

안정한 방사금속 착물을 위한 거대고리 리간드 개발

경북대학교 의과대학 분자의학과, 핵의학과¹
 유정수 · 이재태¹

Development of Macrocyclic Ligands for Stable Radiometal Complexes

Jeongsoo Yoo, Ph.D., Jaetae Lee, M.D., Ph.D.¹

Department of Molecular Medicine, Department of Nuclear Medicine¹, Kyungpook National University School of Medicine, Korea

Current interest in the regioselective N-functionalization of tetraazacycloalkanes (cyclen and cyclam) stems mainly from their complexes with radioactive metals for applications in diagnostic (⁶⁴Cu, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga) and therapeutic (⁹⁰Y) medicine, and with paramagnetic ions for magnetic resonance imaging (Gd³⁺). Selective methods for the N-substitution of cyclen and cyclam is a crucial step in most syntheses of cyclen and cyclam-based radiometal complexes and bifunctional chelating agents. In addition, mixing different pendent groups to give hetero-substituted cyclen derivatives would be advantageous in many applications for fine-tuning the compound's physical properties. So far, numerous approaches for the regioselective N-substitution of tetraazacycloalkanes and more specifically cyclen and cyclam are reported. Unfortunately, none of them are general and every strategy has its own strong points and drawbacks. Herein, we categorize numerous regioselective N-alkylation methods into three strategies, such as 1) direct substitution of the macrocycle, 2) introduction of the functional groups prior to cyclization, and 3) protection/functionalization/deprotection. Our discussion is also split into the methods of mono- and tri-functionalization and di-functionalization based on number of substituents. At the end, we describe new trials for the new macrocycles which form more stable metal complexes with various radiometals, and briefly mention the commercially available tetraazacycloalkanes which are used for the biconjugation of biomolecules. (Korean J Nucl Med 39(4):215-223, 2005)

Key Words : Regioselective N-Functionalization, Tetraazacycloalkanes, Cyclen, Cyclam

서 론

1950년대에 킬레이트 효과(chelate effect)¹⁾ 알려지고 1960년대 거대고리(macrocyclic effect)²⁾ 보고된 이후 수많은 거대 고리 킬레이트가 합성이 되었다. 그 중 의료용으로 가장 많이 연구되었고 현재 실제 임상에 사용되고 있는 거대고리 리간드가 tetraazacycloalkane 유도체들이다. 가장 대표적인 tetraazacycloalkane 화합물로는 cyclen과 cyclam이 있고 현재 MRI 조형제로 사용되고 있는 Na[Gd(DOTA)(H₂O)]에 사용되는 DOTA는 cyclen의 네 개의 질소 원자에

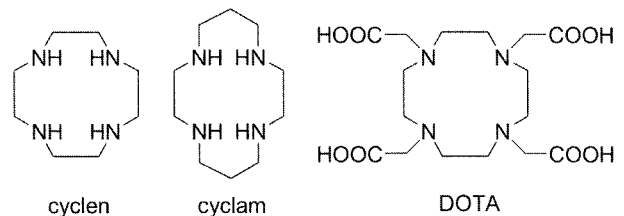


Fig. 1. Most common tetraazacycloalkanes.

아세테이트기가 붙은 cyclen 유도체 화합물이다(Fig. 1).³⁻⁵⁾

Cyclen과 cyclam은 모두 네 개의 아민기를 가지고 있으며 여러 전이금속, 중금속, 란타나이드나 악티나이드 금속 이온 등과 안정한 금속 착물을 형성한다. 또한 네 개의 질소 원자에 아세테이트기와 같은 여러 치환기를 연결하여 다양한 유도체를 만들 수 있으며 각각의 금속 이온과의 반응성 및 금속 착물의 열역학적 및 동력학적 안정성을 최적화시킬 수도 있다.^{6,7)} 의료용으로 관심이 높은 금속 이온 중 cyclen이나 cyclam 유도체와 안정한 착물을 형성하는 이온은 MRI 조형제로 사용할 수 있는 Gd 뿐만 아니라 핵의학에서 사용 가능

• Received: 2005. 7. 20. • Accepted: 2005. 8. 12.

• Address for reprints: Jeongsoo Yoo, Ph.D., Department of Molecular Medicine, Kyungpook National University School of Medicine, #101 Dongin-dong 2-ga, Joong-gu, Daegu 700-422, Korea
 Tel: 82-53-420-4947, Fax: 82-53-422-0864
 E-mail: yooj@knu.ac.kr

* 이 논문은 과기부(과학재단)에서 지원한 시스템바이오다이나믹스 국가핵심연구센터의 연구 결과물입니다.

한 방사성동위원소들이 있다. ^{64}Cu , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{86}Y 등은 PET이나 SPECT을 이용한 진단에 사용 가능한 방사성동위원소이고 ^{90}Y 는 치료용으로 사용 가능한 방사성동위원소이다.^{8,9)}

Cyclen이나 cyclam을 의료용으로 사용하기 위해서는 여러 금속 이온과의 반응성 및 착물의 열역학적 및 동력학적 안정성을 최적화 시켜야 하고 각각의 사용 목적에 따라 구조의 미세조정이 필요하게 된다.¹⁰⁾ 하지만 cyclen이나 cyclam 모두 화학적으로 동일한 환경에 놓인 네 개의 아민기를 가지고 있어 DOTA와 같이 네개의 아민에 동일한 치환기를 결합시킬 경우는 화학 반응이 간단하지만 네 개의 아민에 선택적으로 다른 치환기를 결합시켜 미세한 구조적 기능적 변화를 피하기는 유기합성적으로 매우 까다로운 일이 된다. 하지만 이와 같은 위치 선택적 N-functionalization은 새로운 macropolycycle의 합성에 반드시 필요한 synthon의 합성이나 비대칭적으로 치환된 거대고리 화합물의 합성에 반드시 필요한 합성 기술이다.^{11,12)}

본 중설에서는 현재까지 발표된 tetraazacycloalkane의 위치선택적 N-functionalization의 최근 동향에 대해 알아보고 이와 같은 방법에 의해 합성된 cyclen과 cyclam 유도체들이 어떻게 핵의학 분야에서 이용되고 있는지 알아보려고 한다. 특히 펩타이드나 항체 등 생체 화합물들을 방사성 핵종으로 표지 하는데 반드시 필요한 bifunctional chelator (BFC)로서 tetraazacycloalkane 유도체의 합성에 대해 살펴보고자 한다. 또한 이들 위치 선택적 치환 방법들을 통해 보다 안정한 금속 착물을 형성할 수 있는 새로운 형태의 리간드들을 합성하려는 새로운 시도들을 살펴보고자 한다. 끝으로 상업적으로 구입 가능한 macrocyclic BFC를 간단히 기술하였다.

선택적 N-치환을 위한 다양한 방법들

현재까지 다양한 tetraazamacrocycle의 선택적 N-functionalization 방법이 보고되고 있지만 그 어떤 것도 모든 합성에 두루 사용될 수는 없고 각각의 방법마다 장점과 단점을 가지고 있다. 선택적 N-functionalization 방법은 합성 방법에 따라 크게 세가지로 나누어 볼 수 있다. Macrocycle에 직접 치환하는 방법, 치환기를 먼저 도입하고 cyclization을 나중에 하는 방법, 그리고 마지막으로 protection/function-alization/deprotection 하는 방법이다. 이들 중 어느 방법을 선택할 것인가는 우리가 원하는 최종 화합물에 의해 결정이 되겠지만 최상의 합성 방법을 정하기 위해서는 다양한 요소들을 고려해야 한다. 전체 합성 스텝의 수, 전체 합성 수율, 한번에 합성할 수 있는 양 뿐만 아니라 시약의 가격이나 현

재 우리나라에서 구매 가능한 시약인지 등도 고려해야 할 것이다. 그리고 cyclen과 cyclam이 구조적으로 아주 유사한 화합물이나 선택적 N-functionalization에 있어서는 사용하는 시약이나 전략이 전혀 다를 수 있다는 것을 항상 염두에 두어야 한다.

본 논문에서는 위치 선택적 N-functionalization 방법을 크게 두 개로 나누어서 설명하고자 한다. 하나는 네 개의 아민 중 하나나 세 개의 아민을 선택적으로 치환하는 전략과 다른 하나는 네 개의 아민 중 두 개만을 선택적으로 치환하는 전략이다.

1. 하나 또는 세 개의 치환기가 결합된 tetraaza-cycloalkanes

완전히 서로 다르게 보일 수 있는 두 개의 tetraaza-cycloalkane 유도체 합성을 하나의 카테고리로 묶은 것은 두 개의 치환체가 쉽게 서로 다른 유도체로 변환될 수 있기 때문이다. 네 개의 아민 중 세 개가 치환되었다면 남아있는 하나의 아민에 우리가 원하는 새로운 치환기를 결합시킬 수가 있고 세 개의 아민에 미리 치환된 그룹을 제거하면 하나의 치환기만을 가진 tetraazamacrocycle이 합성될 수 있다. 물론 반대로 먼저 하나의 아민만을 치환한 후 나머지 세 개의 아민에 다른 치환기를 결합시킨 후 처음 반응시킨 하나의 치환기를 제거 할 수도 있다. 물론 이때 처음 반응시키는 치환기는 쉽게 제거할 수 있는 방해기(protecting group)이어야 한다.

1) 직접적 치환

직접적 치환은 monosubstituted macrocycle을 만드는 가장 간단한 방법이다. 하지만 cyclen이나 cyclam 모두 화학적으로 동일한 환경에 놓인 네 개의 아민 기를 가지고 있어 하나의 아민만 선택적으로 치환시키기는 매우 힘든 상황이다. 따라서 macrocycle의 양을 치환시키려는 electrophile의 양에 비해 많게는 5배까지 과량을 사용하게 된다. 하지만 이와 같은 경우에도 두 개나 세 개의 치환기가 도입된 불순물이 형성되고 과량으로 사용된 macrocycle을 회수하는 작업을 해야 하기 때문에 수율은 대체로 낮은 편이다. Macrocycle이 금속 이온과 결합 시 중요한 역할을 하는 아세테이트기나 propionate group을 도입할 경우 수율은 56~78%이다(Fig. 2).¹³⁾ Cyclen과 cyclam을 비교해 볼 경우 일반적으로 cyclen이 cyclam 보다 mono-N-substitution이 더 잘 된다고 보고되고 있다. Cyclen의 경우 1.5~3배의 과량의 macrocycle을 사용할 경우 좋은 수율로 하나의 치환기만을 도입한 예들이 보고되고 있다. 하지만 최근 들어 Wong 등은 0.4~0.5 배의

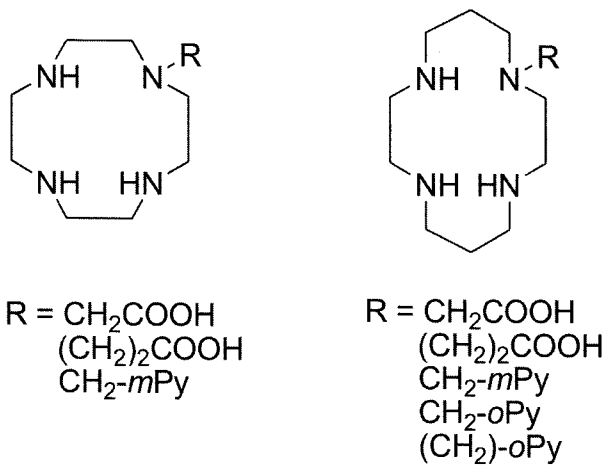


Fig. 2. Mono-N-substituted cyclen and cyclam.

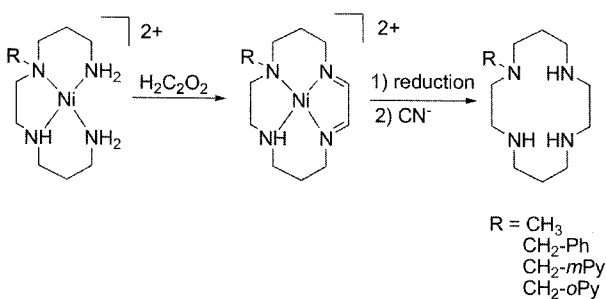


Fig. 3. Cyclization of mono-substituted precursors.

alkylating agent를 사용하여 K_2CO_3 하에서 선택적으로 mono *N*-alkylated cyclam과 cyclen 유도체를 66~93%의 높은 수율로 합성하였다.¹⁴⁾ 이 경우 cyclam 화합물의 수율이 cyclen 화합물의 수율 보다 모두 높게 합성되었다. 물론 전체적인 수율은 도입하려는 치환기에 따라 많은 차이를 보인다.

세 개의 치환기를 바로 도입하는 경우는 cyclen 화합물의 경우 몇몇 경우가 보고되고 있다. Cyclam의 경우 Tricarbamoylmethylcyclam 같은 유도체는 과량의 iodoacetamide를 이용해 높은 수율로 얻을 수 있었다. 하지만 세 개의 아민을 선택적으로 치환하는 경우는 방해기(protecting group)를 치환기로 이용하려는 시도가 더욱 많이 보고되고 있다. 가장 대표적인 예가 tritosylcyclam이다. 사용하는 tosyl chloride의 양과 반응 온도, 반응 용매, 그리고 치환기를 반응 용기에 넣는 방법을 최적화 할 경우 tritosylcyclam을 54%까지 얻을 수 있다.¹⁵⁾ Tritosylcyclen의 경우 반응 조건을 최적화 시킬 경우 80%의 수율도 가능하다. 또 다른 예로는 아민 방해기로 널리 사용되는 *tert*-butyloxycarbonyl (Boc) group이다.¹⁶⁾ Boc group도 반응 조건을 최적화 시킬 시 cyclen과

cyclam에 세 개의 Boc 그룹만이 선택적으로 치환된 유도체를 각각 70%와 67%의 수율로 얻을 수 있다. 이 경우 tetraazacycloalkane의 세 개 아민의 반응성이 없어지기 때문에 나머지 하나의 아민에 우리가 원하는 치환기를 도입하고 세 개의 방해기를 제거하면 결과적으로 하나의 치환기만을 선택적으로 도입한 경우가 된다.

하지만 하나의 치환기를 도입하는 경우와 마찬가지로 세 개의 치환기만을 직접 도입하는 경우에도 우리가 원하지 않는 부산물의 생성은 피할 수 없게 된다. 따라서 컬럼 크로마토그래피 등을 통한 정제 작업은 반드시 필요하게 된다.

최근 Wong 등은 3.5 배의 electrophile을 이용하면 triethylamine 존재 하에서 cyclen에 선택적으로 세 개의 치환체만을 높은 수율로 도입할 수 있음을 보고하였다.¹⁷⁾ 또한 electrophile의 양을 2배만 사용하면 cyclen 화합물에 1,7-위치 보다 1,4-위치에 선택적으로 치환기가 도입됨도 보고하였다.

2) *N*-치환된 전구체의 고리화

이 방법은 부분적으로 아민에 치환기를 미리 도입한 이후 고리화(cyclization)을 하는 방법이다. 대표적인 예로는 금속 이온을 이용해 고리화를 용이케 하는 템플레이트 반응(template reaction)이다. Cyclam 같은 경우 Ni를 템플레이트로 이용해 고리화 반응을 할 수 있는데 고리화하기 전에 하나의 아민만 선택적으로 치환된 선형의 tetraamine을 전구체로 이용하면 네 개의 아민 중 하나의 질소 원자에만 치환기만을 가진 cyclam을 얻을 수 있다. 고리화가 끝난 이후 Ni은 cyanide 이온을 사용해 제거할 수 있다(Fig. 3).¹⁸⁾

Cyclen 화합물의 경우 위와 같은 방법에 의해 tritosylcyclen이 합성되었지만 반응 스텝의 수가 많고 수율도 17% 밖에 되지 않아 현재는 사용되지 않고 있다. 뿐만 아니라 미리 선택적으로 *N*-functionalization을 하고 나중에 고리화를 시키는 다른 방법도 현재는 그리 널리 사용되고 있지 않다. 일반적으로 적당한 전구체를 합성하는 것이 간단치 않으며 많은 수의 반응 스텝을 필요로 하기 때문이다. 특히 유사한 시리즈의 화합물을 만드는 경우 일일이 고리화 반응을 해야 하기 때문에 앞서 살펴본 직접적인 치환 방법이나 앞으로 살펴볼 protection/functionalization/deprotection이 보다 효과적이라 할 수 있다.

3) 방해기를 이용한 선택적 *N*-치환

이 방법은 tetraazacycloalkane의 네 개의 아민 중 하나나 세 개를 선택적으로 차단(Protection)한 후 남아 있는 세 개 또는 하나에 원하는 치환기를 도입하는 방법으로 1.1의 직접

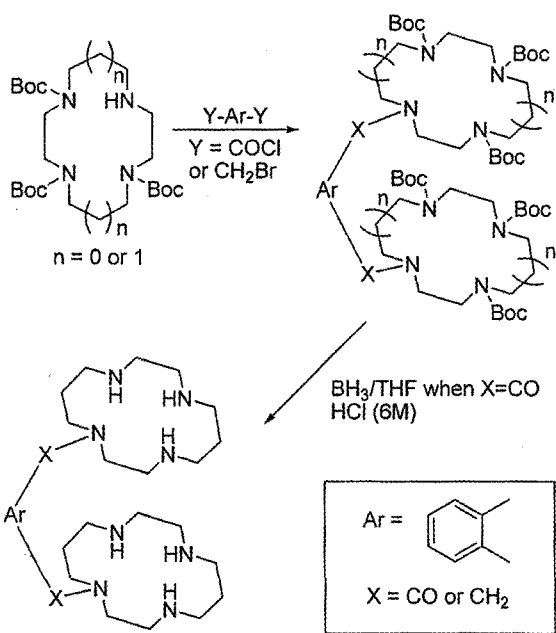


Fig. 4. Synthesis of bismacrocycles by using tri-protected macrocycles.

적 치환 방법과 밀접한 관계를 가지고 있다. 물론 아민의 반응성을 제한하는데 사용한 방해기(protecting group)는 원하는 치환기를 도입 후 손쉽게 제거할 수 있어야 한다.¹⁹⁾ 1,1에서 직접 치환의 예로 든 tritosylcyclam 같은 경우 다양한 mono-substituted cyclam 유도체를 합성하는데 사용되었다. 하지만 tosyl group의 경우 원하는 치환기를 도입 후 쉽게 제거하기가 힘든 단점이 있다. 반면 Boc는 tosyl 기에 비해 상온에서 HCl이나 TFA 같은 산에 의해 쉽게 제거할 수 있는 장점을 가지고 있다. 세 개의 아민이 방해된 cyclen과 cyclam 화합물은 다양한 bismacrocycle을 합성하는데도 사용되었다(Fig. 4).¹⁶⁾

Cyclen과 cyclam의 세 개의 아민을 방해하는 또 다른 방법은 금속 이온을 이용한 배위 결합에 의한 방법이다.²⁰⁾ Ttricarboxylchromium이나 molybdenum carbonyl 착물을 tetraazamacrocycle과 결합시키면 금속 착물이 3개의 아민과만 배위 결합을 하여 나머지 하나의 이차 아민에는 원하는 치환기를 도입할 수 있다. 하지만 이 경우 남아있는 아민의 반응성을 높이기 위해 *n*-BuLi 등 매우 강한 베이스(base)를 사용해야 하는 단점이 있다. 이와 유사한 방법으로 cyclen과 dimethylformamide dimethyl acetal을 반응시켜 1,4,7,10-tetraazatricyclo[5.5.1.0]tridecane을 만드는 방법이 있다.²¹⁾ 이 경우 세 개의 아민이 하나의 탄소 원자에 결합하고 나머지 결합에 참여하지 않은 하나의 아민에 우리가 원하는 치환기를 도입할 수 있다. 또한, 1,4,7,10-tetraazatricyclo[5.5.1.0]

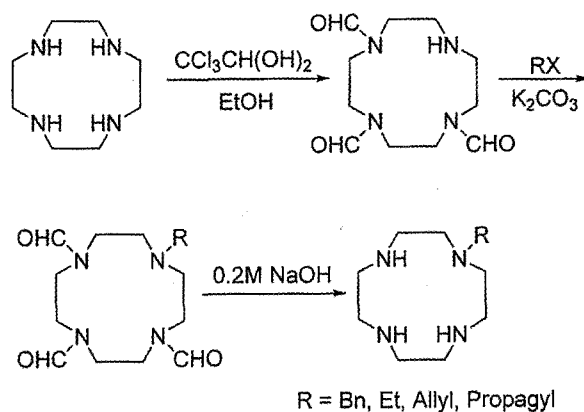


Fig. 5. N-monoalkylation of 1,4,7,10-cyclen via formamido protection.

tridecane은 가수분해에 의해 손쉽게 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-carbaldehyde로 바뀌는데 이것은 mono-protected cyclen 화합물로 생각할 수 있다. 왜냐하면 산성 처리에 의해 formyl 기를 손쉽게 제거할 수 있기 때문이다. 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-carbaldehyde을 이용하면 다양한 tri-substituted macrocycle을 합성할 수 있다. DOTA와 더불어 bifunctional chelator로 많이 이용되고 있는 1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane (DO3A)도 이 synthon으로부터 합성할 수 있다.²²⁾ 합성된 DO3A의 나머지 한 아민에는 펩타이드나 항체와 쉽게 결합할 수 있는 다양한 linker를 도입할 수 있어 필요한 경우에 따라 원하는 BFC를 만들 수 있는 장점이 있다.

Sisti 등은 cyclen의 세 개의 아민만을 선택적으로 방해하는 아주 쉽고 효과적인 방법을 발견했다.²³⁾ Cyclen을 6배의 chloral hydrate와 EtOH에서 반응시키면 다른 이성질체 없이 오직 1,4,7-triformylcyclen만 형성됨을 관찰했다. 이렇게 합성한 tri-protected cyclen은 다양한 alkylating agent와 반응시켜 원하는 치환기를 도입하고 염기성 가수분해를 통해 formyl기를 제거하면 mono-substituted cyclen을 좋은 수율로 합성하게 된다(Fig. 5). Formyl기는 염기성뿐만 아니라 산성에서도 쉽게 가수분해시켜 제거할 수 있다.

Mono-protected tetraazacycloalkane에 사용되는 다른 예로는 benzyl group을 들 수 있다.²⁴⁾ Tertiary benzylic C-N 결합은 수소분해반응(hydrogenolysis)에 의해 쉽게 제거될 수 있는 반면 수소분해반응은 많은 작용기에 아무런 영향을 미치지 않아 다양한 치환기를 도입할 수 있다. 4-Nitrobenzyl group도 benzyl group과 마찬가지로 trisubstituted cyclen 화합물을 합성하는데 필요한 mono-protection에 사용할 수 있다.

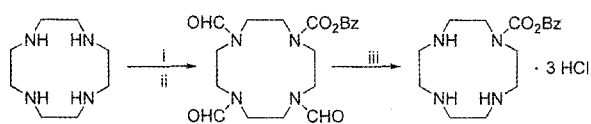


Fig. 6. : Synthesis of mono-N-Cbz-cyclen: i) chloral hydrate, EtOH, 60°C; ii) benzyl chloroformate, H₂O; iii) 1M HCl, 50°C.

서로 다른 두 개의 방해기를 연속적으로 도입한 후 하나의 방해기만을 선택적으로 제거하는 방법을 이용하면 mono-benzyl-cyclen을 높은 수율로 얻을 수 있다.¹²⁾ 우선 세 개의 formyl 기를 이용해 세 개의 아민을 방해한 후 benzyl 기를 나머지 하나의 아민에 도입하고 다시 처음 도입한 formyl 기를 약한 산성을 이용해 제거하면 mono-protected cyclen을 힘든 컬럼 크로마토그래피 분리 과정 없이 손 쉽게 합성할 수 있다(Fig. 6).

2. 두 개의 치환기를 가진 tetraazacycloalkanes

일반적으로 두 개의 치환기만을 가진 tetraazamacrocyclic의 합성은 하나나 세 개의 치환기를 가진 것보다 합성하기가 용이치 않다. Cyclen과 같이 높은 대칭성을 가지는 화합물은 두 개의 치환기를 도입할 경우 [1,4]와 [1,7]의 두 개의 구조 이성질체만 있을 수 있지만 cyclam 화합물의 경우는 [1,4], [1,8], 그리고 [1,11] 세 개의 경우가 있을 수 있어 원하는 화합물에 따라 서로 다른 합성 경로를 이용해야 한다.

1) 직접 치환

쉽게 예상할 수 있듯이 cyclen과 cyclam을 electrophile과 반응시켜 두 개의 치환기만을 가진 원하는 화합물을 합성하기는 매우 힘들다. 앞의 1.1에서 살펴 보았듯이 직접 치환의 경우 원하는 2개의 치환기만을 가진 화합물 외에 하나나, 셋 그리고 네 개의 아민이 모두 치환된 부수물(side product)이 생산될 수 있기 때문이다. 두 개의 치환기만 도입된 경우도 앞에서 살펴 보았듯이 cyclen의 경우 2개, cyclam의 경우 3개의 구조적 이성질체가 존재하기 때문에 반드시 분리 과정을 거쳐야만 한다. 따라서 여러 시도가 있었지만 직접적 치환 방법에 의한 di-substituted macrocycle 합성의 경우 순수한 화합물의 분리 후 수율은 통상 40%를 넘지 못하는 걸로 보고 되고 있다.³⁾ 하지만 몇몇 경우에 한해서는 만족할 만한 수준의 수율로 di-substituted macrocycle을 합성한 예들이 보고되고 있다.

가장 대표적인 예는 cyclen의 네 개 아민의 서로 다른 pK_a 값을 이용해 선택적으로 [1,7] 형태의 트랜스(trans) di-substituted cyclen을 만드는 방법이다.²⁵⁾ Cyclen의 아민 중

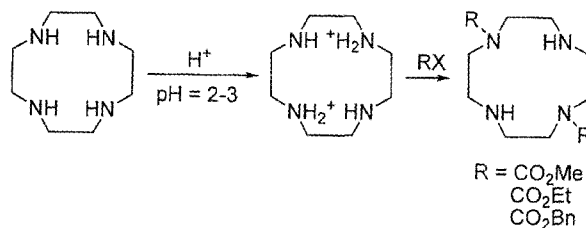


Fig. 7. Direct *trans*-disubstitution of cyclen.

서로 반대 방향에 놓여 있는 두 개의 아민은 다른 두 개의 아민 보다 매우 높은 pK_a 값을 가지고 있어 상당한 pH 영역에서 두 개의 아민만 protonation 되어 있다. 따라서 pH를 2-3 사이로 유지하면 트랜스 위치에 놓인 두 개의 아민만 protonation되어 electrophile과 cyclen의 반응 시 반응성을 잃게 되고 나머지 두 개의 아민에만 원하는 치환체를 도입할 수 있게 된다(Fig. 7). 이 방법을 이용하면 다양한 1,7-disubstituted cyclen 화합물을 얻을 수 있는데 대표적인 cyclen 화합물로는 *trans*-diacetate cyclen (DO2A)를 들 수 있다. 또한 pH를 조절하면서 두 개의 방해기를 cyclen의 1,7-위치에 도입할 수 있는데 ethylchloroformate를 이용하면 98%의 높은 수율로 1,7-diprotected cyclen을 얻을 수 있다. 이와 같이 얻은 1,7-diprotected cyclen 화합물은 다른 *trans*-disubstituted cyclen 화합물을 얻는데 이용할 수 있다. 하지만 pK_a를 이용해 선택적으로 서로 반대 방향에 두 개의 치환기를 넣는 방법은 cyclam에는 적용할 수 없어 다른 방법을 사용해야만 한다.

2) N-치환된 전구체의 고리화

앞의 1.2에서도 언급했듯이 이 방법은 미리 원하는 N-위치에 치환기를 도입한 후 고리화를 해서 원하는 disubstituted macrocycle을 만드는 방법이다. 하지만 일반적으로 합성 스텝 수가 늘어나는 단점을 가지고 있다. 고리화를 시키는 방법에는 tetraazacycloalkane을 합성하는데 널리 이용되고 있는 Richman and Atkins 형태의 반응과 금속 이온을 이용한 템플레이트 반응(template reaction)이 있다.

1,7-Disubstituted cyclen 화합물의 경우 Richman and Atkins 형태의 반응을 이용해 원하는 화합물을 합성할 수 있으나 2.1에서 언급한 pK_a를 이용하는 방법을 이용하면 훨씬 쉽게 원하는 화합물을 얻을 수 있기 때문에 더 이상 많이 사용되지는 않고 있다. 니켈 이온을 이용한 템플레이트 반응을 이용하면 *cis*-형태로 disubstituted cyclam 화합물을 얻을 수 있다(Fig. 8). 인접한 두 개의 아민에 원하는 치환기를 도입한 후 니켈을 템플레이트로 하여 glyoxal과 반응시키면

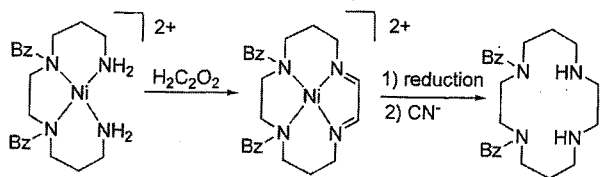


Fig. 8. Cyclization of N-disubstituted cyclam precursor.

1,4-disubstituted cyclam 화합물을 얻을 수 있다.¹⁸⁾ 고리화 반응 후 니켈은 cyanide를 이용하면 제거할 수 있다. 1,11-Disubstituted cyclam 화합물도 위와 비슷한 방법에 의해 합성할 수 있으나 합성 스텝 수가 매우 길고 전체 수율도 낮은 편이라 잘 이용되지 않고 있다.

3) Protected macrocycle를 이용한 N-disubstitution

1)에서 기술한 pKa를 이용한 직접 치환 방법을 이용하면 다양한 방해기를 cyclen의 트랜스 위치에 놓인 두 개의 아민에 도입할 수 있다. Tosyl 기나 4-methoxybenzenesulfonyl 기가 이용되기도 하였지만 이들 방해기는 치환기 도입 후 제거하는 반응이 용이치 않아 요즘은 benzyl이나 tert-butyl carbamate 등 쉽게 제거할 수 있는 방해기를 주로 사용하고 있다. 이처럼 트랜스 위치의 두 개의 아민을 방해하면 phosphonic 이나 carboxylic acid 등 다양한 치환기를 1,7-위치에 선택적으로 도입할 수 있다. Springborg 등은 tosyl 이나 Me 기가 선택적으로 트랜스 위치에 놓인 전구체를 이용해 1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.3]pentadecane 등 bicyclic cyclen 화합물을 성공적으로 합성하였다(Fig. 9).²⁶⁾ Trimethylene bridge를 가진 bicyclic cyclen 화합물은 여러 금속 이온과 매우 안정한 착물을 형성함이 보고 되었다.

Cyclam의 경우 선택적으로 트랜스 위치의 두 개의 아민만 방해하기는 cyclen 보다 훨씬 힘들다. 한 예로 trans-ditosylcyclam의 경우 합성 수율은 30% 밖에 되지 않는다. Tosyl 기 대신에 Boc 그룹을 방해기로 이용하면 1,8-disubstituted cyclam 합성 후 보다 쉽게 방해기를 제거할 수 있다. 1,8-Disubstituted cyclam을 높은 수율로 얻는 일반적인 방법으로는 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-5,12-dione (trans dioxocyclam)을 이용하는 방법이다.^{27,28)} 이 트랜스 autodiprotected cyclam은 수율은 좋지 않지만 대량으로 합성할 수 있는 synthon이다. Biselectrophile과 trans dioxocyclam을 Na₂CO₃ 존재 하에서 반응시키면 트랜스 위치의 두 아민만 반응에 참여해 macrobicyclic을 만들 수 있다(Fig. 10). 고리화 반응 후 두 개의 아마이드 기는 BH₃/THF로 환원시킬 수 있다.

체계적으로 1,8-disubstituted cyclam를 합성하는 다른 방

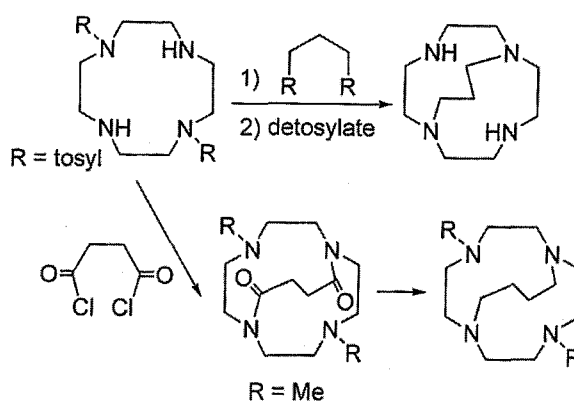


Fig. 9. Synthesis of bicyclic tetraamine with a trimethylene and a tetramethylene bridge.

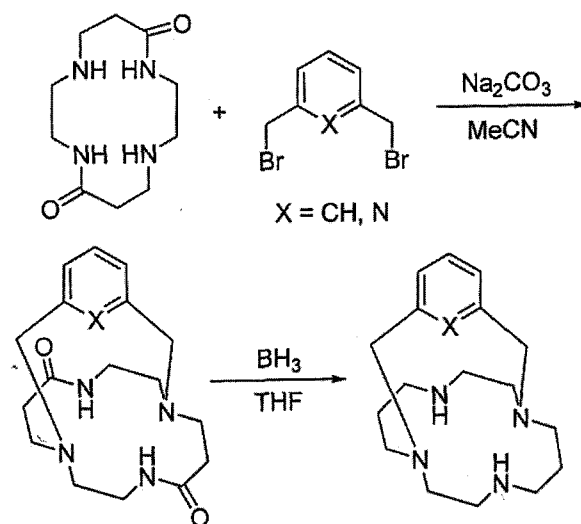


Fig. 10. Synthesis of cyclam-based macrobicyclic.

법은 amination moiety를 이용하는 방법이다. Cyclam과 formaldehyde를 반응시키거나 cyclam을 dichloromethane 하에서 30% NaOH 용액과 반응시키면 쉽게 bisaminal cyclam을 얻을 수 있다.²⁹⁾ 이 화합물을 원하는 electrophile과 반응시키면 트랜스 위치의 아민만 치환기랑 반응해 quaternary 아민으로 바뀌고 이 중간체를 염기성 가수분해를 하면 원하는 trans-disubstituted cyclam 화합물을 손쉽게 얻을 수 있다 (Fig. 11).³⁰⁾

Bisaminal cyclam의 또 다른 예로는 cross-bridged cyclam을 들 수 있다. Cyclam을 수용성 glyoxal과 반응시키면 tetracyclic bisaminal을 75%의 수율로 합성할 수 있는데 이것을 benzyl bromide와 같은 electrophile과 반응시키면 아

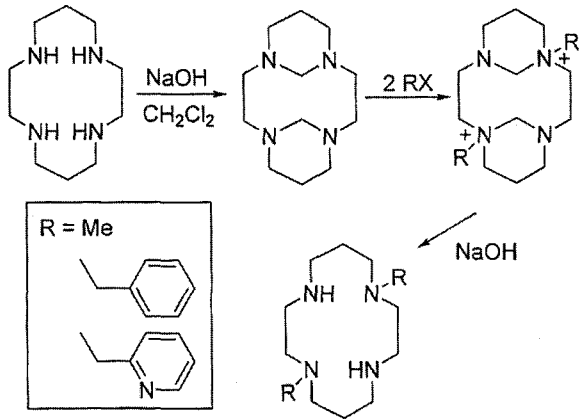


Fig. 11. Preparation of 1,8-disubstituted cyclam compounds

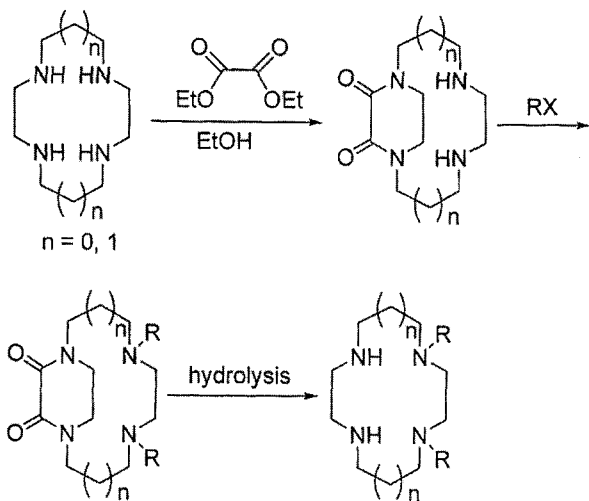


Fig. 13. *cis*-Diprotected cyclens and cyclams.

주 위치 선택적으로 트랜스 quaternization이 이루어 지고 bisammonium salt를 reductive cleavage 시키면 ethylene cross-bridged dibenzylcyclam을 합성할 수 있다.³¹⁾ 두 개의 benzyl 기는 쉽게 제거할 수 있는데 그러면 cyclam의 트랜스 위치에 놓인 두 개의 아민이 ethylene에 의해 연결된 새로운 형태의 cross-bridged cyclam 유도체를 합성할 수 있다 (Fig. 12). 이 cross-bridged cyclam 유도체의 트랜스 위치에 비어 있는 두개의 이차 아민에는 아세테이트 기와 같은 새로운 치환기를 도입할 수 있다. Cyclen도 위와 동일한 반응에 의해서 cross-bridged cyclen 화합물을 합성할 수 있다.

체계적인 protection/substitution/deprotection 방법에 의해 tetraazamacrocycle의 시스(*cis*) 형태에 두 치환기를 도입하는 방법이 Handel에 의해 보고 되었다.³²⁾ Diethyl oxalate를 cyclen이나 cyclam과 반응시키면 선택적으로 1,4-위치의

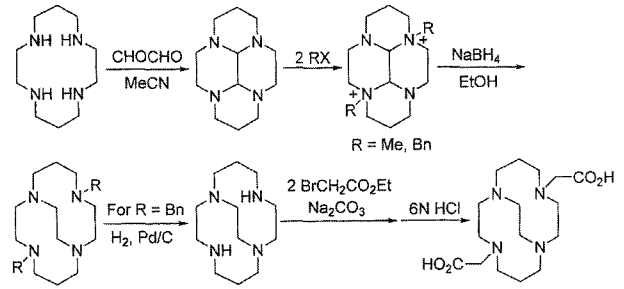


Fig. 12. Synthesis of cross-bridged cyclam derivatives.

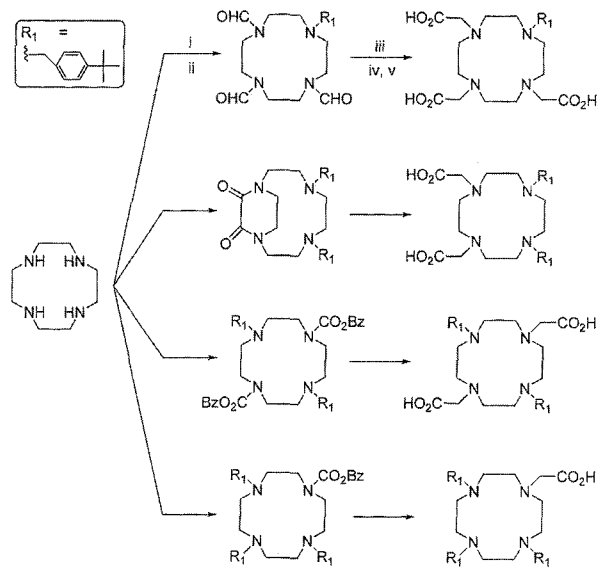


Fig. 14. Synthesis of all possible cyclen isomers with two different alkyl groups: i, protection; ii, 1st alkylation ((4-(*t*-butyl)benzyl) bromide, iPr_2NEt , MeCN); iii, deprotection; iv, 2nd alkylation ($BrCH_2CO_2tBu$, iPr_2NEt , MeCN); v, deprotection

두 아민과 반응해 각각 cyclen과 cyclam oxamide를 형성하게 된다. 이 중간체는 다른 electrophile과 반응시켜 나머지 두 아민에 원하는 치환체를 도입하고 oxamide는 가수분해에 의해 제거하면 위치 선택적으로 시스 위치에 두개의 치환기를 도입하게 된다(Fig. 13).

맺음말

앞에서 tetraazamacrocycle에 위치 선택적으로 치환기를 도입하는 다양한 시도 및 각 전략의 장단점을 살펴 보았다. 하나의 전략이나 방법이 모든 경우에 두루 쓰일 수 없을뿐더러 cyclen과 cyclam에 따라 합성 과정이 판이하게 다른 경우도 많이 있다. 하지만 새로운 합성 방법들이 끊임없이 도입되면서 예전에는 아주 힘들게 합성해야만 했던 화합물들도

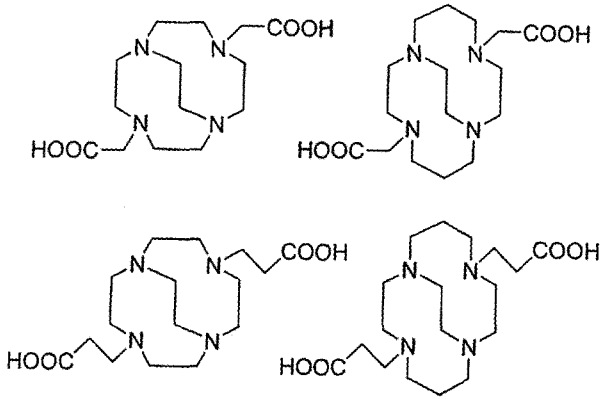


Fig. 15. Cross-bridged tetraazacycloalkane derivatives chloroformate, H₂O; iii, 1M HCl, 50°C.

새로운 합성 경로에 의해 손쉽게 만들 수 있게 되었다. 특히 선택적으로 특정 아민을 방해하는 방법들이 새롭게 개발되어지면서 예전에는 긴 합성 스텝과 지루한 컬럼 크로마토그래피를 통해야만 했던 분리 과정 없이 원하는 위치에 선택적으로 치환기를 도입할 수 있게 되었다. 최근에 보고된 바에 의하면 protection/functionalization/deprotection이라는 동일한 합성 전략을 이용해 두 종류의 치환체를 가지고 합성할 수 있는 모든 경우의 cyclen 화합물을 합성할 수 있음이 증명되었다(Fig. 14).¹²⁾ 이와 같은 연구는 우리가 현재 tetraazamacrocyclic을 포함한 금속 착물의 물리적 성질을 fine-tuning 할 수 있음을 보여 주고 있다. 실제로 합성된 cyclen 화합물들을 Cu-64로 표지하여 체내 분포 (biodistribution)을 보면 cyclen 화합물의 작은 구조 변화도 금속 착물의 체내 움직임에 커다란 영향이 있음이 밝혀졌다.¹¹⁾

Tetraazamacrocyclic의 위치 선택적 치환기 도입은 금속 이온과의 반응성 및 금속과 결합한 착물의 안정성을 높이는 데 반드시 필요할 뿐만 아니라 새로운 macrocyclic의 합성을 위한 synthon의 합성에도 매우 중요한 부분이다. 2.3에서도 언급했듯이 bisaminal moiety를 이용하면 cross-bridge 형태를 가지는 새로운 형태의 cyclen과 cyclam 유도체를 합성할 수 있게 된다. 특히 cross-bridged cyclam에 두 개의 acetate기를 도입하면 Cu-64와의 결합한 금속 착물의 안정성이 cross-bridge가 없는 *trans*-diacetate-cyclam (TE2A)은 물론이고 현재까지 가장 높은 안전성을 보여준 TETA 보다도 현저히 증가됨이 보고 되었다(Fig. 15).³³⁾ 따라서 이와 같이 방사성동위원소와 높은 결합력을 보이는 리간드를 이용해 펩타이드나 항체 등 생체 내 물질을 표지할 경우 기존 BFC를 이용해 표지한 경우보다 훨씬 background activity가 낮은 좋은 PET 영상을 기대할 수 있다.

또한 위치 선택적 치환은 새로운 BFC의 개발에도 반드시 필요한 부분이다. 현재 DOTA나 DO3A가 펩타이드나 항체를 금속 방사성동위원소로 표지할 경우 많이 쓰이는 BFC이다. 하지만 DOTA나 DO3A 모두 동일한 환경에 놓여 있는 4개 또는 3개의 아세테이트기를 가지고 있어 하나의 아세테이트기만을 biomolecule에 컨쥬게이션(conjugation) 시키는 것이 어려운 상황이다. 따라서 하나의 아세테이트기만을 반응성이 높은 기능기로 바꾸어 주거나 아니면 반대로 반응에 참여할 하나의 아세테이트기만을 남겨놓고 나머지 아세테이트기들은 방해기를 반응시켜 반응성을 없애 주어야 하는데 이와 같은 작업은 위치선택적 치환반응에 의해서만 이룰 수 있다.³⁴⁾

현재 biomolecule을 ⁶⁴Cu, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁸⁶Y 등 여러 금속성 방사성동위원소로 표지하려는 시도가 전세계적으로 많이 보고되고 있다. 하지만 앞에서 살펴 보았듯이 cyclen이나 cyclam의 아민에 선택적으로 원하는 치환기를 도입하여만 합성할 수 있는 BFC는 매우 까다로운 유기합성을 필요로 하여 유기 합성에 전문적인 지식이 없는 연구자는 다른 그룹과 공동 연구를 수행하거나 상업적으로 이와 같은 tetraazacycloalkanes 화합물을 공급하는 시약상을 찾아야만 한다. 다행히 몇몇 회사에서 이와 같은 BFC를 공급하고 있다. 가장 대표적인 회사로는 Macrocylics로 다양한 tetraazacycloalkanes 중간체 및 BFC를 공급하고 있다. 한 예로 DOTA의 네 개의 아세테이트기 중 하나만 activation이 된 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid mono (*N*-hydroxysuccinimide ester)의 경우 biomolecules과 바로 컨쥬게이션을 시킬 수 있어 DOTA를 바로 사용하는 경우 보다 훨씬 실험을 용이하게 할 수 있다. 하지만 가격은 2005년 7월 현재 1g 당 \$1,125로 상당히 비싼 편이다. (<http://www.macrocylics.com>) Cyclen이나 cyclam으로부터 원하는 BFC를 직접 합성하려고 하는 경우 cyclen이나 cyclam을 직접 합성할 수도 있으나 cyclization 과정이 까다롭고 수율도 좋지 않으므로 보통 cyclen이나 cyclam으로부터 합성을 시작한다. 하지만 cyclen과 cyclam도 상당히 비싼 시약이다. 현재 가장 믿을 수 있고 가격이 저렴한 시약 회사로는 Strem Chemicals (Newburyport, USA)가 있다.

References

- Schwarzenbach G. The chelate effect. *Helvetica Chim Acta* 1952;35:2344-59.
- Cabiness DK, Margerum DW. Macrocyclic effect on the stability of copper(II) tetramine complexes. *J Am Chem Soc* 1969;91: 6540-41.

3. Denat F, Brandes S, Guillard R. Strategies for the regioselective N-functionalization of tetraazacycloalkanes. From cyclam and cyclen towards more sophisticated molecules. *Synlett* 2000;561-74.
4. Ingham A, Rodopoulos M, Coulter K, Rodopoulos T, Subramanian S, McAuley A. Synthesis, characterization and reactivity of some macrobicyclic and macrotricyclic hetero-clathrochelate complexes. *Coord Chem Rev* 2002;233-234:255-71.
5. Liang X, Sadler PJ. Cyclam complexes and their applications in medicine. *Chem Soc Rev* 2004;33:246-66.
6. Aoki S, Kawatani H, Goto T, Kimura E, Shiro M. A Double-Functionalized Cyclen with Carbamoyl and Dansyl Groups (Cyclen = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane): A Selective Fluorescent Probe for Y³⁺ and La³⁺. *J Am Chem Soc* 2001;123:1123-32.
7. Chappell LL, Voss DA, Jr., Horrocks WD, Jr., Morrow JR. Effect of Mixed Pendent Groups on the Solution and Catalytic Properties of Europium(III) Macrocyclic Complexes: Bifunctional and Monofunctional Amide and Alcohol Pendants in Septadentate or Octadentate Ligands. *Inor Chem* 1998;37:3989-98.
8. Anderson CJ, Welch MJ. Radiometal-Labeled Agents (Non-Technetium) for Diagnostic Imaging. *Chem Rev* 1999;99:2219-34.
9. Anderson CJ, Lewis JS. Radiopharmaceuticals for targeted radiotherapy of cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 2000;10:1057-69.
10. Bianchi A, Calabi L, Giorgi C, Losi P, Mariani P, Palano D et al. Thermodynamic and structural aspects of manganese(II) complexes with polyaminopolycarboxylic ligands based upon 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen). Crystal structure of dimeric [MnL]₂·2CH₃OH containing the new ligand 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4-diacetate. *J Chem Soc, Dalton Trans* 2001: 917-22.
11. Yoo J, Reichert DE, Welch MJ. Comparative in Vivo Behavior Studies of Cyclen-Based Copper-64 Complexes: Regioselective Synthesis, X-ray Structure, Radiochemistry, log P, and Biodistribution. *J Med Chem* 2004;47:6625-37.
12. Yoo J, Reichert DE, Welch MJ. Regioselective N-substitution of cyclen with two different alkyl groups: synthesis of all possible isomers. *Chem Commun* 2003:766-7.
13. Meunier I, Mishra AK, Hanquet B, Cocolios P, Guillard R. Synthesis and characterization of various unsubstituted and mono-N-substituted tetraazamacrocycles. *Canad J Chem* 1995;73:685-95.
14. Li C, Wong W-T. A convenient method for the preparation of mono N-alkylated cyclams and cyclens in high yields. *Tetrahedron Lett* 2002;43:3217-20.
15. Helps IM, Parker D, Chapman J, Ferguson G. Selective N,N-functionalization of cyclam: crystal structure of the Cu²⁺ complex of 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,8-diacetic acid and the tricyclic lactam 15,18-dioxo-1,5,8,12-tetraazatricyclo[10.2.2.2.5,8] tetradecane. *J Chem Soc Chem Commun* 1988:1094-5.
16. Brandes S, Gros C, Denat F, Pullumbi P, Guillard R. New facile and convenient synthesis of bispolyazamacrocycles using Boc protection. Determination of geometric parameters of dinuclear copper(II) complexes using ESR spectroscopy and molecular mechanics calculations. *Bulletin de la Societe Chimique de France* 1996;133:65-73.
17. Li C, Wong W-T. A selective one-step synthesis of tris N-alkylated cyclens. *Tetrahedron* 2004;60:5595-601.
18. Guillard R, Meunier I, Jean C, Boisselier-Cocolios B. Preparation of 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecanes and related macrocycles. Eur. Pat. Appl. Ep: (Air Liquide SA pour l'Etude et l'Exploitation des Procédes Georges Claude, Fr.). 1991:22 pp.
19. Theodoridis G. Nitrogen protecting groups: recent developments and new applications. *Tetrahedron* 2000;56:2339-58.
20. Parker D, Senanayake PK, Williams JAG. Luminescent sensors for pH, pO₂, halide and hydroxide ions using phenanthridine as a photosensitizer in macrocyclic europium and terbium complexes. *J Chem Soc Perkin Trans 2: Phys Org Chem* 1998:2129-39.
21. Atkins TJ. Tricyclic trisaminomethanes. *J Am Chem Soc* 1980;102: 6364-65.
22. Dischino DD, Delaney EJ, Emswiler JE, Gaughan GT, Prasad JS, Srivastava SK et al. Synthesis of nonionic gadolinium chelates useful as contrast agents for magnetic resonance imaging: 1,4,7-tris (carboxymethyl)-10-substituted-1,4,7,10-tetraazacyclododecanes and their corresponding gadolinium chelates. *Inorg. Chem.* 1991;30: 1265-9.
23. Boldrini V, Giovenzana GB, Pagliarin R, Palmisano G, Sisti M. Expedient N-monoalkylation of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) via formamido protection. *Tetrahedron Lett* 2000;41: 6527-30.
24. Helps IM, Parker D, Morphy JR, Chapman J. General routes for the synthesis of mono, di and tri-N-substituted derivatives of cyclam. *Tetrahedron* 1989;45:219-26.
25. Kovacs Z, Sherry AD. A general synthesis of 1,7-disubstituted 1,4,7,10-tetraazacyclododecanes. *J Chem Soc Chem Commun* 1995:185-6.
26. Springborg J, Kofod P, Olsen CE, Toftlund H, Soetofte I. Synthesis and crystal structure of a small bicyclic tetraaza proton sponge, 1,4,7,10-tetraazabicyclo[5.5.3]pentadecane dibromide perchlorate. *Acta Chem Scandinavica* 1995;49:547-54.
27. Brandes S, Denat F, Lacour S, Rabiet F, Barbette F, Pullumbi P et al. Synthesis of macropolycyclic ligands based on tetraazacycloalkanes. *Eur J Org Chem* 1998:2349-60.
28. Denat F, Lacour S, Brandes S, Guillard R. A two-step synthesis of new macrobicyclic aza-ligands starting from "trans" dioxocyclam as diprotected macrocycle. *Tetrahedron Lett* 1997;38:4417-20.
29. Alder RW, Heilbronner E, Honegger E, McEwen AB, Moss RE, Olefirowicz E et al. The out, out to out, in transition for 1,(n+2)-diazabicyclo[n.3.1]alkanes. *J Am Chem Soc* 1993;115:6580-91.
30. Bucher C, Royal G, Barbe J-M, Guillard R. First unequivocal synthesis of dissymmetrical trans N,N'-difunctionalized 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane. *Tetrahedron Lett* 1999;40:2315-18.
31. Weisman GR, Wong EH, Hill DC, Rogers ME, Reed DP, Calabrese JC. Synthesis and transition-metal complexes of new cross-bridged tetraamine ligands. *Chem Commun* 1996:947-8.
32. Bellouard F, Chuburu F, Kervarec N, Toupet L, Triki S, Le Mest Y et al. cis-Diprotected cyclams and cyclens: a new route to symmetrically or asymmetrically 1,4-disubstituted tetraazamacrocycles and to asymmetrically tetrasubstituted derivatives. *J Chem Soc Perkin Trans 1: Org Bio-Organic Chem* 1999:3499-505.
33. Boswell CA, Sun X, Niu W, Weisman GR, Wong EH, Rheingold AL et al. Comparative in Vivo Stability of Copper-64-Labeled Cross-Bridged and Conventional Tetraazamacrocyclic Complexes. *J Med Chem* 2004;47:1465-74.
34. Lewis MR, Kao JY, Anderson A-LJ, Shively JE, Raubitschek A. An improved method for conjugating monoclonal antibodies with N-Hydroxysulfosuccinimidyl DOTA. *Bioconjugate Chem* 2001;12: 320-4.