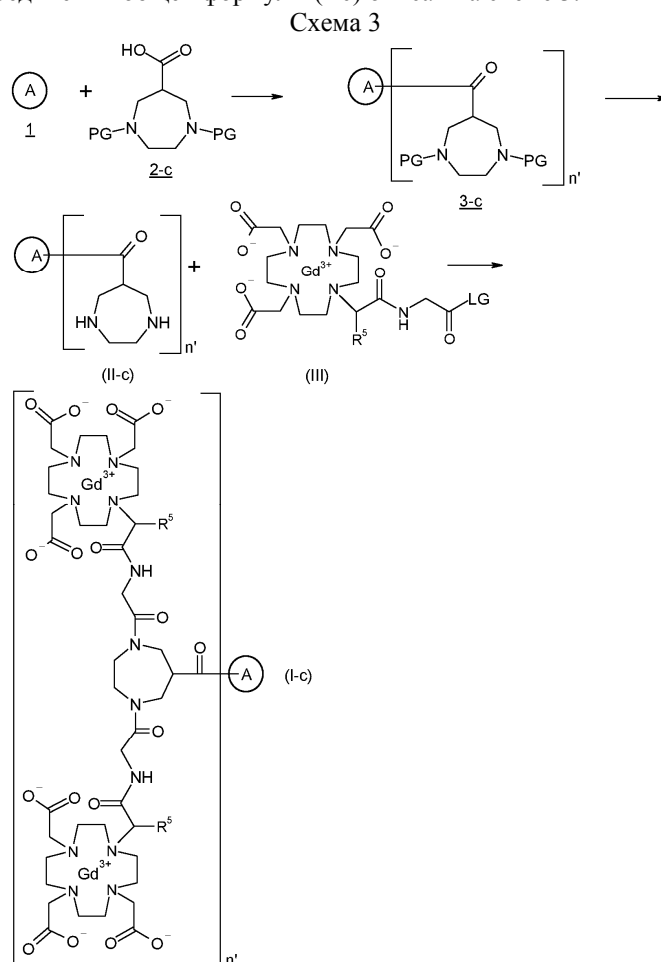


Схема 3. Путь получения соединений общей формулы (I-c), в которой $\textcircled{A}$ и R^5 имеют значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, и PG представляет собой аминозащитную группу, такую как, например, трет-бутилоксикарбонильная группа (BOC) или группа согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

Соединения общей формулы (I-c) синтезируют по аналогии с соединениями общей формулы (I-a), как описано выше.

Исходные вещества 1 являются либо коммерчески доступными полиаминами или их солями [например, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] или полиаминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе или в экспериментальной части ниже [например, CAS 41077-50-3].

Триамин или тетраамин 1 или его соль подвергают реакции с защищенной 1,4-дiazepан-6-карбоновой кислотой 2-с, которую можно синтезировать, как описано в экспериментальной части ниже, исходя из метил 1,4-добензил-1,4-дiazepан-6-карбоксилата [см. US 5866562], с получением промежуточ-

ного соединения общей формулы 3-с, которое после снятия защитных групп дает промежуточное соединение общей формулы (II-с) или его соль. На заключительной стадии промежуточное соединение общей формулы (II-с) или его соль подвергают реакции с Gd-комплексом общей формулы (III), что приводит к соединению общей формулы (I-с).

Путь получения соединений общей формулы (I-d) описан на схеме 4.

Схема 4

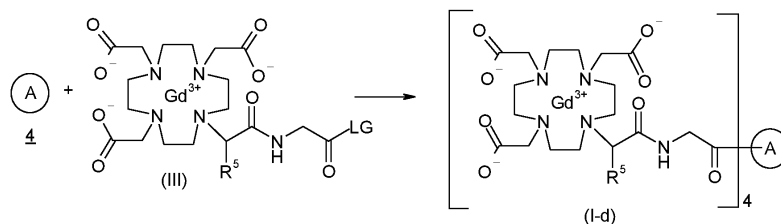


Схема 4. Путь получения соединений общей формулы (I-d), в которой R⁵ имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше,  представляет собой тетраамин, как приведено для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

Исходные вещества 4 являются либо коммерчески доступными тетрааминами или их солями [например, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо тетрааминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе.

Тетраамин 4 или его соль подвергают реакции с Gd-комплексом общей формулы (III), который активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]пиридин-3-ол, что приводит к соединению общей формулы (I-d). Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в Tetrahedron 61 (2005), с. 10827-10852. Например, получение 2,2',2''-[10-(1-{2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил}амино)-1-оксoproпан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния подробно описано в WO 2001051095 A2. Реакцию полиамина 4 или его соли с активированными Gd-комплексами общей формулы (III) проводят в подходящем растворителе, таком как, например, диметилсульфоксид, N,N-диметилформамид, пиридин или их смесь, необязательно реакцию проводят в присутствии основания. Подходящими основаниями являются, например, триалкиламины, такие как, например, триэтиламин или N,N-диизопропилэтиламин. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от комнатной температуры до 100°C, предпочтительно реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 70°C.

Путь получения соединений общей формулы (I-с) описан на схеме 5.

Схема 5

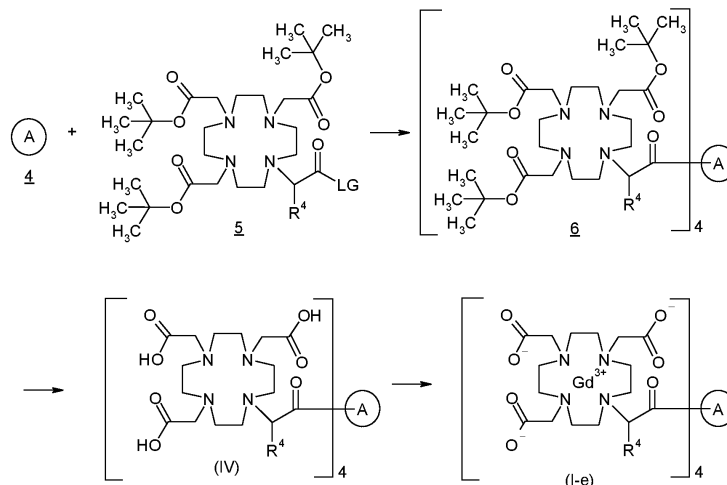


Схема 5. Путь получения соединений общей формулы (I-с), в которой R⁴ имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, ^(A) представляет собой тетраамин, как приведено для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

Исходные вещества 4 являются либо коммерчески доступными тетрааминами или их солями [например, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо тетрааминами или их солями, которые известны из литера-

туры, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе.

Тетраамин 4 или его соль подвергают реакции с производным [4,7,10-трис-(2-трет-бутоксипропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1-ил]уксусной кислоты 5, которое активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион [например, синтез три-трет-бутил 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]-2-оксоэтил}-1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1,4,7-триил)триацетата подробно описано авторами Cong Li и др., J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, с. 15072-15073; S3-5 и Galibert и др., Biorg. и Med. Chem. Letters 20 (2010), 5422-5425] или гидроксibenзотриазол, что приводит к промежуточному соединению 6. Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в Tetrahedron 61 (2005), с. 10827-10852. Реакцию сочетания полиаминов 4 с производными [4,7,10-трис-(2-трет-бутоксипропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1-ил]уксусной кислоты 5 проводят в подходящем растворителе, таком как, например, N,N-диметилформамид или диметилсульфоксид или их смеси, в температурном диапазоне от комнатной температуры до 80°C, с получением промежуточных соединений 6. Отщепления карбоксилзащитных групп можно добиться, как описано в пособии Greene и Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, второе издание, сс. 245-247. Снятие защитных групп, например, выполняют путем растворения и перемешивания промежуточных соединений 6 в трифторуксусной кислоте при комнатной температуре в течение нескольких часов. Комплексообразование промежуточных соединений общей формулы (IV) с подходящими соединениями или солями гадолиния (III), такими как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, хорошо известно специалисту в данной области техники. Промежуточные соединения общей формулы (IV) растворяют в воде и после добавления подходящих соединений гадолиния (III) полученные в результате смеси перемешивают в температурном диапазоне от комнатной температуры до 100°C при pH 1-7 в течение нескольких часов, получая соединения общей формулы (I-e). Промежуточные соединения общей формулы (IV), например, растворяют в воде, добавляют тетрагидрат триацетата гадолиния, pH доводят до 3.5-5.5 путем добавления подходящего основания, такого как, например, водный раствор гидроксида натрия. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 80°C, что приводит к соединениям общей формулы (I-e).

Путь получения соединений общей формулы (I-f) описан на схеме 6.

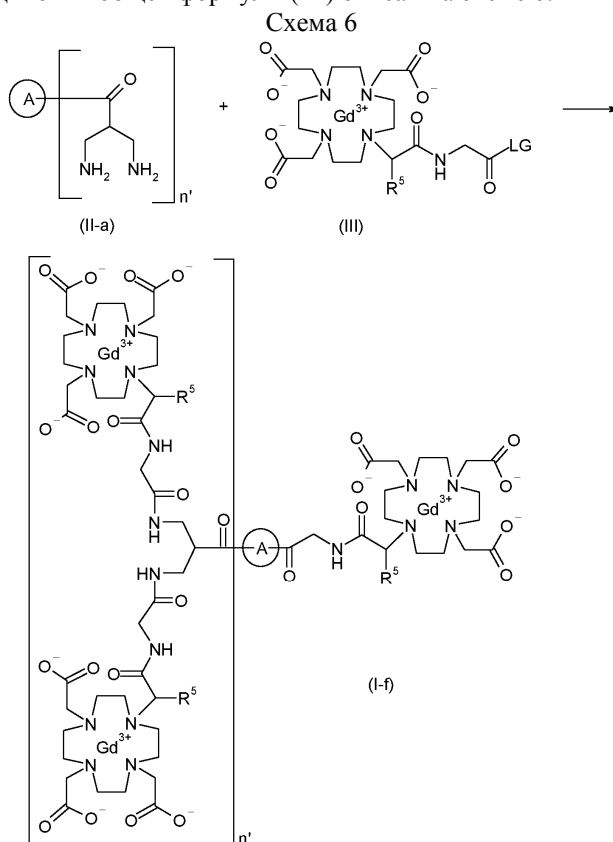


Схема 6. Путь получения соединений общей формулы (I-f), в которой n' представляет собой целое число 2, если A представляет собой триамин согласно приведенному выше определению, или n' представляет собой целое число 3, если A представляет собой тетраамин согласно приведенному выше определению, и R⁵ имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, и LG представ-

ляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол или группа согласно приведенному ниже определению.

Промежуточные соединения общей формулы (II-a) или их соли, как описано на схеме 1 и в экспериментальной части ниже, где n' представляет собой целое число 2 и $\textcircled{A}$ представляет собой триаминное ядро согласно приведенному выше определению, или промежуточные соединения общей формулы (II-a) или их соли, где n' представляет собой целое число 3 и $\textcircled{A}$ представляет собой тетрааминное ядро согласно приведенному выше определению, подвергают реакции с Gd-комплексами общей формулы (III), которые активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, что приводит к соединениям общей формулы (I-f). Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в Tetrahedron 61 (2005), с. 10827-10852. Например, получение 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния подробно описано в WO 2001051095 A2. Реакцию промежуточных соединений общей формулы (II-a) или их солей с активированными Gd-комплексами общей формулы (III) проводят в подходящем растворителе, таком как, например, диметилсульфоксид, N,N-диметилформамид, пиридин или их смесь, необязательно реакцию проводят в присутствии основания. Подходящими основаниями являются, например, триалкиламины, такие как, например, триэтиламин или N,N-диизопропилэтиламин. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от комнатной температуры до 100°C, предпочтительно реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 70°C.

Путь получения соединений общей формулы (I-g) описан на схеме 7.

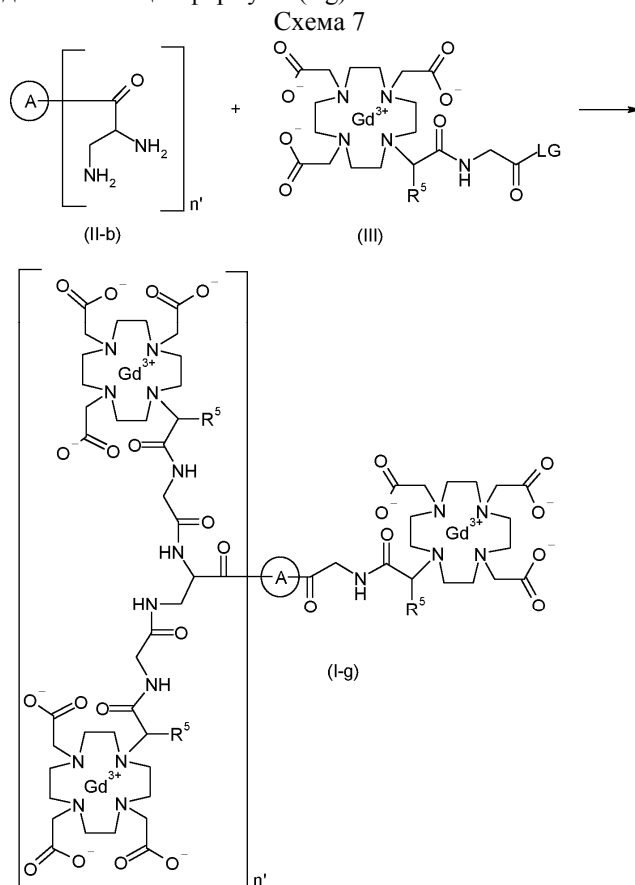


Схема 7. Путь получения соединений общей формулы (I-g), в которой n' представляет собой целое число 2, если $\textcircled{A}$ представляет собой триамин согласно приведенному выше определению, или n' представляет собой целое число 3, если $\textcircled{A}$ представляет собой тетраамин согласно приведенному выше определению, R^5 имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол или группа согласно приведенному ниже определению.

Соединения общей формулы (I-g) синтезируют по аналогии с соединениями общей формулы (I-f), как описано выше.

Промежуточные соединения общей формулы (II-b) или их соли, как описано на схеме 2, где n' представляет собой целое число 2 и $\textcircled{A}$ представляет собой триаминное ядро согласно приведенному выше

определению, или промежуточные соединения общей формулы (II-b) или их соли, где n' представляет собой целое число 3 и $\textcircled{A}$ представляет собой тетрааминное ядро согласно приведенному выше определению, подвергают реакции с Gd-комплексами общей формулы (III), которые активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидрокси-пирролидин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, что приводит к соединениям общей формулы (I-g).

Путь получения соединений общей формулы (I-h) описан на схеме 8.

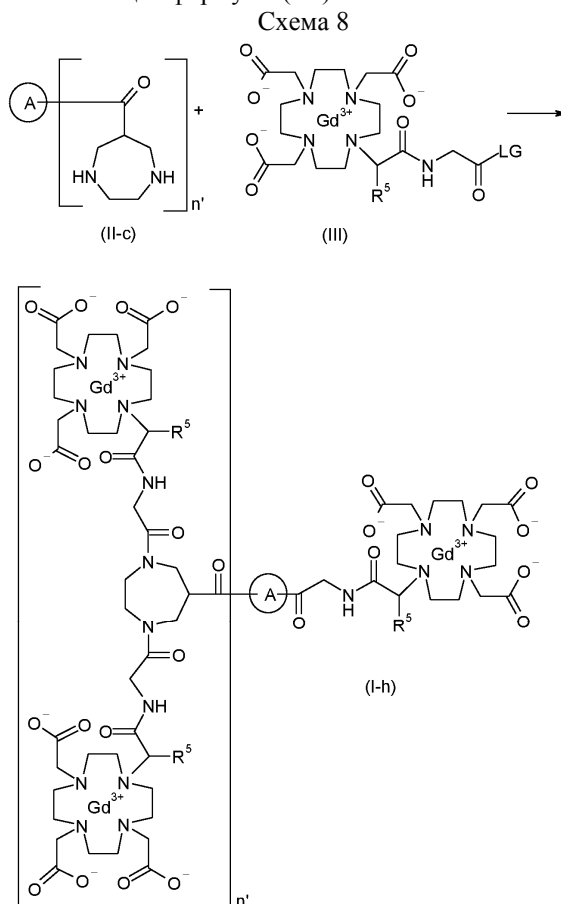


Схема 8. Путь получения соединений общей формулы (I-h), в которой n' представляет собой целое число 2, если $\textcircled{A}$ представляет собой триамин согласно приведенному выше определению, или n' представляет собой целое число 3, если $\textcircled{A}$ представляет собой тетраамин согласно приведенному выше определению, R^5 имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол или группа согласно приведенному ниже определению.

Соединения общей формулы (I-h) синтезируют по аналогии с соединениями общей формулы (I-f), как описано выше.

Промежуточные соединения общей формулы (II-c) или их соли, как описано на схеме 3, где n' представляет собой целое число 2 и $\textcircled{A}$ представляет собой триаминное ядро согласно приведенному выше определению, или промежуточные соединения общей формулы (II-c) или их соли, где n' представляет собой целое число 3 и $\textcircled{A}$ представляет собой тетрааминное ядро согласно приведенному выше определению, подвергают реакции с Gd-комплексами общей формулы (III), которые активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидрокси-пирролидин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, что приводит к соединениям общей формулы (I-h).

Путь получения соединений общей формулы (I-k) описан на схеме 9.

Схема 9

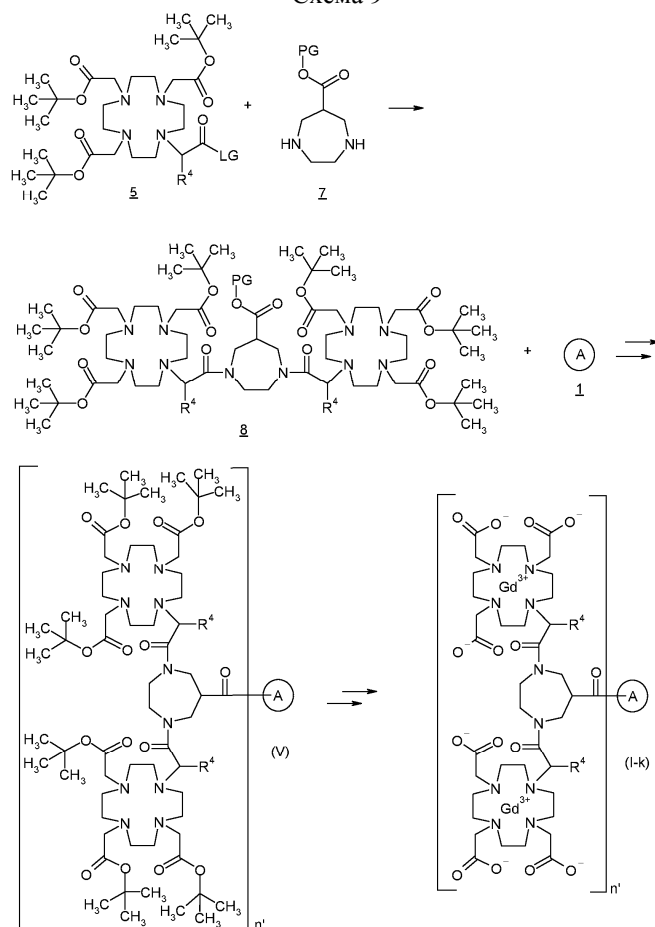


Схема 9. Путь получения соединений общей формулы (I-k), в которой $\textcircled{A}$ и R^4 имеют значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, и PG представляет собой карбоксилзащитную группу, такую как, например, метильная или этильная группа.

Исходные вещества 1 являются либо коммерчески доступными полиаминами или их солями [например, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо полиаминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе или в экспериментальной части ниже [например, CAS 41077-50-3].

Диамины 7 или их соли являются коммерчески доступными [например, CAS 1417898-94-2] или можно синтезировать способами, которые хорошо известны специалисту в данной области техники. Диамины 7 или их соли можно подвергнуть реакции с производным [4,7,10-трис-(2-трет-бутоксигрупп)-1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1-ил]уксусной кислоты 5, которое активируют уходящей группой (LG), такой как, например, пентафторфенол, 4-нитрофенол, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион [например, синтез три-трет-бутил 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]-2-оксоэтил}-1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1,4,7-триил)триацетата, подробно описано авторами Cong Li и др., J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, с. 15072-15073; S3-5 и Galibert и др., Biorg. и Med. Chem. Letters 2010, 20, с. 5422-5425] или гидроксибензотриазол, что приводит к промежуточным соединениям 8. Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в Tetrahedron 2005, 61 с. 10827-10852. Защитную группу PG промежуточных соединений 8 можно отщепить в основных условиях, как, например, путем обработки гидроксидами щелочных металлов, такими как, например, гидроксид лития, в воде или смеси воды и тетрагидрофурана, с получением соответствующей соли карбоновой кислоты. Эту соль можно подвергнуть сочетанию с полиаминами 1 с использованием стандартных условий пептидного сочетания, таких как, например, сочетание в присутствии HATU и 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-б]пиридин-3-ола в присутствии N,N-диизопропилэтиламина, в подходящем растворителе, таком как, например, дихлорметан, при комнатной температуре, с получением промежуточных соединений общей формулы (V). Отщепления карбоксилзащитных групп промежуточных соединений общей формулы (V) можно добиться с использованием стандартных условий, как, например, путем растворения и перемешивания промежуточных соеди-

нений (V) в водном растворе соляной кислоты при комнатной температуре. Последующее комплексообразование с подходящими соединениями или солями гадолиния (III), такими как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, хорошо известно специалисту в данной области техники, и его, например, можно добиться по реакции с подходящими соединениями гадолиния (III) в температурном диапазоне от комнатной температуры до 100°C при pH 1-7 в течение нескольких часов, получая соединения общей формулы (I-k). Сырые карбоновые кислоты, полученные из соединений общей формулы (V), например, подвергают реакции с триоксидом гадолиния при 80°C, что приводит к соединениям общей формулы (I-k).

Путь получения соединений общих формул (I-m) и (I-n) описан на схеме 10.

Схема 10

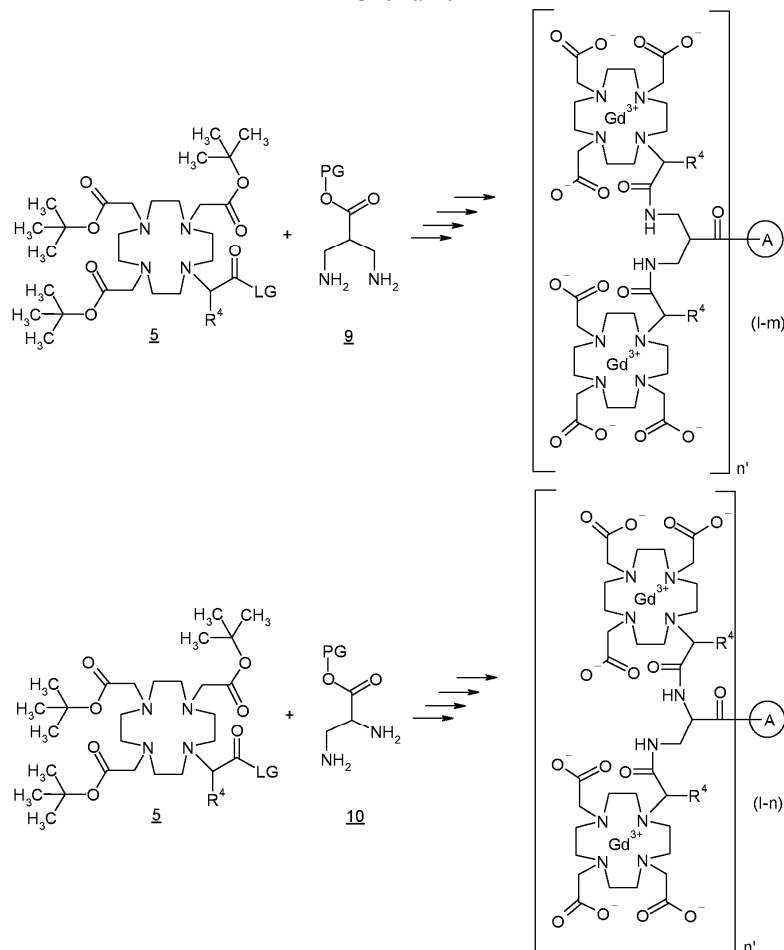


Схема 10. Путь получения соединений общих формул (I-m) и (I-n), в которой $\textcircled{A}$ и R^4 имеют значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, и PG представляет собой карбоксилзащитную группу, такую как, например, метильная или этильная группа.

Когда взамен диаминов формулы 7, как описано на схеме 9, в аналогичном синтезе применяют диамины формул 9 и 10 или их соли, как описано на схеме 9, можно получить соединения общих формул (I-m) и (I-n).

Диамины 9 или их соли являются коммерчески доступными [например, CAS 159029-33-1, CAS 440644-06-4] или можно синтезировать способами, которые хорошо известны специалисту в данной области.

Диамины 10 или их соли являются коммерчески доступными [например, CAS 20610-20-2, CAS 6059-44-5] или можно синтезировать способами, которые хорошо известны специалисту в данной области.

Путь получения соединений общей формулы (I-d), альтернативный описанному на схеме 4, описан на схеме 11.

Схема 11

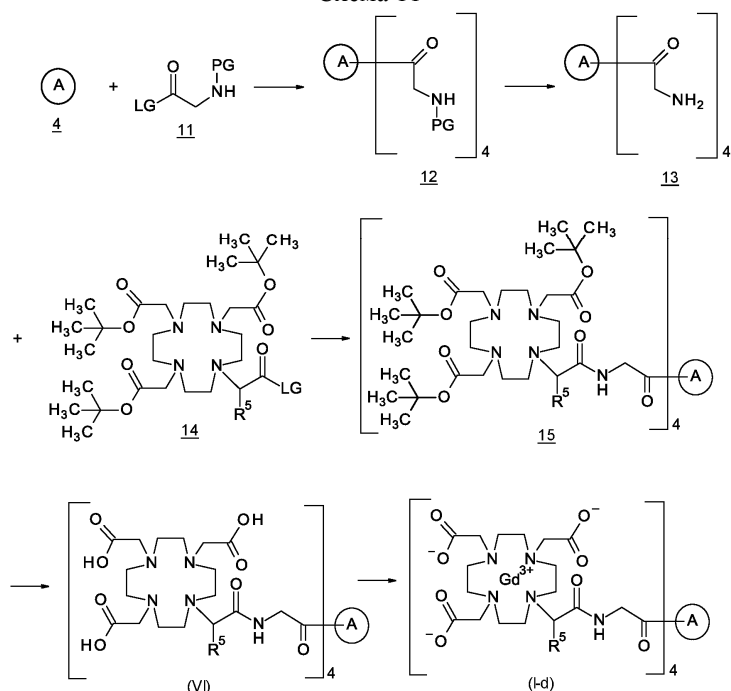


Схема 11. Альтернативный путь получения соединений общей формулы (I-d), в которой R^5 имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, $\textcircled{A}$ представляет собой тетраамин, как приведено для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]пиридин-3-ол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

Исходные вещества 4 являются либо коммерчески доступными тетрааминами или их солями [например, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо тетрааминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе. Исходные вещества 14 являются либо коммерчески доступными, либо известны из литературы или можно синтезировать по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе, например, путем поэтапного алкилирования цикленового ядра.

Тетраамин 4 или его соль подвергают реакции с аминокислотным производным 11, которое активируют уходящей группой (LG), такой как, например, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, пентафторфенол, 4-нитрофенол или 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]пиридин-3-ол, что приводит к промежуточному соединению 12. Получение активированных сложных эфиров хорошо известно специалисту в данной области техники и подробно описано, например, авторами С.А. Montalbetti и V. Falque в *Tetrahedron* 61 (2005), с. 10827-10852. Реакции сочетания полиаминов 4 с аминокислотными производными 11 проводят в подходящем растворителе, таком как, например, дихлорметан или N,N-диметилформамид, в температурном диапазоне от комнатной температуры до 50°C, с получением промежуточных соединений 12. Отщепления аминозащитных групп (PG) промежуточных соединений 12 с получением промежуточных соединений 13 можно добиться, как описано в пособии Greene и Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, второе издание. В случае трет-бутоксикарбонильных защитных групп снятие таких защитных групп, например, выполняют посредством реакции промежуточных соединений 12 с HCl в CPME в подходящем растворителе, таком как, например, CPME или 1,4-диоксан или их смесь, в температурном диапазоне от 0°C до комнатной температуры в течение нескольких часов.

Тетраамин 13 или его соль подвергают реакции с производным [4,7,10-трис-(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]уксусной кислоты 14, которое активируют уходящей группой (LG), такой как, например, 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]пиридин-3-ол, 4-нитрофенол или 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, что приводит к промежуточному соединению 15. Реакцию сочетания тетрааминов 13 с производными [4,7,10-трис-(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]уксусной кислоты 14 проводят в подходящем растворителе, таком как, например, N,N-диметилацетамид или диметилсульфоксид или их смесь, в температурном диапазоне от комнатной температуры до 80°C, с получением промежуточных соединений 15.

Отщепления карбоксилзащитных групп промежуточных соединений 15 с получением промежуточных соединений общей формулы (VI) можно добиться, как описано в пособии Greene и Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, второе издание, сс. 245-247. Снятие защитных групп, например, выполняют путем растворения и перемешивания промежуточных соединений 15 в трифторуксусной кислоте при комнатной температуре в течение нескольких часов.

Комплексообразование промежуточных соединений общей формулы (VI) с подходящими соединениями или солями гадолиния (III), такими как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, хорошо известно специалисту в данной области техники. Промежуточные соединения общей формулы (VI) растворяют в воде и после добавления подходящих соединений гадолиния (III) полученные в результате смеси перемешивают в температурном диапазоне от комнатной температуры до 100°C при pH 1-7 в течение нескольких часов, получая соединения общей формулы (I-d). Промежуточные соединения общей формулы (VI), например, растворяют в воде, добавляют тетрагидрат триацетата гадолиния и pH доводят до 3,5-5,5 путем добавления подходящего основания, такого как, например, водный раствор гидроксида натрия. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 80°C, что приводит к соединениям общей формулы (I-d).

Путь получения соединений общей формулы (I-d), альтернативный описанному на схеме 4, описан на схеме 12.

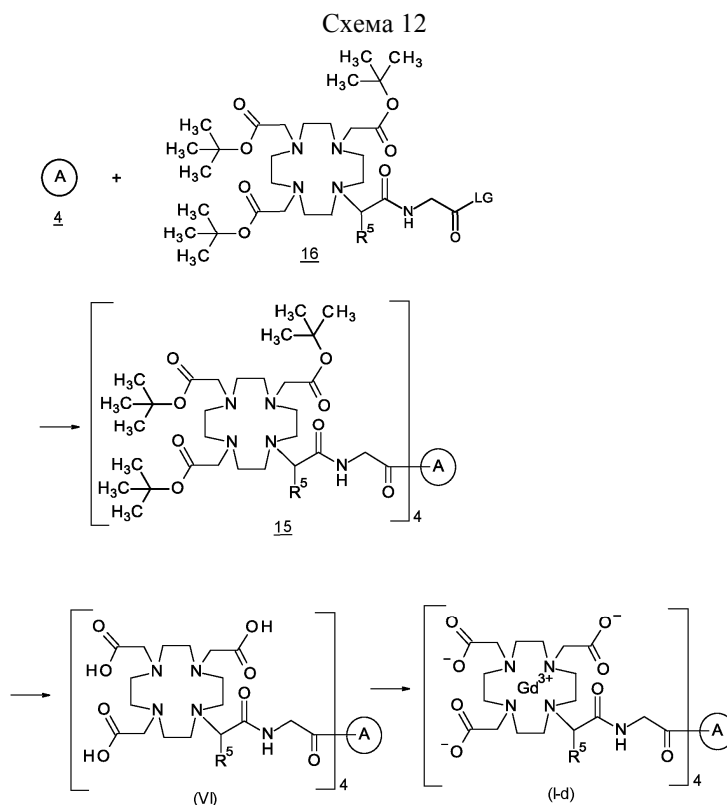


Схема 12. Альтернативный путь получения соединений общей формулы (I-d), в которой R⁵ имеет значение, приведенное для общей формулы (I), указанной выше, $\textcircled{A}$ представляет собой тетраамин, как приведено для общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше.

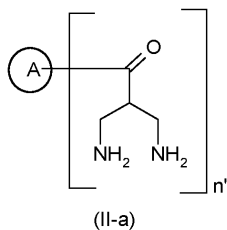
Исходные вещества 4 являются либо коммерчески доступными тетрааминами или их солями [например, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6], либо тетрааминами или их солями, которые известны из литературы, или которые можно получить по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе. Исходные вещества 16 либо известны из литературы, либо можно синтезировать по аналогии с соединениями, которые описаны в литературе, например, путем поэтапного алкилирования цикленового ядра.

Тетраамин 4 или его соль подвергают реакции с производным [4,7,10-трис-(2-трет-бутоксипропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты 16, которое активируют уходящей группой (LG), такой как, например, 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол, 4-нитрофенол или 1-гидрокси-2-пропанон, что приводит к промежуточному соединению 15. Реакцию сочетания тетрааминов 4 с производным [4,7,10-трис-(2-трет-бутоксипропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты 16 проводят в подходящем растворителе, таком как, например, N,N-диметилформамид, с получением промежуточных соединений 16.

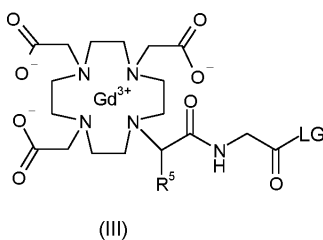
Комплексообразование промежуточных соединений общей формулы (VI) с подходящими соединениями или солями гадолиния (III), такими как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, хорошо известно специалисту в данной области техники. Промежуточные соединения общей формулы (VI) растворяют в воде и после добавления подходящих соединений гадолиния (III) полученные в результате смеси перемешивают в температурном диапазоне от комнатной температуры до 100°C при pH 1-7 в течение нескольких

часов, получая соединения общей формулы (I-d). Промежуточные соединения общей формулы (VI), например, растворяют в воде, добавляют тетрагидрат триацетата гадолиния и pH доводят до 3,5-5,5 путем добавления подходящего основания, такого как, например, водный раствор гидроксида натрия. Реакцию проводят при температуре в диапазоне от 50 до 80°C, что приводит к соединениям общей формулы (I-d).

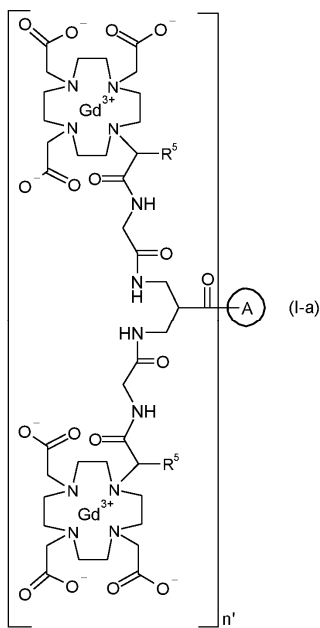
Способ получения соединения общей формулы (I-a), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (II-a)



в которой $\textcircled{A}$ является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)

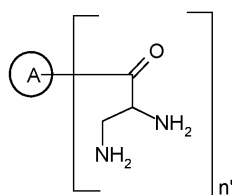


в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-a)



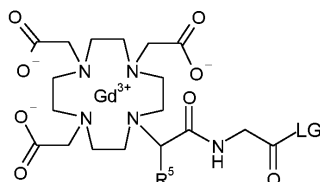
в которой $\textcircled{A}$ и R^5 являются такими, как определено для соединения общей формулы (I) выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4.

Способ получения соединения общей формулы (I-b), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (II-b)



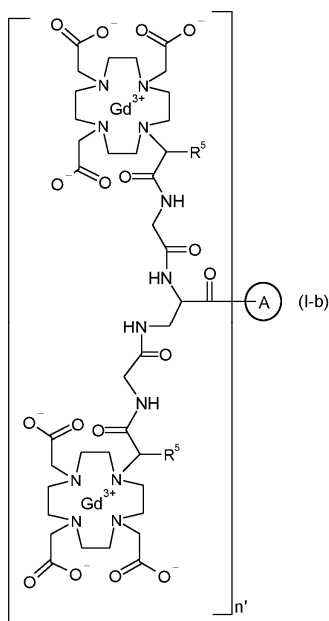
(II-b)

в которой $\textcircled{A}$ является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)



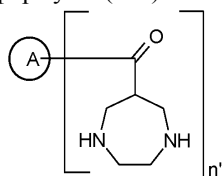
(III)

в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-b)



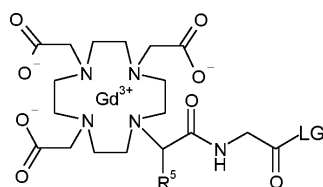
в которой $\textcircled{A}$ и R^5 являются такими, как определено для соединения общей формулы (I) выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4.

Способ получения соединения общей формулы (I-c), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (II-c)



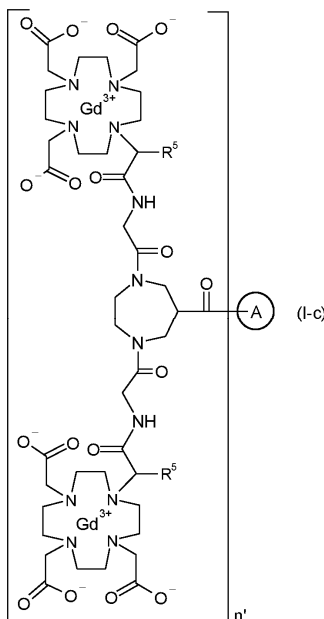
(II-c)

в которой $\textcircled{A}$ является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)



(III)

в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-c)



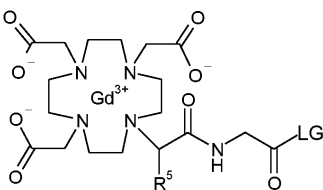
в которой $\textcircled{A}$ и R^5 являются такими, как определено для соединения общей формулы (I) выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4.

Способ получения соединения общей формулы (I-d), как определено выше, включает стадию, на которой соединение формулы 4



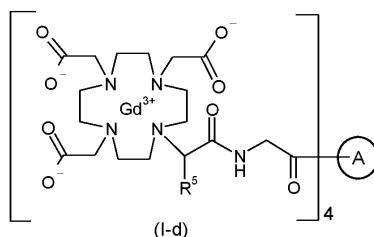
4

где $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)



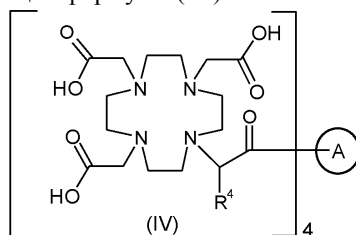
(III)

в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-d)

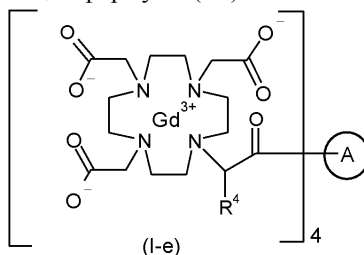


в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I) выше, и $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше.

Способ получения соединения общей формулы (I-c), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (IV)

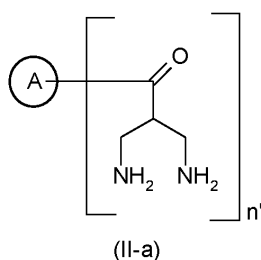


в которой R^4 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, вводят в реакцию с соединением гадолиния (III) или с его солью, таким(ой) как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, получая таким образом соединение общей формулы (I-c)

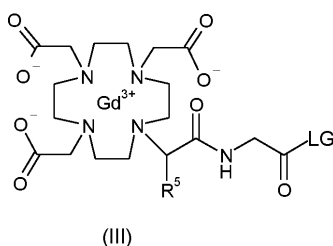


в которой R^4 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше.

Способ получения соединения общей формулы (I-f), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (II-a)

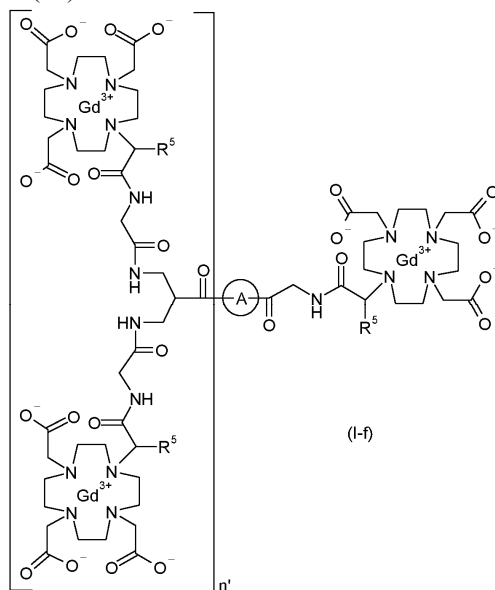


в которой $\textcircled{A}$ означает триамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, или его соль, или в которой $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 3, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)



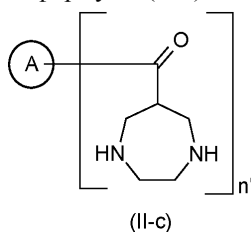
в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше,

и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-f)

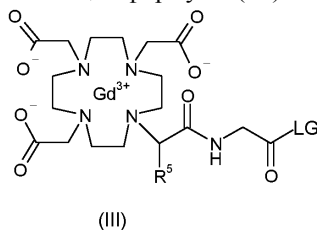


в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и в которой $\textcircled{A}$ означает триамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, или в которой $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 3.

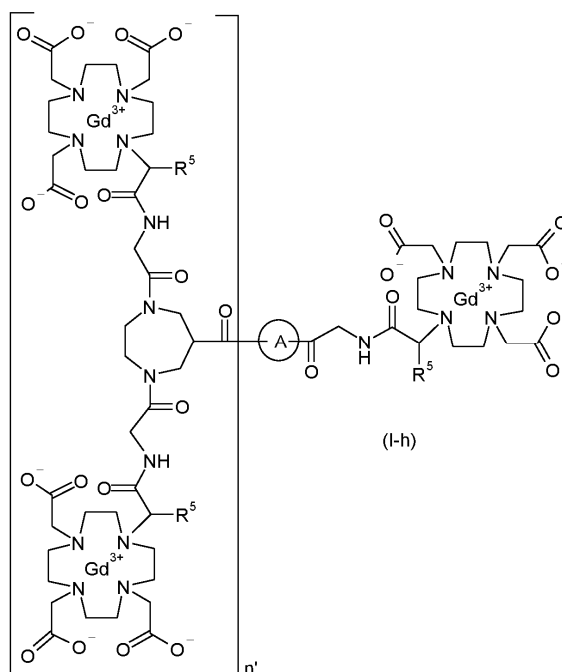
Способ получения соединения общей формулы (I-h), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (II-c)



в которой $\textcircled{A}$ означает триамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, или его соль, или в которой $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 3, или его соль, вводят в реакцию с соединением общей формулы (III)

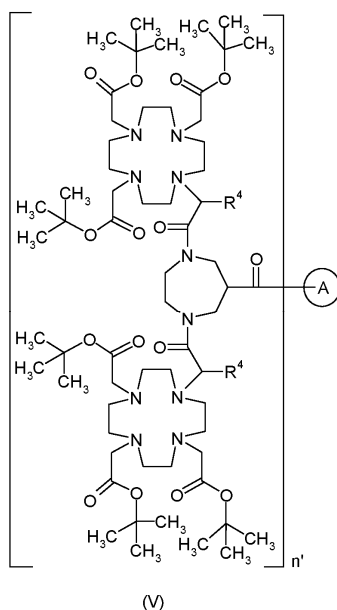


в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, такую как, например, 4-нитрофенол, или группу согласно определению для синтеза соединений общей формулы (I-a) выше, получая таким образом соединение общей формулы (I-h)

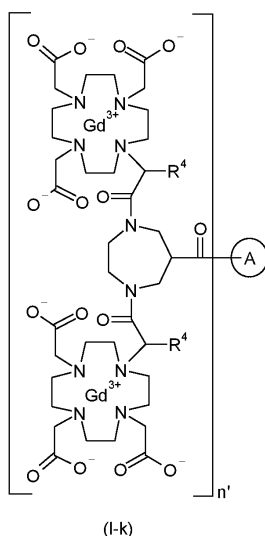


в которой R^5 является таким, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и в которой $\textcircled{A}$ означает триамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, или в которой $\textcircled{A}$ означает тетраамин, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 3.

Способ получения соединения общей формулы (I-k), как определено выше, включает стадию, на которой промежуточное соединение общей формулы (V)



в которой $\textcircled{A}$ и R^4 являются такими, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4, на первой стадии вводят в реакцию с кислотой, такой как, например, водный раствор соляной кислоты, и на второй стадии вводят в реакцию с соединением гадолиния (III) или с его солью, таким(ой) как, например, триоксид гадолиния, триацетат гадолиния или гидраты триацетата гадолиния, трихлорид гадолиния или тринитрат гадолиния, получая таким образом соединение общей формулы (I-k)



в которой $\textcircled{A}$ и R^4 являются такими, как определено для соединения общей формулы (I), указанной выше, и n' представляет собой целое число 2, 3 и 4.

Описание чертежей

Фиг. 1 демонстрирует кинетику в плазме крови примера 3 в сравнении с Гадовистом® у крыс. Фармакокинетический профиль примера 3 сравним с таковым Гадовиста®.

Фиг. 2 демонстрирует эволюцию относительной скорости парамагнитной продольной релаксации протонов воды $R_1^P(t)/R_1^P(0)$ в зависимости от времени в случае примера 3, эталонного соединения 1 (Гадовист®), эталонного соединения 2 (Магневист®) и эталонного соединения 3 (Примовист®). Стабильность примера 3 сравнима с высокой стабильностью макроциклического эталонного соединения 1 (Гадовист®).

Фиг. 3 демонстрирует данные магнитно-резонансной ангиографии у самцов новозеландских белых кроликов: (A) 30 мкмоль Gd/кг м.т., эталонное соединение 1 (Гадовист®); (B) 30 мкмоль Gd/кг м.т., пример 3 и (C) 100 мкмоль Gd/кг м.т., эталонное соединение 1. Контрастное усиление при выполнении низкодозового протокола с примером 3 (B) сравнимо с таковым стандартной дозы эталонного соединения 1 (C). Кроме того, качество изображения при выполнении низкодозового протокола в случае примера 3 (B) значительно лучше, чем при выполнении низкодозового протокола с эталонным соединением 1 (A). Ангиографическое исследование демонстрирует потенциал примера 3 в отношении значительного снижения дозы.

Фиг. 4 - MR-картина до и после введения контрастного вещества. Репрезентативные изображения области головы и шеи до и через 1,4 мин после введения примера 3 (A) и эталонного соединения 1 (B). Сильное усиление сигнала заметно, например, в сердце, языке и мышцах шеи.

Фиг. 5 - MR-картина до и после введения контрастного вещества. Репрезентативные изображения абдоминальной области до и через 0,5 мин после введения примера 3 (A) и эталонного соединения 1 (B). Сильное усиление сигнала заметно, например, в аорте, почках, печени и селезенке.

Фиг. 6 - MR-картина до и после введения контрастного вещества. Репрезентативные изображения области таза до и через 2,9 мин после введения примера 3 (A) и эталонного соединения 1 (B). Сильное усиление сигнала заметно, например, в сосудистой системе (сосудах) и в мышцах конечностей.

Фиг. 7 - усиление MRI-сигналов разных областей организма.

Усиление сигнала с течением времени после введения примера 3 и эталонного соединения 1 (Гадовист®) языка, мышц челюсти, печени, селезенки, аорты и мышц конечностей. Различий во временной динамике изменений сигналов между примером 3 и эталонным соединением 1 не наблюдали. Это демонстрирует идентичные фармакокинетические свойства и указывает на потенциальную возможность применения примера 3 для визуализации различных областей организма. Как и ожидалось из приблизительно 2-кратной более высокой релаксивности (см. пример A), наблюдаемые усиления контрастности в случае примера 3 были выше по сравнению с таковыми в случае эталонного соединения 1 (Гадовист®). Вертикальные бары представляют собой стандартное отклонение.

Фиг. 8 - корреляция концентрации гадолиния в ткани и усиления MRI-сигнала.

Концентрацию гадолиния измеряли в образцах тканей мозга, языка, печени, селезенки, крови и мышц конечностей (мускул) и определяли соответствующие изменения MRI сигнала in-vivo после введения примера 3 и эталонного соединения 1. Вертикальные и горизонтальные бары ошибок представляют собой стандартное отклонение. Пунктирные линии изображают линейную регрессию между концентрацией гадолиния и изменением сигнала MRI.

Фиг. 9 - диффузия разных контрастных веществ через полупроницаемые мембраны (20 кДа).

Измерения посредством динамической СТ выполняли для того, чтобы показать способность различных контрастных веществ диффундировать через полупроницаемую мембрану. (А) СТ изображения в случае примеров 1, 2, 3, 4, 5 и 6 по сравнению с таковыми в случае эталонного соединения 1 (Гадовист®) и 4 (Гадомер). Репрезентативная область измерения для оценки сигнала с течением времени показана на изображении А1.

Фиг. 10 - анализ сигналов в фантомном исследовании диффузии посредством динамической СТ с течением времени. Сигналы в единицах по шкале Хаунсфилда (HU) с течением времени диализной каскасы в растворе фетальной бычьей сыворотки в случае примеров 1-6 и эталонных соединений 1 и 4 демонстрируют, что в противоположность эталонному соединению 4 (Гадомер) все исследуемые соединения способны пройти полупроницаемую мембрану (20 кДа).

Фиг. 11 - магнитно-резонансные изображения с контрастированием GS9L опухолей головного мозга у крыс (обозначены белыми стрелками). (А) Внутрииндивидуальное сравнение эталонного соединения 1 (Гадовист®) и примера 3 при одной и той же дозе 0,1 ммоль Gd/кг массы тела (м.т.). Пример 3 показал более высокий контраст между участком поражения и мозгом и отличную демаркацию края опухолей. (В) Сравнение эталонного соединения 1 (Гадовист®) при 0,3 ммоль Gd/кг м.т. и примера 3 при 0,1 ммоль Gd/кг м.т. Пример 3 показал схожий контраст между участком поражения и мозгом при одной третьей дозы эталонного соединения 1.

Экспериментальный раздел

Сокращения.

ACN	ацетонитрил
AUC	площадь под кривой
bg	широкий сигнал (в ЯМР данных)
м.т.	масса тела
CPME	циклопентилметилловый эфир
CPMG	Карр-Парселл-Мейбум-Гилл (MRI последовательность)
C _{Gd}	концентрация соединения, нормированная к гадолинию
CI	химическая ионизация
Cl _{общ}	общий клиренс
дн	день(-и)
DAD	детектор на диодной матрице
ДХМ	дихлорметан
ДМФА	<i>N,N</i> -диметилформамид
ДМСО	диметилсульфоксид
ДМСО-d ₆	дейтерированный диметилсульфоксид
ECCM	внеклеточная контрастная среда
EI	электронная ионизация
ELSD	испарительный детектор светорассеяния
ESI	электрораспылительная ионизация
FBS	фетальная бычья сыворотка
ч	час
HATU	гексафторфосфат <i>N</i> -[(диметиламино)(3 <i>H</i> -[1,2,3]триазоло[4,5- <i>b</i>]пиримидин-3-илокси)метилден]- <i>N</i> -метилметанаминия
HCOOH	муравьиная кислота
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
HU	количество единиц по шкале Хаунсфилда
IR	инверсия-восстановление
кДа	килодальтон
ЖХМС	жидкостная хроматография - масс-спектрометрия
МС-ИСП	масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
MRI	магнитно-резонансная визуализация
MRT	среднее время удержания
МС	масс-спектрометрия
m	мультиплет
мин	минута(-ы)
ЯМР	ядерная магнитно-резонансная спектроскопия: значения химического сдвига (δ) приведены в м.д.

r_i	(где $i=1, 2$) значения релаксивности в л ммоль ⁻¹ с ⁻¹
Rt.	время удержания
s	синглет
ЭС	эталонное соединение
R_i	(где $i=1, 2$) значения скорости релаксации ($1/T_{1,2}$)
$R_{i(0)}$	скорость релаксации соответствующего растворителя
$T_{1,2}$	время релаксации
T	тесла
t	триплет
$t_{1/2} \alpha$	период полувыведения в плазме, компартмент V1
$t_{1/2} \beta$	период полувыведения в плазме, компартмент V2
$t_{1/2} \gamma$	период полувыведения в плазме, компартмент V3
ТФУ	трифторуксусная кислота
ТГФ	тетрагидрофуран
TI	время инверсии
СВЭЖХ	сверхэффективная жидкостная хроматография
V1 + V2	объем, компартменты V1+V2
V_c (V1)	объем, центральный компартмент V1
$V_{d,ss}$	объем распределения в равновесном состоянии

Материалы и приборы.

Химические вещества, используемые для проведения синтезов, соответствовали квалификации "чистый для анализа" и использовались в том виде, каком были получены.

Все реагенты, для которых синтез не описан в экспериментальном разделе, являются либо коммерчески доступными, либо представляют собой известные соединения, либо могут быть образованы из известных соединений с помощью известных способов специалистом в данной области техники.

Спектры ¹H-ЯМР измеряли в CDCl₃, D₂O или DMSO-d₆ соответственно (комнатная температура, спектрометр Bruker Avance 400, резонансная частота 400.20 МГц для ¹H или спектрометр Bruker Avance 300, резонансная частота 300.13 МГц для ¹H). Значения химического сдвига приведены в м.д. относительно натрия (триметилсилил)пропионата-d₄ (D₂O) или тетраметилсилана (DMSO-d₆) в качестве внешних стандартов ($\delta = 0$ м.д.).

Соединения и промежуточные соединения, полученные в соответствии со способами изобретения, могут требовать очистки. Очистка органических соединений хорошо известна специалисту в данной области техники и может существовать несколько путей очистки одного и того же соединения. В некоторых случаях какая-либо очистка может не потребоваться. В некоторых случаях соединения можно очистить с помощью кристаллизации. В некоторых случаях примеси могут быть удалены путем перемешивания с подходящим растворителем. В некоторых случаях соединения можно очистить с помощью хроматографии, в частности колоночной флэш-хроматографии, с использованием, например, предварительно заправленных картриджей с силикагелем, например Biotage SNAP картриджей KP-Sil® или KP-NH® в комбинации с системой автоочистки Biotage (SP4® или Isolera Four®), и элюентов, таких как градиенты гексана/этилацетата или ДХМ/метанола. В некоторых случаях соединения можно очистить с помощью препаративной ВЭЖХ с использованием, например, системы автоочистки Waters, оснащенной детектором на диодной матрице и/или масс-спектрометром с ионизацией электрораспылением в режиме реального времени в комбинации с подходящей предварительно заправленной колонкой с обращенной фазой и элюентами, такими как градиенты воды и ацетонитрила, которые могут содержать добавки, такие как трифторуксусная кислота, муравьиная кислота или водный раствор аммиака.

Примеры анализировали и характеризовали с помощью следующих аналитических методов на основе ВЭЖХ, определяя характерные значения времени удержания и масс-спектра.

Метод 1. СВЭЖХ (ACN-HCOOH).

Прибор Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; колонка Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50×2.1 мм; элюент А воды + 0.1% муравьиной кислоты, элюент В ацетонитрил; градиент: 0-1.6 мин 1-99% В, 1.6-2.0 мин 99% В; скорость потока 0.8 мл/мин; температура 60°C; инъекция: 2 мкл; DAD сканирование 210-400 нм; ELSD.

Метод 2. СВЭЖХ (ACN-HCOOH, полярный).

Прибор Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; колонка Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50×2.1 мм; элюент А воды + 0.1% муравьиной кислоты, элюент В ацетонитрил; градиент: 0-1.7 мин 1-45% В, 1.7-2.0 мин 45-99% В; скорость потока 0.8 мл/мин; температура 60°C; инъекция: 2 мкл; DAD сканирование 210-400 нм; ELSD.

Метод 3. СВЭЖХ (ACN-HCOOH, длительный опыт).

Прибор Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; колонка Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50×2.1 мм; элюент А: воды + 0.1% муравьиной кислоты, элюент В ацетонитрил; градиент: 0-4.5 мин 0-10% В; скорость потока 0.8 мл/мин; температура 60°C; инъекция 2 мкл; DAD сканирование 210-400 нм; ELSD.

Метод 4. СВЭЖХ (ACN-NH₃).

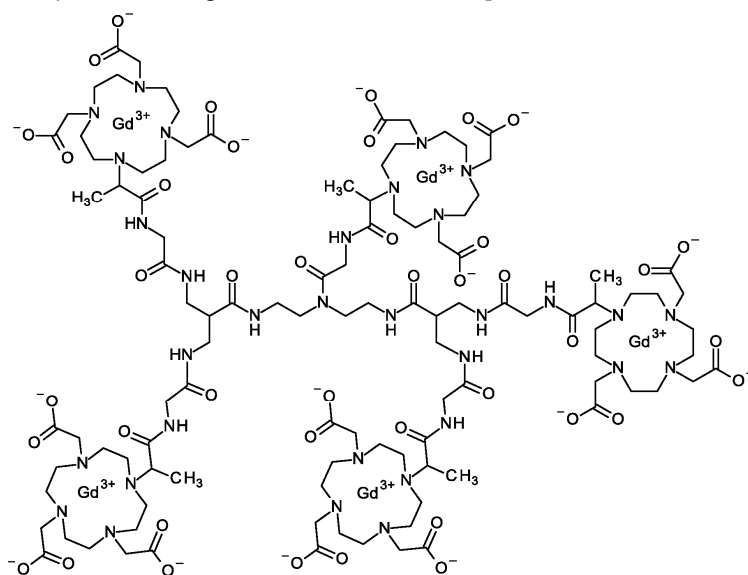
Прибор Waters Acquity UPLC-MS ZQ2000; колонка Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50×2.1 мм; элюент А воды + 0.2% аммиака, элюент В ацетонитрил; градиент 0-1.6 мин 1-99% В, 1.6-2.0 мин 99% В; скорость потока 0.8 мл/мин; температура 60°C; инъекция 1 мкл; DAD сканирование 210-400 нм; ELSD.

Метод 5. ЖХ-МС.

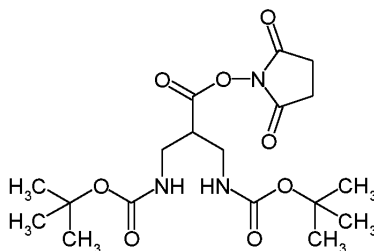
Прибор Agilent 1290 UHPLCMS ToF; колонка BEH C 18 (Waters) 1.7 мкм, 50×2.1 мм; элюент А воды + 0.05 об.% муравьиной кислоты (99%), элюент В ацетонитрил + 0.05% муравьиной кислоты; градиент 0-1.7 мин 98-10% А, 1.7-2.0 мин 10% А, 2.0-2.5 мин 10-98% А, скорость потока 1.2 мл/мин; температура 60°C; DAD сканирование 210-400 нм.

Соединения - примеры

Пример 1. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{3,6,10,18,22,25-гексаоксо-26-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-14-[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]-9,19-бис({[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14,17,21,24-гептаазагептакозан-2-ил}-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетат пентагадолиния



Пример 1а. ди-трет-Бутил (2-{{(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси}карбонил}пропан-1,3-диил) бис-карбамат



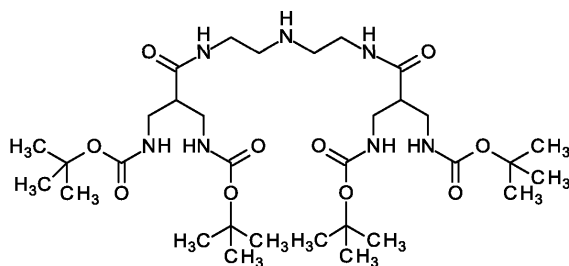
3,60 г (11,3 ммоль, 1 экв.) 3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-[[трет-бутоксикарбонил)амино]метил]пропановой кислоты (см. WO 2006/136460 A2) и 1,43 г (12,4 ммоль, 1,1 экв.) 1-гидроксипирролидин-2,5-диона растворяли в 120 мл ТГФ. К реакционной смеси по каплям добавляли раствор 2,57 г (12,4 ммоль, 1,1 экв.) N,N-дициклогексилкарбодиимида в 60 мл ТГФ. После перемешивания в течение 3 ч при комнатной температуре полученную в результате суспензию охлаждали до 0°C и осажденную мочевины отфильтровывали.

Прозрачный раствор упаривали досуха с получением 5,50 г (13,24 ммоль, 117%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 1,15 мин.

МС (ES⁺): m/z = 416,3 (M+H)⁺.

Пример 1b. трет-Бутил (7,17-бис-{{(трет-бутоксикарбонил)амино}метил}-2,2-диметил-4,8,16-триоксо-3-окса-5,9,12,15-тетраазаоктадекан-18-ил)карбамат



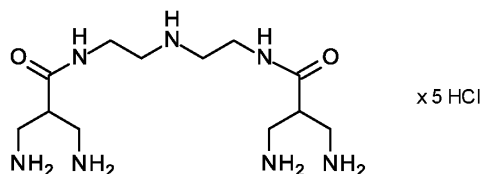
4,70 г (11,3 ммоль, 2,22 экв.) ди-трет-бутил (2-[[[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил}пропан-1,3-диил]бискарбамата (пример 1a) растворяли в 120 мл ТГФ. К реакционной смеси по каплям добавляли раствор 0,53 г (5,10 ммоль, 1 экв.) N-(2-аминоэтил)этан-1,2-диамина и 1,14 г (11,3 ммоль, 2,22 экв.) триэтиламина в 40 мл ТГФ. После перемешивания в течение 3 ч при комнатной температуре полученную в результате суспензию разбавляли дихлорметаном. Органический раствор промывали водным раствором гидроксида натрия (0,1М), водой и сушили над сульфатом натрия. Сырой продукт выделяли путем упаривания при пониженном давлении и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением 2,81 г (3,99 ммоль, 78%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ = 1.36 (s, 36H), 2.39 - 2.47 (m, 3H), 2.52 - 2.58 (m, 4H), 2.95 - 3.20 (m, 12H), 6.64 (t, 4H), 7.72 (t, 2H) м.д.

СВЭЖХ (ACN- HCOOH): R_t = 1,06 мин.

МС (ES^+): m/z = 704.6 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Пример 1с. Пентагидрохлорид N,N'-(иминодиэтан-2,1-диил)бис-[3-амино-2-(аминометил)пропан-амида]



600 мг (0,85 ммоль) трет-бутил (7,17-бис{[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}-2,2-диметил-4,8,16-триоксо-3-окса-5,9,12,15-тетраазаоктадекан-18-ил)карбамата (пример 1b) растворяли в 9,6 мл метанола и 2,85 мл водного раствора соляной кислоты (37%). Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 2 ч при 50°C. Для выделения продукта суспензию упаривали досуха с получением 423 мг (0,87 ммоль, 102%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ = 3.04 - 3.15 (m, 2H), 3.17 - 3.27 (m, 8H), 3.29 - 3.38 (m, 4H), 3.55 (t, 4H) м.д.

СВЭЖХ (ACN- HCOOH): R_t = 0,19 мин.

МС (ES^+): m/z = 304.2 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, свободное основание.

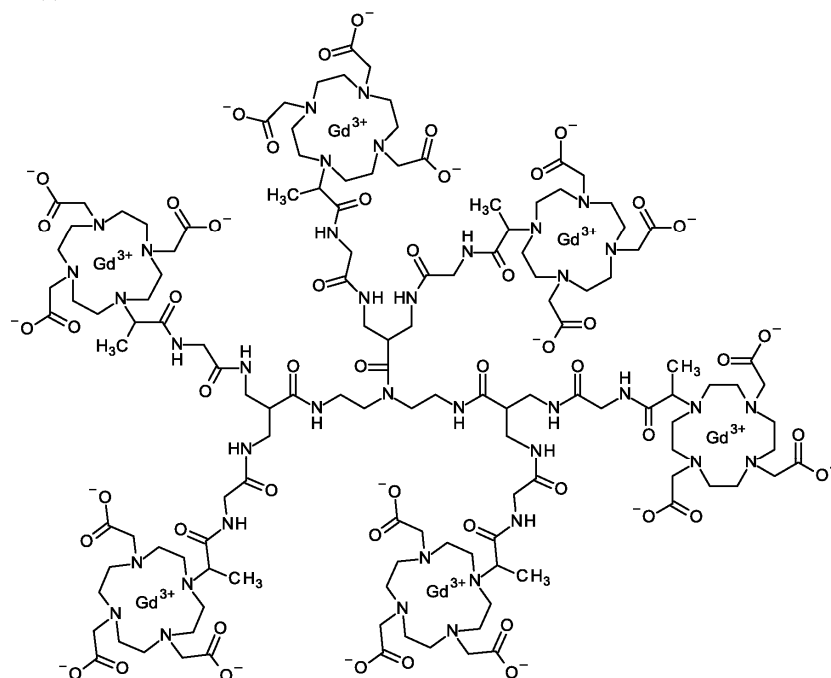
Пример 1. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{3,6,10,18,22,25-гексаоксо-26-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-14-[[{(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]-9,19-бис-([{(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14,17,21,24-гептаазагептакозан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетат пентагидрохлорид 150 мг (309 мкмоль, 1 экв.) пентагидрохлорида N,N'-(иминодиэтан-2,1-диил)бис[3-амино-2-(аминометил)пропан-амида] (пример 1с) растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 499 мг (3,86 ммоль, 12,5 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 4,06 г (5,40 ммоль, 17,5 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакционную смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 668 мг (64%, 199 мкмоль) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN- HCOOH): R_t = 0,46 мин.

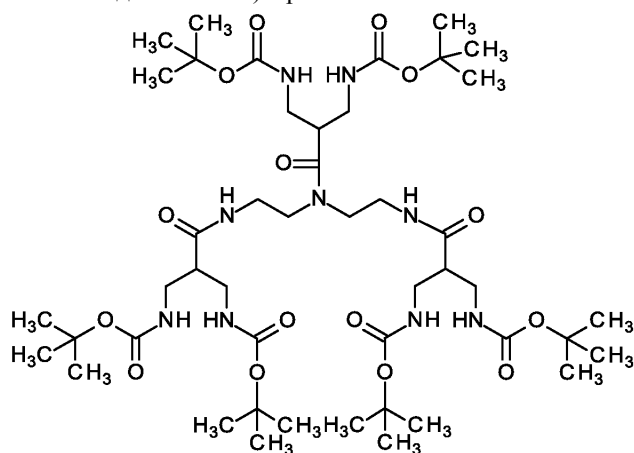
МС (ES^-): m/z ($z = 2$) = 1680,5 ($\text{M} - 2\text{H}$) $^{2-}$; (ES^+): m/z ($z = 3$) = 1121.3 ($\text{M} + \text{H}$) $^{3+}$, m/z ($z = 4$) = 841.4 [$(\text{M} + \text{H})$] $^{4+}$.

Пример 2. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{3,6,10,15,19,22-гексаоксо-23-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,16-бис([{(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-11-(2-{[3-{[{(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}-2-([{(2-

[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноил}амино}ацетил}амино}метил}пропаноил}амино}этил}-4,7,11,14,18,21-гексаазатетракозан-2-ил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетат гексагадолиния



Пример 2а. трет-Бутил (12-{2-[(3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}пропаноил)амино]этил}-7,14-бис{[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}-2,2-диметил-4,8,13-триоксо-3-окса-5,9,12-триазапентадекан-15-ил)карбамат



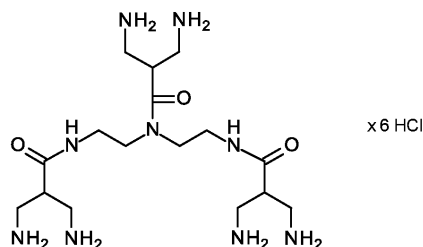
890 мг (2,80 ммоль, 3 экв.) 3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}пропановой кислоты (см. WO 2006/136460 A2) растворяли в 22 мл ДМФА. К раствору добавляли 434 мг (3,36 ммоль, 3,6 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 1,28 г (3,36 ммоль, 3,6 экв.) НАТУ. Полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. После добавления по каплям раствора 96,1 мг (0,93 ммоль, 1 экв.) N-(2-аминоэтил)этан-1,2-диамина и 434 мг (3,36 ммоль, 3,6 экв.) N,N-диизопропилэтиламина в 9 мл ДМФА полученную в результате реакцию смесь нагревали при перемешивании в течение 3 ч при 70°C. После охлаждения и разбавления дихлорметаном раствор промывали водным раствором гидроксида натрия (0,1М), водным раствором лимонной кислоты (1%) и водой и сушили над сульфатом натрия. Сырой продукт выделяли путем упаривания при пониженном давлении и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением 451 мг (0,45 ммоль, 48%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСO- d_6): δ = 1.37 (s, 54H), 2.36 - 2.49 (m, 3H), 2.81 - 3.30 (m, 17H), 3.36 - 3.70 (m, 3H), 6.16 - 6.92 (m, 6H), 7.77 - 8.35 (m, 2H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): R_t = 1,49 мин.

МС (ES^+): m/z = 1004,6 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Пример 2b. Гексагидрохлорид 3-амино-N,N-бис(2-{[3-амино-2-(аминометил)пропаноил]амино}этил)-2-(аминометил)пропанамида



581 мг (0,58 ммоль) трет-бутил (12-{2-[(3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}пропаноил)амино]этил}-7,14-бис{[(трет-бутоксикарбонил)амино]метил}-2,2-диметил-4,8,13-триоксо-3-окса-5,9,12-триазапентадекан-15-ил)карбамата (пример 2а) растворяли в 9,3 мл метанола и 2,9 мл водного раствора соляной кислоты (37%). Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 2 ч при 50°C. Для выделения продукта суспензию упаривали досуха с получением 376 мг (0,60 ммоль, 103%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ = 3.13- 3.27 (m, 2H), 3.28 - 3.85 (m, 21H) м.д.

СВЭЖХ (ACN- HCOOH): R_t = 0,19 мин.

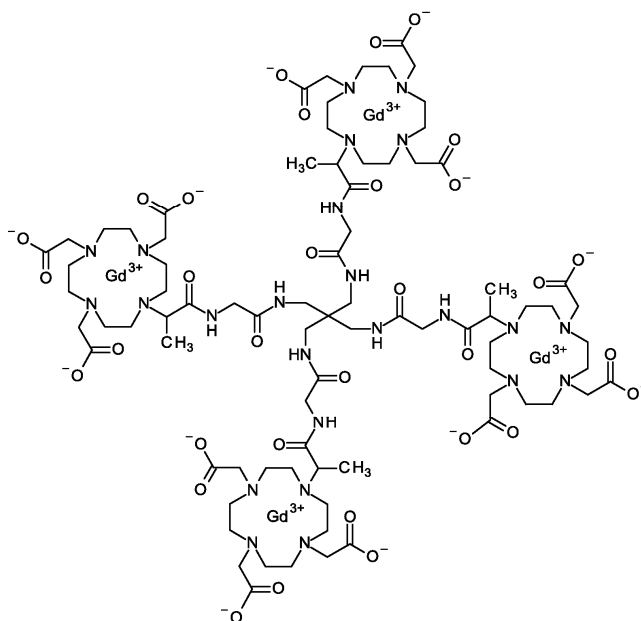
МС (ES^+): m/z = 404,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, свободное основание.

Пример 2. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{3,6,10,15,19,22-гексаоксо-23-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,16-бис{[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил]амино}метил)-11-(2-{3-{[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил]амино}-2-{[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил]амино}метил)пропаноил)амино}этил)-4,7,11,14,18,21-гексаазатетракозан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетат гексагадолиния 150 мг (241 мкмоль, 1 экв.) гексагидрохлорида 3-амино-N-бис(2-{3-амино-2-(аминометил)пропаноил]амино}этил)-2-(аминометил)пропанамида (пример 2b) растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 467 мг (3,62 ммоль, 15 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 3,80 г (5,06 ммоль, 21 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 677 мг (166 мкмоль, 69%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN- HCOOH): R_t = 0,44 мин.

МС (ES^+): m/z ($z = 3$) = 1357,4 ($\text{M}+3\text{H}$) $^{3+}$, m/z ($z = 4$) = 1018,8 ($\text{M}+4\text{H}$) $^{4+}$, m/z ($z = 5$) = 815,7 ($\text{M}+5\text{H}$) $^{5+}$.

Пример 3. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис{[(2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетат тетрагадолиния



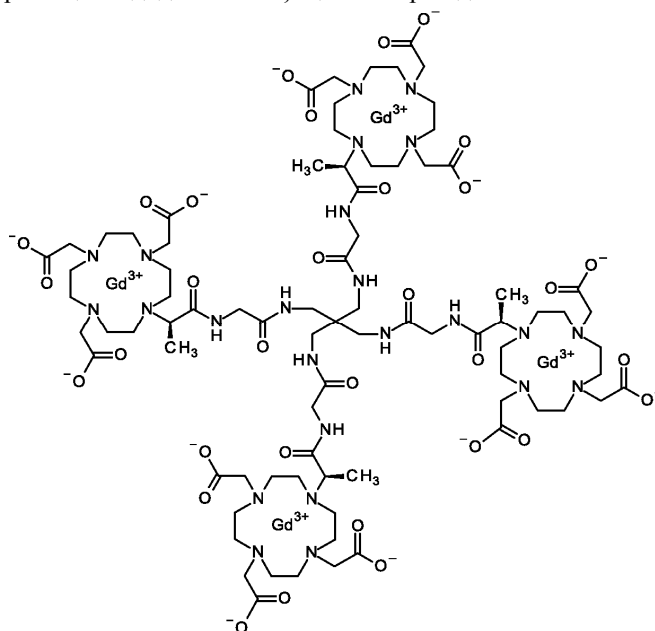
225 мг (1,65 ммоль, 1 экв.) 2,2-бис(аминометил)пропан-1,3-диамина (см. W. Hayes и др., Tetrahedron 59 (2003), 7983-7996) растворяли в 240 мл ДМСО. После добавления 1,71 г (13,2 ммоль, 8 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 14,9 г (19,85 ммоль, 12 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 40-50 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 600 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 3,42 г (80%, 1,33 ммоль) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 0,42 мин.

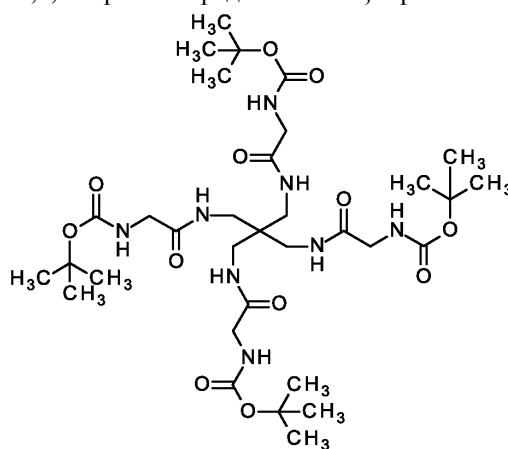
МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1290,4 (M+H)²⁺, m/z (z = 3) = 860,7 (M+H)³⁺.

Пример 3 включает смесь стереоизомеров, которые демонстрируют следующие абсолютные конфигурации: все-R, все-S, RRRS, SSSR, RRSS.

Пример 3-1. {4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино)метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}ацетат тетрагадолиния



Пример 3-1а. трет-Бутил {10,10-бис({[(трет-бутоксикарбонил)амино]ацетил}амино)метил)-2,2-диметил-4,7,13-триоксо-3-окса-5,8,12-триазатетрадекан-14-ил} карбамат



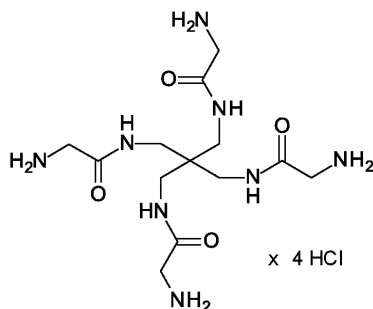
Смесь тетрагидрохлорида 2,2-бис(аминометил)пропан-1,3-диамина (851 мг, 3,06 ммоль, 1 экв.; см. W. Hayes и др., Tetrahedron 59 (2003), 7983-7996) в дихлорметане (50 мл) обрабатывали N-диизопропилэтиламино (6,00 экв., 3,20 мл, 18,4 ммоль) и 2,5-диоксопирролидин-1-ил N-(трет-бутоксикарбонил)глицинатом (CAS-номер [3392-07-2]; 6,00 экв., 5,00 г, 18,4 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 дней. Реакционную смесь разбавляли водой, образовавшийся осадок

док отфильтровывали и промывали водой и дихлорметаном. Осажденное вещество подвергали хроматографии на силикагеле (дихлорметан/метанол) с получением указанного в заголовке соединения (800 мг, 34%).

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ = 1.36 (s, br, 36H), 2.74 - 2.76 (m, 8H), 3.48 - 3.50 (m, 8H), 6.96 (s, br, 0.4H*), 7.40 - 7.42 (m, 3.6H*), 7.91 - 8.00 (m, 4H) м.д.

ЖХ-МС (ES^+): m/z = 761,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; R_t = 1,16 мин.

Пример 3-1b. Тетрагидрохлорид 2-амино-N-(3-[(аминоацетил)амино]-2,2-бис{[(аминоацетил)амино]метил}пропил)ацетамида

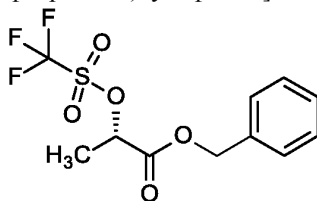


Суспензию трет-бутил {10,10-бис[([(трет-бутоксикарбонил)амино]ацетил)амино]метил}-2,2-диметил-4,7,13-триоксо-3-окса-5,8,12-триазатетрадекан-14-ил}карбамата (1,00 экв., 800 мг, 1,05 ммоль) из примера 11а в СРМЕ (10 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали по каплям HCl в СРМЕ (10 экв., 3,5 мл 3М раствора, 10,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч и при к.т. в течение ночи, после чего добавляли диоксан (4 мл) и дополнительное количество HCl в СРМЕ (30 экв., 11 мл 3М раствора, 32 ммоль) и перемешивание при к.т. продолжали в течение 2 дней. Полученную в результате суспензию концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (575 мг, колич.), которое дополнительно не очищали.

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ = 3.17 - 3.18 (m, 8H), 3.59 - 3.61 (m, 8H), 8.21 (s, br, 12H), 8.55 (t, 4H) м.д.

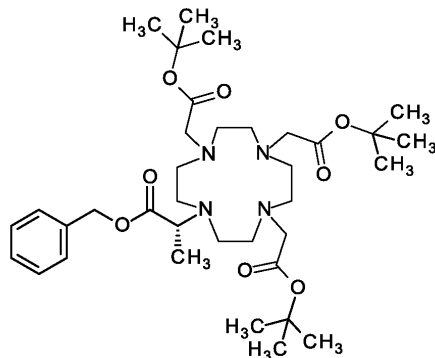
ЖХ-МС (ES^+): m/z = 361,2 ($\text{M} - 3\text{HCl} - \text{Cl}$) $^+$; R_t = 0,10 мин.

Пример 3-1с. Бензил (2S)-2-{[(трифторметил)сульфонил]окси}пропаноат



Получали в соответствии с Н.С.И. Ottenheim и др., Tetrahedron 44 (1988), 5583-5595: Раствор сложного бензильного эфира (S)-(-)-молочной кислоты (CAS-номер [56777-24-3]; 1,00 экв., 5,00 г, 27,7 ммоль) в сухом дихлорметане (95 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали трифторметансульфоновым ангидридом (CAS-номер [358-23-6]; 1,1 экв., 5,2 мл, 8,6 г, 31 ммоль). После перемешивания в течение 5 мин добавляли 2,6-диметилпиридин (1,15 экв., 3,72 мл, 3,42 г) и перемешивание продолжали в течение еще 5 мин. Полученную реакционную смесь непосредственно использовали на следующей стадии.

Пример 3-1d. Бензил (2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза циклододекан-1-ил]пропаноат



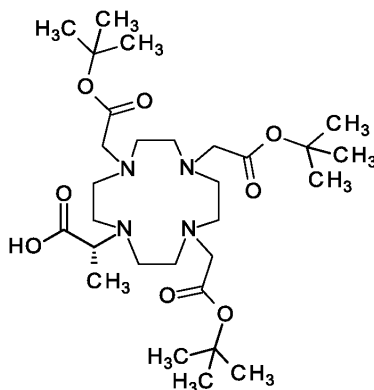
Раствор три-трет -бутил 2,2',2''-(1,4,7,10-тетрааза циклододекан-1,4,7-триил)триацетата (CAS-номер [122555-91-3]; 1,00 экв., 9,52 г, 18,5 ммоль) в сухом дихлорметане (75 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали реакционной смесью бензил (2S)-2-{[(трифторметил)сульфонил]окси}пропаноата в дихлорметане, полученной в примере 3-1с; и N,N-диизопропилэтиламино (3,0 экв., 9,7 мл, 55 ммоль). Полученный в

результате раствор перемешивали при к.т. в течение 6 дней, после чего его разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Полученное вещество очищали с помощью хроматографии на силикагеле с аминофазой (KP-NH®), от смеси гексан/этилацетат до смеси дихлорметан/метанол) с получением указанного в заголовке соединения (1,92 г, 14%).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ = 1.20 (d, 3H), 1.37 - 1.45 (m, 27H), 1.98 - 2.01 (m, 3H), 2.08 - 2.24 (m, 5H), 2.57 - 2.84 (m, 7H), 2.94 - 3.11 (m, 4H), 3.38 - 3.48 (m, 3H), 3.75 (q, 1H), 5.07 - 5.17 (m, 2H), 7.32 - 7.40 (m, 5H) м.д.

ЖХ-МС (ES⁺): m/z = 677.5 (M+H)⁺, m/z (z=2) = 339.2 (M+H)²⁺; Rt = 1,06 мин.

Пример 3-1e. (2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксис(2-оксоэтил))-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропановая кислота



Раствор бензил (2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксис(2-оксоэтил))-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноата (пример 3-1d; 1,92 г, 2,84 ммоль) в метаноле (17,5 мл) обрабатывали Pd/C (10 мас.%; 0,050 экв., 151 мг, 0,14 ммоль) и перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит®, промывали метанолом и фильтрат концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (1,51 г, 88%), которое дополнительно не очищали.

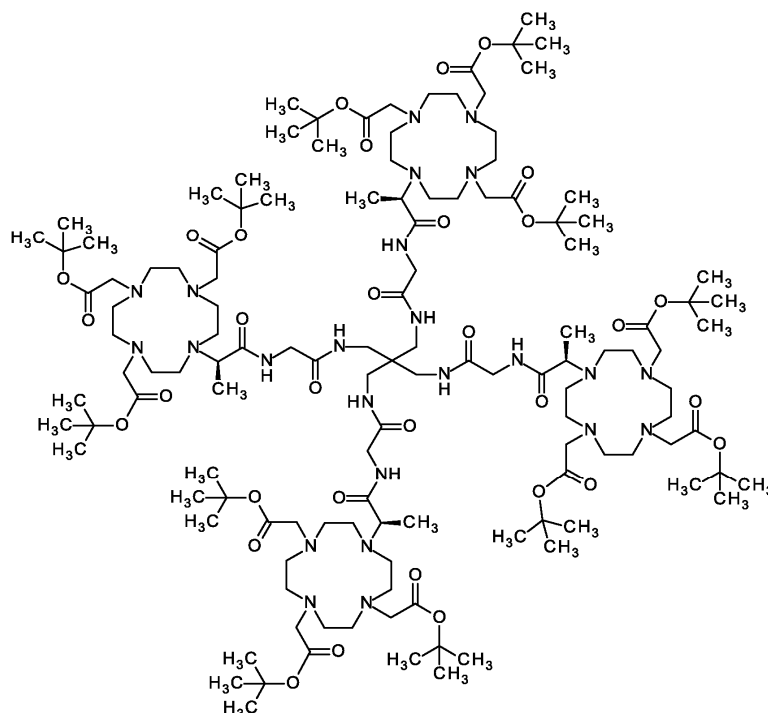
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ = 1.11 (s, br, 3H), 1.42 - 1.43 (m, 27H), 1.97 - 2.13 (m, 5H), 2.56 - 2.82 (m, 7H), 2.97 - 3.07 (m, 4H), 3.34 - 3.53 (m, 7H), 12.8 (s, br, 1H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-NH₃): Rt = 1,31 мин.

МС (ES⁺): m/z = 587 (M+H)⁺.

ЖХ-МС (ES⁺): m/z = 587 (M+H)⁺, m/z (z=2) = 294,2 (M+H)²⁺; Rt = 0,79 мин.

Пример 3-1f. трет-Бутил {4,10-бис(2-трет-бутоксис(2-оксоэтил))-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксис(2-оксоэтил))-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксис(2-оксоэтил))-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}ацетат



Смесь (2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропановой кислоты (пример 3-1e; 12,0 экв., 1,50 г, 2,56 ммоль) в N-диметилацетамиде (15 мл) обрабатывали НАТУ (14,4 экв., 1,17 г, 3,07 ммоль) и N-диизопропилэтиламино (14,4 экв., 534 мкл, 3,07 ммоль) и перемешивали при к.т. в течение 20 мин. Добавляли суспензию тетрагидрохлорида 2-амино-N-(3-[(аминоацетил)амино]-2,2-бис{[(аминоацетил)амино]метил}пропил)ацетамида (пример 3-1b; 1,00 экв., 108 мг, 213 мкмоль) в N,N-диметилацетамиде (6 мл) и полученную в результате смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток подвергали хроматографии на силикагеле с аминофазой (КР-NH®, от этилацетата до смеси этилацетат/метанол) с получением указанного в заголовке соединения (260 мг, 42%).

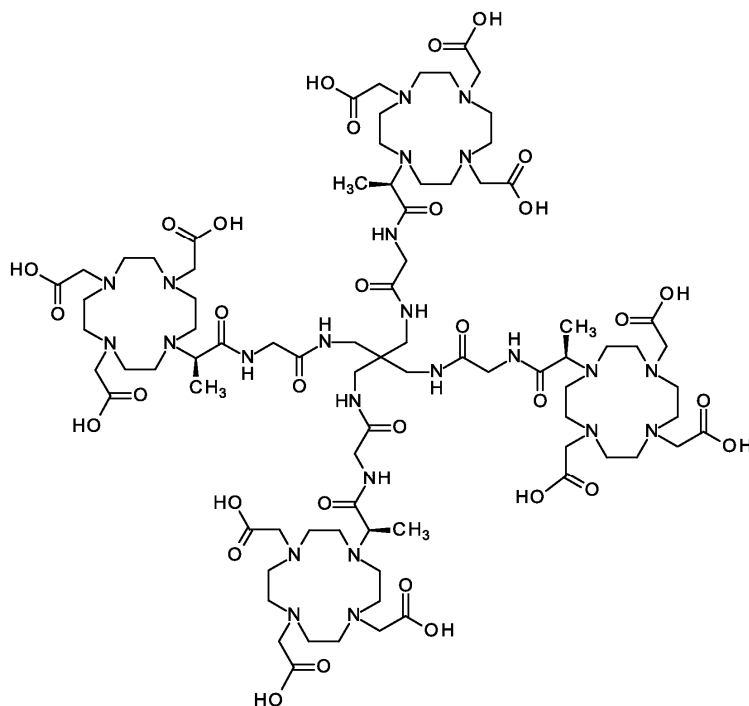
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ = 1.03 (s, br, 5H), 1.28 (s, br, 7H), 1.36 - 1.43 (m, 108H), 1.87 - 2.24 (m, 23H), 2.42 (s, br, 4H), 2.53 - 2.84 (m, 41H), 2.97 - 3.18 (m, 17H), 3.28 (s, br, 5H), 3.39 - 3.46 (m, 6H), 3.58 (s, br, 7H), 3.76 (s, br, 2H), 4.01 (s, br, 3H), 7.81 (s, br, 5H), 8.33 (s, br, 2H), 9.27 (s, br, 1H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-NH₃): Rt = 1,23 мин.

МС (ES⁺): m/z (z = 4) = 660 (M+H)⁴⁺.

ЖХ-МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1318 (M+H)²⁺, m/z (z = 3) = 879 (M+H)³⁺, m/z (z = 4) = 660 (M+H)⁴⁺; Rt = 0,94 мин.

Пример 3-1g. {4,10-бис(Карбоксиметил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}уксусная кислота



трет-Бутил {4,10-бис(2-трет-бутоксигидрокси-2-оксоэтил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксигидрокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксигидрокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}-метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}ацетат (пример 3-1f; 260 мг, 0,099 ммоль) обрабатывали ТФУ (25 мл) при перемешивании при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, полученный остаток вносили в воду (20 мл) и лиофилизировали. Сырой продукт использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 3-1. {4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}-метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}ацетат тетрагадолина.

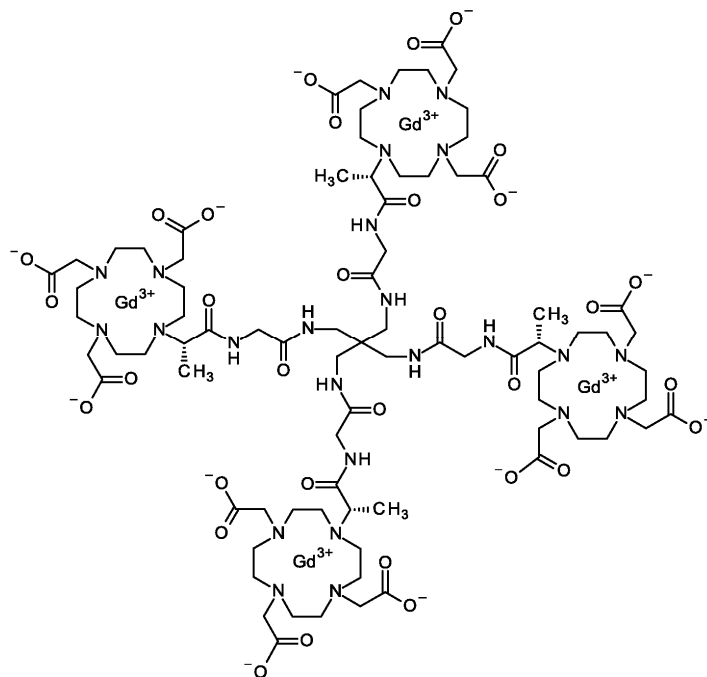
Сырое вещество {4,10-бис(карбоксиметил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2R)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}-метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}уксусную кислоту из примера 3-1g растворяли в воде (20 мл). Добавляли тетрагидрат трис(ацетато-каппаО)гадолина (298 мг, 0,734 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Значение pH полученного в результате раствора доводили до 4,5 путем добавления водного раствора гидроксида натрия (2н.) и перемешивание при 70°C продолжали в течение 2 дней. Полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой (7×100 мл), используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (70 мг, 27% за две стадии).

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 0,39 мин.

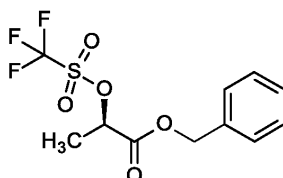
МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1290,1 (M+H)²⁺, m/z (z = 3) = 860,3 (M+H)³⁺.

ЖХ-МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1290,3 (M+H)²⁺, m/z (z = 3) = 860,9 (M+H)³⁺, m/z (z = 4) = 645,6 (M+H)⁴⁺; Rt = 0,25 мин.

Пример 3-2. {4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}-метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}ацетат тетрагадолина

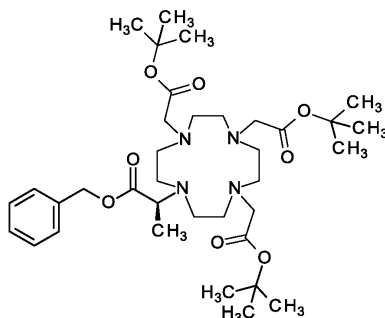


Пример 3-2а. Бензил (2R)-2-[(трифторметил)сульфонил]окси}пропаноат



Получали по аналогии с соответствующим S-изомером (пример 3-1с) из сложного бензильного эфира (R)-(+)-молочной кислоты (CAS-номер [74094-05-6]; 8,00 г, 44,4 ммоль) в дихлорметане. Полученную реакционную смесь непосредственно использовали на следующей стадии.

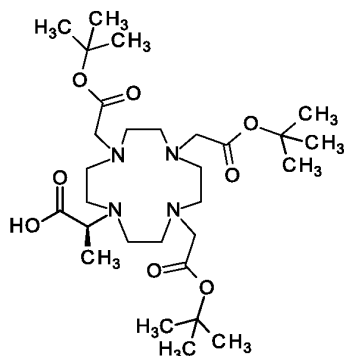
Пример 3-2b. Бензил (2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноат



Получали по аналогии с соответствующим R-изомером (пример 3-1d) из три-трет-бутил 2,2',2''-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил)триацетата (CAS-номер [122555-91-3]; 1,00 экв., 15,2 г, 29,6 ммоль) и реакционной смеси бензил (2R)-2-[(трифторметил)сульфонил]окси}пропаноата в дихлорметане, полученной в примере 3-2а.

ЖХ-МС (ES^+): $m/z = 677,4 (M+H)^+$, $m/z (z=2) = 339,2 (M+H)^{2+}$; $R_t = 0,94$ мин.

Пример 3-2с. (2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропановая кислота



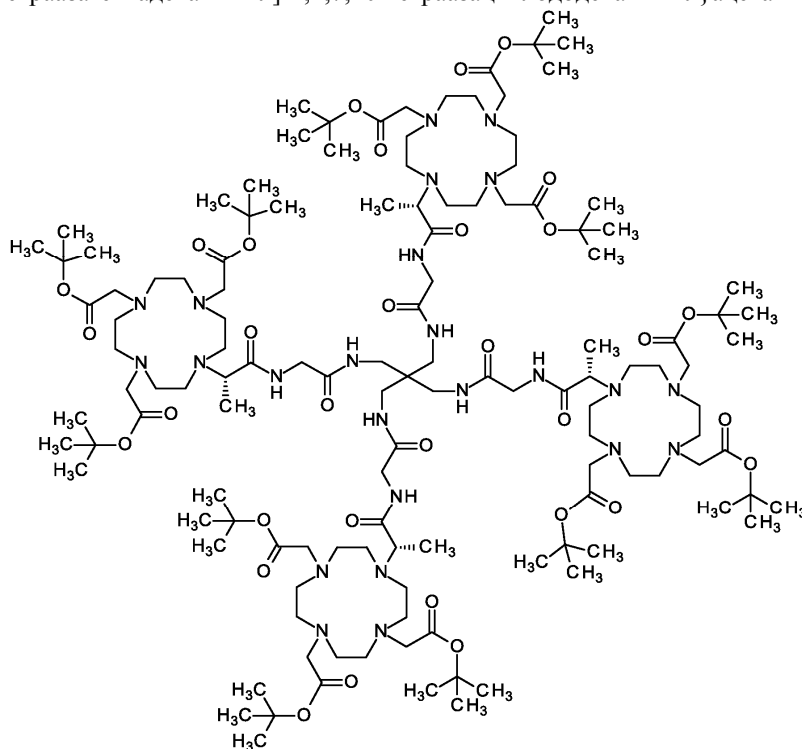
Получали по аналогии с соответствующим R-изомером (пример 3-1e) из бензил (2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноата (пример 3-2b).

СВЭЖХ (ACN-NH₃): Rt = 1,31 мин.

МС (ES⁺): m/z = 587 (M+H)⁺.

ЖХ-МС (ES⁺): m/z = 587,4 (M+H)⁺, m/z (z=2) = 294,2 (M+H)²⁺; Rt = 0,82 мин.

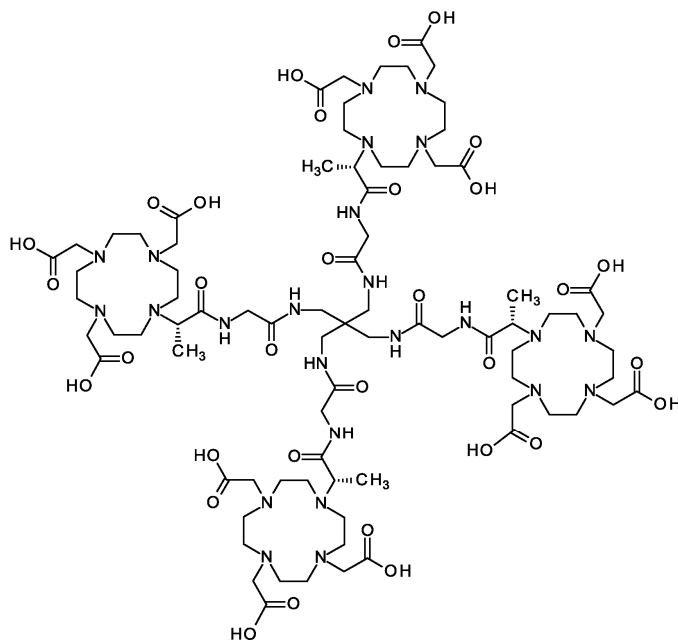
Пример 3-2d. трет-Бутил {4,10-бис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}ацетат



Получали по аналогии с соответствующим R-изомером (пример 3-1f) из (2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропановой кислоты (пример 3-2c) и тетрагидрохлорида 2-амино-N-(3-[(аминоацетил)амино]-2,2-бис{[(аминоацетил)амино]метил}пропил)ацетамида (пример 3-1b).

ЖХ-МС (ES⁺): m/z (z=2) = 1318 (M+H)²⁺, m/z (z=3) = 879 (M+H)³⁺, m/z (z=4) = 660 (M+H)⁴⁺; Rt = 0,95 мин.

Пример 3-2e. {4,10-бис(Карбоксиметил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}уксусная кислота



Получали по аналогии с соответствующим R-изомером (пример 3-1g) из трет-бутил {4,10-бис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}ацетата (пример 3-2d). Сырой продукт использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 3-2. {4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}ацетат тетрагадолина.

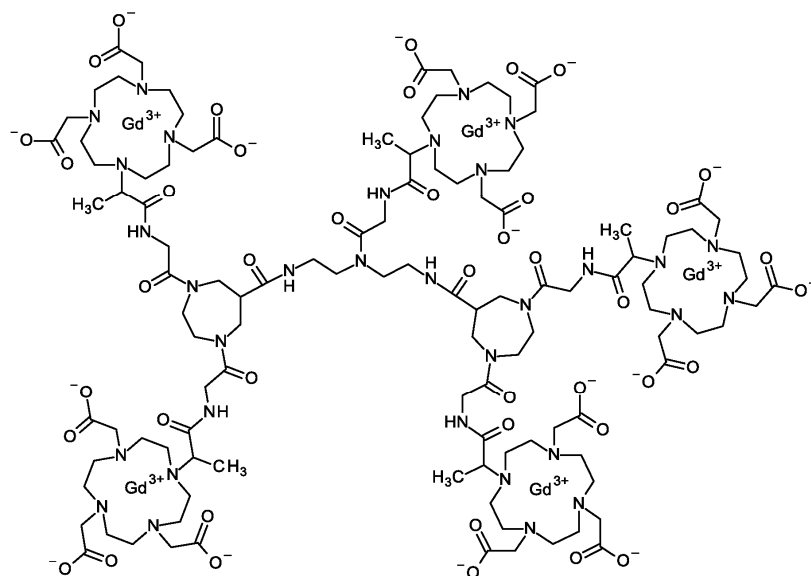
Получали по аналогии с соответствующим R-изомером (пример 3-1) из {4,10-бис(карбоксиметил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис({[(2S)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}уксусной кислоты (пример 3-2e) и тетрагидрата трис(ацетато-каппаO)гадолина при pH 4,5. Полученный в результате реакционный раствор подвергали ультрафильтрации с водой (8×100 мл), используя 1 кДа мембрану, и конечный ретенат лиофилизировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,41$ мин.

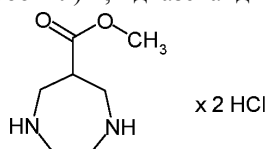
МС (ES^+): m/z ($z = 2$) = 1290 ($M+H$) $^{2+}$, m/z ($z = 3$) = 861 ($M+H$) $^{3+}$.

ЖХ-МС (ES^+): m/z ($z = 2$) = 1290 ($M+H$) $^{2+}$, m/z ($z = 3$) = 860 ($M+H$) $^{3+}$, m/z ($z = 4$) = 645,6 ($M+H$) $^{4+}$; $R_t = 0,23$ мин.

Пример 4. [4-(1-{[2-(бис{2-[(1,4-бис{[2-[4,7,10-трис(Карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]-1,4-дизепан-6-ил}карбонил)амино]этил}амино)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-7,10-бис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетат пентагадолина



Пример 4а. Дихлорид 6-(метоксикарбонил)-1,4-дiazепандия



6,00 г (17,7 ммоль) метил 1,4-дибензил-1,4-дiazепан-6-карбоксилата [см. US 5866562] растворяли в 30 мл метанола. После добавления 6 мл водного раствора соляной кислоты (37%), 6 мл воды и 600 мг палладия на древесном угле (10%) реакционную смесь гидрировали (1 атм) в течение 17 ч при 40°C.

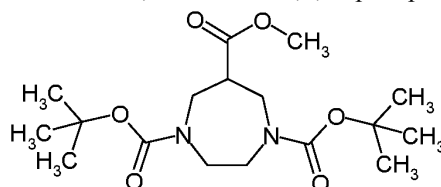
Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали при пониженном давлении с получением 4,1 г (17,7 ммоль, 100%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ = 3.62-3.84 (m, 9H), 3.87 (s, 3H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-НСООН): R_t = 0,20 мин.

МС (ES^+): m/z = 159,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, свободное основание.

Пример 4b. 1,4-ди-трет-Бутил 6-метил 1,4-дiazепан-1,4,6-трикарбоксилат



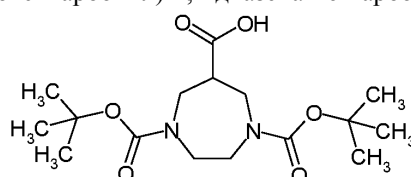
4,00 г (17,3 ммоль, 1 экв.) дихлорида 6-(метоксикарбонил)-1,4-дiazепандия (пример 4а) растворяли в 80 мл ДМФА. После добавления 7,71 г (76,2 ммоль, 4,4 экв.) триметиламина и 8,31 г (38,1 ммоль, 2,2 экв.) ди-трет-бутил дикарбоната полученную в результате реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Суспензию фильтровали, фильтрат упаривали при пониженном давлении и разбавляли этилацетатом. Полученный в результате раствор промывали водным раствором лимонной кислоты (pH 3-4), полунасыщенным водным раствором бикарбоната натрия, сушили над сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении с получением 4,92 г (13,7 ммоль, 79%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6): δ = 1.36 (s, 18H), 2.69 - 3.27 (m, 4H), 3.35 - 4.00 (m, 5H), 3.62 (s, 3H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-НСООН): R_t = 1,32 мин.

МС (ES^+): m/z = 359,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 4с. 1,4-бис(трет-Бутоксикарбонил)-1,4-дiazепан-6-карбоновая кислота



4,86 г (13,66 ммоль) 1,4-ди-трет-бутил 6-метил 1,4-дiazепан-1,4,6-трикарбоксилата (пример 4b) рас-

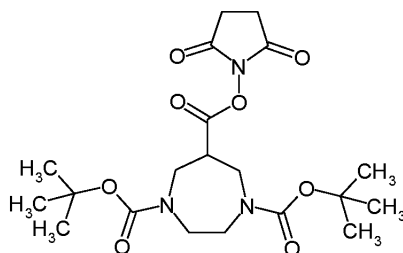
творяли в 82 мл ТГФ. После добавления 27 мл водного раствора гидроксида натрия (2М) полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре, разбавляли водой и подкисляли (рН 3-4) путем добавления лимонной кислоты. Сырой продукт экстрагировали дихлорметаном, органический слой промывали соляным раствором, сушили над сульфатом натрия и упаривали досуха с получением 4,67 г (12,4 ммоль, 91%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ = 1.38 (s, 18H), 2.58 - 2.86 (m, 1H), 2.94 - 4.00 (m, 8H), 12.50 (s, br, 1H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): R_t = 1,12 мин.

МС (ES^+): m/z = 345,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 4d. ди-трет-Бутил 6-{[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил}-1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилат

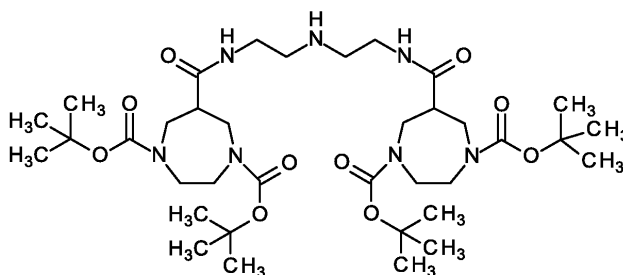


1,76 г (5,11 ммоль, 1 экв.) 1,4-бис(трет-бутоксикарбонил)-1,4-дiazепан-6-карбоновой кислоты (пример 4с) и 0,65 г (5,62 ммоль, 1,1 экв.) 1-гидроксипирролидин-2,5-диона растворяли в 50 мл ТГФ. Добавляли раствор 1,16 г (5,62 ммоль, 1,1 экв.) $\text{N,N}'$ -дициклогексилкарбодиимида в 30 мл ТГФ и полученную в результате реакцию смесь нагревали с обратным холодильником в течение 5 ч. Суспензию охлаждали до 0°C и осажденную мочевины отфильтровывали. Конечный раствор активированного сложного эфира непосредственно использовали на следующей химической стадии.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): R_t = 1,24 мин.

МС (ES^+): m/z = 442,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 4е. тетра-трет-Бутил 6,6'-[иминобис(этан-2,1-диилкарбамоил)]бис(1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилат)



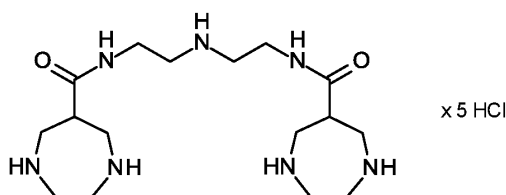
К раствору активированного сложного эфира (5,11 ммоль, 2,2 экв.) ди-трет-бутил 6-{[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил}-1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилата из примера 4d добавляли 517 мг (5,11 ммоль, 2,2 экв.) триэтиламина и 240 мг (2,32 ммоль, 1 экв.) N -(2-аминоэтил)этан-1,2-диамина. Полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре и разбавляли дихлорметаном. Раствор промывали водным раствором гидроксида натрия (0,1М), водой и сушили над сульфатом натрия. Сырой продукт выделяли путем упаривания и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением 1,20 г (1,59 ммоль, 68%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ = 1.37 (s, 36 H), 2.51 - 2.70 (m, 7H), 2.85 - 3.28 (m, 12H), 3.45 - 4.10 (m, 8H), 7.69 - 8.27 (m, 2H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): R_t = 1,20 мин.

МС (ES^+): m/z = 756,7 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 4f. Пентагидрохлорид $\text{N,N}'$ -(иминодиэтан-2,1-диил)бис(1,4-дiazепан-6-карбоксамид)



385 мг (0,51 ммоль) тетра-трет-бутил 6,6'-[иминобис(этан-2,1-диилкарбамоил)]бис(1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилата) (пример 4е) растворяли в 5,7 мл метанола и 1,7 мл водного раствора соляной кислоты (37%). Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 2 ч при 50°C. Для выделения продукта суспензию упаривали досуха с получением 277 мг (0,51 ммоль, 100%) указанного в заголовке со-

единения.

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O): δ = 3.18 (т, 4H), 3.32 - 3.40 (м, 2H), 3.51 (т, 4H), 3.57 - 3.69 (м, 16H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,24$ мин.

МС (ES⁺): m/z = 356,3 (M+H)⁺, свободное основание.

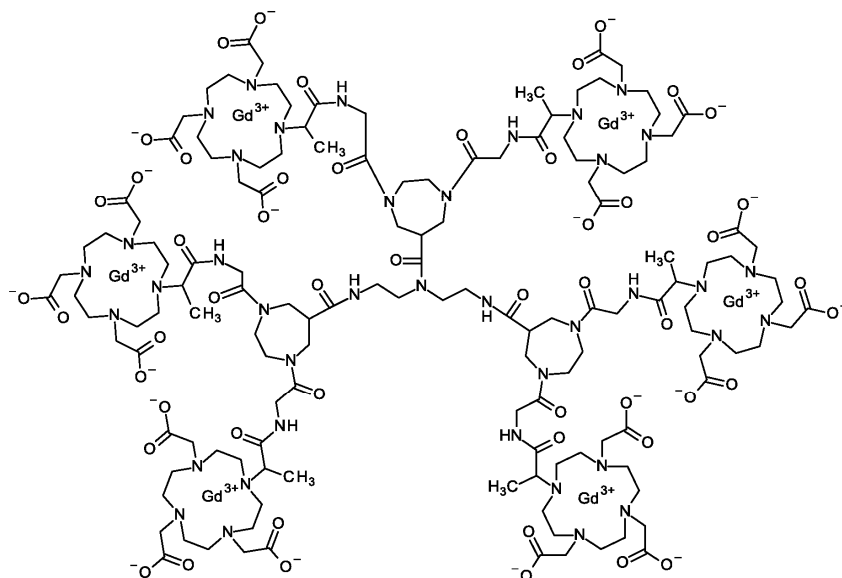
Пример 4. [4-(1-[2-(бис{2-[(1,4-бис{2-[4,7,10-трис(Карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]-1,4-дiazепан-6-ил}карбонил)амино)этил}амино)-2-оксоэтил]амино}-1-оксoproпан-2-ил)-7,10-бис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетат пентагадолиния.

150 мг (279 мкмоль, 1 экв.) пентагидрохлорида N,N'-(иминодизтан-2,1-диил)бис(1,4-дiazепан-6-карбоксamидa) (пример 4f) растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 451 мг (3,49 ммоль, 12,5 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 3,67 г (4,88 ммоль, 17,5 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{{2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил}амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат при перемешивании выливали в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 672 мг (197 мкмоль, 70%) указанного в заголовке соединения.

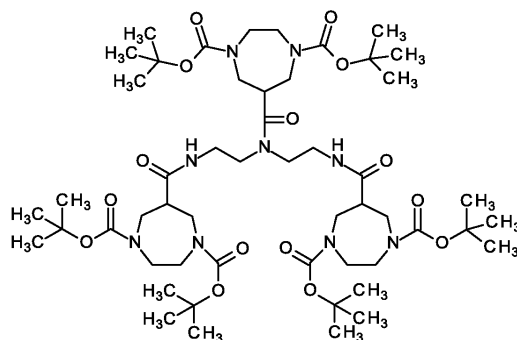
СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,43$ мин.

MC (ES⁻): m/z (z = 2) = 1706,3 (M-2H)²⁻; m; (ES⁺): m/z (z = 4) = 854,5 (M+4H)⁴⁺.

Пример 5. 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2'''''''''.2''''''''',2''''''''',2''''''''',2''''''''',2''''''''',
2''''''''',2'''''''''-{Этан-1,2-диилкарбамоил-1,4-диазепан-6,1,4-триил трис[(2-оксоэтан-2,1-диил)имино
(1-оксопропан-1,2-диил)-1,4,7,10-тетраазациклододекано-10,1,4,7-тетрил]} октадекастетат гексагадолиния



Пример 5а. гекса-трет-Бутил 6,6',6''-(этан-1,2-диилкарбамоил)трис(1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилат)



1,20 г (3,48 ммоль, 3 экв.) 1,4-бис(трет-бутоксикарбонил)-1,4-дизепан-6-карбоновой кислоты (пример 4с), 540 мг (4,18 ммоль, 3,6 экв.) диизопропилэтиламина и 1,59 г (4,18 ммоль, 3,6 экв.) НАТУ растворяли в 30 мл ДМФА и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. После добавления по каплям раствора 120 мг (1,16 ммоль, 1 экв.) N-(2-аминоэтил)этан-1,2-диамина и 540 мг (4,18 ммоль, 3,6 экв.) N,N-диизопропилэтиламина в 8 мл ДМФА полученную в результате реакцию смесь нагревали при перемешивании в течение 3 ч при 70°C. После охлаждения и разбавления дихлорметаном раствор

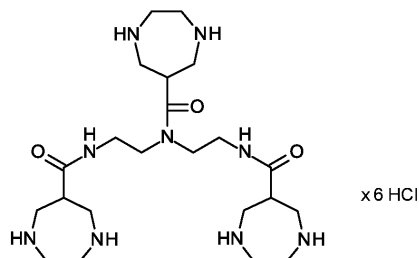
промывали водным раствором гидроксида натрия (0,1М), водным раствором лимонной кислоты (1%), водой и сушили над сульфатом натрия. Сырой продукт выделяли путем упаривания при пониженном давлении и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением 660 мг (0,61 ммоль, 52%) указанного в заголовке соединения.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ = 1.38 (с, 54H), 2.55 - 4.06 (м, 35H), 7.90 - 8.52 (м, 2H) м.д.

СВЭЖХ (АСН-НСООН): $R_t = 1,64$ мин.

MC (ES⁺): m/z = 1082,7 (M+H)⁺.

Пример 5b. Гексагидрохлорид N,N-бис {2-[(1,4-дiazепан-6-илкарбонил)амино]этил}-1,4-дiazепан-6-карбоxамида



654 мг (0,60 ммоль) гекса-трет-бутил 6,6'6"-этан-1,2-диилкарбамоил)трис(1,4-дизапан-1,4-дикарбоксилата) (пример 5а) растворяли в 6,8 мл метанола и 3 мл водного раствора соляной кислоты (37%). Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 2,5 ч при 50°C. Для выделения продукта суспензию упаривали досуха с получением 441 мг (0,63 ммоль, 105%) указанного в заголовке соединения.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ = 3.20 - 3.71 (м, 35H), 8.50 - 8.80 м.д. (м, 2H), 9.76 (с, br, 12H).

СВЭЖХ (АСН-НСООН): $R_t = 0,19$ мин.

МС (ES⁺): m/z = 482,3 (M+H)⁺, свободное основание.

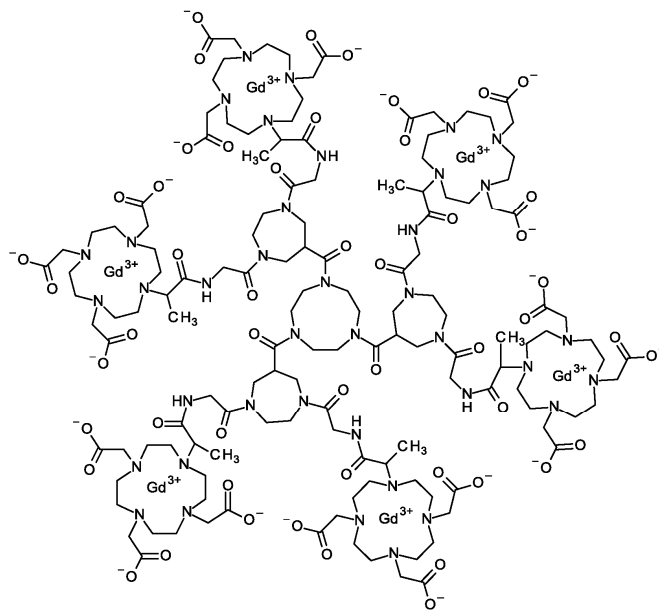
Пример 5. 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''',2''''',2'''''.2''''''',2''''''',2''''''',2''''''',2''''''',
2''''''''',2'''''''''-{Этан-1,2-дилкарбамоил-1,4-дизепан-6,1,4-трилтрис[(2-оксоэтан-2,1-диил)имино
(1-оксoproпан-1,2-диил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-10,1,4,7-тетрил]}октадекаацетат гексагадоли-
ния.

150 мг (214 мкмоль, 1 экв.) гексагидрохлорида N,N-бис{2-[(1,4-дiazепан-6-илкарбонил)амино]этил}-1,4-дiazепан-6-карбоксамида (пример 5b) растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 0,42 г (3,21 ммоль, 15 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 3,38 г (4,50 ммоль, 21 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]три-ацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 595 мг (143 мкмоль, 67%) указанного в заголовке соединения.

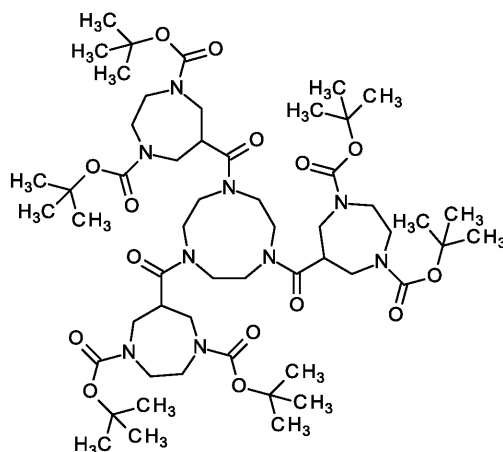
СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,41$ мин.

MC (ES⁺): m/z (z = 3) = 1384,6 (M+H)³⁺, m/z (z = 4) = 1039,5 (M+H)⁴⁺, m/z (z = 5) = 831,6 (M+H)⁵⁺.

Пример 6. 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''',2''''',2'''''.2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',
2''''',2'''''-(-1,4,7-Тразонан-1,4,7-триилтрис {карбонил-1,4-дизепан-6,1,4-трилбис[(2-оксоэтан-
2,1-диил)имино(1-оксoproпан-1,2-диил)-1,4,7,10-тетраазациклодекано-10,1,4,7-тетрайл]})октадека-
ацетат гексагадолиния



Пример 6а. гекса-трет-Бутил 6,6',6''-(1,4,7-триазонан-1,4,7-триилтрикарбонил)трис(1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилат)



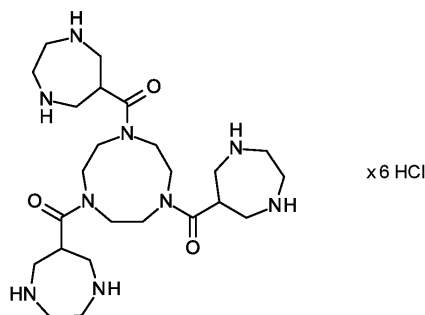
800 мг (2,32 ммоль, 3 экв.) 1,4-бис(трет-бутоксикарбонил)-1,4-дiazепан-6-карбоновой кислоты (пример 4с), 360 мг (2,79 ммоль, 3,6 экв.) диизопропилэтиламина и 1,06 г (2,79 ммоль, 3,6 экв.) НАТУ растворяли в 20 мл ДМФА и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. После добавления по каплям раствора 100 мг (774 мкмоль, 1 экв.) тригидрохлорида 1,4,7-триазонана и 360 мг (2,79 ммоль, 3,6 экв.) N,N-диизопропилэтиламина в 5 мл ДМФА полученную в результате реакцию смесь нагревали при перемешивании в течение 3 ч при 70°C. После охлаждения и разбавления дихлорметаном раствор промывали водным раствором гидроксида натрия (0,1М), водным раствором лимонной кислоты (1%), водой и сушили над сульфатом натрия. Сырой продукт выделяли путем упаривания при пониженном давлении и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с получением 545 мг (492 мкмоль, 63%) указанного в заголовке соединения.

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ = 1.47 (s, 54H), 2.85 - 4.45 (m, 39H) м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): R_t = 1,73 мин.

МС (ES^+): m/z = 1108,8 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 6b. Гексагидрохлорид 1,4,7-триазонан-1,4,7-триилтрис(1,4-дiazепан-6-илметанона)



380 мг (343 мкмоль) гекса-трет-бутил 6,6',6''-(1,4,7-триазонан-1,4,7-триилтрикарбонил)трис(1,4-дiazепан-1,4-дикарбоксилата) (пример 6а) растворяли в 3,90 мл метанола и 1,72 мл водного раствора соляной кислоты (37%). Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 2,5 ч при 50°C. Для выделения продукта суспензию упаривали досуха с получением 257 мг (354 мкмоль, 103%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,19$ мин.

МС (ES⁺): m/z = 508,4 (M+H)⁺, свободное основание.

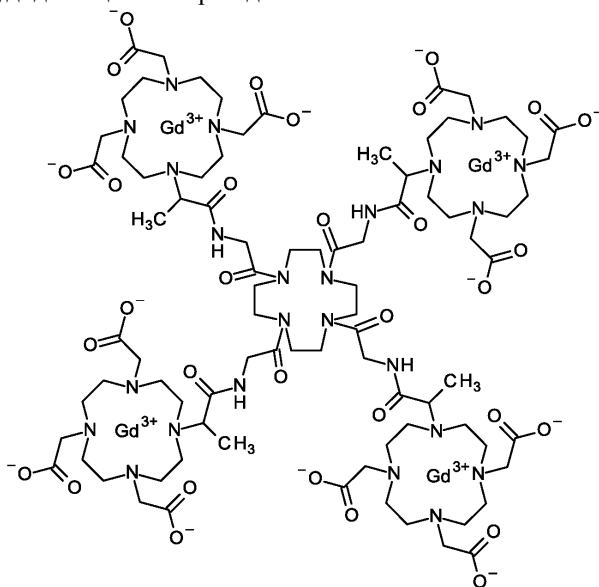
[illegible]

175 мг (241 мкмоль, 1 экв.) гексагидрохлорида 1,4,7-триазонан-1,4,7-триилтрис(1,4-дiazепан-6-илметанона) (пример 6b) растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 467 мг (3,61 ммоль, 15 экв.) N,N-диизопропилэтиламина и 3,80 г (5,06 ммоль, 21 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{{2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил}амино}-1-оксoproпан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 590 мг (141 мкмоль, 58%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (АСН-НСООН): $R_t = 0,43$ мин.

MC (ES⁺): m/z (z = 3) = 1393,1 (M+3H)³⁺, m/z (z = 4) = 1045,5 (M+4H)⁴⁺, m/z (z = 5) = 837,0 [(M+5H)⁵⁺.

Пример 7. 2,2',2'',2''',2'''',2''''' ,2'''''' ,2''''''' ,2''''''''- {1,4,7,10-Тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрайлтетракис[(2-оксоэтан-2,1-диил)имино(1-оксoproпан-1,2-диил)-1,4,7,10-тетраазацicloдодекан-10,1,4,7-тетрайл]} додекаацетат тетрагадолиния



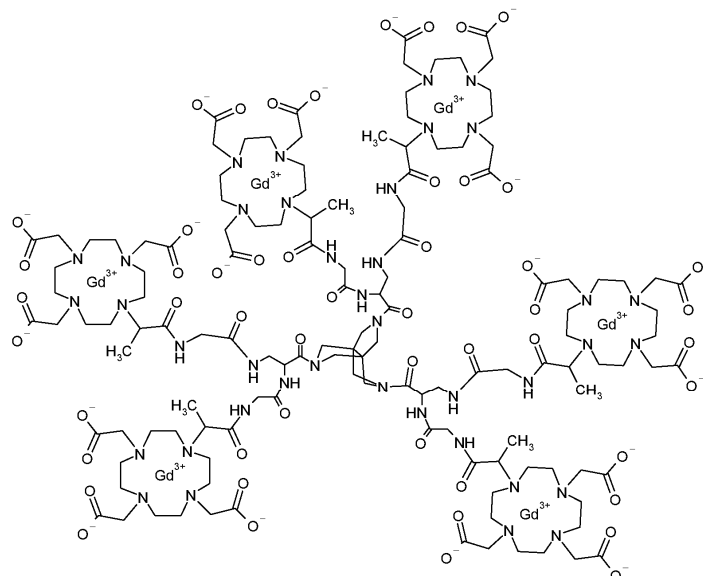
35 мг (203 мкмоль, 1 экв.) 1,4,7,10-тетраазациклододекана растворяли в 60 мл ДМСО. После добавления 2,14 г (2,84 ммоль, 14 экв.) 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (см. WO 2001051095 A2) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение 8 ч при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении до конечного объема 15-20 мл. Концентрат выливали при перемешивании в 400 мл этилацетата, образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили в вакууме. Твердое вещество растворяли в воде, полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 28 мг (10,6 мкмоль, 5%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 0,41$ мин.

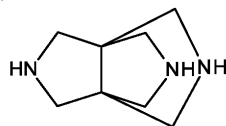
MC (ES⁺): m/z (z = 2) = 1311,7 (M+2H)²⁺, m/z (z = 3) = 873,1 (M+3H)³⁺.

Пример 8. 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',
2''''''''''''''''''''- {3,7,10-Триазатрицикло[3.3.3.0^{1..5}]ундекан-3,7,10-триилтрис [карбонил(3,6,11,14-тетраоксо-4,7,10,13-тетраазагексадекан-8,2,15-триил)ди-1,4,7,10-тетраазациклододекан-10,1,4,7-

тетраил]]}октадекаацетат гексагадолиния



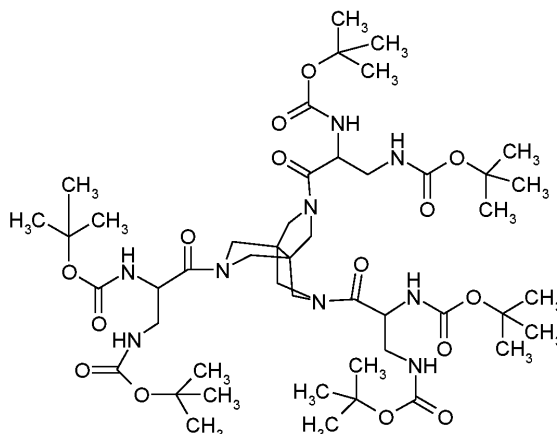
Пример 8а. Тетрагидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол



4,0 г (6,5 ммоль) 2,5,8-трис((4-метилфенил)сульфонил)тетрагидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррола (полученного по методике, изложенной в J. Org. Chem. 1996, 61, 8897-8903) нагревали с обратным холодильником в 44 мл водного раствора бромистоводородной кислоты (47%) и 24 мл уксусной кислоты в течение 18 ч. Растворитель удаляли в вакууме, остаток растворяли в воде и водную фазу промывали два раза с помощью дихлорметана. Водную фазу лиофилизировали и вносили в небольшое количество воды и пропускали через анионообменную колонку (DOWEX 1X8) с помощью элюирования водой. Основную фракцию собирали и концентрировали с получением 0,89 г тетрагидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррола в виде свободного основания.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): $\delta = 2,74$ (s, 12H) м.д.

Пример 8b. трет-Бутил-{1-[5,8-бис{2,3-бис[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропаноил}дигидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2(3Н)-ил]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-1-оксопропан-2-ил}карбамат



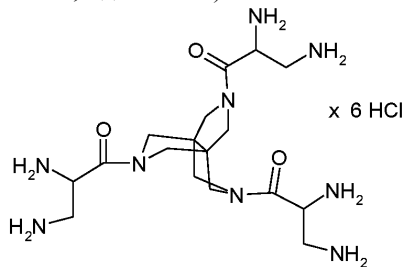
Раствор, полученный из 431,5 мг (0,89 ммоль, CAS [201472-68-6]) N,N-дициклогексиламмониевой соли N-(трет-бутоксикарбонил)-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]аланина, 0,44 мл (2,54 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 386 мг (1,0 ммоль) НАТУ в 4,3 мл ДМФА добавляли к 38,9 мг (254 мкмоль) тетрагидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррола в 2 мл ДМФА. После перемешивания объединенной смеси в течение 20 мин при комнатной температуре растворитель удаляли в вакууме и остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с аминофазой (этилацетат в гексане, от 0 до 100%) с последующей препаративной ВЭЖХ (C18-Chromatorex 10 мкм, ацетонитрил в воде + 0,1% муравьиной кислоты, от 65 до 100%) с получением 68,6 мг трет-бутил-{1-[5,8-бис{2,3-бис[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропаноил}дигидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2(3Н)-ил]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-1-оксопропан-2-ил}карбамата.

¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ = 1.43 (с, br, 54H), 3.34 - 3.97 (м, 18H), 4.48 (с, br, 3H), 5.01-5.67 (м, 6H)
м.д.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): $R_t = 1,48$ мин.

MC (ES⁺): m/z = 1012,6 (M+H)⁺.

Пример 8с. Гексахлорид 3,3',3"-[1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2,5,8(3Н,6Н)-триил]трис(3-оксопропан-1,2-диамина)



65 мг (60 мкмоль) трет-Бутил-{1-[5,8-бис{2,3-бис[(трет-бутоксикарбонил)амино]пропаноил}дигидро-1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2(3Н)-ил]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-1-оксопропан-2-ил}карбамата (пример 8b) растворяли в 2,0 мл ДМФА и добавляли 0,48 мл хлористоводородной кислоты в диоксане (4М, 0,19 ммоль). Реакционную смесь при перемешивании нагревали в условиях микроволнового излучения в течение 10 мин при 80°C. Растворитель удаляли в вакууме, остаток вносили в небольшое количество воды и лиофилизировали с получением 38,9 мг гексахлорида 3,3',3''-[1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2,5,8(3Н,6Н)-триил]трис(3-оксопропан-1,2-диаминия).

¹H-ЯМР (600 МГц, D₂O): δ = 3.40 - 3.50 (м, 3H), 3.52 - 3.56 (м, 3H), 3.79 -4.19 (м, 12H), 4.51 - 4.54 (м, 3H) м.д.

СВЭЖХ (АСН-НСООН): $R_t = 0,20$ мин.

МС (ES⁺): m/z = 412,3 ([M+H]⁺, свободное основание.

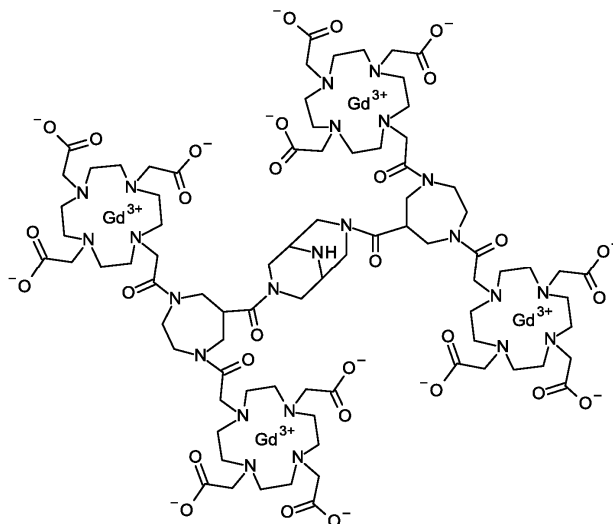
Пример 8. 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2''''''''',2''''''''',2''''''''',2''''''''',
2''''''''',2'''''''''-{3,7,10-Триазатрицикло[3.3.3.0^{1,5}]ундекан-3,7,10-триилтрис[карбонил(3,6,11,14-тетраоксо-4,7,10,13-тетраазагексадекан-8,2,15-триил)ди-1,4,7,10-тетраазациклододекан-10,1,4,7-тетраил]}
октадекаацетат гексагадолиния.

30 мг (48 мкмоль) гексахлорида 3,3',3"-[1Н,4Н-3а,6а-(метаноиминометано)пирроло[3,4-с]пиррол-2,5,8(3Н,6Н)-триил]трис(3-оксопропан-1,2-диаминия) (пример 8с) растворяли в смеси 1,8 мл ДМСО, 1,8 мл ДМФА и 116 мкл пиридина. При 60°C добавляли 281 мг (0,38 ммоль, WO 2001051095 A2) 2,2',2"-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния с последующим добавлением 44 мкл триметиламина и полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 15 ч при 60°C и при комнатной температуре в течение двух дней. Добавляли дополнительное количество 2,2',2"-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния (56 мг, 75 мкмоль) и триметиламина (5,4 мкл) при 60°C и перемешивание при 60°C продолжали в течение 15 ч. Растворитель удаляли в вакууме, остаток вносили в 200 мл воды и полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации, используя 1 кДа мембрану. После разбавления ретентата два раза дополнительными 200 мл деионизированной воды и продолжения ультрафильтрации конечный ретентат лиофилизировали. Остаток растворяли в смеси 1,6 мл ДМСО, 1,6 мл ДМФА и 105 мкл пиридина и третий раз повторяли добавление 261 мг (0,35 ммоль) 2,2',2"-[10-(1-{[2-(4-нитрофенокси)-2-оксоэтил]амино}-1-оксопропан-2-ил)-1,4,7,10-тетраазазациклододекан-1,4,7-триил]триацетата гадолиния и 48 мкл триэтиламина при 60°C. После перемешивания в течение 18 ч при 60°C процедуру ультрафильтрации с использованием 1 кДа мембраны повторяли и ретентат после трех операций 200 мл фильтрования лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (XBrigde C18, 5 мкм, ацетонитрил в воде + 0,1% муравьиной кислоты, от 0 до 7%) с получением 51 мг указанного в заголовке соединения.

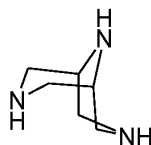
СВЭЖХ (АСН-НСООН длительный опыт): $R_t = 2,95$ мин.

MC (ES⁺): m/z (z=3) = 1360,4 (M+3H)³⁺, m/z (z=4) = 1021,3 (M+4H)⁴⁺, m/z (z=5) = 817,5 (M+5H)⁵⁺.

Пример 9. 2,2',2'',2''',2''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''''',2'''''''''-{3,7,9-Триазабицикло[3.3.1]нонан-3,7-диилбис{карбонил-1,4-дiazепан-6,1,4-триилбис[(2-оксоэтан-2,1-диил)-1,4,7,10-тетраазабициклододекан-10,1,4,7-тетраил]} додекаацетат тетрагадолиния



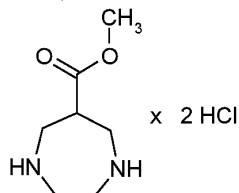
Пример 9а. 3,7,9-Триазабицикло[3.3.1]нонан



220 мг (0,49 ммоль) 3,9-дибензил-7-(фенилсульфонил)-3,7,9-триазабицикло[3.3.1]нонана (полученного по методике, изложенной в Tetrahedron Letters, 2005, 46, 5577-5580) нагревали с обратным холодильником в 3,4 мл водного раствора бромистоводородной кислоты (47%) и 1,8 мл уксусной кислоты в течение 17 ч. Растворитель удаляли в вакууме, остаток растворяли в воде и водную фазу промывали два раза с помощью дихлорметана. Водную фазу лиофилизировали и вносили в небольшое количество воды и пропускали через анионообменную колонку (DOWEX 1X8) с помощью элюирования водой. Основную фракцию собирали и концентрировали с получением 29,6 мг 3,7,9-триазабицикло[3.3.1]нонана в виде свободного основания.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ = 2.88 (t, 2H), 3.15 (d, 8H) м.д.

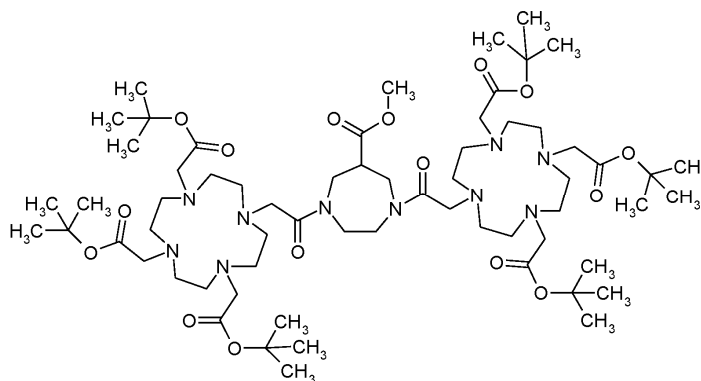
Пример 9b. Дихлорид 6-(метоксикарбонил)-1,4-дiazепандия



К 8,3 г (24,5 ммоль) метил 1,4-дибензил-1,4-дiazепан-6-карбоксилата (получен по аналогии с US 005866562 A, с. 9) в 42 мл метанола добавляли 8,3 мл концентрированной соляной кислоты, 2 мл воды и 830 мг палладия на древесном угле (10%). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода в течение 5 ч при 40°C и 17 ч при комнатной температуре. Смесь фильтровали через набивку целита и фильтрат концентрировали в вакууме, после чего два раза последовательно добавляли и удаляли в вакууме толуол. Остаток растворяли в воде и лиофилизировали с получением 5,65 г дихлорида 6-(метоксикарбонил)-1,4-дiazепандия.

^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ = 3.49 - 3.68 (m, 9H), 3.70 - 3.73 (m, 4H), 3.75 (s, 3H) м.д.

Пример 9с. Метил 1,4-бис{[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетил}-1,4-дiazепан-6-карбоксилат

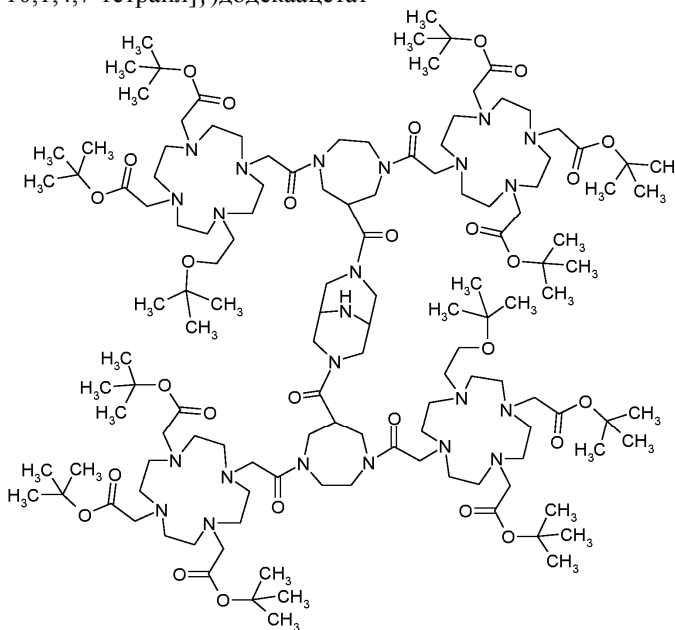


К 200 мг (0,78 ммоль) дихлорида 6-(метоксикарбонил)-1,4-дiazепандия в 10 мл дихлорметана добавляли 10 мл (6,2 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и смесь перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре. Добавляли 1,04 г (1,56 ммоль) три-трет-бутил 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]-2-оксоэтил}-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7-триил)триацетата (получен по аналогии с Cong Li и др., J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, с. 15072-15073; S3-5 и Galibert и др., Bioorg. Med. Chem. Letters 2010 (20), 5422-5425) и смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с аминофазой (этилацетат в гексане, от 20 до 100%, затем этанол в этилацетате от 0 до 100%) с получением 210 мг указанного в заголовке соединения.

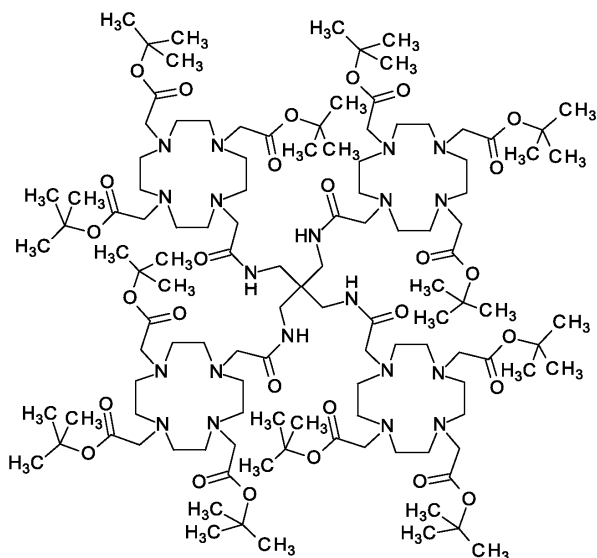
СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 0,94 мин.

МС (ES⁺): m/z = 1267,6 (M+1H)⁺.

Пример 9d. додека-трет-бутил 2,2',2'',2''',2''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''',2''''''-{3,7,9-Триазабицикло[3.3.1]нонан-3,7-диилбис{карбонил-1,4-дiazепан-6,1,4-триилбис[(2-оксоэтан-2,1-диил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-10,1,4,7-тетраил]} додекаацетат

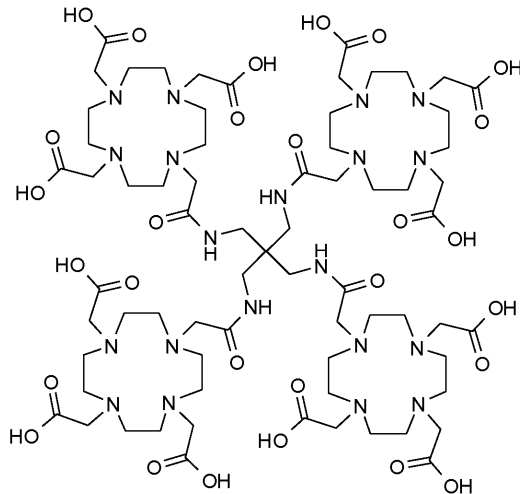


305 мг (0,24 ммоль) метил 1,4-бис{[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетил}-1,4-дiazепан-6-карбоксилата (пример 9с) растворяли в 3,9 мл ТГФ и добавляли раствор 6,6 мг гидроксида лития в 0,87 мл воды. После перемешивания в течение 15 мин растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой 1,4-бис{[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетил}-1,4-дiazепан-6-карбоксилат лития (300 мг) растворяли в 2,0 мл дихлорметана. Добавляли 120 мкл (0,71 ммоль) N-диизопропилэтиламина, 112 мг (0,30 ммоль) НАТУ и 40 мг (0,30 ммоль) 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-б]пиридин-3-ола и после перемешивания в течение 15 мин добавляли раствор 15 мг (0,12 ммоль) 3,7,9-триазабицикло[3.3.1]нонана в 1 мл дихлорметана и смесь перемешивали в течение 3 дней. К дополнительным 170 мг сырого 1,4-бис{[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетил}-1,4-дiazепан-6-карбоксилата лития в 1 мл дихлорметана добавляли 67 мг (0,18 ммоль) НАТУ, 24 мг (0,18 ммоль) 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-б]пиридин-3-ола в течение 15 мин и 50 мкл N,N-диизопропилэтиламина. После перемешивания в течение 15 мин к реакционной смеси добавляли свежеприготовленный раствор НАТУ. Спустя один день растворитель удаляли при пониженном давлении, после чего шесть раз последовательно добавляли и удаляли в вакууме толуол. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с аминофазой (этилацетат в гек-



6,6 мг (49,8 мкмоль, 1 экв.) 2,2-бис(аминометил)пропан-1,3-диамина (см. W. Hayes и др., *Tetrahedron* 59 (2003), 7983-7996) растворяли в 7 мл ДМСО. После добавления 77 мг (0,6 ммоль, 12 экв.) NN-диизопропилэтиламина и 400 мг (0,6 ммоль, 12 экв.) три-трет-бутил 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]-2-оксоэтил}-1,4,7,10-тетрааза-11-ил)триацетата (см. M. Galibert и др., *Bioorg. Med. Chem. Letters* 2010 (20), 5422-5425 и *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, с. 15072-15073; S3-5) полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали в течение ночи при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 10b. {4,10-бис(Карбоксиметил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетрааза-11-ил}уксусная кислота



Сырой трет-бутил {4,10-бис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетрааза-11-ил}ацетат из примера 10a растворяли в 40 мл ТФУ. Полученный в результате раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 10. {4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетрааза-11-ил}ацетат тетрагидролина.

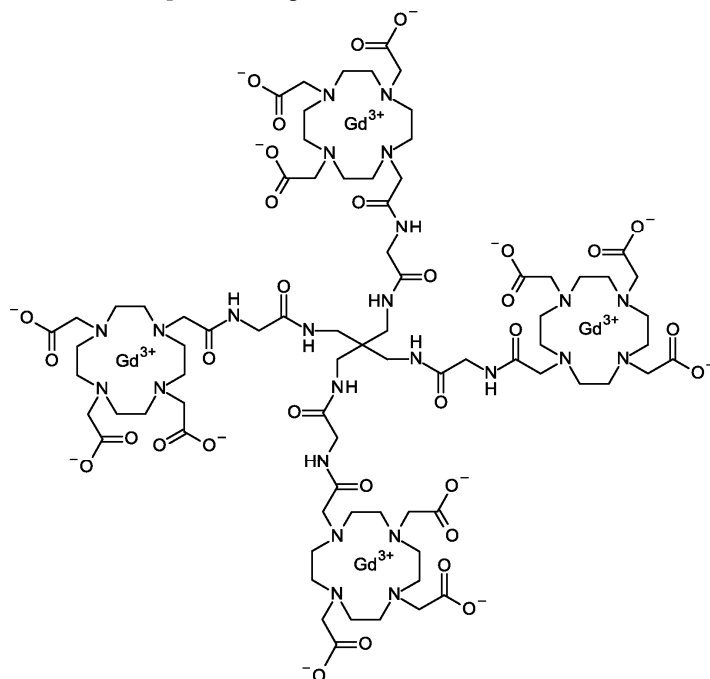
Сырую {4,10-бис(карбоксиметил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)-2,2-бис({[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-11-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетрааза-11-ил}уксусную кислоту из примера 10b растворяли в 10 мл воды. После добавления 326 мг тетрагидрата трис(ацетато-

каппаО)гадолиния значение pH полученного в результате раствора довели до 3,5-4,5 путем добавления водного раствора гидроксида натрия. Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение ночи при 70°C. Полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 65 мг (28 мкмоль, 46%) указанного в заголовке соединения.

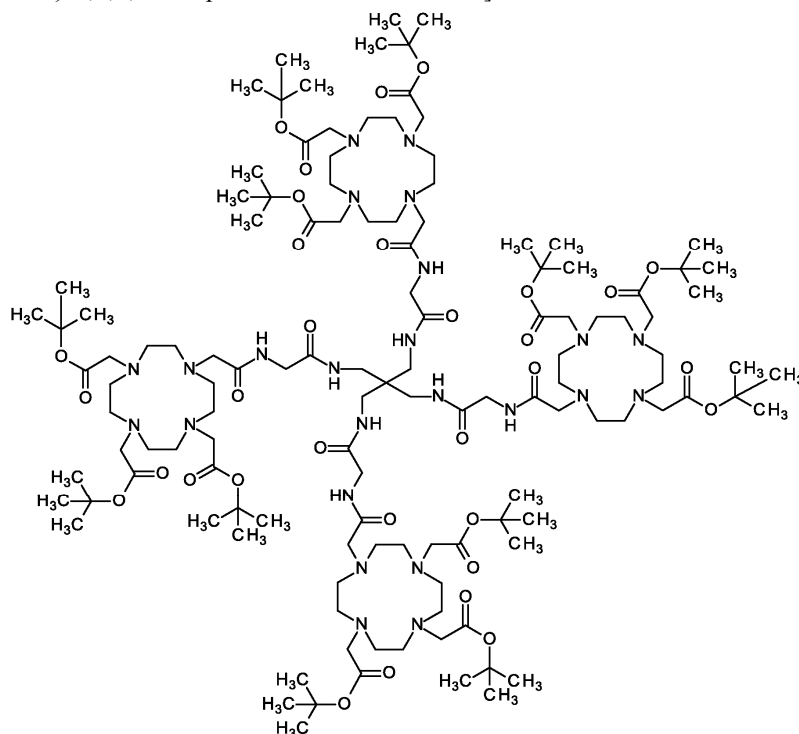
СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 0,40 мин.

МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1149,7 (M+2H)²⁺, m/z (z = 3) = 766,0 (M+3H)³⁺.

Пример 11. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетил}амино)ацетил]амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил}-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетат тетрагадолиния

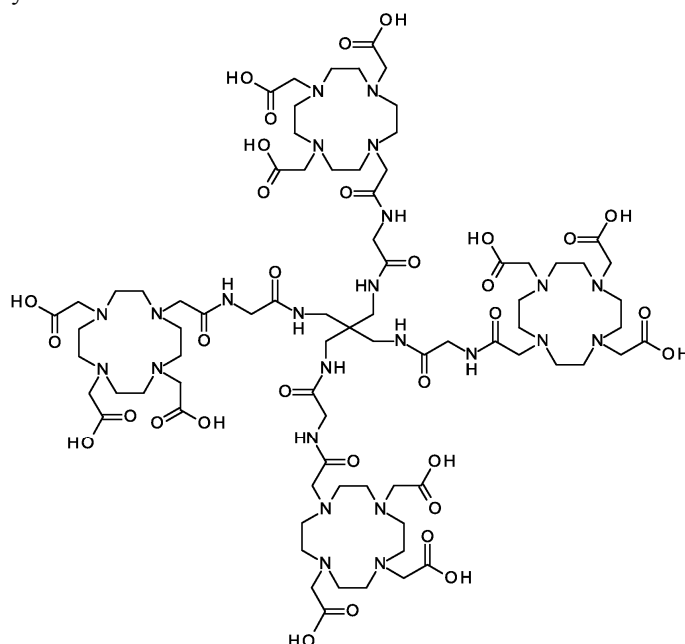


Пример 11а. трет-Бутил [4,10-бис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(2-трет-бутоксид-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетил}амино)ацетил]амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил}-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]ацетат



2,99 г (4,75 ммоль, 12 экв.) N-{[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетил}глицина (см. M. Suchy и др., Org. Biomol. Chem. 2010, 8, 2560-2566) и 732 мг (5,70 ммоль, 14,4 экв.) этилдиизопропиламина растворяли в 40 мл N,N-диметилформамида. После добавления 2,17 г гексафторфосфата 3-оксида 1-[бис(диметиламино)метиле]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]пиридиния (НАТУ; 5,70 ммоль, 14,4 экв.) реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре. Добавляли 100,1 мг (396 мкмоль, 1 экв.) тетрахлорида 2,2-бис(аммониометил)пропан-1,3-диаминия (см. W. Hayes и др., Tetrahedron 59 (2003), 7983-7996) и 982,7 мг (7,60 ммоль, 19,2 экв.) этилдиизопропиламина и полученную в результате реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 50°C. Охлажденный раствор концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 11b. [4,10-бис(Карбоксиметил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетил)амино)ацетил)амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]уксусная кислота



Сырой трет-бутил [4,10-бис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетил)амино)ацетил)амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетат из примера 11a растворяли в 125 мл ТФУ. Полученный в результате раствор перемешивали в течение 2 ч при 70°C в течение ночи при комнатной температуре и концентрировали при пониженном давлении. Маслянистый продукт растворяли в 200 мл воды, выделяли путем лиофилизации и использовали без дальнейшего определения характеристик на следующей химической стадии.

Пример 11. [4,10-бис(Карбоксилатометил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетил)амино)ацетил)амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетат тетрагадолиния.

Сырую [4,10-бис(карбоксиметил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-8,8-бис({([4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]ацетил)амино)ацетил)амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]уксусную кислоту из примера 11b растворяли в 100 мл воды. После добавления 2,89 г тетрагидрата трис(ацетато-каппаО)гадолиния значение pH полученного в результате раствора доводили до 3,0-3,5 путем добавления водного раствора гидроксида натрия. Реакционную смесь нагревали при перемешивании в течение 24 ч при 70°C. Полученный в результате раствор подвергали ультрафильтрации с водой, используя 1 кДа мембрану, и конечный ретентат лиофилизировали. Сырой продукт очищали с помощью ОФ-хроматографии с получением 296 мг (120 мкмоль, 30%) указанного в заголовке соединения.

СВЭЖХ (ACN-HCOOH): Rt = 0.41 мин.

МС (ES⁺): m/z (z = 2) = 1262,8 (M+2H)²⁺, m/z (z = 3) = 841,5 (M+3H)³⁺.

Эталонное соединение 1. Гадовист® (гадобутрол, Байер АГ, Лёверкузен, Германия).

Эталонное соединение 2. Магневист® (гадопентетат димеглюмина, Байер АГ, Лёверкузен, Герма-

ния).

Эталонное соединение 3. Примовист® (гадоксетат династрия, Байер АГ, Леверкузен, Германия).

Эталонное соединение 4. Гадомер-17 синтезировали, как описано в EP 0836485 B1, пример 1k.

In vitro и in vivo характеристика соединений-примеров

Примеры тестировали в выбранных анализах один или несколько раз. Когда тестирование осуществляют более одного раза, данные сообщаются в виде либо средних значений, либо в виде медианных значений, где среднее значение, называемое также средним арифметическим значением, представляет собой сумму полученных значений, деленную на число тестирований, и медианное значение представляет собой срединное число группы значений при ранжировке в порядке возрастания или убывания. Если число значений в массиве данных нечетное, медиана является срединным значением. Если число значений в массиве данных четное, медиана является средним арифметическим двух срединных значений.

Примеры синтезировали один или несколько раз. Когда синтез проводили более чем один раз, данные из анализов представляли собой средние значения или медианные значения, рассчитанные с использованием массивов данных, полученных при тестированиях одной или нескольких партий синтеза.

Пример А. Измерения релаксивности при 1,4 Т.

Измерения релаксивности при 1,41 Т выполняли с использованием спектрометра MiniSpec mq60 (Bruker Analytik, Карлсруэ, Германия), работая при резонансной частоте 60 МГц и температуре 37°C. Значения времени релаксации T_1 определяли, используя стандартный метод инверсии-восстановления (IR) с фиксированной релаксационной задержкой по меньшей мере $5 \times T_1$. Переменное время инверсии (TI) рассчитывали автоматически с помощью стандартного программного обеспечения MiniSpec mq60 (8 стадий). Измерения T_2 выполняли с использованием последовательности импульсов Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (CPMG), применяя релаксационную задержку по меньшей мере $5 \times T_1$.

Каждое измерение релаксивности выполняли, используя три различные концентрации Gd (3 концентрации между 0,05 и 2 мМ). Значения времени релаксации T_1 и T_2 соединений-примеров 1-10 измеряли в различной среде, например в воде, фетальной бычьей сыворотке (FBS, Sigma, F7524) и плазме крови человека.

Приготовление плазмы крови человека. Для каждого эксперимента свежую кровь отбирали у добровольцев, используя 10 мл цитратные трубки (Sarstedt S-Monovette 02.1067.001, 10 мл, Citrate). 10 мл цитратные трубки осторожно переворачивали 10 раз для смешивания крови и антикоагулянта и центрифугировали в течение 15 мин при 1811g при комнатной температуре (Eppendorf, Centrifuge 581 OR).

Релаксивности r_i (где $i=1, 2$) рассчитывали на основе измеренных значений скорости релаксации R_i в воде и плазме

$$R_i = R_{i(0)} + r_i[C_{Gd}],$$

где $R_{i(0)}$ представляет собой скорость релаксации соответствующего растворителя и C_{Gd} представляет собой концентрацию соединения, нормированную к гадолинию.

Концентрации гадолиния в исследуемых растворах проверяли с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS Agilent 7500a, Вальдброн, Германия).

Определенные значения релаксивности сведены в табл. 1.

Таблица 1

Релаксивности исследуемых соединений в воде, фетальной бычьей сыворотке (FBS) и плазме крови человека при 1,41 Т и релаксивности эталонных соединений 1-4 (ЭС1-ЭС4) при 1,5 Т в воде и бычьей плазме

Все значения измерены при 37°C, нормированы к Gd и приведены в л ммоль⁻¹ с⁻¹.

Пример №	r_1 вода*	r_2 вода*	r_1 FBS*	r_2 FBS*	r_1 плазма крови человека*	r_2 плазма крови человека*
1	11.1	12.9	13.2	16.3	13.0	19.5
2	12.1	14.2	13.4	16.4	13.9	17.6
3	10.1	11.7	11.5	13.7	11.8	14.7
3-1	9.5	11.1	н.д.	н.д.	10.4	13.1
3-2	9.4	10.8	н.д.	н.д.	11.4	14.2
4	11.5	13.5	13.3	16.0	13.2	16.5
5	13.0	15.2	14.6	18.1	14.3	17.7
6	13.4	15.7	14.2	17.5	14.6	18.6

7	10.8	12.6	11.7	14.4	12.1	14.9
8	12.5	14.5	14.5	17.9	14.6	18.1
9	7.4	8.5	8.8	10.4	н.д.	н.д.
10	7.3	8.3	9.2	10.7	9.7	11.3
ЭС1^	3.3	3.9	5.2	6.1	н.д.	н.д.
ЭС2^	3.3	3.9	4.1	4.6	н.д.	н.д.
ЭС3^	4.7	5.1	6.9	8.7	н.д.	н.д.
ЭС4^	17.3	22	16	19	н.д.	н.д.

* значения приведены в л ммоль⁻¹ с⁻¹.

^ релаксивности в случае эталонных соединений из Rohrer и др. (Invest. Radiol. 2005; 40, 11: 715-724), бычья плазма (Kreaber GmbH, Pharmaceutical Raw Material, Эллербек, Германия).

Измерения релаксивности при 3,0 Т.

Измерения релаксивности при 3,0 Т выполняли с помощью 3,0 Т MRI сканера всего организма (Philips Intera, Philips Healthcare, Гамбург, Германия), используя катушку для колена (SENSE-Knee-8, Philips Healthcare, Гамбург, Германия). Измерительные трубки (CryoTubetm Vials, Thermo Scientific 1.8 мл, Роскилле, Дания) располагали в 3 ряда по 4 и 5 трубок в пластиковом держателе в контейнере, наполненном водой. Температуру доводили до 37°C. Для MRI последовательности использовали как можно более короткое время эхо-задержки (TE) 7,46 мс. Значения времени инверсии выбирали для оптимизации последовательности для измерения значений T₁, соответствующих расчетному диапазону T₁ всех значений времени релаксации контрастных сред, содержащих растворы. Использовали следующие значения времени инверсии (TI): 50, 100, 150, 200, 300, 500, 700, 1000, 1400, 2100, 3200 и 4500 мс. Последовательность проводили с постоянной релаксационной задержкой 3,4 с после регистрации последнего эха (переменная TR в диапазоне от 3450 до 7900 мс). Для получения дополнительной информации о методике подгонки см. Rohrer и др. (Invest. Radiol. 2005; 40, 11: 715-724). Экспериментальная матрица для измерения на фантоме составляла 320×320.

Релаксивности оценивали, используя три различные концентрации каждого соединения (3 концентрации между 0,05 и 2 мМ).

Значения T₁ времени релаксации соединений-примеров 1-6 измеряли в воде и плазме крови человека.

Приготовление плазмы крови человека. Для каждого эксперимента свежую кровь отбирали у добровольцев, используя 10 мл цитратные трубки (Sarstedt S-Monovette 02.1067.001, 10 мл, Citrate). 10 мл цитратные трубки осторожно переворачивали 10 раз для смешивания крови и антикоагулянта и центрифугировали в течение 15 мин при 1811g при комнатной температуре (Eppendorf, Centrifuge 581 OR).

Релаксивности r_i (где i=1, 2) рассчитывали на основе измеренных значений скорости релаксации R_i в воде и плазме

$$R_i = R_{i(0)} + r_i[C_{Gd}],$$

где R_{i(0)} представляет собой скорость релаксации соответствующего растворителя и C_{Gd} представляет собой концентрацию соединения, нормированную к гадолинию (табл. 2).

Таблица 2
Релаксивности (нормированные к Gd) в воде и плазме крови человека при 3,0 Т и 37°C [л ммоль⁻¹с⁻¹]

Пример №	r ₁ вода*	r ₁ плазма крови человека*
1	9.5 ± 0.2	10.8 ± 0.1
2	9.2 ± 0.3	11.4 ± 0.1
3	9.2 ± 0.3	10.2 ± 0.2
3-1	8.9 ± 0.2	10.1 ± 0.1
3-2	9.0 ± 0.4	11.4 ± 0.2
4	10.1 ± 0.2	11.8 ± 0.3
5	10.8 ± 0.3	12.4 ± 0.2
6	11.3 ± 0.4	12.8 ± 0.3
ЭС1^	3.2 ± 0.3	5.0 ± 0.3
ЭС2^	3.1 ± 0.3	3.7 ± 0.2
ЭС3^	4.3 ± 0.3	6.2 ± 0.3
ЭС4^	13.0 ± 0.7	13 ± 1

* Среднее значение ± стандартное отклонение, значения приведены в л ммоль⁻¹с⁻¹

Пример В. Фармакокинетические параметры.

Фармакокинетические параметры соединения примера 3 определяли у самцов крыс (линия Вистар, 220-230 г, n=3). Соединение вводили в виде стерильного водного раствора (52,5 ммоль Gd/л) в виде болюса в хвостовую вену животных. Доза составляла 0,1 ммоль Gd/кг. Пробы крови отбирали через 1, 3, 5,

10, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360, 480 и 1440 мин после инъекции и концентрацию Gd определяли с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS Agilent 7500a, Вальдброн, Германия). Уровень в крови преобразовывали в концентрации в плазме делением на 0,625 (фракция плазмы крови крыс, при условии строго внеклеточного распределения). В качестве контроля 3 животным вводили таким же путем Гадовист®, низкомолекулярное контрастное вещество. Временные динамики уровней в плазме крови показаны на фиг. 1.

Подгонка полученных данных к трехкомпарментной модели (Phoenix -WinNonlin) давала фармакокинетические параметры, которые показаны в табл. 3.

Таблица 3

Временные динамики уровней в плазме крови						
Параметр		Ед. изм.	Гадовист®		Пример 3	
			среднее	СКО	среднее	СКО
$t_{1/2 \alpha}$	Период полувыведения, компартмент V1	[мин]	1.6	0.4	1.7	0.3
$t_{1/2 \beta}$	Период полувыведения, компартмент V2	[мин]	20.5	1.9	18.2	3.4
$t_{1/2 \gamma}$	Период полувыведения, компартмент V3	[мин]	232	126	133	22.0
MRT	Среднее время удержания	[мин]	30.1	3.8	24.1	4.4
AUC $_{\infty}$	Площадь под кривой (до бесконечности)	[мкмоль/л*мин]	11500	1180	9040	1220
V _c (V1)	Объем, центральный компартмент V1	[л/кг]	0.14	0.01	0.11	0.01
V2	Объем, компартмент V2	[л/кг]	0.12	0.01	0.15	0.01
V1 + V2	Объем, компартменты V1+V2	[л/кг]	0.25	0.02	0.26	0.01
V _{d,ss}	Объем распределения в равновесном состоянии	[л/кг]	0.28	0.02	0.28	0.01
Cl _{общ}	Общий клиренс	[мл/мин*кг]	9.30	0.9	11.8	1.7

Пример 3. Выведение и остаточная концентрация гадолиния в органах через 5 дней.

Выведение и распределение в органах примера 3 определяли у самцов крыс (линия Вистар, 100-110 г, n=3). Соединение вводили в виде стерильного водного раствора (54 ммоль Gd/л) в виде болюса в хвостовую вену животных. Доза составляла 0,1 ммоль Gd/кг. В следующие интервалы времени собирали мочу: 0-1 ч, 1-3 ч, 3-6 ч, 6-24 ч, 1-2 день и 2-5 день после инъекции, и кал: 0-1 день, 1-2 день и 2-5 день после инъекции. В качестве контроля 3 животным вводили таким же путем Гадовист®, низкомолекулярное контрастное вещество. На 7-й день животных умерщвляли и следующие органы отделяли: кровь, печень, почки, селезенка, сердце, легкие, головной мозг, брыжеечные лимфатические узлы, мышцы, кожа, желудок, кишечник, кости и костный мозг. Оставшуюся тушку сушили вымораживанием и измельчали до мелкого порошка. Концентрацию Gd в органах и тушке определяли с помощью МС-ИСП (ICP-MS Agilent 7500a, Вальдброн, Германия). Результаты распределения в органах примера 3 и эталонного соединения 1 (Гадовист®) сведены в табл. 4. Пример 3 быстро выводится из организма через почки. Через 3 ч в моче обнаруживали 95,8±3,4% введенной дозы, а через 5 дней - 96,9±3,7%. Приблизительно 1,4±0,6% выводилось с калом. Менее 0,5% введенной дозы присутствовало в организме через 7 дней после инъекции. Отдельные органы содержали менее 0,03% введенной дозы, за исключением почек, которые являются органом выведения.

Таблица 4

Выведение и распределение в органах Гадовиста® и примера 3 у крыс		
	Гадовист® [% Дозы]	Пример 3 [% Дозы]
Интервал времени после инъекции	Моча	Моча
0-1 ч	91.28 ± 2.69 %	90.36 ± 4.4 %
1-3 ч	7.38 ± 1.50 %	5.43 ± 1.04 %
3-6 ч	0.22 ± 0.08 %	0.46 ± 0.38 %
6-24 ч	0.28 ± 0.03 %	0.17 ± 0.02 %
1-2 дн	0.20 ± 0.02 %	0.14 ± 0.01 %
2-5 дн	0.64 ± 0.18 %	0.34 ± 0.03 %

Интервал времени после инъекции	Кал	Кал
0-1 дн	1.47 ± 1.38 %	1.13 ± 0.62 %
1-2 дн	0.13 ± 0.08 %	0.10 ± 0.02 %
2-5 дн	0.13 ± 0.02 %	0.13 ± 0.01 %
Момент времени после инъекции	Σ органы и тушка	Σ органы и тушка
7 дн	0.50 ± 0.07 %	0.49 ± 0.01 %
Полное извлечение	101.9 ± 0.4 %	98.8 ± 3.1 %

Пример D. Химическая стабильность.

Примеры 1, 2, 3 и 6 по отдельности растворяли в 10 мМ буфере Tris-HCl, pH 7.4, при конечной концентрации 5 ммоль Gd/л. Отбирали аликвоту и остальную часть прозрачного и бесцветного раствора автоклавируют при 121°C в течение 20 мин. После автоклавирования раствор все еще был прозрачным и бесцветным. Аликвоту, отобранную до и после автоклавирования, анализировали с помощью ВЭЖХ-МС-ИСП для определения целостности соединения.

ВЭЖХ: колонка: Nupercarb 2,5 мм×15 см. Растворитель А: 0,1% муравьиной кислоты в воде. Растворитель В: ацетонитрил. Градиент от 100% А до 5% А + 95% В в течение 10 мин. Скорость потока 1 мл/мин. Обнаружение с помощью МС-ИСП, настроенной на ¹⁵⁸Gd. Хроматограммы, отображающие интенсивность обнаруживаемого Gd, сравнивали визуально. Изменений в хроматограммах до и после автоклавирования обнаружено не было. Соединения во время процедуры автоклавирования были стабильными.

Пример E. Высвобождение гадолиния после добавления цинка и фосфата.

Протокол протонной релаксометрии для оценивания трансметаллирования с целью определения стабильности MRI контрастной среды описан в работе Laurent S. и др. (Invest. Radiol. 2001; 36, 2: 115-122). Методика основана на измерении эволюции скорости парамагнитной продольной релаксации протонов воды в фосфатном буфере (pH 7.00, 26 ммоль/л, K₂HPO₄ Merck, Гессен, Германия), содержащем 2,5 ммоль/л комплекса гадолиния и 2,5 ммоль/л ZnCl₂ Sigma-Aldrich, Мюнхен, Германия). 100 мкл 250 ммоль/л раствора ZnCl₂ добавляли к 10 мл забуференного раствора парамагнитного комплекса (эталонные соединения 1-4 и пример 3). Смесь энергично перемешивали и 300 мкл отбирали для релаксометрического исследования в моменты времени 0, 60, 120 мин, 3, 4, 5, 24, 48 и 72 ч. Измерения выполняли на спектрометре MiniSpec mq60 (Bruker Analytik, Карлсруэ, Германия) при частоте 60 МГц и 37°C. Результаты примера 3 в сравнении с эталонным соединением 1 (Гадовист®), эталонным соединением 2 (Магневист®) и эталонным соединением 3 (Примовист®) показаны на фиг. 2. Если трансметаллирование гадолиния инициируется ионами Zn²⁺ в забуференном фосфатном растворе, то свободный высвобожденный Gd³⁺ будет реагировать со свободными ионами PO₄³⁻ с образованием GdPO₄. Вследствие низкой растворимости GdPO₄ часть гадолиния осаждается в виде твердого вещества и не оказывает дальнейшего влияния на скорость продольной релаксации протонов воды. Снижение скорости релаксации протонов будет наблюдаться для хелатов гадолиния с низкой стабильностью [см. линейную контрастную среду на фиг. 2: эталонные соединения 2 (Магневист®) и 3 (Примовист®)]. Стабильность примера 3 сравнима с высокой стабильностью эталонного соединения 1 (Гадовист®).

Пример F. Стабильность Gd-комплекса в плазме крови человека при 37°C, 15 день.

Примеры 3 и 10 по отдельности растворяли в плазме крови человека до концентрации 1 ммоль Gd/л. В качестве эталона для высвобожденного Gd 0,1 ммоль/л хлорида гадолиния (GdCl₃) растворяли в плазме крови человека. Образцы плазмы инкубировали в течение 15 дней при 37°C в атмосфере 5% CO₂ для поддержания pH на уровне 7.4. Аликвоты отбирали в начале и конце инкубации. Количество Gd³⁺, высвобожденного из комплексов, определяли с помощью ВЭЖХ-МС-ИСП. Колонка: Chelating Sepharose (HiTrap, 1 мл). Растворитель А: 10 мМ BisTris-HCl pH 6.0. Растворитель В: 15 мМ HNO₃. Градиент: 3 мин при 100% А, от 3 до 10 мин при 100% В. Скорость потока 1 мл/мин. Обнаружение с помощью МС-ИСП, настроенной на Gd. Хроматограммы, отображающие интенсивность обнаруживаемого Gd, оценивали с помощью анализа площади пиков. Размер пика Gd³⁺, элюирующегося после изменения растворителя А на В, регистрировали. Для обоих соединений увеличение этого пика и таким образом высвобождение Gd³⁺ было ниже предела количественного определения (<0,1% от инъецированного общего количества гадолиния). Оба Gd-комплекса являются стабильными в физиологических условиях.

Пример G. Растворимость в воде.

Растворимость в воде соединений определяли при комнатной температуре (20°C) в 0,5 мл буферного раствора (10 мМ Tris-HCl) в микроцентрифужных пробирках (Eppendorf, 2,0 мл, Safe-lock caps). Поэтапно к буферному раствору добавляли твердое соединение. Суспензию перемешивали с использованием шейкера (Heidolph Reax 2000) и обрабатывали 5 мин в ультразвуковой бане (Bandelin, Sonorex Super RK255H). Суспензию хранили при комнатной температуре (20°C) в течение ночи и конечную концентрацию гадолиния определяли с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП). Результаты сведены в табл. 5.

Растворимости соединений в воде при 20°C

Пример №	Растворимость [ммоль Gd/л]
1	>1200
2	>1200
3	>1400
4	>1200
5	>1100
6	>1100
7	>1400
8	>1000
9	>800
10	>800

Пример Н. Магнитно-резонансная ангиография с контрастированием (CE-MRA).

Потенциальная возможность значительного снижения дозы была показана с помощью внутрииндивидуального сравнения 100 мкмоль гадолиния на 1 кг массы тела [100 мкмоль Gd/кг м.т.], что сравнимо со стандартной дозой для человека, и протокола с низкой дозой с использованием 30 мкмоль гадолиния на 1 кг массы тела. Эталонное соединение 1 (Гадовист®), в качестве утвержденного представителя MRI контрастных веществ на основе гадолиния, применяли в обоих протоколах дозы (100 мкмоль Gd/кг м.т. и 30 мкмоль Gd/кг м.т.) и сравнивали с примером 3 (30 мкмоль Gd/кг м.т.).

Магнитно-резонансное ангиографическое исследование с контрастированием выполняли на клиническом сканере 1,5 T (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Эрланген, Германия). Для оптимального использования сигнала для получения данных исследование проводили со стандартной спинной катушкой. Исследование выполняли с использованием новозеландских белых кроликов (масса 2,5-2,9 кг, n=6, Charles River, Кисслегг). Всех животных сначала анестезировали с применением скорректированной на массу тела внутримышечной инъекции смеси (1+2) гидрохлорида ксилазина (20 мг/мл, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Леверкузен) и гидрохлорида кетамина (100 мг/мл, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Берлин), используемой в количестве 1 мл/кг массы тела. Непрерывную анестезию интубированных животных (эндотрахеальная трубка, Rueschelit Super Safe Clear, манжета 3.0 мм, Willy Ruesch AG, Кернен, Германия) обеспечивали за счет внутривенной инъекции 0,9 мг пропофола на 1 кг/ч (10 мг/мл, Пропофол-Липуро 1%, B. Braun Melsungen AG, Мельзунген, Германия). Непрерывную внутривенную инъекцию выполняли, используя MR-систему для инфузии (Continuum MR Infusion System, Medrad Europe B. V., AE Beek, Германия). Трахеальное дыхание (SV 900C, Maquet, Раштатт, Германия) выполняли с применением 55% кислорода, сорока вдохов в минуту и объема дыхания 7 мл на 1 кг массы тела в минуту.

На основе последовательности локализатора, место положения которой было определено в корональном, осевом и сагиттальном направлениях, получали анатомическую траекторию аорты. Время до достижения пика определяли с использованием небольшого внутривенного тестового болюса (0,25 мл/2,5-2,7 кг или 0,3 мл/2,8-2,9 кг м.т., эталонное соединение 1) и 3D FLASH последовательность (последовательность в случае тестового болюса: время повторения: 36,4 мс, эхо-время 1,45 мс, угол наклона вектора: 30°, пространственное разрешение: 1,0×0,8×17 мм). Ангиографическая 3D FLASH последовательность характеризовалась временем повторения 3,24 мс, эхо-временем 1,17 мс, углом наклона вектора 25° и толщиной среза 0,94 мм. Область сканирования 141×300 мм комбинировали с матрицей 150×320, что приводило к пространственному разрешению 0,9×0,9×0,9 мм и полному времени исследования 13 с на 3D блок. 3D FLASH последовательность выполняли один раз до и незамедлительно после инъекции контрастного вещества. Интервал времени для внутрииндивидуального сравнения между применениями различных контрастных веществ составлял от двадцати до тридцати минут (n=3 животных).

Магнитно-резонансные ангиограммы, полученные в результате внутрииндивидуального сравнения у кроликов, изображены на фиг. 3: (А) 30 мкмоль Gd/кг м.т., эталонное соединение 1 (Гадовист®); (В) 30 мкмоль Gd/кг м.т., пример 3 и (С) 100 мкмоль Gd/кг м.т., эталонное соединение 1. Контрастное усиление при выполнении низкодозового протокола в случае примера 3 (В) сравнимо с таковым стандартной дозы эталонного соединения 1 (С). Кроме того, качество изображения при выполнении низкодозового протокола в случае примера 3 (В) значительно лучше, чем при выполнении низкодозового протокола с эталонным соединением 1 (А). Ангиографическое исследование демонстрирует потенциал примера 3 в отношении значительного снижения дозы.

Пример J. Визуализация целого организма.

Классические внеклеточные контрастные вещества на основе гадолиния демонстрируют быстрое внеклеточное пассивное распределение во всем организме и выводятся исключительно почками. Быстрое внеклеточное распределение во всем организме обеспечивает классические возможности визуализации,

как, например, ангиографию и визуализацию центральной нервной системы, конечностей, сердца, головы/лица/шеи, брюшной полости и молочной железы. Была показана соизмеримость фармакокинетических и диагностических характеристик эталонного соединения 1 (Гадовист®) и других ЕССМ, и это составляет основу для переноса эффективности на все части организма, обычно визуализируемые при диагностическом обследовании в случае различных заболеваний (Tombach В. и др., Eur Radiol 2002; 12(6): 1550-1556). В описанном магнитно-резонансном исследовании с контрастированием сравниваются фармакокинетическое распределение и диагностические показатели примера 3 и эталонного соединения 1 (Гадовист®) в качестве утвержденного представителя MRI контрастных веществ на основе гадолиния.

Для того чтобы продемонстрировать, что пример 3 имеет тот же способ действия, интенсивность MRI-сигнала с течением времени и концентрации Gd определяли в различных тканях. Исследование выполняли на клиническом MRI всего организма, оснащенном спинной катушкой, гибкой катушкой для брюшной полости, шейной катушкой (1,5 T Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Эрланген, Германия). Исследование выполняли с использованием новозеландских белых кроликов (масса 2,3-3,0 кг, n=8, Charles River, Кисслегг). Всех животных сначала анестезировали с применением скорректированной на массу тела внутримышечной инъекции смеси (1+2) гидрохлорида ксилазина (20 мг/мл, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Леверкузен) и гидрохлорида кетамина (100 мг/мл, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Берлин), используемой в количестве 1 мл/кг массы тела. Непрерывную анестезию интубированных животных (эндотрахеальная трубка, Rueschelit Super Safe Clear, манжета 3,0 мм, Willy Ruesch AG, Кернен, Германия) обеспечивали за счет внутривенной инъекции 0,9 мг пропофола на 1 кг/ч (10 мг/мл, Пропофол-Липуро 1%, В. Braun Melsungen AG, Мельзунген, Германия). Непрерывную внутривенную инъекцию выполняли, используя MR-систему для инфузии (Continuum MR Infusion System, Medrad Europe B. V., AE Beek, Германия). Трахеальное дыхание (SV 900C, Maquet, Раштатт, Германия) выполняли с применением 55% кислорода, сорока вдохов в минуту и объема дыхания 7 мл на 1 кг массы тела в минуту.

Измерения посредством динамической MRI в моменты времени до 22 мин после инъекции с последующим количественным анализом сигналов (программное обеспечение Siemens Mean Curve) (SYNGO Task Card, Siemens Healthcare, Эрланген, Германия), выполняли для трех различных областей головы и шеи (головной мозг, язык, мышцы челюсти, мышцы шеи), брюшной полости (селезенка, печень, кровь) и таза (мышцы конечностей). Для трех различных групп срезов использовали 3D T1-взвешенную последовательность Vibe (TR=4,74 мс, TE=2,38, угол наклона вектора=10°, 1:29 мин). Динамические измерения трех групп срезов (голова/шея: 1:29 мин, брюшная полость: 0:49 мин, таз: 1:16 мин) выполняли в моменты времени до 22 мин после инъекции. 1. Голова/шея: исходное состояние, 1,4, 5,2, 8,9, 12,8, 16,5, 20,4 мин. 2. Брюшная полость: исходное состояние, 0,5, 4,3, 8,1, 11,9, 15,7, 19,5 мин. 3. Таз: исходное состояние, 2,9, 6,7, 10,5, 14,4, 18,1, 22,0 мин. Спустя 30 мин после инъекции животных умерщвляли и концентрации Gd измеряли, используя масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS Agilent 7500a, Вальдброн, Германия) в следующих образцах тканей: кровь, мозг, язык, печень и мышцы конечностей. Количественную оценку изображения выполняли в момент времени 30 мин п.и. посредством объединения количественного определения концентрации гадолиния с помощью МС-ИСП и анализа исследуемой области с помощью MRI.

Введение контрастного вещества приводит к усилению сигнала в сосудистой системе и во внесосудистом, внеклеточном пространстве организма. Усиление сигнала основано на фармакокинетических и физико-химических свойствах контрастных веществ. Фиг. 4 демонстрирует репрезентативные изображения области головы и шеи до и через 1,4 мин после введения примера 3 и эталонного соединения 1. Фиг. 5 демонстрирует репрезентативные абдоминальные изображения до и через 0,5 мин после введения примера 3 и эталонного соединения 1. Фиг. 6 демонстрирует репрезентативные изображения области таза до и через 0,5 мин после введения примера 3 и эталонного соединения 1. Все изображения показывают четкое усиление сигнала, например, в сердце, языке, аорте, почках, печени, селезенке, всей сосудистой системе и мышцах.

Кривые зависимости интенсивность сигналов от времени демонстрируют изменение сигналов с течением времени после введения контрастного вещества и представляют фармакокинетику контрастного вещества в соответствующей ткани (фиг. 7). Во всех исследованных тканях после инъекции контрастного вещества наблюдали быстрое усиление интенсивности сигнала, после чего следовало непрерывное ослабление сигнала. Степень этих контрастных усилений является тканеспецифической. Однако различия во временной динамике контрастных усилений между примером 3 и эталонным соединением 1 не наблюдали. Это демонстрирует идентичные фармакокинетические свойства и показывает, что пример 3 является подходящим для разных областей организма (фиг. 7). Амплитуда контрастного усиления зависит от характеристик ткани, в особенности от тканевой перфузии и физико-химических свойств, в особенности от релаксивности. Как и ожидалось от приблизительно 2-кратной более высокой релаксивности (см. пример А), контрастное усиление с применением примера 3 является более высоким по сравнению с таковым эталонного соединения 1.

Связь между концентрацией гадолиния и изменением MRI-сигнала исследовали путем сравнения количества гадолиния в ткани через 30 мин п.и. с изменением сигнала при MRI измерении, выполненном

через 19,5 мин п.и. (брюшная полость), 20,4 мин п.и. (голова и шея) и 22,0 мин п.и. (таз). Соответствующие данные примера 3 и эталонного соединения 1 показаны на фиг. 8. Наблюдалась линейная корреляция между концентрациями гадолиния в различных тканях и соответствующими изменениями MRI-сигнала. Это демонстрирует, что эффективность примера 3 и эталонного соединения 1 не зависят от области организма или исследуемой ткани. Небольшое отклонение от этой корреляции наблюдалось для селезенки, которая демонстрирует более высокое усиление MRI сигнала, чем это можно было бы ожидать от концентрации гадолиния в ткани. Это наблюдалось для обоих контрастных веществ и имеет отношение к значительно более высокому объему крови в селезенке в сравнении с другими органами и тканями. Следовательно, селезенка теряет большую часть своей концентрации гадолиния за счет потери крови, что, в свою очередь, приводит к несоответствию между *in vivo* визуализацией и *ex vivo* определением гадолиния. Корреляция между изменением сигнала и концентрации гадолиния в ткани в случае всех других тканей и органов, которая представляет собой соответствующую релаксивность, зависит от эффективности применяемого контрастного вещества. Для примера 3 (1,9) угловой коэффициент прямой был определен большим, чем для эталонного соединения 1 (1,0), что хорошо согласуется с известной более высокой релаксивностью примера 3 (фиг. 8; см. также данные релаксивности, описанные в примере А).

Пример К. Динамическое СТ исследование диффузии с фантомом.

Как указано в примере А, эталонное соединение 4 обладает релаксивностью, которая находится в таком же диапазоне, что и соединения настоящего изобретения. После внутривенной инъекции, все клинически одобренные небольшие мономеры GBCA (гадопентетат димеглюмина, гадотерат меглюмина, гадотеридол, гадодамида, гадобутрол и гадоверсетамид) распределялись в крови и внесосудистом/внеклеточном пространстве путем пассивного распределения (Aime S и др., J. Magn Reson Imaging. 2009; 30, 1259-1267). Контрастные вещества с высоким связыванием с белком, например гадофосвет тринатрий, с длительным периодом нахождения в кровеносных сосудах, вызванным обратимым связыванием с HSA, или большими гидродинамическими размерами, как, например, эталонное соединение 4, обладают пониженной способностью к прохождению через стенки сосуда. Для получения хороших результатов визуализации быстрая диффузия через стенки сосудов необходима вследствие быстрого выведения GBCA через почки.

В описанном динамическом СТ исследовании диффузии сравнивается способность примеров 1, 2, 3, 4, 5, 6 и эталонных соединений 1 и 4 проходить через полупроницаемую мембрану (20 кДа). 128-Срезовой клинический СТ прибор (SOMATOM Definition, 128; Siemens Healthcare, Фортхайм, Германия) использовали для мониторинга диффузии через полупроницаемую мембрану при 100 кВ и 104 мА. Отдельные измерения выполняли в моменты времени 0, 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 мин, 2, 3, 5, 7, 22, 24, 30, 46 и 48 ч после размещения диализной кассеты (Slide-A-Lyser, 20,000 MWCO, емкость 0,1-0,5 мл, Thermo Scientific, Роскилле, Дания), наполненной контрастным веществом, в раствор фетальной бычьей сыворотки (FBS, Sigma, F7524). Изображения реконструировали с толщиной среза 2,4 мм и ядром скертки ВЗО. Используемая в диализных кассетах концентрация исследуемых примеров 1, 2, 3, 4, 5, 6 и эталонных соединений 1 и 4 составляла 20 ммоль Gd/л.

Результаты визуализации для всех исследуемых примеров и эталонных соединений 1 и 4 для моментов времени 0 мин и 48 ч после помещения кассет в раствор FBS изображены на фиг. 9. Для анализа изображений представляющие интерес области были вручную обрисованы на 1 центрально расположенном срезе для каждого момента времени (репрезентативная область измерения указана на фиг. 9: изображение 1А). Результаты в виде количества единиц по шкале Хаунсфилда (HU) анализируемых областей с течением времени показаны на фиг. 10. Рассчитанные значения времени половинной диффузии исследуемых примеров и эталонных соединений сведены в табл. 6.

Таблица 6

Время половинной диффузии через полупроницаемую мембрану (20 кДа)

Пример №	Время половинной диффузии (20 кДа) [ч]
1	39
2	39
3	11
4	21
5	24
6	36
ЭС 1	2
ЭС 4	~90000

Фиг. 10 и рассчитанные данные периода полувыведения показывают, что подобно эталонному соединению 1 (Гадовист®) и в отличие от эталонного соединения 4 примеры 1-6 способны пройти полупроницаемую мембрану. Кроме того, данные исследуемых соединений, в отличие от других средств с высокой релаксивностью, которые обладают высоким связыванием с белком или очень низкими скоро-

стями вращения (например, эталонное соединение 4), показывают, что соединения настоящего изобретения имеют гидродинамические размеры, которые дают возможность преодолеть барьеры за необходимое время. Эти экспериментальные данные указывают на способность соединений изобретения преодолевать барьеры, как, например, эндотелиальные стенки в сосудистой системе, что является необходимым условием для визуализации целого организма.

Пример L. Оценка потенциальных побочных действий.

Ни один из исследованных соединений-примеров не показал нежелательных отрицательных побочных действий у животных после применения. Кроме того, нецелевая активность примера 3 была показана в коммерческих анализах радиолигандного связывания и ферментных анализах (LeadProfilingScreen®, Eurofins Panlabs, Тайбэй, Тайвань) и не выявила критических результатов.

Пример M. MRI с контрастированием опухолей головного мозга у крыс.

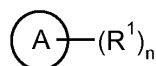
Потенциальная возможность значительного снижения дозы была показана с помощью внутрииндивидуального сравнения 0,3 ммоль гадолиния на 1 кг массы тела (300 мкмоль Gd/кг м.т.) и протокола с низкой дозой с использованием 0,1 ммоль гадолиния на 1 кг масса тела (100 мкмоль Gd/кг м.т.). Эталонное соединение 1 (Гадовист®) в качестве утвержденного представителя MRI контрастных веществ на основе гадолиния применяли в обоих протоколах дозы (0,3 ммоль Gd/кг м.т. и 0,1 ммоль Gd/кг м.т.) и сравнивали с примером 3 (0,1 ммоль Gd/кг м.т.).

Клеточную линию GS9L (Европейская коллекция клеточных культур, Cancer Res 1990;50:138-141; J. Neurosurg 1971;34:335) выращивали в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла (DMEM, GlutaMAX™, Ref: 31966-021, Gibco), дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS, Sigma F75249) и 1% пенициллина-стрептомицина (10.000 Ед./мл, Gibco). Исследование выполняли с использованием самцов крыс Фишера (F344, масса 170-240 г, n=4, Charles River, Кисслегг). Инокуляцию выполняли при анестезии кетамин/ксилазином с применением скорректированной на массу тела внутримышечной инъекции смеси (1+2) гидрохлорида ксилазина (20 мг/мл, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Лейпциг) и гидрохлорида кетамина (100 мг/мл, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Берлин), используемой в количестве 1 мл/кг массы тела. Для ортотопической интрацеребральной имплантации анестезированных животных фиксировали в стереотаксическом аппарате и 1.0 E+06 GS9L клеток, суспендированных в объеме 5 мкл среды, медленно инъецировали в головной мозг с использованием шприца Гамильтона.

MRI-исследование с контрастированием выполняли на клиническом 1,5 Т сканере (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Эрланген, Германия). Для получения данных использовали катушку для головы крысы (катушка и фиксатор для удерживания животных - для крыс, RAPID Biomedical GmbH). Крыс анестезировали, используя смесь изофлурана (2,25%), газообразного кислорода (прибл. 0,5 л/мин) и закиси азота (скорость потока прибл. 1 л/мин). MR-визуализацию выполняли с использованием последовательности 3D турбоспинового эха (12,1 мм срезов в 3D блоке, область сканирования: 80 мм (супердискретизация 33%), время повторения: 500 мс, эхо-время 19 мс, пространственное разрешение: 0,3×0,3×1,0 мм). Животных визуализировали в течение двух дней подряд. В первый день внутрииндивидуально сравнивали эталонное соединение 1 (Гадовист®) и пример 3 при одной и той же дозе, 0,1 ммоль Gd/кг м.т., которая сравнима со стандартной дозой для человека. Во второй день эталонное соединение 1 (Гадовист®) при дозе 0,3 ммоль Gd/кг м.т., которая сравнима с тройной дозой для человека (одобрена клинически при определенных показаниях ЦНС), сравнивали со стандартной дозой примера 3 (0,1 ммоль Gd/кг м.т.). Полученные в результате MR-картины GS9L опухолей головного мозга у крысы изображены на фиг. 11: (А) внутрииндивидуальное сравнение эталонного соединения 1 (Гадовист®) и примера 3 при одной и той же дозе 0,1 ммоль Gd/кг массы тела (м.т.). Пример 3 при одной и той же дозе показал более высокий контраст между участком поражения и мозгом и отличную демаркацию края опухолей; (В) сравнение эталонного соединения 1 (Гадовист®) при дозе 0,3 ммоль Gd/кг м.т. (тройная доза) и примера 3 при дозе 0,1 ммоль Gd/кг м.т. (стандартная доза). Пример 3 показал схожий контраст между участком поражения и мозгом при одной третьей дозы эталонного соединения 1.

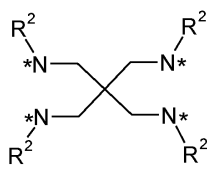
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы (I)



(I),

в которой $\textcircled{\text{A}}$ представляет собой группу



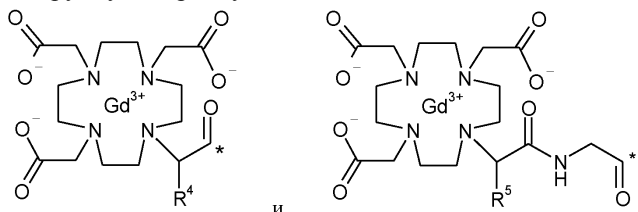
в которой * обозначает точку присоединения указанной группы к R^1 ;

R^1 представляет собой группу R^3 ;

n представляет собой целое число 4;

R^2 представляет собой атом водорода;

R^3 представляет собой группу, выбранную из



в которых * обозначает точку присоединения указанной группы к остальной части молекулы;

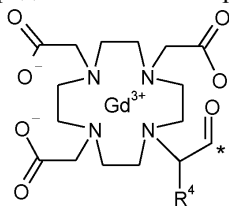
R^4 представляет собой атом водорода;

R^5 представляет собой атом водорода или метильную группу;

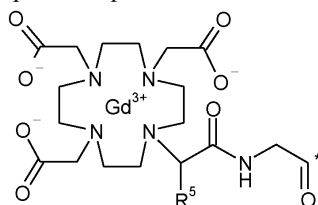
или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или фармацевтически приемлемая соль или смесь таковых.

2. Соединение по п.1, в котором R^5 представляет собой метильную группу.

3. Соединение по п.1, в котором R^3 представляет собой группу



4. Соединение по п.1 или 2, в котором R^3 представляет собой группу



5. Соединение по любому из пп.1-4, которое выбирают из группы, состоящей из

[4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]-9,9-бис-({[(2-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил}-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

{4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]-9,9-бис-({[(2R)-2-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

{4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]-9,9-бис-({[(2S)-2-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]пропаноил}амино)ацетил]амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

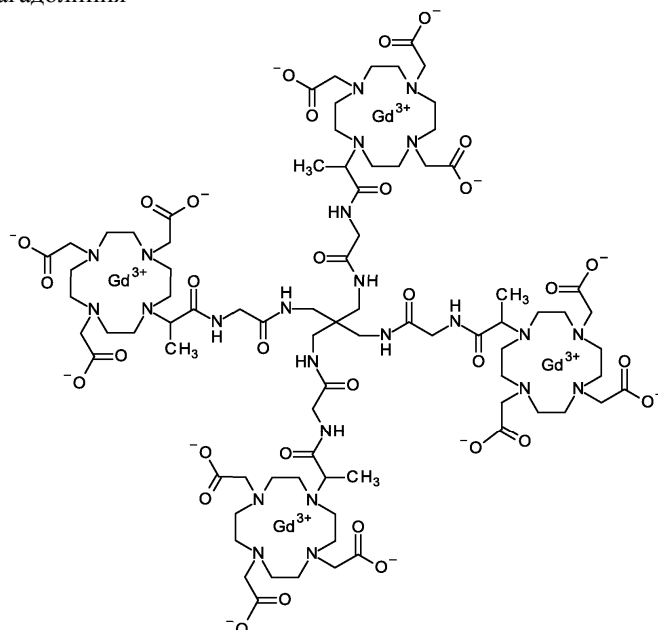
{4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетил}амино)-2,2-бис-({[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетата тетрагадолиния и

[4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]-8,8-бис-({[(4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетил}амино)ацетил]амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадекан-1-ил]-1,4,7,10-тетрааза-10-оксо-1-ил]ацетата тетрагадолиния,

или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или фармацевтически приемлемая соль или смесь

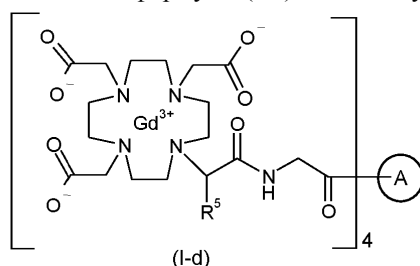
таковых.

6. Соединение по любому из пп.1, 3 или 4, которое представляет собой [4,10-бис-(карбоксилатометил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаиклододекан-1-ил]-9,9-бис-({[2-[4,7,10-трис-(карбоксилатометил)-1,4,7,10-тетраазаиклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил}амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаиклододекан-1-ил]ацетат тетрагадолиния



или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или фармацевтически приемлемая соль или смесь таковых.

7. Способ получения соединения общей формулы (I-d) по любому из пп.1-6

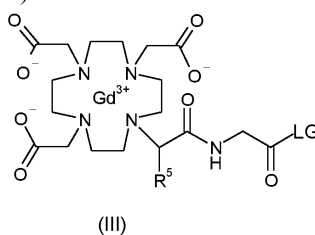


в котором значения R^5 и $\textcircled{A}$ определены в любом из пп.1-6, который включает взаимодействие группы формулы 4



4

где $\textcircled{A}$ определен в п.1, или его соли с соединением общей формулы (III)



в которой LG представляет собой активирующую уходящую группу.

8. Способ по п.7, где активирующая уходящая группа LG представляет собой 4-нитрофенол, пентафторфенол, 1-гидрокси-2,5-дион-пирролин, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол.

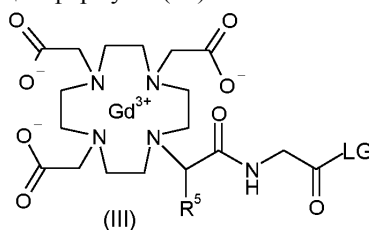
9. Применение соединения по любому из пп.1-6 для магнитно-резонансной визуализации (MRI).

10. Применение соединений или их смесей по любому из пп.1-6 для изготовления контрастных ве-

ществ для магнитно-резонансной визуализации.

11. Способ визуализации ткани организма у пациента, включающий стадию введения пациенту эффективного количества одного или нескольких соединений по любому из пп.1-6 в фармацевтически приемлемом носителе и стадию, на которой пациента подвергают магнитно-резонансной визуализации.

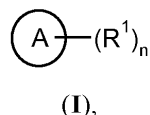
12. Применение соединения общей формулы (III)



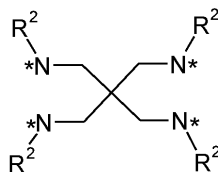
в которой значения R^5 являются такими, как определено для соединений общей формулы (I) по любому из пп.1-6, и LG представляет собой активирующую уходящую группу, для получения соединения общей формулы (I) по любому из пп.1-6.

13. Применение по п.12, где активирующая уходящая группа LG представляет собой 4-нитрофенол, пентафторфенол, 1-гидроксипирролидин-2,5-дион, гидроксibenзотриазол или 3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-3-ол.

14. Промежуточное соединение общей формулы (I) для приготовления соединения по любому из пп.1-6



в которой $\textcircled{A}$ представляет собой группу



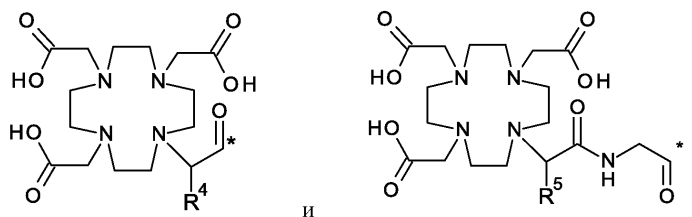
в которой * обозначает точку присоединения указанной группы к R^1 ;

R^1 представляет собой группу R^3 ;

n представляет собой целое число 4;

R^2 представляет собой атом водорода;

R^3 представляет собой группу, выбранную из



в которых * обозначает точку присоединения указанной группы к остальной части молекулы;

R^4 представляет собой атом водорода;

R^5 представляет собой атом водорода или метильную группу;

или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или соль или смесь таковых.

15. Промежуточное соединение по п.14, которое выбирают из группы, состоящей из {4,10-бис-(карбоксиметил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис-({[(2-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил}амино)метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

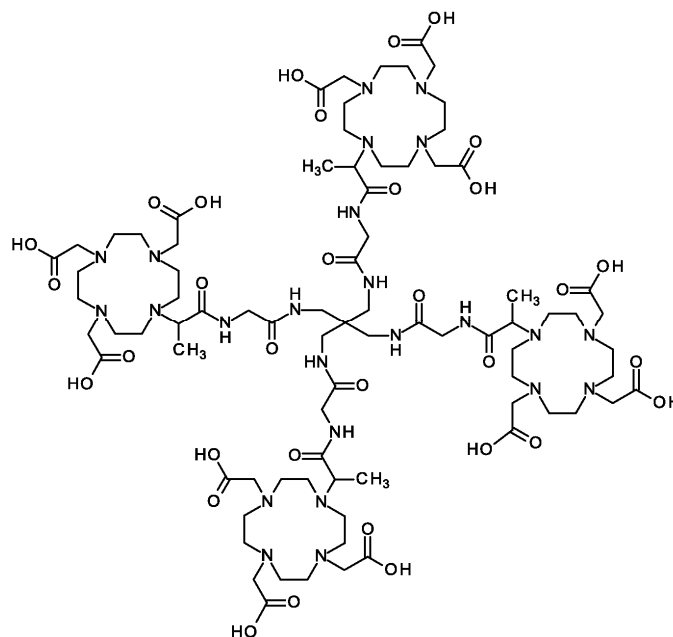
{4,10-бис-(карбоксиметил)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис-({[(2R)-2-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил}амино)метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

{4,10-бис-(карбоксиметил)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]-9,9-бис-({[(2S)-2-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил]пропаноил)амино]ацетил}амино)метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетрааза-циклододекан-1-ил}уксусной кислоты;

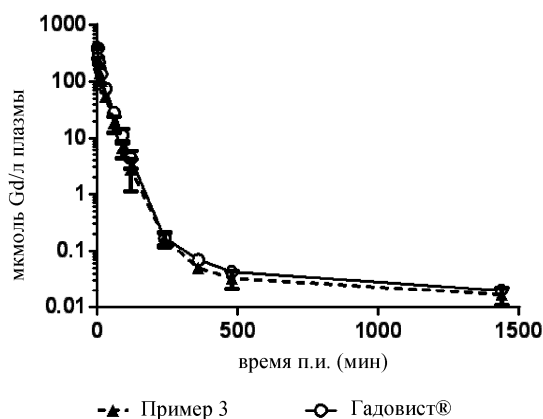
{4,10-бис-(карбоксиметил)-7-[2-оксо-2-({3-({[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)-2,2-бис-[({[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)метил]пропил}амино)этил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусной кислоты и [4,10-бис-(карбоксиметил)-7-{2,5,11,14-тетраоксо-15-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-8,8-бис-({[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]ацетил}амино)ацетил}амино}метил)-3,6,10,13-тетраазапентадец-1-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]уксусной кислоты;

или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или соль или смесь таковых.

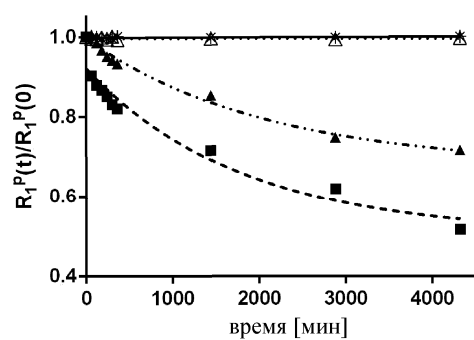
16. Промежуточное соединение по п.15, которое представляет собой {4,10-бис-(карбоксиметил)-7-{3,6,12,15-тетраоксо-16-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]-9,9-бис-({[2-[4,7,10-трис-(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил]пропаноил}амино)ацетил}амино}метил)-4,7,11,14-тетраазагептадекан-2-ил]-1,4,7,10-тетраазаацклододекан-1-ил}уксусную кислоту



или его стереоизомер, таутомер, гидрат, сольват или соль или смесь таковых.

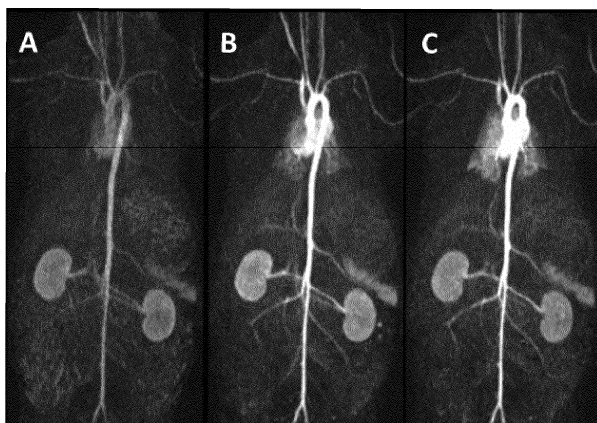


Фиг. 1



· $\triangle$ · Гадовист * Пример 3 · $\blacksquare$ · Магневист · $\blacktriangle$ · Примовист

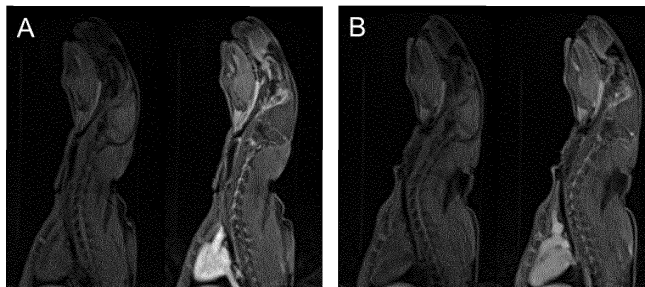
Фиг. 2



Фиг. 3

Пример 3

Гадовист®

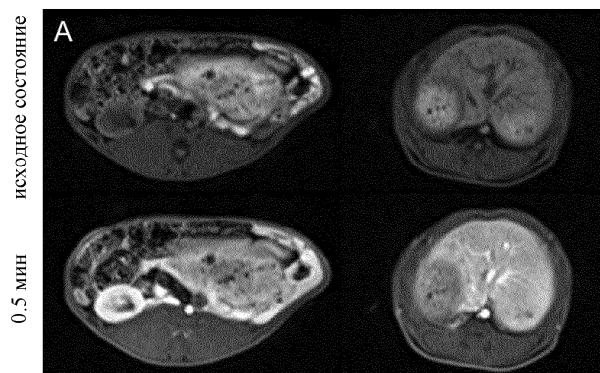


исходное состояние 1.4 мин

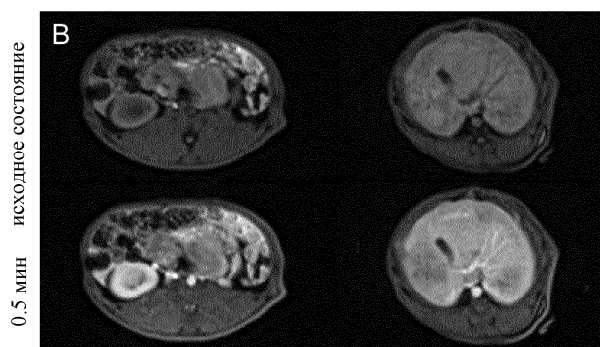
исходное состояние 1.4 мин

Фиг. 4

Пример 3



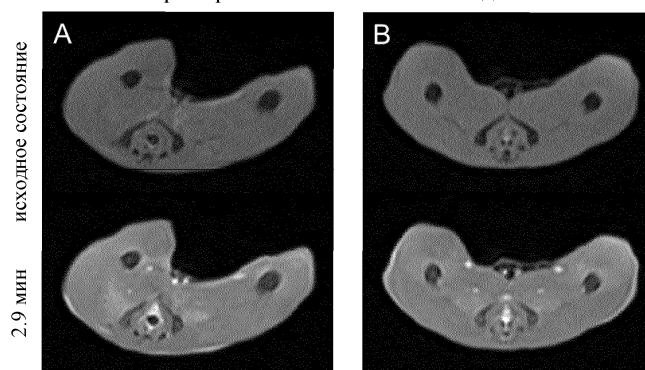
Гадовист®



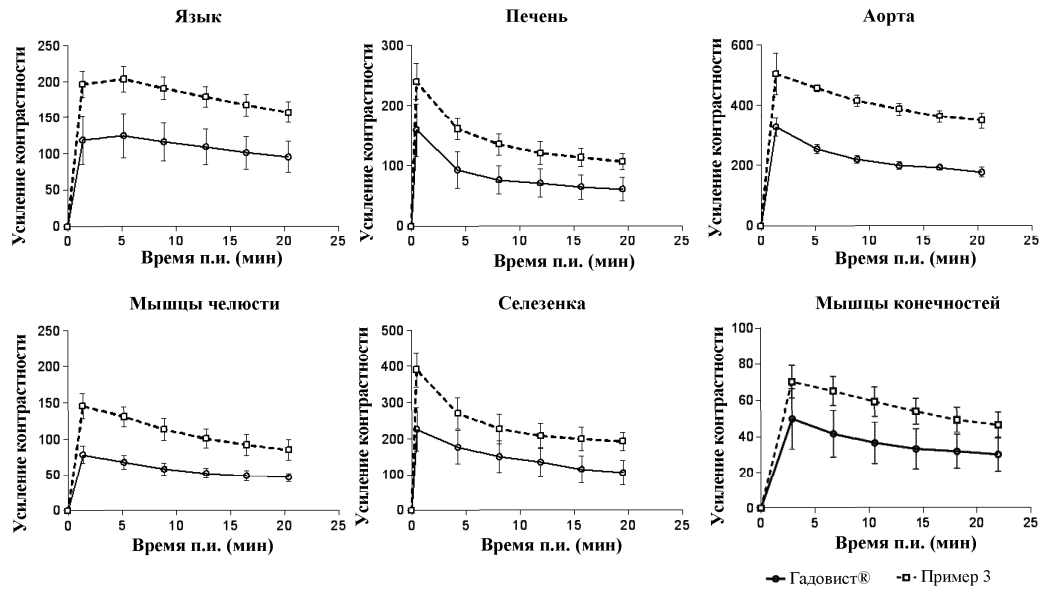
Фиг. 5

Пример 3

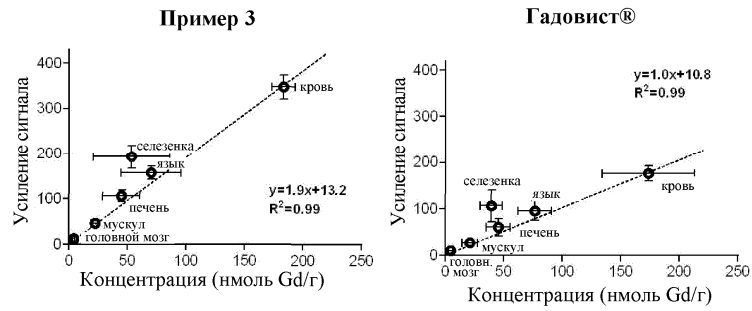
Гадовист®



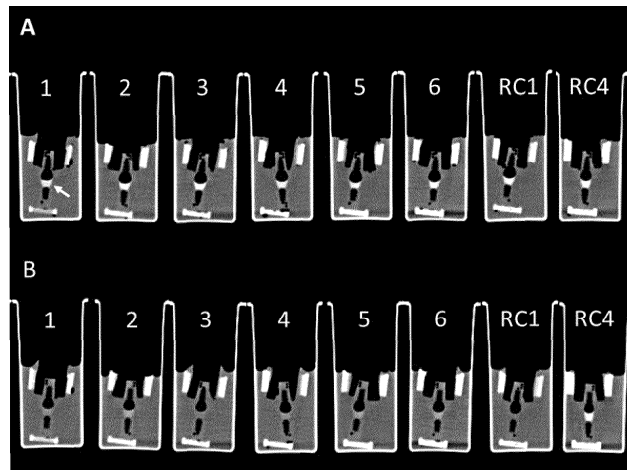
Фиг. 6



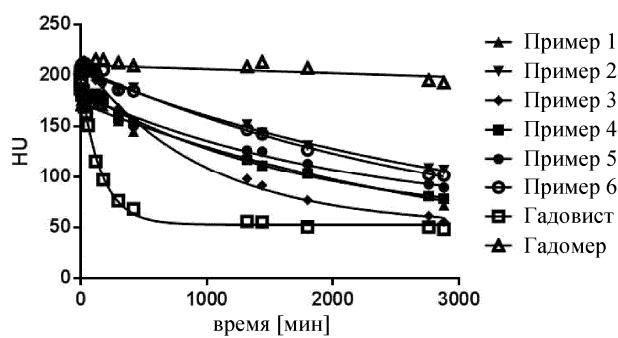
Фиг. 7



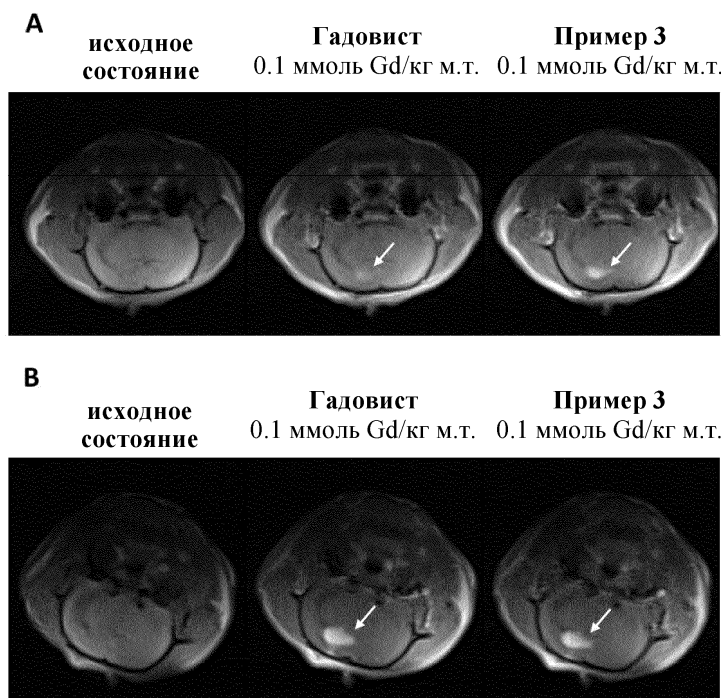
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

