



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 220 722** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) МПК<sup>7</sup> **A 61 K 31/409, 49/00, C 09 B**  
**47/04, A 61 P 35/00**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21), (22) Заявка: **2002122413/15, 21.08.2002**

(24) Дата начала действия патента: **21.08.2002**

(46) Опубликовано: **10.01.2004**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 4530924 A, 09.03.1982. RU 2054476 C1, 20.02.1996. СУХИН Г.М. и др. Результаты биологических испытаний нового типа фотосенсибилизатора на основе хлорина при диагностике и терапии злокачественных новообразований. Международные медицинские обзоры. - 1996, т. 4, № 5.**

Адрес для переписки:

**101999, Москва, ГСП-9, ул. Б. Садовая, 1,  
к.4, ФГУП "ГНЦ "НИОПИК"**

(72) Автор(ы):

**Ворожцов Г.Н.,  
Дмитриева Н.Д.,  
Зелихина В.А.,  
Кузьмин С.Г.,  
Лужков Ю.М.,  
Лукьянец Е.А.,  
Михаленко С.А.,  
Сенников В.А.,  
Соловьева Л.И.,  
Якунина Т.А.**

(73) Патентообладатель(ли):

**Федеральное государственное унитарное  
предприятие "Государственный научный центр  
"Научно-производственный институт  
органических полупродуктов и красителей"**

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ  
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине для фотодинамической терапии злокачественных опухолей. Проводят сульфохлорирование фталоцианина хлоралюминия хлорсульфоновой кислотой при их весовом соотношении 1:10 и температуре 115-118°C. Очистку полученных сульфокислот осуществляют кипячением в разбавленной соляной кислоте и затем в изопропиловом спирте. Проводят перевод

очищенных сульфокислот в натриевые соли, обработку их растворов активированным углем, стерилизацию микрофильтрацией. Упаривают с последующим высушиванием при 108-110°C в стерильных условиях. Этот способ позволяет получить фотосенсибилизатор, представляющий собой смесь натриевых солей ди-, три- и тетрасульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия, обладающий стерильностью и апиrogenностью.



RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 220 722** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **A 61 K 31/409, 49/00, C 09 B**  
**47/04, A 61 P 35/00**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2002122413/15, 21.08.2002**

(24) Effective date for property rights: **21.08.2002**

(46) Date of publication: **10.01.2004**

Mail address:

**101999, Moskva, GSP-9, ul. B. Sadovaja, 1,  
k.4, FGUP "GNTs "NIOPIK"**

(72) Inventor(s):

**Vorozhtsov G.N.,  
Dmitrieva N.D.,  
Zelikhina V.A.,  
Kuz'min S.G.,  
Luzhkov Ju.M.,  
Luk'janets E.A.,  
Mikhaleiko S.A.,  
Sennikov V.A.,  
Solov'eva L.I.,  
Jakunina T.A.**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe  
predpriyatje "Gosudarstvennyj nauchnyj  
tsentr "Nauchno-proizvodstvennyj institut  
organicheskikh poluproduktov i krasitelej"**

(54) **METHOD OF PREPARING SUBSTANCE OF LIGHT SENSITIZER FOR PHOTODYNAMIC THERAPY**

(57) Abstract:

FIELD: oncology. SUBSTANCE: phthalocyanine aluminum chloride is subjected to sulfochlorination with chlorosulfonic acid at their weight ratio 1:10 and temperature 115-118 C. Purification of thus obtained sulfonic acids is accomplished by boiling in dilute hydrochloric acid and then in isopropyl alcohol. Purified

sulfonic acids are converted into sodium salts and their solutions are treated with activated carbon and sterilized by microfiltering. Finally solutions are dried at 108-110 C under sterile conditions. EFFECT: enabled preparation of light sensitizer characterizing by sterility and anti-inflammatory property. 2 ex

RU 2 2 2 0 7 2 2 C 1

RU 2 2 2 0 7 2 2 C 1

Настоящее изобретение относится к химии и химической технологии, а более конкретно к синтезу сульфозамещенных фталоцианинов алюминия. Сульфозамещенные фталоцианины находят в последнее время применение в медицине в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных опухолей и других патологических новообразований.

Метод ФДТ основан на использовании веществ-фотосенсибилизаторов, которые при введении в организм локализуются преимущественно в опухоли, а при световом, в частности лазерном, возбуждении продуцируют цитотоксические вещества, прежде всего синглетный кислород. В настоящее время в клинической практике применяются фотосенсибилизаторы на основе сложных смесей производных гематопорфирина, например Fotofrin-2, хлорина (дигидропорфирина), например водорастворимый моно-L-аспартилхлорин е<sub>6</sub> (препараты NРeб, MACE), синтетический хлорин - 5,10,15,20-тетракис(м-гидроксифенил)хлорин (препараты темопорфин, m-THPC, фоскан), производные бензопорфирина, являющиеся синтетическими аналогами хлорина, например бензопорфирин моноокислота, а также лютециевый комплекс тексафирина (R. Bonnett, Chem. Soc. Rev., 24(1), 19-33 (1995)).

Синтетические структурные аналоги порфиринов - фталоцианины - имеют несомненные преимущества как фотосенсибилизирующие средства для ФДТ по сравнению с клинически используемыми порфиринами - они сравнительно дешевы, устойчивы в растворах, имеют интенсивную полосу поглощения в красной области спектра, где прозрачность биологических тканей выше, и т.д. Из водорастворимых фталоцианинов наиболее изучены в качестве препаратов для ФДТ их сульфопроизводные, особенно хлоралюминиевый и цинковый комплексы. Их эффективность и механизм действия зависят от степени сульфирования, причем фотосенсибилизирующим эффектом обладает почти исключительно их мономерная форма. Различия в эффективности сульфопроизводных различной степени замещения обусловлены различной их локализацией на суборганельном уровне. В отличие от тетрасульфозамещенного фталоцианина алюминия (AlPcS<sub>4</sub>), локализуемого, по-видимому, лишь в сосудах и строме опухоли, его дисульфозамещенный аналог (AlPcS<sub>2</sub>) локализуется в интерстициальных и неопластических клетках опухоли. Имеются сообщения (R. Edrei, V. Gottfried, J.E. Van Lier, S. Kimel. J. Porphyrins Phthalocyanines, 2, 191 (1998)), что оптимальными для ФДТ спектральными свойствами в растворах и способностью к накоплению в клетке в мономерной форме обладают образцы AlPcS<sub>n</sub>, состоящие из различных изомеров положения или компонентов с различной степенью замещения. Таким образом, смешанные образцы могут оказаться более эффективными сенсибилизаторами, чем индивидуальные соединения или их чистые изомеры.

На основе сульфозамещенного фталоцианина алюминия создан препарат Фотосенс, который проходит сейчас клинические испытания в ведущих московских медицинских учреждениях. Он представляет собой смесь натриевых солей ди-, три- и тетрасульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия (в мольном соотношении): дисульфозамещенные изомеры - 20±5%, трисульфозамещенные изомеры - 60±10%, тетрасульфозамещенные изомеры - до 100%, поглощающий в красном диапазоне спектра с максимумом при 675 нм и молярным коэффициентом поглощения ε свыше 10<sup>5</sup>. Результаты клинических испытаний показали довольно высокую терапевтическую эффективность Фотосенса по отношению к различным типам и локализациям опухолей.

Для получения сульфозамещенных фталоцианинов алюминия обычно используют реакцию сульфирования фталоцианина алюминия олеумом либо взаимодействие 4-сульфопфталево́й кислоты (либо смесей со стехиометрическими количествами производных о-фталево́й кислоты - ангидрида, имида) с солями алюминия в присутствии мочевины. В этих условиях образуются либо исключительно 4-изомеры положения сульфогрупп, либо предпочтительно: известно, что при сульфировании олеумом сульфогруппа входит в основном в положение 4 (R.P. Linstead, F.T. Weiss. J. Chem. Soc. , 1950, 2975-2981; В.Е. Майзлиш, В.Ф. Бородкин. Изв. ВУЗов, 1980, 23(3), 293-295).

Известен также способ получения сульфозамещенных фталоцианинов ряда металлов сульфохлорированием соответствующих незамещенных фталоцианинов хлорсульфонозой кислотой с последующим гидролизом образующихся сульфохлоридов. Так, при сульфохлорировании фталоцианина меди избытком хлорсульфонозой кислоты при 135-140°C образуется преимущественно продукт тетразамещения - тетрасульфохлорид (англ. пат. 1118785 (1968), С. А., 69, 87975 (1968)), гидролизом которого получена соответствующая, как указывают авторы (J. Kraska, W. Czajkowski. Roczn. Chem., 50, 845-856 (1976)), тетра-3-сульфо кислота. Имеется также ряд других патентов, в которых описано сульфохлорирование фталоцианинов меди (а также кобальта) избытком хлорсульфонозой кислоты в температурном режиме от 135 до 150°C с образованием либо тетразамещенных продуктов, либо их смеси с продуктами тризамещения (англ. пат. 515637 (1939), С.А., 35, 5911<sup>9</sup> (1941); англ. пат. 749349 (1956), С.А., 50, 16123g (1941); англ. пат. 805562 (1958); пат. США 2288478 (1942); пат. США 3954392 (1976); франц. пат. 838935 (1939), С.А., 33, 6879<sup>4</sup> (1939)). Специальное исследование состава продуктов сульфохлорирования фталоцианинов хлорсульфонозой кислотой показало, что замещение протекает преимущественно в положение 3, давая сложные смеси изомеров положения с заместителями в положениях 3 и 4 (Е.Н. Федорова, Ф.П. Снегирева, В.Ф. Бородин, М.И. Альянов. Труды Ивановского ХТИ, 1976, вып. 20, 70-73).

Имеется также патент (пат. США 4530924 (1985), прототип), в котором описано сульфохлорирование фталоцианина алюминия хлорсульфонозой кислотой при 135-140°C с последующим превращением образующегося сульфохлорида в другие производные фталоцианина алюминия, в частности гидролизом в соответствующую тетрасульфо кислоту. Однако использование этого метода дает сульфозамещенный фталоцианин алюминия более глубокой, чем требуется степени сульфирования, не обладающий стерильностью и алирогенностью, и поэтому непригодный для целей ФДТ.

Задачей предлагаемого изобретения была разработка способа получения субстанции фотосенсибилизатора для ФДТ, представляющей собой смесь натриевых солей ди-, три- и тетрасульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия состава (в мольном соотношении): дисульфозамещенные изомеры - 20±5%, трисульфозамещенные изомеры - 60±10%, тетрасульфозамещенные изомеры - до 100%, обладающей стерильностью и апирогенностью.

Для решения поставленной задачи предлагается использовать реакцию сульфохлорирования фталоцианина хлоралюминия хлорсульфонозой кислотой нагреванием их смеси в весовом соотношении 1:10 при 115-118°C. Образующуюся смесь сульфохлоридов гидролизуют в соответствующие сульфокислоты фталоцианина оксиалюминия, их очистку осуществляют кипячением в разбавленной соляной кислоте и затем в изопропиловом спирте с последующим переводом в натриевые соли, растворы которых обрабатывают активированным углем, затем стерилизуют микрофильтрацией и упаривают с последующим высушиванием продукта при 108-110° в стерильных условиях. Для анализа состава сульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия, полученных методом сульфохлорирования фталоцианина хлоралюминия хлорсульфонозой кислотой, а именно определения степени сульфирования и положения сульфогрупп, нами использован метод ион-парной хроматографии продуктов их окислительной деструкции - соответствующих фталево кислот: самой фталево и изомерных 3- и 4-сульффталево кислот. Анализ показал, что количество образующейся 3-сульффталево кислоты превышает количество 4-изомера примерно в 2,5 раза. Таким образом, полученный нами сульфозамещенный фталоцианин оксиалюминия представляет собой смесь продуктов различной степени сульфирования, причем заселенность заместителей в стерически затрудненных - соседних к макрокольцу - положениях бензольных колец (положения 3 и 6) существенно (примерно в 2,5 раза) превышает таковую в удаленных от макрокольца положениях (положения 4 и 5). Благодаря такому строению эти соединения обладают повышенной растворимостью в водных растворах и, что особенно важно, при составе

дисульфозамещенные изомеры -  $20\pm 5\%$ , трисульфозамещенные изомеры -  $60\pm 10\%$ , тетрасульфозамещенные изомеры - до 100% образуют истинные водные растворы, не проявляющие склонности к агрегации в широких пределах концентраций. Последнее важно для практических применений в качестве сред для флуоресцентной диагностики и ФДТ - агрегированные растворы не флуоресцируют и не обнаруживают фотодинамического эффекта, при облучении в присутствии кислорода они не образуют синглетного кислорода (R. Edrei, V. Gottfried, J.E. Van Lier, S. Kimel, J. Porphyrins Phthalocyanines, 2, 191 (1998)).

Пример 1.

Технологический процесс получения субстанции препарата "Фотосенс".

1. Сульфохлорирование фталоцианина хлоралюминия.

В реактор загружают 10,0 кг хлорсульфоновой кислоты, нагревают до  $100^{\circ}\text{C}$ . Затем загружают 1,0 кг фталоцианина хлоралюминия. Далее процесс ведут в токе азота. Массу нагревают до  $118^{\circ}\text{C}$  и перемешивают при этой температуре в течение 5 часов. По окончании выдержки массу охлаждают до  $20-25^{\circ}\text{C}$  и выливают на холодную ( $-2-0^{\circ}\text{C}$ ) воду. Полученную суспензию сульфохлорида фталоцианина хлоралюминия фильтруют. Получают 8,5 кг пасты сульфохлорида. Выход по стадии 95%.

2. Гидролиз сульфохлорида  $\text{PcA1}$ .

В реактор загружают 10 л воды, 8,5 кг пасты сульфохлорида и добавляют 10%-ный раствор  $\text{NaOH}$  до pH 8,5-9,0 (26,8 кг). Суспензию нагревают до  $50-60^{\circ}\text{C}$  и перемешивают при этой температуре 1 час, следя за тем, чтобы pH реакционной массы находился в пределах 8,5-9,0. Раствор препарата из реактора подвергают фильтрованию, получают 50 л раствора натриевой соли сульфокислоты фталоцианина оксиалюминия с массовой долей основного вещества 3%. Выход по стадии 98%.

3. Очистка и сушка сульфокислоты  $\text{PcA1}$ .

Раствор препарата загружают в 4 стеклянных аппарата примерно поровну, затем туда же загружают по  $\approx 60$  л 10%-ного раствора  $\text{HCl}$ . Суспензию перемешивают 30 минут и выдерживают без размешивания не менее 10 часов. Верхний осветленный слой декантируют с помощью вакуума. Промывку 10%-ным раствором  $\text{HCl}$  с декантацией повторяют до отсутствия в фильтрате сульфат-ионов. Суспензию сульфокислоты после декантации отжимают на отбойной центрифуге. Пасту сушат в вакууме при  $105-110^{\circ}\text{C}$  до содержания влаги не более 5%, получают около 1,3 кг сульфокислоты. Выход по стадии 98%.

4. Очистка сульфокислоты.

В аппарат загружают 80 кг 5%-ного раствора  $\text{HCl}$  и 1,3 кг высушенной сульфокислоты. Суспензию нагревают до  $50-60^{\circ}\text{C}$ , перемешивают при этой температуре и фильтруют. Осадок сульфокислоты на фильтре промывают 45 л 5%-ного раствора  $\text{HCl}$ , нагретого до  $50-60^{\circ}\text{C}$ , и отжимают вакуумом. Сульфокислоту высушивают в вакууме, получают 1,1 кг продукта. Выход по стадии 83%.

Далее в реактор загружают 10,0 л изопропилового спирта и 1,1 кг сульфокислоты с предыдущей стадии очистки. Суспензию нагревают до  $80-85^{\circ}\text{C}$  (кипение) и перемешивают при этой температуре. Затем суспензию фильтруют и промывают горячим изопропиловым спиртом. Осадок на фильтре отжимают азотом, отжатую сульфокислоту  $\text{PcA1}$  высушивают в вакууме. Получают 1,0 кг чистой сульфокислоты. Выход по стадии 98%.

5. Получение  $\text{Na}$  соли сульфокислоты фталоцианина оксиалюминия. В емкость загружают 4,2 л свежеприготовленной деионизованной воды и 0,09 кг сульфокислоты фталоцианина оксиалюминия. К полученной суспензии прибавляют при размешивании 0,1 л 10%-ного раствора гидроксида натрия до pH 7,30-7,40. Полученный раствор выдерживают в течение не менее 12 часов и подвергают осветлительному фильтрованию через стекловолокно ( $\approx 1$  мкм), затем фильтруют через мембрану 0,45 мкм. Полученный раствор передают на финишные стадии получения субстанции препарата "Фотосенс".

Дальнейшую обработку препарата проводят в асептических условиях.

В емкость загружают 4,2 л раствора  $\text{Na}$  соли сульфокислоты фталоцианина

оксиалюминия и 0,09 кг активного угля. Массу перемешивают в течение 20-30 минут при комнатной температуре, затем фильтруют через стекловолокно ( $\approx 1$  мкм).

Отфильтрованный раствор передают на стерилизующее фильтрование на мембране 0,2 мкм и затем на распылительную сушилку. Высушенный продукт собирают в

5 подготовленную стерильную приемную емкость. По окончании сушки приемную емкость с продуктом переносят в термосушильный шкаф и досушивают при 108-110°C. По окончании емкость с готовой субстанцией охлаждают до комнатной температуры. Получают 77 г субстанции препарата "Фотосенс". Выход по стадии 91%. Выход готовой субстанции, считая на исходный фталоцианин хлоралюминия 67,5%. Анализ полученной субстанции

10 показывает ее соответствие требуемому составу. Испытания на стерильность и пирогенность по стандартным методикам ГФ показали их стерильность и апиrogenность.

Пример 2.

Как в примере 1, однако сульфохлорирование фталоцианина хлоралюминия ведут при температуре 115°C в течение 9 часов. Анализ полученной субстанции показывает ее

15 соответствие требуемому составу. Испытания на стерильность и пирогенность по стандартным методикам ГФ показали их стерильность и апиrogenность.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет получать смесь натриевых солей ди-, три- и тетрасульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия определенного состава: дисульфозамещенные изомеры -  $20 \pm 5\%$ : (в мольном соотношении), трисульфозамещенные

20 изомеры -  $60 \pm 10\%$ , тетрасульфозамещенные изомеры - до 100%, обладающую стерильностью и апиrogenностью, пригодную для использования в качестве субстанции фотосенсибилизатора для ФДТ.

#### Формула изобретения

25 Способ получения субстанции фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии, представляющей собой смесь натриевых солей ди-, три- и тетрасульфозамещенных фталоцианинов оксиалюминия, сульфохлорированием незамещенного фталоцианина алюминия хлорсульфоновой кислотой с последующим гидролизом образующихся

30 сульфохлоридов, отличающийся тем, что сульфохлорирование фталоцианина хлоралюминия хлорсульфоновой кислотой проводят нагреванием их смеси в весовом соотношении 1:10 при 115-118°C, очистку сульфокислот осуществляют кипячением в разбавленной соляной кислоте и затем в изопропиловом спирте с последующим переводом

35 в натриевые соли, растворы которых обрабатывают активированным углем, затем стерилизуют микрофильтрацией и упаривают с последующим высушиванием при 108 - 110 °C в стерильных условиях.

40

45

50