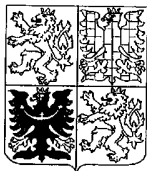


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **29.04.1998**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **07.05.1997 26.08.1997**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/852326 1997/918840**
(33) Země priority: **US US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.04.2000**
(Věstník č. 4/2000)
(86) PCT číslo: **PCT/CA98/00425**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/50386**

(21) Číslo dokumentu:

1999 - 3857

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 487/22

A 61 K 39/395

A 61 P 43/00

(71) Přihlašovatel:

THE UNIVERSITY OF BRITISH
COLUMBIA, Vancouver, CA;

(72) Původce:

Dolphin David, Vancouver, CA;
Levy Julia G., Vancouver, CA;
Richter Anna M., Vancouver, CA;
Sternberg Ethan D., Vancouver, CA;
Tovey Andrew, Vancouver, CA;

(74) Zástupce:

Guttman Michal JUDr. Ing., Nad Štolou 12,
Praha 7, 170 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Nová skupina fotoaktivních
benzoporfyrinových derivátů**

(57) Anotace:

Jsou popsány nové sloučeniny, rozšiřující repertoár sloučenin
použitelných ve fotodynamické terapii.

Monohydrobenzoporfyriny mohou být získávány ve formě
trikyseliny nebo jako estery s alkoholy substituovanými
heteroatomem nebo jako amidy.

CZ 1999 - 3857 A3

Nová skupina fotoaktivních benzoporfyrinových derivátů

Oblast techniky

Vynález se zabývá návrhem a syntézou sloučenin, které jsou použitelné ve fotodynamické terapii a pro podobná použití jako fotoaktivní sloučeniny a pro související aplikace. Zvláště vynález popisuje způsob přípravy třídy benzoporfyrinových derivátů s řízenou derivatizací tří z pěti karboxylových substituentů. Vynález se dále vztahuje na výsledné sloučeniny, které také spadají do této třídy sloučenin.

Dosavadní stav techniky

Fotodynamická terapie (PDT) obecně zahrnuje podávání sloučenin, které mají schopnost absorbovat světlo, typicky ve viditelné oblasti spektra, ale také v blízké ultrafialové oblasti spektra jako následek ozáření míst subjektu, pro která se žádá toxický, modifikační nebo inhibiční účinek.

Fotodynamická terapie byla zpočátku vyvinuta za použití hematoporfyrinu a příbuzných sloučenin pro léčení nádorů, protože se zdálo, že tyto sloučeniny se „usídlují“ na místech obsahujících rychle se dělící buňky. Nádor pak bylo možno ozařovat světlem, absorbovaným hematoporfyrinem, což mělo za následek zničení okolní tkáně. Fotodynamická terapie se od té doby ukázala jako použitelná pro léčení aterosklerotických plaků, restenózy, infekcí v krevním řečišti, reumatoidní artritidy, psoriázy a pro léčení očních stavů, které nejsou nezbytně omezeny na nádory.

US patent 5 171 749 a patenty vydané na související přihlášky, tj. US patenty 5 283 255, 5 399 583, 4 883 790, 4 920 143 a 5 095 030, popisují a nárokují třídu fotoaktivních sloučenin použitelných ve fotodynamické terapii a označovaných jako monohydrobenzoporfyriny čili „BPD“. Tato třída sloučenin se získává pomocí Diels-Alderovy reakce mono- nebo disubstituovaného alkinu s protoporfyrinem-IX a výsledné sloučeniny mohou být dále izomerizovány, redukovány a/nebo

derivatizovány pro získání rozsáhlé třídy BPD. Jak je popsáno v těchto patentech, zvláště použitelná podtřída této skupiny vzniká hydrolýzou nebo částečnou hydrolýzou esterové skupiny 2-karboxylethylových postranních řetězců na kruhu C a D. Esterifikace jako chránění těchto skupin během Diels-Alderovy reakce vede k výchozím sloučeninám, které obsahují 2-karbalkoxyethylové skupiny. Bylo zjištěno, že je možno snadno provést hydrolýzu těchto esterů, přičemž všechny karbalkoxy skupiny spojené s Diels-Alderovým produktem, který je získán z dikarbalkoxyalkinu, zůstanou prakticky zcela nehydrolyzované. To vedlo ke čtyřem druhům sloučenin, kterými jsou BPD-MA, BPD-MB, BPD-DA a BPD-DB, znázorněné na obrázku 1; tento obrázek je převzat z US patentu 5 171 749. V tomto zobrazení je R^1 a R^2 karbalkoxyskupina, výhodně karbomethoxy nebo karboethoxy, a R je C_{1-6} alkyl.

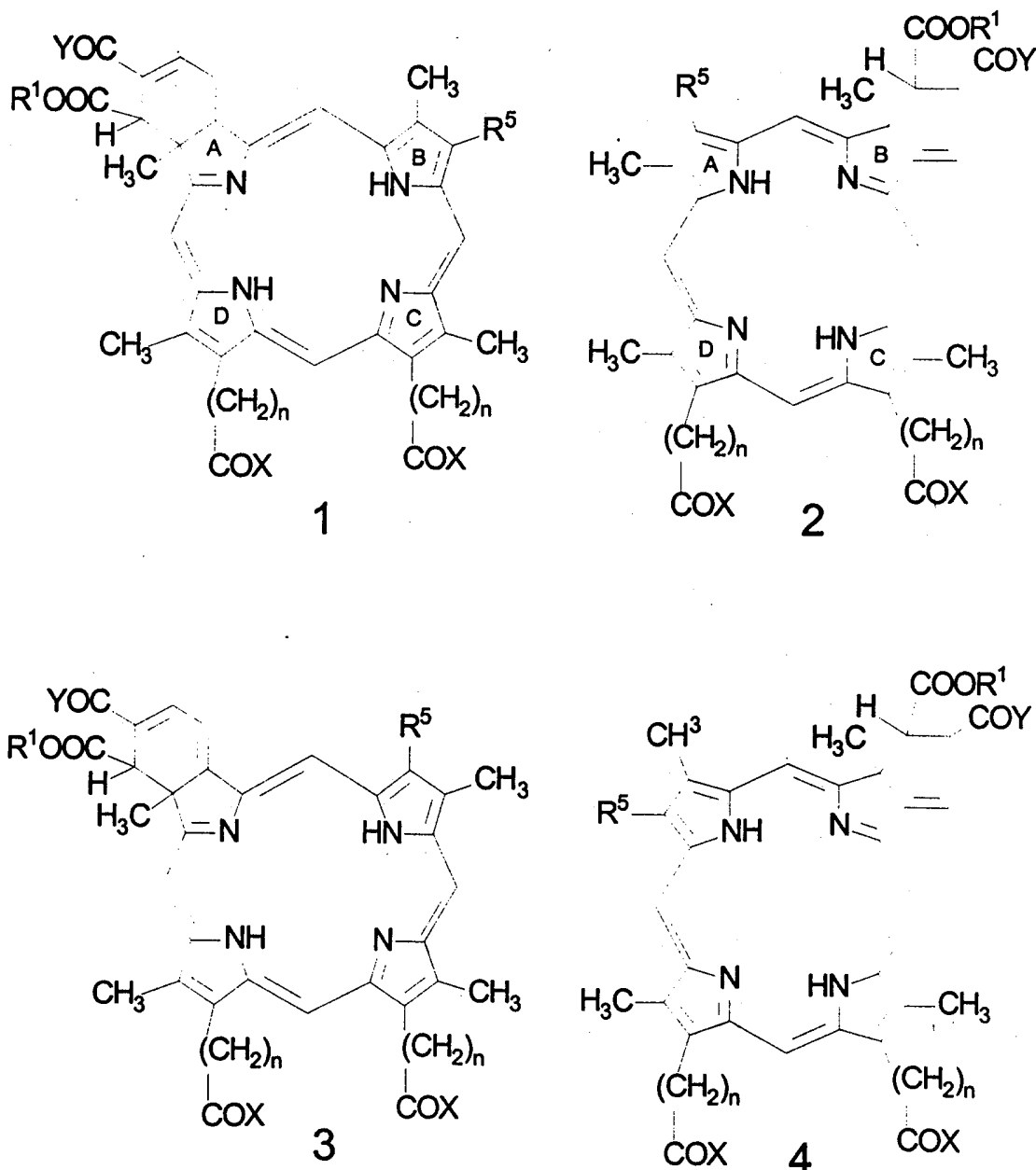
Bylo zjištěno, že BPD-MA má zvláště výhodné vlastnosti pro PDT, a v současné době je v klinickém zkoušení. Nicméně zůstává však požadavek na další specifické formy fotoaktivních činidel, která by rozšiřovala nabídku fotoaktivních sloučenin pro různé indikace, pro které je aplikována PDT, jak jsou uvedeny výše. Tento vynález popisuje způsob přípravy dosud nepopsaných a nedostupných členů třídy příbuzné s třídou sloučenin, uvedeným v citovaných US patentech, přičemž specifická řízená derivatizace tří z karboxylových substituentů poskytuje nový soubor fotoaktivních sloučenin s žádoucími vlastnostmi. Zahrnutý jsou jak formy „trikyseliny“, tak také zvláště vhodné homotriestery, kde trikyselina je esterifikována na všech třech karboxyskupinách ethylenglykolem.

Podstata vynálezu

Sloučeniny a způsob jejich přípravy podle vynálezu poskytují zvláště užitečné nové příspěvky k repertoáru sloučenin, které nalézají použití ve fotodynamické terapii, stejně jako prostředek pro rozšiřování tohoto repertoáru

metodickým způsobem. Způsoby podle vynálezu využívají možnosti nastavení podmínek hydrolýzy tak, aby byly získány dříve neobjevené trikyselinové formy monohydrobenzoporpyrinové třídy fotoaktivních sloučenin, a možnosti derivatizovat výsledné tři karboxylové skupiny řízeným způsobem.

Předmětem vynálezu je především sloučenina vzorce 1, 2, 3 nebo 4



včetně solí a metalovaných a/nebo značených a/nebo konjugovaných forem těchto sloučenin. Je zřejmé, že sloučeniny 1 a 2 se liší pouze v umístění Diels-Alderova substituentu

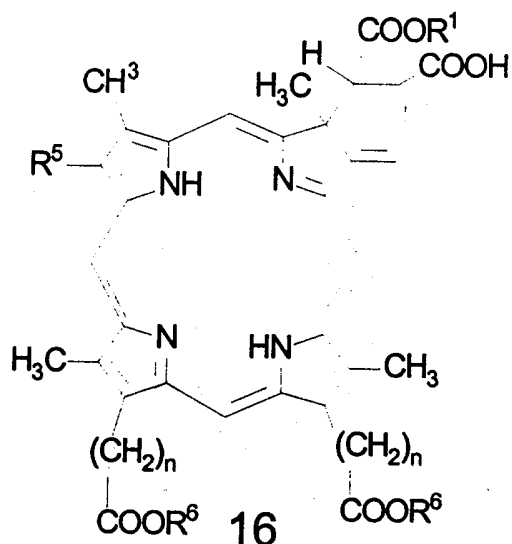
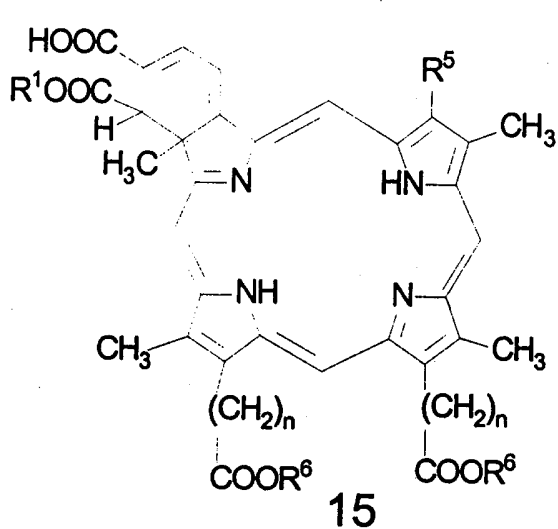
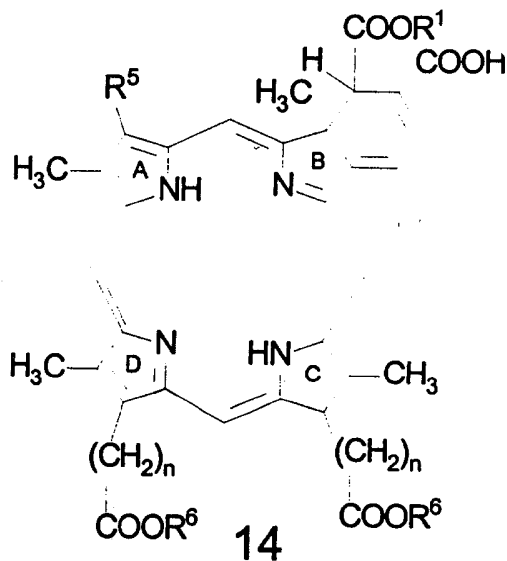
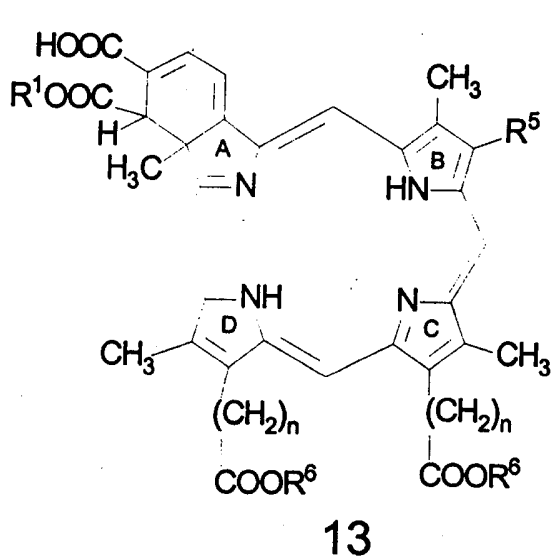
v kruhu A oproti kruhu B. Vznikají dva takového produkty, protože protoporfyrin IX jako výchozí sloučenina pro přípravu sloučenin 1 a 2 nemá na těchto kruzích symetrickou substituci. Na druhé straně sloučenina vzorce 3 vzniká podobnou Diels-Alderovou adicí na protoporfyrin III a sloučenina vzorce 4 Diels-Alderovou adicí na protoporfyrin XIII. Všechny tyto protoporfyriny jsou symetricky substituované a v každém případě vzniká pouze jeden produkt.

Ve vzorcích 1 až 4 R^1 znamená C_{1-6} alkyl, Y znamená OH (včetně forem solí), NR^2_2 , nebo NHR^2 , kde každé R^2 je nezávisle vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný uhlovodíkový zbytek s 1 až 10 atomy uhlíku, nebo kde oba substituenty R^2 znamenají společně cyklický nebo polycyklický amin s 1 až 20 atomy uhlíku, nebo OR^3 , kde R^3 je uhlovodíkový zbytek s 1 až 10 atomy uhlíku, který musí být substituován alespoň jedním substituentem, obsahujícím heteroatom. Ve vzorcích 1 až 4 je X definováno stejně jako Y, ale dále může zahrnovat případ, kde X znamená OR^4 , kde R^4 je uhlovodíkový zbytek (nesubstituovaný s 1 až 10 atomy uhlíku.), „n“ je celé číslo od 0 do 6, s výhodou 2. R^5 je vinyl nebo jeho derivát.

Vynález je dále zaměřen na způsoby přípravy sloučenin vzorce 1 až 4, ve kterých X a Y je skupina OH (nebo odpovídající soli) reakcí úplněji esterifikované formy sloučeniny příslušného vzorce 1 až 4, rozpuštěné ve vhodném rozpouštědle, s bází v oxidačně inertní atmosféře po dobu dostatečnou k deesterifikaci dostatečného počtu karboxylových skupin pro získání formy trikyseliny a izolací trikyseliny z reakční směsi.

Vynález zahrnuje sloučeniny vzorců 1 až 4, ve kterých všechna X a Y znamenají OCH_2CH_2OH . Tyto sloučeniny, podobně jako trikyseliny, jsou vhodné fotoaktivní sloučeniny pro použití pro různé aplikace ve fotodynamické terapii.

Vynález také zahrnuje jako výhodné provedení sloučeniny vzorce 13, 14, 15 a 16



kde R^1 a R^5 mají výše uvedený význam a R^6 je nižší alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, a farmaceutické kompozice obsahující tyto sloučeniny, stejně způsoby provádění PDT pomocí těchto sloučenin. Zvláště výhodné jsou ty sloučeniny, ve kterých R^5 je vinyl a R^1 je nižší alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku.

Přehled obrázků na výkresech

Obrázek 1 představuje sloučeniny z dosavadního stavu techniky, kterými jsou BPD-MA, BPD-MB, BPD-DA a BPD-DB.

Obrázek 2A a 2B znázorňuje fotosensibilizaci buněk L1210 *in vitro* pomocí B3 jako funkci koncentrace.

Obrázek 3 ukazuje časový průběh absorpce B3 buňkami L1210.
Obrázek 4 uvádí kinetiku uvolňování B3 z buněk L1210 po jedné hodině inkubace.

Obrázek 5 ukazuje biodistribuci B3 v tkáních myší.

Sloučeniny vzorce 1 až 4 podle vynálezu jsou analogické sloučeninám podle US patentu 5 171 749, 5 283 255, 5 399 583, 4 883 790, 4 920 143 a 5 095 030. Sloučeniny podle vynálezu se od sloučenin uvedených v těchto patentech liší derivatizací na třech karboxylových skupinách znázorněných jako „COY” a COX”. Vzniku těchto sloučenin dosud bránila obtížná hydrolýza karbalkoxyskupiny v poloze obsazené „COY”. Tento vynález poskytuje přístup k této karbalkoxyskupině a umožňuje syntézu různých fotoaktivních sloučenin, které byly dosud nedostupné.

Dále bude pro zjednodušení substituent „COY” uváděn jako „vinylový karboxyl” bez ohledu na to, co znamená Y v dané sloučenině. Skupiny označené jako „COX” budou dále označovány jako „propionový karboxyl”, bez ohledu na to, co znamená X nebo n v každé konkrétní sloučenině.

Vynález je založen na zjištění, že vhodným nastavením podmínek hydrolýzy může být zpřístupněna vinylová karboxylová skupina. I když propionové karboxylové skupiny se ochotně podrobují deesterifikaci, reesterifikaci nebo další derivatizaci, vinylový karboxyl ve formě alkylesteru je odolnější vůči hydrolýze, a proto musí být hydrolýza, která má být úspěšná vzhledem k této skupině, prováděna za podmínek, které zabraňují oxidaci nebo destrukci molekuly.

Možnost přístupu k vinylové karboxylové skupině má významné důsledky. Za prvé je takto vzniklá trikyselina sama o sobě významným novým fotoaktivním činidlem. Za druhé, protože propionové karboxylové skupiny jsou nejreaktivnější, mohou být snadno chráněny reesterifikací a vinylový karboxyl může být poté aktivován pro další substituci. Tak je možno získat řadu sloučenin, v nichž je propionová karboxylová skupina buď ve formě volných kyselin a solí nebo ve formě jednoduchých esterů

nebo amidů nebo acylhydrazidů a ve kterých je vinylový karboxyl ve formě volné kyseliny nebo soli nebo je derivatizován jako komplexní ester nebo amid nebo acylhydrazid.

Sloučeniny podle vynálezu existují ve formě optických izomerů. Bez ohledu na to, zda je provedena separace na jednotlivé optické izomery, jsou sloučeniny získané tvorbou derivátů na vinylovém karboxylu samy o sobě použitelné jako fotoaktivní činidla. Dostupnost dalších sloučenin z repertoáru fotoaktivních sloučenin umožňuje úpravu léčebných postupů na konkrétní indikace a subjekty.

Přístupnost vinylové karboxylové skupiny také umožňuje tvorbu fotoaktivních činidel, ve kterých jsou všechny tři karboxylové skupiny (vinylový karboxyl a propionové karboxyly) derivatizovány identicky za vzniku další nabídky fotoaktivních sloučenin. Konečně je zřejmé, že různé kombinace substitucí na třech relevantních karboxylových skupinách poskytují oblast sloučenin, která je dále zvětšována rozmanitostí R^5 , dosažitelnou derivatizací vinylového substituentu.

Mezi kombinace dosažitelné bez úpravy podmínek tak, aby reagoval pouze jeden z propionových karboxylů, a bez ohledu na možnost variant na R^5 patří kombinace uvedené v tabulce 1.

Tabulka 1

	vinylový karboxyl	karboxyl prop. kys.
	Y =	X =
X-1	-OH	-OH
X-2	-OH	-OR ⁴
X-3	-OH	-OR ³
X-4	-OH	NR ² ₂ nebo -NHNR ² ₂
Y-1	-OR ³	-OH
Y-2	-OR ³	-OR ⁴
Y-3	-OR ³	-OR ³
Y-4	-OR ³	NR ² ₂ nebo -NHNR ² ₂
Z-1	NR ² ₂ nebo -NHNR ² ₂	-OH

Z-2	NR^2_2 nebo $-\text{NHNR}^2_2$	$-\text{OR}^4$
Z-3	NR^2_2 nebo $-\text{NHNR}^2_2$	$-\text{OR}^3$
Z-4	NR^2_2 nebo $-\text{NHNR}^2_2$	NR^2_2 nebo $-\text{NHNR}^2_2$

kde OH znamená volnou kyselinu nebo sůl v závislosti na pH.

Pro získání skupiny sloučenin X-1 se Diels-Alderův produkt nebo některá z více esterifikovaných forem sloučenin této skupiny s ohledem na vinylový karboxyl a propionový karboxyl hydrolyzuje za zde popsaných podmínek za vzniku formy trikyseliny. Pro získání sloučenin skupin X-2, X-3 a X-4 jsou propionové karboxyly reesterifikovány nebo amidovány za použití standardních postupů, protože jsou mnohem více reaktivní než vinylový karboxyl.

Pomocí této metody byla připravena zvláště výhodná sloučenina, označená „B3“, jak je popsáno dále v příkladu 3.

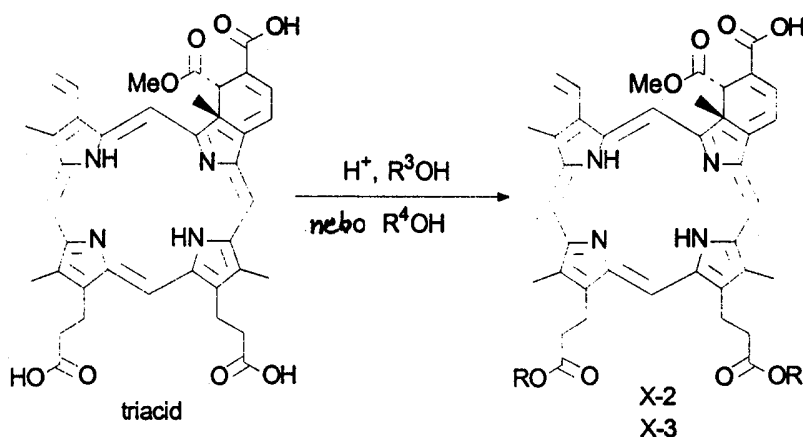
Pro získání sloučenin ze skupiny Y-3 jsou tři karboxylové skupiny trikyseliny nejprve aktivovány a poté reagují s alkoholem, odpovídajícím $-\text{OR}^3$. Protože s propionovými karboxylovými skupinami lze snadno manipulovat bez porušení vinylového karboxylu, může pro zbývající členy skupiny Y být původní ester, který obsahuje $-\text{OR}^3$, podroben reakci ve prospěch vytvoření volné kyseliny, nesubstituovaného uhlovodíkového esteru ($-\text{OR}^4$) nebo amidu.

Amidy skupin Z-2 a Z-3 jsou nejpohodlněji získatelné esterifikací propionových karboxylů (kde $X = -\text{OR}^4$ nebo $-\text{OR}^3$) a následnou aktivací vinylového karboxylu a navazující amidací. Pro získání sloučenin skupiny Z-1 se tyto esterové skupiny jednoduše odstraní přímou hydrolýzou. Sloučeniny skupiny Z-4 se získávají ze sloučenin skupiny Z-2 hydrolýzou esterové skupiny na propionových karboxylech a následnou jejich aktivací a konverzí na amid nebo hydrazid. Popřípadě mohou být sloučeniny skupiny Z-4 získány přímo z trikyseliny, jak je uvedeno dále na reakčním schématu 3.

Ilustrativní reakční schémata přípravy těchto sloučenin jsou uvedena dále.

Reakční schéma 1 ukazuje konverzi trikyselínového meziprojektu získaného postupem podle vynálezu na sloučeniny skupiny X-2 nebo X-3 pomocí jednoduché esterifikace propionových karboxylů za standardních podmínek. Tyto standardní podmínky zahrnují reakci trikyselínového meziprojektu s vhodným alkoholem v přítomnosti kyseliny, jako je kyselina sírová, chlorovodíková, triflová nebo jiná vhodná kyselina.

Reakční schéma 1

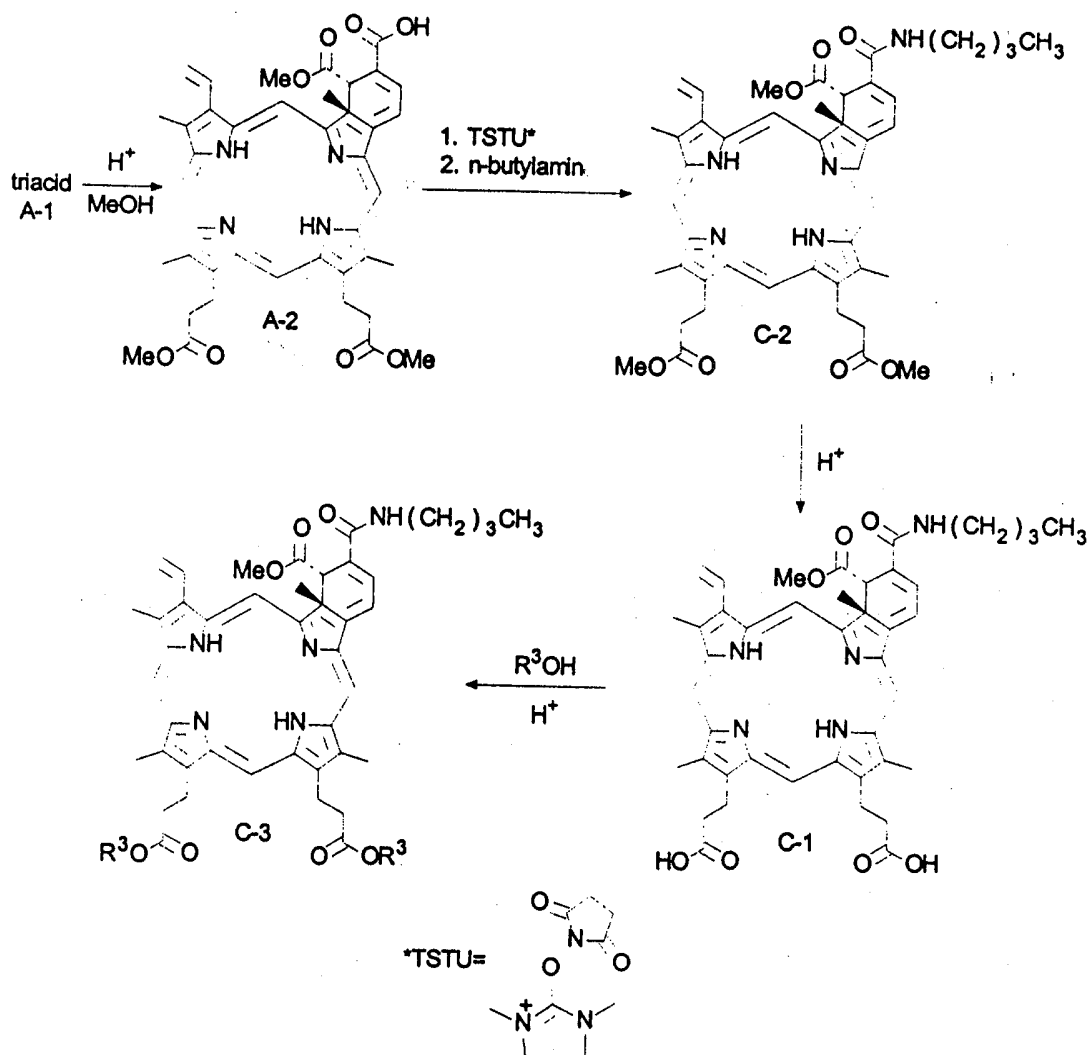


kde R je R^3 nebo R^4 .

Znázorněná konverze ukazuje Diels-Alderův substituent v B kruhu odvozený od protoporphyrinu IX, tj. sloučeninu vzorce 2, a vinylový substituent na R^5 ; nicméně reakční schéma 1 je obecné pro sloučeniny podle vynálezu a ve znázorněné podobě je pouze ilustrativní. Stejně by pro ilustraci mohla být použita jiná provedení R^5 a sloučeniny vzorců 1, 3 nebo 4.

Zvláště výhodnými produkty podle tohoto reakčního schématu jsou sloučeniny výše uvedených vzorců 13 až 16. Tyto sloučeniny mohou být upraveny pro terapeutické kompozice pro použití v PDT.

Reakční schéma 2 zobrazuje konverzi trikyselínového meziprojektu na sloučeniny skupiny Z-1, Z-2 nebo Z-3.

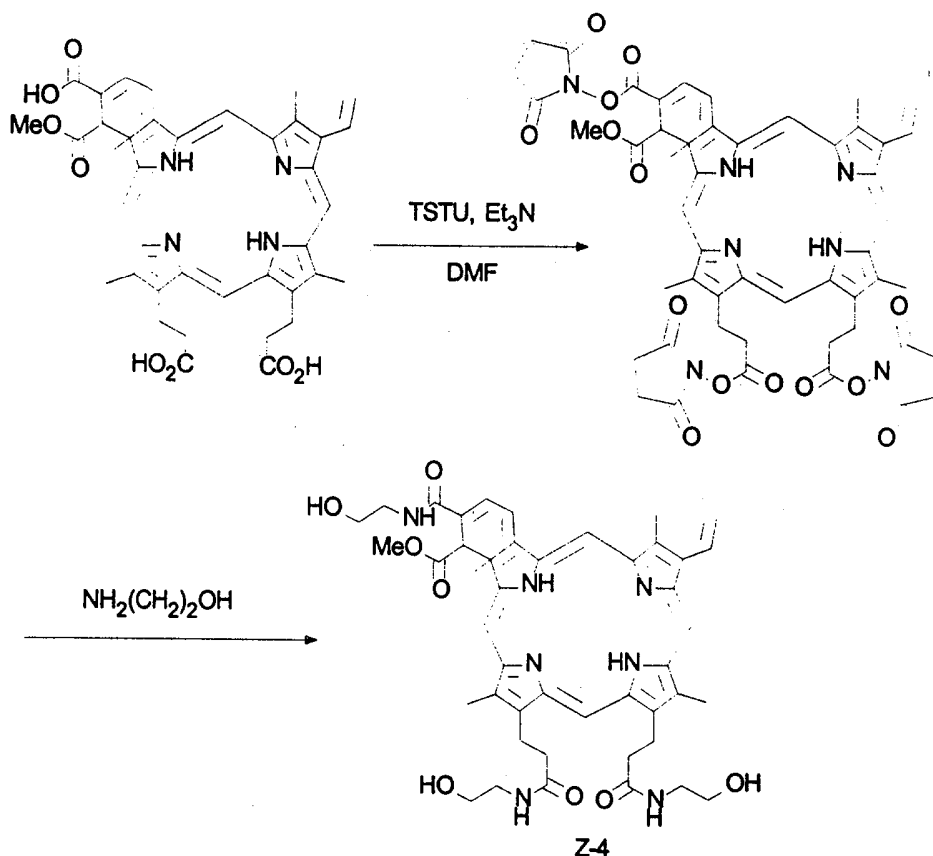
Reakční schéma 2

Jak je znázorněno v reakčním schématu 2, forma trikyseliny se výhodně nejprve esterifikuje na propionových karboxylech alkoholem s nesubstituovaným uhlovodíkovým zbytkem (například MeOH) za účelem chránění těchto poloh; vinylový karboxyl se pak aktivuje působením TSTU a poté amiduje za použití N-butylaminu (pro ilustraci). Taktéž by mohly být použity různé primární nebo sekundární aminy nebo hydraziny. Výsledkem těchto reakcí jsou sloučeniny skupiny Z-2; sloučeniny skupiny Z-1 jsou snadno získatelné pomocí kyselé hydrolýzy propionových karboxylů a v těchto polohách mohou být vytvořeny komplexnější estery pro získání sloučenin skupiny Z-3.

Reakční schéma 3 ilustruje získání sloučenin skupiny Z-4,

kde forma trikyseliny je aktivována TSTU bez chránění propionových karboxylů a amidována ve všech třech polohách.

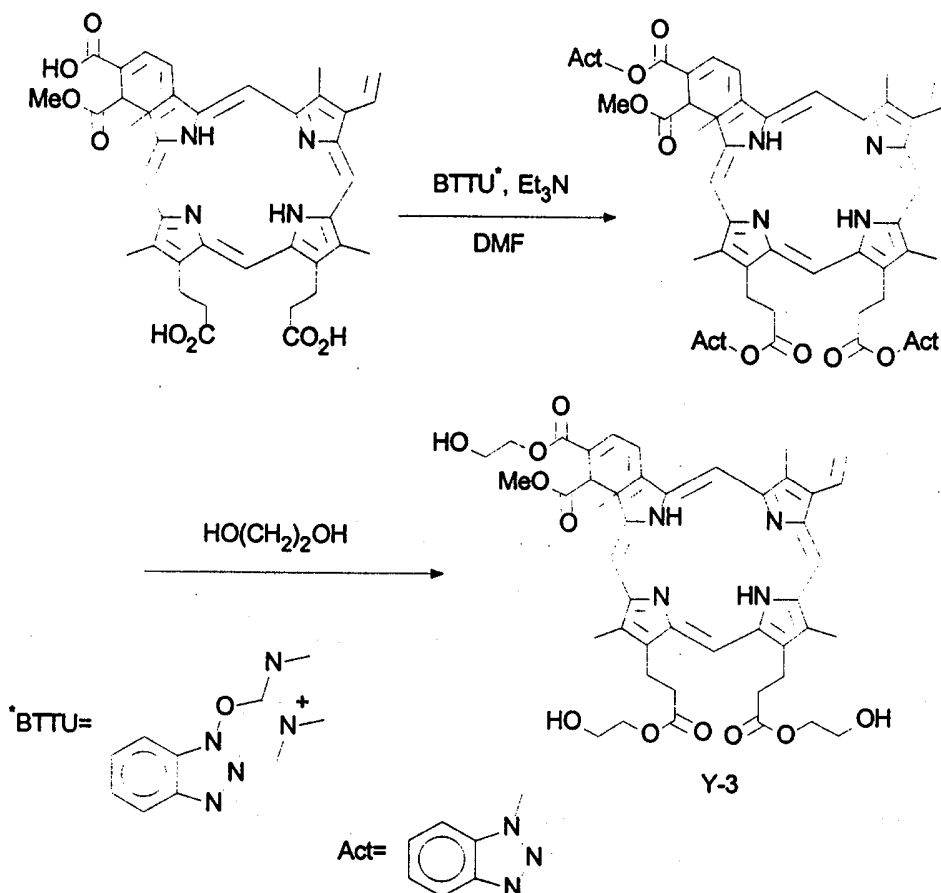
Reakční schéma 3



Jak je znázorněno, tímto způsobem mohou vznikat komplexní amidy; může být připraveno velké množství amidů.

Jestliže požadujeme propionových karboxylech odlišné amidové substituenty oproti vinylovému karboxylu, získá se nejprve sloučenina představující v reakčním schématu 2 skupinu Z-1 nebo Z-2 a poté jsou výsledné karboxylové skupiny aktivovány a získají se požadované amidy.

Pro získání sloučenin ze skupiny Y-1 až Y-4 se nejprve získá požadovaný ester na vinylkarboxylu podle reakčního schématu 4 a nakonec je získána sloučenina ze skupiny Y-3.

Reakční schéma 4

Výsledný triester může být zpracován způsobem analogickým k Diels-Alderově produktu, jak je popsáno v BPD patentech uvedených výše; estery propionového karboxylu jsou snadno hydrolyzovány na kyselinu za vzniku sloučeniny ze skupiny Y-1 a kyselina může být zpracována jak je uvedeno výše pro získání sloučenin skupiny Y-2 a Y-4.

Způsoby podle vynálezu, které jsou uvedeny výše, a zejména dostupnost triacidických forem sloučenin typu BPD, zvláště ve spojení s dosažitelností vinylové skupiny v R⁵ pro derivatizaci poskytují prostředky syntézy rozsáhlé skupiny příbuzných fotoaktivních činidel. Takováto syntéza by mohla být plánována a prováděna náhodným nebo systematickým způsobem pro získání velkého počtu sloučenin, které se v tomto smyslu považují za kombinačních knihovny.

Substituenty na BPD podle vynálezu jsou popsány na základě

charakteristik R^1 až R^5 . Termíny mohou být dále definovány následujícím způsobem:

Zde užívaným termínem „alkyl“, se míní nasycený přímý nebo rozvětvený uhlovodíkový řetězec, který může, má-li dostatečný počet atomů uhlíku, být cyklický nebo obsahovat cyklickou část. Typické příklady jsou methyl, ethyl, t-butyl, cyklohexyl a podobně.

„Uhlovodíkový radikál“, znamená monovalentní substituent, obsahující jen vodík a uhlík, které mohou tvořit přímý, nebo rozvětvený řetězec, nasycený nebo nenasycený, aromatický, nebo nearomatický, nebo oba, a který může být cyklický nebo necyklický. Tedy uhlovodíkový radikál s 1 až 10 atomy uhlíku může zahrnovat cyklopentylethyl, 2-pentenyl, 3-butinyl, 2,4-dimethylhexyl a podobně.

V některých substituentech, například R^2 a R^3 , může být uhlovodíkový radikál substituován substituentem obsahujícím heteroatom. Takové substituenty zahrnují -OR, -NR₂, -SR, -COOR, -CONR₂, OOCR, -NRCOR, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, halo, -CN a podobně, kde R je vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, stejně jako heterocyklické zbytky, zahrnující cyklické aminy, jako je pyridyl, pyrimidyl, thiazolyl, chinolyl atd. Substituent obsahující heteroatom tak může zahrnovat systémy jednoduchých nebo kondenzovaných kruhů a může obsahovat další heteroatomy.

Provedení, kde X nebo Y je -NR₂ nebo -NHNR₂, zahrnují provedení, kde každé R² je nezávisle atom vodíku, alkyl, alkenyl, cyklický alkyl nebo nenasycený cyklický uhlovodíkový zbytek nebo arylový substituent, jako je fenyl nebo substituovaný fenyl. Nicméně -NR₂ nebo -NHNR₂ mohou být také složitější a mohou zahrnovat různé cyklické aminy jako přímé substituenty na dusíkovém atomu nebo může být tento atom dusíku sám být členem kruhu. Takovéto cyklické aminy zahrnují:

pyrrolyl, izopyrrolyl, pyridyl, pyrazolyl, indolyl, izoindolyl, imidazolyl, izoimidazolyl, triazolyl, furazanyl, izoxazolyl, oxazolyl, thiazolyl, izothiazolyl, oxadiazolyl, oxatriazolyl, dioxazolyl, pyridinyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl,

piperaziny, indolyziny, pyrrolidiny, triaziny, oxaziny, izoxaziny, oxathiaziny, oxadiaziny, morfoliny, azepiny, diazepiny, indeny, izoindeny, indoleny, izobenzazolyl, pyrano-pyrrolyl, indazolyl, izoindazolyl, indoxaziny, benzoxazolyl, benzopyronyl, chinoliny, izochinoliny, benzodiaziny, chinolyl, izochinolyl, chinazoliny, chinoliziny, chinoxaliny, naftyridiny, pyrido-pyridiny, benzoxaziny, benzizoxaziny, puriny, ftalaziny, naftyridiny a pteridiny.

Cyklické aminy, jestliže jsou monovalentní, také spadají pod definici uhlovodíkových zbytků s 1 až 10 atomy uhlíku substituovaných substituentem, který obsahuje heteroatom, jak je uvedeno v definici pro R^3 . Také jsou zahrnuty kruhové systémy jako je furyl, thienyl, pyran, dioxin, oxepin, thiepin, benzofuran, izobenzofuran, thionaftenyl, izothionaftenyl, benzothienyl, kumarin a cinnolin.

Vhodnými nesubstituovanými uhlovodíkovými zbytky s 1 až 10 atomy uhlíku přítomnými v R^4 a zahrnutými v R^2 jsou například methyl, ethyl, propyl, butyl, hexyl, cyklopentadienyl, fenyl, chromenyl, anthanyl, naftyl nebo benzyl. Tato provedení mohou být zahrnuta také v definici R^3 , pokud jsou substituována výše uvedeným substituentem obsahujícím heteroatom.

Pro tvorbu amidů se aktivují relevantní skupiny karboxylových kyselin, například pro získání acylhalogenidů nebo, za použití mírnějších podmínek, jakými jsou například znázorněná činidla na bázi tetramethyluronia, karbodiimidů nebo aktivovaných esterů, jako je p-nitrofenyl. Na aktivovaný karboxyl je poté působeno vhodným aminem nebo hydrazinem.

Ve sloučeninách podle vynálezu je R^5 výhodně vinyl, ale může to být také jeho derivát. Vinylová skupina v kruhu A nebo B se snadno derivatizuje na jiné provedení R^5 adicí nebo oxidací. Produkty adice nebo oxidace mohou být dále substituovány, jestliže adované substituenty jsou funkční jako odstupující skupiny, např. -Br může být substituován skupinou -OH, -OR', -NH₂, -NHR' nebo -NR₂' atd., kde R' je uhlovodíkový

zbytek. Například jedním z adovaných substituentů může být vodík a dalším halogen, hydroxyl, nižší alkoxylová skupina, aminoskupina nebo amid, sulfhydryl nebo organosulfid nebo další vodík. Sloučeniny podle vynálezu zahrnují různé skupiny jako R^5 včetně substituentů, které poskytují další porfyrinové nebo porfyrinu příbuzné kruhové systémy.

R^5 tedy může být vinyl, $-\text{CHOR}'$, $-\text{CHO}$, $-\text{COOR}'$, $-\text{CH}(\text{OR}')\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{OR}')\text{CH}_2\text{OR}'$, $-\text{CH}(\text{SR}')\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{NR}')_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CN})\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{COOR}')\text{CH}_2$, $-\text{CH}(\text{OOCR}')\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{NR}'\text{COR}')\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CONR}'_2)\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{halo})\text{CH}_3$ nebo $\text{CH}(\text{halo})\text{CH}_2(\text{halo})$, kde R' je atom vodíku nebo uhlovodíkový zbytek s 1 až 6 atomy uhlíku, případně substituovaný heteroatomovým substituentem, nebo kde R^5 je organická skupina s nižším počtem uhlíku než je 12, vznikající přímou nebo nepřímou derivatizací vinylové skupiny, nebo kde R^5 je skupina obsahující 1 až 3 jádra typu tetrapyrrolu.

Budiž poznamenáno, že sloučeniny podle vynálezu mohou obsahovat alespoň jedno chirální centrum a tedy mohou existovat v různých enantiomerních nebo diastereomerních formách. Vzorce 1 až 4 jako představitelé sloučenin podle vynálezu tak představují opticky čisté enantiomery nebo diastereoizomery nebo se může podle okolností jednat o racemické směsi nebo směsi diastereomerů.

Pokud je to požadováno, mohou se sloučeniny podle vynálezu připravit v metalovaných formách zpracováním jádra tetrapyrrolového typu vhodným iontem, jako hořečnatým iontem, zinečnatým iontem, cínatým iontem a podobně, tak, aby se získal kovový komplex. Kovový ion může také být radiačně značený. Všeobecně se kovový ion zabuduje užitím vhodných solí, za podmínek standardních v dosavadní praxi. Například zinečnatý ion se může zavést zpracováním sloučeniny octanem zinečnatým, obsaženým ve směsi methylenchloridu s methanolem v poměru 1:1.

Sloučeniny tedy mohou obsahovat značkovací látku, včetně radioizotopů, chromofory a fluorescenční značkovací látky. Značení radioizotopy je všeobecně vhodné, mají-li být sloučeniny sledovány in vivo nebo použity ke značení

konkrétních skupin. Vhodné kationtové skupiny, které jsou radioizotopy, zahrnují technecium, gallium a indium. Kromě toho se ke značení molekuly může použít radioizotopů heteroatomů jako ^{131}I nebo ^{32}P , v samotné molekule nebo lze použít inkluze ^{14}C .

Jak je dále popsáno ve výše uvedených BPD patentech, sloučeniny podle vynálezu mohou být spojeny, pokud je to žádoucí, s terčovým činidlem, které nasměruje molekulu do specifické tkáně nebo orgánu. Taková terčová činidla zahrnují protilátky, receptory, receptorové ligandy a podobně. Vazba terčového činidla ke sloučenině je prováděna za použití standardních technik. „Konjugovanou formou„ je míněna sloučenina vzorců 1 až 4, je-li navázána, popřípadě přes linker, na toto cílově specifické činidlo.

V technikách fotodynamické terapie, všeobecně známých v oboru, mohou být užity různé formy sloučenin podle vynálezu. Jak vysvětleno v popisu dosavadního stavu techniky, může být fotodynamická terapie prováděna mnoha postupy a pro rozmanité indikace. Kromě toho v některých případech projevují sloučeniny tohoto typu farmakologické aktivity v nepřítomnosti světla. Standardní farmaceutické kompozice, včetně lipozomálních kompozic, jsou žádoucí pro používání v takových aplikacích.

Zvláště použitelné podle výše uvedených skutečností jsou sloučeniny vzorců 14 až 16, ve kterých R^5 je vinyl, zvláště ve kterých R^1 a R^6 jsou methyl, vzorce 14 nebo odpovídající formy substituované na kruhu A (13), opět zvláště ty, ve kterých R^1 a R^6 jsou methyl, a zvláště sloučenina B3 z příkladu 3, který je uveden dále.

Příprava trikyseliny

Ústřední pro syntézu sloučenin podle vynálezu je příprava rtikyselin vzorce 1 až 4, to znamená sloučenin, ve kterých X a Y jsou OH. Při této přípravě se jako výchozí látka použije forma sloučenin vzorců 1 až 4, která je více esterifikovaná s ohledem na vinylový a propionový karboxyl než sama

trikyselina. Typicky bude vinylový karboxyl ve formě esteru, typicky alkylesteru, a propionové karboxyly mohou být také esterifikovány. Případně mohou být jako výchozí látky použity estery substituovaných uhlovodíkových zbytků, stejně jako odpovídající amidy.

Protože reakce na propionových karboxylech jsou mnohem snadnější než na vinylovém karboxylu, jsou typickými výchozími sloučeninami sloučeniny vzorců 1 až 4, ve kterých je vinylový karboxyl je ester nebo amid, zatímco propionové karboxyly mohou být již úplně nebo částečně hydrolyzovány. Typickými výchozími sloučeninami by tak mohly být sloučeniny obecných vzorců 1 až 4, ve kterých jsou vinylový i propionový karboxyl v esterifikované nebo amidované formě, nebo ve kterých je jak vinylový, tak propionový karboxyl ve formě amidu, nebo odpovídající sloučeniny, ve kterých jsou propionové karboxyly kompletně nebo částečně hydrolyzovány. Jako výchozích sloučenin je možno také použít smíšených amidů a esterů.

Tyto výchozí sloučeniny se rozpustí ve vhodném rozpouštědle jakým je dimethylformamid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO) nebo tetrahydrofuran (THF) nebo jejich směsi. a je na ně působeno vhodnou zásadou jako je hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid lithný, hydroxid vápenatý, hydroxid barnatý, hydroxid chromitý nebo tetraalkylamonium hydroxid, nebo některá další vhodná silná zásada. Mohou být také použita pevná alkalická činidla na bázi pryskyřice. V reakční směsi může být také přítomna voda, stejně jako alkoholy s nízkou molekulovou hmotností. Typická koncentrace báze je od 0,1 do 1 M. Je výhodné, jestliže reakce probíhá za oxidačně inertní atmosféry, jakou poskytuje například dusíková, heliová nebo argonová atmosféra. Teplota reakční směsi je v rozmezí od 0 do 60 °C, ale s výhodou se reakce provádí při pokojové teplotě. Reakční doba závisí na účinnosti hydrolyzy vinylových karboxylů a obecně je v rozmezí 2 až 48 hodin. Doba reakce závisí na teplotě, při které probíhá reakce, ale obecně pokud reakce probíhá při pokojové teplotě, bude reakce

dokončena po asi 18 hodinách. Postup hydrolýzy může být sledován chromatograficky, například pomocí TLC nebo HPLC, takže může být vybrán příslušný časový úsek.

Trikyselina jako reakční produkt se za reakčních podmínek často vysráží, ale může být znovu rozpuštěna přidáním vody. Produkt je poté výhodně vysrážen snížením pH na asi 3 až 4 za pomoci kterékoli vhodné kyseliny, obvykle jako je kyselina sírová, dusičná, chlorovodíková nebo $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$. Vysrážená trikyselina může být rekrystalizována ve vhodných rozpouštědlech. Pro tuto rekrystalizaci je zvláště výhodným rozpouštědlem methanol.

Jakmile je získán krystalizačně vyčištěný produkt, je možno trikyselinu zpracovat za standardních reakčních podmínek, jak je uvedeno v reakčních schématech 1 až 4 pro přípravu široké škály fotoaktivních sloučenin vzorců 1 až 4. Mohou být prováděny konverze skupiny, která je představována symbolem R^5 , s ohledem na kterýkoli z meziproduktů nebo s ohledem na výchozí sloučeniny a produkty.

Dále uvedené příklady mají vynález ilustrovat, nikoliv však omezovat.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava trikyseliny vzorce 6

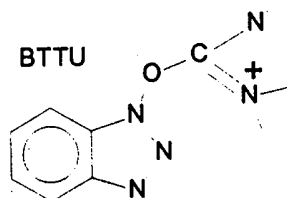
1,0 g (1,37 mM) tetraesteru získaného z Diels-Alderova aduktu B-kruhu na protoporphyrin IX, to znamená sloučenina vzorce 2, ve které R^1 je Me, Y a X jsou -OMe, je 2 a R^5 je vinyl, bylo přidáno k suspenzi LiOH (1,0 g, 41 mM) v 50 ml tetrahydrofuranu, 10 ml methanolu a 5,0 ml vody, která byla odplyněna mícháním v dusíkové atmosféře po dobu jedné hodiny. Reakční směs byla dále míchána po dobu 18 hodin pod pomalým proudem dusíku. Reakce byla monitorována pomocí TLC na silikagelu za použití vyvíjecího rozpouštědlového systému dichlormethan/methanol. Reakční směs byla zpracována nejprve

přidáním 100 ml vody a poté snížením pH na hodnotu 3 až 4 za použití 5% HCl. Pevná látka byla odfiltrována a promyta vodou, která byla upravena kyselinou octovou na pH 3,5. Pevná trikyselina vzorce 6 byla rekrystalizována z vlhkého methanolu a výtěžek byl 770 mg (82 %). Trikyselina se při tání rozkládá. Struktura byla potvrzena analýzou C, H, N a NMR. NMR ukázala ztrátu methylesterové rezonance z postranních řetězců propionové kyseliny i rezonance z dolní části pole, připisované esteru na vinylové skupině. Pro potvrzení struktury bylo na trikyselinu vzorce 6 působeno diazomethanem za účelem znovuvytvoření výchozího materiálu.

Příklad 2

Příprava triesteru ethylenglykolu

50 mg (72 μ M) trikyseliny získané z příkladu 1 bylo rozpuštěno v suchém dimethylformamidu (DMF) (2 ml) a aktivováno benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluorborátem (BTTU) (Aldrich) (100 mg, 310 μ M) v přítomnosti triethylaminu (50 μ l). BTTU je aktivační činidlo karboxylu vzorce



Reakční směs byla míchána po dobu 6 hodin a poté bylo přidáno 250 μ l ethylenglykolu a poté 20 μ l DBU. Po 30 minutách byla reakční směs přidána do míchaného roztoku 20 ml dichlormethanu a 10 ml vody. Organická vrstva byla izolována a ještě třikrát promyta 5 ml vody při každém promytí. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zanechalo tmavě zelený olej. Produkt, 27 mg ethylenglykolového triesteru (38 %), byl izolován z preparativní tenkovrstvé chromatografické desky vymytím 5% methanolem v chlormethanu.

Příklad 3

Příprava B3

K 200 mg (0,289 mmol) trikyseliny připravené v příkladu 1 v 10,0 ml methanolu bylo přidáno cca 100 μ l (1 mmol) kyseliny sírové. Reakční směs byla zředěna po dvou hodinách přidavkem 10 ml 5% acetátu amonného a 20 ml dichlormethanu. Organická vrstva byla dvakrát promyta vodou. K produktu bylo přidáno 10 ml acetonitrilu. Poté bylo odstraněno rozpouštědlo v rotační odparce a byl získán tmavě zelený prášek. Produkt, B3, byl krystalizován ze systému methanol/chloroform a po 4 hodinách sušení při 60 °C ve vakuu bylo získáno 140 mg (67 %) tmavě zelené pevné látky. Produkt se při tání rozkládá. Struktura byla potvrzena pomocí C/H a N analýzy, pomocí hmotové spektrální analýzy s protonovou NMR analýzou jako vzorec 14, ve kterém R⁵ je vinyl a R¹ a R⁶ jsou methyl.

Příklad 4

Fotocitlivost buněk in vitro

Myší leukemické buňky (L1210) byly inkubovány ve vhodném pufru se sérem a bez něho v různých množstvích léčiva B3 po dobu jedné hodiny. Po odstranění léčiva byly buňky vystaveny účinku širokospektrálního záření při 9 J/cm². Schopnost buněk samostatně existovat byla určena o 20 hodin později za pomoci MTT kolorimetrické zkoušky. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 2A a 2B jako procenta uhynulých buněk pro buňky vystavené pouze světlu. LD₅₀ (dávka pro uhynutí 50 % buněk) byla 7 ng/ml bez přítomnosti a 35 ng/l v přítomnosti 10% séra. B3 je tedy velmi výkonná fotocitlivá látka v buňkách a udržuje si tyto vlastnosti v přítomnosti séra.

Příklad 5

Buněčná farmakokinetika

Absorpce B3 do buněk in vitro: Buňky L1210 (5x10⁶/ampule) byly inkubovány v přítomnosti 10 % séra s 3 μ g/ml B3 po dobu až do 100 minut. V různých časech během inkubace byly nádoby ve

dvojím exempláři vyjmuty z inkubátoru a buňky byly po promytí štěpeny a bylo stanoveno množství B3 v extraktu bylo za pomoci fluorescence v přítomnosti 1 % Tritonu X-100.

Uvolňování/zadržování B3 buňkami in vitro: Buňky L1210 byly inkubovány po dobu jedné hodiny s 3 $\mu\text{g/ml}$ B3 v přítomnosti 10 % séra, pak promyty a vloženy do média prostého léčiva s obsahem 10% séra. V různých časech byly hodnoceny dvojmo alikvoty na obsah B3 v buňkách, jak je popsáno výše.

Výsledky uvedené na obrázcích 3 a 4 ukazují, že B3 má in vitro velmi rychlou farmakokinetiku. Sloučenina vstupuje rychle do buněk a dosáhne maximální koncentrace za 20 minut. Po odstranění B3 z kultivačního média je uvolňování rychlé a téměř úplné po 30 minutách. Na základě zkušeností s jinými léčivy se očekává, že B3 bude mít velmi rychlou farmakokinetiku in vivo a tak se zamezí dlouhotrvající fotocitlivosti pokožky.

Příklad 6

Distribuce ve tkáni a clearance in vivo

Myším (normální, zdravé a nesoucí tumor M1) bylo intravenózně injikováno 4 mg/kg B3, formulované ve vodném roztoku obsahujícím DMSO. V různých časech po podání B3 byla zvířata usmrcena a ve tkáňových extraktech byl fluorescencí, jak je popsáno výše, stanoven obsah B3.

Výsledky jsou uvedeny na obrázku 5. Léčivo vymizelo z testovaných tkání po asi 5 minutách. B3 má tedy in vivo velmi rychlou farmakokinetiku, což potvrzuje očekávání, že při terapeutickém použití léčiva nedojde k prodloužené hypersenzitivitě pokožky.

Příklad 7

Selektivita in Vitro

V různých časech byla rovněž hodnocena biodistribuční data B3 (poměry tumor: tkáň), získaná u myši s nádorem M1 (rhabdomyosarkom). Během jedné hodiny po intravenózním podání 4 mg/kg B3 byl poměr tumor : tkáň pro svalovou tkáň 1,5 až 2,0 a

27.12.99

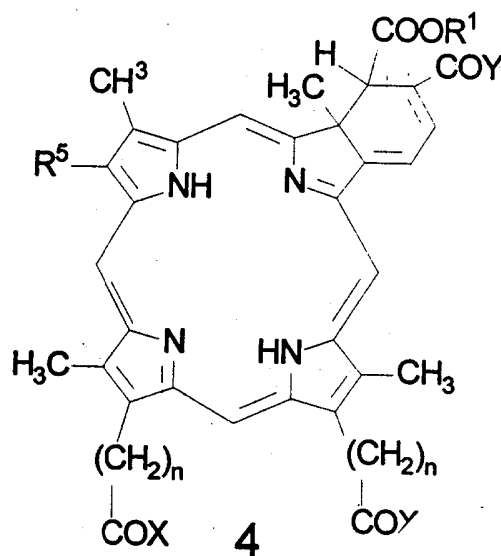
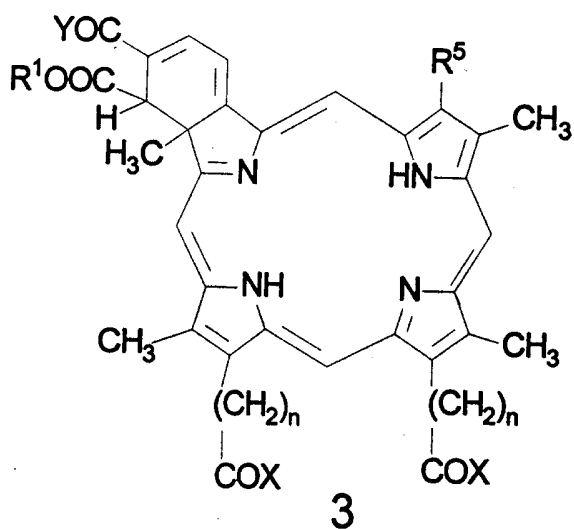
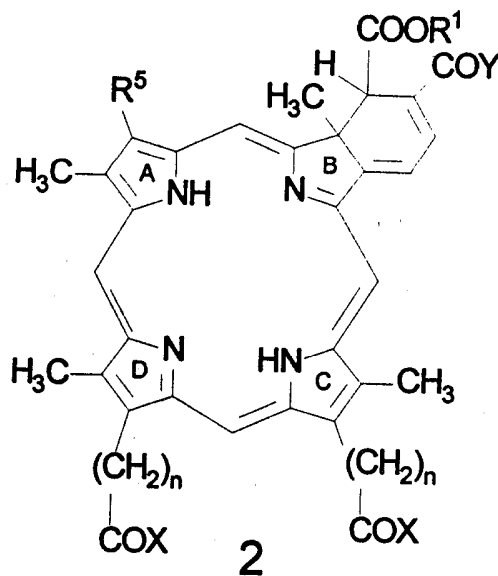
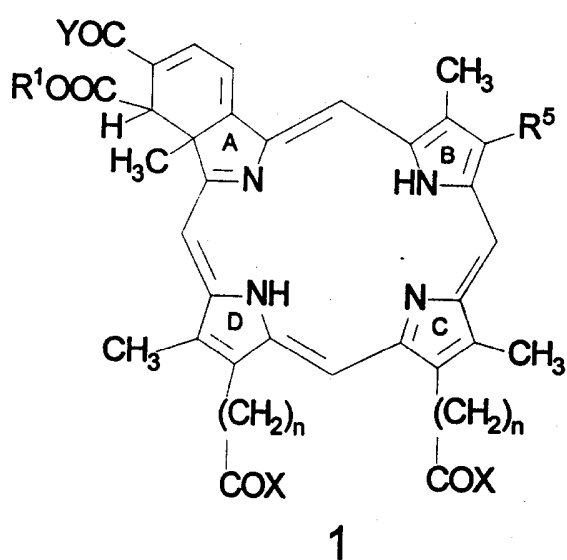
22

pro kožní tkáň 3,1 až 3,9. Lymfatické uzliny mají poměr 0,7. Z výsledků je zřejmé, že dochází k přednostnímu hromadění sloučeniny B3 v tumoru a dalších rychle bujících tkáních (lymfatické uzliny), v kontrastu s normálními, neproliferujícími tkáněmi. Protože toto výhodné hromadění bylo pozorováno krátce po podání sloučeniny B3, může být tento fotosensibilizátor aktivován světlem krátce po podání v injekci, což je pro klinické použití výhodné.

ROTT, RUBEŠKA & GUTTIANI
J. Rott

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina vzorce 1, 2, 3 nebo 4



a její soli a/nebo metalované a/nebo značené a/nebo konjugované formy

kde R^1 znamená C_{1-6} alkyl,

Y znamená $-OH$ nebo $-NR^2$ nebo $-NHR^2$, kde každé R^2 je nezávisle vodík nebo substituovaný nebo nesubstituovaný uhlovodíkový zbytek s 1 až 10 atomy uhlíku nebo kde oba substituenty R^2

společně poskytují cyklický nebo polycyklický amin s 1 až 20 atomy uhlíku, nebo $-OR^3$, kde R^3 je alkyl s 1 až 10 atomy uhlíku, substituovaný alespoň jedním heteroatom obsahujícím substituentem,

n je celé číslo od 0 do 6,

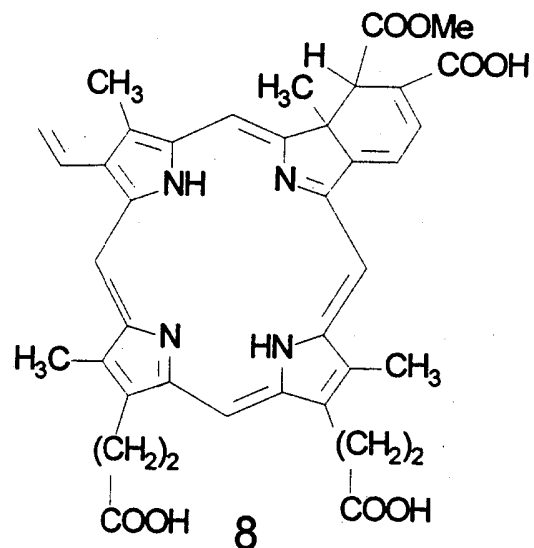
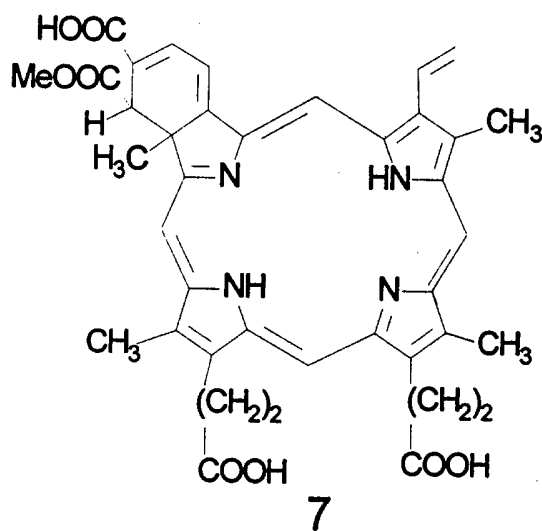
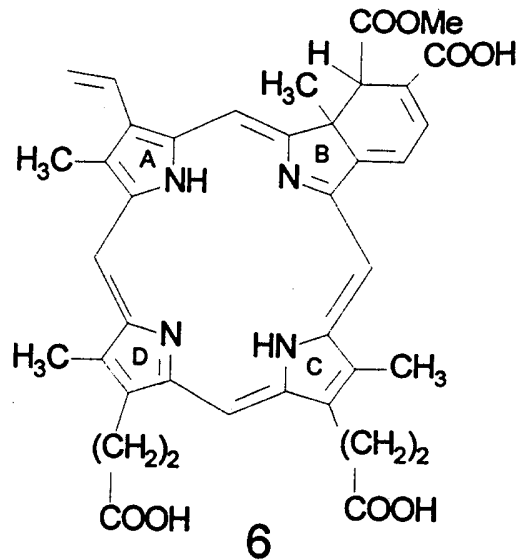
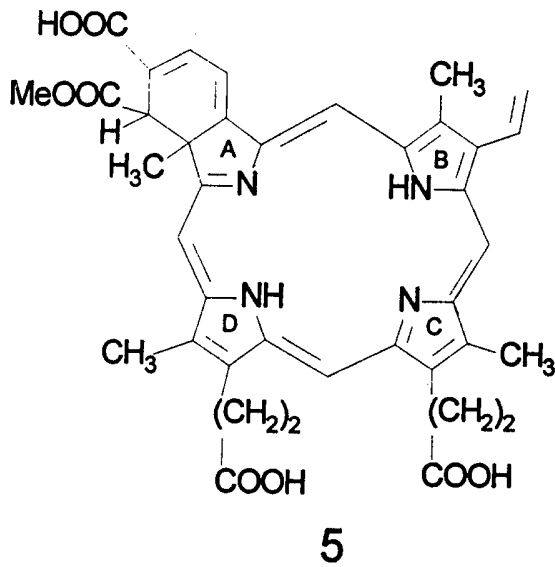
každé X je nezávisle $-OH$ nebo $-OR^4$, kde R^4 je nesubstituovaný uhlovodíkový zbytek s 1 až 10 atomy uhlíku, nebo znamená $-NR^2_2$ nebo $-NHR^2$, kde R^2 má výše uvedený význam, nebo znamená $-OR^3$, kde R^3 má výše uvedený význam, a

R^5 je vinyl, nebo jeho derivát.

2. Sloučenina podle nároku 1, ve které n je 2 a/nebo kde R^5 je vinyl, $-CHOR'$, $-CHO$, $-COOR'$, $-CH(OR')CH_3$, $-CH(OR')CH_2OR'$, $-CH(SR')CH_3$, $-CH(NR')_2CH_3$, $-CH(CN)CH_3$, $-CH(COOR')CH_2$, $-CH(OOCR')CH_3$, $-CH(NR'COR')CH_3$, $-CH(CONR'_2)CH_3$, $-CH(halo)CH_3$ nebo $CH(halo)CH_2(halo)$, kde R' je atom vodíku nebo uhlovodíkový zbytek s 1 až 6 atomy uhlíku, případně substituovaný heteroatomovým substituentem, nebo kde R^5 je organická skupina s nižším počtem atomů uhlíku než je 12, vznikající přímou nebo nepřímou derivatizací vinylové skupiny, nebo kde R^5 je skupina obsahující 1 až 3 jádra typu tetrapyrrolu a/nebo kde Y a oba X jsou $-OH$.

3. Sloučenina podle nároku 2, ve které R^5 je vinyl, a kde Y a oba X jsou $-OH$ a n je 2.

4. Sloučenina podle nároku 3, kterou je „trikyselina“ vzorce 5, 6, 7 nebo 8



5. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, kde Y je $-NR^2$.

6. Sloučenina podle nároku 5, kde každý $-NR^2$ nezávisle obsahuje methyl, ethyl, propyl, butyl, izobutyl, hexyl, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, cyklopentyl, cyklopentadienyl, furyl, thienyl, pyrrolyl, izopyrrolyl, pyridyl, pyrazolyl, indolyl, izoindolyl, imidazolyl, izoimidazolyl, triazolyl, furazanyl, izoxazolyl, oxazolyl, thiazolyl, izothiazolyl, oxadiazolyl, oxatriazolyl, dioxazolyl, fenyl, cyklohexyl, pyranyl, dioxinyl, pyridinyl, pyridazinyl,

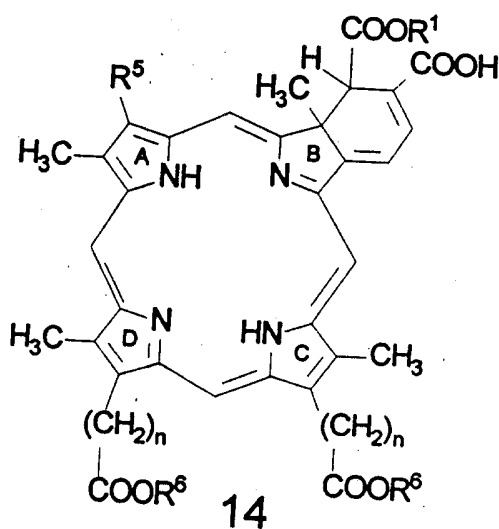
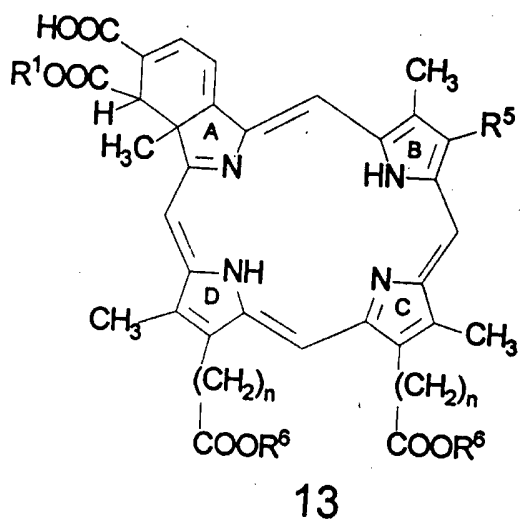
pyrimidinyl, pyrazinyl, piperazinyl, indolyzinyln, pyrrolidinyl, triazinyl, oxazinyl, izoxazinyl, oxathiazinyl, oxadiazinyl, morfolinyl, azepinyl, oxepinyl, thiepinyl, diazepinyl, indenyl, izoindenyl, benzofuranyl, izobenzofuranyl, thionaftenyl, izothionaftenyl, indolenyl, izobenzazolyl, pyrano-pyrrolyl, indazolyl, izoindazolyl, indoxazinyl, benzoxazolyl, chromenyl, anthanyl, naftyl, tetralinyl, dekalinyl, benzothienyl, benzopyranyl, kumarinyl, cinnolyl, benzopyronyl, chinolinyl, izochinolinyl, benzodiazinyl, chinolyl, izochinolyl, chinazolinyl, chinolizinyln, chinoxalinyl, naftyridinyl, pyridopyridinyl, benzoxazinyl, benzizoxazinyl, purinyl, ftalazinyl, naftyridinyl, pteridinyl nebo benzyl.

7. Sloučenina podle některého z nároků 1 až 2 nebo 5 až 6, kde oba substituenty X jsou $-NR^2_2$.

8. Sloučenina podle některého z nároků 1 až 2, kde oba X a Y jsou $-OCH_2CH_2OH$.

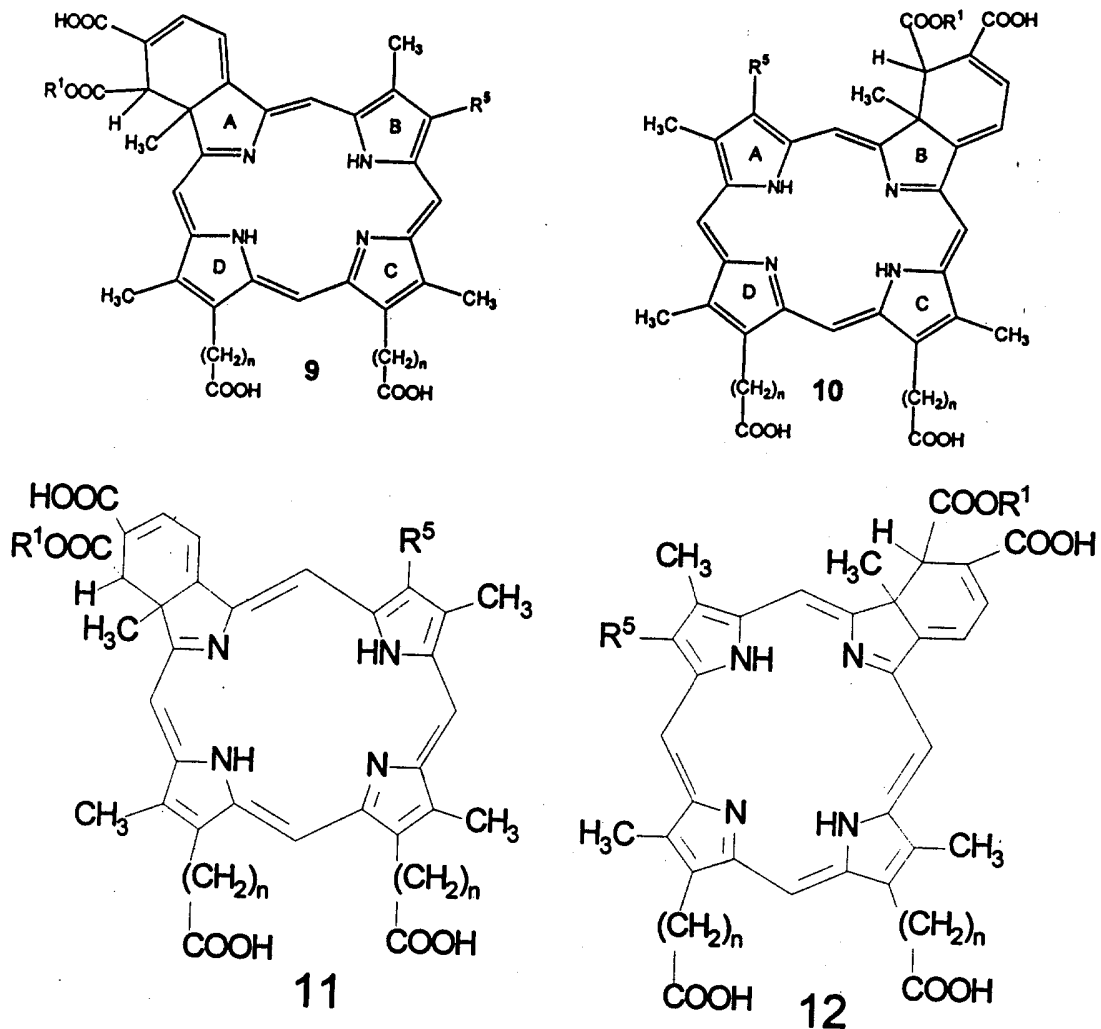
9. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, kde Y je OH a oba X jsou $-OR^6$, kde R^6 je nižší alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku.

10. Sloučenina podle nároku 9 vzorce 13 nebo 14



ve kterém n je 2 a R^5 je vinyl.

11. Způsob přípravy sloučeniny vzorce 9, 10, 11 nebo 12



a jejich solí a/nebo metalovaných a/nebo značených a/nebo konjugovaných forem
kde R^1 znamená C_{1-6} alkyl,
 n je celé číslo od 0 do 6 a
 R^5 je vinyl nebo jeho derivát,
vyznačující se tím, že se na více esterifikovanou formu uvedené sloučeniny nebo její soli, metalované formy, značené formy nebo konjugované formy působí bázi a rozpouštědlem po dobu dostatečnou pro deesterifikaci za účelem získání produktu.

12. Způsob podle nároku 11, vyznačující se tím,

že se uvedené působení provádí v inertní atmosféře, zabraňující oxidaci, a/nebo

že uvedenou bází je hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid lithný, hydroxid vápenatý, hydroxid barnatý, hydroxid chromitý nebo tetraalkylamoniumhydroxid, a/nebo

že rozpouštědlem je DMSO, alkohol s nízkou molekulovou hmotností, DMF, THF nebo voda, nebo jejich směsi a/nebo

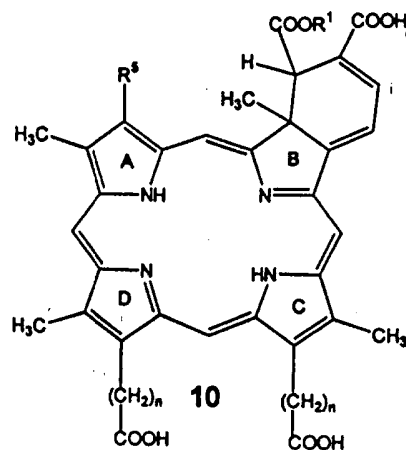
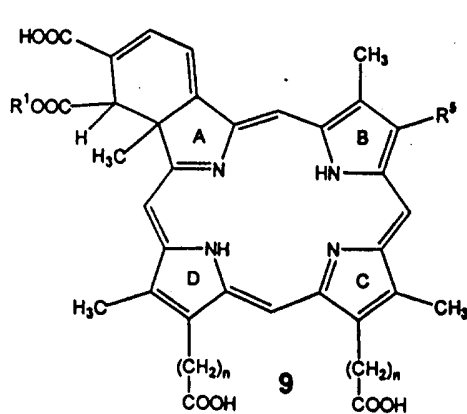
že uvedená inertní atmosféra je poskytnuta plynným dusíkem, heliem nebo argonem a/nebo

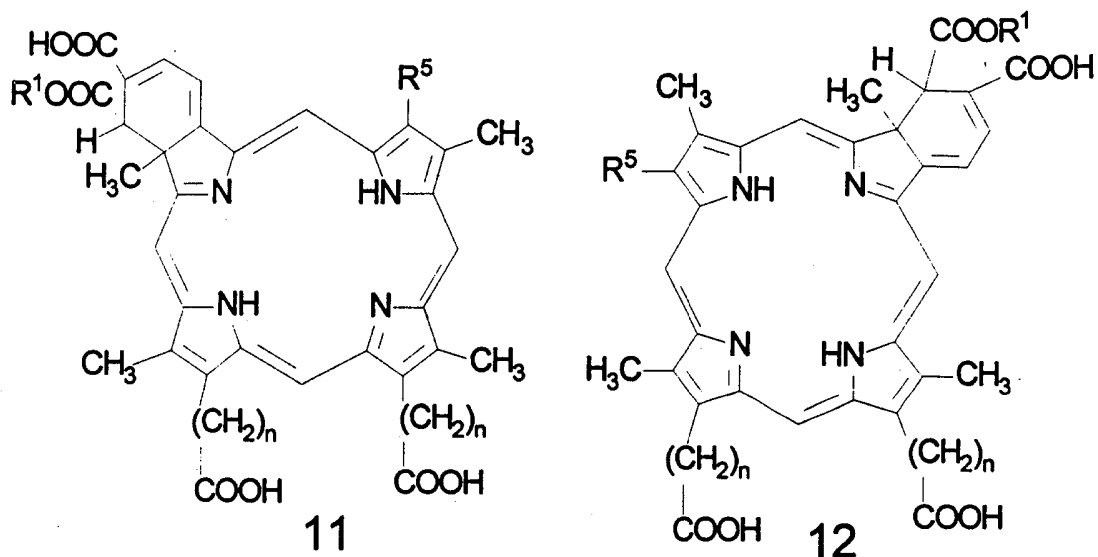
že se uvedené působení provádí při teplotě asi 0 až 60 °C a/nebo

že se uvedené působení provádí při pokojové teplotě po dobu asi 2 až 48 hodin.

13. Způsob podle nároku 11 nebo 12, vyznačující se tím, že se produkt nebo jeho sůl, metalovaná forma, značená forma nebo konjugovaná forma rozpustí ve vodě a přidá se dostatečné množství kyseliny pro vysrážení uvedené sloučeniny.

14. Způsob přípravy sloučeniny vzorců 1 až 4, nebo jejich solí nebo metalovaných, značených nebo konjugovaných forem, ve kterých R^1 je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, Y a X jsou oba $-OR^3$ nebo $-NR^2_2$, n je celé číslo od 0 do 6 a R^5 je vinyl nebo jeho derivát, vyznačující se tím, že se na formu výchozí sloučeniny s aktivovaným karboxylem vzorce 9, 10, 11 nebo 12





a jejich solí a/nebo metalovaných a/nebo značených a/nebo konjugovaných forem, kde R^1 je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, n je celé číslo od 1 do 6 a kde R^5 je vinyl nebo jeho derivát, působí pomocí R^3OH , nebo HNR^2_2 za podmínek, které jsou dostatečné pro tvorbu sloučeniny vzorce 1 až 4 nebo její metalované nebo značené nebo konjugované formy, ve které Y a oba X jsou buď $-OR^3$ nebo NR^2_2 .

15. Způsob podle nároku 14, vyznačující se tím, že aktivovaný karboxyl se získá působením aktivačního činidla na volné karboxylové skupiny uvedené výchozí sloučeniny.

16. Způsob podle nároku 14, vyznačující se tím, že Y a oba substituenty X jsou skupina $-OR^3$ a kde $-OR^3$ je $-OCH_2CH_2OH$ a $-R^3OH$ je ethylenglykol.

17. Způsob podle nároku 15, vyznačující se tím, že aktivačním činidlem je TSTU nebo BTU.

18. Farmaceutická kompozice vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu podle kteréhokoli z nároků 1 až 10 ve směsi s farmaceuticky přijatelným excipientem.

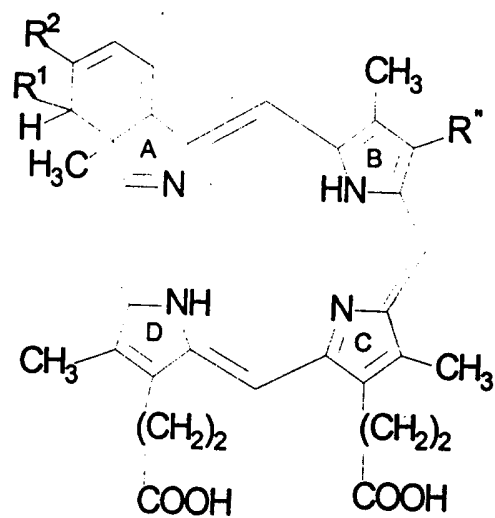
19. Zlepšený způsob provádění fotodynamické terapie

27.10.99

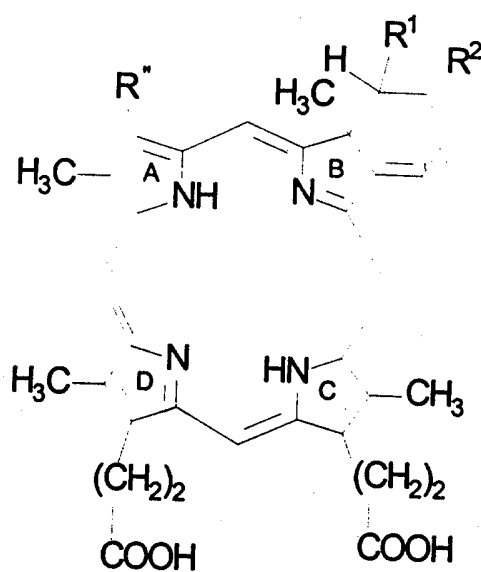
30

vyznačující se tím, že spočívá v použití sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 10 jako fotoaktivního činidla.

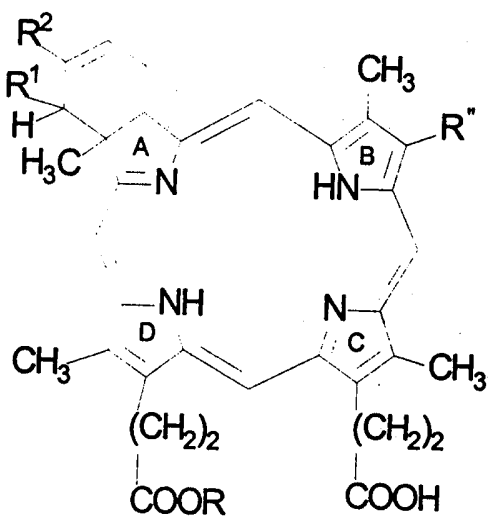
ROTT, HÜBNER & GUTHE
J. Rott



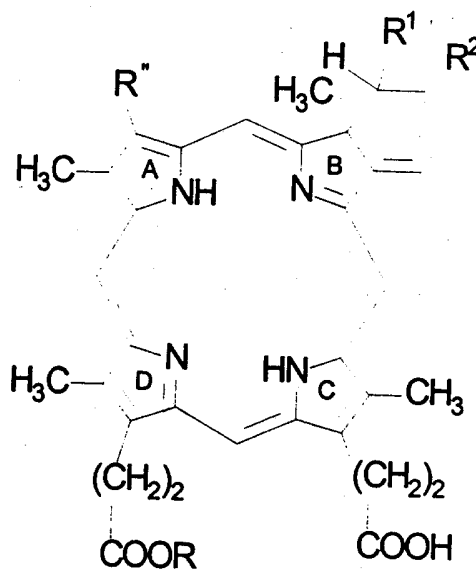
BPD-DA



BPD-DB



BPD-MA



BPD-MB

Figure 1

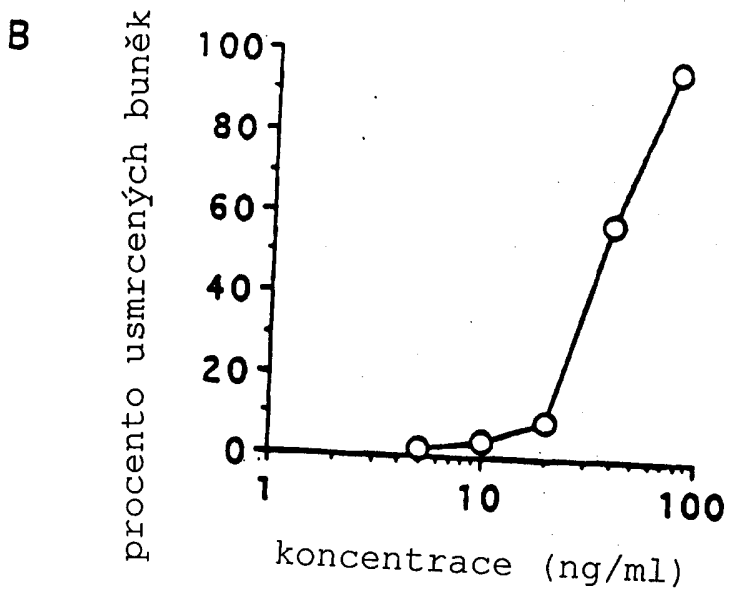
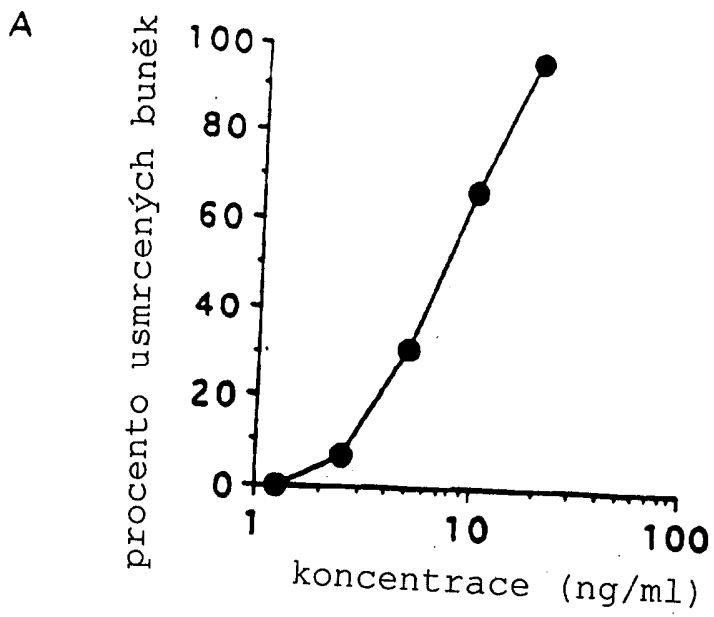


Figure 2

ROTT, RÚŽIČKA, ŠTUMPFER
J. Růžička

Kinetika absorpce B3 buňkami L1210

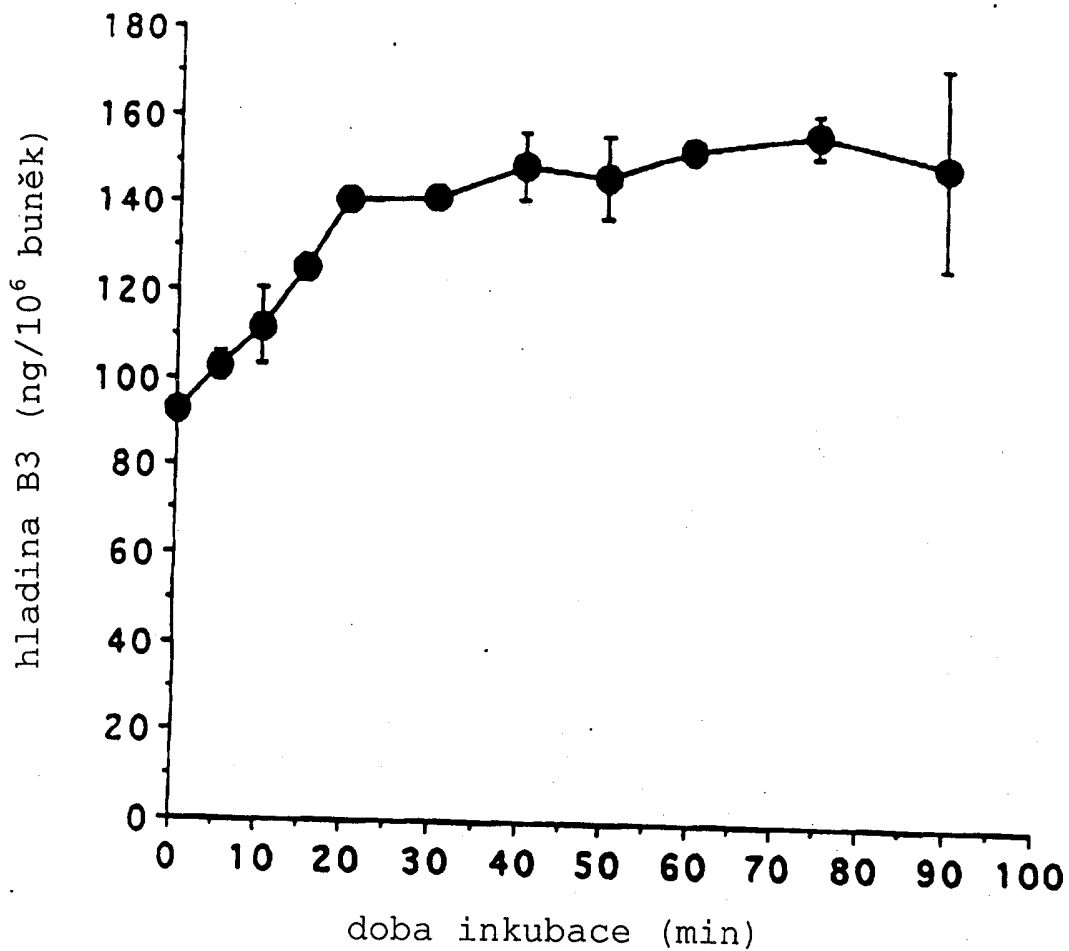


Figure 3

ROTT, FINKOVA, & CUTLIANN

Jirka

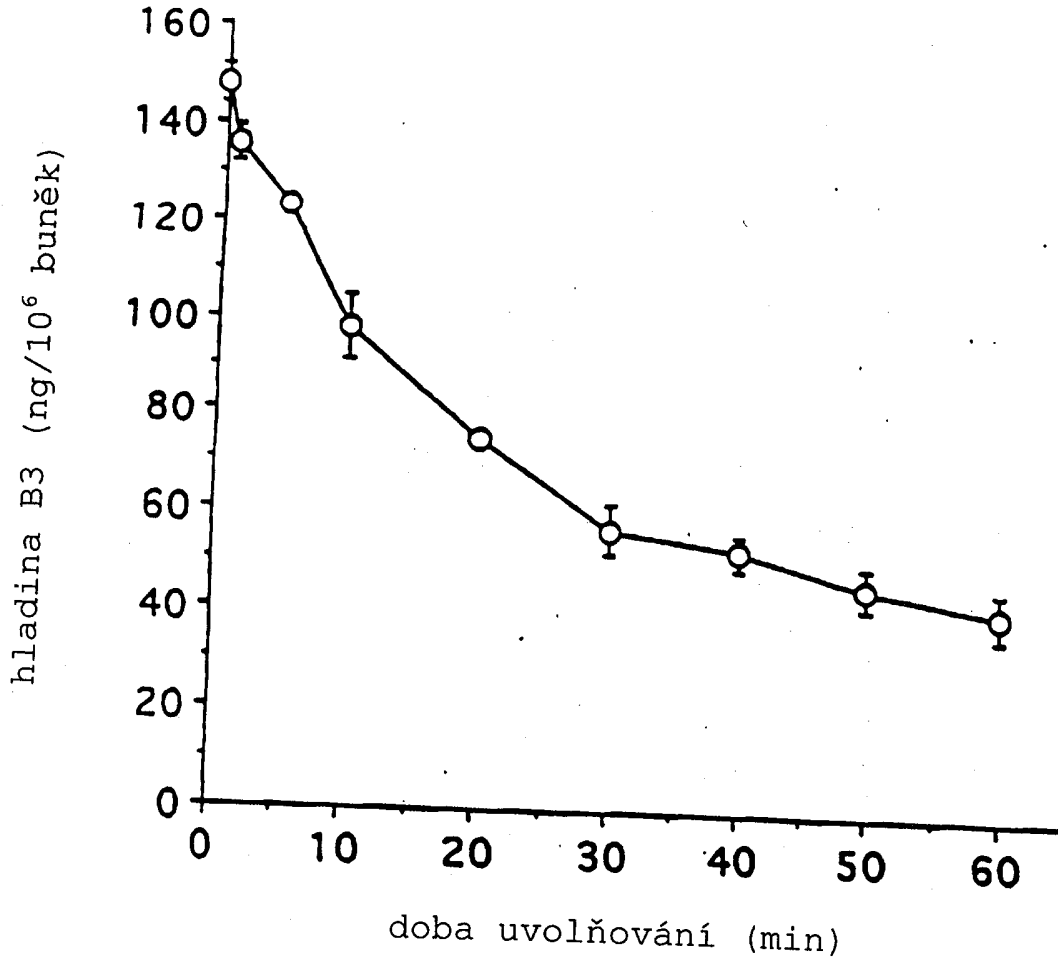


Figure 4

ROST, HONČKA & GUTTMANN

jiroka

Biodistribuce B3 v myších tkáních (4 mg/kg)

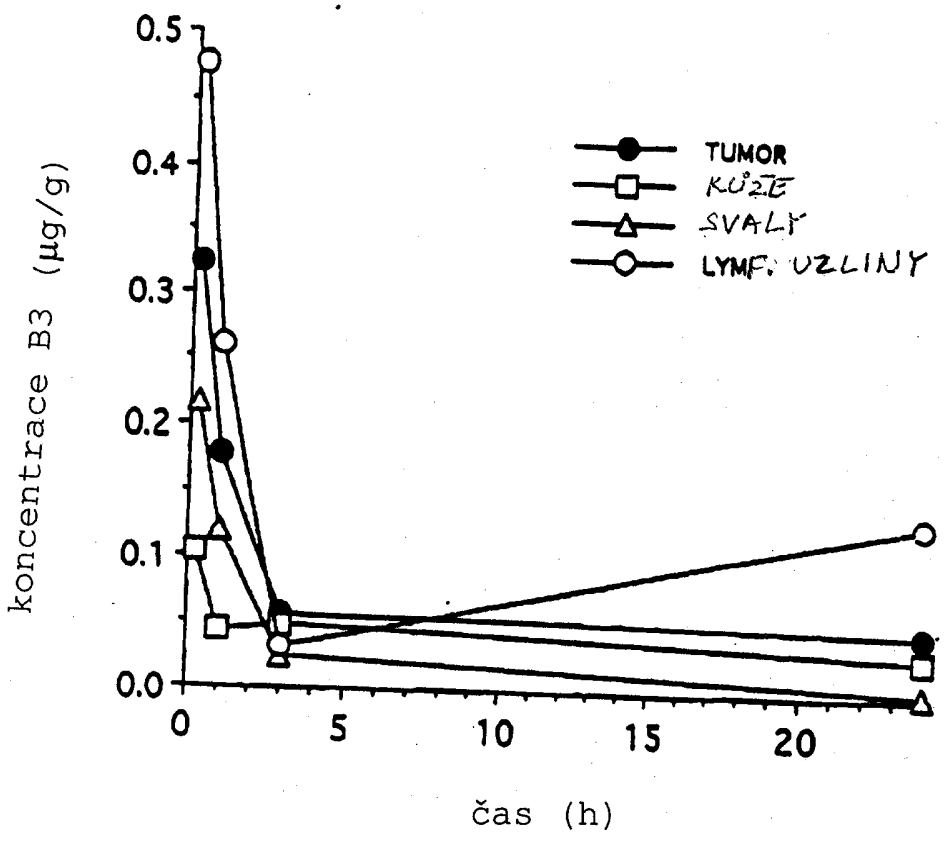


Figure 5

FIGURE 5: BIODISTRIBUTION OF B3 IN MICE
J. W. H. K.