



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012117978/04, 06.10.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.10.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
06.10.2009 FR 0956962

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2013 Бюл. № 32

(45) Опубликовано: 10.05.2015 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ISHIKAWA Y ET AL : "Participation of an Intermediate Sulfoxide in the Enzymatic Thiolation of the Imidazole Ring of Hercynine to Form Ergothioneine", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol.249, 1974, PP.4420-4427. SHOSUKE ITO , "Synthesis of 2-S-cysteinylhistidine and 2-mercaptohistidine via bromolactone derivative of histidine", Journal of (см. прод.)

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 10.05.2012

(86) Заявка РСТ:
EP 2010/064950 (06.10.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/042480 (14.04.2011)

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-ПАТЕНТ", В.В.Дощечкиной

(72) Автор(ы):

ЭРДЕЛЬМЕЙЕР Ирэн (FR)

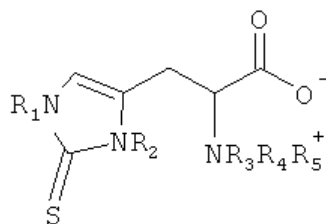
(73) Патентообладатель(и):

ТЕТРАГЕДРОН (FR)

(54) СПОСОБ СИНТЕЗА ЭРГОТИОНЕИНА И ЕГО АНАЛОГОВ

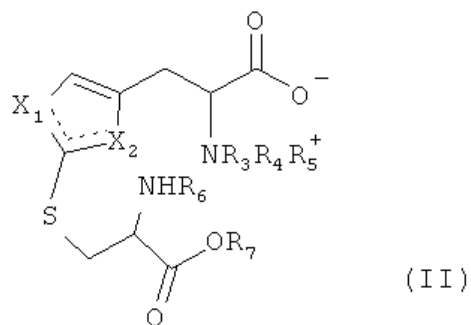
(57) Реферат:

Изобретение относится к способу синтеза эрготионеина или одного из его производных формулы (I):



(I)

из соединения бетаинового типа формулы (II):



путем реакции расщепления в присутствии тиола при температуре 60°C или выше. Изобретение также относится к соединениям формулы (II) и к способу их синтеза. 3 н. и 16 з.п. ф-лы, 5 пр.

(56) (продолжение):

organic chemistry, vol.50, no.19., 1985, pp.3637-3638. XU J ET AL., "Synthesis of L-(+)-Ergothioneine", Journal of organic chemistry, vol.60, no.20., 1995, pp.6296-6301. WO 95/00494, A1, 05.01.1995. JP 058057365, A, 05.04.1983. JP 2009161498, A, 23.07.2009. WO 2009/045413, A1, 09.04.2009. RU 2242224, C2, 20.12.2004

R U 2 5 5 0 2 0 2 C 2

R U 2 5 5 0 2 0 2 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2012117978/04, 06.10.2010**(24) Effective date for property rights:
06.10.2010

Priority:

(30) Convention priority:
06.10.2009 FR 0956962(43) Application published: **20.11.2013** Bull. № 32(45) Date of publication: **10.05.2015** Bull. № 13(85) Commencement of national phase: **10.05.2012**(86) PCT application:
EP 2010/064950 (06.10.2010)(87) PCT publication:
WO 2011/042480 (14.04.2011)

Mail address:

**197101, Sankt-Peterburg, a/ja 128, "ARS-PATENT",
V.V.Doshchechkinoj**

(72) Inventor(s):

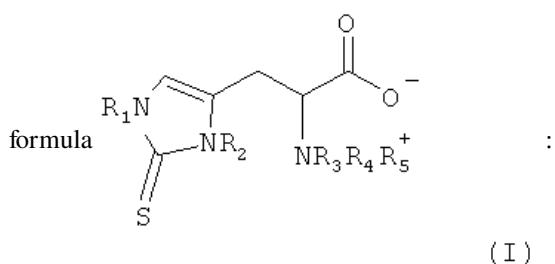
EhRDEL'MEJER Irehn (FR)

(73) Proprietor(s):

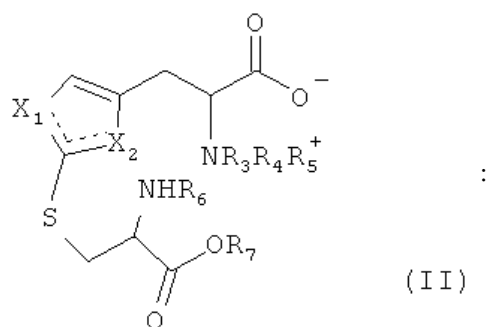
TETRAGEDRON (FR)(54) **METHOD OF SYNTHESISING ERGOTHIONEINE AND ITS ANALOGUES**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to a method of
synthesising ergothioneine or one of its derivatives of

from a compound of betaine type of formula



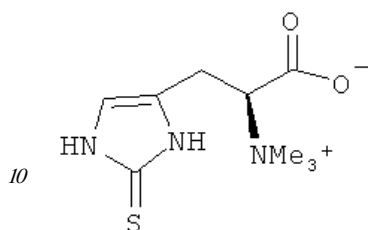
by cleavage reaction in the presence of thiol at a temperature of 60°C and higher. The invention also relates to compounds of formula (II) and to a method of their synthesis.

EFFECT: increase of the synthesis efficiency.

19 cl, 5 ex

Настоящая заявка на патент относится к новому способу синтеза эрготионеина и его производных.

Эрготионеин, открытый в 1909 г. Tanret в спорынье ржи, представляет собой аминокислоту природного происхождения с антиоксидантными свойствами,
 5 соответствующую формуле:



Его присутствие продемонстрировано не только в широком ряде грибов и микобактерий, но также в растениях, животных и людях. Растения всасывают эрготионеин, биосинтезированный прикрепленными к ним грибами, на уровне их
 15 корней. Высшие организмы и, в частности, люди, поглощают его только посредством пищи.

Таким образом, в литературе предложено несколько способов синтеза этой молекулы, но только два из них позволяют получить в качестве конечного продукта L-эрготионеин (природный энантиомер).

В международной заявке WO 95/00494 предложен 5-стадийный синтез L-эрготионеина путем взаимодействия метилового эфира N α ,N α -диметилгистидина (который получают из L-гистидина в 2 стадии) с фенилхлортиоформиатом, затем взаимодействия с
 20 этилхлорформиатом, образования четвертичного аммония и, наконец, удаления защиты атома серы и метилового эфира. Таким образом, при такой стратегии синтеза, чтобы
 25 дать возможность метилирования группы диметиламина с образованием функциональной группы бетаина, необходима защита атома серы, который не может присутствовать в свободной форме. Кроме того, фенилхлортиоформиат должен быть получен из тиофосгена (CSCl₂), токсичного реагента, а также с трудом доступного в
 30 большом количестве для применения в промышленном масштабе.

В заявке на патент US 2009/093642 также описан 9-стадийный синтез L-эрготионеина из гистидина путем размыкания имидазольного кольца и взаимодействия с тиоцианатом, таким как тиоцианат калия, с получением 2-тиогистидина (в соответствии со способом, описанным Heath, H. et al., 1951, J.Chem. Soc., 2215), затем защиты атома серы трет-
 35 бутильной группой, образования четвертичного аммония и удаления защиты атома серы. Кроме использования больших объемов соляной кислоты, KSCN, используемый в кислой среде, является высокотоксичным реагентом.

Эти два способа имеют два общих момента. Помимо большого числа их стадий, их объединяют недостатки, состоящие в использовании не только очень токсичных
 40 реагентов, но также значительных количеств органических растворителей и концентрированной соляной кислоты, что приводит к риску в отношении окружающей среды.

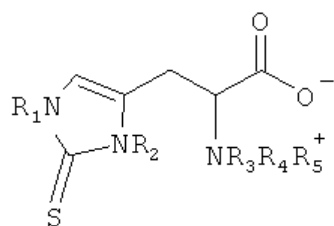
Что касается стратегии синтеза, эти два способа включают общую стадию введения атома серы из гистидина или одного из его N-диметилированных производных, затем
 45 образования группы бетаина, при этом недостаток состоит в том, что синтез становится неудобным за счет дополнительных стадий защиты и удаления защиты.

Существует действительная необходимость в разработке нового способа синтеза эрготионеина и его производных, который применим на промышленном уровне, иными словами, не имеет трудностей с очисткой, в котором не используют продукты или

растворители, опасные или токсичные для людей и окружающей среды, и который обеспечивает получение продукта в промышленном масштабе при хорошем выходе и низких затратах.

С целью разработки способа, благоприятного для окружающей среды, в то же время, с использованием реагентов низкой токсичности, с минимальным числом стадий и проведением реакций в водной среде автор изобретения решил выбрать "обратную" стратегию синтеза, которая состоит во введении атома серы в промежуточное соединение, уже имеющее бетаиновую группу. Данный подход, полностью оригинальный, можно считать биомиметическим, поскольку ферментативный биосинтез L-эрготионеина в грибах идет таким же путем (Askari, A. and Melville, D.B., 1962, J. Biol. Chem., 237, 1615-1618).

Таким образом, объектом настоящей заявки на патент является способ синтеза производного формулы (I):



(I)

или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

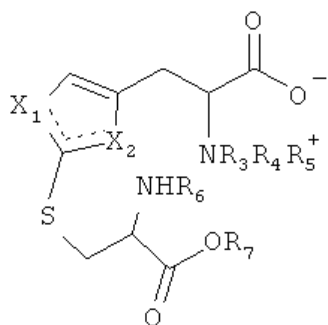
для которых:

R_1 и R_2 независимо друг от друга представляют собой атом водорода или (C_1 - C_4)алкильную группу, такую как метил, где по меньшей мере одна из групп и R_2 представляет собой атом водорода, и предпочтительно каждая представляет собой атом водорода, и

R_3 , R_4 и R_5 независимо друг от друга представляют собой (C_1 - C_4)алкильную группу, такую как метил,

включающий приведенные ниже последовательные стадии:

(i) реакция расщепления соединения формулы (II):



(II)

или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых:

- X_1 и X_2 представляет собой R_1N или NR_2 ,

- R₁, R₂, R₃, R₄ и R₅ являются такими, как определено выше,

- R₆ представляет собой атом водорода или группу (C₁-C₄)алкил или CO-((C₁-C₄)алкил), в частности атом водорода или группу -COCH₃, и более предпочтительно атом водорода,

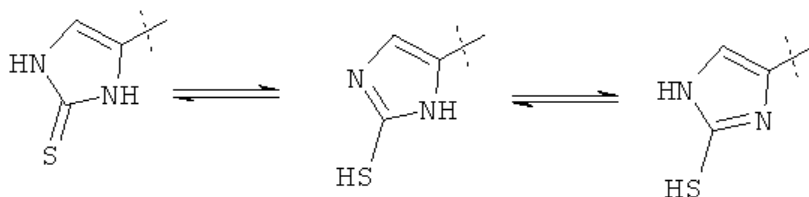
и
- R₇ представляет собой атом водорода или (C₁-C₄)алкильную группу и, в частности, атом водорода,

в присутствии тиола, предпочтительно растворимого в растворителе реакционной смеси, который может, в частности, представлять собой воду, при температуре 60°C или выше, с получением соединения формулы (I), и

(ii) выделение соединения формулы (I), полученного на предыдущей стадии (i), из реакционной среды.

Понятие "таутомер" в соответствии с настоящим изобретением означает структурный изомер соединения, полученный посредством прототропии, иными словами, посредством миграции атома водорода и изменения положения двойной связи. Различные таутомеры соединения, как правило, являются взаимопревращаемыми, и присутствуют в растворе в равновесии в соотношениях, которые могут варьировать в соответствии с используемым растворителем, температурой или даже pH.

В рамках соединений по изобретению 2-тиоимидазольное кольцо может присутствовать в приведенных ниже различных таутомерных формах:



В настоящем изобретении понятие "физиологически приемлемый" означает то, что в целом является безопасным, нетоксичным и ни биологически, ни иначе нежелательным, и что является приемлемым для фармацевтического, косметического или пищевого применения (человека или животного), в частности, пищевого применения.

Понятие "физиологически приемлемые соли" соединения означает соли, которые являются физиологически приемлемыми, как определено выше, и которые обладают желаемой активностью (фармакологической косметической или пищевой) исходного соединения. Такие соли включают:

(1) гидраты и сольваты,

(2) соли присоединения кислоты, образованные с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и тому подобное; или образованные с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, бензолсульфоновая кислота, бензойная кислота, камфорсульфоновая кислота, лимонная кислота, этансульфоновая кислота, фумаровая кислота, глюкогептоновая кислота, глюконовая кислота, глутаминовая кислота, гликолевая кислота, гидроксинафтойная кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, молочная кислота, малеиновая кислота, яблочная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, муконовая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, пропионовая кислота, салициловая кислота, янтарная кислота, дибензоил-L-винная кислота, винная кислота, пара-толуолсульфоновая кислота, триметилуксусная кислота, трифторуксусная кислота и тому подобное, или

(3) соли, образованные, когда протон кислоты, присутствующий в исходном соединении, либо замещен ионом металла, например ионом щелочного металла, ионом

щелочноземельного металла или ионом алюминия, либо скоординирован с органическим или неорганическим основанием. Приемлемые органические основания включают диэтаноламин, этаноламин, N-метилглюкамин, триэтаноламин, трометамин и тому подобное. Приемлемые неорганические основания включают гидроксид алюминия, гидроксид кальция, гидроксид калия, карбонат натрия и гидроксид натрия.

Понятие "стереоизомеры" означает в соответствии с настоящим изобретением диастереоизомеры и энантиомеры. Они, таким образом, являются оптическими изомерами. Стереоизомеры, которые не являются зеркальными отражениями друг друга, называют "диастереоизомерами", а стереоизомеры, которые являются зеркальными отражениями друг друга, но не накладываются друг на друга, называют "энантиомерами".

Смесь, содержащая равные количества двух индивидуальных энантиомерных форм противоположной хиральности, обозначают как "рацемическая смесь".

Группа "(C₁-C₄)алкил" означает в соответствии с настоящим изобретением насыщенную нормальную или разветвленную углеводородную цепь, содержащую от 1 до 4 атомов углерода. Она может представлять собой метильную, этильную, пропильную, изопропильную, бутильную, изобутильную, втор-бутильную или трет-бутильную группу. В частности, она может представлять собой метильную группу.

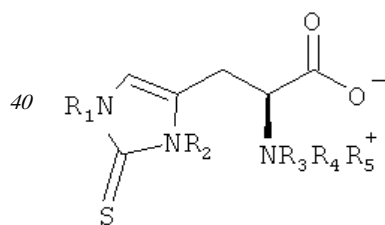
"Тиол" означает в соответствии с настоящим изобретением любой реагент, содержащий группу SH или ее молекулярную структуру. Более предпочтительно он представляет собой соединение R-SH, где R представляет собой C₁-C₈, а именно нормальную или разветвленную насыщенную углеводородную цепь C₂-C₆, замещенную одним или более полярными заместителями.

"Насыщенная углеводородная цепь" означает в соответствии с настоящим изобретением нормальную или разветвленную насыщенную углеводородную цепь, предпочтительно содержащую от 1 до 8 атомов углерода. Более предпочтительно она может представлять собой нормальную насыщенную цепь, такую как метильная, этильная, пропильная, бутильная, пентильная или гексильная группа.

Полярные заместители означают в соответствии с настоящим изобретением гидрофильные группы, такие как группы OH, SH, NH₂ и COOH.

"Реакция расщепления" означает в соответствии с настоящим изобретением, что соединение, участвующее в этой реакции, в процессе данной реакции делится на две части, чтобы дать возможность в данном случае образования тиокарбонильной функциональной группы соединения формулы (I).

Соединение формулы (I) может, в частности, представлять собой соединение формулы (Ia):



(Ia)

или его физиологически приемлемую соль, таутомер, стереоизомер или смесь стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесь энантиомеров, и в особенности их рацемическую смесь,

для которых R₁, R₂, R₃, R₄ и R₅ являются такими, как определено выше.

Соединение формулы (I) представляет собой, в частности эрготионеин, и, в частности, L-эрготионеин.

Стадия (i):

Данная реакция расщепления, проведенная в присутствии тиола, дает возможность
5 получить как соединение формулы (I), так и пировиноградную кислоту ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{-CO}_2\text{H}$) или ее производное, в частности эфир ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{-CO}_2\text{R}_6$) или его производное, полученное в результате взаимодействия с тиолом, такое как производное тиокетала (две молекулы тиола, взаимодействующие с кетоновой функциональной группой пировиноградной
10 кислоты).

Кроме того, тиол должен быть предпочтительно растворимым в растворителе реакционной смеси, который может представлять собой, в частности, воду, что обладает дополнительным преимуществом в том, что является лучшим для экологии.

Тиол, используемый на данной стадии (i), может более предпочтительно представлять собой тиол формулы R-SH , где R представляет собой нормальную или разветвленную,
15 предпочтительно нормальную алкильную цепь, содержащую от 1 до 8, в особенности от 2 до 6, в частности от 2 до 4 атомов углерода, замещенную одной или более группами, выбранными из OH, SH, NH_2 и COOH.

Присутствие гидрофильных групп (OH, SH, NH_2 и COOH), в частности, даст
20 возможность придать тиолу большую растворимость в воде, где воду используют в качестве растворителя.

Тиол может быть более предпочтительно выбран из цистеина, дитиотрейтола, 2-меркаптоэтанола, 2-меркаптопропионовой кислоты, 3-меркаптопропионовой кислоты и тиогликолевой кислоты, и предпочтительно представляет собой 3-
25 меркаптопропионовую кислоту.

Он также может представлять собой меркаптоуксусную кислоту и меркаптогексановую кислоту.

Предпочтительно используют по меньшей мере 2 молярных эквивалента тиола по отношению к соединению (II), то есть по меньшей мере 2 моль тиола используют на
30 один моль используемого соединения (II). В частности, можно использовать по меньшей мере 5 молярных эквивалентов тиола, и, в особенности, от 5 до 10 молярных эквивалентов тиола по отношению к соединению (II).

Реакционную смесь нагревают при температуре выше 60°C , поскольку ниже этой температуры кинетика реакции была бы слишком медленной. Реакцию можно проводить
35 при температуре от 60°C до 120°C , в особенности от 80°C до 100°C , более предпочтительно после добавления тиола.

Реакцию можно проводить, в частности, в кислой среде.

Стадия (ii):

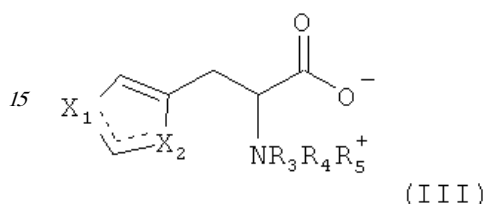
Полученный конечный продукт (соединение формулы (I)) может быть выделен из
40 реакционной среды методами, хорошо известными специалистам в данной области техники и применимыми в промышленном масштабе, в частности путем выпаривания, если целесообразно, частичного, растворителей, предпочтительно с последующей перекристаллизацией для очистки продукта.

Поскольку соединения формулы (I) растворимы в воде, одна или более
45 предварительных экстракций органическим растворителем, таким как этилацетат или трет-бутилметилловый эфир, могут дать возможность элиминировать органические побочные продукты, образовавшиеся в процессе реакции, такие как пировиноградная кислота или ее производные, а также избыток тиола.

Полученный продукт можно при необходимости очистить методами, хорошо известными специалистам в данной области техники, например путем перекристаллизации, если целесообразно, после обессоливания водной фазы, содержащей его, методами, хорошо известными специалистам в данной области техники (например, путем электродиализа, путем добавления соответствующей смолы или путем обратного осмоса).

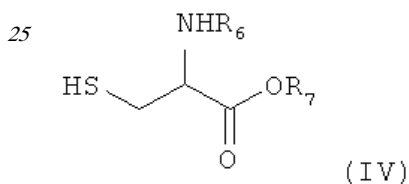
До или после этой стадии (ii) можно получить соль образовавшегося соединения, если желательно, в частности, путем присоединения физиологически приемлемой кислоты или основания, как определено выше.

Соединение формулы (II) может быть получено из соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты (HI), соединения бетаинового типа формулы (III):



или его таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности, смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых X_1 , X_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено выше, путем последовательного взаимодействия с бромом, затем с производным цистеина формулы (IV):



или его стереоизомером или смесью стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесью энантиомеров, и в особенности их рацемической смесью, в которых R_6 и R_7 являются такими, как определено выше.

"Соль присоединения кислоты соединения бетаинового типа формулы (III)" означает в соответствии с настоящим изобретением соль соединения бетаинового типа формулы (III), полученную путем присоединения кислоты, за исключением йодистоводородной кислоты HI. Кислота может, в частности, представлять собой соляную кислоту или серную кислоту.

В данной реакции бром можно использовать в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

Предпочтительно бром добавляют холодным (предпочтительно очень быстрое добавление) при температуре ниже 10°C, предпочтительно ниже 5°C. Добавление брома можно, таким образом, осуществлять при температуре от -10°C до 10°C, предпочтительно от -5°C до 5°C.

Производное цистеина может, в частности, представлять собой N-ацетилцистеин или цистеин (в частности, в D, L или рацемической форме), в частности цистеин, и в особенности L-цистеин.

Производное цистеина предпочтительно используют в избытке, в частности, в соотношении от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 молярных эквивалентов

производного цистеина по сравнению с бетаиновым соединением формулы (III), то есть от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 моль производного цистеина используют на моль используемого соединения (III).

Реакцию можно проводить в растворителе, таком как вода.

5 Выход данной стадии может быть равным 45% или выше, даже равным 60% или выше.

Предпочтительно соединение формулы (II) не выделяют из реакционной среды, но включают непосредственно в следующую стадию (i). Таким образом, получение соединения (I) из соединения (III) можно осуществлять в одном реакторе без выделения промежуточного соединения (II) (реакция в одном реакционном сосуде).

Способ получения соединения формулы (I) в соответствии с изобретением, таким образом, может включать нижеописанные последовательные стадии:

(a1) взаимодействие соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (III), как
15 определено выше, или ее таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

с бромом,

затем с производным цистеина формулы (IV), как определено выше, или его
20 стереоизомером или смесью стереоизомеров во всех соотношениях, в частности, смесью энантиомеров, и в особенности их рацемической смесью, и, в частности, с цистеином и в особенности с L-цистеином,

с получением соединения формулы (II), как определено выше,

(b1) реакция расщепления соединения формулы (II), полученного на предшествующей
25 стадии (a1), в присутствии тиола, как определено выше, предпочтительно растворимого в растворителе реакционной смеси, который представляет собой, в частности, воду, при температуре 60°C или выше, с получением соединения формулы (I), и

(c1) выделение соединения формулы (I), полученного на предшествующей стадии (b1), из реакционной среды.

30 Стадии (b1) и (c1) соответствуют вышеописанным стадиям (i) и (ii), соответственно. Стадия (a1), со своей стороны, соответствует стадии получения соединения бетаинового типа формулы (II), описанного выше.

Предпочтительно стадии (a1) и (b1) проводят в одном и том же растворителе, таком как вода, предпочтительно в одном и том же реакторе, иными словами, без выделения
35 промежуточных продуктов (в частности, соединения формулы (II)).

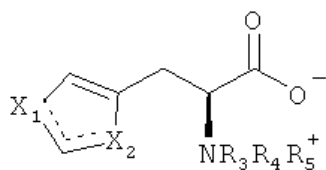
В этих условиях реакционная среда может содержать производное цистеина, предпочтительно используемое в избытке на стадии (a1). Перед выделением соединения формулы (I) из реакционной среды (стадия (c1)), таким образом, может быть необходимым элиминировать избыток производного цистеина с целью облегчения
40 выделения и очистки соединения формулы (I). В частности, в случае производного цистеина, для которого $R_7=H$ или (C_1-C_4) алкил, и, в частности, в случае цистеина, например, можно добавлять бензальдегид, который затем образует с производным цистеина в избытке производное 2-фенилтиазолидин-4-карбоновой кислоты, соединения, которое осаждается в растворителе, таком как вода. Таким способом производное
45 цистеина в избытке можно возвращать в повторный цикл.

Суммарный выход получения соединения формулы (I) из соединения бетаинового типа формулы (III) может быть равным 40% или выше.

В соответствии с конкретной формой осуществления изобретения соединение

формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia), и способ его получения включает приведенные ниже последовательные стадии:

(a2) взаимодействие соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (IIIa):



(IIIa)

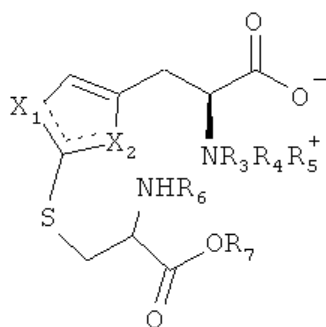
или ее таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которой X_1 и X_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено выше,

последовательно с бромом,

затем с производным цистеина формулы (IV), как определено выше, или его стереоизомером, или смесью стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесью энантиомеров, и в особенности их рацемической смесью, и, в частности, с цистеином и в особенности с L-цистеином,

с получением соединения бетаинового типа формулы (IIa):



(IIa)

или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых X_1 и X_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 и R_7 являются такими, как определено выше;

(b2) реакция расщепления соединения бетаинового типа формулы (IIa), полученного на предшествующей стадии (a2), в присутствии тиола, как определено выше, предпочтительно растворимого в растворителе реакционной смеси, который может представлять собой воду, и, в частности, с цистеином, дитиотрейтолом, 2-меркаптоэтанолом, 2-меркаптопропионовой кислотой, 3-меркаптопропионовой кислотой или тиогликолевой кислотой, и предпочтительно с 3-меркаптопропионовой кислотой, при температуре 60°C или выше,

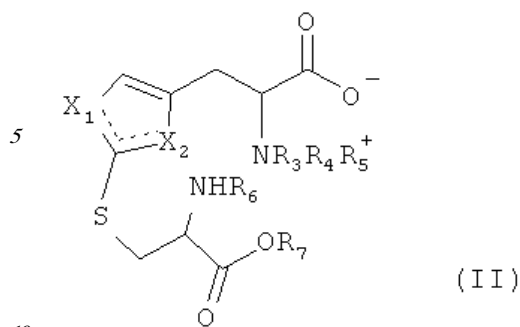
с получением соединения формулы (Ia); и

(c2) выделение соединения формулы (Ia), полученного на предшествующей стадии (b2), из реакционной среды.

Стадии (a2), (b2) и (c2) соответствуют вышеописанным стадиям (a1), (b2) и (c1) соответственно.

Соединения формулы (IIIa) представляют собой конкретные формы соединения формулы (II). Подобным образом, соединения бетаинового типа формулы (IIIa) представляют собой конкретные формы соединения бетаинового типа формулы (III).

Другим объектом настоящего изобретения также является соединение формулы (II):



или его физиологически приемлемая соль, таутомер, стереоизомер или смесь стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесь энантиомеров, и в особенности их рацемическая смесь,

для которых:

15 - X_1 и X_2 представляет собой R_1N или N или NH или NR_2 , и

- $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ и R_7 являются такими, как определено выше,

за исключением соединения, для которого X_1 и X_2 представляет собой NH или N или NH или N

20 или N или NH , R_3, R_4 и R_5 каждый представляет собой метильную группу, и R_6 и R_7 каждый представляет собой атом водорода.

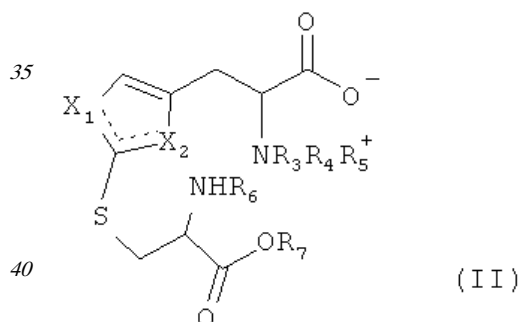
Исключенное соединение описано в Ishikawa et al. J. Biol. Chem. 1974, 249(14), 4420.

В частности, оно не должно представлять собой соединение формулы (II), для

25 которого X_1 и X_2 представляет собой N или NH или NH или N , и R_3, R_4 и R_5 каждый представляет собой метильную группу.

30 Оно может, в частности, представлять собой соединение формулы (IIa), как определено выше. В частности, это соединение может представлять собой 2-{2-[(2-аммоний-2-карбоксиэтил)тио]-1H-имидазол-4-ил}-1-карбокси-N,N,N-триметилэтанаминия дигидрохлорид (Herc-Cys, 2HCl).

Другим объектом настоящего изобретения является способ получения соединения формулы (II):



или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

45 для которых:

- X_1 и X_2 представляет собой R_1N или N или NH или NR_2 , и

- $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ и R_7 являются такими, как определено выше, путем

взаимодействия соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (III), как определено выше,

или его таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых X_1 и X_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено выше,

последовательно с бромом, затем с производным цистеина формулы (IV), как определено выше.

В данной реакции бром можно использовать в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по сравнению с соединением бетаинового типа формулы (III).

Предпочтительно бром добавляют холодным (предпочтительно очень быстрое добавление) при температуре ниже 10°C , предпочтительно ниже 5°C . Добавление брома можно, таким образом, осуществлять при температуре от -10°C до 10°C , предпочтительно от -5°C до 5°C .

Производное цистеина может, в частности, представлять собой N-ацетилцистеин или цистеин (в частности, в D, L или рацемической форме), в частности цистеин, и в особенности L-цистеин.

Производное цистеина предпочтительно используют в избытке, в частности, в соотношении от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 молярных эквивалентов производного цистеина по сравнению с соединением бетаинового типа формулы (III), то есть от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 моль производного цистеина используют на моль используемого соединения (III).

Реакцию можно проводить в растворителе, таком как вода.

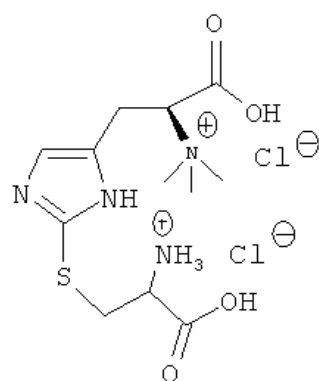
Настоящее изобретение будет лучше понято в свете нижеследующих примеров, которые приведены только в иллюстративных целях и никоим образом не ограничивают объем изобретения.

ПРИМЕРЫ

Все реакции проводили на открытом воздухе, если не указано иное.

1 - Получение соединений формулы (II) в соответствии с изобретением

Пример 1: Получение 2-{2-[(2-аммонио-2-карбоксиэтил)тио]-1H-имидазол-4-ил}-1-карбокси-N,N,N-триметилэтанаминия дигидрохлорида (Herc-Cys, 2HCl)



986 мг (5 ммоль) герцинина (V.N.Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, 258 (1968)) растворяют в 10 мл воды. Добавляют 417 мкл (5 ммоль) концентрированной соляной кислоты, затем раствор охлаждают до 0°C . При очень сильном перемешивании 308 мкл (959 мг, 6 ммоль, 1,2 экв.) брома добавляют по каплям (время добавления 1 мин 20 сек).

Реакционная смесь становится желтой, и образуется красноватое твердое вещество.

Через пять минут после окончания добавления брома добавляют 1,87 г (15 ммоль, 3 экв.) L-цистеина. Смесь сразу теряет свой цвет, и красноватый осадок растворяется за

несколько минут.

После перемешивания при 0°C в течение 1 ч смесь фильтруют и осадок промывают 2×0,5 мл воды.

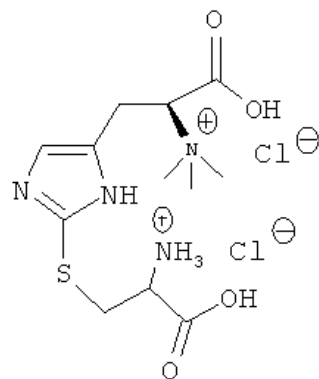
Фильтрат осаждают на колонке, заполненной 75 г DOWEX[®] 50WX2-400, предварительно уравновешенной 1 н. соляной кислотой HCl. После элюирования 400 мл 1 н. соляной кислоты HCl, затем 500 мл 2 н. соляной кислоты HCl фракции, содержащие желаемый продукт, снова объединяют. После выпаривания и 2 совместных выпариваний с 2×20 мл толуола и после высушивания получают 894 мг (46%) желаемого продукта в форме желтых кристаллов.

(Данный продукт синтезирован при низком выходе из эрготионеина и хлораланина, но в форме свободной аминокислоты, Ishikawa et al, J. Biol. Chem. 249 (14), 4420 (1974)).

¹H-ЯМР (D₂O/DCl, 400 МГц): δ (млн⁻¹)=3.14 (s, 9H); 3.37 (m, 2H); 3.56 (m, 2H); 4.20 (m, 1H); 4.28 (m, 1H); 7.31 (s, 1H).

СЭЖХ-МС (ES⁺): 317,4 (MH⁺)

Пример 2: Получение 2-{2-[(2-аммонио-2-карбоксиэтил)тио]-1H-имидазол-4-ил}-1-карбокси-N,N,N-тримилэтанаминия дихлорида дигидрохлорида (Herc-Cys, 2HCl) - вариант количества L-цистеина



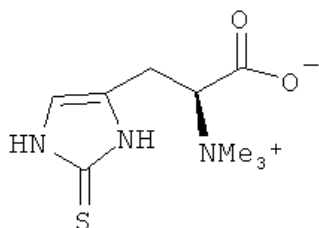
Используют тот же способ, который описан в Примере 1, за исключением того, что добавляют 3,12 г (25 ммоль, 5 экв.) L-цистеина через семь минут после окончания добавления брома.

После обработки и очистки на колонке DOWEX[®] получают 1,13 г (58%) желаемого продукта после высушивания в форме желтых кристаллов.

Анализ ¹H-ЯМР (D₂O/DCl) идентичен описанному в Примере 1.

2 - Получение соединений формулы (I) в соответствии с изобретением из промежуточных соединений формулы (II)

Пример 3: Получение L-эрготионеина путем расщепления Herc-Cys



1,67 г (4,4 ммоль) Herc-Cys 2HCl солибилизируют в 16,7 мл воды и добавляют 1,895 мл (2,29 г, 21,39 ммоль, 5 экв.) 3-меркаптопропионовой кислоты. Прозрачную желтоватую смесь нагревают при перемешивании в течение 24 ч при 85°C. Затем снова добавляют 1,895 мл (2,29 г, 21,39 ммоль, 5 экв.) 3-меркаптопропионовой кислоты и

нагревание продолжают в течение 48 ч.

Реакционную смесь охлаждают до 0°C, образуется белый осадок. После фильтрования и промывания осадка 2×2 мл холодной воды фильтрат промывают 5×20 мл дихлорметана и 5×20 мл этилацетата.

5 Водную фазу выпаривают в вакууме и остаток растворяют в 33 мл воды. Путем добавления 20% раствора аммиака pH раствора доводят до 6. После лиофилизации полученный порошок солибилизируют в горячем виде в смеси этанол/вода (7/1). После добавления активированного угля (100 мг) и горячего фильтрования на Clarcel полученный раствор поддерживают в холодном виде в течение 14 ч. После фильтрования
10 и высушивания получают 676 мг (69%) L-эрготионеина в форме белого порошка.

Полученные аналитические данные идентичны описанным в литературе (J. Хи, J. C.Yadan, J. Org. Chem. 60, 6296-6301 (1995)).

¹H-ЯМР (D₂O, 400 МГц): δ (млн⁻¹)=3.20 (m, 2H); 3.29 (s, 9H); 3.90 (dd, J=11 Гц, J=5 Гц, 1H); 6.81 (s, 1H).

15 СЭЖХ-МС (ES+): 230,6 (МН+)

3 - Получение соединений формулы (I) в соответствии с изобретением без выделения промежуточных соединений формулы (II)

Пример 4: Получение L-эрготионеина из герцинина - очистка после обессоливания
20 водной фазы смолой

а) Образование аддукта Herc-Cys (соединение формулы (II))

19,72 г (0,1 моль) герцинина (V. N. Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, 258 (1968)) растворяют в 200 мл воды. Добавляют 8,35 мл (0,1 моль) концентрированной соляной кислоты, затем раствор охлаждают до 2°C. При очень сильном перемешивании добавляют 6,68 мл (20,77 г, 130 ммоль, 1,3 экв.) брома по каплям, не превышая 3°C
25 (время добавления 10 мин). Реакционная смесь становится желтой, и образуется красноватое твердое вещество. Через 7 мин после окончания добавления брома добавляют 62,4 г (0,5 моль, 5 экв.) L-цистеина, и внутренняя температура повышается до 3°C. Смесь сразу теряет свой цвет, и красноватый осадок растворяется за несколько
30 минут.

После перемешивания при 0°C в течение 1 ч анализ образца с помощью ¹H-ЯМР (D₂O) показывает, что аддукт Herc-Cys образуется при выходе реакции 55%.

Ледяную баню удаляют, и реакционную смесь оставляют перемешиваться на один час. Внутренняя температура повышается до 10°C. Полученный продукт не выделяют
35 из реакционной среды и используют непосредственно в следующей стадии.

б) Образование L-эрготионеина

Затем к смеси добавляют 87,7 мл (106 г, 10 экв.) 3-меркаптопропионовой кислоты и нагревают ее при сильном перемешивании при 80°C в течение 22 ч.

40 Анализ образца с помощью ¹H-ЯМР (D₂O) показывает, что аддукт Herc-Cys полностью расщепляется до эрготионеина.

с) Выделение L-эрготионеина

После охлаждения до комнатной температуры смесь оранжево-коричневого цвета экстрагируют 4×400 мл этилацетата.

45 Водную фазу сохраняют, и pH доводят до 4,5-5 20% водным раствором аммиака (примерно 21 мл). В целях улавливания избытка L-цистеина, присутствующего в среде, добавляют 50,8 мл (53,0 г, 5 экв.) бензальдегида (в соответствии с M.P.Schubert, J. Biol. Chem. 114, 341-350 (1936) или M.Sekietal., J. Org. Chem. 67 (16), 5532 (2002)).

Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 15 ч, и 2-

фенилтиазолидин-4-карбоновая кислота осаждается в форме светло-желтого твердого вещества. После фильтрования твердого вещества и промывания 4×50 мл воды фильтрат экстрагируют 2×200 мл этилацетата.

d) Очистка и обессоливание водной фазы смолой

5 Чтобы способствовать кристаллизации конечного продукта, сохраненную водную фазу обессоливают. Для этого ее обрабатывают, например, смолой Амберлит IRA 410 в форме гидрокарбоната (в соответствии с К.А.Piez et al., J. Biol. Chem. 194, 669-672 (1952)). К реакционной смеси добавляют 120 г смолы и перемешивают ее в течение 2 ч при комнатной температуре. Наблюдают сильное выделение газа, а также постепенное
10 обесцвечивание среды. Кроме того, pH реакционной смеси падает до pH=8. После 2 ч времени контакта смолу фильтруют. После промывания 5×20 мл воды процедуру снова повторяют дважды.

Затем фильтрат выпаривают до сухости, и полученное твердое вещество
15 перекристаллизуют водным этанолом. Получают 8,21 г (34,9%) L-эрготионеина в форме белого порошка.

^1H -ЯМР (D_2O , 400 МГц): δ (млн $^{-1}$)=3.20 (m, 2H); 3.29 (s, 9H); 3.90 (dd, J=11 Гц, J=5 Гц, 1H); 6.81 (s, 1H).

СЭЖХ-МС (ES+): 230,6 (МН+)

20 $[\alpha]_{\text{D}}=+124,6^\circ$ (c=1, H_2O)

Пример 5: Получение L-эрготионеина из герцинина в одном реакторе - очистка после обессоливания водной фазы с помощью электродиализа

a) Образование аддукта Нерс-Сус (соединение формулы (II))

98,6 г (0,5 моль) герцинина растворяют в 1,5 л воды. Раствор переносят в стеклянный
25 реактор с двойной рубашкой с механической мешалкой. Добавляют 41,75 мл (0,5 моль) концентрированной соляной кислоты, затем раствор охлаждают до 0°C. При очень сильном перемешивании добавляют 34 мл (106 г, 0,66 моль, 1,3 экв.) брома по каплям, не превышая 2°C (время добавления 6,5 мин). Реакционная смесь становится желтой, и образуются красноватые хлопья. Через 7 мин после окончания добавления брома
30 добавляют 432 г (3,5 моль, 7 экв.) L-цистеина, и внутренняя температура повышается до 4°C. Смесь сразу теряет свой цвет, и красноватый осадок растворяется за несколько минут. Получают беловатую суспензию.

После перемешивания при 0°C в течение 1 ч анализ образца с помощью ^1H -ЯМР (D_2O) показывает, что аддукт Нерс-Сус образуется при выходе реакции 56%.

35 Охлаждающую систему останавливают, и реакционную смесь оставляют перемешиваться в течение одного часа. Внутренняя температура повышается до 10°C.

b) Образование L-эрготионеина

Затем к смеси добавляют 441 мл (533 г, 5 моль, 10 экв.) 3-меркаптопропионовой
40 кислоты и нагревают ее при сильном перемешивании при 80°C в течение 24 ч.

Анализ образца с помощью ^1H -ЯМР (D_2O) показывает, что аддукт Нерс-Сус полностью расщепляется до эрготионеина.

c) Выделение L-эрготионеина

После охлаждения до комнатной температуры смесь оранжево-коричневого цвета
45 экстрагируют 4×2 л этилацетата.

Водную фазу сохраняют, и pH доводят до 4,5-5 20% водным раствором аммиака (примерно 110 мл). В целях улавливания избытка L-цистеина, присутствующего в среде, добавляют 359 мл (375 г, 3,5 моль, 7 экв.) бензальдегида (в соответствии с М.Р.Schubert,

J. Biol. Chem. 114, 341-350 (1936) or M. Sekietal., J. Org. Chem. 67 (16), 5532 (2002)).

Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 15 ч, и 2-фенилтиазолидин-4-карбоновая кислота осаждается в форме светло-желтого твердого вещества. После фильтрования твердого вещества и промывания 4×500 мл воды
 5 фильтрат экстрагируют 4×1,5 л этилацетата.

d) Очистка после обессоливания водной фазы с помощью электродиализа

Чтобы способствовать кристаллизации конечного продукта, сохраненную водную фазу обессоливают. Для этого ее, например, обессоливают с помощью электродиализа (Bench Scale Electrodialysis Pump System BED 1-3 фирмы PCCell (Germany), ячейка ED200-
 10 020, 20 пар мембран (катионообменная PC-SK, анионообменная PC-SA), 10 В).

Затем обессоленный раствор выпаривают до сухости, и полученное твердое вещество перекристаллизуют водным этанолом. Получают 47,68 г (41%) L-эрготионеина в форме белого порошка.

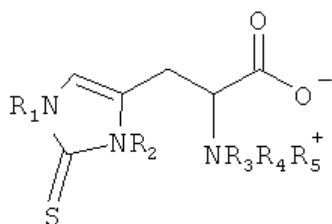
¹H-ЯМР (D₂O, 400 МГц): δ (млн⁻¹)=3.20 (m, 2H); 3.29 (s, 9H); 3.90 (dd, J=11 Гц, J=5 Гц,
 15 1H); 6.81 (s, 1H).

СЭЖХ-МС (ES+: 230,6 (MH+)

[α]_D=+125,2° (C=1, H₂O).

Формула изобретения

1. Способ синтеза производного формулы (I):



(I)

или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси
 30 стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых:

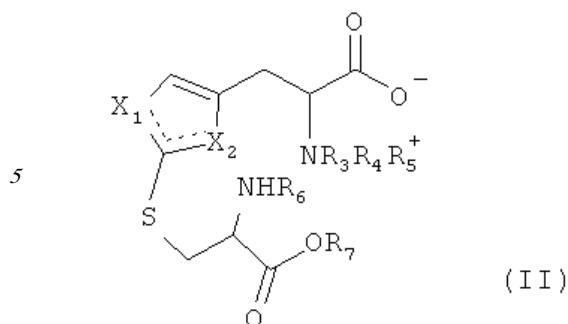
- R₁ и R₂ независимо друг от друга представляют собой атом водорода или (C₁-C₄)
)алкильную группу, такую как метил, где по меньшей мере одна из групп R₁ и R₂

представляет собой атом водорода, и предпочтительно каждая представляет собой
 35 атом водорода, и

- R₃, R₄ и R₅ независимо друг от друга представляют собой (C₁-C₄)алкильную группу,
 такую как метил,

включающий приведенные ниже последовательные стадии:

(i) реакция расщепления соединения бетаинового типа формулы (II):



10 или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси, для которых:

- 15 - X_1 и X_2 представляет собой $R_1N \sim N$ или $N \sim NR_2$,
 - R_1, R_2, R_3, R_4 и R_5 являются такими, как определено выше,
 - R_6 представляет собой атом водорода или группу (C_1-C_4) алкил или $-CO-((C_1-C_4)$ алкил), в частности атом водорода или группу $-COCH_3$, и более предпочтительно атом
 20 водорода, и
 - R_7 представляет собой атом водорода или группу (C_1-C_4) алкил, и, в частности, атом водорода,

в присутствии тиола, предпочтительно растворимого в растворителе реакционной смеси, который может, в частности, представлять собой воду, при температуре $60^\circ C$
 25 или выше, с получением соединения формулы (I), и

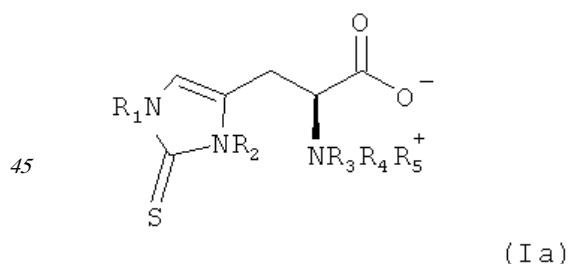
(ii) выделение соединения формулы (I), полученного на предшествующей стадии (i), из реакционной среды.

2. Способ по п.1, характеризующийся тем, что тиол соответствует формуле $R-SH$, где R представляет собой нормальную или разветвленную, предпочтительно нормальную
 30 алкильную цепь, содержащую от 1 до 8, в частности от 2 до 6 атомов углерода, замещенную одной или более группами, выбранными из OH , SH , NH_2 и $COOH$.

3. Способ по п.2, характеризующийся тем, что тиол выбран из цистеина, дитиотрейтола, 2-меркаптоэтанола, 2-меркаптопропионовой кислоты, 3-
 35 меркаптопропионовой кислоты, меркаптоуксусной кислоты, меркаптогексановой кислоты и тиогликолевой кислоты, предпочтительно представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту.

4. Способ по п.1, характеризующийся тем, что стадию (i) осуществляют при температуре в интервале от 60 до $120^\circ C$, в частности от 80 до $100^\circ C$.

40 5. Способ по любому из пп.1-4, характеризующийся тем, что соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia):



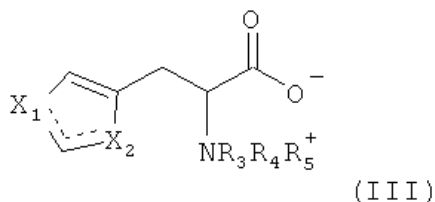
или его физиологически приемлемую соль, таутомер, стереоизомер или смесь

стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесь энантиомеров, и в особенности их рацемическую смесь,

для которых R_1 , R_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено в п.1.

6. Способ по п.1, характеризующийся тем, что соединение формулы (I) представляет собой эрготионеин, и, в частности, L-эрготионеин.

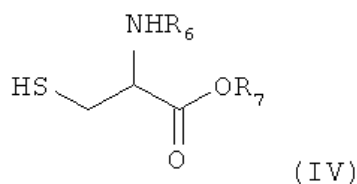
7. Способ по п.1, характеризующийся тем, что соединения бетаинового типа формулы (II) получают из соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (III):



или его таутомера, или стереоизомера, или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых X_1 , X_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено в п.1,

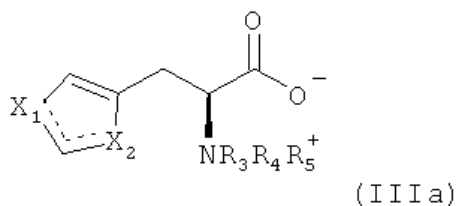
путем последовательного взаимодействия с бромом, затем с производным цистеина формулы (IV):



или его стереоизомером, или смесью стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесью энантиомеров, и в особенности их рацемической смесью, в которых R_6 и R_7 являются такими, как определено в п.1.

8. Способ по п.7, характеризующийся тем, что соединение формулы (I) соответствует формуле (Ia), как определено в п.5, и способ включает приведенные ниже последовательные стадии:

(a2) взаимодействие соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (IIIa):



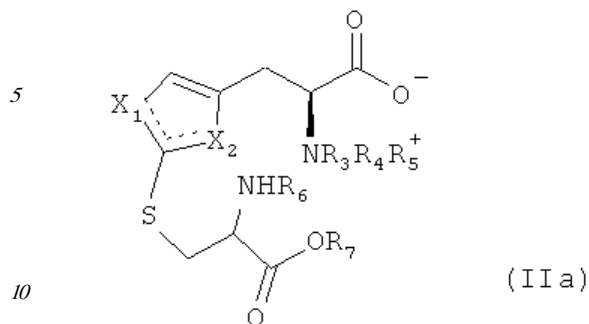
или его таутомера, или стереоизомера, или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

для которых X_1 , X_2 , R_3 , R_4 и R_5 являются такими, как определено в п.1,

последовательно с бромом,

затем с производным цистеина формулы (IV), как определено в п.7, или его стереоизомером, или смесью стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесью энантиомеров, и в особенности их рацемической смесью, и, в частности с цистеином, и

в особенности с L-цистеином,
с получением соединения бетаинового типа формулы (IIa):



или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, и в особенности их рацемической смеси,

15 для которых X_1 , X_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 и R_7 являются такими, как определено в п.1,

(b2) реакция расщепления соединения бетаинового типа формулы (IIa), полученного на предшествующей стадии (a2), в присутствии тиола при температуре 60°C или выше, с получением соединения формулы (Ia), и

20 (c2) выделение соединения формулы (Ia), полученного на предшествующей стадии (b2), из реакционной среды.

9. Способ по п.7, характеризующийся тем, что производное цистеина формулы (IV) используют в избытке в соотношении от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 молярных эквивалентов производного цистеина по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

10. Способ по п.8, характеризующийся тем, что производное цистеина формулы (IV) используют в избытке в соотношении от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7 молярных эквивалентов производного цистеина по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

30 11. Способ по п.7, характеризующийся тем, что бром используют в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

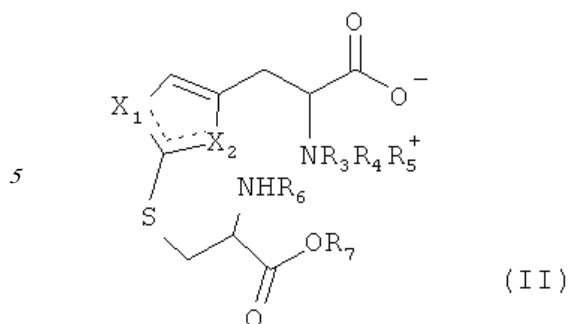
12. Способ по п.8, характеризующийся тем, что бром используют в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

35 13. Способ по п.9, характеризующийся тем, что бром используют в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

14. Способ по п.10, характеризующийся тем, что бром используют в соотношении от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

40 15. Способ по любому из пп.7-14, характеризующийся тем, что получение соединения (I) из соединения (III) осуществляют в одном реакторе без выделения промежуточного соединения (II).

45 16. Соединение бетаинового типа формулы (II):



10 или его физиологически приемлемая соль, таутомер, стереоизомер или смесь стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смесь энантиомеров, и, в особенности, их рацемическая смесь, для которых:

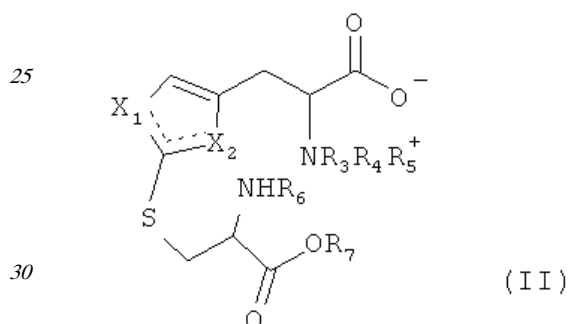
15 - X_1 и X_2 представляет собой $R_1N=CHN$ или $N=CHR_2$, и

- $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ и R_7 являются такими, как определено в п.1,

за исключением соединения, для которого X_1 и X_2 представляет собой

20 $HN=CHN$ или $N=CHNH$, и каждый R_3, R_4 и R_5 представляет собой метильную группу, и каждый R_6 и R_7 представляет собой атом водорода.

17. Способ получения соединения бетаинового типа формулы (II):



или его физиологически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера или смеси стереоизомеров во всех соотношениях, в частности смеси энантиомеров, в особенности их рацемической смеси,

35 для которых:

- X_1 и X_2 представляет собой $R_1N=CHN$ или $N=CHR_2$, и

- $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ и R_7 являются такими, как определено в п.1,

40 путем взаимодействия соли присоединения кислоты, за исключением соли йодистоводородной кислоты, соединения бетаинового типа формулы (III), как определено в п.7, с бромом, а затем с производным цистеина формулы (IV), как определено в п.7, в частности цистеином, и в особенности L-цистеином.

18. Способ по п.17, характеризующийся тем, что бром используют в соотношении 45 от 1 до 1,5 молярных эквивалентов по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

19. Способ по любому из пп.17 или 18, характеризующийся тем, что производное цистеина используют в избытке в соотношении от 2 до 10, предпочтительно от 3 до 7

молярных эквивалентов производного цистеина по отношению к соединению бетаинового типа формулы (III).

5

10

15

20

25

30

35

40

45