



(19) **UA** (11) **75 360** (13) **C2**

(51)МПК

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 20021210274, 18.12.2002

(24) Дата начала действия патента: 17.04.2006

(30) Приоритет: 18.09.1998 JP 10/283301

(46) Дата публикации: 15.04.2006А61К 49/00
20060101CFI20051117ВНУА

(72) Изобретатель:

Мива Наото, JP,
Инагаки Мичихито, JP,
Эгуши Хироаки, JP,
Окумура Масафуми, JP,
Инагаки Йошио, JP,
Харада Тору, JP

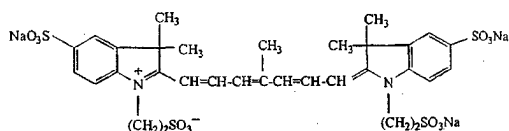
(73) Патентовладелец:

ШЕРИНГ АКЦИЕНГЕЗЕЛЛЬШАФТ, DE,
ФУДЖИ ФОТО ФИЛМ КО., ЛТД., JP

(54) НАТРИЕВАЯ СОЛЬ ЦИАНИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ

(57) Реферат:

Натриевая соль формулы



, флуоресцентный контрастный агент для
ближнего инфракрасного участка спектра, который

содержит эту соль, и предназначен для
визуализации опухоли и для ангиографии.

Официальный бюлетень "Промышленная
собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные
модели, топографии интегральных микросхем",
2006, N 4, 15.04.2006. Государственный
департамент интеллектуальной собственности
Министерства образования и науки Украины.

У А 7 5 3 6 0 С 2

У А 7 5 3 6 0 С 2



(19) **UA** (11) **75 360** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 20021210274, 18.12.2002

(24) Effective date for property rights: 17.04.2006

(30) Priority: 18.09.1998 JP 10/283301

(46) Publication date: 15.04.2006A61K 49/00
20060101CFI20051117BHUA

(72) Inventor:

Miva Naoto, JP,
Inagaki Michihito, JP,
Egushi Hiroaki, JP,
Okumura Masafumi, JP,
Inagaki Yoshio, JP,
Harada Toru, JP

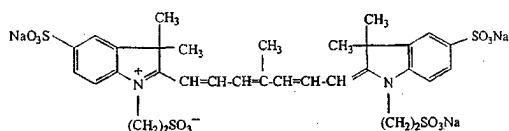
(73) Proprietor:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, DE,
FUJI PHOTO FILM CO., LTD., JP

(54) **SODIUM SALT OF CYANINE DERIVATIVE AND FLUORESCENT CONTRASTING AGENT**

(57) Abstract:

Sodium salt of the formula



the fluorescent contrasting agent for the

near infrared region, containing said salt, which is intended for tumor imaging and angiography.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2006, N 4, 15.04.2006. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2



(19) **UA** (11) **75 360** (13) **C2**
 (51)МПК

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
 ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВІНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
 20021210274, 18.12.2002

(24) Дата набуття чинності: 17.04.2006

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької конвенції : 18.09.1998 JP 10/283301

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (декларційного патенту): 15.04.2006А61К 49/00 20060101CFI20051117ВНУА

(72) Винахідник(и):

Міва Наото , JP,
 Інагакі Мічіхіто , JP,
 Егуші Хіроаки , JP,
 Окумура Масафумі , JP,
 Інагакі Йошіо , JP,
 Харада Тору , JP

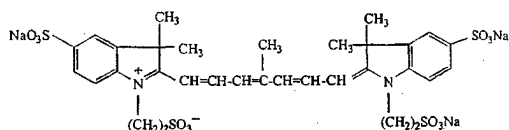
(73) Власник(и):

ШЕРІНГ АКЦІЄНГЕЗЕЛЛЬШАФТ, ДЕ,
 ФУДЖІ ФОТО ФІЛМ КО., ЛТД., JP

(54) НАТРІЄВА СІЛЬ ЦІАНИНОВОГО ПОХІДНОГО ТА ФЛУОРЕСЦЕНТНИЙ КОНТРАСТНИЙ АГЕНТ

(57) Реферат:

Натрієва сіль формули



флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектра, який містить цю сіль та призначений для візуалізації пухлини та для ангиографії.

UA 75360 C2

UA 75360 C2

Опис винаходу

Даний винахід стосується флуоресцентного контрастного агента для ближньої (довгохвильової) інфрачервоної ділянки спектру і способу флуоресцентної візуалізації з використанням цього контрастного агента.

Під час лікування хвороб дуже важливо виявляти на ранніх стадіях хвороби морфологічні та функціональні зміни в живому організмі, які викликаються хворобою. Під час лікування раку особливо важливими визначальними чинниками для планування ефективного лікування є місце розташування і розмір пухлини. Відомі методи, призначені для цієї мети, включають біопсію з використанням пункції і т. ін. та діагностику з використанням методів візуалізації, таких, як візуалізація за допомогою рентгенівського проміння, візуалізація за допомогою магнітного резонансу (MRI), візуалізація за допомогою ультразвуку тощо. Біопсія дуже ефективна для встановлення діагнозу, однак водночас вона спричиняє великі незручності для обстежуваного пацієнта і не придатна для відстеження змін у ділянках пошкоджень, які відбуваються з плином часу. Візуалізація за допомогою рентгенівського проміння і MRI неминуче пов'язані з підданням пацієнтів, які обстежуються, дії опромінення і магнітних хвиль. Крім того, зазначені вище загальноприйняті методи діагностики з використанням візуалізації дуже складні і вимагають тривалого часу для проведення вимірювань і діагностики. Громіздка апаратура, яка використовується для цієї мети, також ускладнює застосування таких методів у процесі операції.

Один із методів діагностики за допомогою візуалізації базується на застосуванні флуоресцентної візуалізації [Lipsrn R.L. та інш., J. Natl. Cancer Inst, 26, 1-11 (1961)]. У цьому методі як контрастний агент застосовується речовина, яка випускає флуоресценцію при освітленні збуджувальними променями світла з певною довжиною хвилі. Таким чином, організм зовні опромінюють збуджувальним світлом і реєструють флуоресценцію, що випускається флуоресцентним контрастним агентом, який міститься всередині організму.

Таким флуоресцентним контрастним агентом може бути, наприклад, порфіринова сполука, яка нагромаджується в пухлині і застосовується для фотодинамічної терапії (ФДТ), така, як гематопорфірин. Як інші приклади можна навести фотофрין і бензопорфірин (див.[Lipsrn R.L. та інш., вище, Meng T.S. та інш., SPIE, 1641, 90-98 (1992), WO 84/04665] і т.ін.). Ці сполуки спочатку використовувалися для ФДТ і вони володіють фототоксичністю, оскільки вона потрібна для ФДТ. Через це такі сполуки небажано використовувати як діагностичні агенти.

Тим часом, відомий метод мікроангіографії кровоносних судин сітківки з використанням відомого флуоресцентного барвника, такого, як флуоресцеїн, флуорескамін і рибофлавін [US 4945239]. Ці флуоресцентні барвники випускають флуоресценцію у видимій ділянці світлового спектру (400-6600nm). У цій ділянці проходження світла крізь живу тканину дуже мале, тому виявлення пошкоджень у глибоко розташованій частині організму практично неможливе.

Крім того, описано застосування у функції флуоресцентного контрастного агента ціанінових похідних, включаючи індоціаніновий зелений (в даному описі скорочено називається ІЦЗ), який використовують для визначення функції печінки і хвилинного серцевого викиду [Haglund M.M. та інш., Neurosurgery, 35, 930 (1994), Li X. та інш., SPIE, 2389, 789-787 (1995)]. Ціанінові похідні здатні до абсорбції в ближній інфрачервоній ділянці спектру (700-1300nm).

Світло ближньої інфрачервоної ділянки спектру добре проходить крізь живі тканини і може пройти крізь череп розміром приблизно 10 см. Тому постійно росте інтерес до його застосування в клінічній медицині. Наприклад, оптичний СТ-метод на основі використання проходження світла крізь середовище привертає увагу в галузі клінічних досліджень як нова технологія. Це зумовлено тим, що світло ближньої інфрачервоної ділянки спектру може пройти крізь живий організм і це можна використовувати для спостереження за концентрацією і циркуляцією кисню в живому організмі.

Ціанінові похідні випускають флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру. Флуоресценція в цій ділянці може пройти крізь живі тканини і це дає можливість використовувати такі сполуки як флуоресцентний контрастний агент. Останніми роками було розроблено і перевірено як флуоресцентні контрастні агенти різні ціанінові похідні ([WO 96/17628, WP 97/13490] і т. ін.). Однак не відомий агент, який володіє достатньою розчинністю у воді і безпечний для живого організму, а також який дає змогу відрізнати здорові тканини від хворих тканин (тобто має вибірковість стосовно візуалізації місця-мішені).

Стислий виклад суті винаходу

Таким чином, об'єктом даного винаходу є флуоресцентний контрастний агент. Агент за винаходом володіє низькою токсичністю і має дуже хорошу розчинність у воді. Крім того, він випускає флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру, яка здатна пройти крізь живі тканини, що дає змогу візуалізувати конкретну пухлину і/або кровоносну судину.

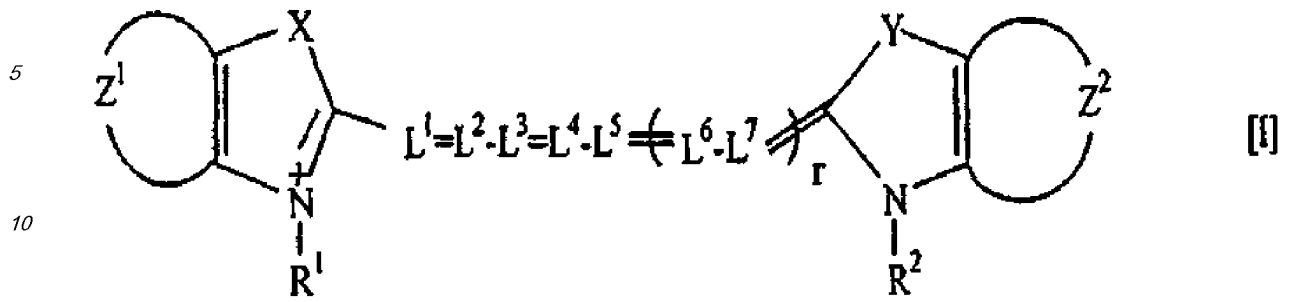
Іншим об'єктом даного винаходу є спосіб флуоресцентної візуалізації з використанням цього контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру.

Даний винахід базується на відкритті того, що введення трьох або більшої кількості груп сульфонові кислоти в ціаніновий барвник приводить до утворення флуоресцентного контрастного агента, який має високу розчинність у воді. Під час створення винаходу також було виявлено, що при використанні такого контрастного агента можна розробити спосіб флуоресцентної візуалізації.

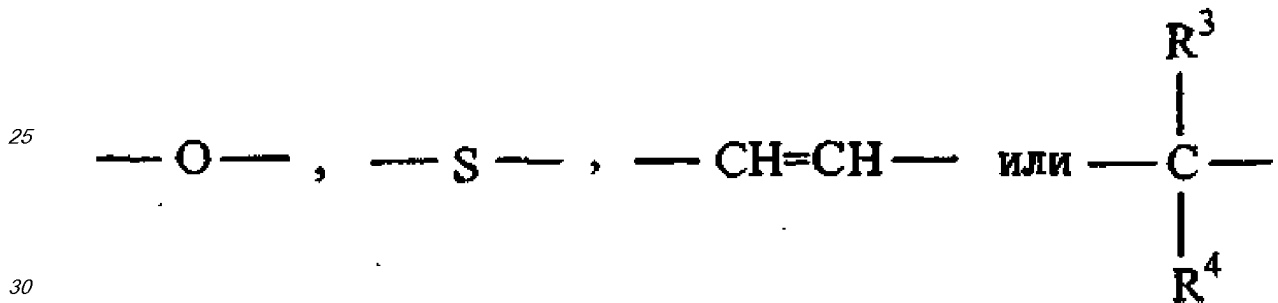
Таким чином, об'єктами даного винаходу є такі об'єкти.

(1) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру, який містить сполуку, що

має в молекулі три або більшу кількість груп сульфанової кислоти, представленої формулою [I]



15 де R^1 і R^2 мають однакові або різні значення і кожний означає заміщений або незаміщений алкіл; Z^1 і Z^2 означають атоми, відмінні від атомів металу, необхідні для утворення заміщеного або незаміщеного конденсованого бензокільця або конденсованого нафтокольця; γ дорівнює 0, 1 або 2; L^1-L^7 мають однакові або різні значення і кожний означає заміщений або незаміщений метин, за умови, що, коли γ дорівнює 2, L^6 і L^7 , присутні у вигляді двох пар, мають однакові або різні значення; і X і Y мають однакові або різні значення і кожний означає групу формули



де R^3 і R^4 мають однакові або різні значення і кожний означає заміщений або незаміщений алкіл, або його фармацевтично прийнятну сіль.

(2) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за вказаним вище п. (1), в молекулі якого відсутня група карбонової кислоти.

(3) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за вказаним вище п. (1) або п. (2), де в формулі [1] γ дорівнює 1.

(4) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за будь-яких із зазначених вище пп. (1)-(3), в молекулі якого міститься 4 або більше групи сульфанової кислоти.

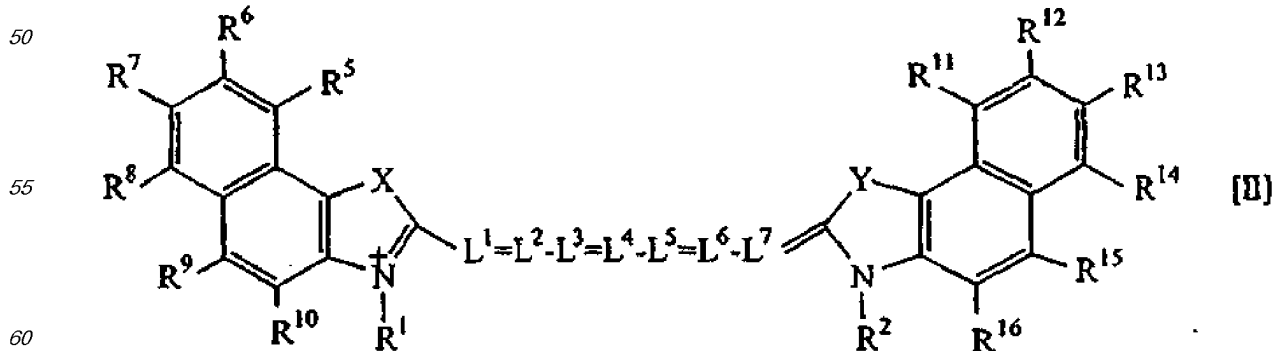
(5) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за будь-яким із зазначених вище пп. (1)-(4), в молекулі якого міститься 10 або менше груп сульфанової кислоти.

(6) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за будь-яким із зазначених вище пп. (1)-(4), в молекулі якого міститься 8 або менше груп сульфанової кислоти.

(7) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за будь-яким із зазначених вище пп. (1)-(6), де фармацевтично прийнятна сіль являє собою натрієву сіль.

(8) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за будь-яким із зазначених вище пп. (1)-(7), призначений для візуалізації пухлини і/або ангиографії.

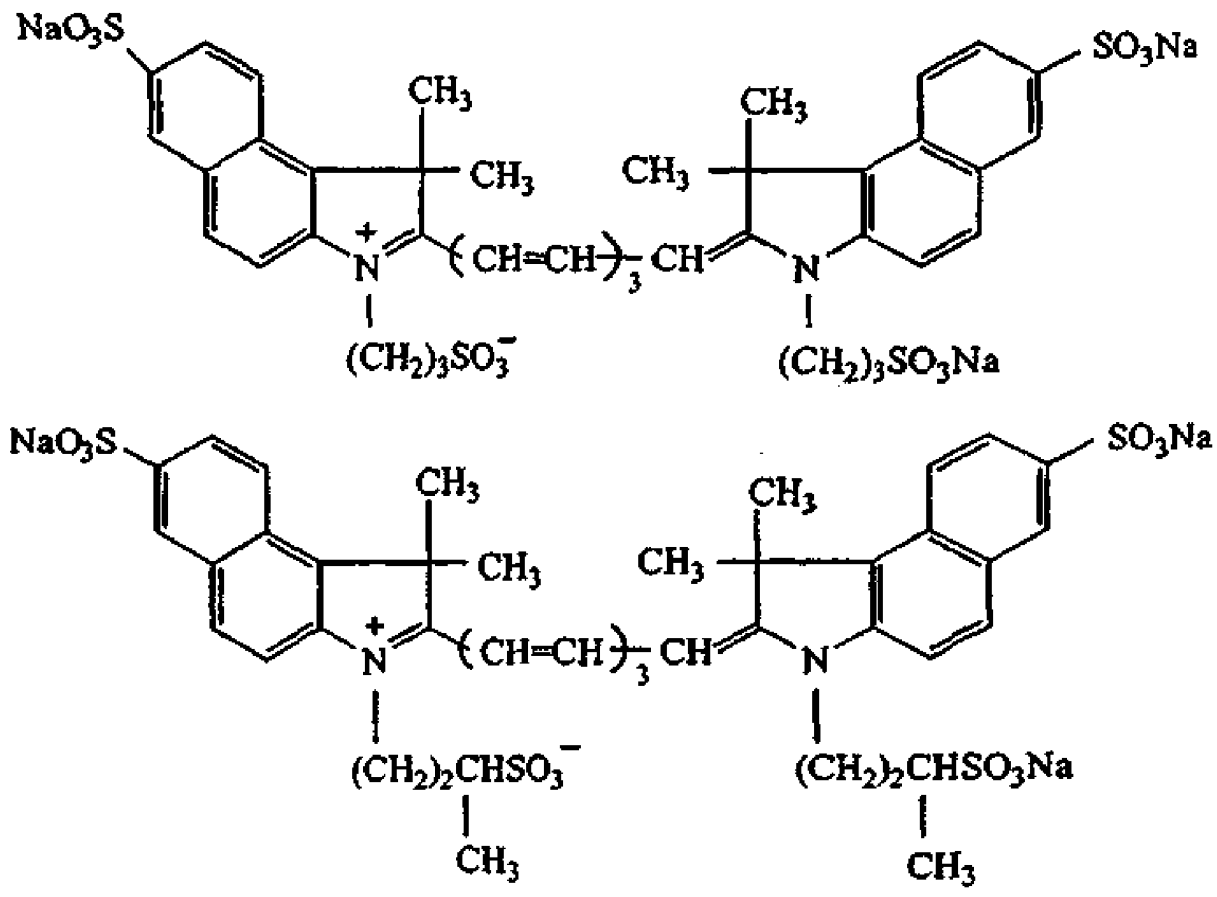
(9) Натрієва сіль сполуки формули [II], яка має в молекулі три або більше груп сульфанової кислоти.



65 де R^1, R^2, L^1-L^7, X і Y мають зазначені вище значення, і R^5-R^16 мають однакові або різні значення і кожний означає атом водню, групу сульфанової кислоти, карбоксильну групу, гідроксильну групу, алкіл (сульфоалкіл) аміногрупу, біс (сульфоалкіл) аміногрупу, сульфоалкоксигрупу, (сульфоалкіл)сульфонільну групу або (сульфоалкіл)аміноссульфонільну групу, за винятком груп таких формул

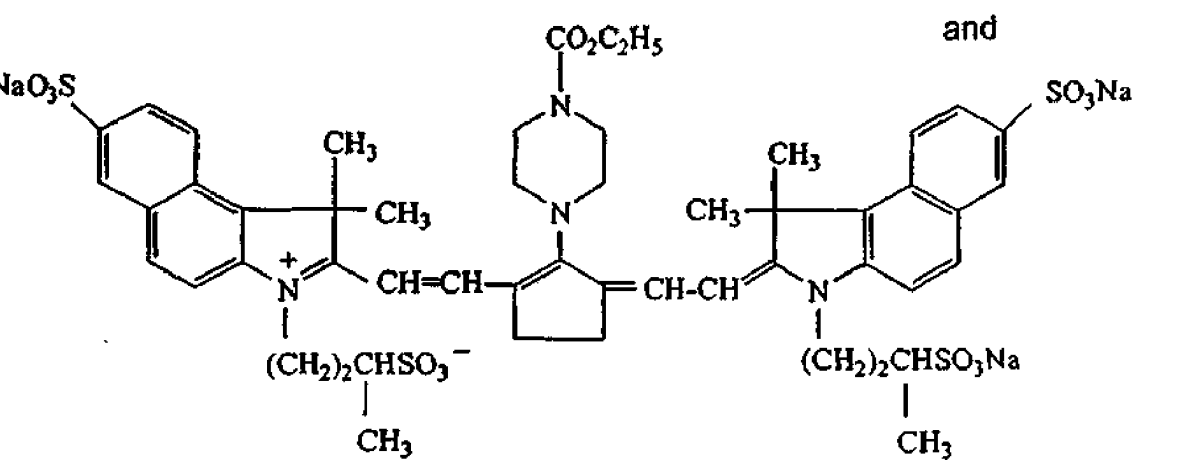
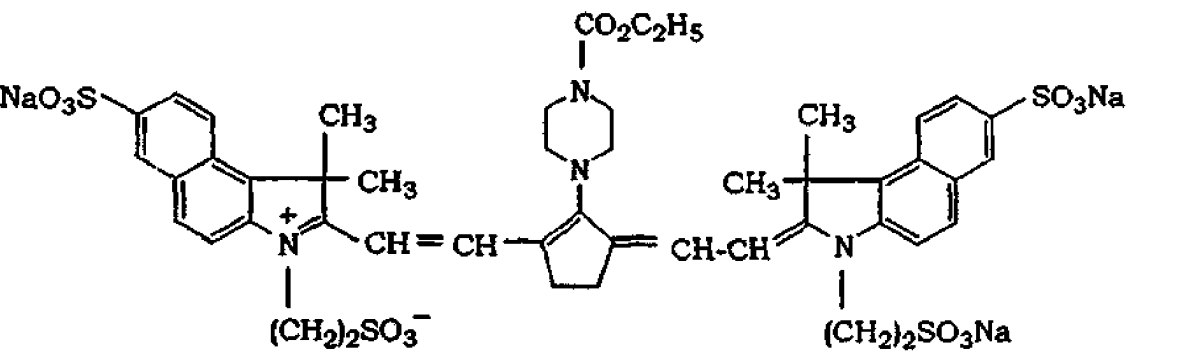
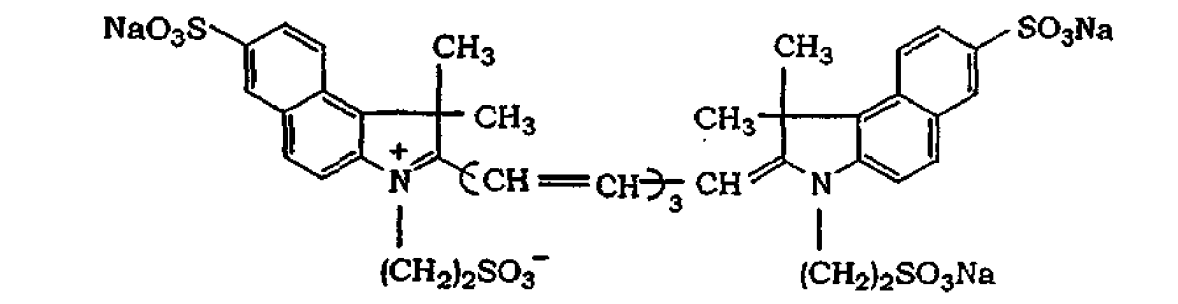
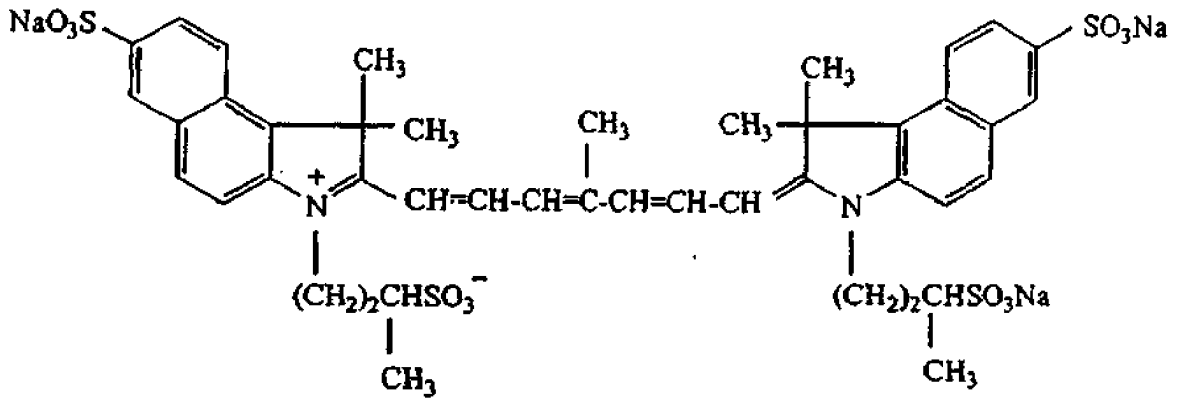
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

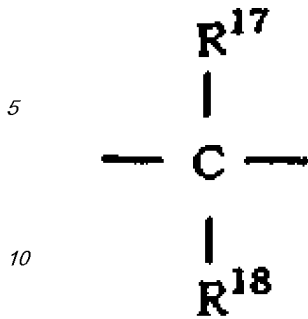


U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

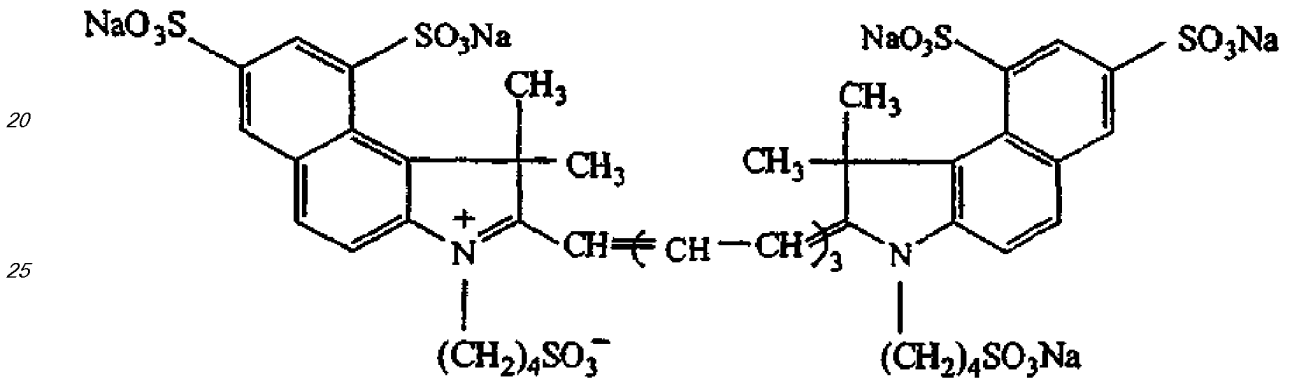


(10) Натрієва сіль за вказаним вище п. (9), де в формулі [II] кожний з R¹ і R² означає (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, заміщений групою сульфаної кислоти, і X та Y мають однакові або різні значення і кожний означає групу формули

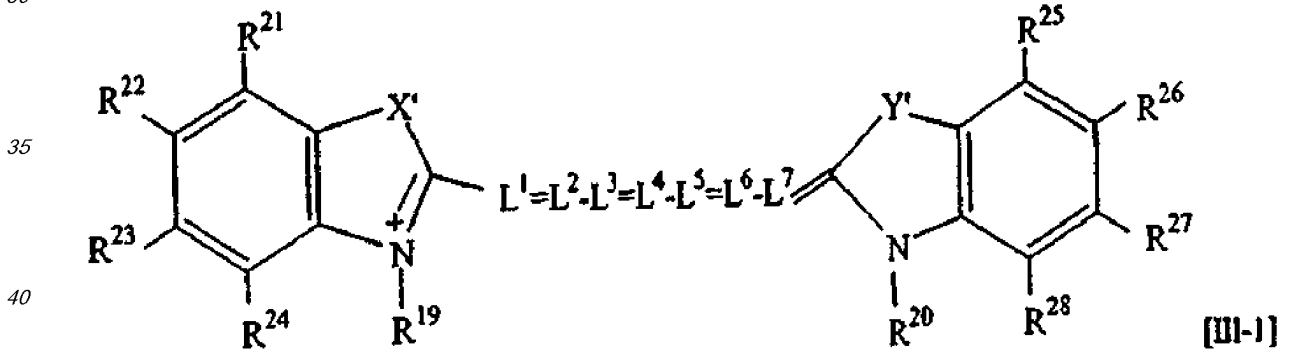


де R^{17} і R^{18} означають незаміщений (нижч.)алкіл, що має 1-5 атомів вуглецю.

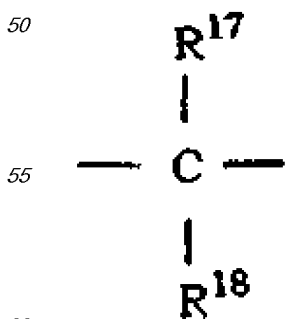
(11) Натрієва сіль за вказаним вище п. (10), яка має формулу



(12) Натрієва сіль сполуки формули [III-I]



яка має в молекулі три або більше групи сульфанової кислоти, де $L^1 - L^7$ мають зазначені вище значення, R^{19} і R^{20} означають (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю і заміщений групою сульфанової кислоти, $R^{21} - R^{28}$ мають однакові або різні значення і кожний означає атом водню, групу сульфанової кислоти, карбоксильну групу, гідроксильну групу, алкіл (сульфоалкіл) аміногрупу, біс (сульфоалкіл) аміногрупу, сульфоалкоксигрупу, (сульфоалкіл)сульфонільну групу або (сульфоалкіл) аміносульфонільну групу і X' і Y' мають однакові або різні значення і кожний означає групу формули

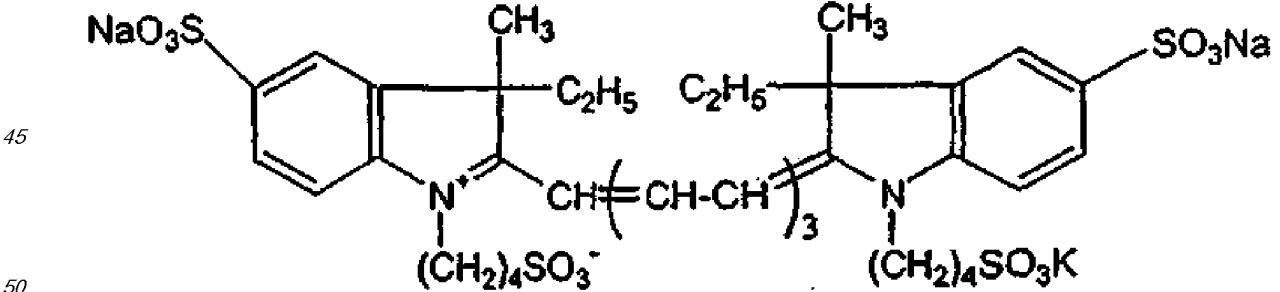
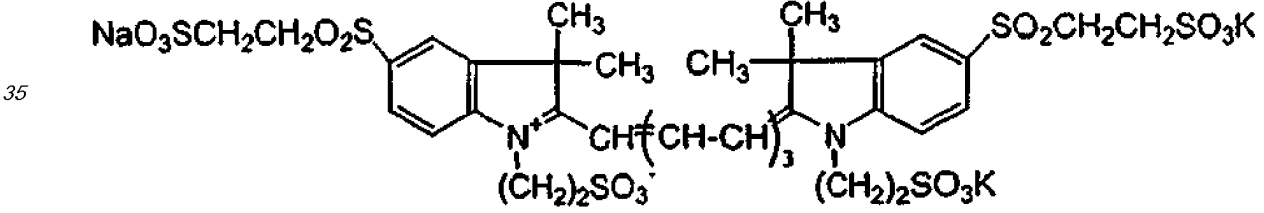
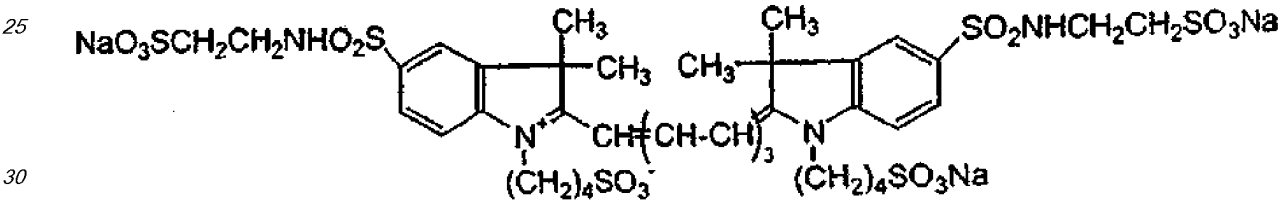
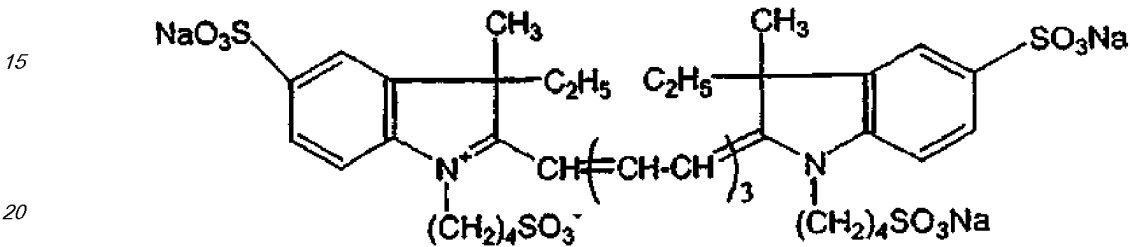
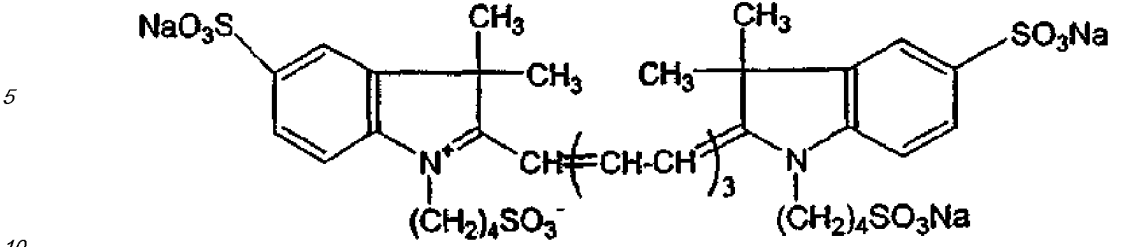


де R^{17} і R^{18} мають зазначені вище значення, за винятком груп таких формул

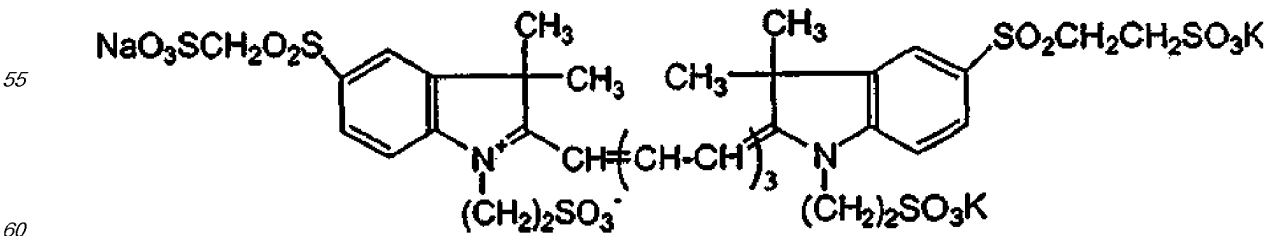
65

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2



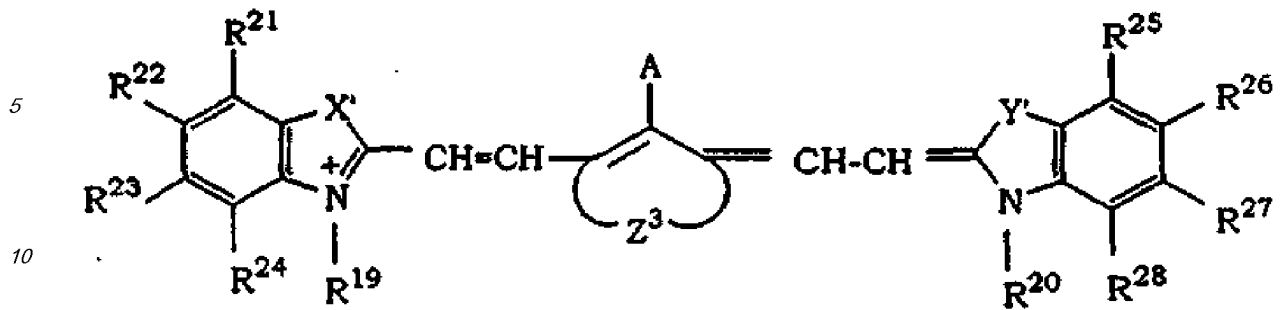
та



(13) Натрієва сіль за вказаним вище п. (12), де в формулі [III-1] L⁴ означає метин, заміщений алкілом, який має 1-4 атоми вуглецю.

(14) Натрієва сіль, вказана вище в п. (12), яка являє собою натрієву сіль сполуки формули [III-2], яка має в молекулі три або більше груп сульфанонової кислоти,

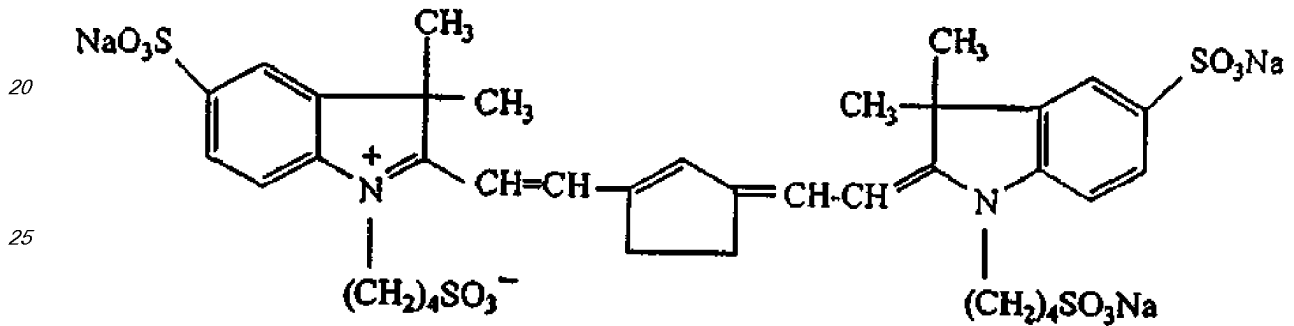
65



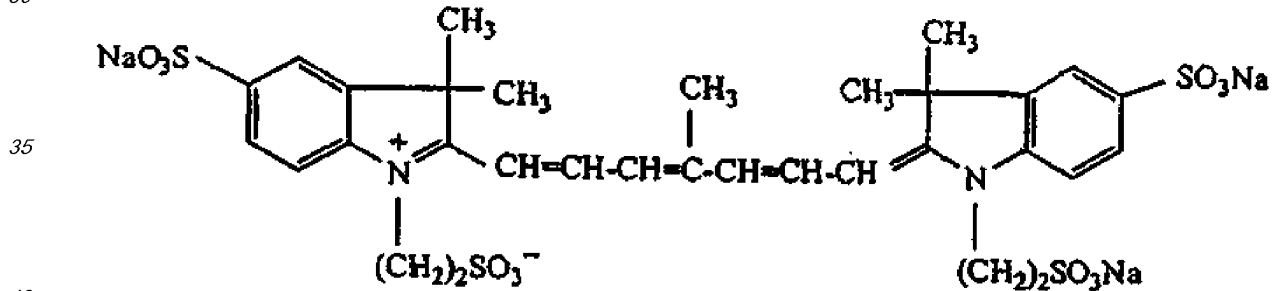
[III-2]

15 де R¹⁹-R²⁸, X' і Y' мають зазначені вище значення, Z³ означає групу атому, відмінного від атому металу, необхідну для утворення 5- або 6-членного кільця, і А означає атом водню або одновалентну групу.

(15) Натрієва сіль за вказаним вище п. (14), яка має формулу



30 (16) Натрієва сіль за вказаним вище п. (12), яка має формулу



(17) Натрієва сіль за будь-яким із зазначених вище п.п. (9), (10), (12), (13) і (14), яка має в молекулі 4 або більше груп сульфонові кислоти.

(18) Натрієва сіль за будь-яким із зазначених вище п.п. (9), (10), (12), (13), (14) і (17), яка має в молекулі 10 або менше груп сульфонові кислоти.

45 (19) Натрієва сіль за будь-яким із зазначених вище п.п. (9), (10), (12), (13), (14) і (17), яка має в молекулі 8 або менше груп сульфонові кислоти.

(20) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру, який містить натрієву сіль за будь-яким із зазначених вище п.п. (9)-(19).

(21) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за вказаним вище п. (20), призначений для візуалізації пухлини і/або ангиографії.

50 (22) Спосіб флуоресцентної візуалізації, який передбачає введення флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за вказаним вище п. (1), до живого організму, освітлення організму збуджувальним світлом і реєстрацію флуоресценції контрастного агента в ближній інфрачервоній ділянці спектру.

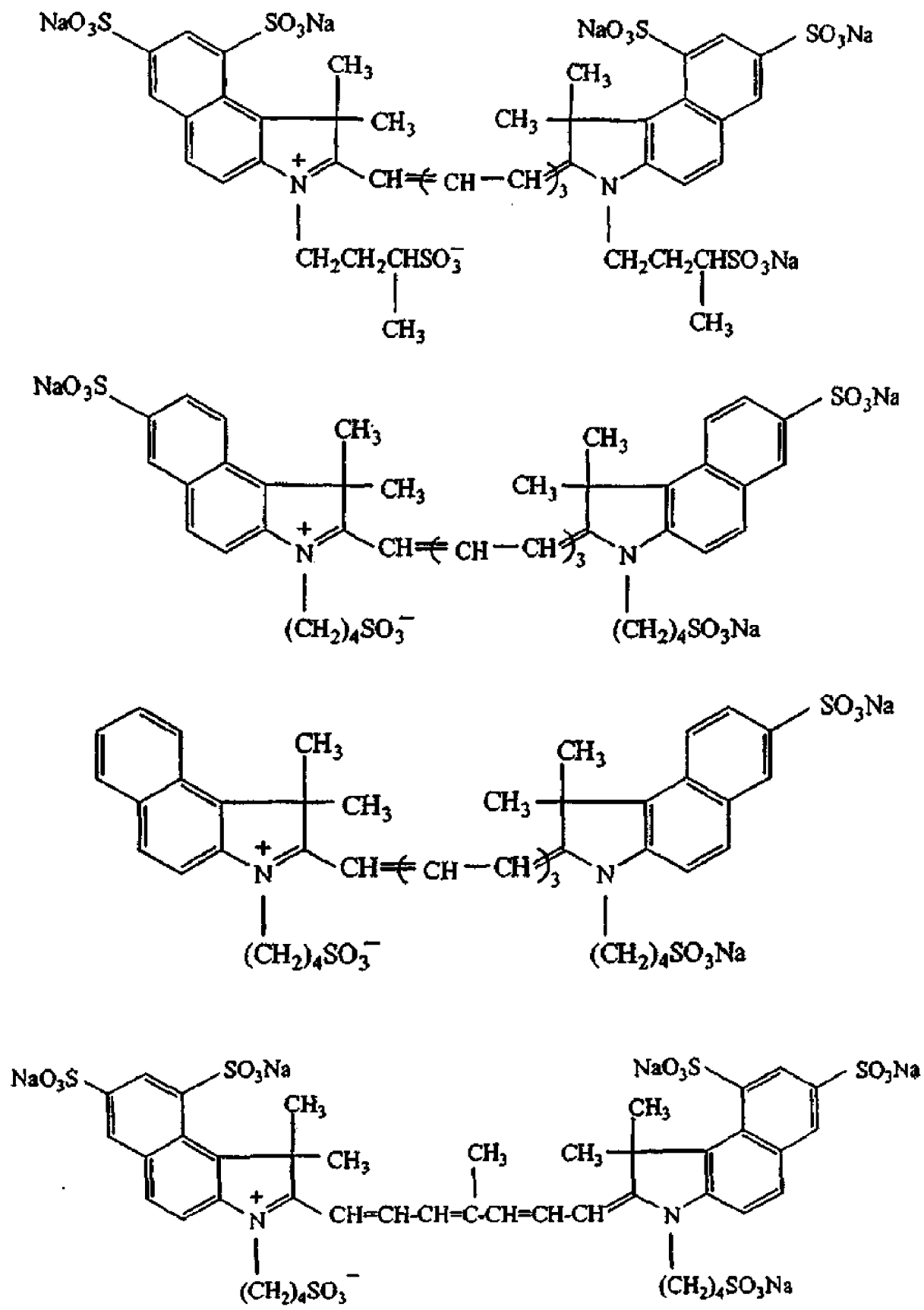
55 (23) Натрієва сіль за вказаним вище п. (9), яка являє собою принаймні одну сполуку, вибрану з групи, яка включає сполуки таких формул

60

65

U
A
7
5
3
6
0
C
2

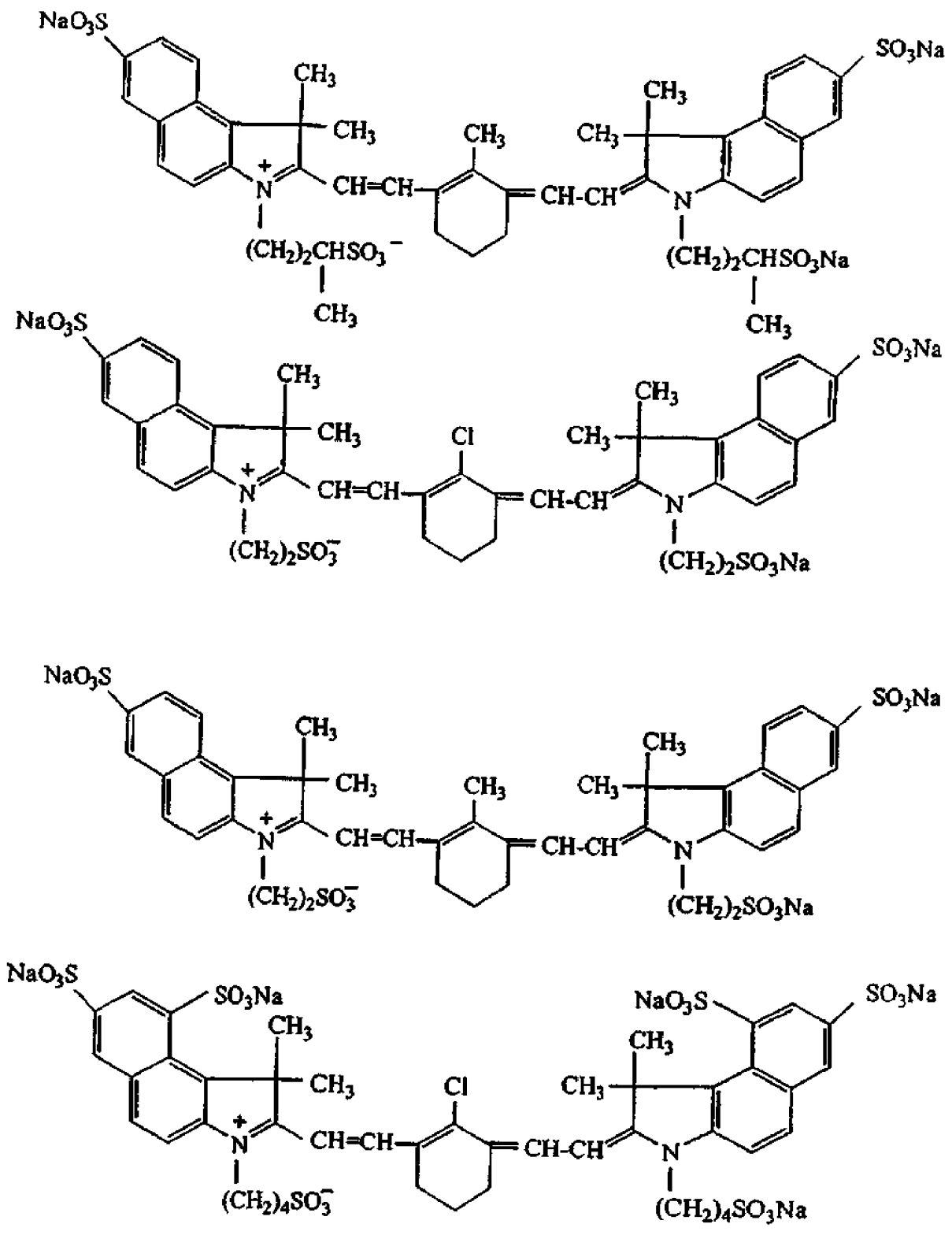
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U
A
7
5
3
6
0
C
2

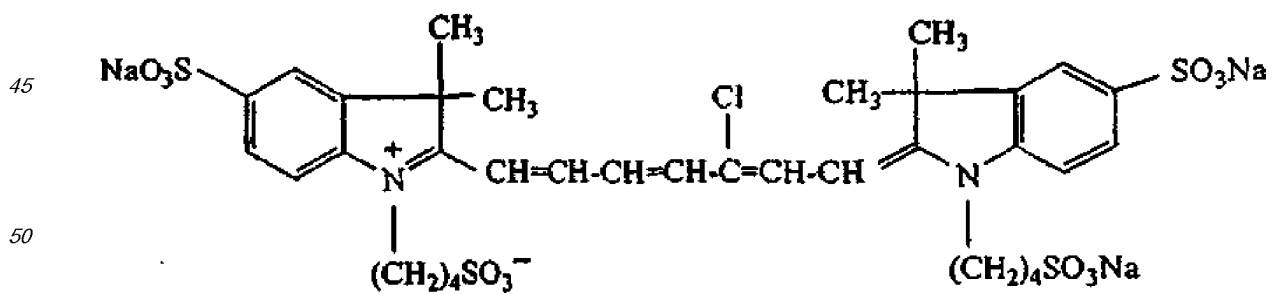
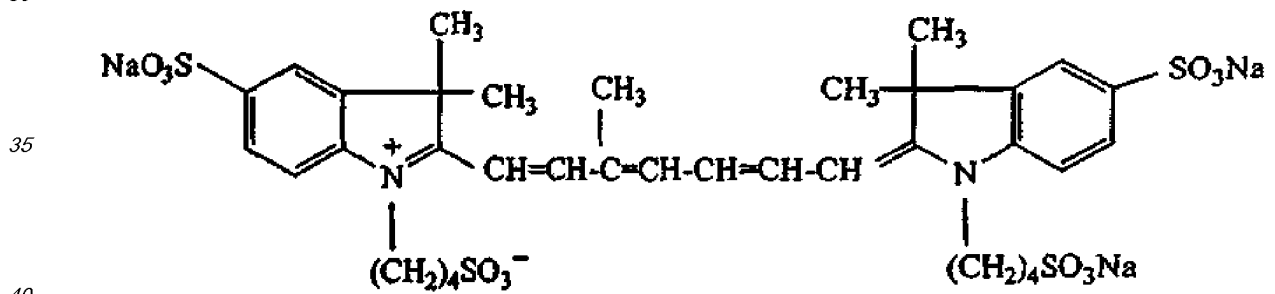
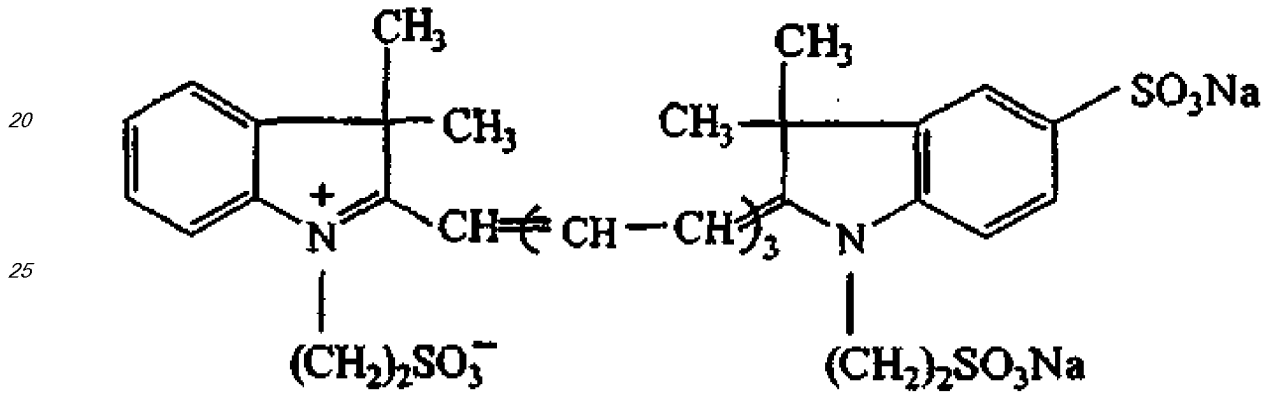
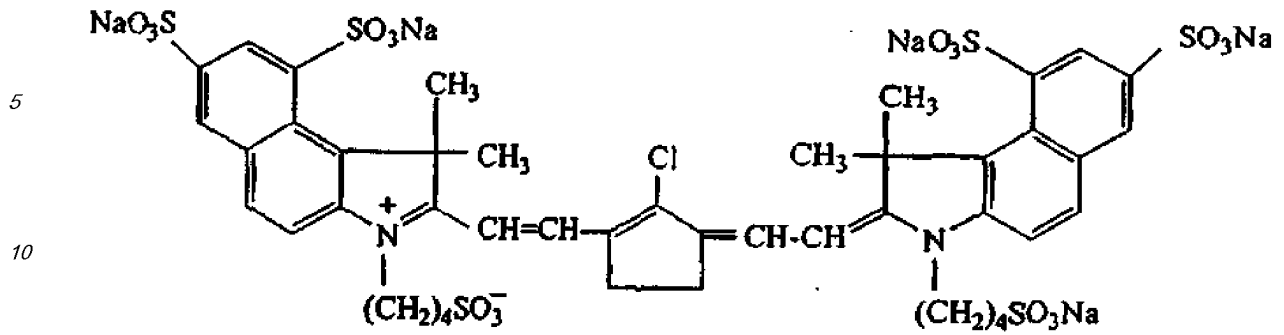
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

та

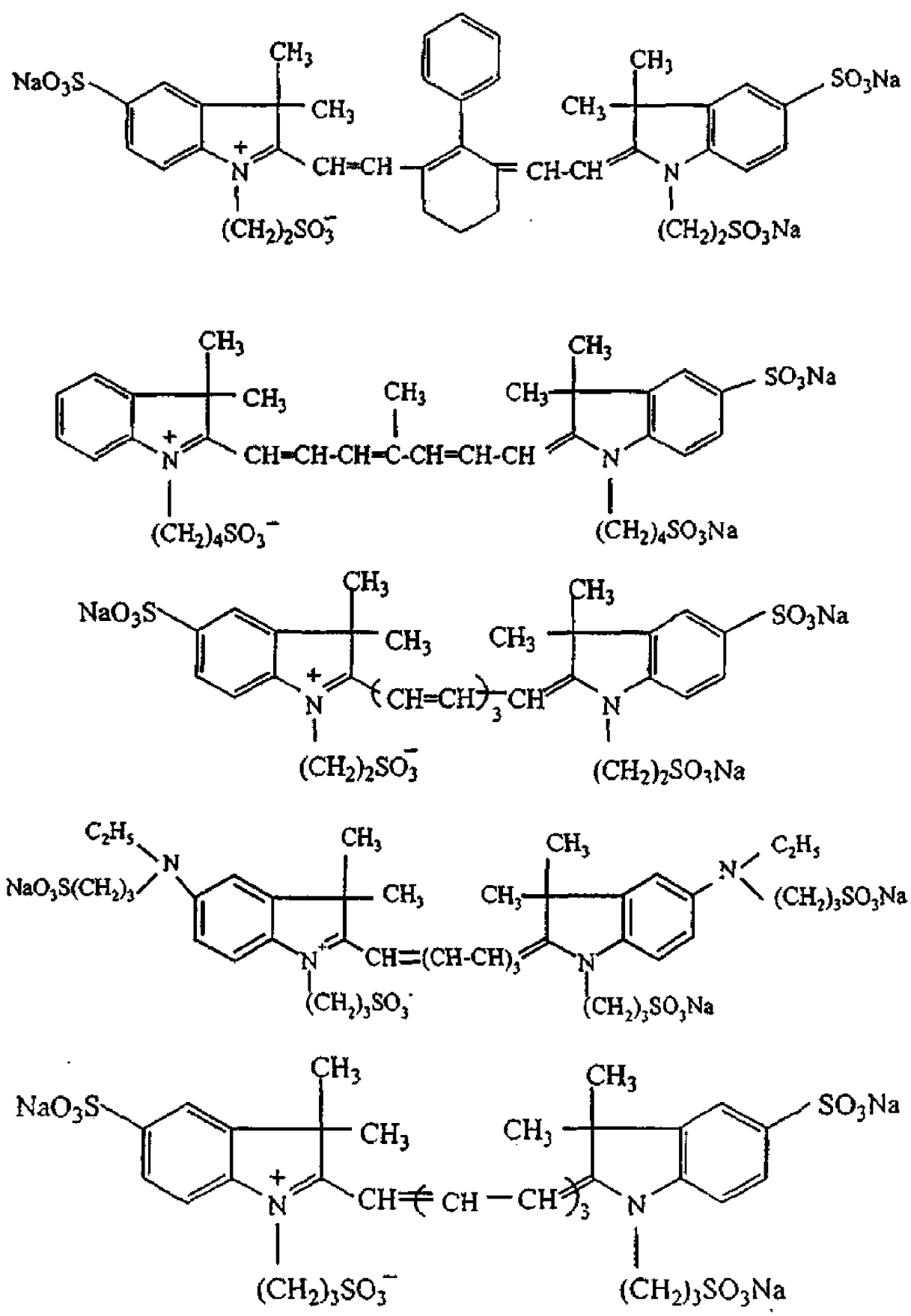


U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

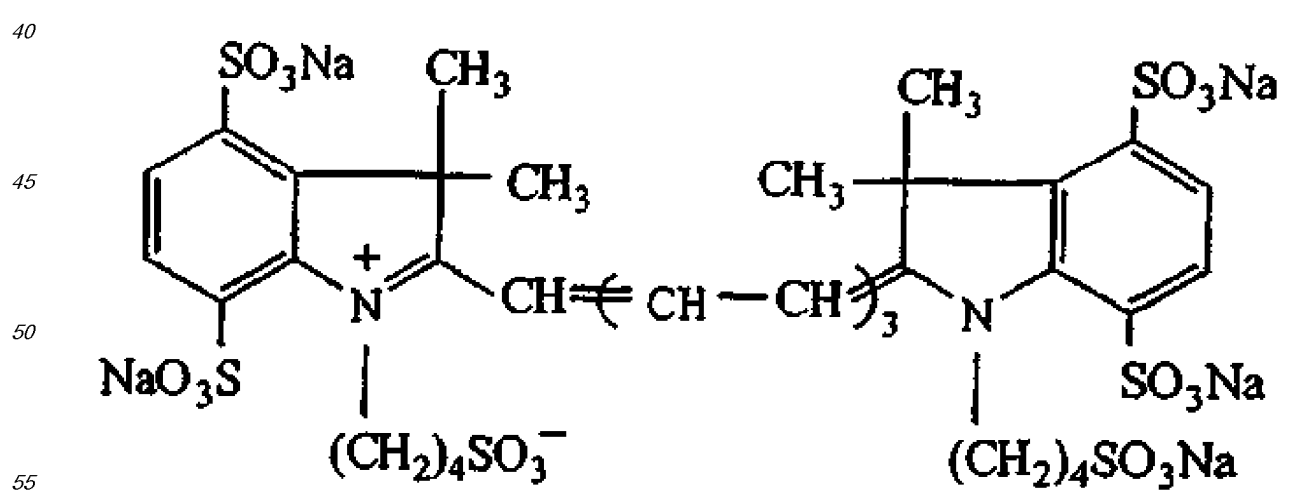
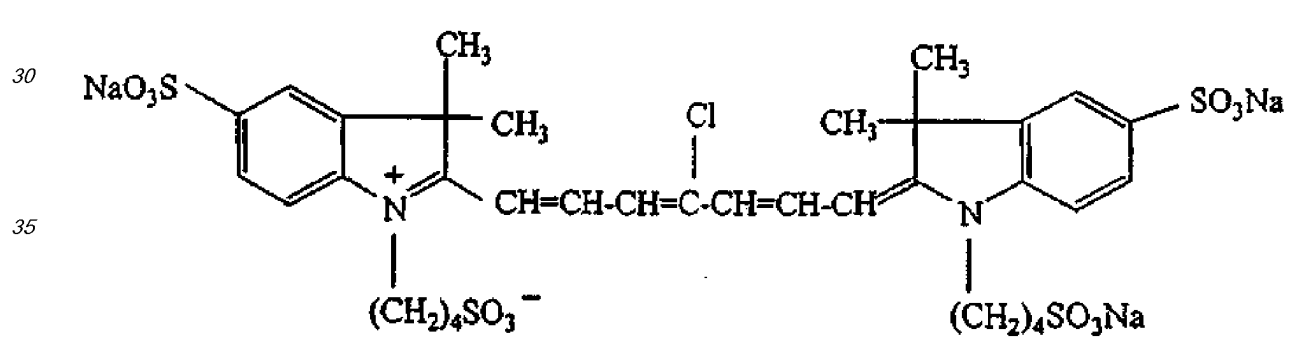
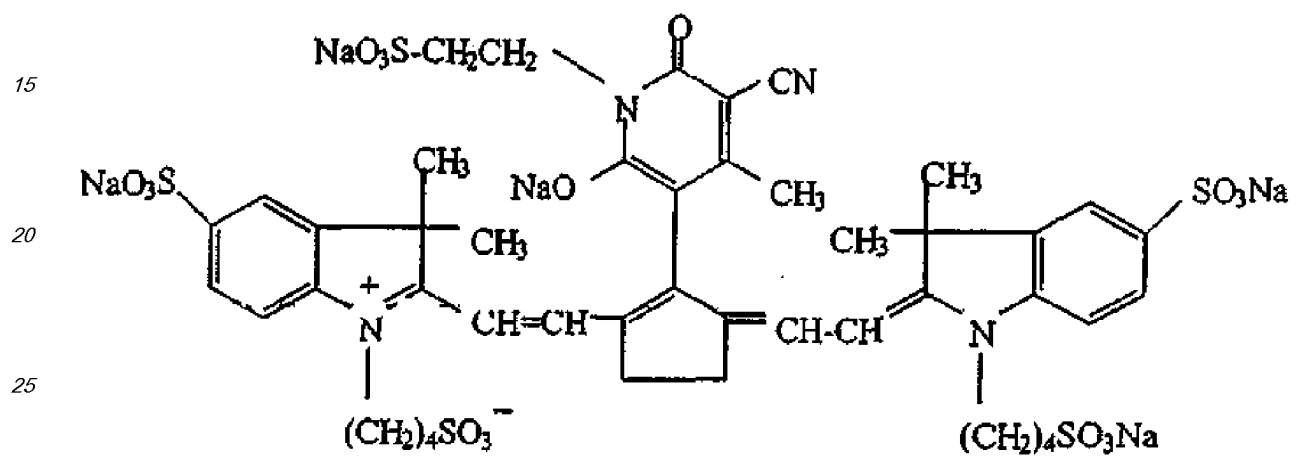
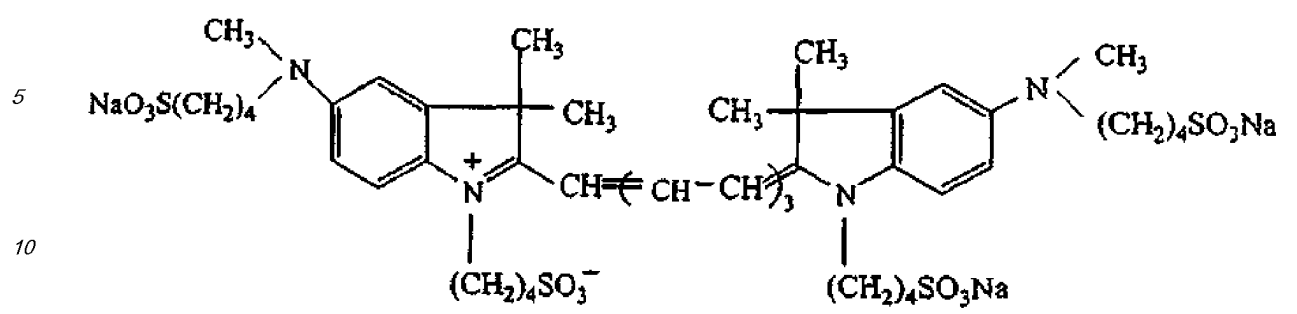
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

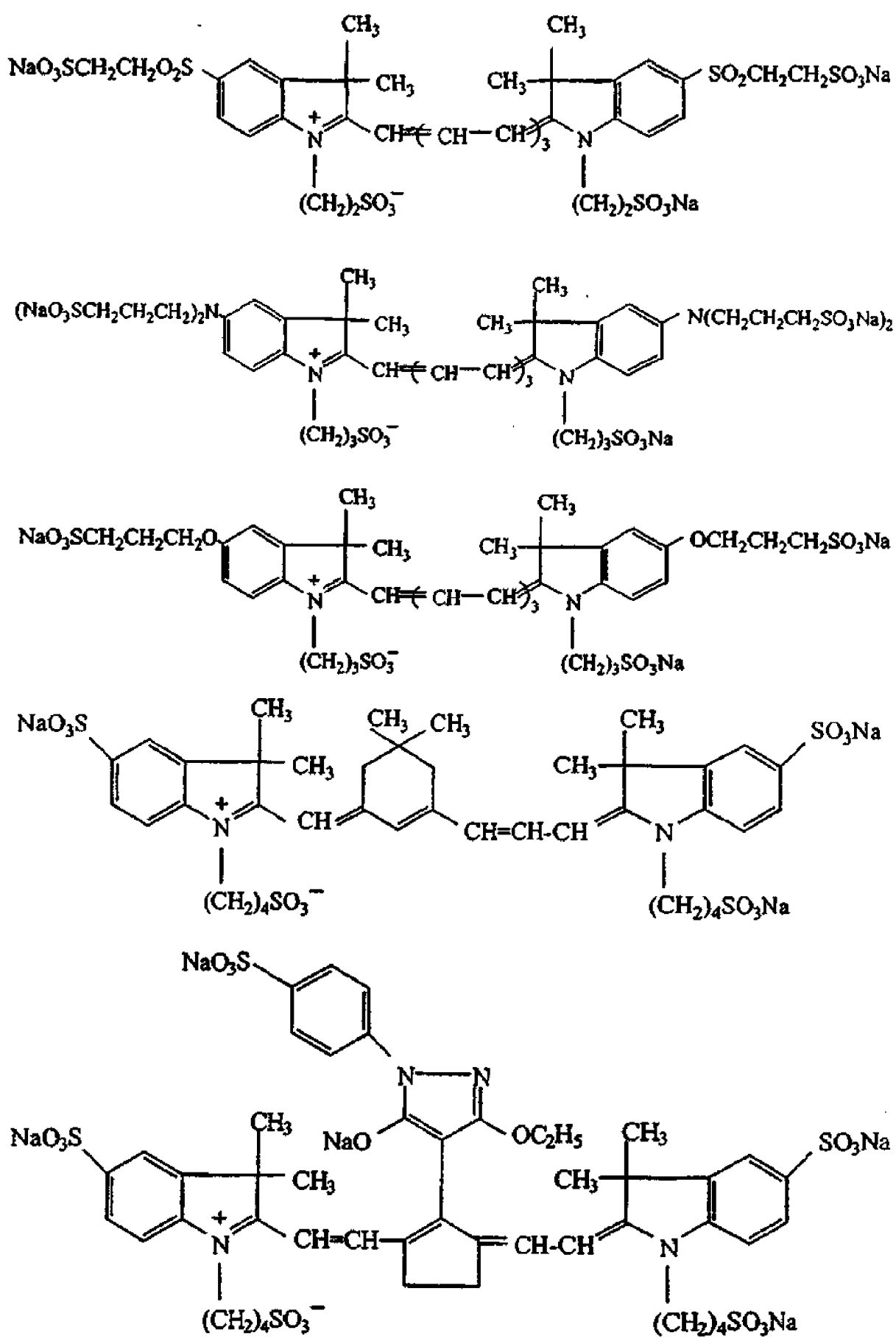
U A 7 5 3 6 0 C 2



U A 7 5 3 6 0 C 2

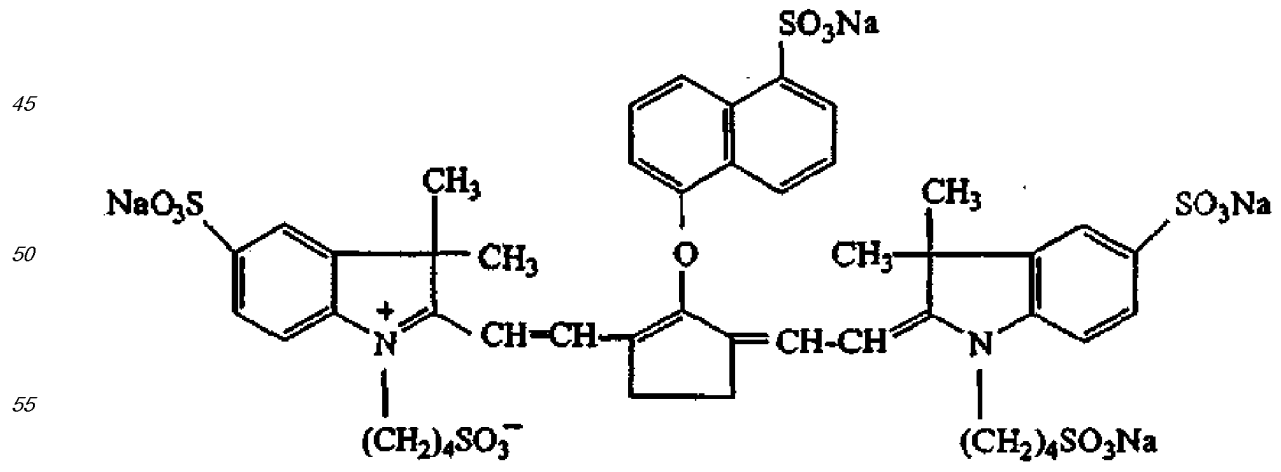
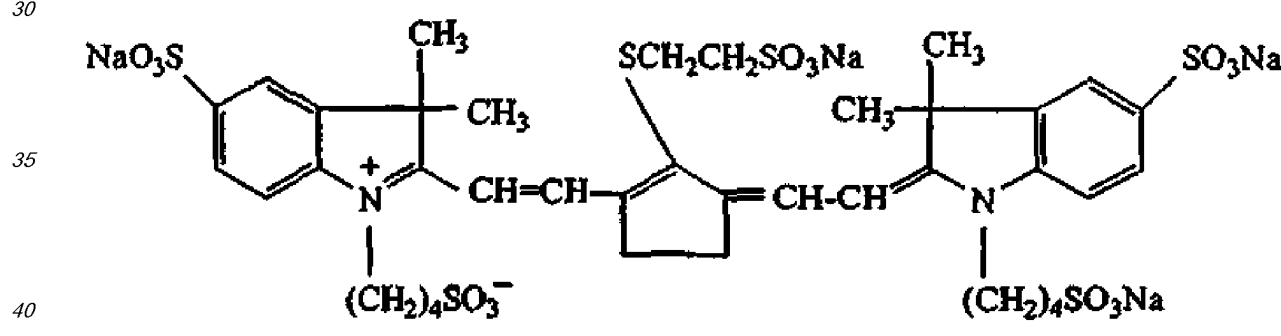
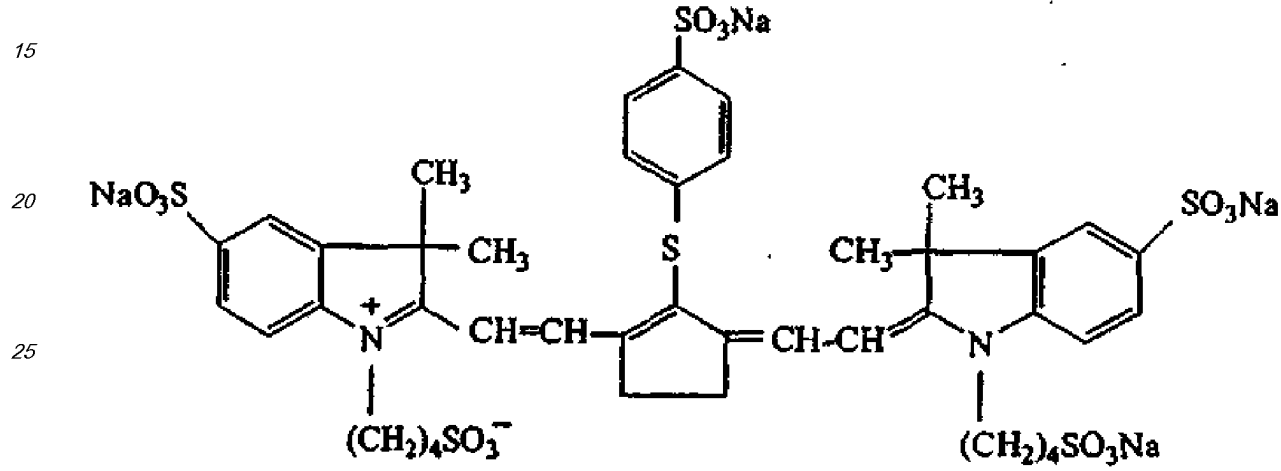
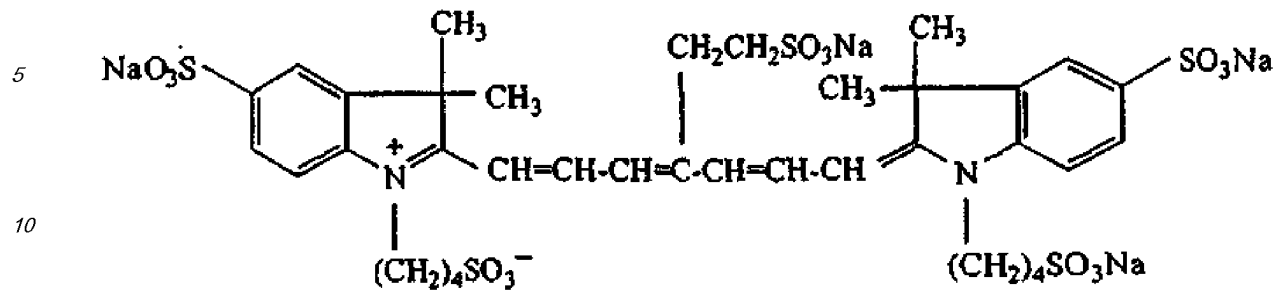
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

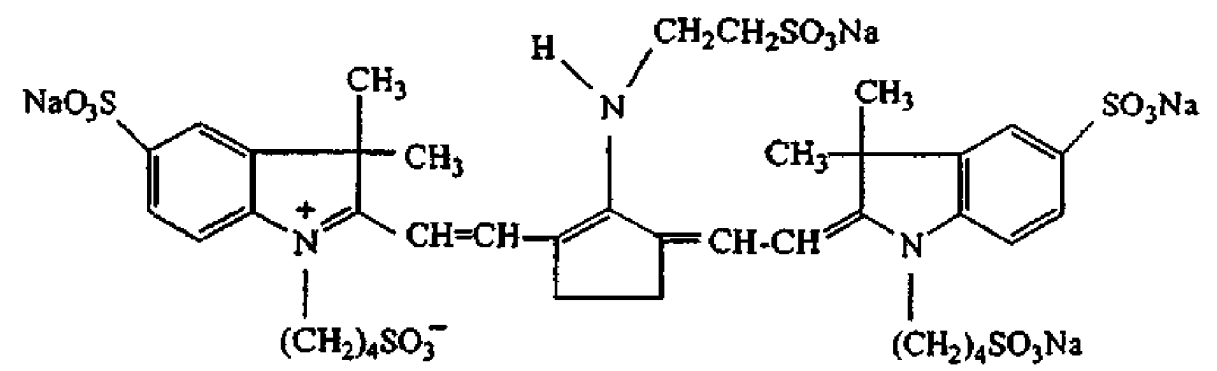
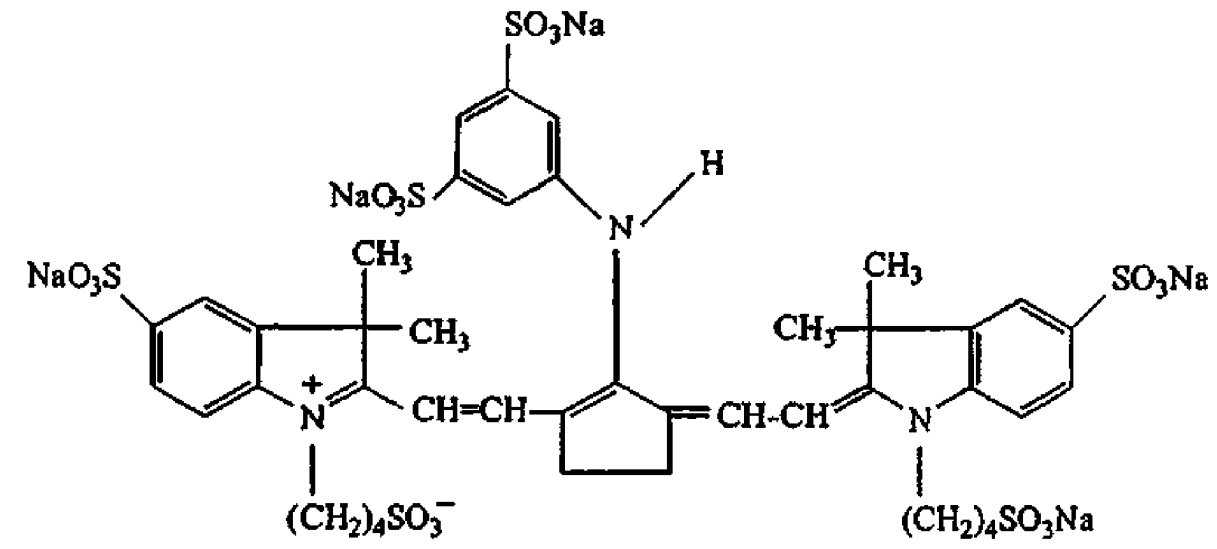
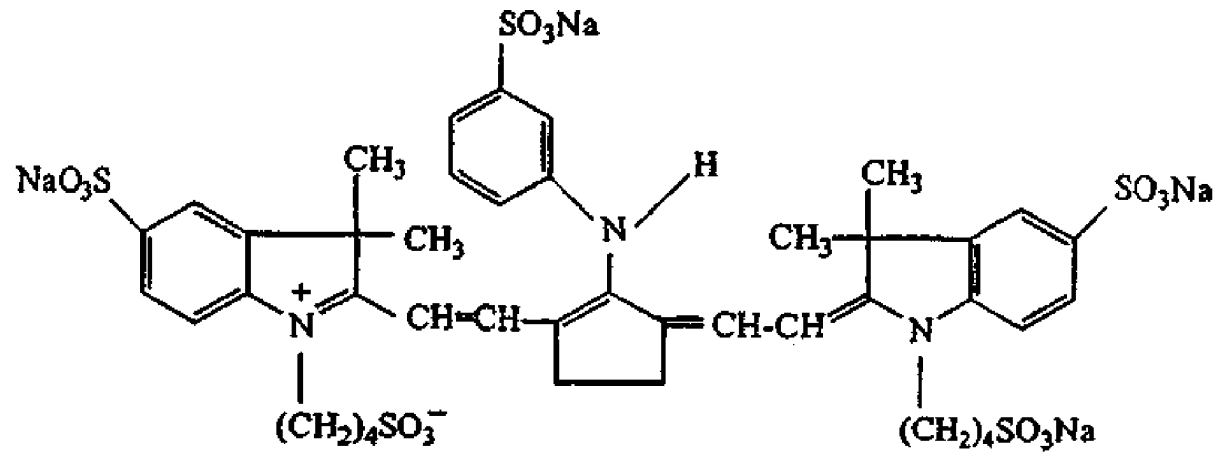
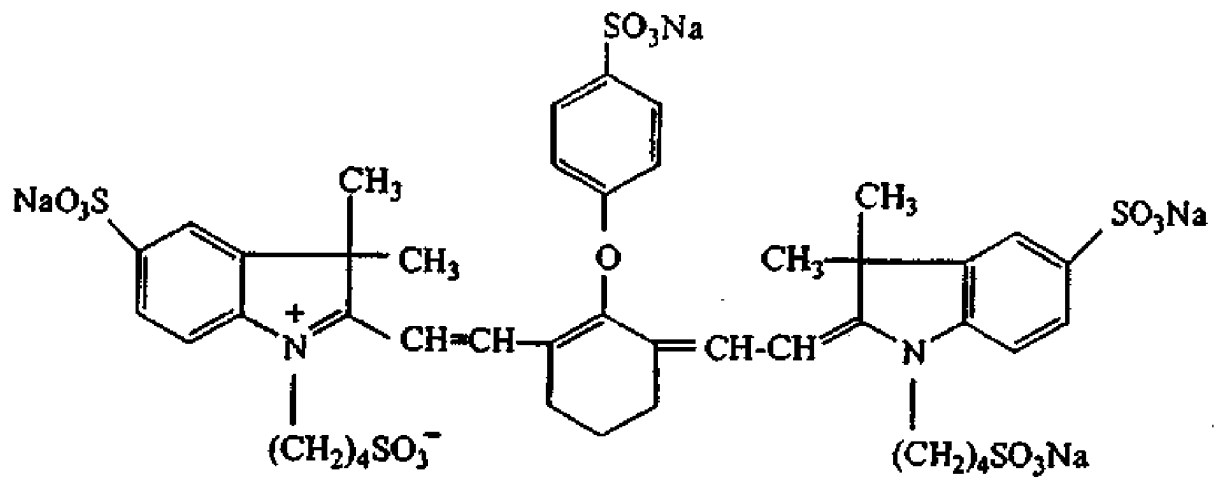
U A 7 5 3 6 0 C 2



U A 7 5 3 6 0 C 2

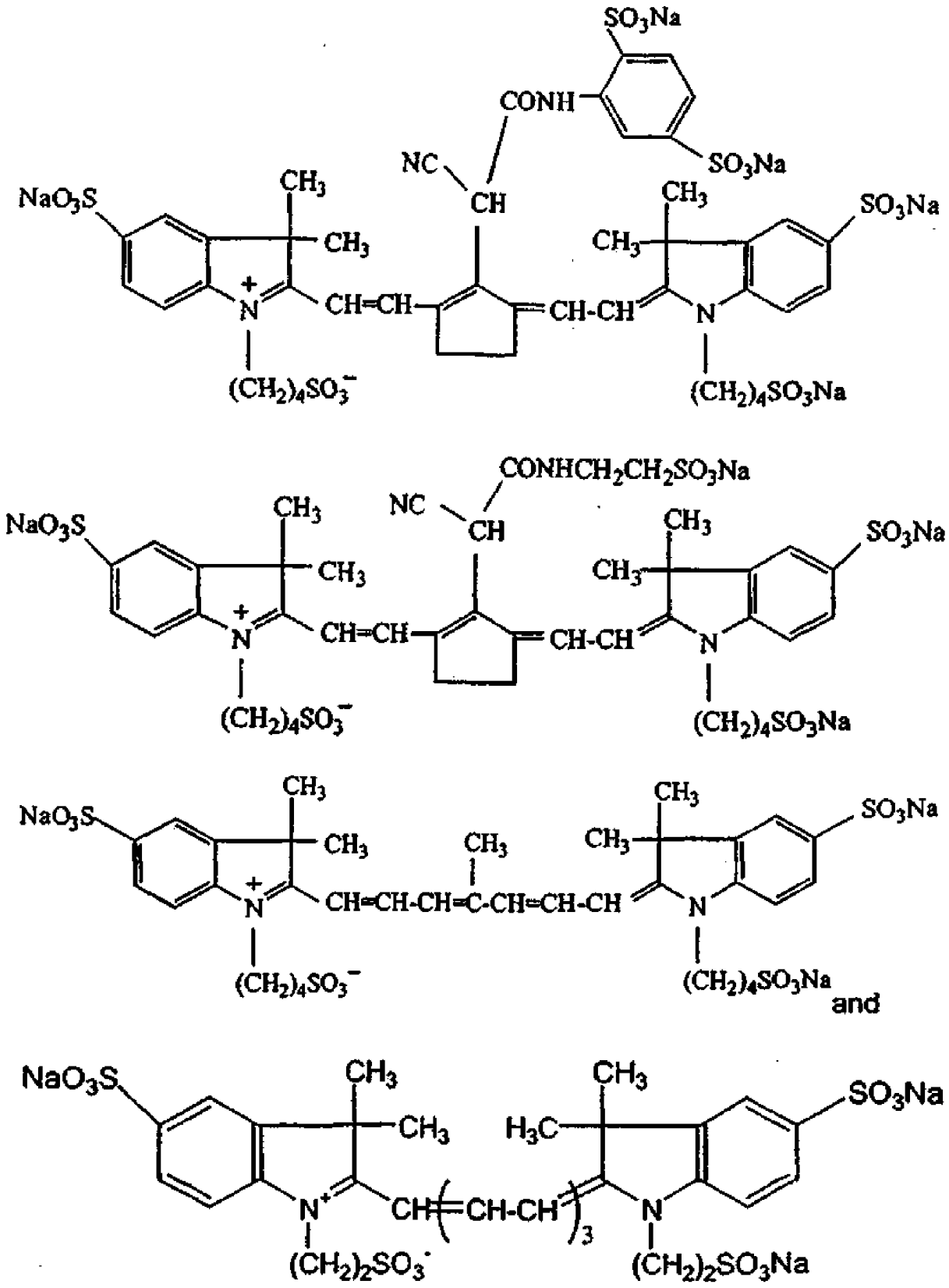
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

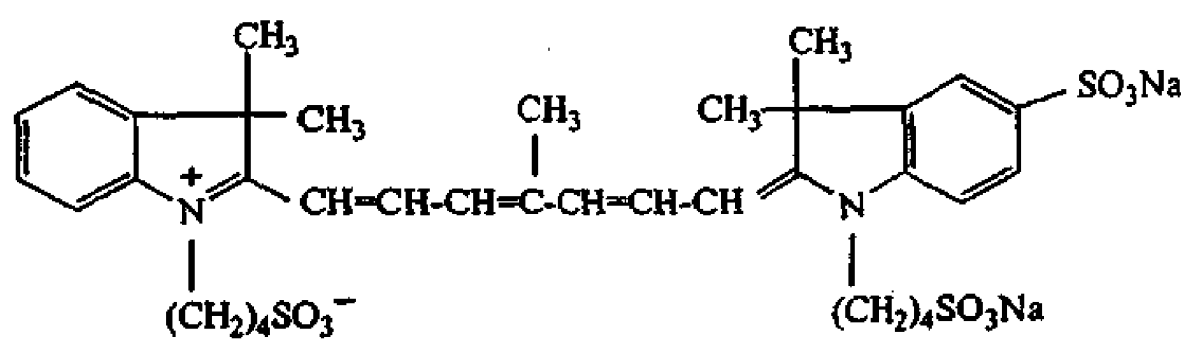
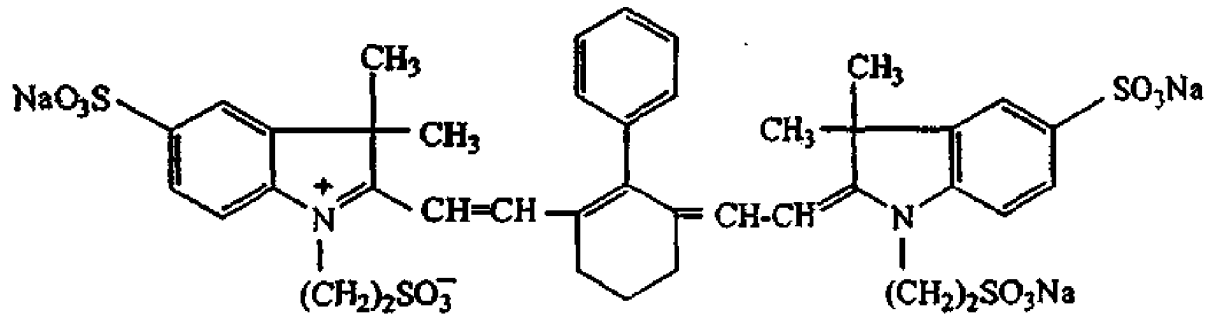
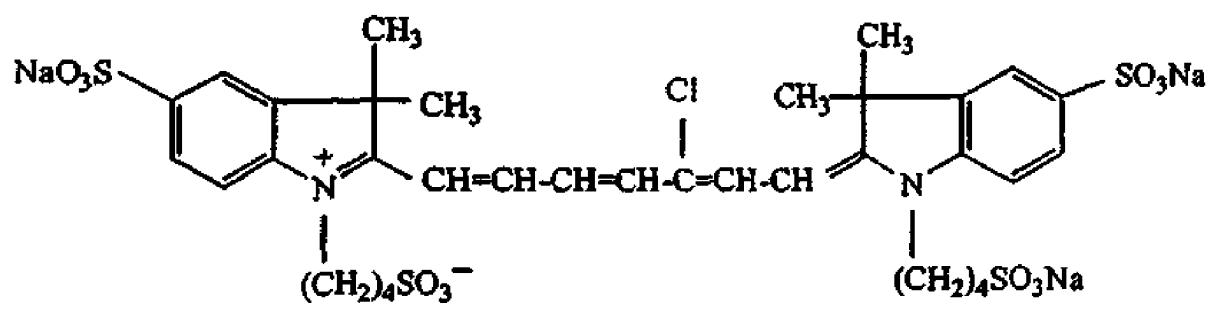
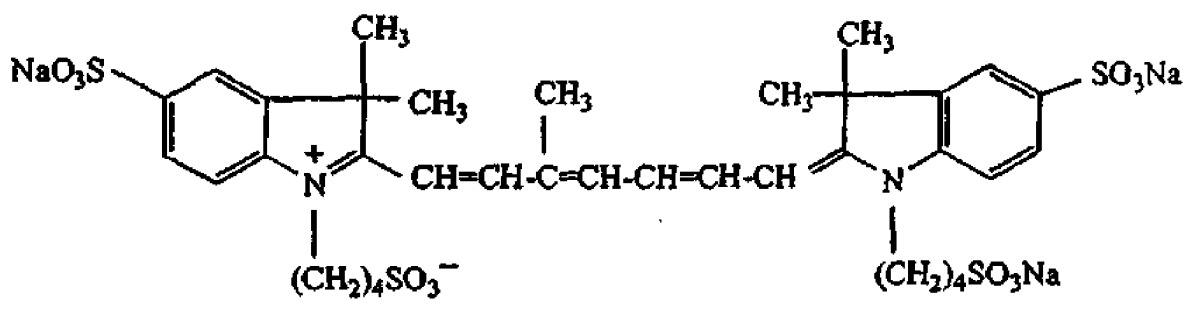
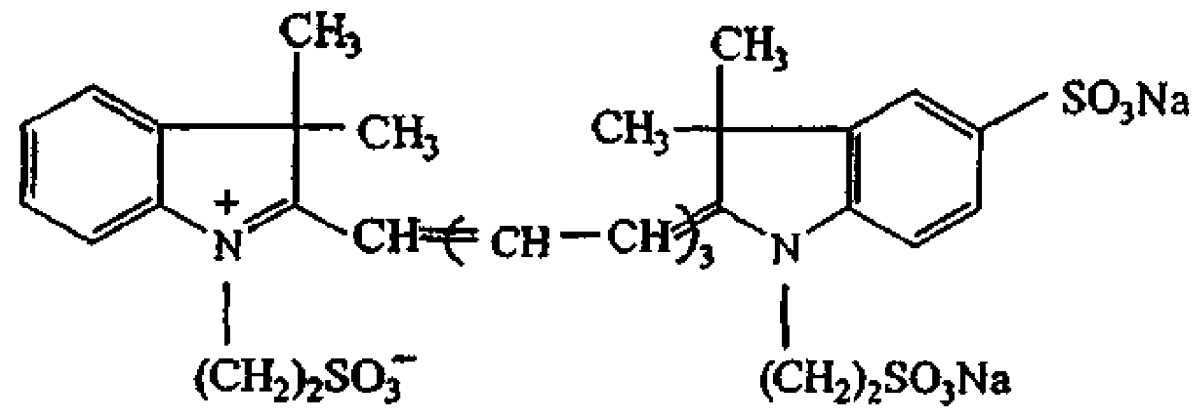
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



(25) Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за вказаним вище п. (1), який містить принаймні одну сполуку, вибрану з групи, яка включає сполуки таких формул

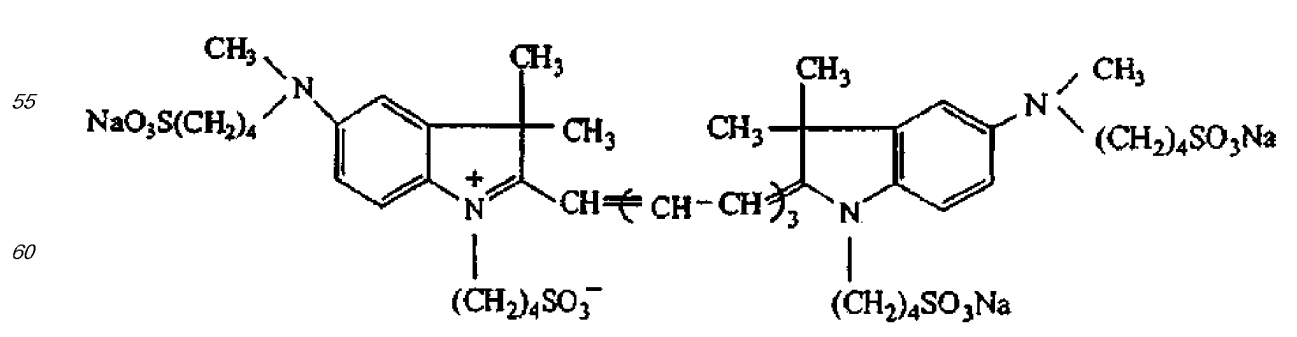
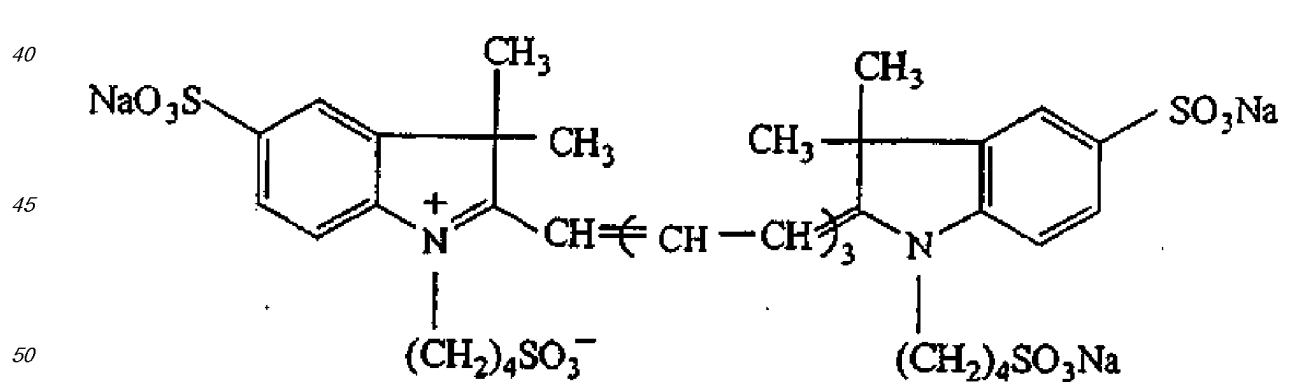
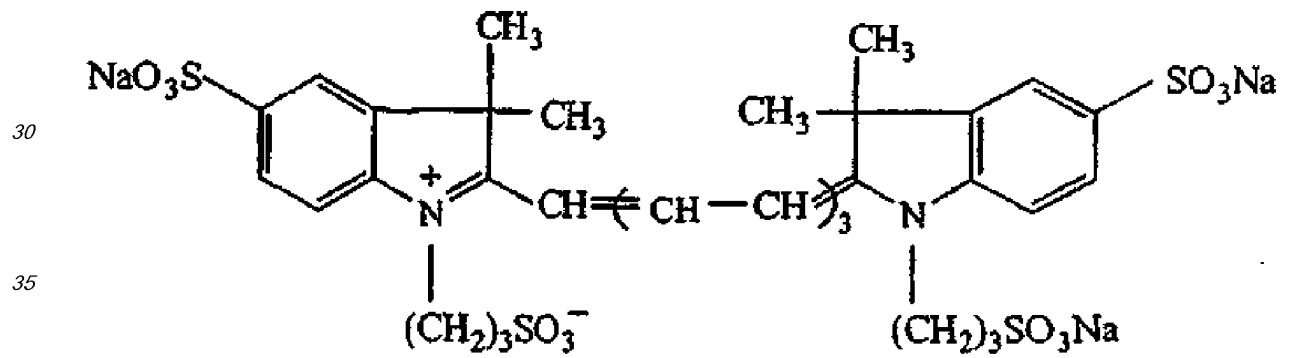
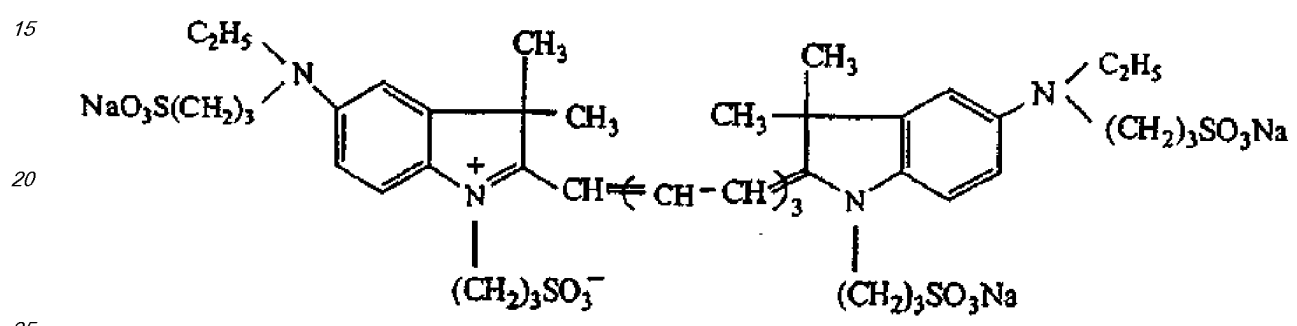
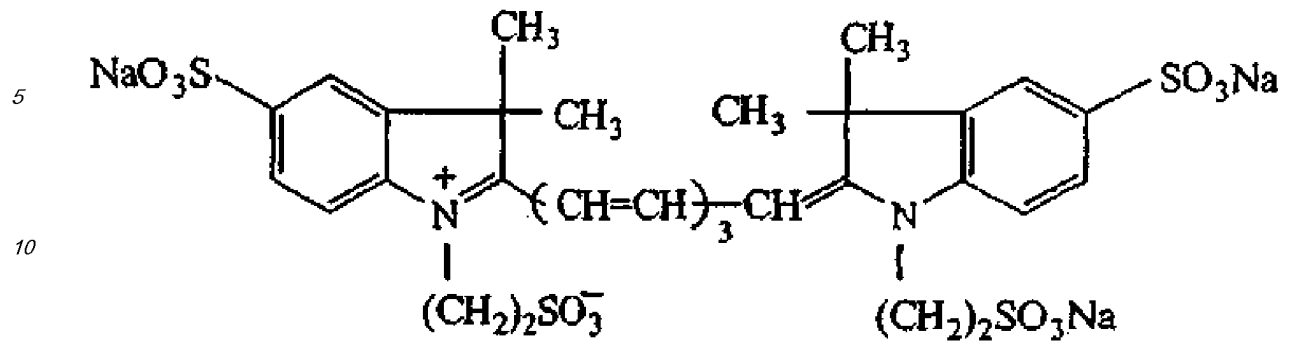
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

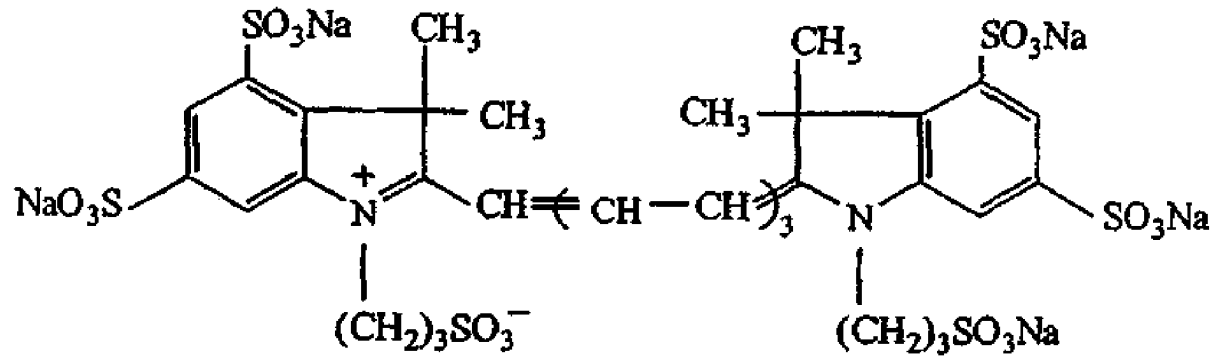
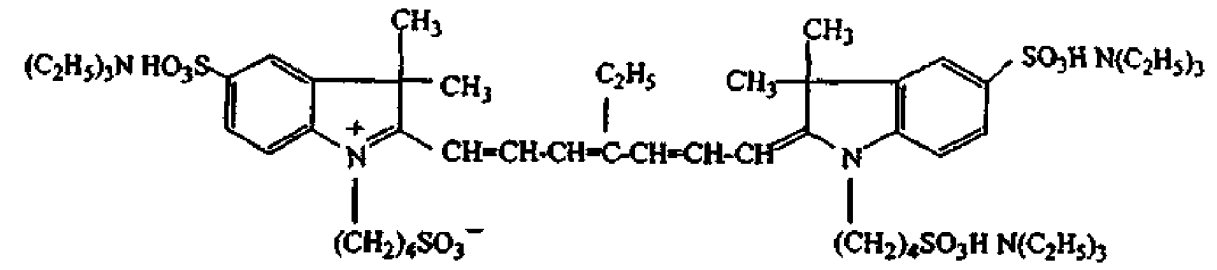
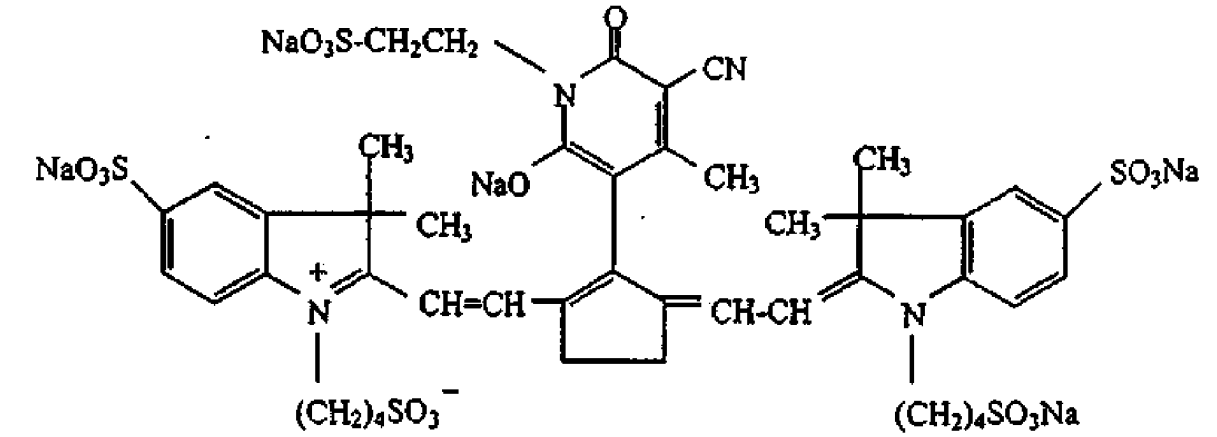
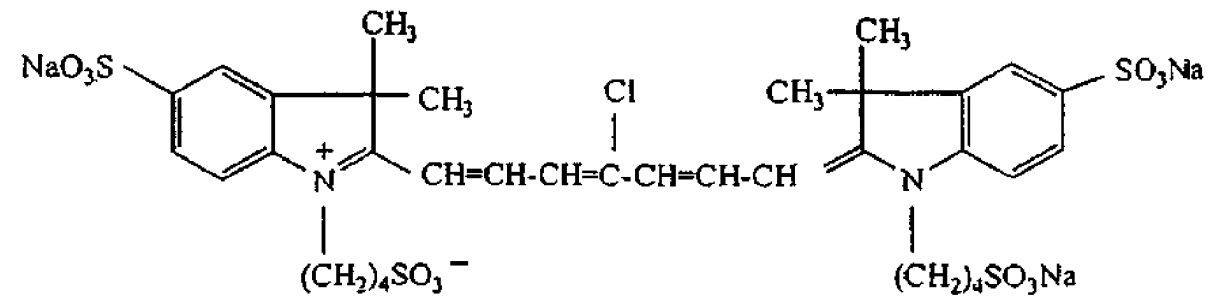
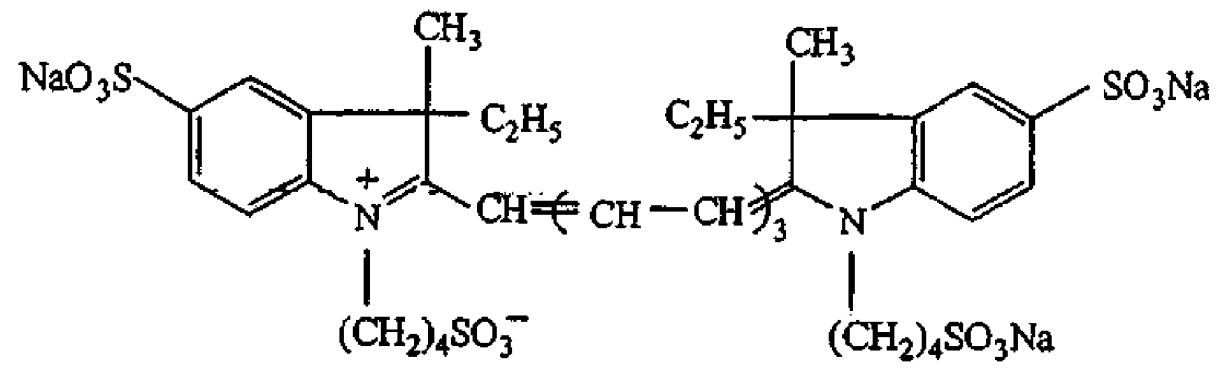
U A 7 5 3 6 0 C 2



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

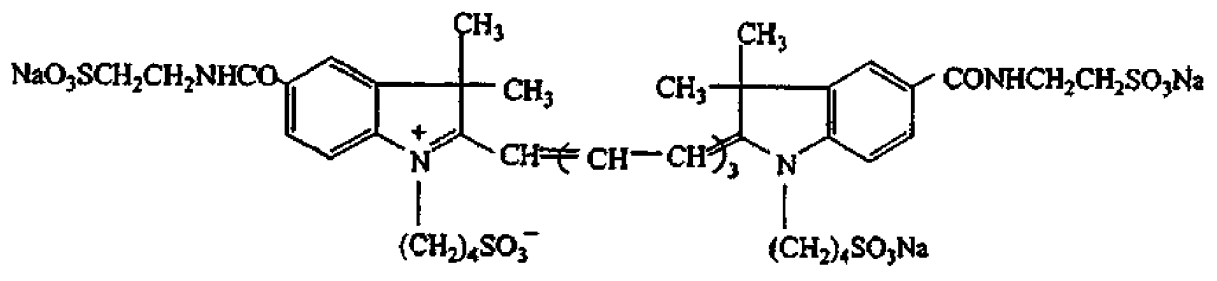
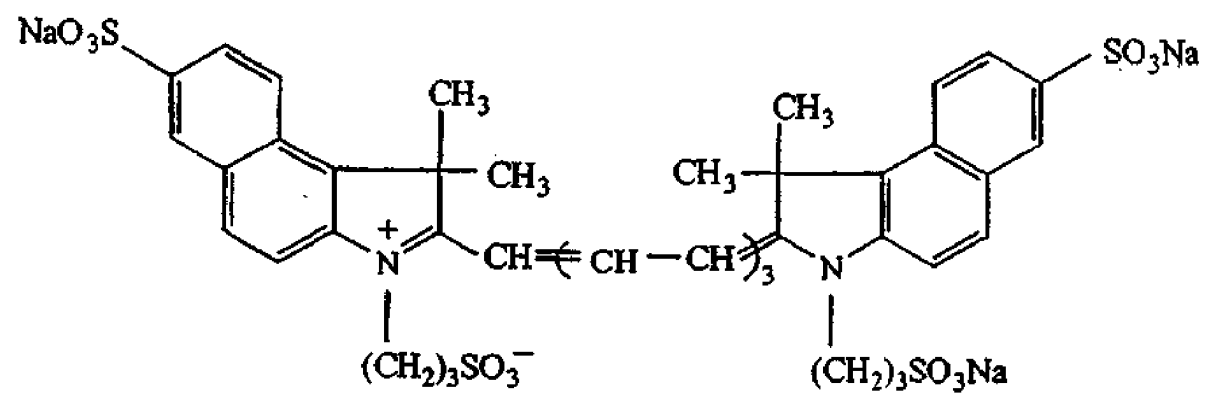
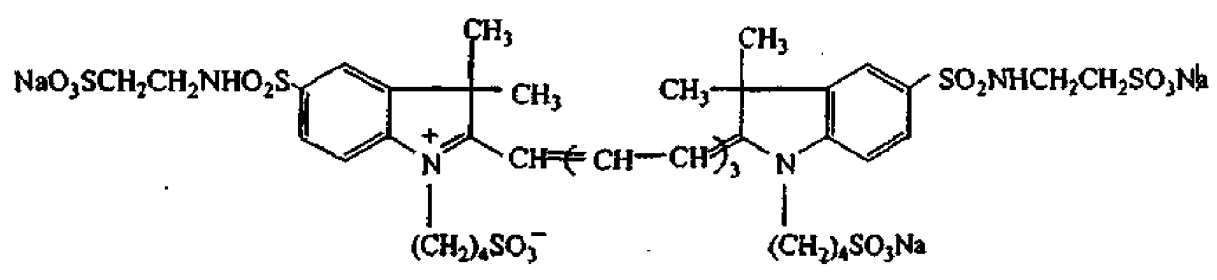
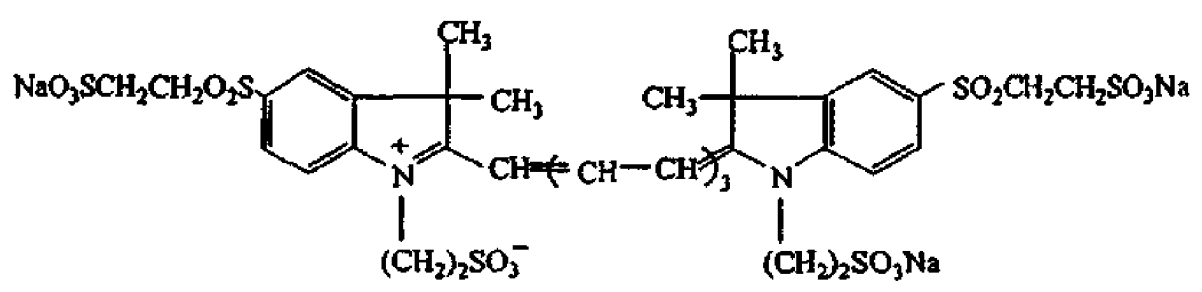
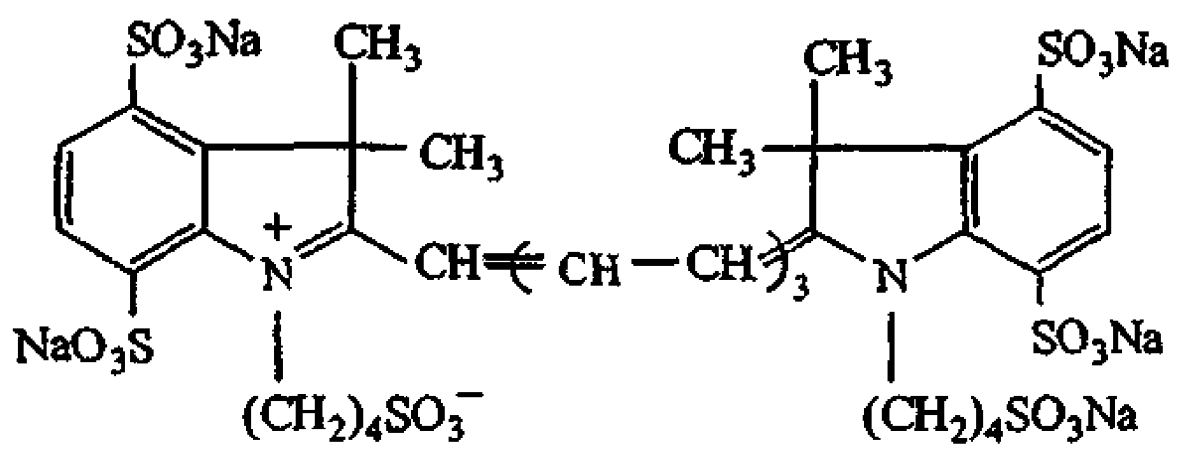
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

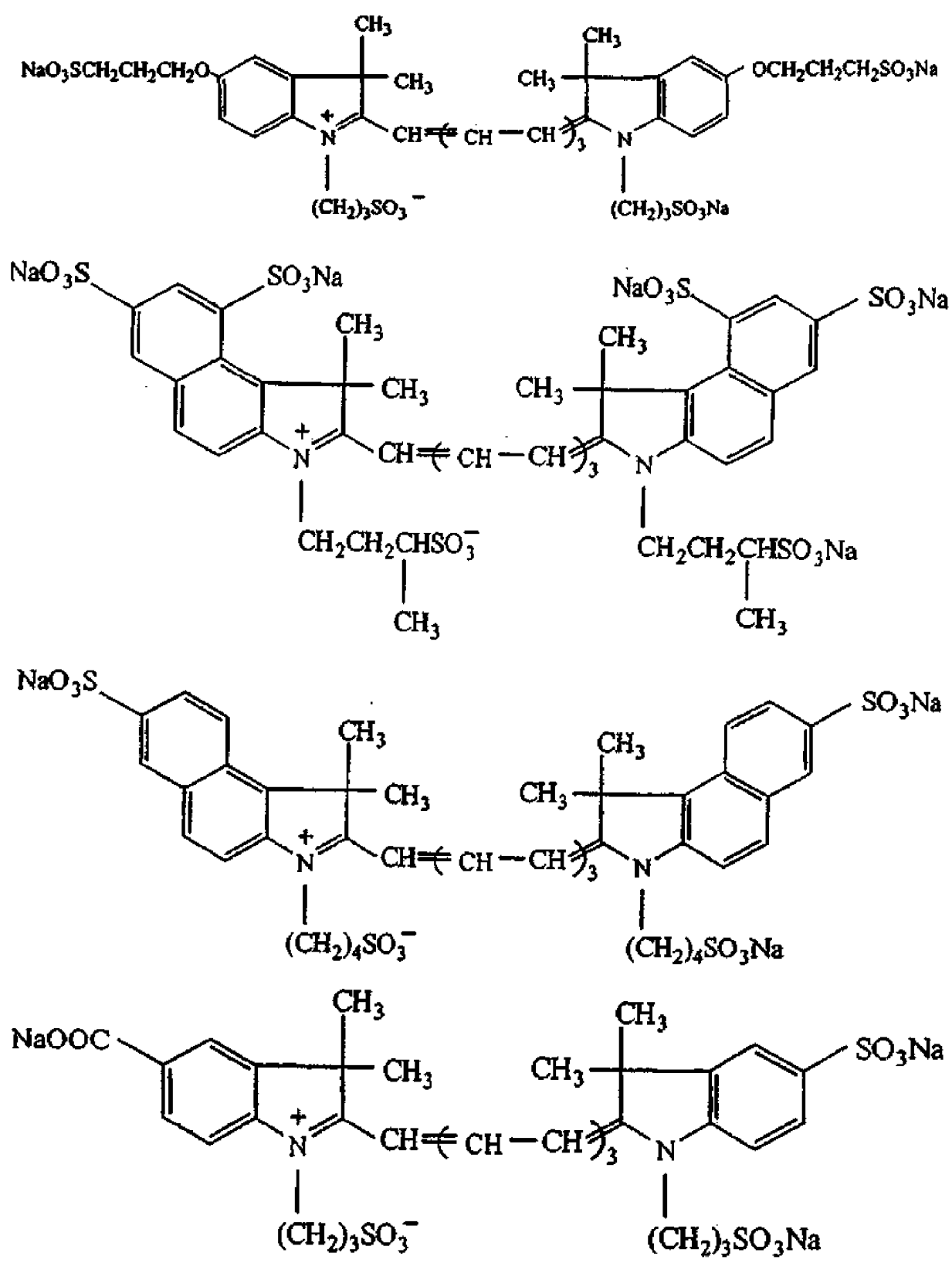
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

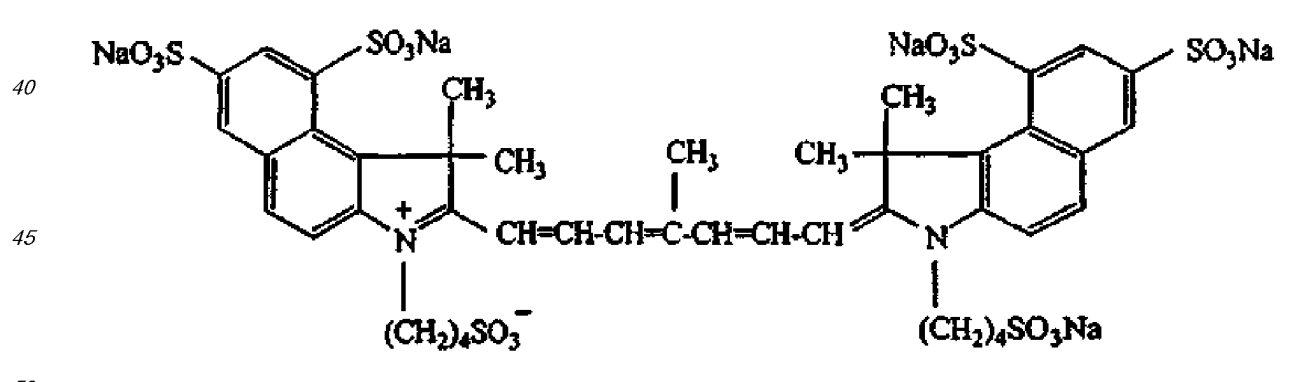
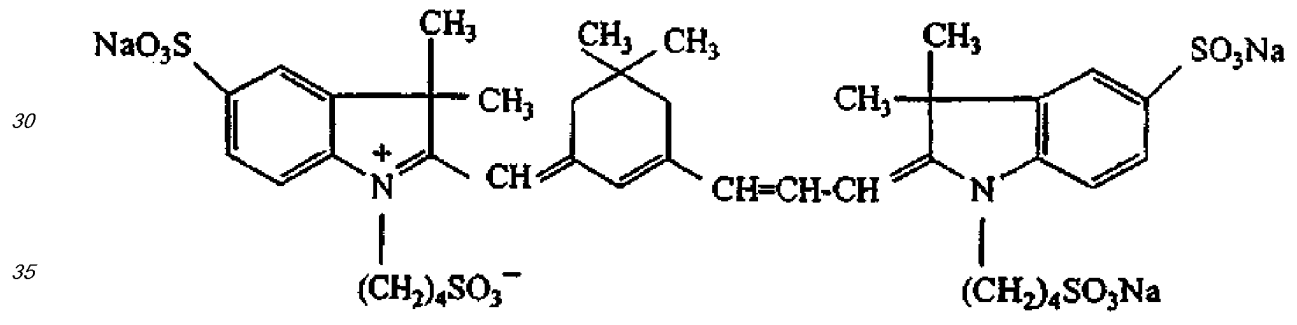
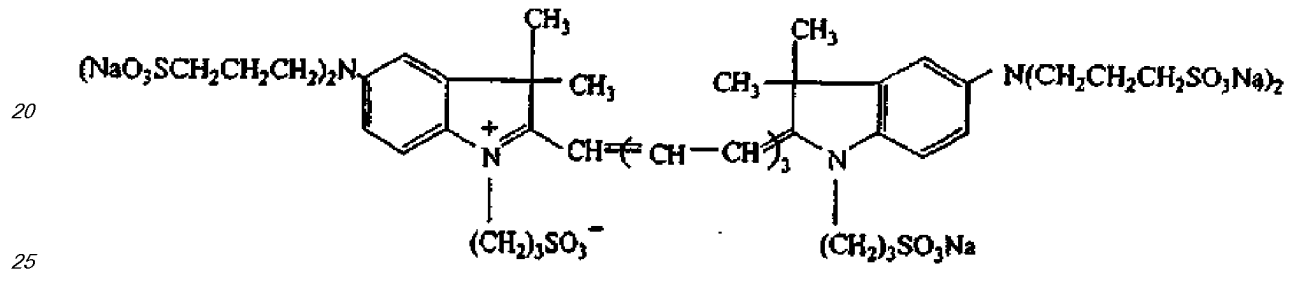
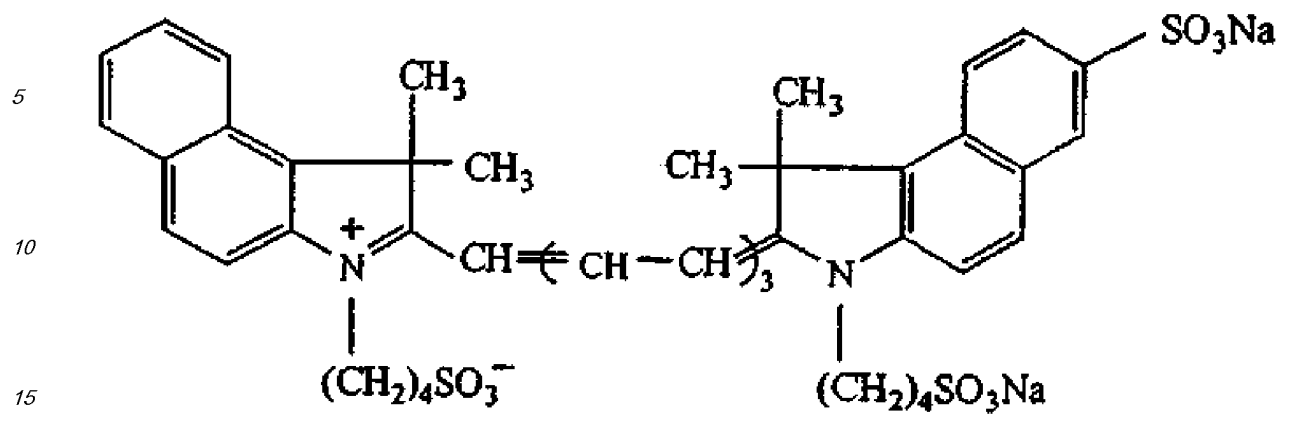
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

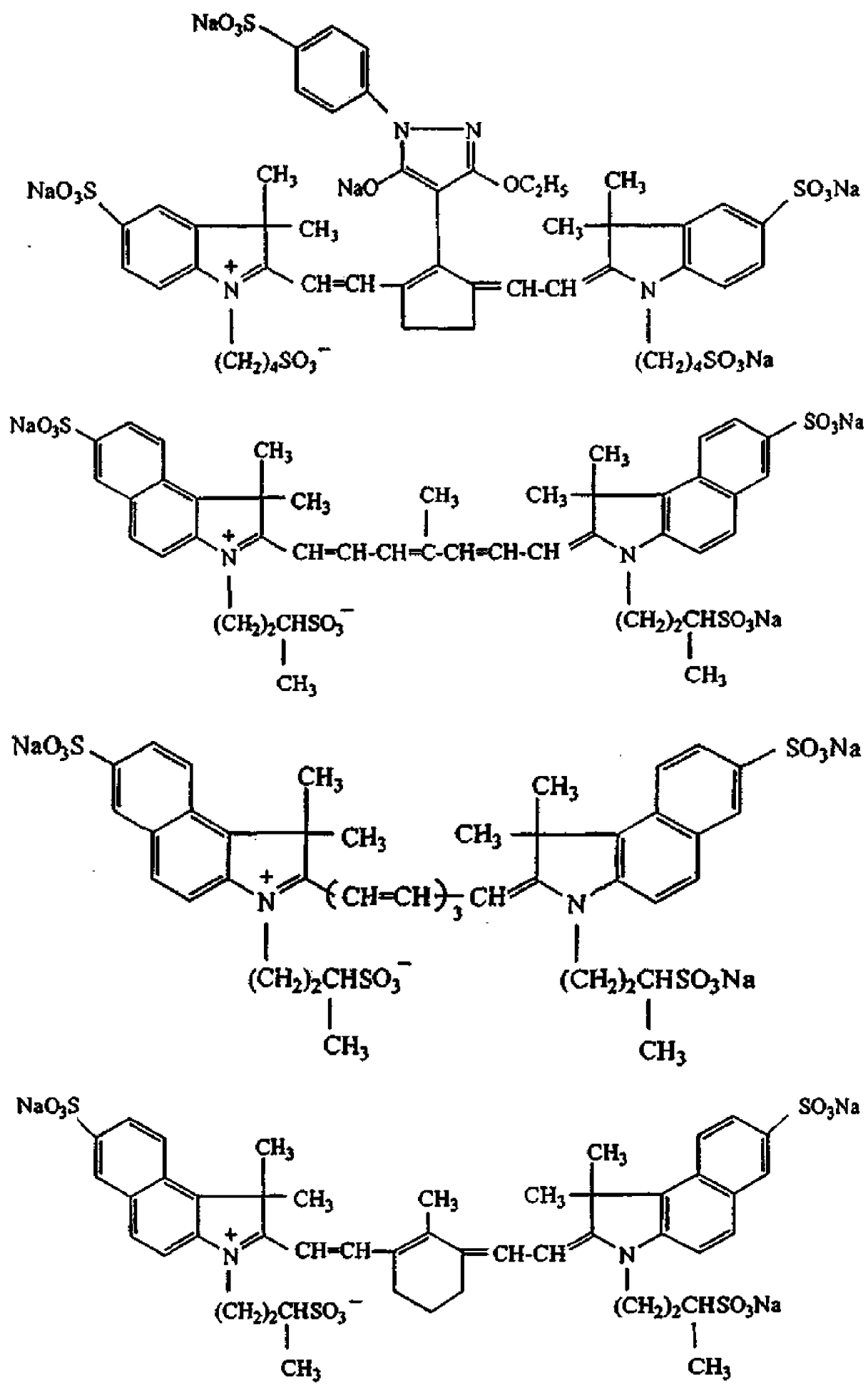
U A 7 5 3 6 0 C 2



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

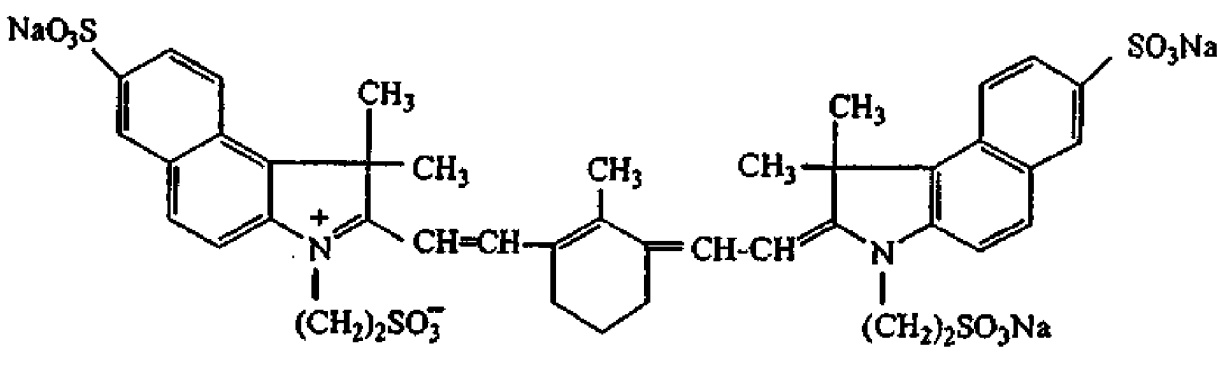
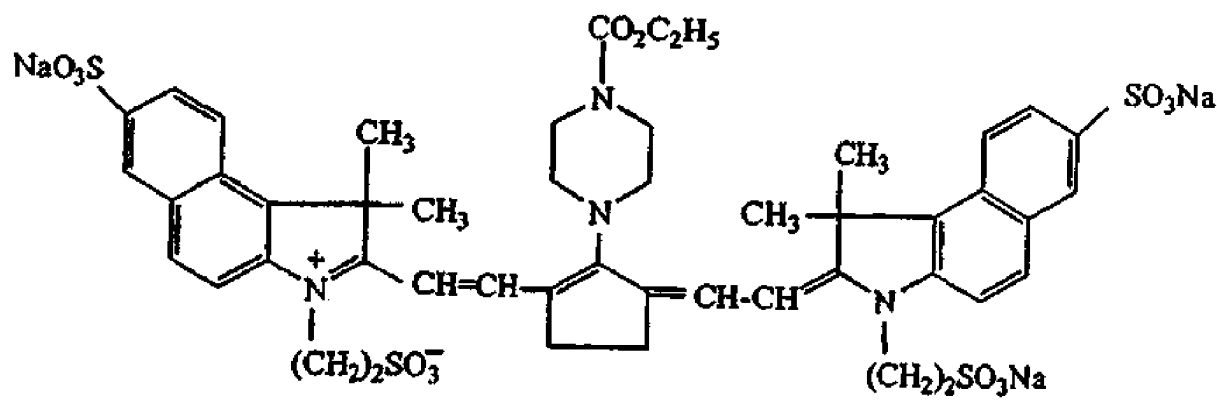
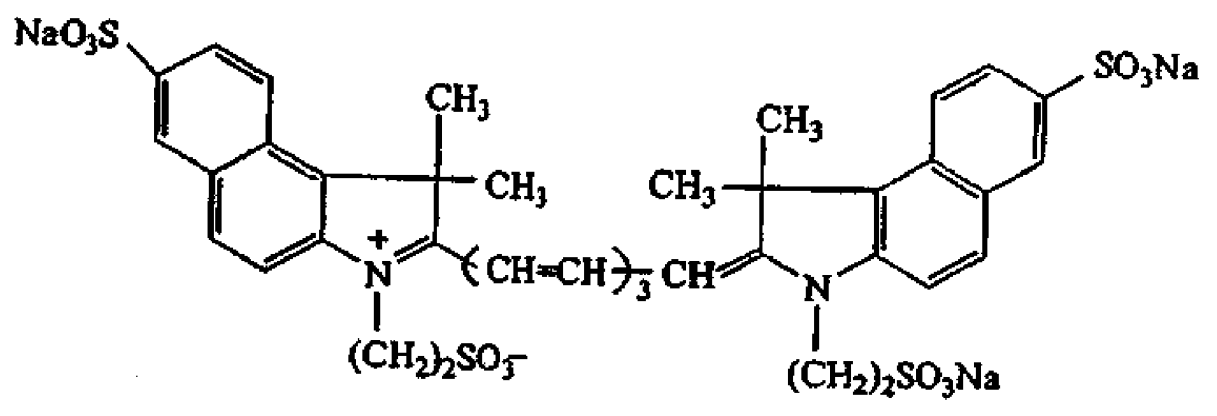
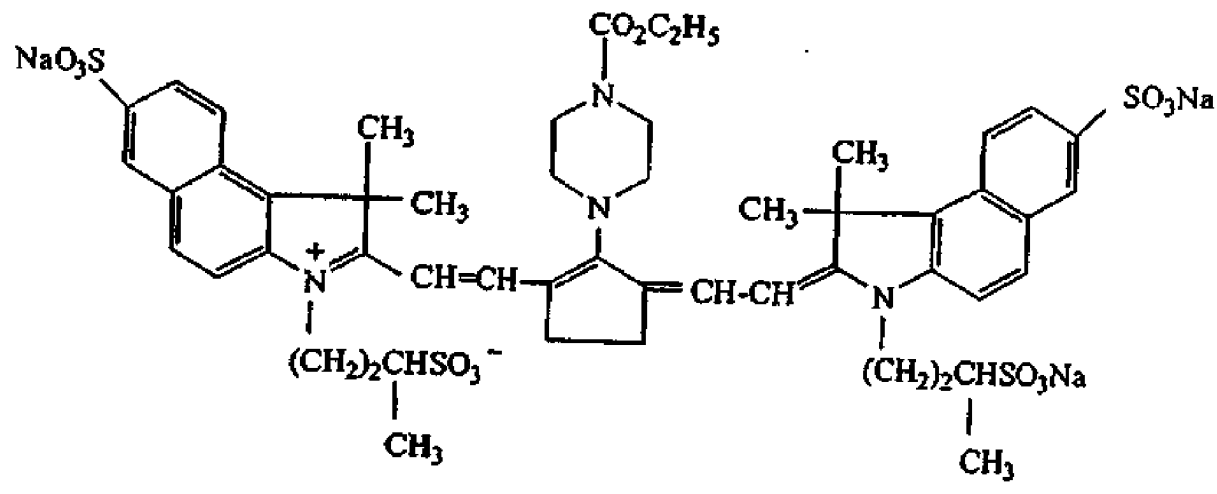
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

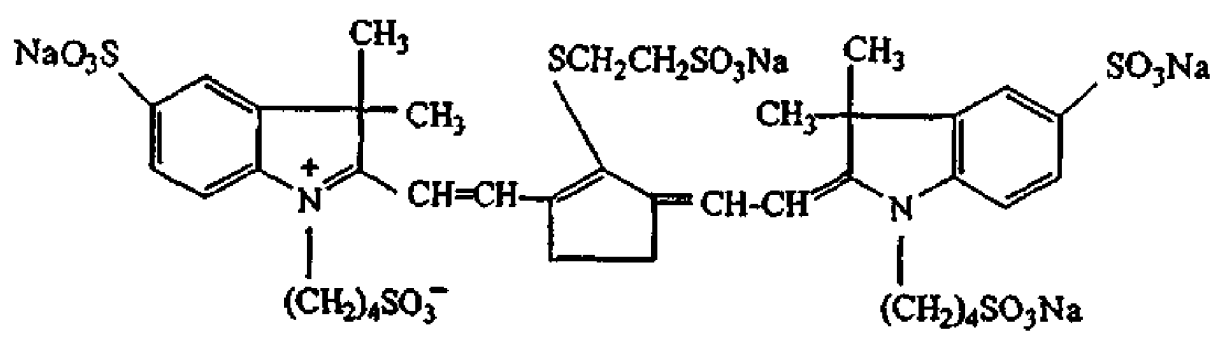
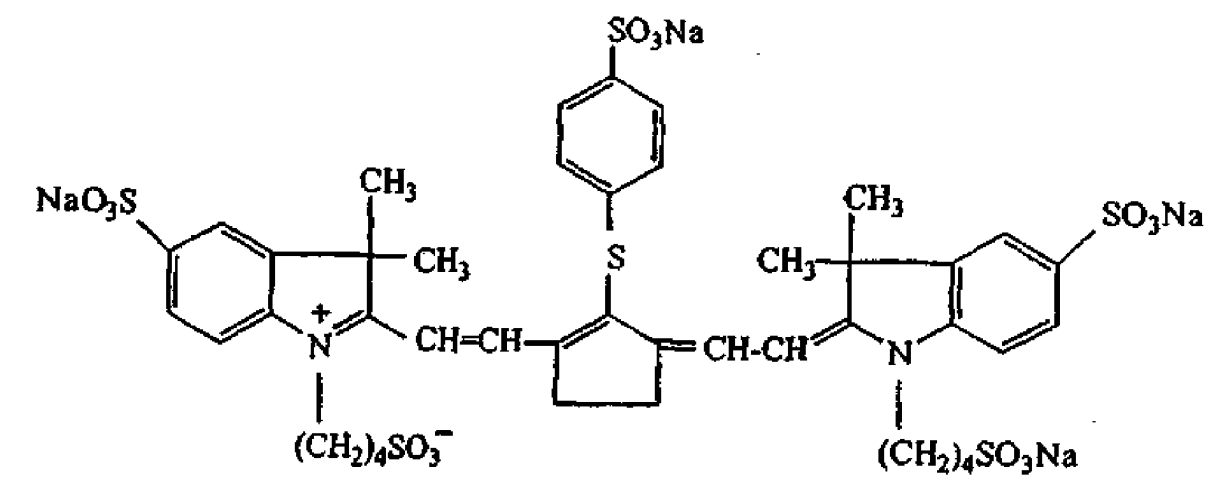
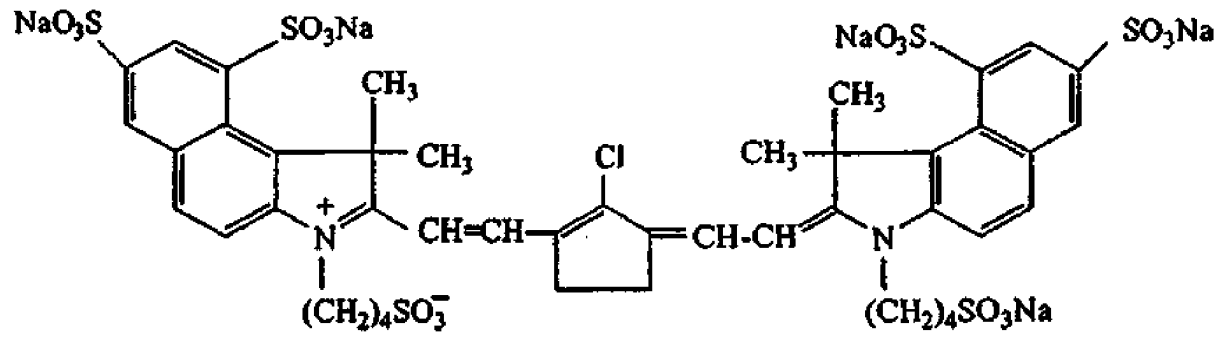
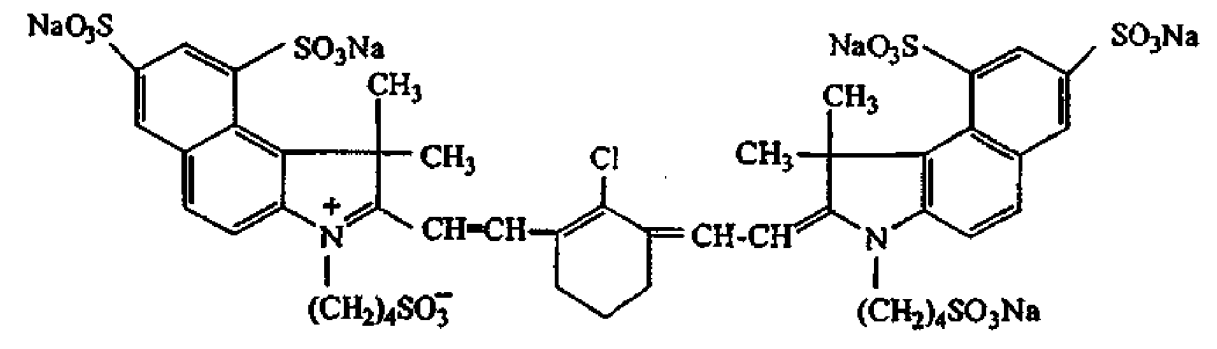
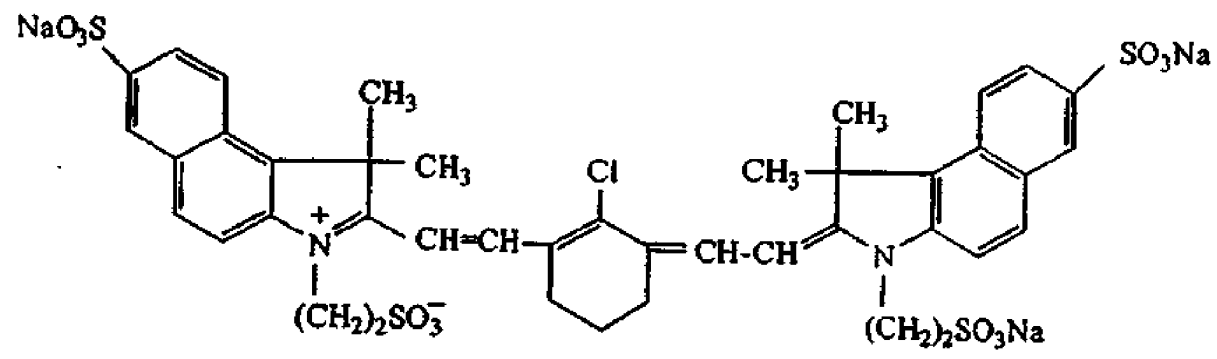
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

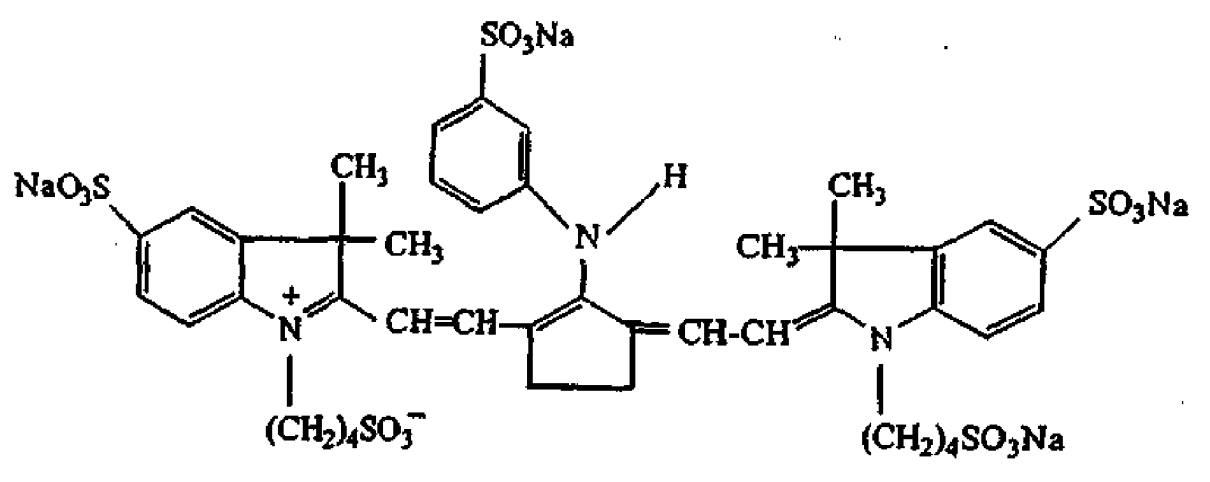
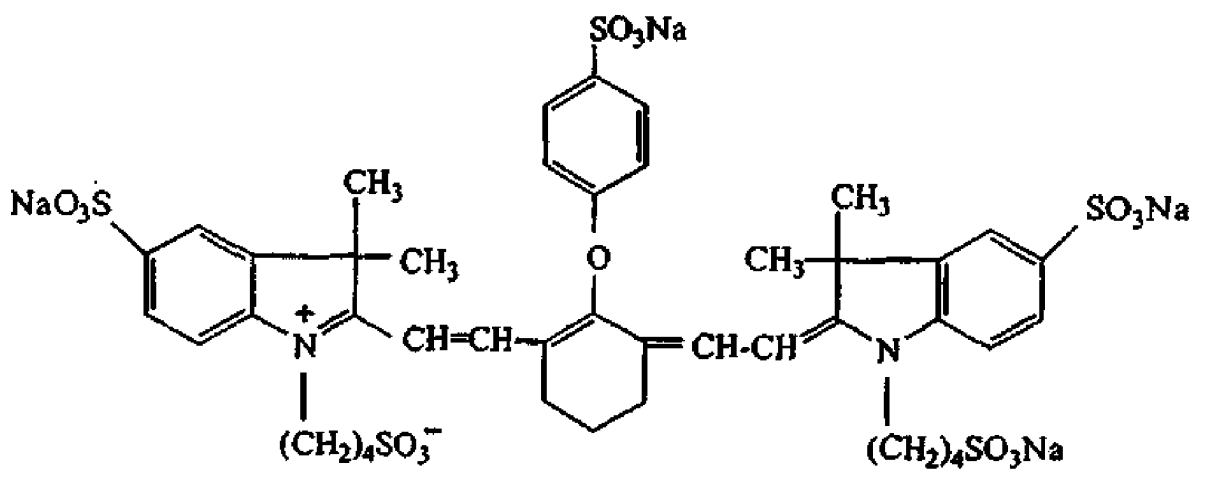
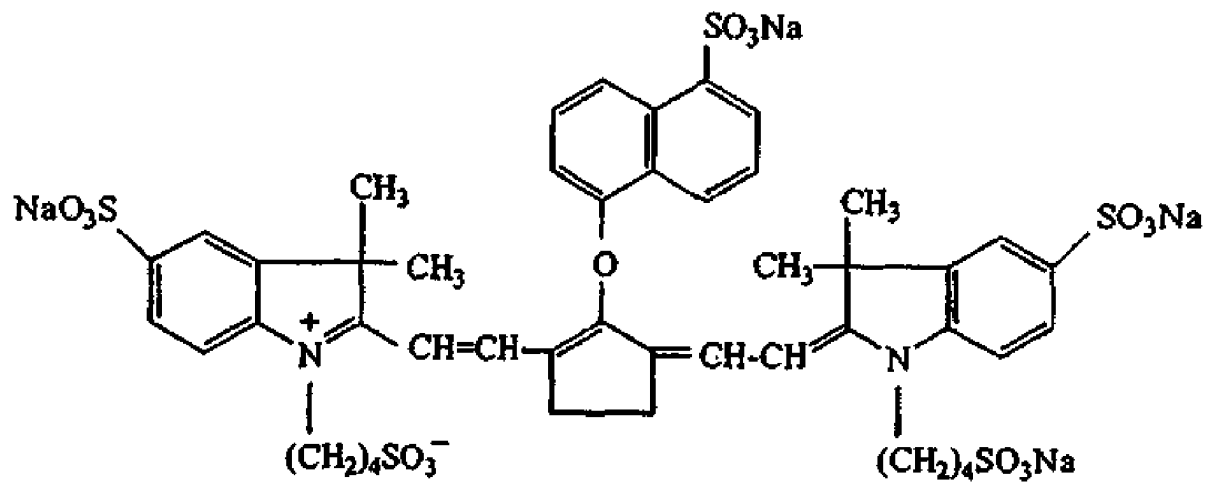
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

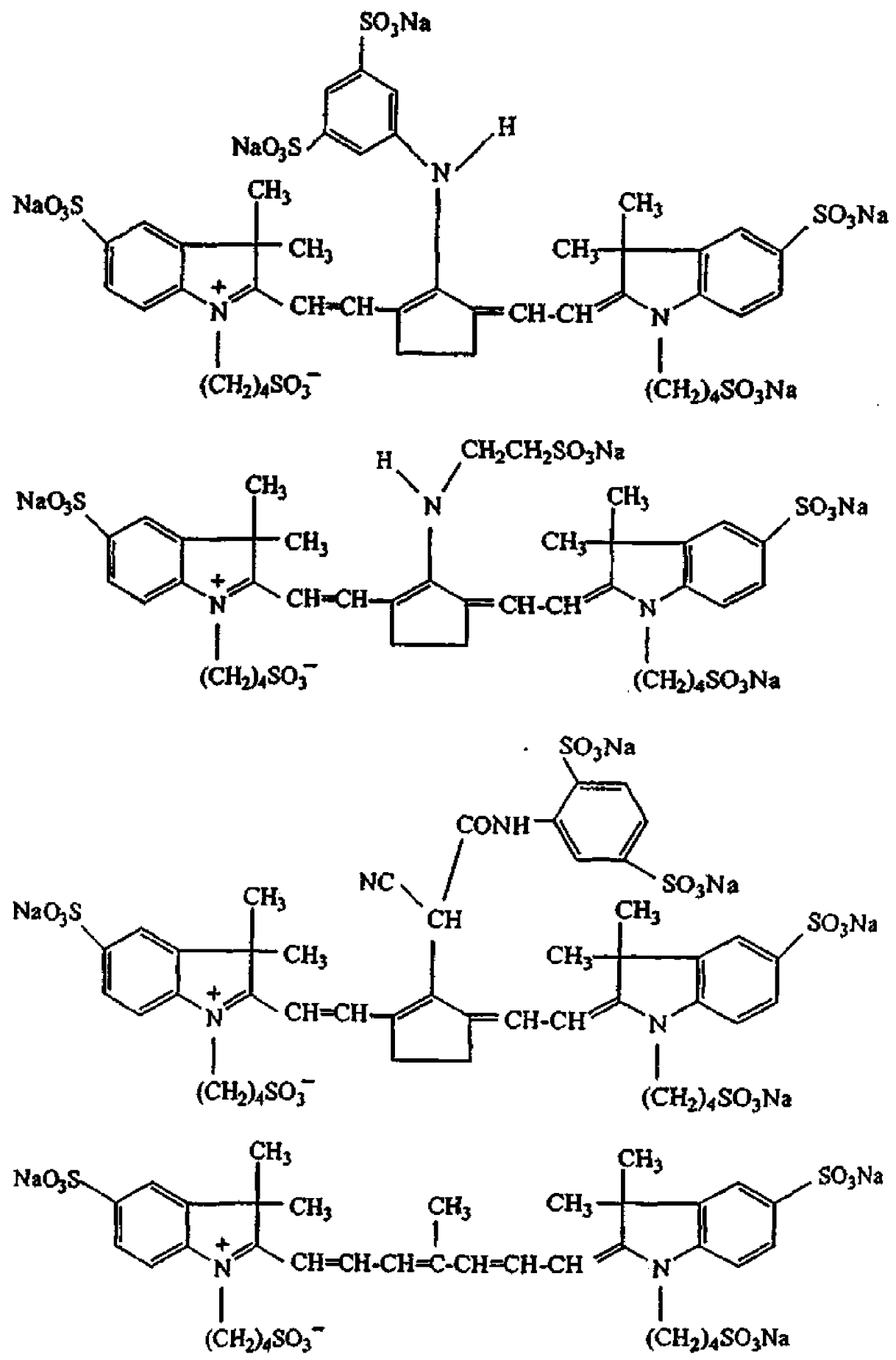
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



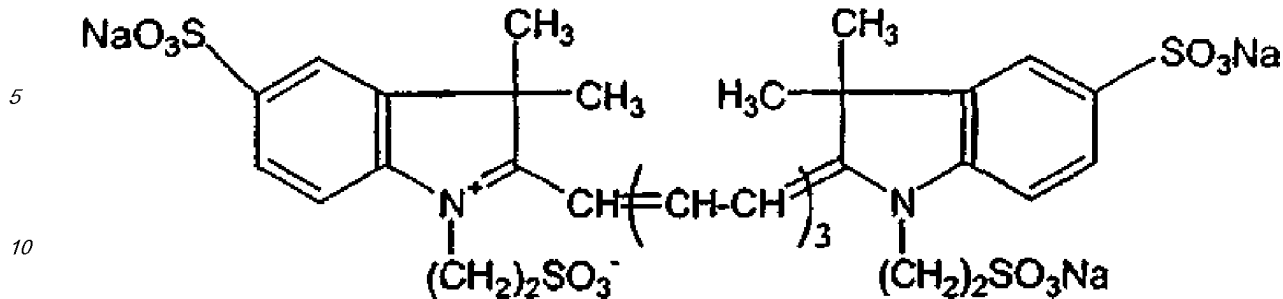
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



U A 7 5 3 6 0 C 2



(26) Натрієва сіль за вказаним вище п. (14), де одновалентна група А означає заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений аралкіл, (нижч.)алкоксигрупу, необов'язково заміщену аміногрупу, алкілкарбонілоксигрупу, заміщену або незаміщену алкілтіогрупу, заміщену або незаміщену арилтіогрупу, ціано-, нітрогрупу або атом галогену.

Короткий опис малюнків

На фіг. 1-4 подано фотографії, на яких наведена флуоресцентна візуалізація крізь 24г після введення сполуки, коли вводили такі сполуки А: ICG (5мг/кг), Б: NK-1967 (5мг/кг), В: сполука (29) (0,5мг/кг) і Г: сполука (6) К сіль (5мг/кг).

На фіг. 5 подано фотографію, на якій наведена флуоресцентна візуалізація крізь 24г після введення сполуки, коли вводили таку сполуку Д: сполука (31) (5мг/кг).

На фіг. 6-9 подано фотографії, на яких наведена флуоресцентна візуалізація крізь 20с і крізь 5хв після введення 5мг/кг кожної з таких сполук: А: ICG (крізь 20с), Б: ICG (крізь 5хв), В: сполука (29) (крізь 20с) і Г: сполука (29) (крізь 5хв).

На фіг. 10 наведено графік концентрації сполуки в плазмі крізь 0,5, 1, 4 і 24г після введення сполуки, на якому по осі ординат відкладена концентрація (мкг/мл) сполуки в плазмі в кожний момент часу.

На фіг. 11 наведено графік, який ілюструє інфрачервоний спектр поглинання для сполуки (29).

На фіг. 12 наведено графік, який ілюструє інфрачервоний спектр поглинання для сполуки (31).

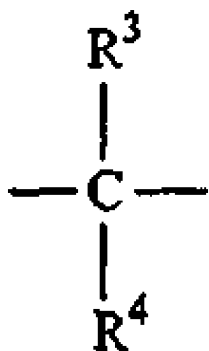
На фіг. 13 наведено графік, який ілюструє інфрачервоний спектр поглинання для сполуки (6).

На фіг. 14 наведено графік, який ілюструє інфрачервоний спектр поглинання для сполуки (54).

Поняття, які використовуються в даному описі, мають такі значення.

Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру означає контрастний агент, який випускає флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру.

У контексті даного винаходу група сульфонові кислоти може означати сульфонат (-SO₃⁻), коли вказана група сульфонові кислоти використовується для утворення внутрішньої солі. У контексті даного винаходу X і Y оптимально мають таку формулу



де R³ і R⁴ мають однакові або різні значення і кожний означає заміщений або незаміщений алкіл.

Алкіл в понятті "заміщений або незаміщений алкіл" стосовно R¹, R², R³ і R⁴ оптимально означає лінійний або розгалужений (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, такий, як метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, втор-бутіл, трет-бутіл, пентил, ізопентил, неопентил, трет-пентил, 2-метилпропіл, 1,1-диметилпропіл і т. ін. Замісники можуть являти собою, наприклад, групу сульфонові кислоти, карбоксил, гідроксигрупу і т. ін. Приклади заміщеного алкілу включають гідроксиметил, 1-гідроксиетил, 2-гідроксиетил, 2-гідроксипропіл, 3-гідроксипропіл, 4-гідроксибутіл, карбоксиметил, карбоксиетил, карбоксибутіл, сульфометил, 2-сульфоетил, 3-сульфопропіл, 4-сульфобутіл і т. ін. Оптимально R¹ і R² означають (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, заміщений групою сульфонові кислоти (наприклад, 2-сульфоетил, 3-сульфопропіл, 4-сульфобутіл і т. ін.) і R³ і R⁴ означають незаміщений (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю (наприклад, метил, етил і т. ін.).

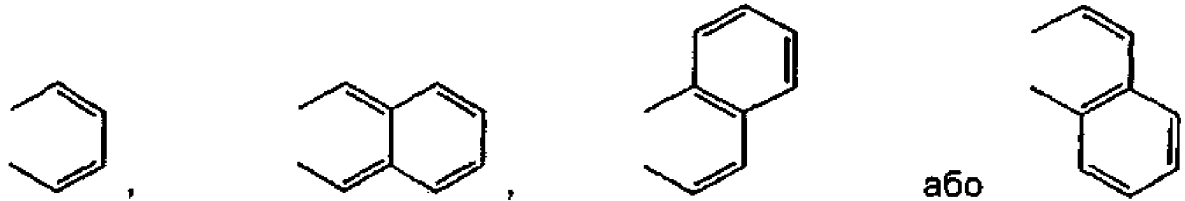
Прикладами незаміщеного (нижч.)алкілу, який має 1-5 атомів вуглецю, стосовно R¹⁷ і R¹⁸ є групи, перелічені вище для алкілу при визначенні поняття "заміщений або незаміщений алкіл" стосовно R¹, R², R³ і R⁴.

Прикладами алкільної групи в (нижч.)алкілі, який має 1-5 атомів вуглецю, заміщеному групою сульфонові кислоти, стосовно R¹⁹ і R²⁰ є групи, перелічені вище для алкілу при визначенні поняття "заміщений або незаміщений алкіл" стосовно R¹, R², R³ і R⁴, і приклади заміщеного (нижч.)алкілу, який має 1-5 атомів

вуглецю, включають 2-сульфоетил, 3-сульфопропіл і 4-сульфобутил.

Алкільний фрагмент алкіл(сульфоалкіл)аміногрупи, біс(сульфоалкіл)аміногрупи, сульфоалкоксигрупи, (сульфоалкіл)сульфонільної групи і (сульфоалкіл)аміноссульфонільної групи стосовно R^{21} - R^{28} оптимально означає лінійний або розгалужений (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, прикладами якого є групи, перелічені вище для алкілу при визначенні поняття "заміщений або незаміщений алкіл" стосовно R^1 , R^2 , R^3 і R^4 .

У контексті даного винаходу поняття "атоми, відмінні від атомів металів, необхідні для утворення заміщеного або незаміщеного конденсованого бензокільця або конденсованого нафтокілця" означає зв'язувальну групу, необхідну для утворення конденсованого бензокільця або конденсованого нафтокілця, яка має формулу



Якщо конденсоване бензокільце або конденсоване нафтокілце має замісник, то зазначена зв'язувальна група може містити замісник.

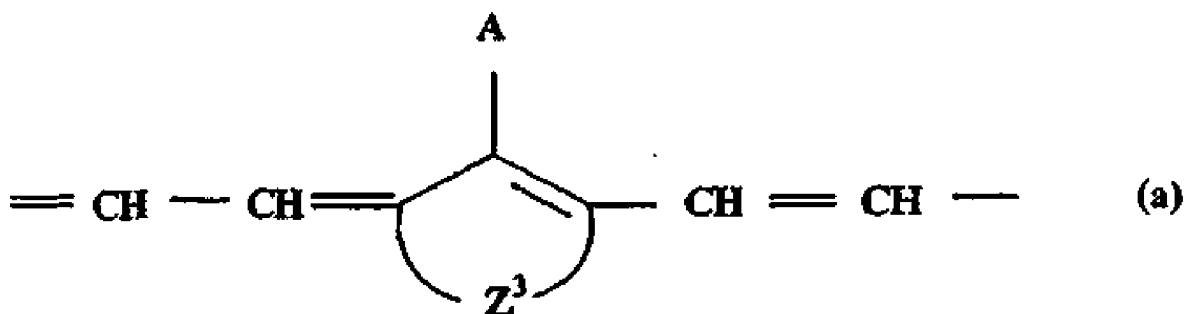
Конкретні приклади включають атом вуглецю, атом азоту, атом кисню, атом водню, атом сірки, атом галогену (наприклад, атом фтору, атом хлору, атом бромю і атом йоду) і т. ін.

Прикладами замісника в конденсованому бензокільці або конденсованому нафтокілці, утвореному за допомогою атомів, відмінних від атомів металів, стосовно Z^1 і Z^2 є група сульфонової кислоти, карбоксил, гідроксигрупа, атом галогену (наприклад, атом фтору, атом хлору, атом бромю і атом йоду), ціано-, заміщена аміногрупа (наприклад, диметиламіно-, діетиламіно-, етил-4-сульфобутиламіно-, ди-(3-сульфопропіл)аміногрупа і т. ін.) і замінений або незамінений алкіл, як він визначений вище, зв'язаний з кільцем безпосередньо або за допомогою двовалентної зв'язувальної групи. Бажаною двовалентною зв'язувальною групою може бути, наприклад, $-O-$, $-NHCO-$, $-NHSO_2-$, $-NHCONH-$, $-COO-$, $-CO-$, $-SO_2-$ і т. ін. Бажаними прикладами алкілу в заміщеному або незаміщеному алкілі, зв'язаному з кільцем безпосередньо або за допомогою двовалентної зв'язувальної групи, є метил, етил, пропіл і бутил, а бажаними прикладами замісника є група сульфонової кислоти, карбоксил і гідроксигрупа.

Прикладами замісника метину в L^1 - L^7 є замінений або незамінений алкіл (як він визначений вище), атом галогену (як він визначений вище), замінений або незамінений арил, (нижч.)алкокси і т. ін. Прикладами арилу в понятті "замінений або незамінений арил" є феніл, нафтил і т. ін., бажано феніл. Приклади замісника включають атом галогену (як він визначений вище, бажано атом хлору) і т. ін.

Прикладами заміщеного арилу є 4-хлорфеніл і т. ін. (Нижч.)алкоксигрупа бажано являє собою лінійну або розгалужену алкоксигрупу, яка має 1-6 атомів вуглецю, конкретними прикладами якої є метокси-, етокси-, пропокси-, бутокси-, трет-бутокси-, пентилоксигрупа і т. ін., бажано метокси- і етоксигрупа. Крім того, замісники метину в L^1 - L^7 можуть бути зв'язані один з одним з утворенням кільця, яке містить три метинові групи, і, крім того, це кільце може бути сконденсоване з кільцем, яке містить іншу метинову групу. Прикладами кільця, яке містить три метинові групи, утворені шляхом зв'язування замісників метину в L^1 - L^7 , є 4,4-диметилциклогексенове кільце і т. ін.

Кон'югований метиновий ланцюг, який складається з груп L^1 - L^7 , і створює кільце, оптимально являє собою групу формули (а)



де Z^3 означає атоми, відмінні від атомів металів, необхідні для утворення 5- або 6-членного кільця, і А означає атом водню або одновалентну групу.

Прикладами "атомів, відмінних від атомів металів, необхідних для утворення 5- або 6-членного кільця" є зазначені вище групи.

У формулі (а) і наведеній далі формулі [III-2] прикладами 5- або 6-членного кільця в Z^3 є циклопентенове кільце, циклогексенове кільце, 4,4-диметилциклогексенове кільце і т. ін., бажаним є циклопентенове кільце.

Одновалентна група, позначена символом А, являє собою, наприклад, замінений або незамінений алкіл (як він визначений вище), замінений або незамінений арил (як він визначений вище), замінений або незамінений аралкіл (як він визначений вище), (нижч.)алкоксигрупу (як вона визначена вище), заміщену аміногрупу, яка є

необов'язково заміщеною, алкілкарбонілоксигрупу (наприклад, ацетоксигрупу), заміщену або незаміщену алкілтіогрупу, заміщену або незаміщену арилтіо-, ціано-, нітрогрупу, атом галогену (як він визначений вище) і т. ін. У даному описі прикладами аралкілу в "заміщеному або незаміщеному аралкілі" є бензил, 2-фенілетил, 1-фенілетил, 3-фенілпропіл і т. ін., а замісник може являти собою групу сульфонові кислоти, карбоксил, гідроксигрупу, заміщений або незаміщений алкіл (як він визначений вище), алкоксигрупу (як вона визначена вище), атом галогену (як він визначений вище) і т. ін. Заміщена аміногрупа в "заміщеній аміногрупі, яка є необов'язково заміщеною" являє собою, наприклад, алкіламіногрупу (наприклад, метиламіно-, етиламіногрупу і т. ін.), діалкіламіногрупу (диметиламіно-, діетиламіногрупу і т. ін.), дифеніламіно-, метилфеніламіно-, циклічну аміногрупу (наприклад, морфоліно-, імідазолідино-, етоксикарбоніліпєрадиногрупу і т. ін.) і т. ін. Приклади замісника стосовно необов'язкового заміщення "заміщеної аміногрупи, яка є необов'язково заміщеною" включають групу сульфонові кислоти, карбоксил і т. ін. Алкілтіогрупа в "заміщеній або незаміщеній алкілтіогрупі" може являти собою, наприклад, метилтіо-, етилтіогрупу і т. ін. Приклади замісників включають групу сульфонові кислоти, карбоксил і т. ін. Прикладами арилтіогрупи в "заміщеній або незаміщеній арилтіогрупі" є фенілтіо-, нафтилтіогрупа і т. ін. Приклади замісників включають групу сульфонові кислоти, карбоксил і т. ін.

Одновалентна група, позначена символом А, оптимально являє собою атом фтору, атом хлору, діалкіламіногрупу (оптимально яка має 6 або менше атомів вуглецю і необов'язково утворює кільце) або морфоліногрупу. Найоптимальніше ця група містить групу сульфонові кислоти.

У формулі [I] г оптимально дорівнює 1.

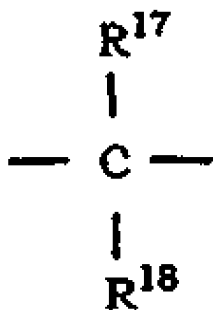
Фармацевтично прийнятна сіль може являти собою будь-яку нетоксичну сіль сполуки формули [I]. Приклади таких солей включають солі лужних металів, такі, як сіль натрію, сіль калію; солі лужно-земельних металів, такі, як сіль магнію, сіль кальцію тощо; органічну амонійну сіль, таку, як сіль амонію, сіль триетиламонію, сіль трибутиламонію, сіль піридинію і т. ін.; сіль амінокислоти, таку, як сіль лізину, сіль аргініну і т. ін. Найбільш бажаною є сіль натрію, яка має найменшу токсичність для живого організму.

Для застосування в живому організмі флуоресцентний контрастний агент передусім повинен бути розчинним у воді. Згідно з даним винаходом флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру має значно збільшену розчинність у воді, зумовлену введенням 3 або більше груп сульфонові кислоти у вказану вище сполуку. Для дуже хорошої розчинності у воді кількість груп сульфонові кислоти оптимально має дорівнювати 4 або більше. Для полегшення синтезу кількість груп сульфонові кислоти не повинна перевищувати 10, бажано не перевищувати 8. Поліпшення розчинності у воді можна оцінити шляхом вимірювання коефіцієнту розподілу кожної сполуки, який, наприклад, можна виміряти у двофазній системі бутанол/вода. Конкретніше, введення 3 або більшої кількості груп сульфонові кислоти дає змогу отримати коефіцієнт розподілу $\log P_o/w$ (коефіцієнт розподілу в системі олія/вода) в системі н-бутанол/вода, який не перевищує - 1,00.

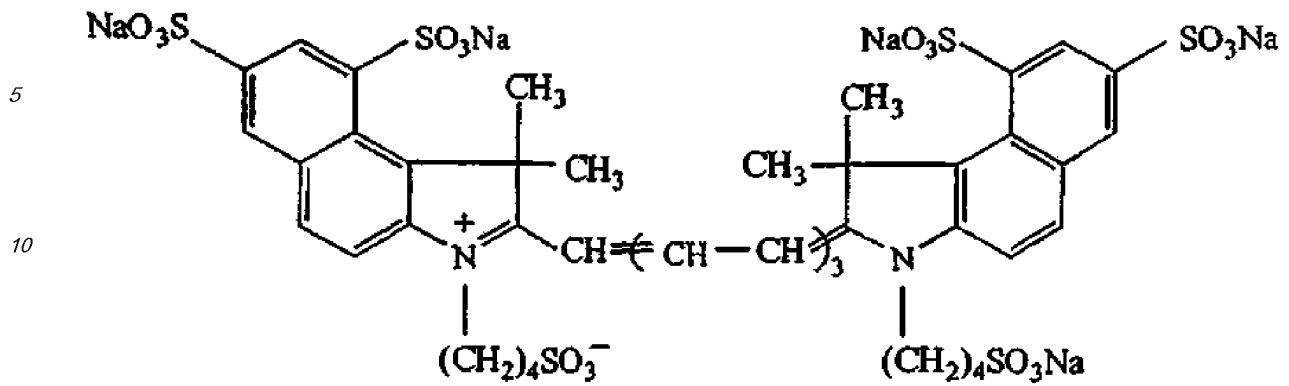
Групи сульфонові кислоти найбажаніше вводити в положення R^1 , R^2 , Z^1 і/або Z^2 для сполук формули [I] і в положення R^1 , R^2 , R^5 , R^7 , R^{11} і/або R^{13} для сполук формули [II].

Крім того, ці групи сульфонові кислоти бажано вводити до L^4 кон'югованого метинового ланцюгу в положенні А вищезгаданої формули (а) за допомогою двовалентної групи, такої, як алкілен.

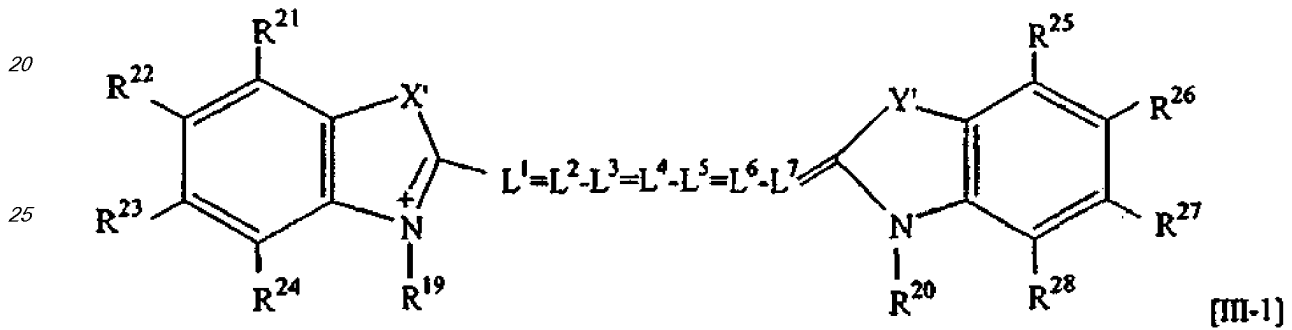
Серед натрієвих солей сполук формули [II], які мають в молекулі три або більше групи сульфонові кислоти, бажаною є натрієва сіль сполуки, де R^1 і R^2 означають (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, заміщений групою сульфонові кислоти, і де X та Y мають однакові або різні значення і кожний з них означає групу формули



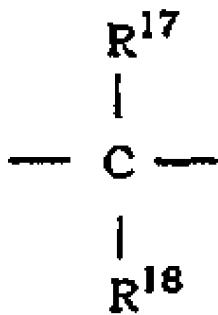
де R^{17} і R^{18} мають однакові або різні значення і кожний з них означає незаміщений (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, причому вказана сіль має в молекулі три або більше групи сульфонові кислоти, при цьому найбільш бажаними є сполуки формули



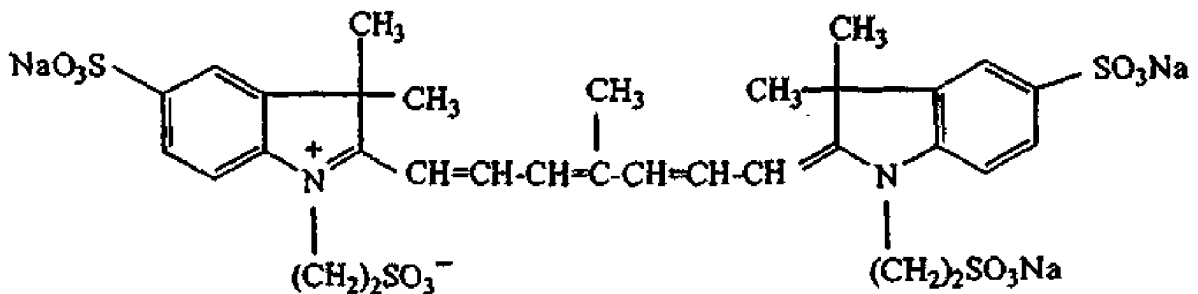
Серед сполук формули [I], які мають в молекулі три або більше групи сульфанової кислоти, і їх фармацевтично прийнятних солей бажаною є натрієва сіль сполуки формули [III-1]



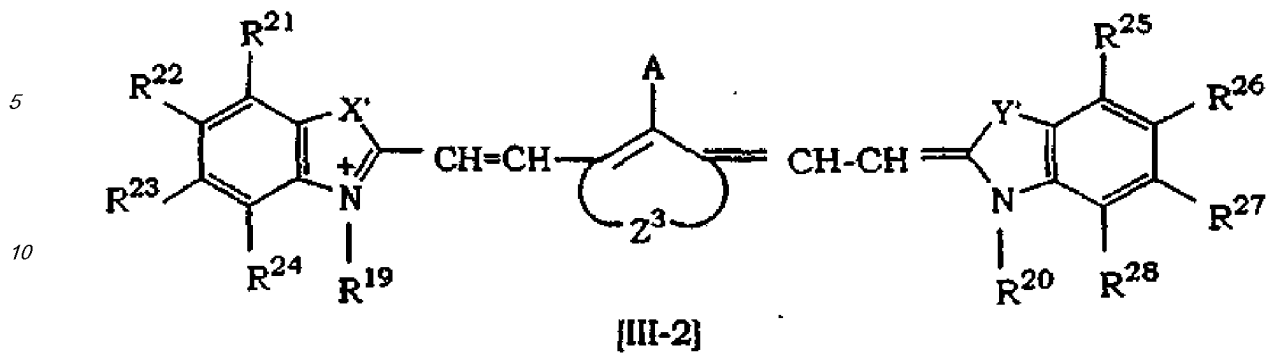
де L^1-L^7 мають зазначені вище значення, R^{19} R^{20} ають (нижч.)алкіл, який має 1-5 атомів вуглецю, заміщений групою сульфанової кислоти, і $R^{21}-R^{28}$ мають однакові або різні значення і кожний з них означає атом водню, групу сульфанової кислоти, карбоксильну групу, гідроксильну групу, алкіл(сульфоалкіл)аміногрупу, біс(сульфоалкіл)аміногрупу, сульфоалкоксигрупу, (сульфоалкіл)сульфонільну групу або (сульфоалкіл)аміноссульфонільну групу і X' і Y' мають однакові або різні значення і кожний означає групу формули



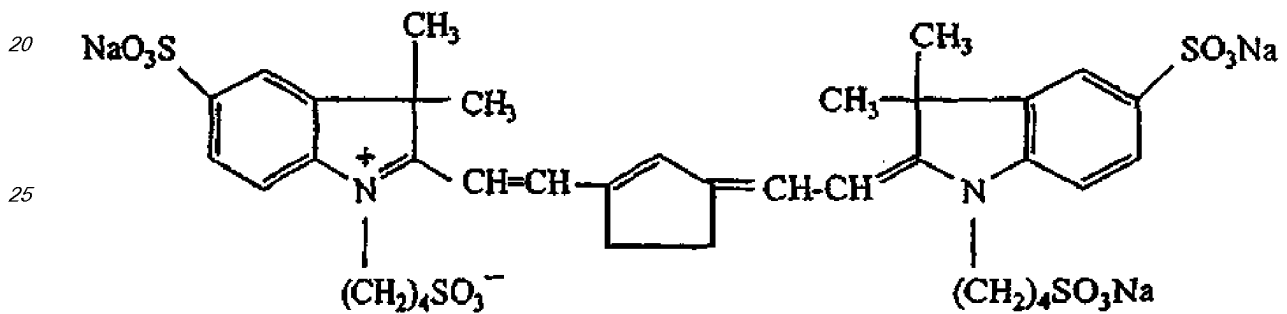
де R^{17} і R^{18} мають зазначені вище значення, причому вказана сіль має в молекулі три або більше групи сульфанової кислоти, при цьому найбільш бажаною є така сполука формули



Серед натрієвих солей сполук формули [III-1], які мають в молекулі три або більше групи сульфанової кислоти, бажаною є натрієва сіль сполуки формули [III-2]



15 де R^{19} - R^{28} , X' і Y' мають зазначені вище значення, Z^3 означає атоми, відмінні від атомів металу, необхідні для утворення 5- або 6-членного кільця, і A означає атом водню або одновалентну групу, причому вказана сіль має в молекулі три або більше групи сульфанової кислоти, при цьому найбільш бажаною є сполука такої формули



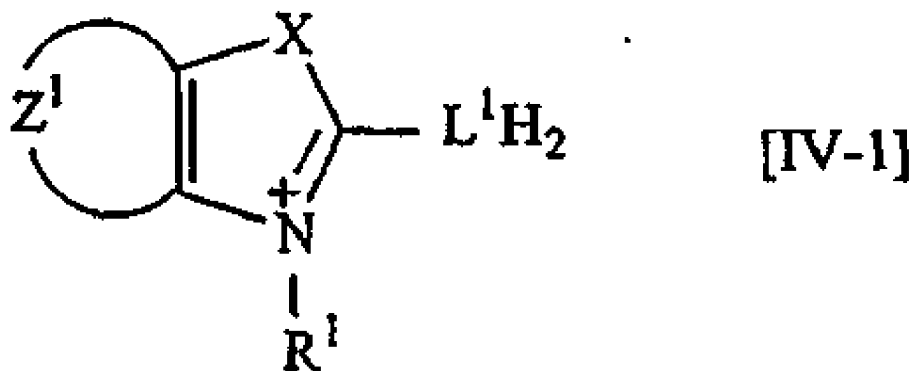
30 Сполуки, які містяться у флуоресцентному контрастному агенті для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за винаходом, можуть являти собою будь-які сполуки, які описуються формулою [I] або [II] і мають в молекулі 3 або більше, бажано 4 або більше групи сульфанової кислоти. Ці сполуки можна синтезувати згідно з відомим методом отримання ціанінових барвників, описаним в [The Cyanine Dyes and Related Compounds, P.M. Hamer, John Wiley and Sons, New York, 1964, Cytometry, 10, 3-10 (1989), Cytometry, 11, 418-430 (1990), Cytometry, 12, 723-730 (1990), Bioconjugate Chem., 4, 105-111 (1993), Anal. Biochem., 217, 197-204 (1994), Tetrahedron, 45, 4845-4866 (1989), EP-A 0591820A1, EP-A 0580145A1] і т. ін. В альтернативному варіанті частковий синтез цих сполук можна здійснити відомим методом, виходячи з наявного у продажу ціанінового барвника. Конкретніше, вони можуть бути синтезовані шляхом взаємодії діанільного похідного і гетероциклічної четвертинної солі.

40 Сполуку формули [I] за даним винаходом можна синтезувати, наприклад, таким чином.

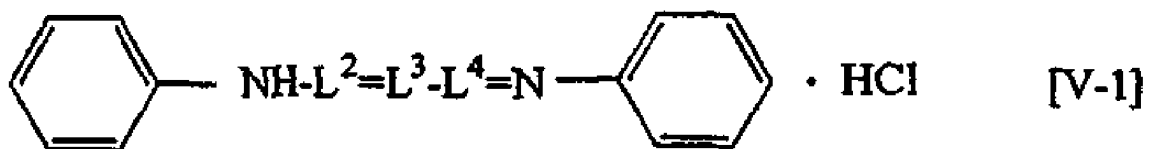
(I) якщо r дорівнює 0

(а) L^1 має те саме значення, що і L^5 , X має те саме значення, що і Y , R^1 має те саме значення, що і R^2 і Z^1 має те саме значення, що і Z^2 .

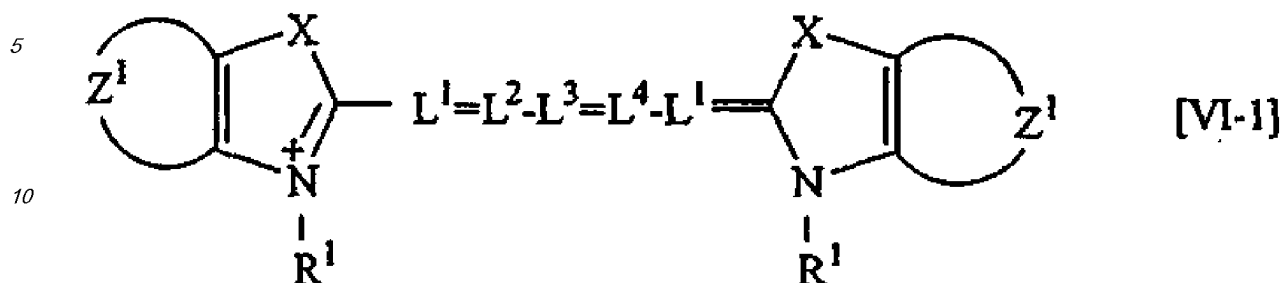
45 Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (2моля) формули [VI-1]



60 де L^1 , X , Z^1 і R^1 мають зазначені вище значення, і діанільне похідне (1моль) формули [V-1]



де L^2 , L^3 і L^4 мають зазначені вище значення, піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуку формули [VI-1]



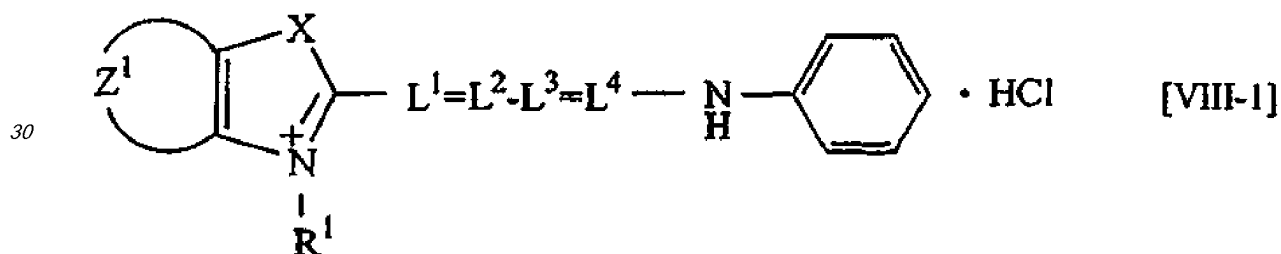
15 де L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , R^1 , Z^1 та X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VI-1] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю сполуки формули [VII]



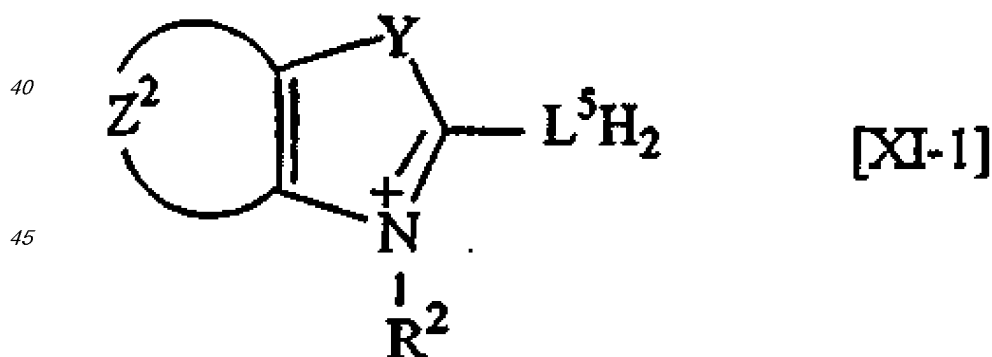
20 де T^1 означає фрагмент органічної кислоти, отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [VI-1].

(б) L^1 має значення, відмінне від L^5 або X має значення, відмінне від Y , або R^1 має значення, відмінне від R^2 , або Z^1 має значення, відмінне від Z^2

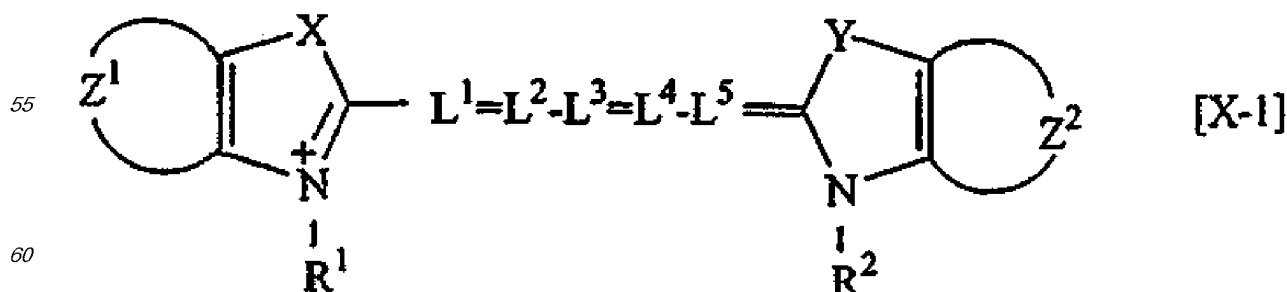
25 Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (1моль) зазначеної вище формули [VI-1] і вказане вище діанільне похідне (1моль) формули [V-1] піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуки формули [VIII-1]



де L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , R^1 , Z^1 та X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VIII-1] (1моль) піддають взаємодії з гетероциклічною четвертинною сіллю сполуки (1моль) формули [XI-1]



50 де L^5 , Y , і R^2 мають зазначені вище значення, отримуючи сполуку формули [X-1]



65 де L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , R^1 , R^2 , Z^1 , Z^2 , X і Y мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [X-1] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю вищезгаданої сполуки формули [VII], отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [X-1].

(II) якщо r дорівнює 1

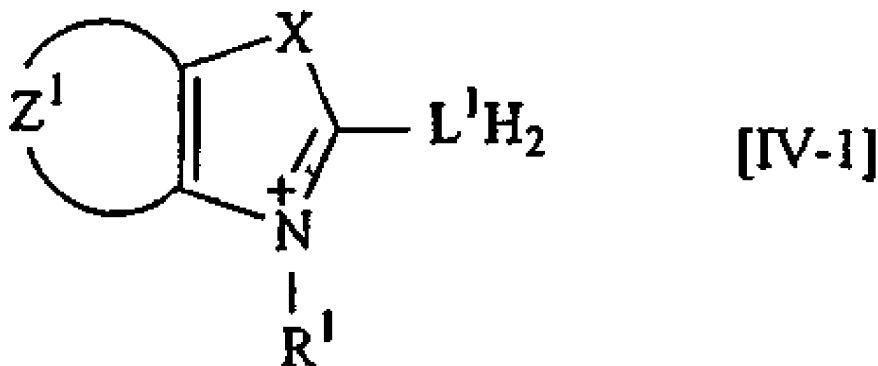
(а) L^1 має те саме значення, що і L^7 , X має те саме значення, що і Y , R^1 має те саме значення, що і R^2 і Z^1 має те саме значення, що і Z^2 .

Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (2моля) формули [IV-1]

5

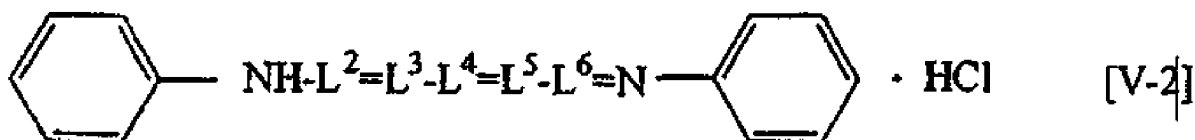
10

15



де L^1 , X , Z^1 і R^1 мають зазначені вище значення, і діанільне похідне (1моль) формули [V-2]

20

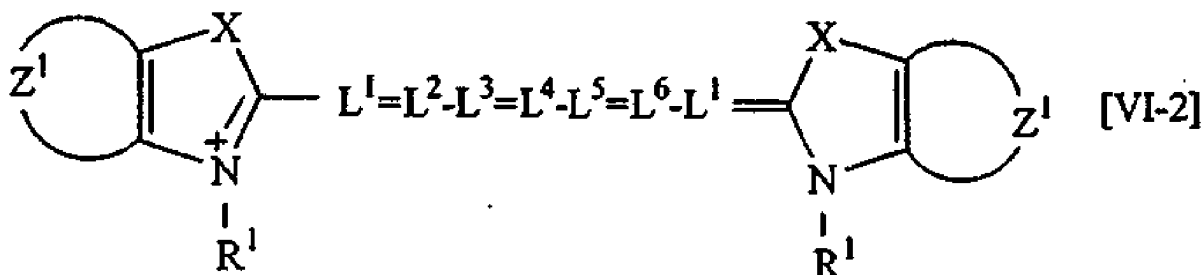


25

де L^2 , L^3 , L^4 , L^5 і L^6 мають зазначені вище значення, піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуку формули [VI-2]

30

35



де L^2 , L^3 , L^4 , L^5 і L^6 , R^1 , Z^1 і X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VI-2] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю сполуки формули [VII]

40



де T^1 має вказане вище значення, отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [VI-2].

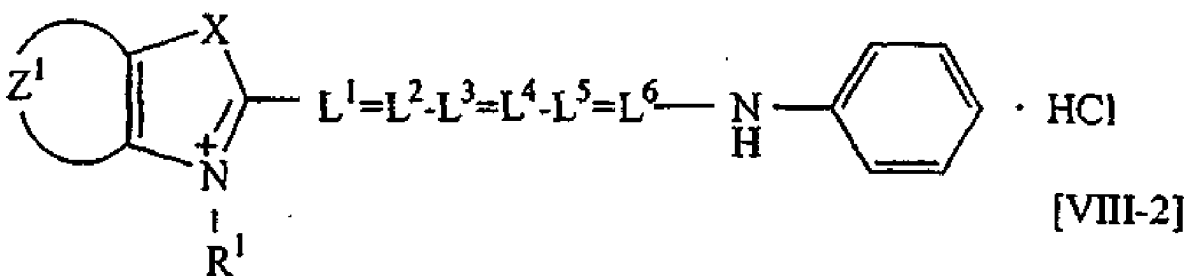
45

(б) L^1 має значення, відмінне від L^2 або X має значення, відмінне від Y , або R^1 має значення, відмінне від R^2 , або Z^1 має значення, відмінне від Z^2

Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (1моль) зазначеної вище формули [IV-1] і вказане вище діанальне похідне (1моль) формули [V-2] піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуку формули [VIII-2]

50

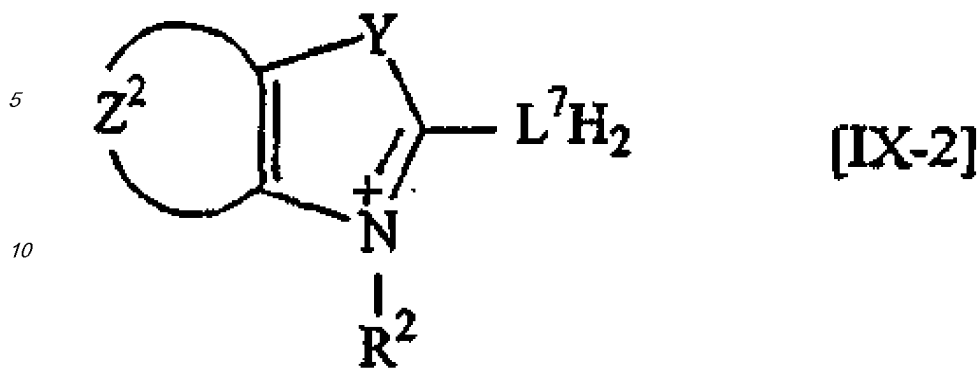
55



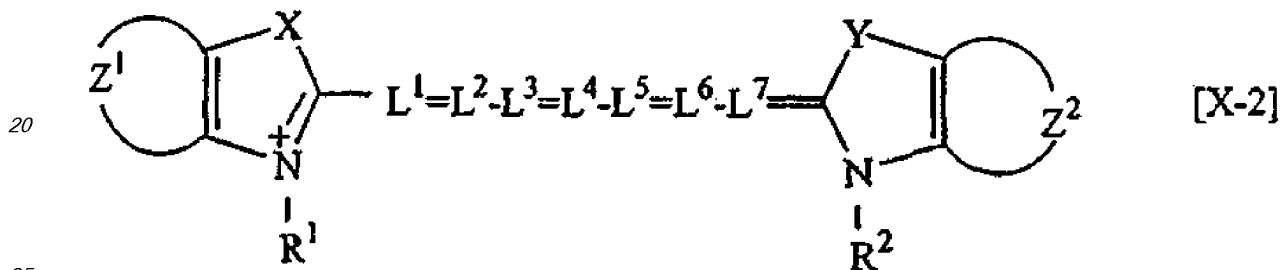
60

де L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , L^6 , R^1 , Z^1 і X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VIII-2] (1моль) піддають взаємодії з гетероциклічною четвертинною сіллю сполуки (1моль) формули [IX-2]

65



15 де L^7 , Y , Z^2 і R^2 мають зазначені вище значення, отримуючи сполуку формули [X-2]



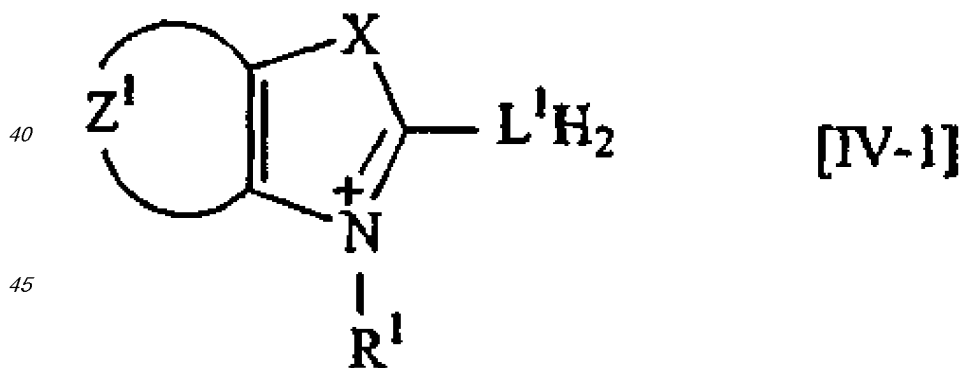
де L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , L^6 , L^7 , R^1 , R^2 , Z^1 , Z^2 , X і Y мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [X-2] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю вищезгаданої сполуки формули [VII], отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [X-2].

(III) якщо g дорівнює 2

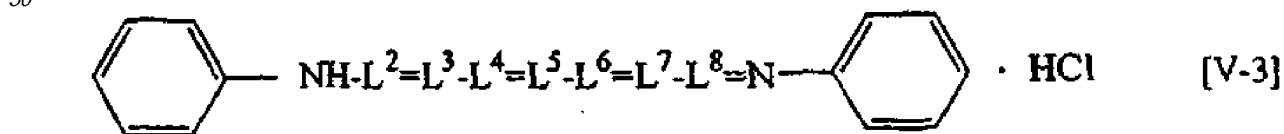
30 Якщо g дорівнює 2, то L^6 і L^7 дублюються в формулі [I]. Для того, щоб цього уникнути і внести ясність, символи, які дублюють L^6 і L^7 , позначено як L^8 і L^9 .

(а) L^1 має те саме значення, що і L^9 , X має те саме значення, що і Y , R^1 має те саме значення, що і R^2 і Z^1 має те ж значення, що і Z^2 .

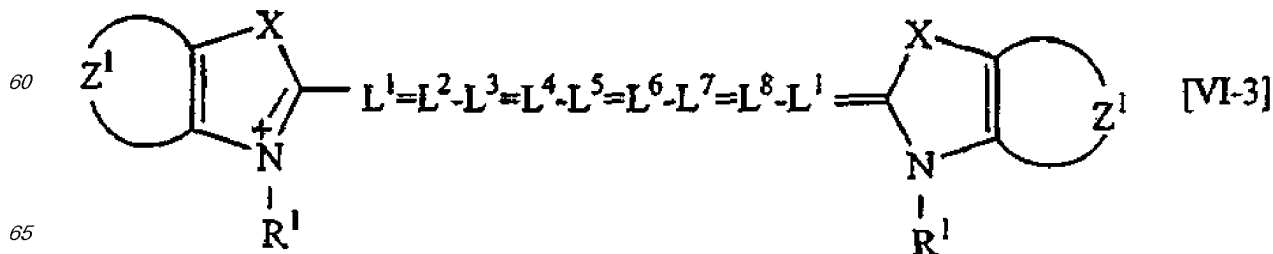
35 Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (2молі) формули [IV-1]



де L^1 , X , Z^1 і R^1 мають зазначені вище значення, і діанільне похідне (1моль) формули [V-3]



де L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , L^6 і L^7 мають зазначені вище значення і L^6 означає необов'язково заміщену метинову групу, піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуку формули [VI-3]



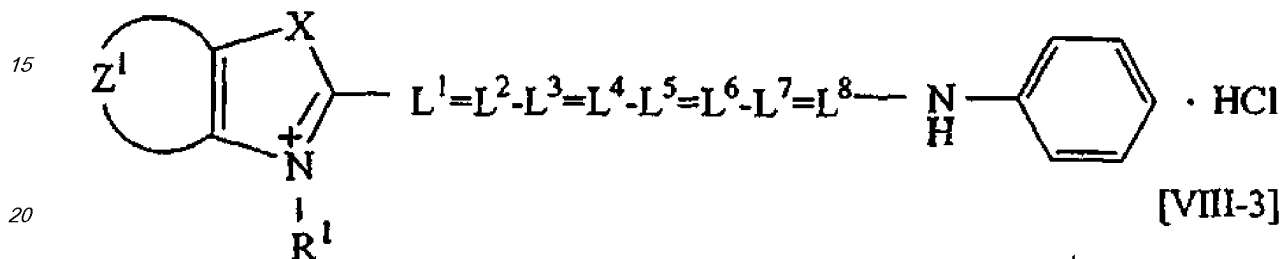
де $L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, R^1, Z^1$ і X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VI-3] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю сполуки формули [VII]

5 **T^1-Na [VII]**

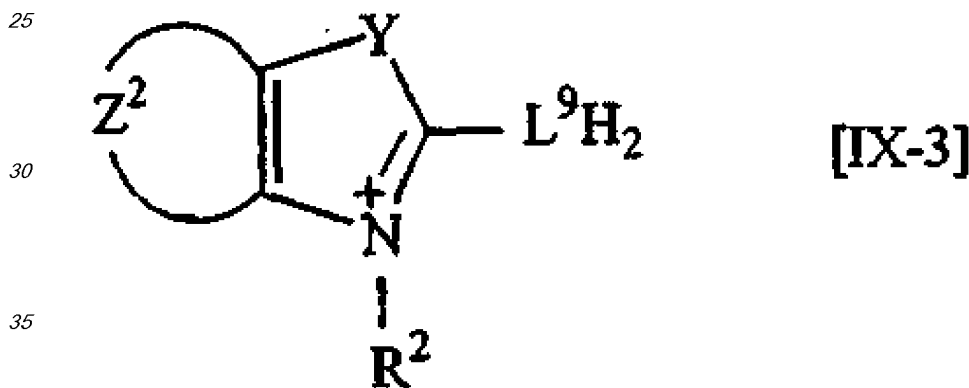
де T^1 має вказане вище значення, отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [VI-3].

(б) L^1 має значення, відмінне від L^9 або X має значення, відмінне від Y , або R^1 має значення, відмінне від R^2 , або Z^1 має значення, відмінне від Z^2 .

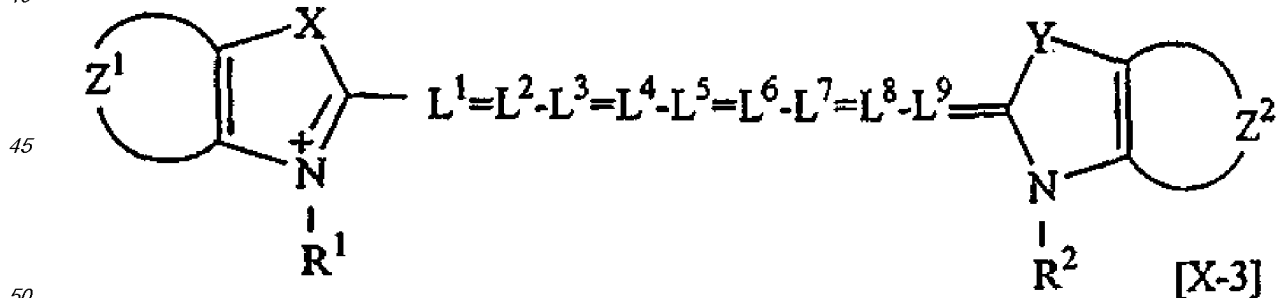
10 Гетероциклічну четвертинну сіль сполуки (1моль) зазначеної вище формули [IV-1] і вказане вище діанільне похідне (1моль) формули [V-3] піддають взаємодії в присутності основи і розчинника, отримуючи сполуку формули [VIII-3]



де $L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, R^1, Z^1$ і X мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [VIII-3] (1моль) піддають взаємодії з гетероциклічною четвертинною сіллю сполуки (1моль) формули [IX-3]



де L^9, X, Z^2 і R^2 мають зазначені вище значення і L^9 означає необов'язково заміщену метинову групу, отримуючи сполуку формули [X-3]



де $L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ і Y мають зазначені вище значення, і цю сполуку формули [X-3] (1моль) піддають взаємодії з необхідною молярною кількістю вищезгаданої сполуки формули [VII], отримуючи натрієву сіль сполуки зазначеної вище формули [X-3].

55 Необхідна молярна кількість сполуки формули [VII] має бути не меншою, ніж кількість, еквівалентна кількості натрію, який міститься в одній молекулі цільової натрієвої солі сполуки формули [I].

Прикладами замісника в заміщеній метиновій групі стосовно L^8 і L^9 є замісники, перелічені для зазначених вище метинових груп стосовно L^1-L^7 .

60 У методах синтезу, описаних вище в (I), (II) і (III), взаємодію сполук [IV-1] і [V-1], сполук [VIII-1] і [XI-1], сполук [IV-1] і [V-2], сполук [VIII-2] і [IX-2], сполук [IV-1] і [V-3] і сполук [VIII-3] і [IX-3] здійснюють при температурі від -20°C до 80°C , бажано від -10°C до 40°C , бажано в присутності ацилювального агента, такого, як оцтовий ангідрид.

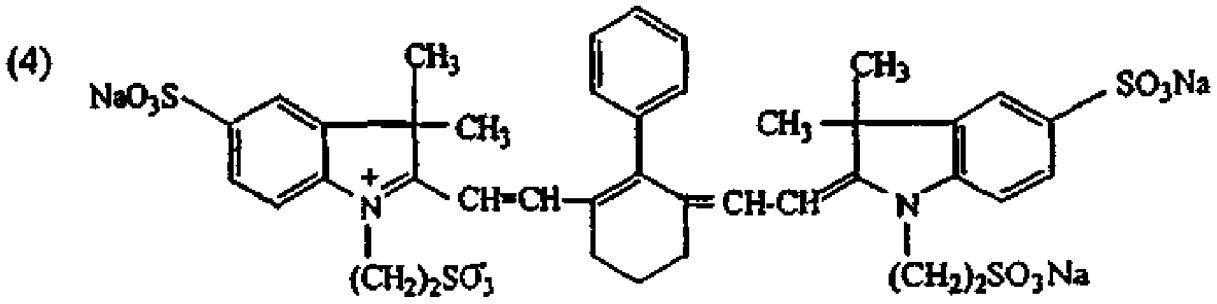
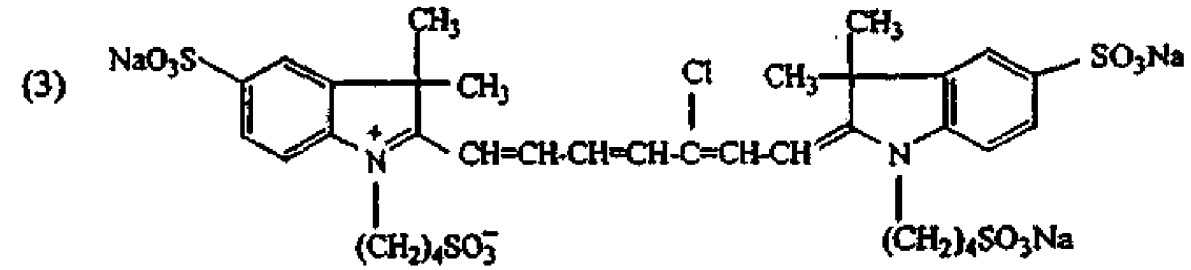
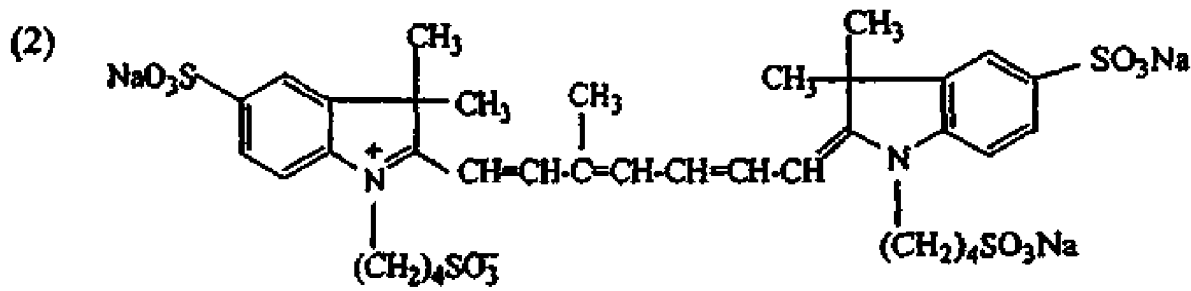
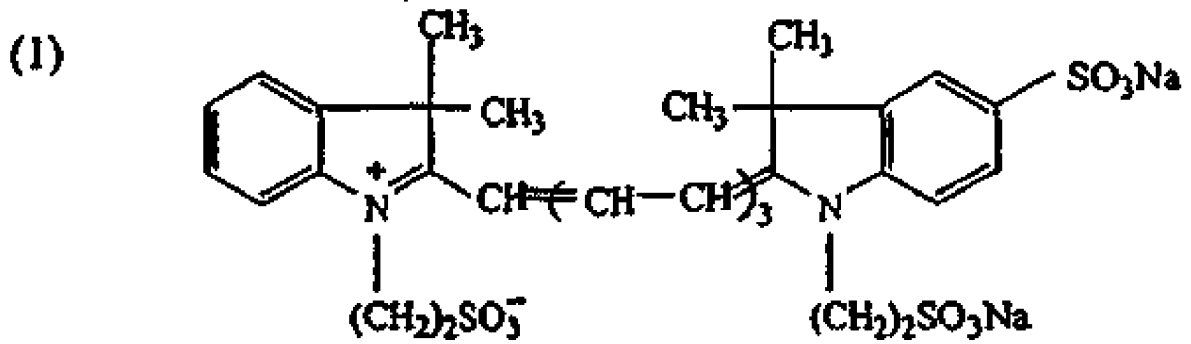
У методах синтезу, описаних вище в (I), (II) і (III), взаємодію сполук [IV-1] і [VII], сполук [X-1] і [VII], сполук [VI-2] і [VII], сполук [X-2] і [VII], сполук [VI-3] і [VII] і сполук [X-3] і [VII] бажано здійснювати при температурі від 0°C до 40°C , бажано в присутності розчинника, такого, як спирт і вода.

65 У методах синтезу, описаних вище в (I), (II) і (III), основа, яку потрібно застосовувати, може являти

собою, наприклад, триетиламін, трибутиламін, піридин, діазабіциклоундецен, метоксид натрію і т. ін.; розчинник, який потрібно застосовувати, може являти собою, наприклад, амідне похідне, таке, як N,N-диметилацетамід, N-метилпірролідон і N,N-діетилформамід, або спирти, такі, як метанол; а фрагмент органічної кислоти може являти собою, наприклад, CH_3COO і т. ін.

Що стосується одержання різних фармацевтично прийнятних солей сполук вищезазначеної формули [I], то амонійну сіль і калієву сіль сполук формули [I] можна отримати, наприклад, шляхом заміни сполуки формули [VII], яка використовується в описаних вище в (I), (II) і (III) методах синтезу сполукою формули [VII], де атом натрію замінений на амонійну групу або атом калію; а різні катіонні солі сполук вищезазначеної формули [I] у разі потреби можна отримати шляхом перетворення зазначеної амонійної солі і калієвої солі на різні катіонні солі з використанням іонообмінних смол.

Нижче наведено конкретні приклади сполук вищезазначеної формули [I], включаючи сполуки формули [III], призначені для застосування згідно з даним винаходом, однак обсяг винаходу не обмежений ними.

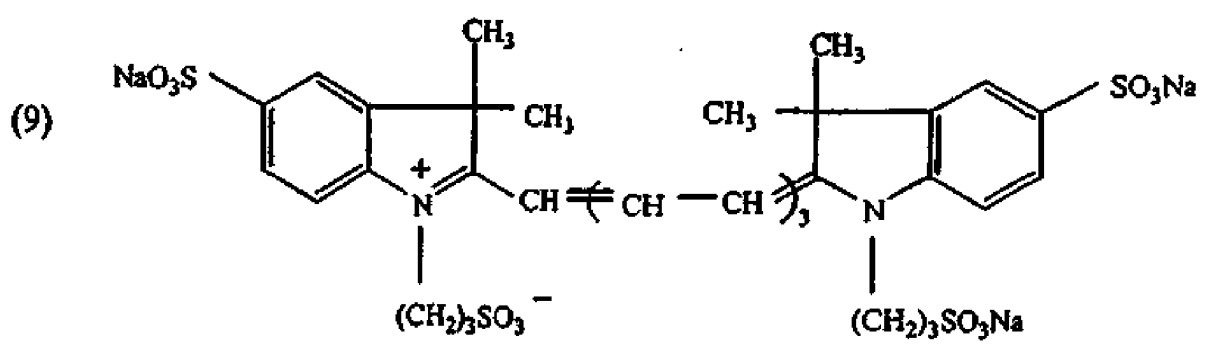
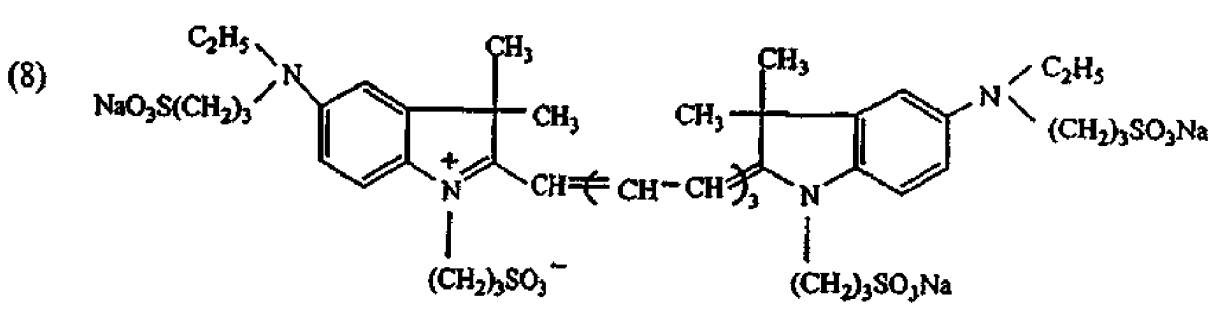
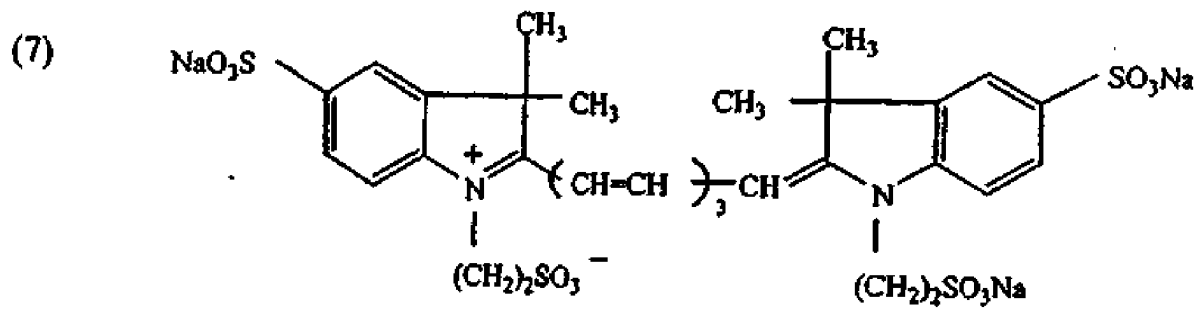
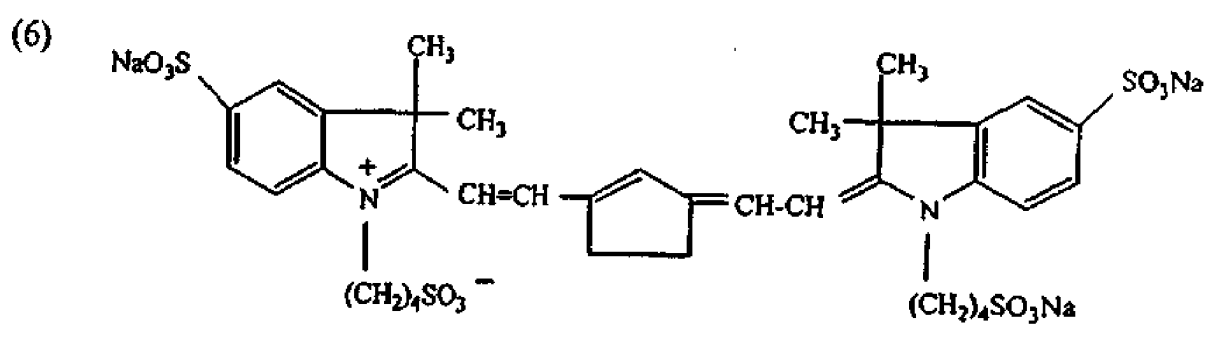
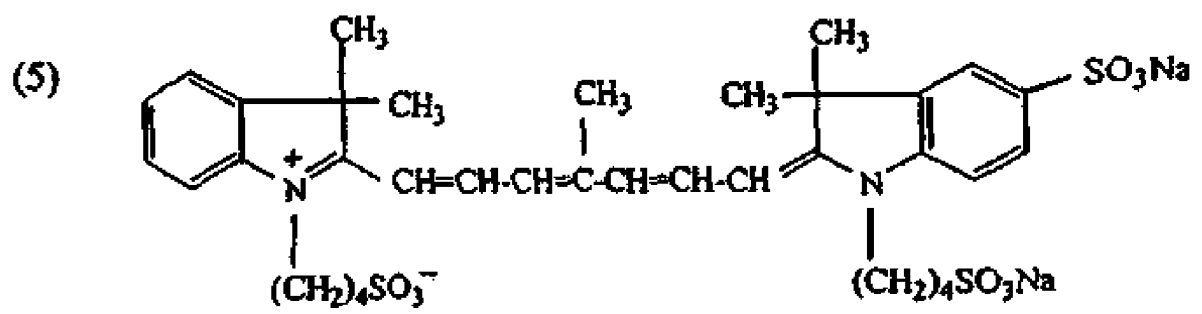


U A 7 5 3 6 0 C 2

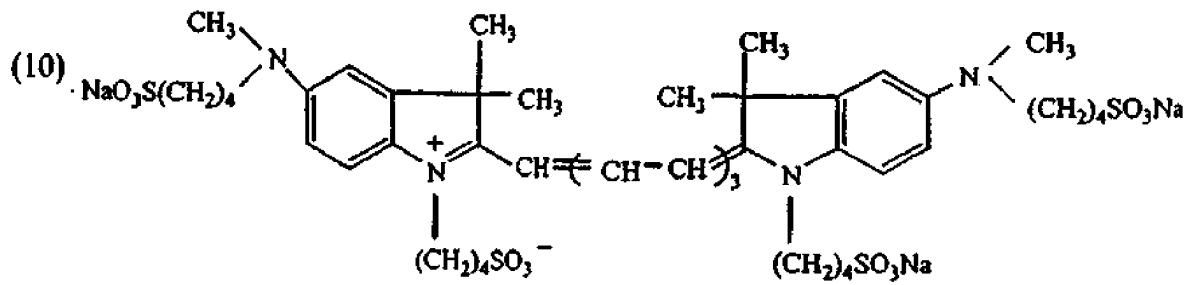
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

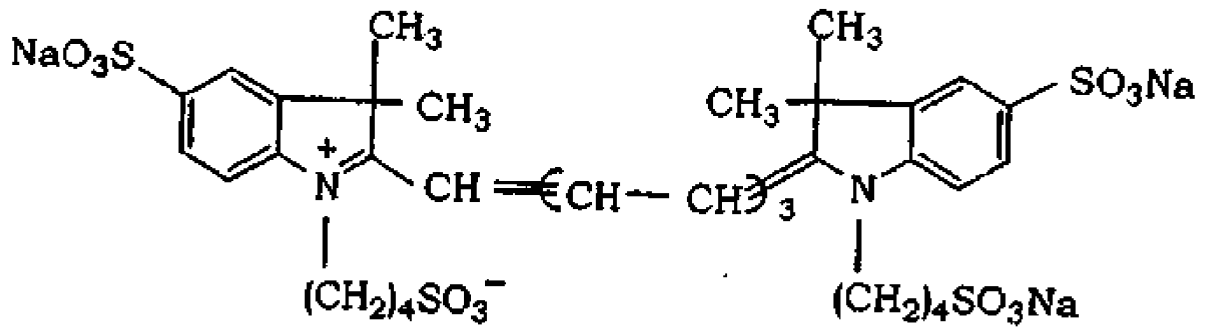
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



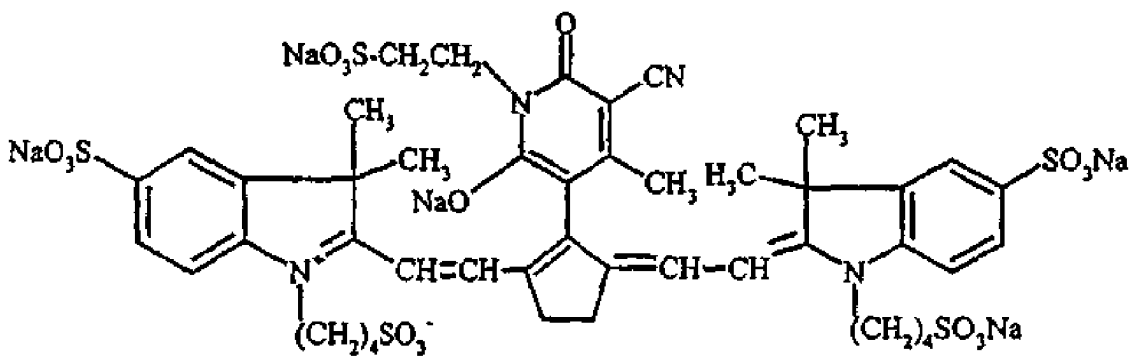
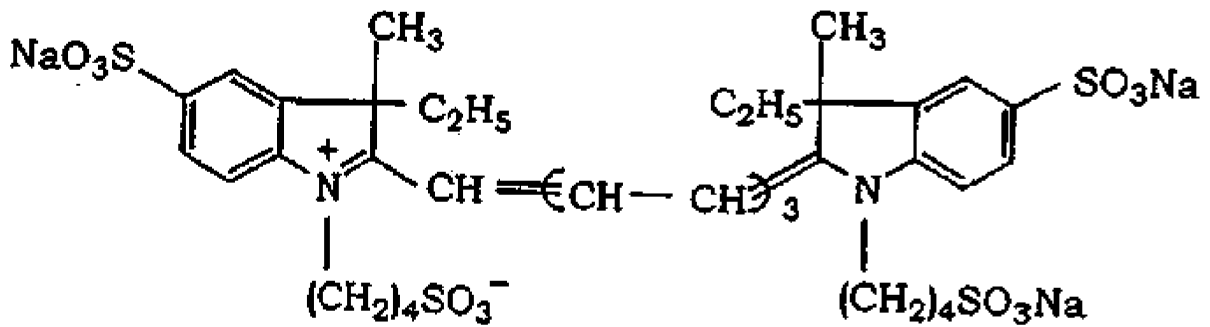
U A 7 5 3 6 0 C 2



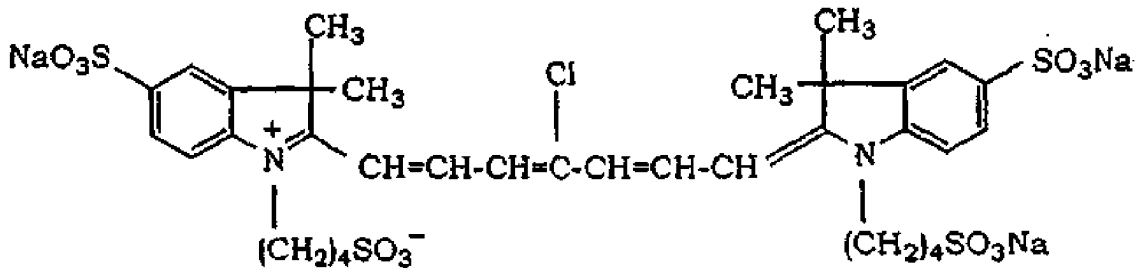
(11)



(12)



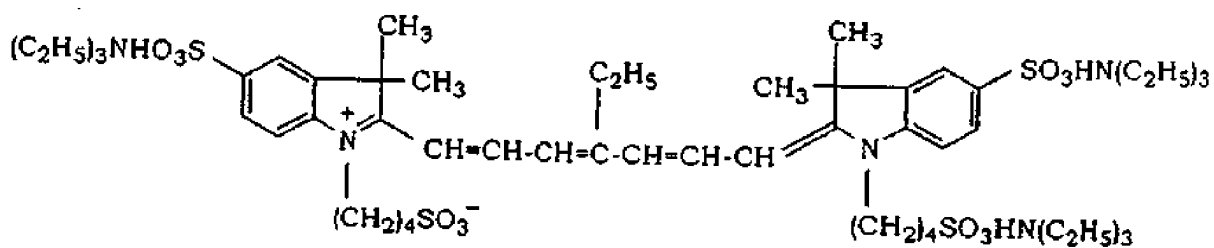
(14)



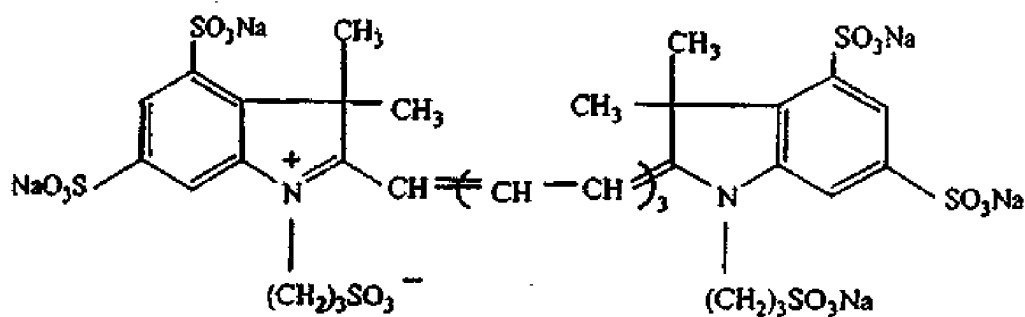
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

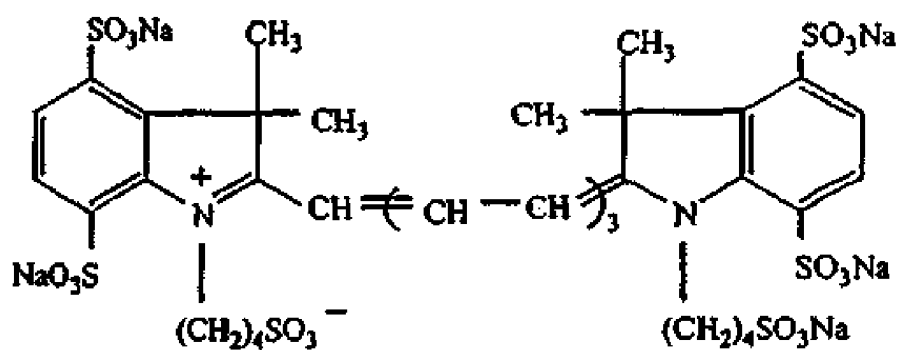
(15)



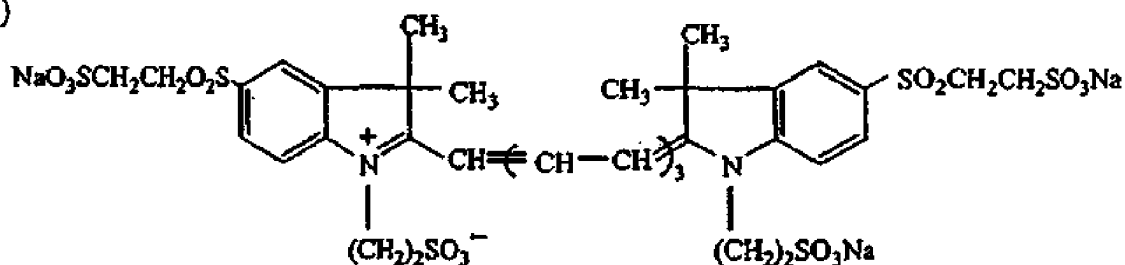
(16)



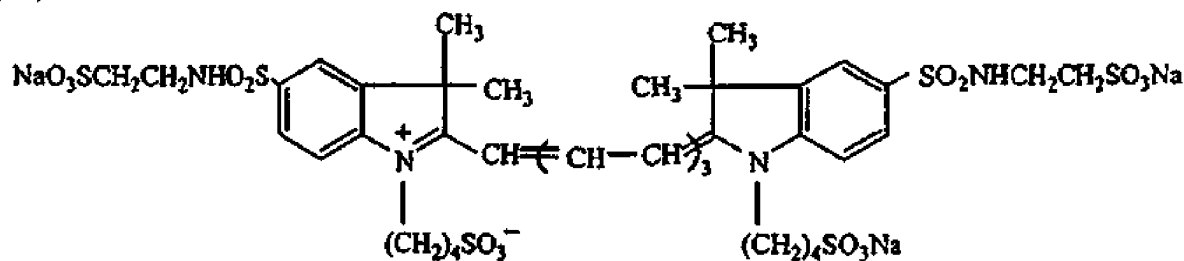
(17)



(18)

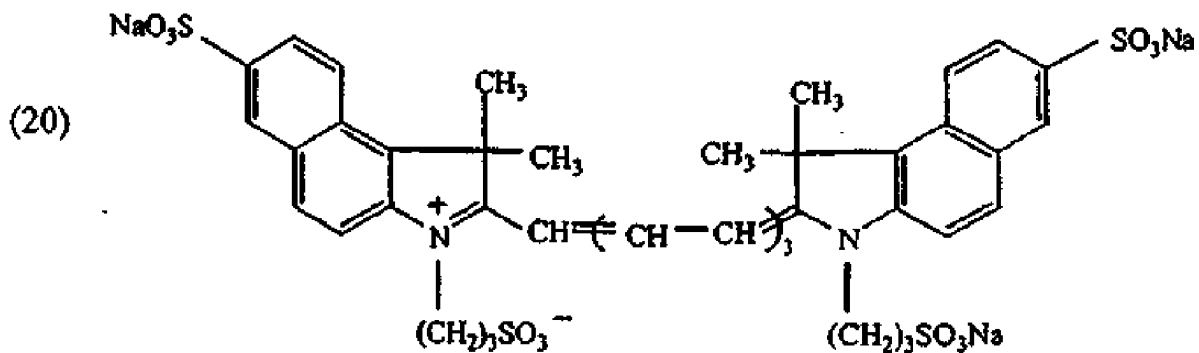


(19)

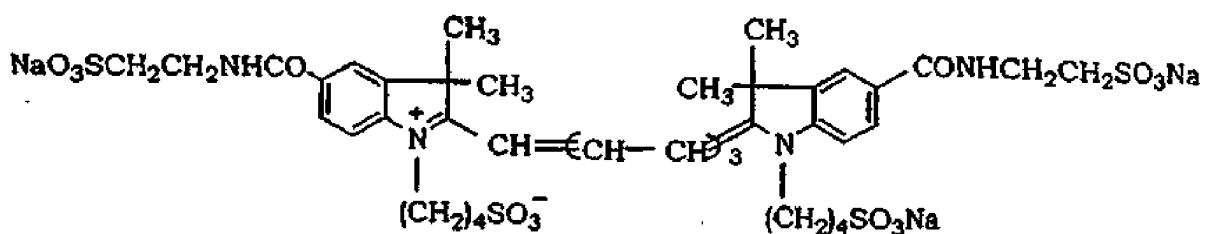


U A 7 5 3 6 0 C 2

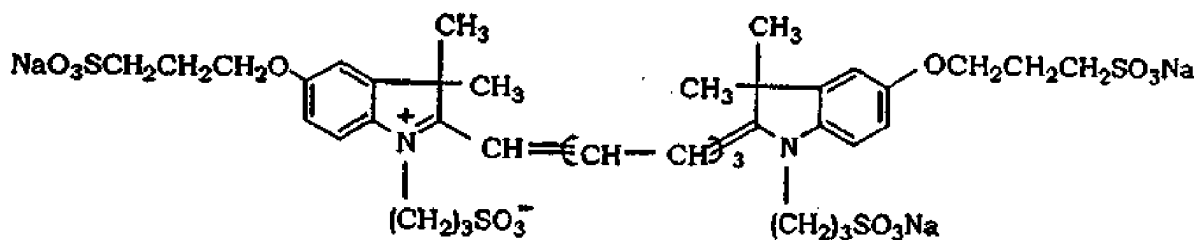
U A 7 5 3 6 0 C 2



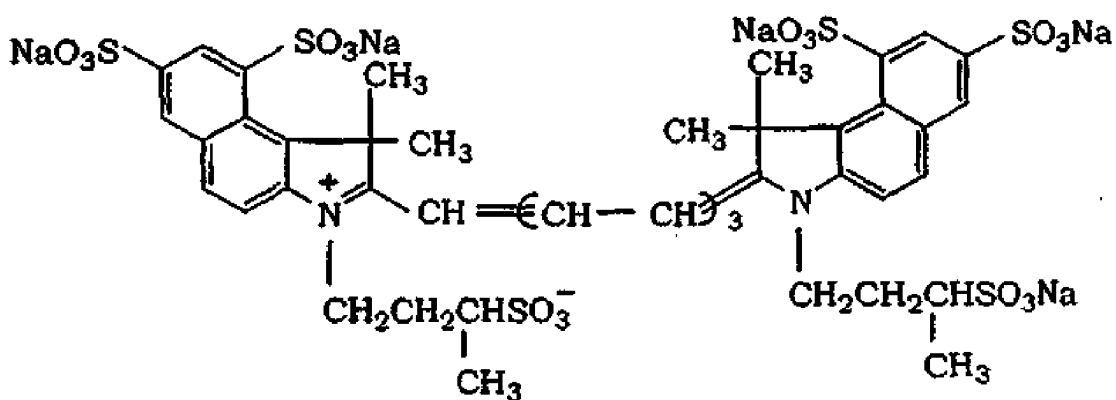
15 (21)



30 (22)



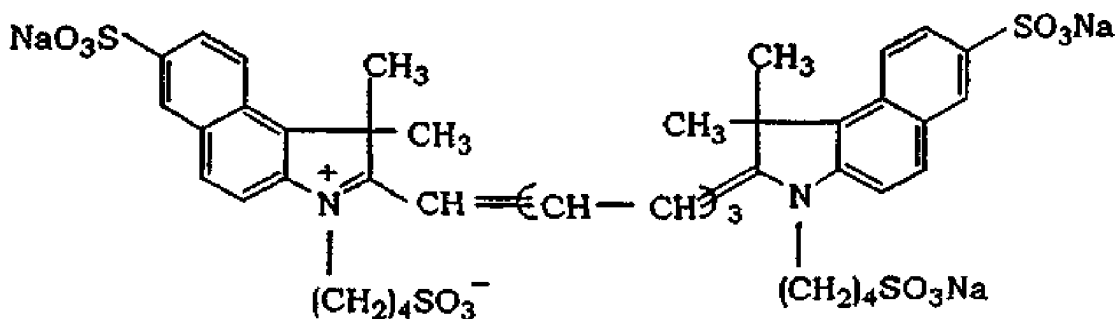
40 (23)



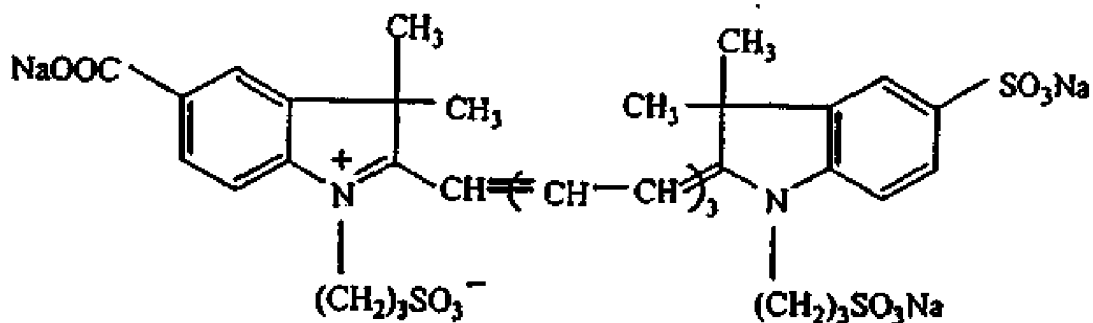
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

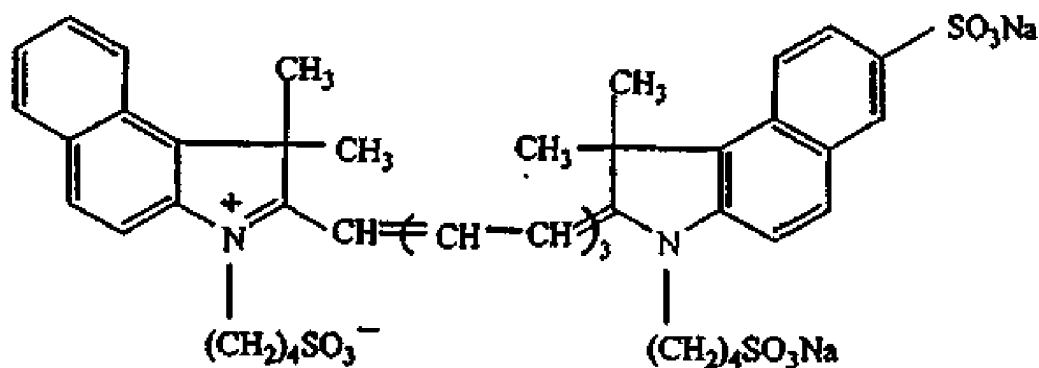
(24)



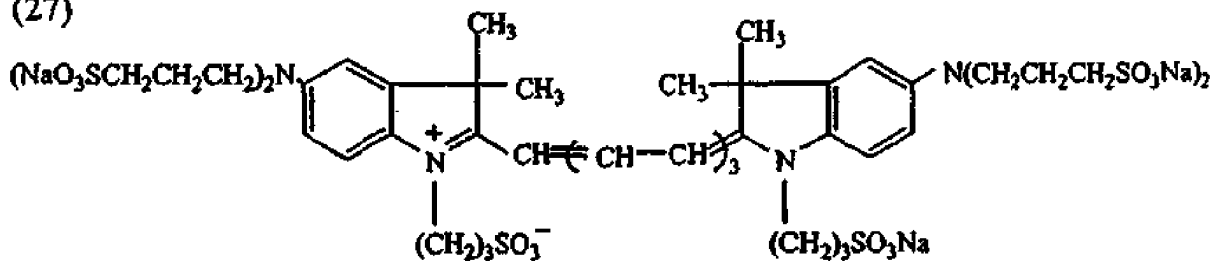
(25)



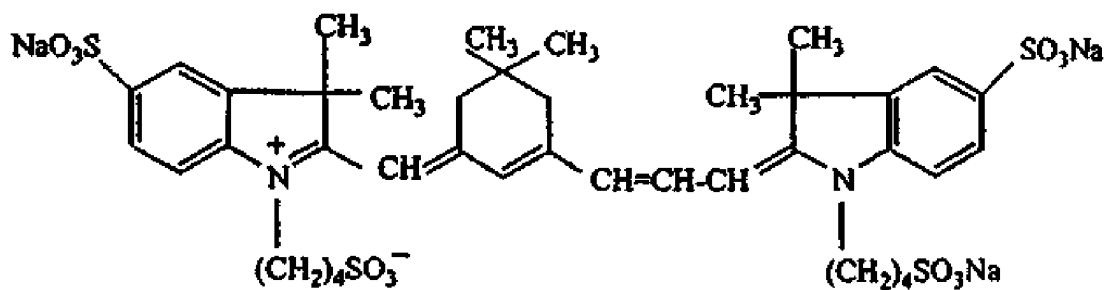
(26)



(27)



(28)

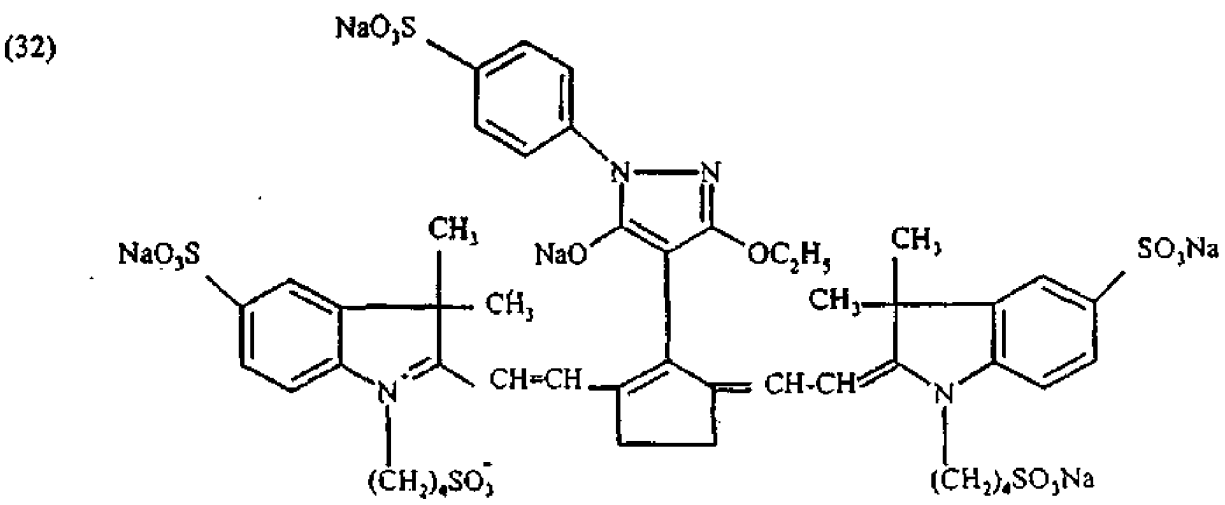
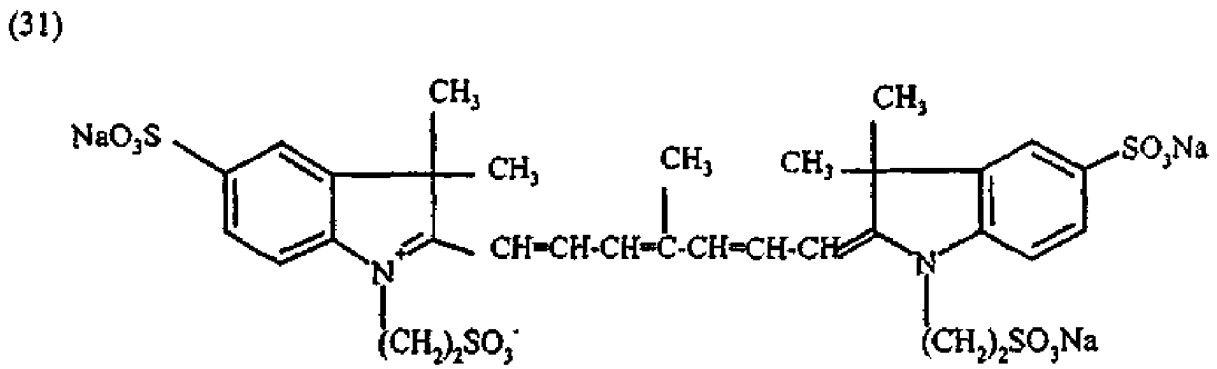
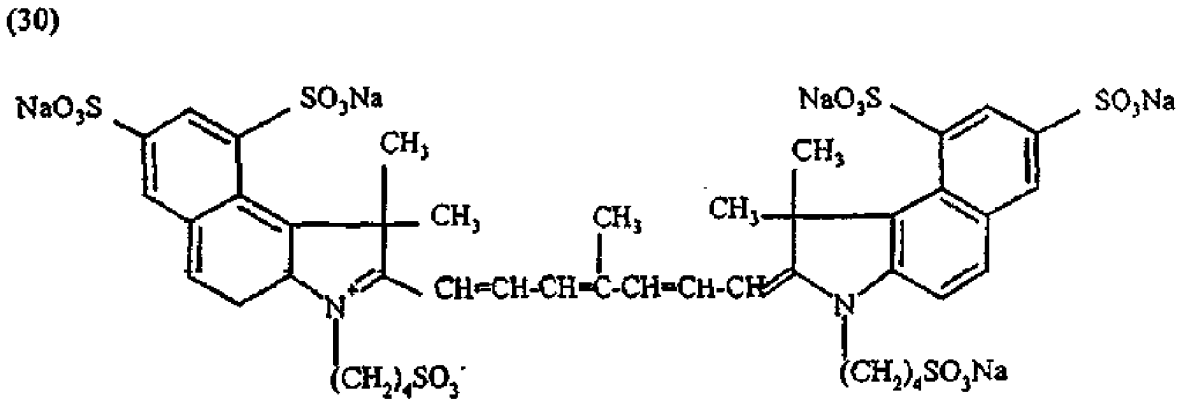
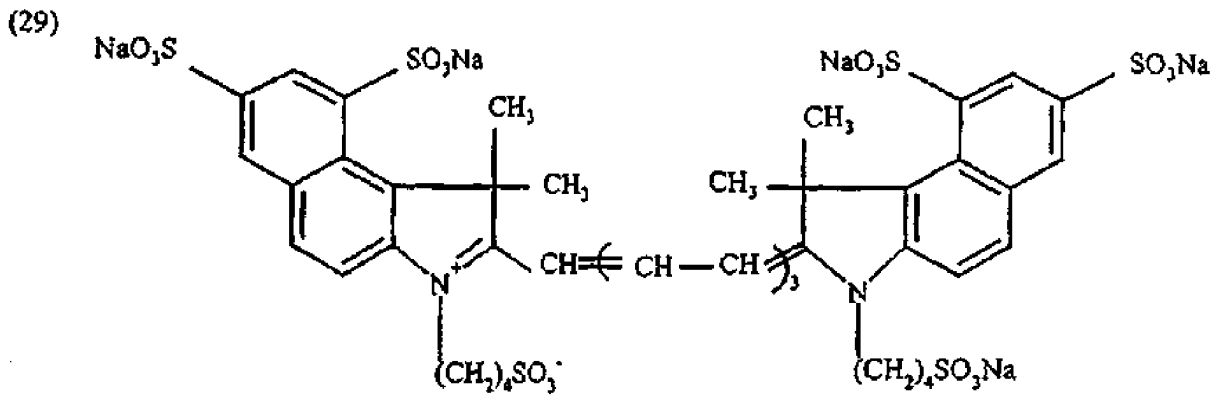


U
A
7
5
3
6
0
C
2

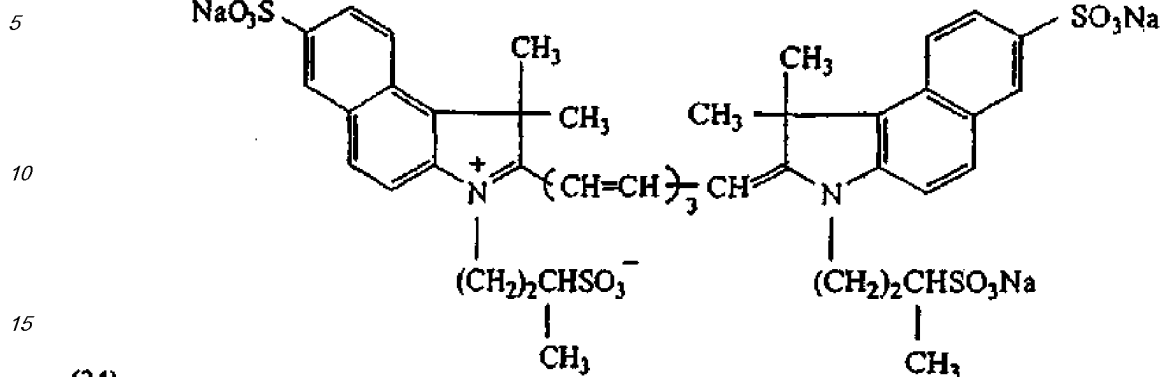
U
A
7
5
3
6
0
C
2

U A 7 5 3 6 0 C 2

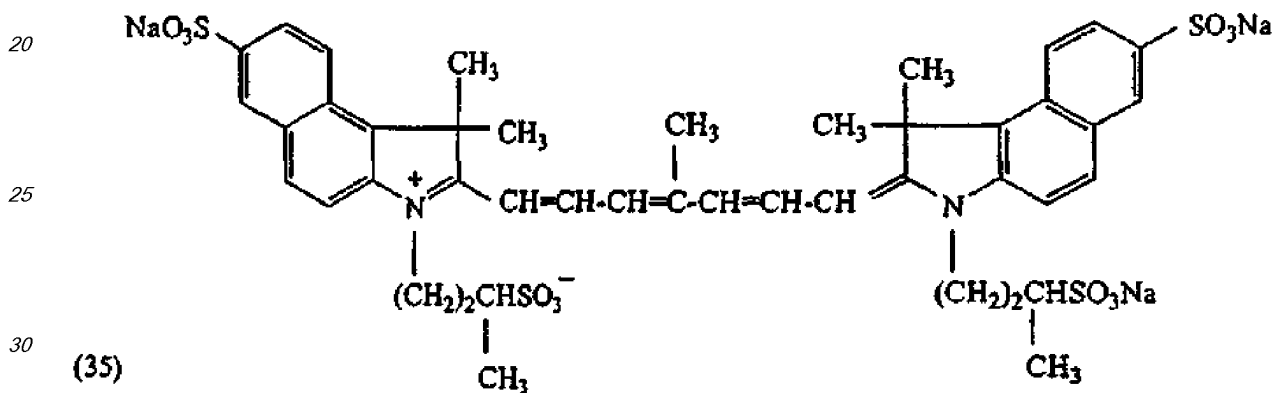
U A 7 5 3 6 0 C 2



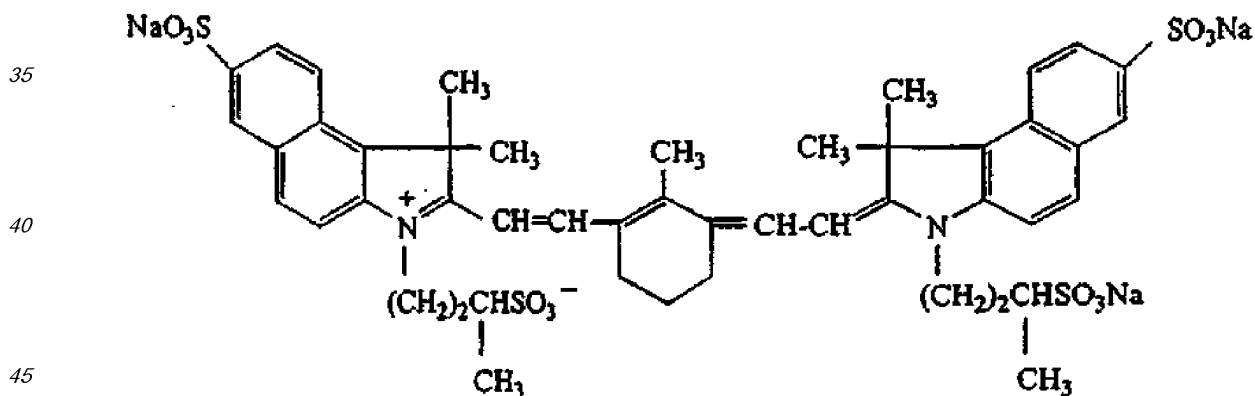
(33)



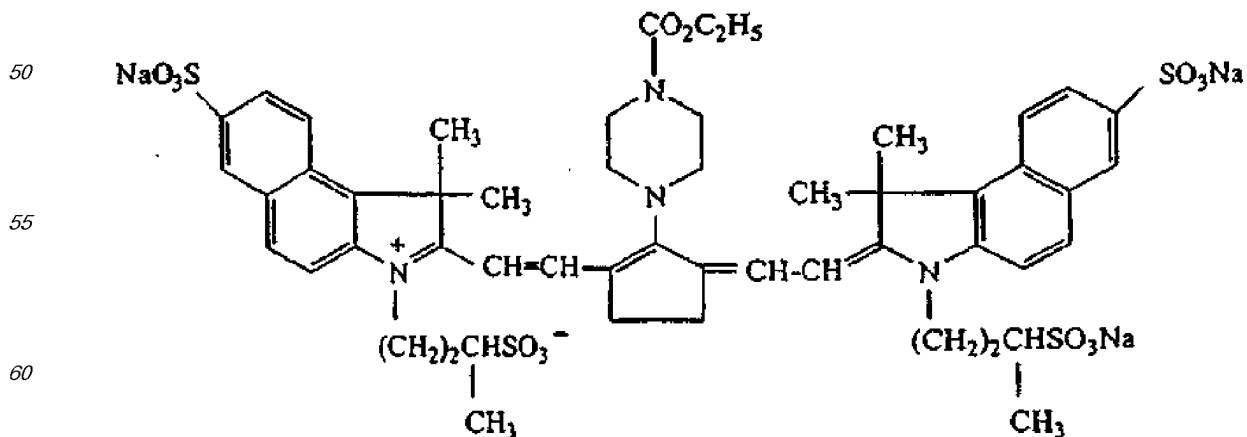
(34)



(35)



(36)



U A 7 5 3 6 0 C 2

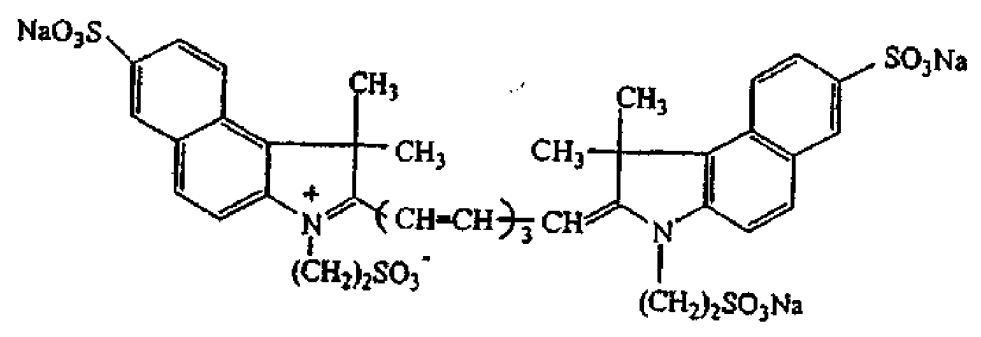
U A 7 5 3 6 0 C 2

65

(37)

5

10

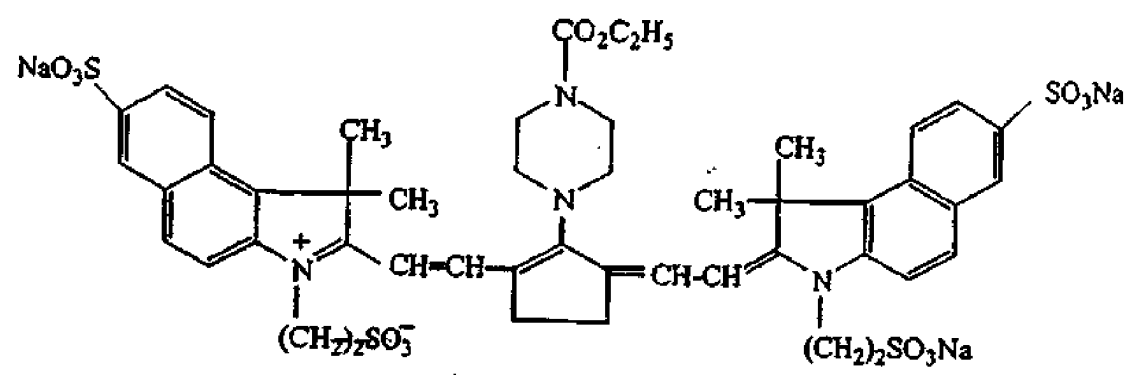


(38)

15

20

25

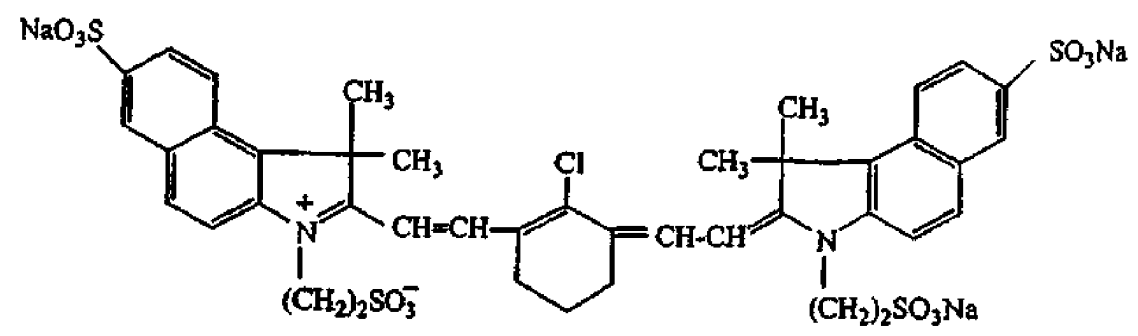


(39)

30

35

40



(40)

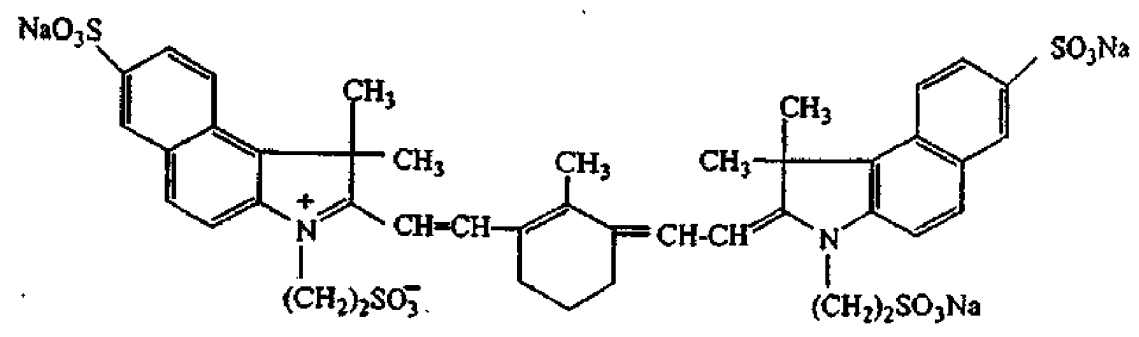
45

50

55

60

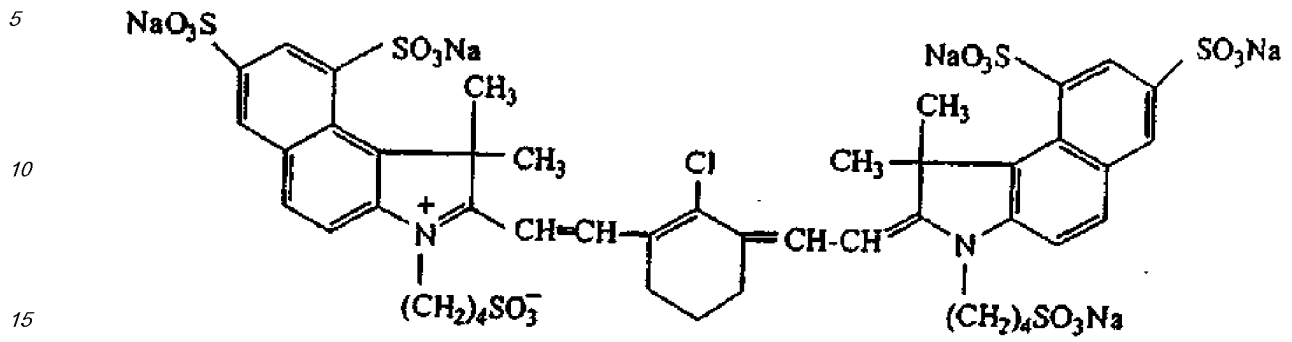
65



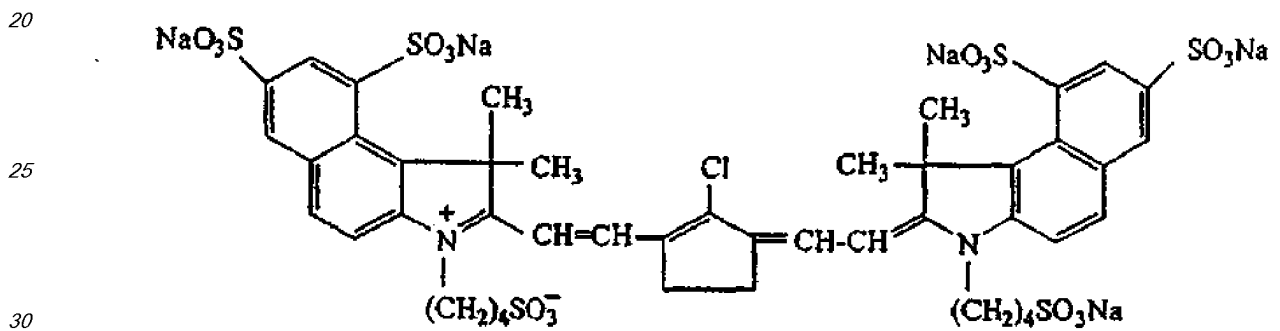
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

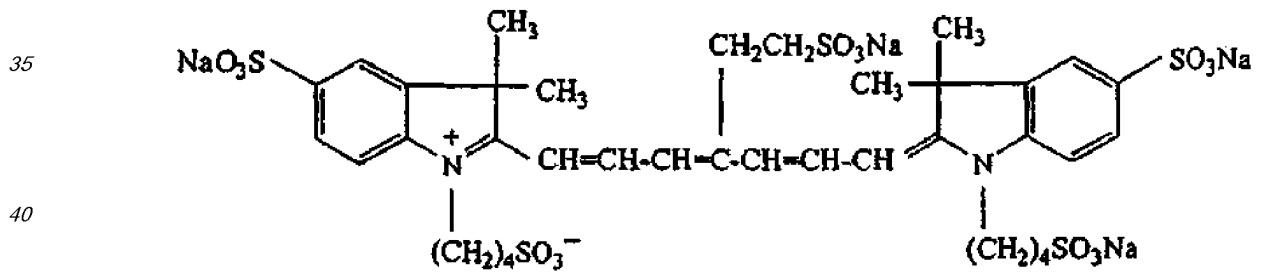
(41)



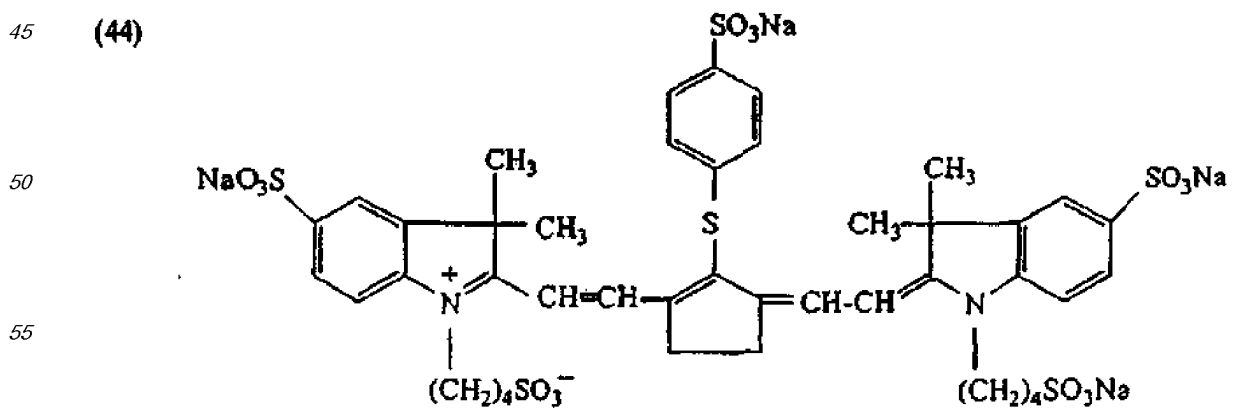
(42)



(43)



(44)



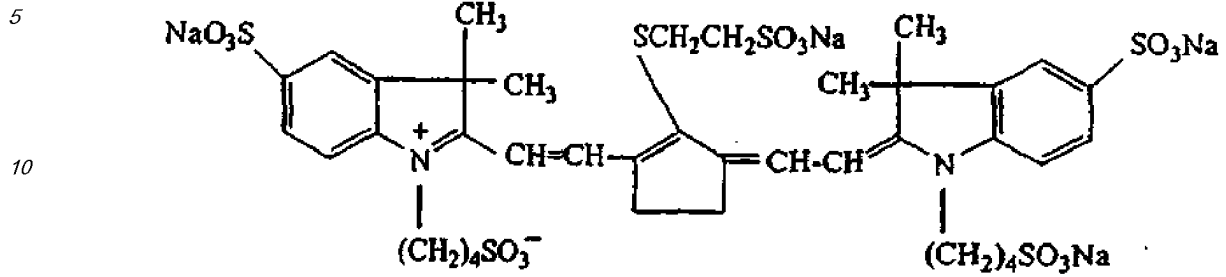
U
A
7
5
3
6
0
C
2

U
A
7
5
3
6
0
C
2

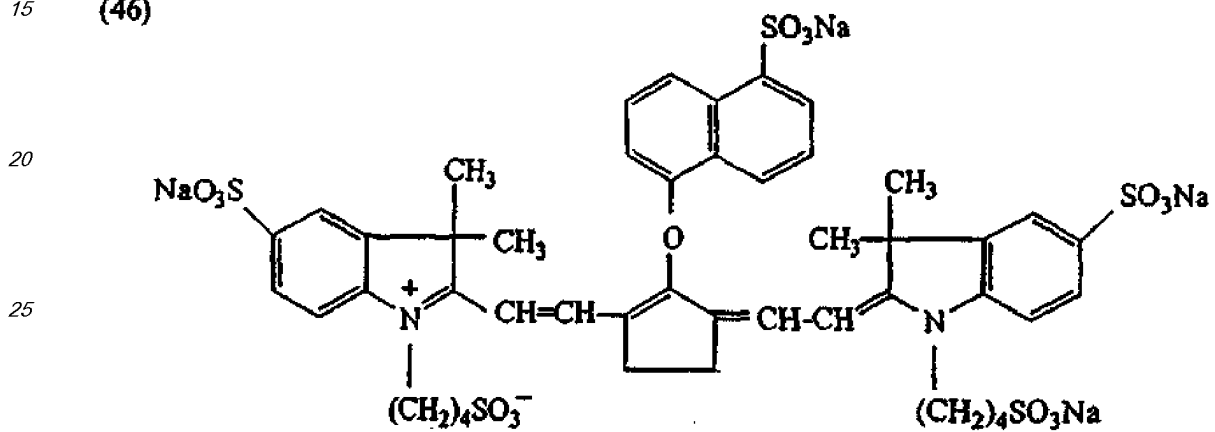
60

65

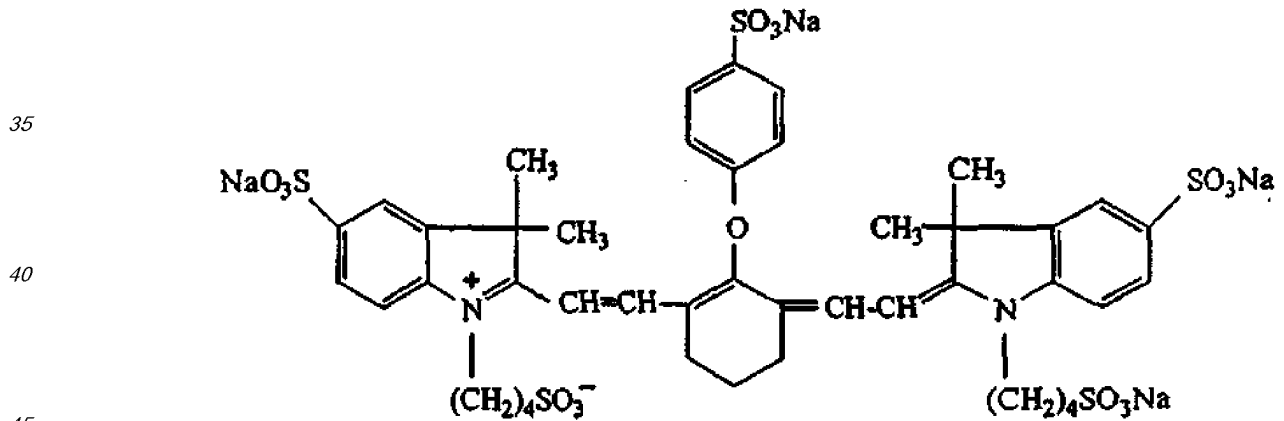
(45)



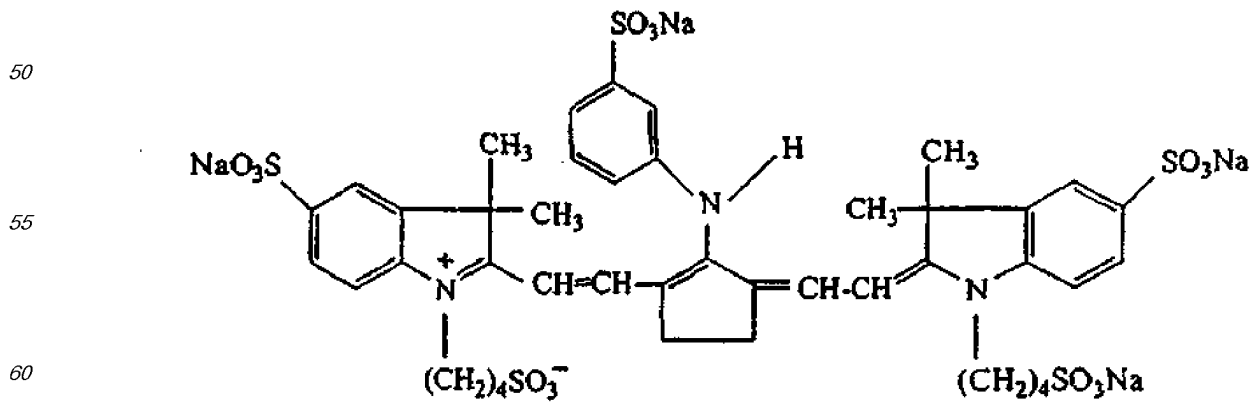
(46)



(47)



(48)



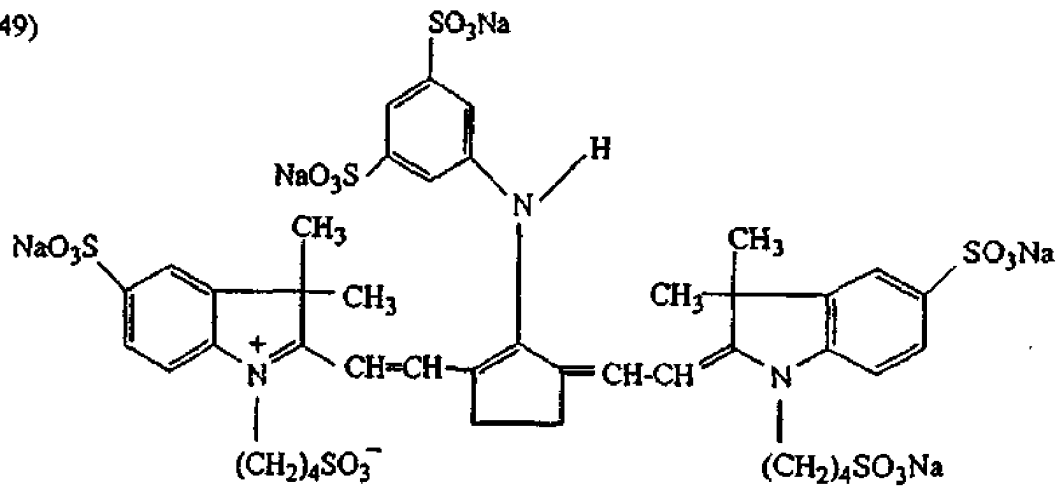
U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

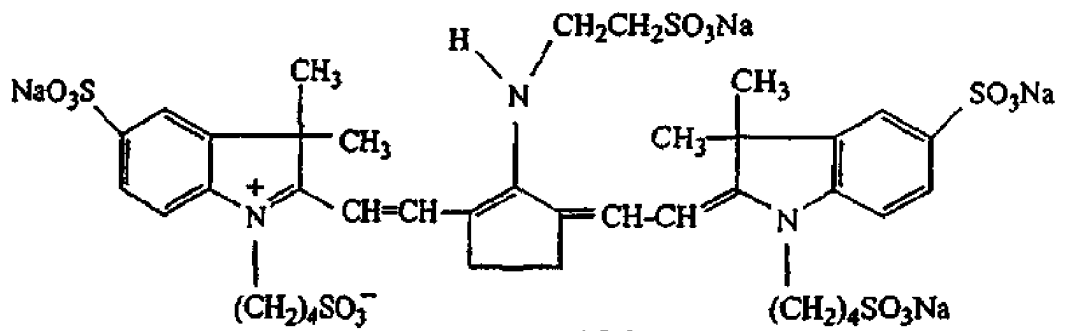
U A 7 5 3 6 0 C 2

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

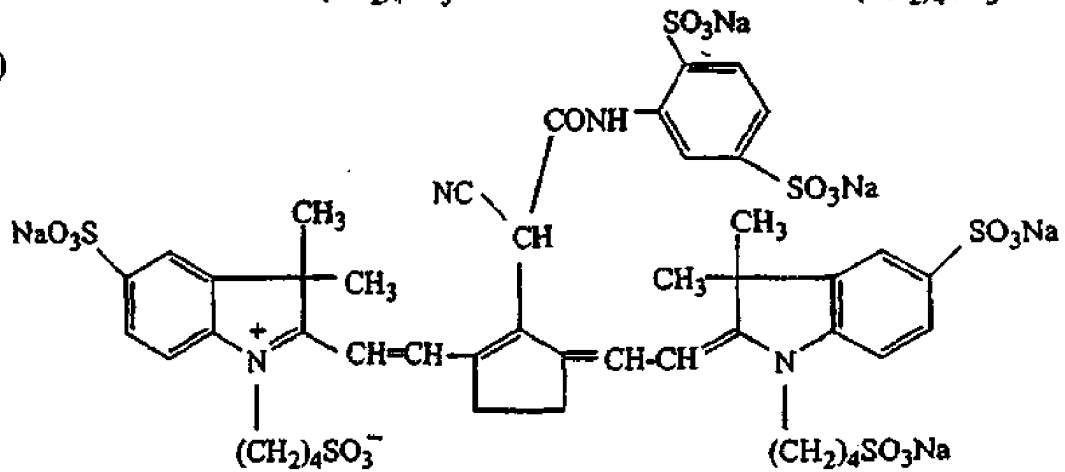
(49)



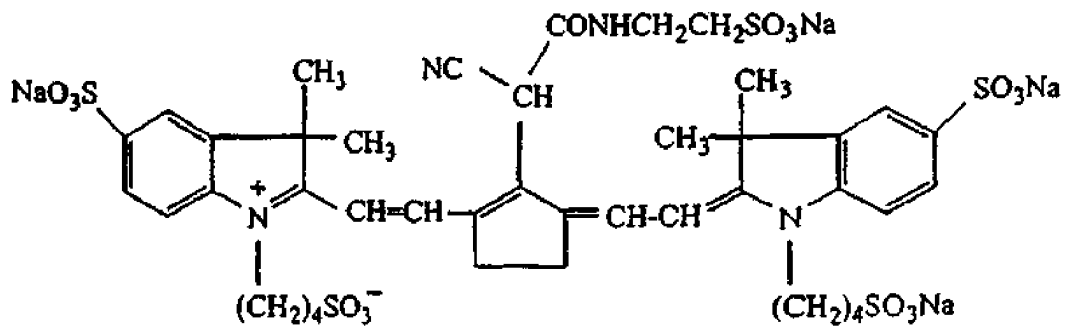
(50)



(51)

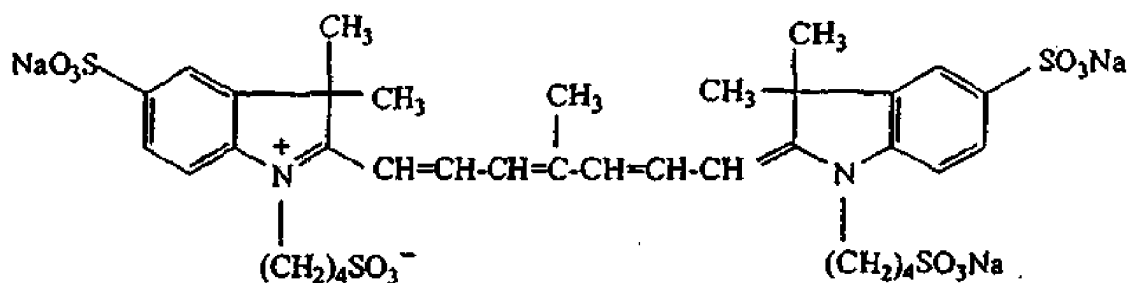


(52)

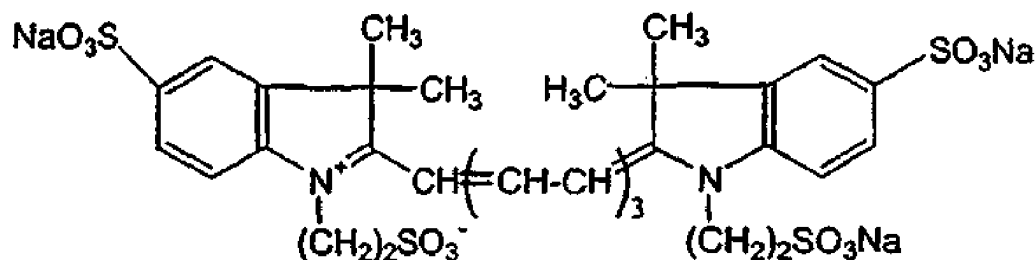


U A 7 5 3 6 0 C 2

(53)



(54)



Вищезгадана сполука, яка має міститися у флуоресцентному контрастному агентові для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом, володіє поглинальністю і флуоресценцією в ближній інфрачервоній ділянці спектру при довжинах хвиль 700-1300нм, передусім приблизно при 700-900нм, і має коефіцієнт молярного поглинання не менший ніж 100000.

На флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом не накладається особливих обмежень, за винятком того, що він містить сполуку формули [I] або формули [II] і/або її фармацевтично прийнятну сіль і має в молекулі 3 або більше, бажано 4 або більше групи сульфонової кислоти. Ця сполука або її сіль може міститися у зазначеному контрастному агентові індивідуально або в поєднанні одна з одною.

Конкретніше зазначений контрастний агент включає вказану сполуку або вказану сполуку, суспендовану чи розчинену в розчиннику, такому, як дистильована вода для ін'єкцій, фізіологічний розчин, розчин Рінгера тощо. У разі потреби можна додавати фармакологічно прийнятні добавки, такі, як носій, ексципієнт і т. ін. Ці добавки містять такі речовини, як фармакологічно прийнятний електроліт, буфер, поверхнево-активна речовина і речовини для регулювання осмотичного тиску та поліпшення стабільності і розчинності (наприклад, циклодекстрин, ліпосома тощо). Можна використовувати різні добавки, які звичайно застосовують у відповідних галузях. Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом, якщо передбачається його застосування в фармацевтичних цілях, бажано отримувати з використанням процесу стерилізації.

Згаданий контрастний агент можна вводити до живого організму шляхом ін'єкції, розбрикування або нанесення покриття, внутрішньо судинно (внутрішньовенно, внутрішньоартеріально), перорально, внутрішньоочеревинно, кризьшкірно, підшкірно, всередину кістки або внутрішньобронхіально. Бажано агент вводити в кровоносні судини в формі водного агента, емульсії або суспензії.

На дозу флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом не накладається особливих обмежень, якщо доза достатня для виявлення місця, яке в підсумку слід продіагностувати. Її відповідним чином регулюють залежно від застосовуваної сполуки, яка випускає флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру, віку, ваги тіла та органу-мішені обстежуваних пацієнтів тощо. Звичайно доза становить 0,1-100мг/кг ваги тіла, бажано 0,5-20мг/кг ваги тіла, в перерахунку на кількість зазначеної сполуки.

Контрастний агент за даним винаходом можна застосовувати відповідним чином для різних тварин, а не тільки людей. Форму введення, шлях і дозу визначають відповідним чином залежно від ваги тіла і станів тварини-мішені.

Крім того, згідно з даним винаходом вищезгадана сполука формули [I], найбажаніше сполука формули [II], яка містить у молекулі 3 або більше, бажано 4 або більше групи сульфонової кислоти, має тенденцію значною мірою нагромаджуватися в тканинах пухлини. З використанням цієї особливості застосування флуоресцентного контрастного агента за винаходом дає змогу візуалізувати конкретно тканину пухлини. Крім того, цілий ряд із зазначених сполук може залишатися в кровоносній судині протягом тривалого часу і тому треба очікувати, що їх можна успішно застосовувати як контрастні агенти для ангіографії.

Спосіб флуоресцентної візуалізації за даним винаходом відрізняється застосуванням флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за винаходом. Цей спосіб здійснюють на

практиці з використанням відомих методів і, залежно від типу флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру, який підлягає введенню, і мішені для введення, відповідним чином визначають кожний параметр, такий, як довжина хвилі збудження і довжина хвилі флуоресценції, яку потрібно виявити, для того, щоб добитися оптимальної візуалізації і можливості оцінення. Час, що спливає з моменту введення флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за винаходом до мішені, яка підлягає оціненню, до початку оцінювання за допомогою способу флуоресцентної візуалізації за даним винаходом варіюється залежно від типу флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру, який підлягає введенню, і мішеней для введення. Наприклад, якщо агент містить сполуки формули [I] для візуалізації пухлини, то проміжок часу становить приблизно 4-120год після введення. У випадку сполуки формули [II] проміжок часу становить приблизно 24-120год після введення. Якщо проміжок часу дуже короткий, флуоресценція є настільки інтенсивною, що місце-мішень не можна чітко відокремити від інших ділянок. Якщо він дуже великий, то контрастний агент можна вивести з організму. Якщо потрібна візуалізація кровоносної судини, то сполуки формули [I] або формули [II] виявляють одразу після введення або приблизно через 30хв.

Спосіб звичайно передбачає проведення таких стадій.

Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом уводять до мішені, яка підлягає виявленню, і мішень, яка підлягає виявленню, опромінують збуджувальним світлом від джерела збуджувального світла. Потім за допомогою флуоресцентного детектора виявляють флуоресценцію від флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру, викликану збуджувальним світлом.

Довжина хвилі збудження варіюється залежно від флуоресцентного контрастного агента, який використовується для ближньої інфрачервоної ділянки спектру. На неї не накладається обмежень, якщо сполука ефективно випускає флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру. Бажано використовувати світло ближньої інфрачервоної ділянки спектру, яке володіє хорошою здатністю проходити крізь біологічні об'єкти.

Довжина хвилі флуоресценції в ближній інфрачервоній ділянці спектру, яка підлягає виявленню, також варіюється залежно від контрастного агента, який використовується. Загалом застосовують збуджувальне світло з довжиною хвилі 600-1000нм, бажано 700-850нм, і виявляють флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру при довжині хвилі 700-1000нм, бажано 750-900нм. У цьому випадку джерелом збуджувального світла може служити звичайне джерело збуджувального світла, таке, як різні типи лазерів (наприклад, іонний лазер, лазер на барвнику і напівпровідниковий лазер), галогенове джерело світла, ксенонове джерело світла і т. ін. У разі потреби можна застосовувати різні оптичні фільтри для отримання оптимальної довжини хвилі збудження. Аналогічно до цього флуоресценцію можна виявляти з використанням різних оптичних фільтрів для виявлення флуоресценції тільки від зазначеного флуоресцентного контрастного агента для ближньої інфрачервоної ділянки спектру.

Виявлену флуоресценцію піддають обробленню з отриманням інформації про флуоресценцію, використовувану для створення флуоресцентних зображень, які можна записати на відповідному носіїві. Флуоресцентні зображення отримують шляхом освітлення великої ділянки, яка включає тканину-мішень, виявлення флуоресценції за допомогою CCD-камери (телекамера на приладах із зарядовим зв'язком) і оброблення отриманої інформації у вигляді флуоресцентного зображення. В альтернативному варіанті можна застосовувати оптичний СТ-апарат, можна застосовувати ендоскоп або можна застосовувати офтальмоскоп.

Спосіб флуоресцентної візуалізації за даним винаходом дає змогу візуалізувати системні хвороби, пухлини, кровоносні судини і т. ін. без пошкодження живого організму.

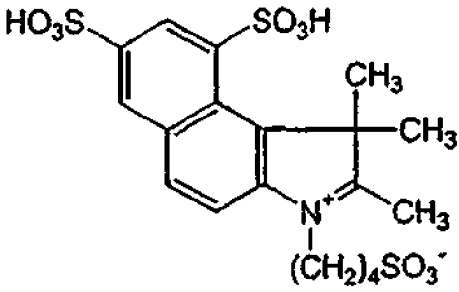
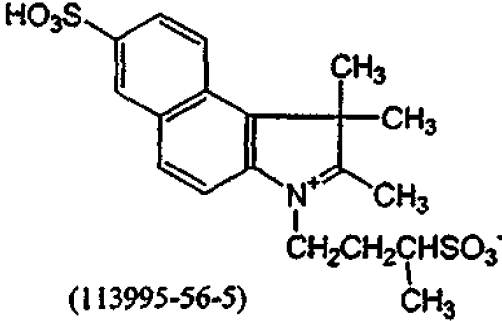
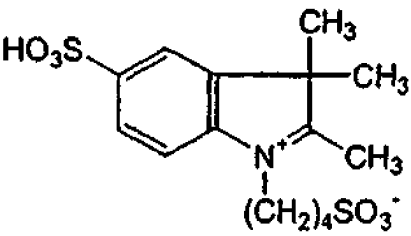
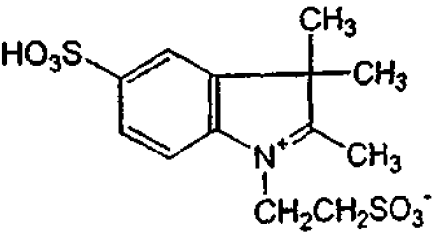
Даний винахід докладніше пояснено за допомогою прикладів і експериментальних прикладів, які не обмежують обсягу даного винаходу. Номери сполук в наведених нижче прикладах і експериментальних прикладах відповідають номерам сполук, представлених структурними формулами.

Сполука, для якої символ, що означає "калієву сіль", "кальцієву сіль" або "піридинієву сіль" вказаний після номера сполуки (наприклад, сполука (29) К сіль) означає сполуку, яка є тим же самим, що і сполука з указаним номером сполуки (натрієва сіль), за винятком того, що протиіон являє собою калієву сіль, кальцієву сіль або піридинієву сіль, а не натрієву сіль. Наприклад, "сполука (31) К сіль" означає сполуку, яка є тим же самим, що і сполука (31), за винятком того, що протиіон являє собою калій, а не натрій; "сполука (31) Са сіль" означає сполуку, яка є тим же самим, що і сполука (31), за винятком того, що протиіон являє собою кальцій, а не натрій; і "сполука (31) піридинієва сіль" означає сполуку, яка є тим же самим, що і сполука (31), за винятком того, що протиіон являє собою піридиній, а не натрій.

Метод синтезу сполуки, яка міститься як дійова речовина в флуоресцентному контрастному агенті для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом, пояснено у Прикладах.

Описані нижче методи синтезу в основному полягають у взаємодії гетероциклічної четвертинної солі сполуки, наведеної в Таблиці 1, і діанільних похідних, наведених у таблицях 2 і 3.

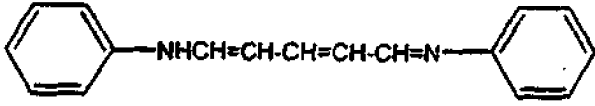
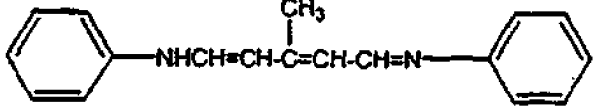
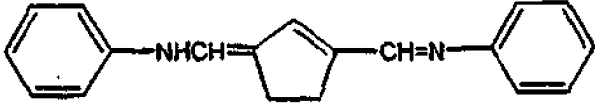
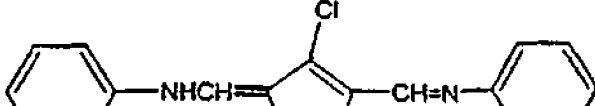
Таблиця 1. Гетероциклічна четвертинна сіль сполуки

Символ	Структурна формула [Реєстраційний номер в Chemical Abstract (CA)]	Джерело/Метод синтезу
Q1	 <p>(138913-76-5)</p>	відповідне індоленінове похідне піддають взаємодії з бутансултоном згідно з методом, описаним для сполуки Q2
Q2	 <p>(113995-56-5)</p>	JP-A 63-55544 EP 251282
Q3	 <p>(76588-81-3)</p>	JP-A 2-233658 CA 114:122053
Q4	 <p>(183272-36-8)</p>	відповідне індоленінове похідне піддають взаємодії з 2-брометансульфоною кислотою згідно з методом, описаним для сполуки Q3

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

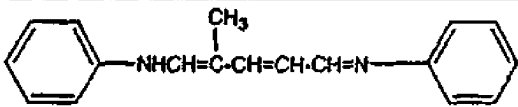
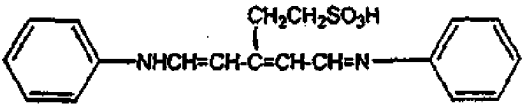
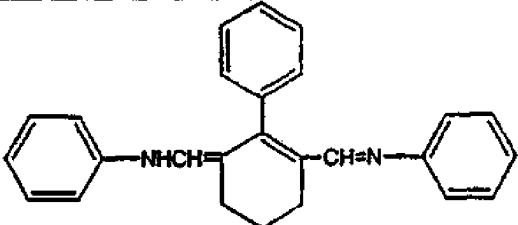
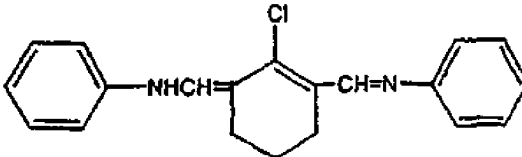
Таблиця 2. Діанільне похідне-1

Символ	Структурна формула [Реєстраційний номер в Chemical Abstract (CA)]	Джерело/Метод синтезу
A1	 <p>(1497-49-0) • HCl</p>	реагент надходить у продаж від фірми Aldrich та інших фірм
A2	 <p>(1979-58-4) • HCl</p>	JP-A 8-295658 CA 126:90721
A3	 <p>(53019-66-2) • HCl</p>	Zh. Org. Chem., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034
A4	 <p>(63856-99-5) • HCl</p>	Zh. Org. Chem., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

Таблиця 3. Діанільне похідне-2

Символ	Структурна формула [Реєстраційний номер в Chemical Abstract (CA)]	Джерело/Метод синтезу
A5	 (77146-76-0) • HCl	Nukleofil'nye Reacts. Karbonil'nukn Soedin. (1982), 52-53 CA 101:130179
A6	 (125577-71-1) • HCl	Ger Offem, DE 2928184 CA 94:176696
A7	 (56709-94-5) • HCl	Zh. Org. Chem., 18(10) 2176-9 (1982) CA 98:73808
A8	 (63857-00-1) • HCl	Zh. Org. Chem., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

Приклади

У наведених нижче прикладах для зручності сполуки позначено символами (наприклад, A1, Q1 і т. ін.), які використовуються в таблицях 1-3.

Приклад 1: Синтез сполуки (29)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q1 (5г) додавали метанол (100мл), N,N-диметилформамід (25мл), триетиламін (5,6мл), діанільне похідне A1 (1,83г) і оцтовий ангідрид (3мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4год. Додавали триетиламін (2,2мл) і оцтовий ангідрид (2мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (2г) в метанолі (15мл), після чого перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До отриманих неочищених кристалів (3,5г) додавали для розчинення воду (20мл). Додавали ацетат натрію (1г), а потім метанол (30мл), після чого перемішували протягом 1год. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 3г сполуки (29). Отримана сполука (29) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

Максимальна довжина хвилі поглинання (H₂O): 780nm

Молярний коефіцієнт поглинання (H₂O): 243000

Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H₂O): 802nm

Інфрачервоний спектр поглинання отриманої сполуки (29) вимірювали методом таблетки броміду калію з використанням інфрачервоного спектрометра з Фур'є-перетворенням (типу VALOR-111, виробник фірма JASCO). Були виявлені наведені нижче піки. Спектр показано на фіг. 11. ІК ($\max(KBr)$): 1414, 1086, 1037, 995, 889 cm^{-1} .

Приклад 2: Синтез сполуки (34)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q2 (2,13г) додавали метанол (20мл) і суміш охолоджували до 10°C. До неї додавали діанільне похідне A2 (0,75г), триетиламін (4мл) і оцтовий ангідрид (2мл) і суміш перемішували протягом 20хв. Додавали оцтовий ангідрид (2мл) і суміш перемішували при 10°C протягом 4год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (2г) в невеликій кількості метанолу. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До отриманих неочищених кристалів додавали для розчинення воду (7мл). Для осадження кристалів додавали метанол (7мл). Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 1,2г сполуки (34). Отримана сполука (34) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	794nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	176000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	812nm

Приклад 3: Синтез сполуки (6)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q3 (9,5г) додавали метанол (50мл), триетиламін (7мл), діанільне похідне A3 (3,1г) і оцтовий ангідрид (3,9мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 7год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (5г) в невеликій кількості метанолу. Суміші давали вистоятися протягом ночі. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали для розчинення воду (30мл). Додавали ацетат натрію (2г), а потім метанол (30мл). Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи сполуку (6).

Приклад 4: Синтез сполуки (45)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q3 (4,8г) додавали метанол (50мл), триетиламін (4мл), діанільне похідне A4 (1,7г) і оцтовий ангідрид (2мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (4г) в невеликій кількості метанолу. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали для розчинення воду (10мл). Потім додавали метанол (10мл). Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили на повітрі, отримуючи 1,6г сполуки, яка являла собою таку само сполуку, що і сполука (45) за винятком того, що замісник в метиновому ланцюзі являв собою -СІ замість -SCH₂CH₂SO₃Na.

Описану вище стадію повторювали, отримуючи 4,2г вказаної сполуки. До неї додавали воду (30мл), триетиламін (1,2мл) і 2-меркаптоетансульфонат натрію (0,8г) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (2г) в невеликій кількості метанолу. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали метанолом (20мл) і сушили на повітрі, отримуючи 2,3г сполуки (45). Отримана сполука (45) давало жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	815nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	196000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	827nm

Приклад 5: Синтез сполуки (2)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q3 (4,7г) додавали метанол (25мл), триетиламін (2,8мл), діанільне похідне A5 (1,5г) і оцтовий ангідрид (2,4мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Потім до неї додавали триетиламін (3,5мл) і оцтовий ангідрид (1,5мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3,5год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (3г) в невеликій кількості метанолу. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали для розчинення воду (15мл). Потім додавали метанол (15мл). Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили на повітрі, отримуючи сполуку (2).

Приклад 6: Синтез сполуки (43)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q3 (3,75г) додавали метанол (25мл), триетиламін (3,5мл), діанільне похідне A6 (1,95г) і оцтовий ангідрид (2,4мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (3,9г) в невеликій кількості метанолу. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали для розчинення воду (10мл). Додавали ацетат натрію (2г) і потім метанол (10мл). Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 1,8г сполуки (43). Отримана сполука (43) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	773nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	204000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	789nm

5

Приклад 7: Синтез сполуки (4)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q3 (3,5г) додавали метанол (20мл), триетиламін (3,5мл), діанільне похідне A7 (1,2г) і оцтовий ангідрид (1,9мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10год, після чого давали вистоятися протягом ночі. Суміш перемішували, підтримуючи температуру 50°C, протягом 5год. Додавали воду (2мл) і відфільтровували нерозчинений продукт. До фільтрату додавали розчин ацетату натрію (5г) в невеликій кількості води. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30хв. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи сполуку (4).

Приклад 8: Синтез сполуки (31)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q4 (3,5г) додавали метанол (35мл), триетиламін (3,5мл) і оцтовий ангідрид (2мл) і порціями при перемішуванні додавали діанільне похідне A2 (1,8г). Суміш перемішували ще протягом 1год. Додавали оцтовий ангідрид (2мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (4г) в невеликій кількості метанолу. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали для розчинення воду (10мл). Додавали метанол (10мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2год. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 1,3г сполуки (31). Отримана сполука (31) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

25

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	755nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	228000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	774nm

Інфрачервоний спектр поглинання отриманої сполуки (31) вимірювали методом таблетки броміду калію з використанням інфрачервоного спектрометра з Фур'є-перетворенням (типу VALOR-111, виробник фірма JASCO). Були виявлені наведені нижче піки. Спектр показано на фіг. 12. ІК ($\nu_{\max}(\text{KBr})$): 1518, 1183, 1149, 1111, 995 cm^{-1} .

Приклад 9: Синтез сполуки (41)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q1 (12г) додавали метанол (120мл), триетиламін (13,6 мл), діанільне похідне A8 (4,4 г) і оцтовий ангідрид (2,4 мл) і суміш перемішували протягом 30хв. Додавали оцтовий ангідрид (2,4мл) і суміш перемішували протягом 1,5год, після чого додавали оцтовий ангідрид (2,4мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6год. Потім ще раз додавали гетероциклічну четвертинну сіль сполуки Q1 (1г), триетиламін (3мл) і оцтовий ангідрид (3мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2год. Суміші давали вистоятися протягом ночі. Додавали ацетат натрію (5г) і утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До неочищених кристалів додавали для розчинення воду (200мл). Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (10г). Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. До кристалів додавали воду (200мл) і триетиламін (10мл), потім для утворення кристалів додавали розчин ацетату натрію (10г) в метанолі (100мл). Цю стадію повторювали двічі. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 9,7г сполуки (41). Отримана сполука (41) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

50

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	811nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	230000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	822nm

Приклад 10: Синтез сполуки (3)

Сполуку (3) отримували згідно з процесом, описаним у прикладі 5, використовуючи як вихідні продукти гетероциклічну четвертинну сіль сполуки Q3 і відповідне діанільне похідне.

Приклад 11

Працюючи згідно з процесом, описаним для синтезу сполуки (29) в прикладі 1, за винятком того, що замість ацетату натрію (2г) використали ацетат калію (2г), отримували сполуку, яка являє собою таку ж сполуку, що і сполука (29), за винятком того, що вона як протиіон містить калій замість натрію. Нижче в даному описі вона позначена як сполука (29) К сіль. Отримана сполука (29) К сіль давала пурпурове забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

65

Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	780nm
Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	254000
Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	800nm

Таким само чином, як це описано в даному Прикладі, обробляли інші сполуки, отримуючи сполуки, що як протиіон містять калій замість натрію.

Для того, щоб відрізнити ці сполуки, що як протиіон містять калій замість натрію, від зазначених вище сполук, після відповідних номерів сполук додано "К сіль".

Приклад 12

Таким само чином, як це описано в прикладі 11, отримували сполуку (6) К сіль. Отримана сполука (6) К сіль давала пурпурове забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

10	Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	788nm
	Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	226000
	Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	806nm

Приклад 13

Таким само чином, як це описано в прикладі 11, отримували сполуку (2) К сіль. Отримана сполука (2) К сіль давала пурпурове забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

15	Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	743nm
	Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	266000
20	Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	762nm

Приклад 14

Таким само чином, як це описано в прикладі 1, отримували сполуку (4) К сіль. Отримана сполука (4) К сіль давала пурпурове забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

25	Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	753nm
	Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	212000
	Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	767nm

Приклад 15

Таким само чином, як це описано в прикладі 1, отримували сполуку (3) К сіль. Отримана сполука (3) К сіль давала пурпурове забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

30	Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	751nm
	Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	241000
35	Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	767nm

Приклад 16

Сполуку (6) К сіль (50 мг) розчиняли в невеликій кількості води і пропускали крізь йоннообмінну смолу для того, щоб перетворити калій, який міститься в сполуці (6) К сіль, на протон. До утвореного продукту додавали метанол, насичений ацетатом натрію, для осадження кристалів. Цю процедуру повторювали двічі. Утворені кристали збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 32мг сполуки (6). Отримана сполука (6) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

Інфрачервоний спектр поглинання отриманої сполуки (6) вимірювали методом таблетки броміду калію з використанням інфрачервоного спектрометра з Фур'є-перетворенням (типу VALOR-111, виробник фірма JASCO). Були виявлені наведені нижче піки. Спектр показано на фіг. 13.

IK (ν_{max}(KBr)): 1395, 1372, 1188, 1102, 1020 см⁻¹.

Приклад 17: Синтез сполуки (54)

До гетероциклічної четвертинної солі сполуки Q4 (3,5г) додавали метанол (20мл), триетиламін (3,5мл) і оцтовий ангідрид (2мл) і порціями при перемішуванні додавали діанільне похідне А1 (1,4г). Суміш перемішували ще протягом 20хв. Додавали оцтовий ангідрид (1мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5год. Нерозчинений продукт відфільтровували і до фільтрату додавали розчин ацетату натрію (4г) в невеликій кількості метанолу. Утворені кристали збирали фільтрацією і промивали невеликою кількістю метанолу. Кристали розчиняли в невеликій кількості води. Потім розчин розбавляли метанолом (10мл) і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Кристали, які утворилися, збирали фільтрацією, промивали невеликою кількістю метанолу і сушили, отримуючи 1,5г сполуки (54). Отримана сполука (54) давала жовте забарвлення в аналізі на забарвлення полум'я.

50	Максимальна довжина хвилі поглинання (H ₂ O):	743nm
	Молярний коефіцієнт поглинання (H ₂ O):	244000
60	Максимальна довжина хвилі випускання флуоресценції (H ₂ O):	766nm

Інфрачервоний спектр поглинання отриманої сполуки (54) вимірювали методом таблетки броміду калію з використанням інфрачервоного спектрометра з Фур'є-перетворенням (типу VALOR-111, виробник фірма JASCO). Були виявлені наведені нижче піки. Спектр показано на фіг. 14.

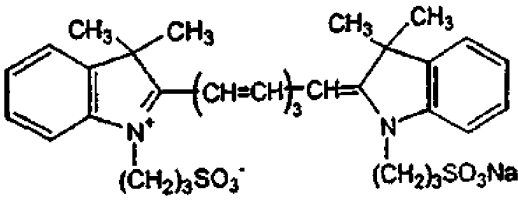
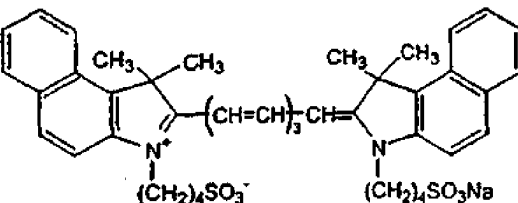
IK (ν_{max}(KBr)): 1511, 1421, 1099, 1004, 926 см⁻¹.

Експериментальний приклад 1

Для сполуки (29), сполуки (43), сполуки (45), сполуки (31), сполуки (3) К сіль, сполуки (11) [яка надходить у продаж від фірми Nippon Kankoh-Shikisp Kenkyusho CO., LTD. під назвою NK-3261], сполуки (6) К сіль, сполуки (2) К сіль, сполуки (4) К сіль, сполуки (34) і сполуки (54) визначали коефіцієнт розподілу ($\log P_o/w$) в системі н-бутанол/вода.

Як контрольну сполуку використали NK-1967 [фірма Nippon Kankoh-Shikisp Kenkyusho CO., LTD.] та ICG (Токуо Kasei Кодоу), що мають в молекулі тільки 2 групи сульфонові кислоти. Результати наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

Сполука	Кількість груп сульфонові кислоти	$\log P_o/w$ (бутанол/вода)
сполука (29)	6	-2,00 або менше
сполука (43)	5	-2,00 або менше
сполука (45)	5	-2,00 або менше
сполука (31)	4	-2,00 або менше
сполука (3) К сіль	4	-2,00 або менше
сполука (11) (NK-3261)	4	-2,00 або менше
сполука (6) К сіль	4	-2,00 або менше
сполука (2) К сіль	4	-2,00 або менше
сполука (4) К сіль	4	-1,51
сполука (34)	4	-1,49
сполука (54)	4	-2,00 або менше
NK-1967 	2	0,34
ICG 	2	1,41

Експериментальний приклад 2: Флуоресцентна візуалізація - тест (1)

Шматочки пухлинної тканини карциноми ободової кишки миші (лінія карциноми ободової кишки 26) підшкірно імплантували в ліву частину грудей безтимиусним мишам лінії BALB/з (вік 5 тижнів, [фірма Clea Japan, Inc.]). Через десять днів, коли діаметр пухлини сягав приблизно 8мм, проводили тест на мишах.

Як джерело світла, що збуджує флуоресценцію, використали титаново-сапфіровий лазер. Тестованих мишей рівномірно опромінювали світлом від лазера з використанням світловоду кільцевого типу [фірма Sumita Optical Glass Co.], при цьому дисперсія опромінення була менше за 10%. Вихідну потужність опромінення регулювали таким чином, щоб вона становила приблизно 40мкВт/см² найближчої ділянки поверхні шкіри мишей.

Флуоресценцію збуджували при максимальній довжині збудження кожної сполуки, а випускання флуоресценції з організму миші виявляли і фотографували крізь фільтр з частотою зрізу, який дає змогу відсікати короткі хвилі [типу IR84, IR86, IR88, фірма Fuji Photo Film CO., LTD.], за допомогою CCD-телекамери [типу С4880, фірма Hamamatsu Photonic K.K.]. Частоту зрізу фільтра вибирали таким чином, щоб вона відповідала довжині хвилі збудження сполуки. Час експозиції регулювали залежно від інтенсивності флуоресценції кожної сполуки.

Тестованими сполуками були сполука (29), сполука (31) і сполука (6) К сіль за даним винаходом, а контрольними сполуками - сполуки NK-1967 і ICG, які мають в молекулі тільки 2 групи сульфонові кислоти. Кожну тестовану сполуку (0,5мг/мл) розчиняли в дистильованій воді і вводили мишам крізь хвостову вену. Доза становила 5,0мг/кг для сполуки (31), сполуки (6) К сіль, NK-1967 та ICG і 0,5мг/кг для сполуки (29). Через 24год після введення сполук мишей анестезували діетиловим ефіром і фотографували флуоресцентні світлові зображення всього тіла мишей. Результати наведено на фіг. 1-5.

Сполука (29), яка має бензотрикарбоціанінову структуру і шість груп сульфонові кислоти, а також сполука (6) К сіль і сполука 31, які обидві мали трикарбоціанінову структуру і чотири групи сульфонові кислоти, давали виражено більш чіткі зображення пухлини в порівнянні з контрольними сполуками (NK-1967, яка має бензотрикарбо-ціанінову структуру, та ICG, яка має трикарбоціанінову структуру), що несуть дві групи сульфонові кислоти. Зокрема, сполука (29) давала змогу отримувати чітке зображення пухлини навіть при введенні в низькій дозі і виявилась дуже ефективною.

Експериментальний приклад 3: Флуоресцентна візуалізація - тест (2)

У тесті використали безтимусних мишей. Сполуку (29) за даним винаходом і контрольну сполуку ICG вводили шляхом внутрішньовенної ін'єкції у хвостову вену в дозі 5,0мг/кг кожної сполуки при постійній анестезії шляхом інгаляції севофлурану. У цей момент починали фотографування флуоресцентного зображення через певні інтервали часу. Для фотографування флуоресцентних зображень об'єкт піддавали опроміненню збуджувальним променем лазера і здійснювали виділення флуоресценції за допомогою фільтру, при цьому час експозиції становив одну секунду. Через 20с після введення сполук виявлялося можливим отримати задовільне зображення кровоносної судини. Флуоресцентні зображення фотографували протягом 5хв після введення. На фіг. 6-9 подано флуоресцентні зображення всього тіла мишей через 20с і 5хв після введення.

Сполука ICG не давала змоги отримати контрастне зображення кровоносної судини крізь 5хв, тоді як сполука (29) дозволяла візуалізувати кровоносну судину протягом тривалішого часу в порівнянні з ICG.

Експериментальний приклад 4: Здатність зберігатися в кровоносній судині

Таким само чином, як це описано в експериментальному прикладі 2, шматочки пухлинної тканини імплантували мишам лінії SDFj (самиці, вік 5 тижнів, фірма Japan SLC, Inc.) і приблизно через 2 тижні, коли діаметр пухлини сягав приблизно 1см, мишей піддавали тестуванню.

Тестовані сполуки являли собою сполуку (29) К сіль і сполуку (41) К сіль, які мали бензотрикарбоціанінову структуру і 6 груп сульфонові кислоти; сполуку (6) К сіль, сполуку (4) К сіль, сполуку (45) К сіль, сполуку (31), сполуку (31) К сіль, сполуку (3) К сіль, сполуку (2) К сіль, сполуку (43) К сіль і сполуку (11), які мали трикарбоціанінову структуру і 4-5 груп сульфонові кислоти; і контрольні сполуки ICG і NK-1967. Кожну тестовану сполуку перед застосуванням розчиняли в дистильованій воді (0,5мг/мл). Приготовані розчини кожної сполуки вводили мишам у хвостову вену (5,0мг/кг). У мишей брали зразки крові через 0,5, 1, 4 і 24год після введення сполуки і піддавали центрифугуванню, отримуючи плазму.

Інтенсивність флуоресценції в плазмі вимірювали спектрофлуорометром [типу RF 5300 PC, фірма SHIMADZU CORPORATION]. Для кожної сполуки креслили калібрувальну криву і обчислювали концентрацію сполуки в плазмі. Результати наведено на фіг. 10.

Сполуки за даним винаходом зберігаються в плазмі у високій концентрації протягом тривалого періоду часу.

Експериментальний приклад 5: Гостра токсичність

Вивчали зменшення токсичності, зумовлене введенням групи сульфонові кислоти і її зменшення при перетворенні сполуки на натрієву сіль.

Тестовані сполуки перелічено в таблиці 5.

Кожну тестовану сполуку розчиняли в дистильованій воді, отримуючи розчин сполуки. Цей розчин вводили шляхом внутрішньовенної ін'єкції притомним мишам у хвостову вену. Мишей спостерігали протягом 3 днів після введення і оцінювали гостру токсичність [LD₅₀ (мг/кг ваги тіла)]. Результати наведено в таблиці 5.

Таблиця 5

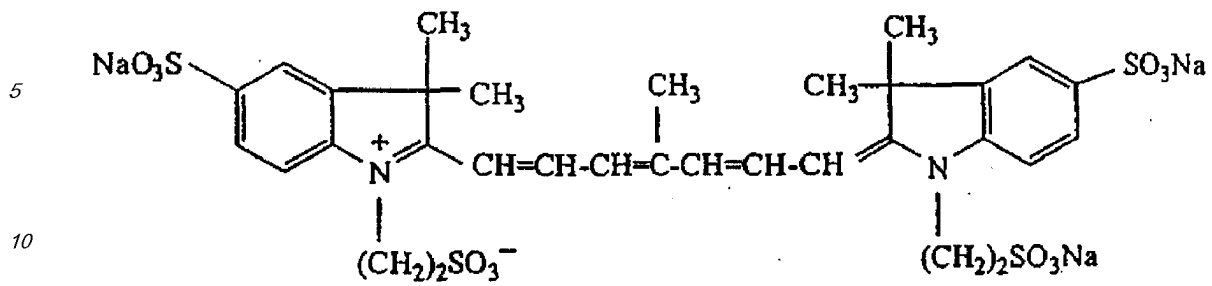
Кількість груп сульфонової кислоти	Сполука	LD ₅₀ (мг/кг ваги тіла)
Три або більше	сполука (11) К сіль	350
	сполука (11)	1980
	сполука (31) К сіль	350
	сполука (31)	>3550
	сполука (31) Са сіль	200
	сполука (31) піридинієва сіль	1000-2000
	сполука (45) К сіль	550
	сполука (45)	110-1220
	сполука (43) К сіль	300-350
	сполука (43)	1630
	сполука (41) К сіль	470
	сполука (41)	>1010
	сполука (29) К сіль	470
	сполука (29)	>1010
	сполука (54)	>5000
	сполука (6) К сіль	350
	сполука (3) К сіль	5300
	сполука (4) К сіль	450
	сполука (2) К сіль	610
	Дві або менше	ICG
NK 1967		20

Збільшення кількості груп сульфонової кислоти в молекулі або перетворення сполуки на натрієву сіль приводило до сильного зменшення гострої токсичності.

Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектру за даним винаходом збуджується збуджувальним світлом і випускає флуоресценцію в ближній інфрачервоній ділянці спектру. Ця інфрачервона флуоресценція добре проходить крізь біологічні тканини. Унаслідок цього уможлиблюється виявлення пошкоджень у глибоко розміщених ділянках живого організму. Крім того, контрастний агент за винаходом має хорошу розчинність у воді і малотоксичний, отже, і безпечний для застосування.

Формула винаходу

1. Натрієва сіль формули



2. Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектра, який містить натрієву сіль за пунктом 1.

3. Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектра за пунктом 2, призначений для візуалізації пухлини.

4. Флуоресцентний контрастний агент для ближньої інфрачервоної ділянки спектра за пунктом 2, призначений для ангіографії.

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

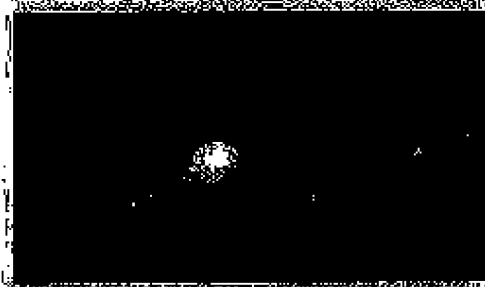


Fig. 5

U A 7 5 3 6 0 C 2

U A 7 5 3 6 0 C 2

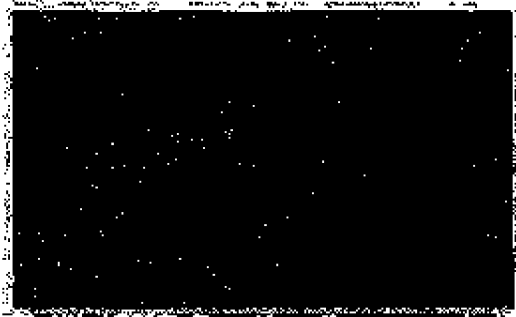


Fig. 6

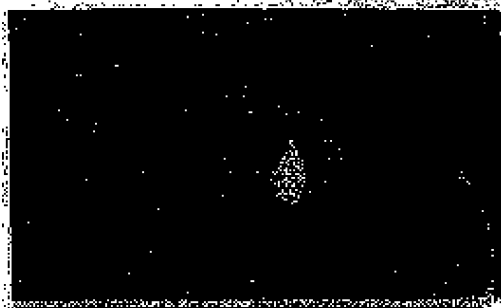


Fig. 7



Fig. 8

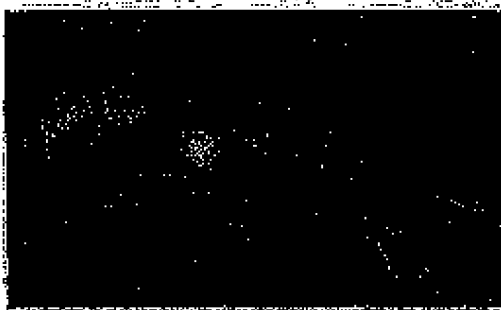
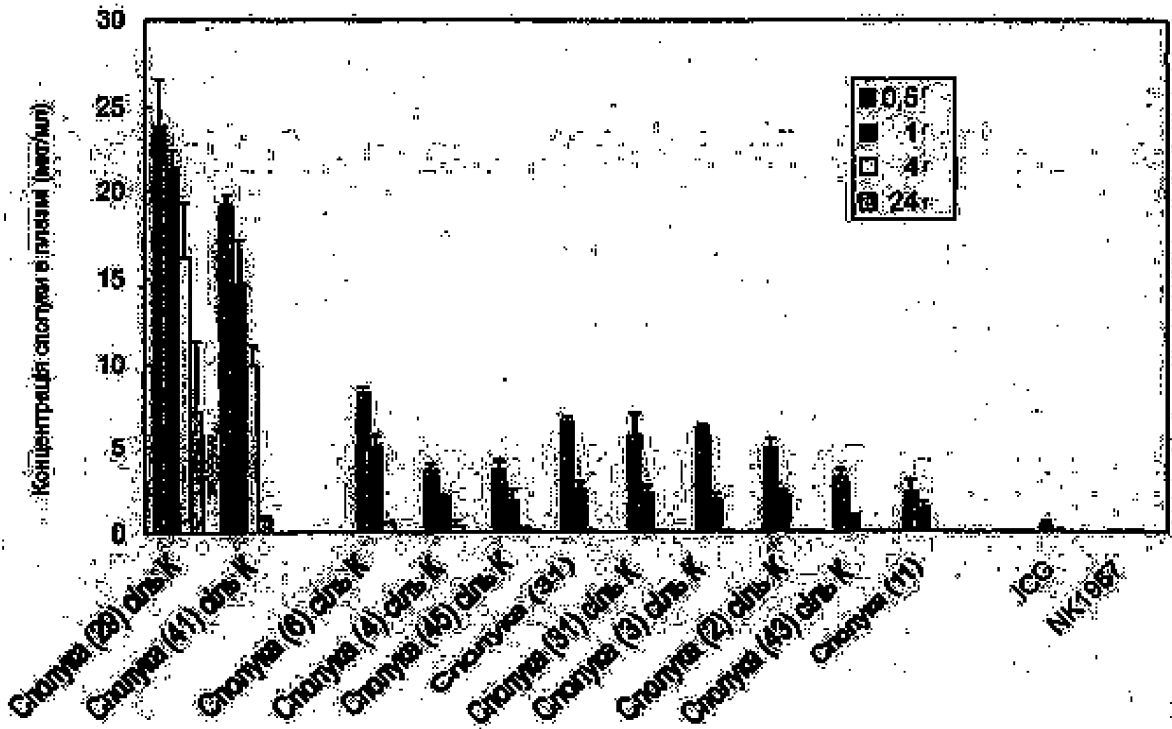
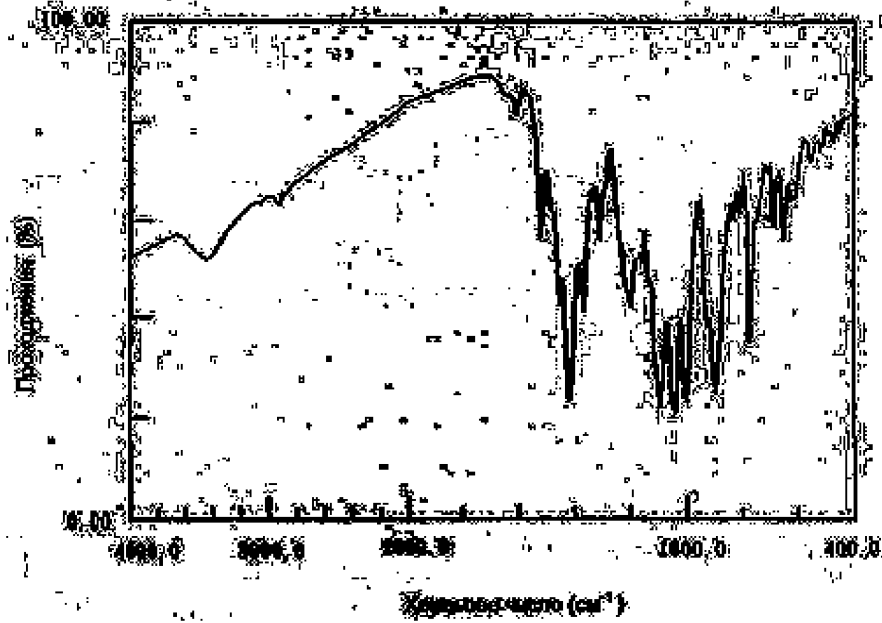


Fig. 9

U A 7 5 3 6 0 C 2

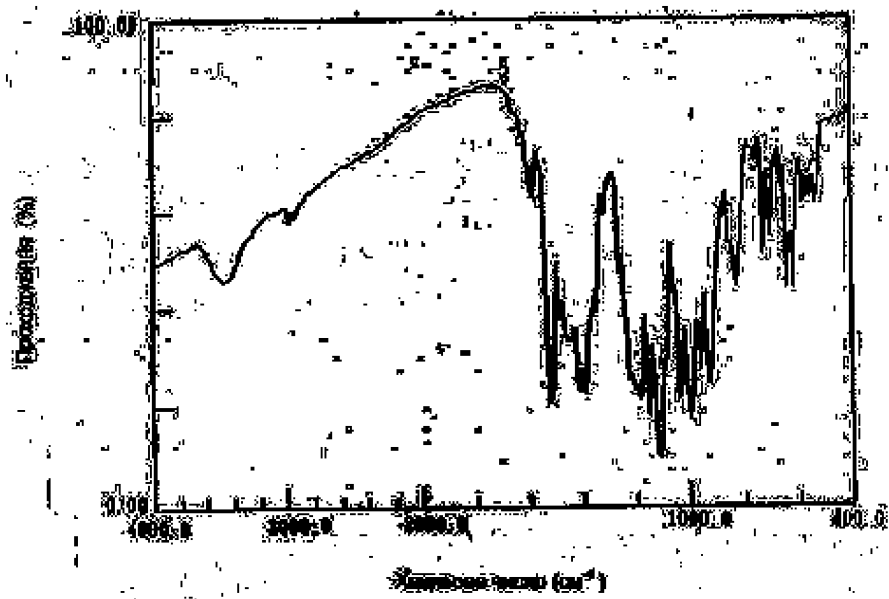


Фиг. 10

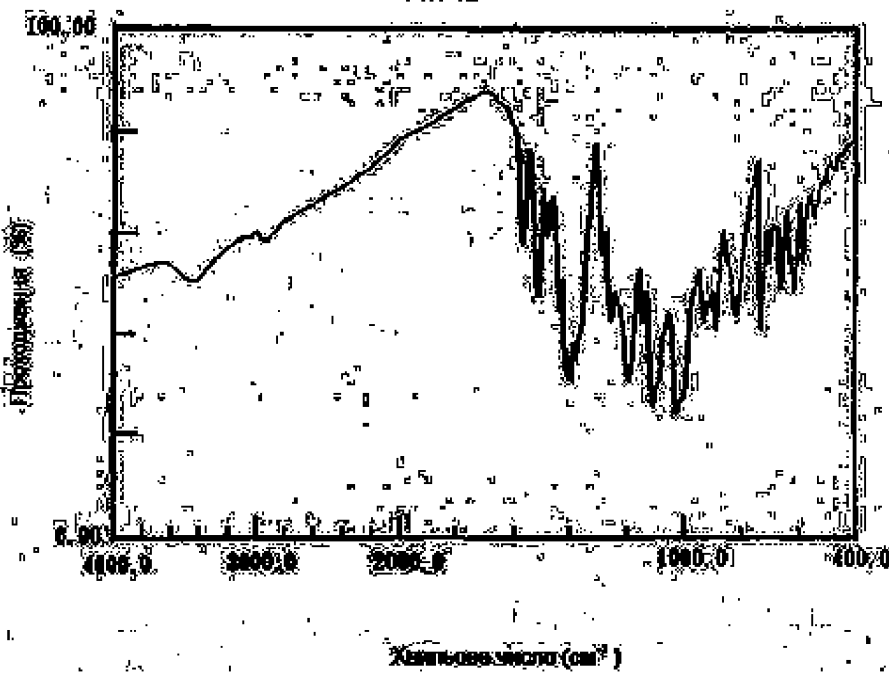


Фиг. 11

UA 75360 C2



Фиг. 12



Фиг. 13

UA 75360 C2

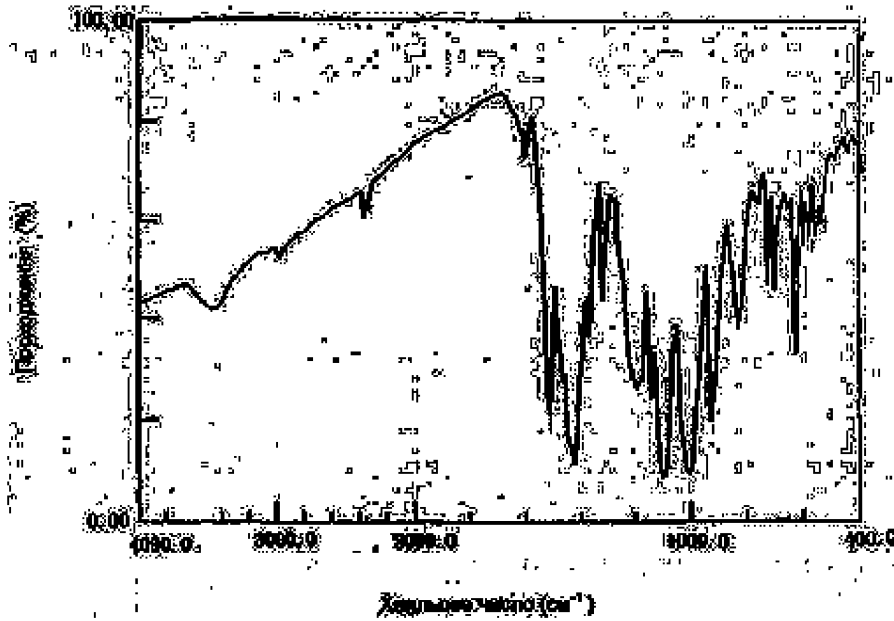


Fig. 14

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2006, N 4, 15.04.2006. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

UA 75360 C2

UA 75360 C2