



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **40568** (13) **C2**

(51) 7 C08L83/00, C08L99/00,
C08G85/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) КОМПЛЕКСНА СІЛЬ ГЕМАТОПОРФІРИНУ І ЙОГО ПОХІДНИХ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ І/АБО ЛІКУВАННЯ НОВОУТВОРЕНЬ, СПОСІБ ЇЇ ОТРИМАННЯ І ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЯКА ЇЇ МІСТИТЬ

(21) 93002921

(22) 15.06.1993

(24) 15.08.2001

(31) P-292220

(32) 29.10.1991

(33) PL

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001р.

(72) Грачик Альфреда, PL, Конаржі Єжи, PL

(73) ВОЙСКОВА АКАДЕМІЯ ТЕХНІЧНА ІМ. ЯРО-
СЛАВАДАБРОВСКОГО, PL

(56) RU 2019990, C1, 30.09.94.

US 4866168, A, 12.09.89.

US 4861876 A, 29.08.89.

US 4965064 A, 23.10.90.

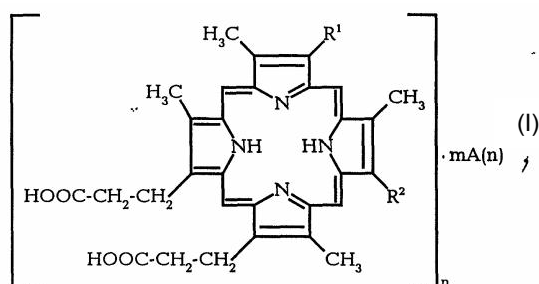
US 4968715 A, 06.11.90.

US 4977177 A, 11.12.90.

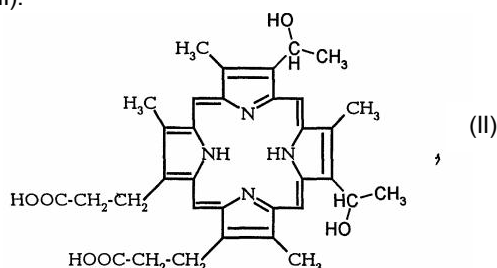
US 4992257 A, 12.02.91.

EP 0322198 A3, 28.06.89.

(57) 1. Комплексная соль гематопорфирина и его производных формулы (1):



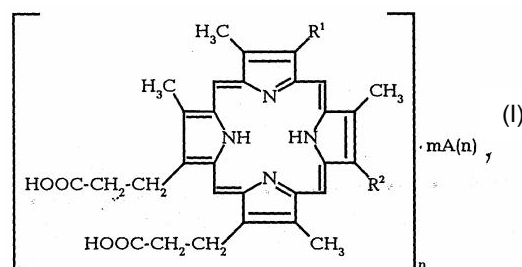
где R¹ и R² одинаковые или различные и обозначают группу -CH=CH₂, группу -CH(OH)CH₃, группу -CH(OR³)CH₃, где R³ обозначает группу, образующую олигомер, содержащий связи эфирные и/или сложнотэфирные, составленную из 1 до 5 одинаковых или разных единиц, происходящих от мономера формулы (II):



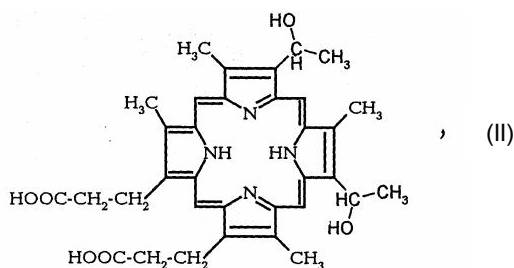
или R¹ и R² одинаковые и обозначают группу -CH(R⁴)CH₃, где R⁴ обозначает карбоксиметиламинную группу, 1-карбоксиэтиламинную группу, 1-карбокси-2-метил-пропиламинную группу, 1-карбокси-2-метил-бутиламинную группу, 1-карбокси-3-метил-бутиламинную группу, 1-карбокси-бутиламинную группу, 1-карбокси-пентиламинную группу, 1-карбокси-2-гидрокси-этиламинную группу, 1-карбокси-2-гидрокси-пропиламинную группу, 1-карбокси-2-меркапто-этиламинную группу, 1-карбокси-3-метилтио-пропиламинную группу, 1,2-дикарбокси-этиламинную группу, 1-карбокси-2-карбамоил-этиламинную группу, 1,3-дикарбокси-пропиламинную группу, 1-карбокси-3-карбамоил-пропиламинную группу, 1-карбокси-2-фенил-этиламинную группу, 1-карбокси-2-(4-гидрокси-фенил)-этиламинную группу, 1-карбокси-2-индолил-этиламинную группу, 2-карбокси-пирролидиновую группу, 2-карбокси-4-гидрокси-пирролидиновую группу, 1-карбокси-5-аминопентиламинную группу, 1-карбокси-4-гуанидилобутиламинную группу, 1-карбокси-4-гидрокси-5-аминопентиламинную группу или 1-карбокси-2-(1H-имидазол)-этиламинную группу; A обозначает основную аминокислоту; m равняется 2-4; n равняется 1-5,

для обнаружения и/или лечения новообразований.
2. Соль по п.1, **отличающаяся** тем, что A обозначает аргинин, лизин, гистидин или гидроксизин.
3. Соль по п.1, **отличающаяся** тем, что R¹ или R² одинаковые и обозначают группу -CH(R⁴)CH₃.
4. Соль по любому из пп. 1-3, **отличающаяся** тем, что в ней m = 2, n = 1.

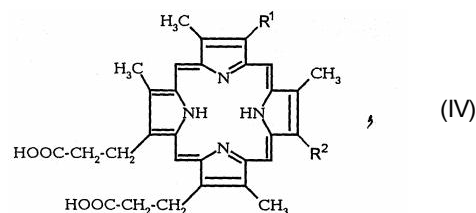
5. Способ получения новых комплексных солей гематопорфирина и его производных формулы (I):



где R^1 и R^2 одинаковые или различные и обозначают группу $-\text{CH}=\text{CH}_2$, группу $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, группу $-\text{CH}(\text{OR}^3)\text{CH}_3$, где R^3 обозначает группу, образующую олигомер, содержащий связи эфирные и/или сложноэфирные, составленную из 1 до 5 одинаковых или разных единиц, происходящих от мономера формулы (II):



или R^1 и R^2 одинаковые и обозначают группу $-\text{CH}(\text{R}^4)\text{CH}_3$, где R^4 обозначает карбоксиметиламиную группу, 1-карбоксиэтиламиную группу, 1-карбокси-2-метил-пропиламиную группу, 1-карбокси-2-метил-бутиламиную группу, 1-карбокси-3-метил-бутиламиную группу, 1-карбокси-бутиламиную группу, 1-карбокси-пятиламиную группу, 1-карбокси-2-гидрокси-этиламиную группу, 1-карбокси-2-гидрокси-пропиламиную группу, 1-карбокси-2-меркапто-этиламиную группу, 1-карбокси-3-метилтио-пропиламиную группу, 1,2-дикарбокси-этиламиную группу, 1-карбокси-2-карбамоил-этиламиную группу, 1,3-дикарбокси-пропиламиную группу, 1-карбокси-3-карбамоил-пропиламиную группу, 1-карбокси-2-фенил-этиламиную группу, 1-карбокси-2-(4-гидрокси-фенил)-этиламиную группу, 1-карбокси-2-индолил-этиламиную группу, 2-карбокси-пирролидиновую группу, 2-карбокси-4-гидрокси-пирролидиновую группу, 1-карбокси-5-амино-пятиламиную группу, 1-карбокси-4-гуанидилбутиламиную группу, 1-карбокси-4-гидрокси-5-амино-пятиламиную группу или 1-карбокси-2-(1H-имидазол)-этиламиную группу; A обозначает основную аминокислоту; m равняется 2-4; n равняется 1-5, **отличающийся** тем, что производное гематопорфирина с общей формулой (IV)



в которой R^1 и R^2 имеют указанные выше значения, с тем, что если R^1 и R^2 обозначают группу $-\text{CH}(\text{R}^4)\text{CH}_3$, то карбоксильные группы заместителя R^4 могут быть свободными или защищенными, подвергают реакции с основной аминокислотой со свободными или защищенными карбоксильными группами или с ее монохлоргидридом, или устраняют группы, обеспечивающие карбоксильные функции и выделяют продукт, являющийся солью формулы (I).

6. Способ по п. 5, **отличающийся** тем, что реакцию проводят в органическом растворителе, в смеси органических растворителей или в среде, содержащей органический растворитель и воду, или содержащей смесь органических растворителей и воду.

7. Способ по п. 5, **отличающийся** тем, что в качестве аминокислоты применяют аргинин, лизин, гистидин или гидроксизин.

8. Способ по п.5, **отличающийся** тем, что соль выделяют, добавляя в реакционную смесь низкополярный растворитель или смесь этих растворителей, образующих гомогенный раствор с растворителем, применяемым в реакции.

9. Фармацевтическая композиция для диагностики и/или лечения новообразований, включающая действующее средство на основе гематопорфирина и носитель, **отличающаяся** тем, что в качестве действующего средства она содержит эффективное количество соединения формулы (I), где R^1 , R^2 , A , m , n имеют значение, указанное в п.1.

10. Фармацевтическая композиция по п. 9, **отличающаяся** тем, что в качестве действующего средства она включает смесь по крайней мере двух солей формулы (I) в эффективном количестве.

11. Фармацевтическая композиция по п. 10, **отличающаяся** тем, что в качестве действующего средства она содержит смесь, включающую основные аминокислотные соли эфиров гематопорфирина, протопорфирина, винилдигетеропорфирина и дигематопорфирина.

Предмет изобретения — это комплексные соли гематопорфирина и его производных, способ их производства и фармацевтическое средство. Новые соли гематопорфирина и его производных предназначены для обнаружения и лечения новообразований.

Уже более десяти лет как гематопорфирин и его производные (HrD) применяют как фотосенсибилизаторы для обнаружения и уничтожения новообразований в организмах людей и животных. Соединения эти подаются во внутривенной инъекции и они переносятся активным транспортом к разным органам тела. В здоровой ткани находятся они относительно короткий период, так как они метаболизируются и выделяются, зато в ткани но-

вообразования они аккумулируются и на почти неизменном уровне остаются на протяжении нескольких суток. Это было использовано в фотодинамическом методе диагноза и селективного уничтожения ткани новообразования. Так как все производные гематопорфирина трудно растворимые в воде, способ приготовления их водных растворов был до сих пор весьма тяжелый.

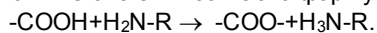
В Cancer Research том 44, стр. 1924, 1984 г. (см. то же, том 45, стр. 635, 1985 г.) описан метод получения гематопорфириновых препаратов для инъекций. Он состоит в том, что производные гематопорфирина растворяют в растворе NaOH, смешивают один час и после того нейтрализуют до pH около 7,1 и титрованием 0,1 NHCl. Метод

этот весьма неудобный, так как в случае небольшого перехода pH ниже 7 имеет место выпадение осадка. Конечный раствор приготавливают, добавляя соответственное количество физиологической соли. Раствор стерилизуют и хранят в закрытых ампулах. Такие препараты в виде водных растворов неустойчивы ввиду большой тенденции всех производных гематопорфирина к агрегации. Как подано в вышеупомянутой публикации, изготовленные растворы сохраняют свою стабильность в течение около 3-х месяцев при условии, что их хранят в темном и холодном месте (при температуре -20°C).

Предметом изобретения являются новые, растворимые в воде комплексные соли гематопорфирина и его производных, которые в зависимости от концентрации дают pH от 7,2 до 7,8, что дает возможность быстро изготовить раствор хорошо растворимый в воде или в физиологической соли и получить лучшую биодоступность лечебного средства. Неожиданно оказалось, что новые комплексные соли проявляют большую терапевтическую активность, чем, например, известные натриевые соли гематопорфирина и его производных (HrD Na_2). Кроме того, новые соли задерживают без облучения развитие клеток новообразований, что было подтверждено в исследованиях на клеточных линиях. Согласно изобретению соли гематопорфирина и его производных имеют общую формулу 1 (фиг. 1), в которой R^1 и R^2 такие же самые или разные и обозначают группу $-\text{CH}=\text{CH}_2$, группу $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, группу $-\text{CH}(\text{OR}^3)\text{CH}_3$, где R^3 обозначает группу создающую олигомер, содержащий связь эфирную и/или сложноэфирную, составленную из 1 до 5 одинаковых или разных единиц, происходящих от мономера по формуле II (фиг.2), или R^1 и R^2 одинаковые и обозначают группу $-\text{CH}(\text{R}^4)-\text{CH}_3$, где R^4 обозначает группу карбоксиметиламиновою, 1-карбоксиэтиламиновою, 1-карбокси-2-метилпропиламиновою, 1-карбокси-3-метилбутиламиновою, 1-карбокси-2-метилбутиламиновою, 1-карбоксибутиламиновою, 1-карбоксипентиламиновою, 1-карбокси-2-гидроксиэтиламиновою, 1-карбокси-2-гидроксипропиламиновою, 1-карбокси-2-меркаптоэтиламиновою, 1-карбокси-3-метилтиопропиламиновою, 1,2-дикарбоксиэтиламиновою, 1-карбокси-2-карбамоилэтиламиновою, 1,3-дикарбоксипропиламиновою, 1-карбокси-3-карбамоилпропиламиновою, 1-карбокси-2-фенил-этиламиновою, 1-карбокси-2-(4-гидроксифенил)-этиламиновою, 1-карбокси-2-индолилэтиламиновою, 2-карбоксипирролидиновою, 2-карбокси-4-гидрокси-пирролидиновою, 1-карбокси-5-амино-пентиламиновою, 1-карбокси-4-гуанидил-бутиламиновою, 1-карбокси-4-гидрокси-5-амино-пентиламиновою или группу 1-карбокси-2-(1H-имидазол)-этиламиновою, A обозначает основную аминокислоту, m равняется 2-6, n равняется 1-5. В объеме изобретения находятся тоже смеси солей по формуле 1 и комплексы этих солей. Выгодные аминокислоты символа A – это аминокислоты, у которых изoeлектрическая точка есть более чем 7, главным образом аргинин, лизин, гистидин или гидроксизин. Выгодные соли это соли формулы 1, в которой R^1 и R^2 одинаковые и обозначают группу $-\text{CH}(\text{R}^4)-\text{CH}_3$. Примерами солей с формулой 1 являются тоже соли эфира по формуле III (фиг.3) и соли по формуле V (фиг.5).

Выгодной смесью является смесь, в которой содержатся аминокислотные соли гематопорфирина, протопорфирина, винилдейтерийпорфирина и дигематопорфиринового эфира и, возможно, их агрегаты.

Способ изготовления новых комплексных солей гематопорфирина и его производных общей формулы I или смесей солей общей формулы I, в которой символы имеют вышеуказанное значение, основан согласно изобретению на том, что гематопорфириновую производную общей формулы IV (фиг.4) или смесь не менее чем двух производных общей формулы IV, в которой R^1 и R^2 имеют вышеподанное значение, с тем, что если R^1 и R^2 обозначают группу $-\text{CH}(\text{R}^4)-\text{CH}_3$, то карбоксильные группы заместителя R^4 могут быть свободными или защищенными, подвергают реакции с основной аминокислотой со свободными или защищенными карбоксильными группами или с его монохлористоводородной солью, выгодно в органическом растворителе, в смеси органических растворителей или в среде, содержащей органический растворитель и воду или смесь органических растворителей и воду, либо устраняют группы, защищающие карбоксильные функции изолируют продукт представляющий соль формулы I или смесь солей формулы I, либо содержащий агрегаты солей формулы I. В процессе по изобретению реакции групп аминовых аминокислот с карбоксильными группами производных гематопорфирина образуют ионные системы согласно формуле



В качестве основной аминокислоты применяется аминокислота с изoeлектрической точкой >7 , особенно аргинин, лизин, гистидин или гидроксизин.

Для защиты карбоксильных групп в исходных соединениях можно применять разные известные блокирующие группы, например, описанные в Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Green, John Wiley and Sons, 1981. Примерами этих групп являются группы, образующие сложные эфиры алкильные, бензиловые, силиловые и другие группы, применяемые для обеспечения карбоксильных функций. Реакция может происходить в широком диапазоне температур, выгодно в пределах от комнатной температуры до 100°C , особенно при температуре $50-70^{\circ}\text{C}$. Время реакции обыкновенно от нескольких минут до более десяти часов.

Выгодные органические растворители – это амиды, такие как формамид, диметилформамид, диэтилформамид, нитриды, такие как ацетонитрил, пропионитрил, изобутиронитрил, сложные эфиры, например, ацетат этила, кетоны как например, ацетон, сульфоксиды, например, диметилсульфоксид, алкоholes и угольнодиэтиловый эфир или их смеси. Обычно реакция проводится в водноорганической среде.

Блокирующие группы, если они присутствуют, устраняются известными способами, например, гидролизом или гидрогенолизом.

Соль или соответственную смесь солей с формулой 1 можно выделить из реакционной смеси разными методами, например, осаждением, кристаллизацией и другими известными методами.

Особенно выгодный метод основан на том, что до реакционной смеси добавляется растворитель или смесь низкополярных растворителей, таких, однако, которые с растворителем, применяемым для реакции, образуют гомогенный раствор с соотношением от 1:1 до 1:5. Соответственными растворителями являются, например, этиловый эфир, ацетон. Полученную смесь оставляют на несколько (до более десяти) часов для медленного осаждения продукта. Осадок после фильтрации и промывки высушивают в вакууме над сушильным средством, выгодно P_2O_5 . Он устойчив и не расплывается на воздухе. Полученные соединения надо защищать от света. Стадия выделения содержит возможное разделение смеси.

Исходные соединения с формулой IV известны. Можно их получить из гемина.

Предметом изобретения является также фармацевтическое средство для обнаружения и/или лечения новообразований, содержащее соль с общей формулой I, в которой символы имеют вышеприведенное значение или смесь не менее двух солей формулы I либо их агрегаты. Примерная смесь – это смесь, содержащая аминокислые соли гематопорфирина, протопорфирина, винилдигетеропорфирина и дигематопорфирина эфиром либо их агрегаты.

Средством по изобретению может быть соль по формуле I или смесь солей по формуле I в виде твердого тела, выгодно находящегося стерильно, в плотном контейнере.

Стерильный, плотный контейнер содержит обыкновенно соль или смесь солей в терапевтически эффективной дозе. Терапевтическая эффективная порция – это обычно 1,5–10 мг/кг веса тела. Из соли, находящейся в контейнере, можно весьма быстро изготовить стерильные водяные растворы для непосредственной внекишечной подачи.

Средство по изобретению можно также изготовлять в виде препаратов, готовых к использованию. В таком случае, активное вещество, т. е. соль или смесь солей по формуле I, смешивают с фармакологически допустимым растворителем и/или носителем. Обыкновенно средство подается путем инъекции, главным образом внутривенной, хотя можно ее тоже применять внутрибрюшинно или внутри прямой кишки. Примерный препарат – это стерильный водяной раствор. Водяной раствор, кроме соли по формуле I, содержит возможно физиологическую соль и в случае необходимости – пропиленгликоль.

Как уже упомянуто, такие растворы можно применять непосредственно после их изготовления или можно их хранить в стерильных контейнерах. Средство по изобретению можно применять без облучения, однако более эффективное действие проявляет оно как фотосенсибилизатор в фотодинамическом методе диагноза и терапии новообразований.

Новые соединения по формуле I были исследованы на клеточных линиях. Для исследований использовано 9–10 разных клеточных линий новообразований, которые были инкубированы в течение 48 ч разными солями производных протопорфирина и с новой солью применяемого препа-

рата HpD (hematoporphyrin derivatives), полученную по методу Липсона и сотрудииков.

Все использованные в испытании соединения были применены в виде водяных растворов. Их подавали в концентрации 50 мкг/мл.

Были исследованы и определены:

1) флуоресценция F клеток после 48-часовой инкубации, после этого клетки отмывали и исследовали интенсивность флуоресценции во флуоресцентном микроскопе, определяя ее в произвольной шкале от 0 до 4;

2) был определен (P%) – процент живых клеток после заранее описанного времени инкубации;

3) был определен коэффициент размножения клеток M под влиянием отдельных препаратов, определяя его следующим образом:

$M = \frac{\text{количество умноженных клеток в культуре с препаратом концентрации 50 мкг/мл после 48 ч}}{\text{количество умноженных клеток в контрольной культуре после 48 ч}}$

Результаты исследований даны в таблицах 1–3.

Из данных, представленных в таблицах 1–3, видно, что соединения с формулой I оказывают разное сродство для исследованных клеточных линий, и разным способом влияют на их переживание.

Имея выбор разных производных, можно подобрать производную, наиболее активную для данного типа новообразования, что расширяет возможности эффективной терапии.

Список примененных в таблицах 1–3 символов клеточных линий, применяемых в исследованиях антикарциноматозных препаратов, производных протопорфирина и препарата HpD:

HeP – 2 клетки рака гортани

HeLa – клетки рака шейки матки

KB – клетки рака полости рта

HBT – 39/w клетки рака соска

T-47D – клетки рака соска

P3HR1 – клетки лимфакта Буркитта

GLCH – малые клетки рака легких

Линии мышинных новообразований.

GR MT/F6 – клетки рака соска мыши штамма GR.

Mm5MT/CI – клетки рака соска мыши штамма C3H

MA – 104 – клетки рака зародыша почки обезьяны резус

В сравнении с известным препаратом HpD новые соли обладают более широким пределом проникновения внутрь разных видов раковых клеток и лучшей эффективностью их уничтожения.

Примерно при использовании новой аргининовой соли HpD(HpD Ag₂), процент живых клеток после 48 ч инкубации (P%) для линии HeLa равен 13, для линии MA – 104 равен 6; для линии HBT – 39/w равен 0, в случае же применения известного препарата, т. е. натриевой соли HpD(HpD Na₂), величины во много раз больше и равняются для линии HeLa – 28; для линии MA – 104 – 17; для линии HBT – 39/w – 10.

Новые соединения были испытаны тоже на животных. Выбрано соединение одно из самых активных в испытаниях для клеточной линии Mm5MT/CI – рак соска мыши штамма C3H – т. е.

PP(Lyz)₂ (Arg)₂ (соединение из примера XXI) и самое меньшее активное для этого типа рака, т.е. PP(Glu)₂ (Arg)₂ (соединение из примера XIX).

Исследования произведены на мышах C₃H с трансплантированным раком соска при подаче обоих соединений в дозе 10 мг/кг и в двух вариантах. Животные были облучены лазером He-Ne в порции 150 Дж/см², что обозначено буквой L около символа соединения на диаграмме (фиг.6), а в другом варианте они не были облучены.

На диаграмме показаны в виде графиков полученные результаты. Они показали, что:

1) итоги исследований на клеточных линиях нашли свое подтверждение в исследованиях на животных,

2) препарат PP(Liz)₂ (Arg)₂ оказался активным и значительно продолжил проживание испытательных животных.

3) аминокислотные производные протопорфирина действуют цитотоксично на раковые клетки, тоже не возбужденные лазерным светом, хотя слабее, чем под влиянием лазера.

Пример 1. H_pD – это смесь производных гематопорфирина, таких как гематопорфирин, протопорфирин, винилдейтеропорфирин, дигематопорфиновый эфир и их агрегаты. 1 г H_pD молекулярным весом 600 (1,67 ммоль) растворено в 30 мл диметилформамида (DMF) и добавлено 581,8 г аргинина (3,34 ммоль), растворенного в 2 мл воды. Смесь подогревали 15–20 мин при температуре 60°C на водяной бане, интенсивно смешивая. После этого добавлено 100 мл ацетона и далее смесь перемешивали около 3–5 мин. Раствор был оставлен в покое на 5–15 ч. В этом времени осаждался осадок смеси солей, обозначенной H_pD(Arg). Осадок фильтровали, промывали эфиром и сушили в вакууме. После сушки в вакууме осадок становится стойким на воздухе и надо его защищать от света ввиду содержащихся в нем порфириновых производных. Реакция проходит с выходом около 75%.

Пример 2. 1 г H_pD растворено в 20 мл формамида и добавлено 581,8 мг аргинина, растворенного в 2 мл H₂O. Раствор подогревали и смешивали как в примере 1. Затем после охлаждения добавлено 100 мл этилового эфира. Раствор был размешан и оставлен в покое на несколько часов. После фильтрации и промывки эфиром осадок сушили в вакууме.

Получено 126,8 мг осадка смеси солей H_pD(Arg)₂, что соответствует выходу 86%.

Пример 3. 1230 мг дилизилпротопорфирина PPLiz₂ (1,4 ммоль) растворено в 40 мл формамида и смешано с 490 мг 1-аргинина (2,8 ммоль), растворенного в 1,5 мл воды. Смесь подогревалась при температуре 60°C на водяной бане в течение

около 20 мин. После охлаждения добавлено 100 мл этилового эфира, смешано и оставлено на несколько часов. Осадок был фильтрован, промыт эфиром и сушен в вакууме. Получено 1630 мг осадка, что отвечает выходу 90%. Данные полученного соединения приведены в примере 21 в таблице 4.

Пример 4. 1199,6 мг (1,4 ммоль) дипутамилпротопорфирина растворено в 60 мл формамида и добавлено 409,3 мг 1-лизина, растворенного в 1,5 мл воды. Смесь подогревалась в течение 30 мин при температуре 60°C, затем добавлено 120 мл ацетон-эфирной смеси с соотношением 1:3 (30 мл ацетона, 90 мл этилового эфира), смешивалась еще 10 мин, а затем была оставлена в покое на несколько часов. Затем фильтровалась в вакууме, промывалась этиловым эфиром и сушилась в вакууме над P₂O₅. Получено 1575 мг продукта, что отвечает 97,8%-ному теоретическому выходу.

Пример 5. 1081,8 мг (1,4 ммоль) дисерилпротопорфирина растворено в 50 мл формамида и добавлено 490 мг 1-аргинина (2,8 ммоль), растворенного в 1,5 мл H₂O. Смесь подогревали при температуре 60°C в течение 30 мин, затем добавлено 120 мл ацетон-эфирной смеси с соотношением 1:3 (30 мл ацетона и 90 мл этилового эфира) и все смешивалось еще 50 мин.

Раствор оставлен для кристаллизации на несколько часов. Затем осажженный осадок был фильтрован в вакууме и сушен в вакууме над P₂O₅. Получено 1500 мг осадка, то есть 95,5%. Подобающим способом, как описано в примере 5, получены все соли, приведенные в таблице 5.

Символы соединений, перечисленных в таблицах 1–3, строки 2–11, и в таблице 5 представляют соединения формулы I, где A = аргинин, m = 2, n = 1, R₁ = R₂ = -CH(R₄)-CH₃, где R₄ см. в табл. 5.

Пример 26.

K 1037,12 мг (1,4 ммоль) ди-(N-аланин)протопорфирина, растворенного в 40 мл диметилформамида, добавляют 434,4 мг (2,8 ммоль) гистидина, растворенного в 3 мл воды. Смесь нагревают в течение 40–50 мин на водяной бане при интенсивном перемешивании. После охлаждения добавляют 100 мл смеси ацетон-эфир (1:3). Затем смесь перемешивают в течение около 10 мин и дают отстояться несколько часов. После фильтрации в вакууме и вакуумной сушки над P₂O₅ получен продукт – соль гистидина – в количестве 1353 мг, что соответствует выходу 92%.

Спектр УФ vis λ_{max} нм/208/гистидин/, 400, 514, 550, 570, 632.

Таблица 1

№№ п/п	Символ соедине- ния	Клеточная линия											
		Hela			MA-104			GLC4			P3HR ₁		
		F	P%	M	F	P%	M	F	P%	M	F	P%	M
1	HpD/Arg ₂	+	13	0,14	след	6	0,05	-	30	0,30	-	30	0,30
2	PP/Asp ₂ /Arg ₂	+++	38	0,50	+++	17	0,52	+	55	0,55	+	15	0,15
3	PP/Glu ₂ /Arg ₂	++	33	0,16	-	15	0,16	-	45	0,45	+	15	0,15
4	PP/Cys ₂ /Arg ₂	++	55	0,43	++	11	0,16	-	30	0,30	+	40	0,40
5	PP/Ala ₂ /Arg ₂	+	11	0,11	++	50	0,50	-	30	0,30	++	15	0,15
6	PP/Ser ₂ /Arg ₂	++	55	0,50	-	0	0,16	+	0	0	++	2,5	0,02
7	PP/Lys ₂ /Arg ₂	+++	16	0,16	-	0	0,10	+	30	0,30	+	50	0,50
8	PP/Phe ₂ /Arg ₂	+++	5	0,14	++	35	0,35	++	0	0	+	8	0,08
9	PP/Arg ₂ /Arg ₂	++++	11	0,28	++	31	0,42	++	4	0,03	+	10	0,10
10	PP/Trp ₂ /Arg ₂	+++	62	0,62	+	25	0,25	-	50	0,50	+	50	0,50
11	PP/Met ₂ /Arg ₂	++++	5	0,05	++	22	0,33	+	0	0	+	8	0,08

Таблица 2

№№ п/п	Символ соедине- ния	Клеточная линия								
		KB			HBT-39/w			GRMT/F6		
		F	P%	M	F	P%	M	F	P%	M
1	HpD/Arg ₂	++++	9	0,08	+++	0	0	++	20	0,40
2	PP/Asp ₂ /Arg ₂	++	16	0,12	+++	43	0,81	++	25	0,73
3	PP/Glu ₂ /Arg ₂	++++	8	0,08	+	66	0,73	+	75	0,75
4	PP/Cys ₂ /Arg ₂	+	12	0,12	+	42	0,53	+++	50	0,75
5	PP/Ala ₂ /Arg ₂	+++	0	0	++	17	0,33	+	50	0,50
6	PP/Ser ₂ /Arg ₂	++	0	0	++	33	0,50	+	12	0,12
7	PP/Lys ₂ /Arg ₂	-	12	0,12	++++	47	0,44	+++	25	0,75
8	PP/Phe ₂ /Arg ₂	++	12	0,12	++++	11	0,11	+++	0	0
9	PP/Arg ₂ /Arg ₂	+	16	0,16	++++	28	0,28	+++	12	0,12
10	PP/Trp ₂ /Arg ₂	nd	21	0,21	++++	18	0,11	+++	62	0,62
11	PP/Met ₂ /Arg ₂	++	5	0,12	++++	8	0,08	++++	25	0,22

Таблица 3

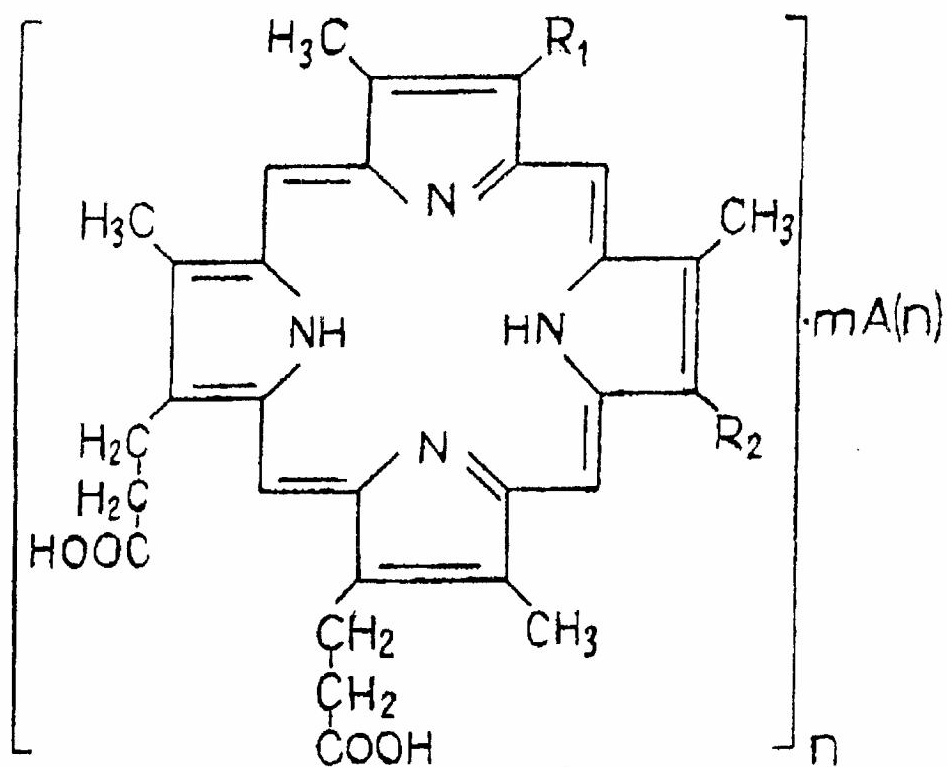
№№ п/п	Символ соедине- ния	Клеточная линия								
		HEp-2			Mm5MT/C1			T-47D		
		F	P%	M	F	P%	M	F	P%	M
1	HpD/Arg ₂	+	31	0,31	++	33	0,75	+	30	0,66
2	PP/Asp ₂ /Arg ₂	++++	47	0,40	+++	70	0,92	++++	65	0,92
3	PP/Glu ₂ /Arg ₂	++++	15	0,08	+++	76	0,70	+++	49	0,80
4	PP/Cys ₂ /Arg ₂	++++	60	0,32	+++	40	0,73	+	26	0,84
5	PP/Ala ₂ /Arg ₂	++	21	0,21	+++	86	0,84	+++	85	0,82
6	PP/Ser ₂ /Arg ₂	+	25	0,50	+	37	0,37	+++	40	0,60
7	PP/Lys ₂ /Arg ₂	++	10	0,42	++	33	0,80	++	57	0,92
8	PP/Phe ₂ /Arg ₂	++	3	0,08	++++	12	0,37	+	60	0,60
9	PP/Arg ₂ /Arg ₂	+	5	0,14	+++	12	0,38	+++	40	0,40
10	PP/Trp ₂ /Arg ₂	+++	15	0,15	+++	11	0,33	+	13	0,13
11	PP/Met ₂ /Arg ₂	+++	0	0	++++	8	0,08	+++	10	0,10

Таблица 4

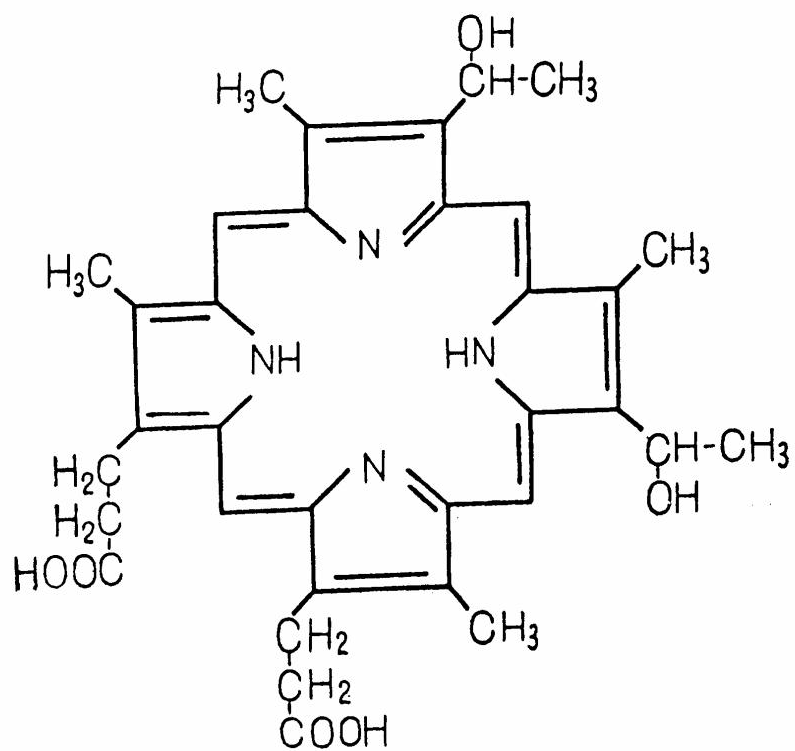
При- мер	Символ соединения	Суммарная формула	Молеку- лярный вес	С		Н		N	
				расч. %	обозн. %	расч. %	обозн. %	расч. %	обозн. %
5	PP/Ser/2/Arg/2	C ₅₂ H ₇₆ N ₁₄ O ₁₂	1121,2	55,65	55,69	6,78	6,81	17,48	17,52
6	PP/Gly/2/Arg/2	C ₅₀ H ₇₂ N ₁₄ O ₁₂	1061,2	56,53	56,42	6,78	6,71	18,45	18,22
7	PP/Ala/2/Arg/2	C ₅₂ H ₇₆ N ₁₄ O ₁₂	1089,2	55,09	55,14	6,97	7,02	17,99	18,03
8	PP/Val/2/Arg/2	C ₅₅ H ₈₄ N ₁₄ O ₁₂	1145,3	58,67	58,58	7,33	7,24	17,11	17,00
9	PP/Leu/2/Arg/2	C ₅₆ H ₇₅ N ₁₄ O ₁₂	1173,3	59,32	59,24	6,39	6,27	16,71	16,64
10	PP/Ile/2/Arg/2	C ₅₈ H ₇₅ N ₁₄ O ₁₂	1173,3	59,32	59,34	6,39	6,41	16,71	16,68
11	PP/Phe/2/Arg/2	C ₆₄ H ₈₄ N ₁₄ O ₁₂	1241,4	61,86	61,91	6,78	6,72	15,78	15,74
12	PP/Tyr/2/Arg/2	C ₆₄ H ₈₄ N ₁₄ O ₁₂	1273,4	60,31	60,39	6,44	6,46	15,39	15,45
13	PP/Pro/2/Arg/2	C ₅₆ H ₈₀ N ₁₄ O ₁₂	1141,3	58,88	58,93	7,01	7,07	17,17	17,21
14	PP/ProOH/2/Arg/2	C ₅₆ H ₈₀ N ₁₄ O ₁₂	1175,3	57,18	57,09	6,80	6,72	16,67	16,59
15	PP/Trp/2/Arg/2	C ₆₈ H ₈₆ N ₁₆ O ₁₂	1319,4	61,84	61,72	6,52	6,46	16,98	16,79
16	PP/Cys/2/Arg/2	C ₅₂ H ₇₆ N ₁₄ O ₁₂ S	1153,3	54,01	54,11	6,59	6,64	16,99	17,04
17	PP/Met/2/Arg/2	C ₅₆ H ₈₄ N ₁₄ O ₁₂ S ₂	1209,4	55,56	55,61	5,94	7,01	16,20	16,27
18	PP/Asp/2/Arg/2	C ₅₄ H ₇₆ N ₁₄ O ₁₆	1177,2	55,05	55,11	6,46	6,52	16,65	16,74
19	PP/Glu/2/Arg/2	C ₅₆ H ₈₀ N ₁₄ O ₁₆	1205,3	55,75	55,64	6,64	6,53	16,26	16,18
20	PP/Arg/2/Arg/2	C ₅₈ H ₉₀ N ₂₀ O ₁₂	1339,4	51,96	51,82	6,72	6,64	20,90	20,97
21	PP/Lys/2/Arg/2	C ₅₈ H ₉₀ N ₁₆ O ₁₂	1203,4	57,84	57,89	7,48	7,53	18,61	18,58
22	PP/LysOH/2/Arg/2	C ₅₈ H ₉₀ N ₁₆ O ₁₄	1235,4	56,34	56,23	7,28	7,19	18,13	18,04
23	PP/His/2/Arg/2	C ₅₈ H ₈₂ N ₁₈ O ₁₂	1221,3	56,99	56,89	6,71	6,67	20,63	20,52
24	PP/Asn/2/Arg/2	C ₅₄ H ₇₈ N ₁₆ O ₁₂	1175	55,14	55,19	6,64	6,68	19,06	18,98
25	PP/Gln/2/Arg/2	C ₅₆ H ₈₄ N ₁₆ O ₁₄	1203,3	55,85	55,77	6,89	6,81	18,62	18,71

Таблица 5

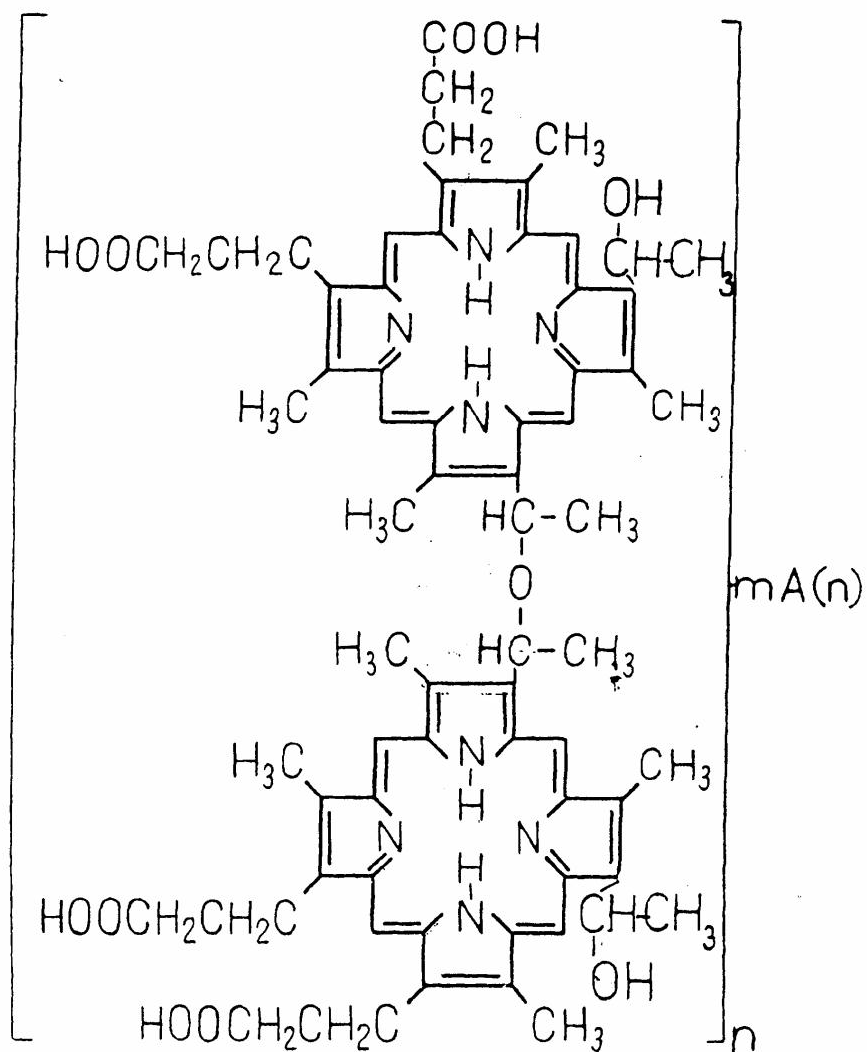
Символ соединения	R ₄
PP/Ser/2/Arg/2	1-карбокси-2-окси-этиламино
PP/Gly/2/Arg/2	карбоксиметиламино
PP/Ala/2/Arg/2	карбоксиэтиламино-
PP/Val/2/Arg/2	1-карбокси-2-метил-пропиламино
PP/Leu/2/Arg/2	1-карбокси-3-метил-бутиламино
PP/Ile/2/Arg/2	1-карбокси-2-метил-бутиламино
PP/Phe/2/Arg/2	1-карбокси-2-фенил-этиламино
PP/Tyr/2/Arg/2	1-карбокси-2-/4-оксифенил-/этиламино
PP/Pro/2/Arg/2	2-карбокси-пирролидинил
PP/ProOH/2/Arg/2	2-карбокси-4-окси-пирролидинил
PP/Trp/2/Arg/2	1-карбокси-2-индолил-этиламино
PP/Cys/2/Arg/2	1-карбокси-2-меркапто-этиламино
PP/Met/2/Arg/2	1-карбокси-3-метил-тиопропиламино
PP/Asp/2/Arg/2	1,2-дикарбокси-этиламино
PP/Glu/2/Arg/2	1,3-дикарбоксипропиламино
PP/Arg/2/Arg/2	1-карбокси-4-гуанидил-бутиламино
PP/Lys/2/Arg/2	1-карбокси-5-аминопентиламино
PP/LysOH/2/Arg/2	1-карбокси-4-окси-5-аминопентиламино
PP/His/2/Arg/2	1-карбокси-2-1Н-имидазол-этиламино
PP/Asn/2/Arg/2	1-карбокси-2-карбамоил-этиламино
PP/Gln/2/Arg/2	1-карбокси-3-карбамоилпропиламино



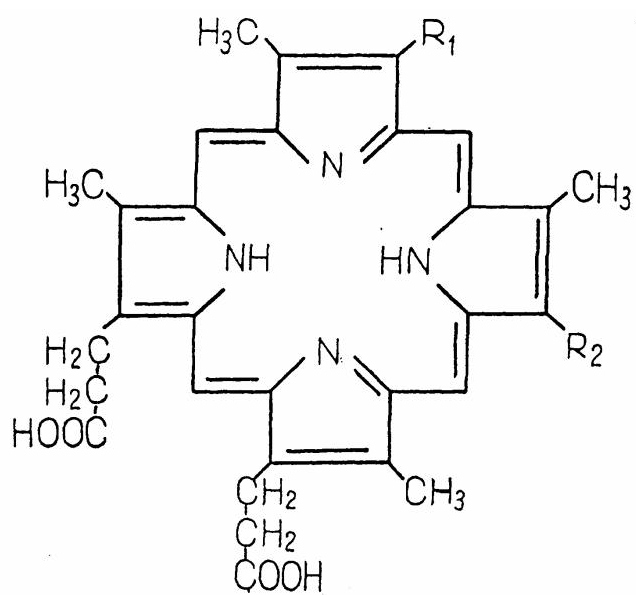
Фиг. 1



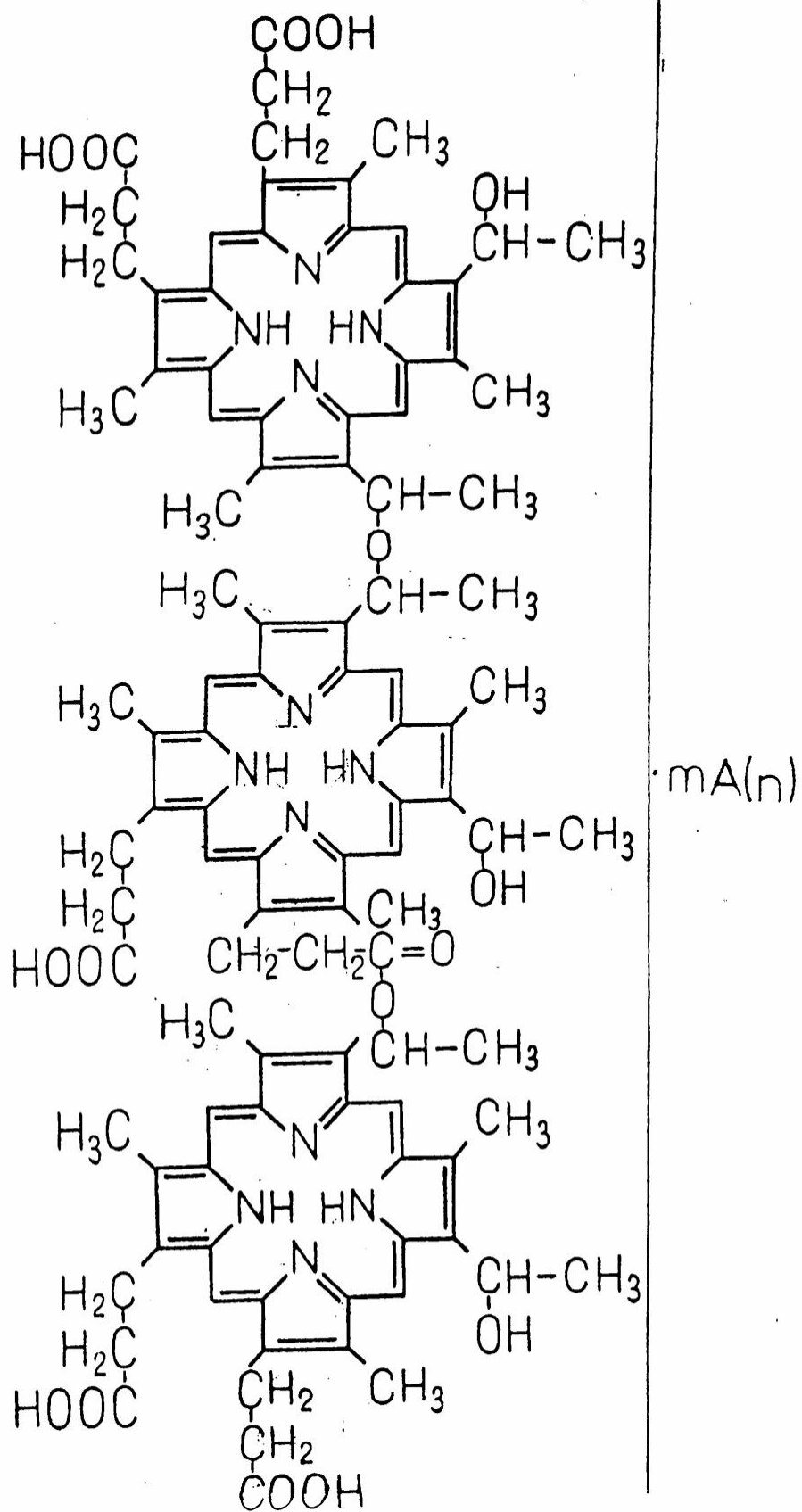
Фиг. 2



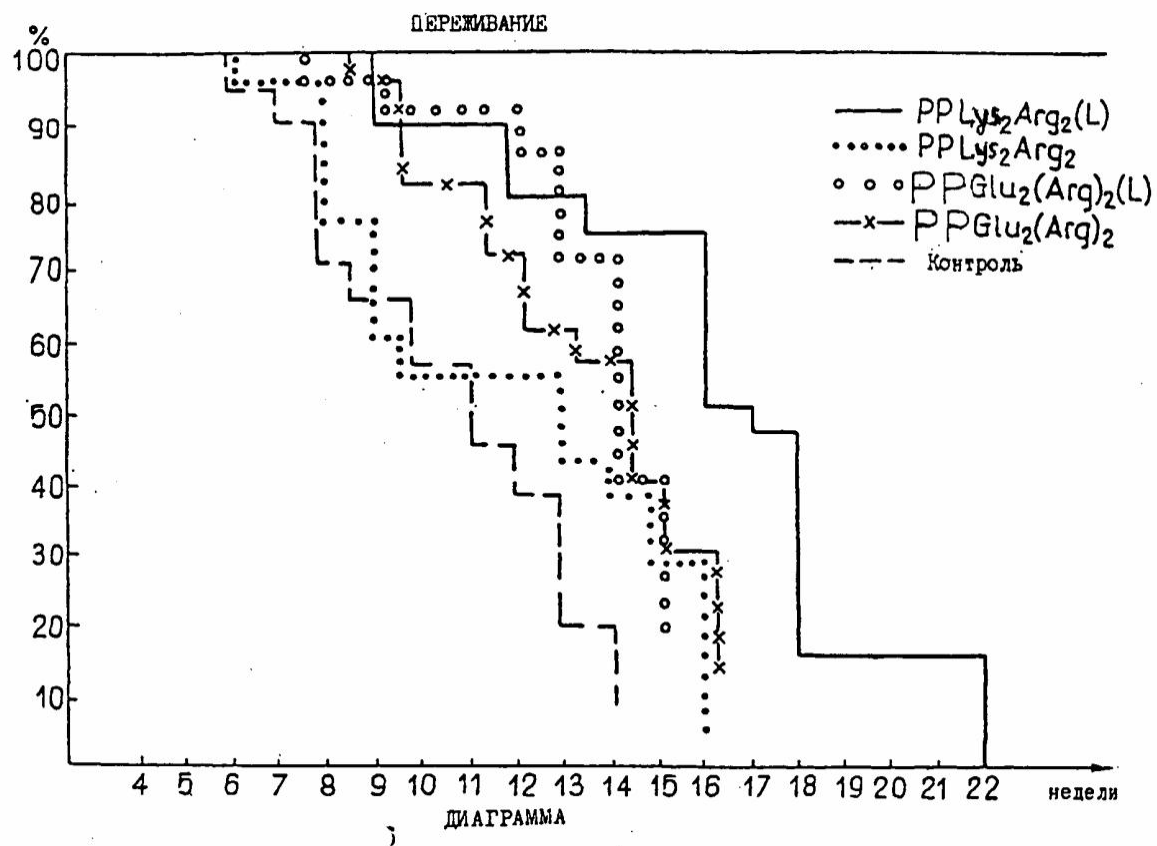
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

Тираж 50 экз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03