

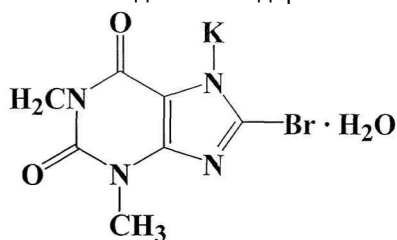
Корисна модель належить до галузі медицини, конкретно до речовин з протипухлинною та протиметастазною дією, що можуть використовуватись для лікування пухлинної та метастазної хвороб людини.

На сьогодні в лікувальній практиці використовується препарат Теофілін [1], який має слабку протипухлинну дію.

За прототип прийнято Теофілін, який гальмує ріст лімфосаркоми Пліса в дозі 1/3 ЛД₅₀ (підшкірно, щури) на 34,3 %. При цьому ЛД₅₀ Теофіліну при одноразовому введенні (підшкірно, щури) складає 355мг/кг.

Відомо, що Теофілін гальмує ріст пухлин нижче прийнятого критерію значущості: лімфосаркома Пліса - 34,3%; саркома 180 - 39,9% [2]. Калієва сіль 8-бромтеофіліну гальмує ріст пухлин на рівні потенційних протипухлинних засобів: лімфосаркома Пліса - 92,3%; карцинома Л'юїса - 67,3%; меланома В 16-76,4%, карцинома 755 - 62,5%; карциносаркома Уокера - 71,1%; саркома 45-81,5%; саркома М-1- 89,6%; карцинома РС - 77,7%; карцинома РА - 86,4%; лейкемія С 388 - +31,0% збільшення тривалості життя. Як відомо, препарати з протипухлинною дією характеризуються високою токсичністю. Для калієвої солі ЛД₅₀ 8-бромтеофіліну (підшкірно, щури) складає 564мг/кг. Об'єкт, який підлягає удосконаленню - Теофілін. Характер удосконалень - це зниження токсичності і підвищення протипухлинного ефекту до рівня та вище прийнятого критерію значущості (> 50,0% гальмування росту пухлин). В основу корисної моделі що заявляється поставлено задачу: дослідження похідного Теофіліну з замісником у вигляді Br у 8-положенні пуринового ядра, його калієву сіль, що забезпечує низьку токсичність та високий протипухлинний ефект на рівні чи вище прийнятого критерію значущості гальмування росту пухлин і утворення метастазів.

Поставлена задача вирішується тим, що в піримідинове ядро диметилксантину Теофіліну вводиться Br у 8-положення з подальшим одержанням калієвої солі 8-бромтеофіліну.



Калієва сіль 8-бромтеофіліну (бротеофін)

Калієва сіль 8-бромтеофіліну (бротеофін) синтезована в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Це кристалічна речовина білого кольору, без запаху, розчиняється у фізіологічному розчині натрію хлориду.

Приклади конкретного виконання.

Приклад 1. Синтез калієвої солі 8-бромтеофіліну. Розроблена технологія синтезу 8-бромтеофіліну та його калієвої солі.

Синтез Бротеофіліну здійснюють у дві стадії за наступною схемою: відфільтровують утворений осад, висушують при температурі 110° (-120)°C.

Перша стадія - одержання 8-бромтеофіліну.

У літрову тригорлову колбу, яка обладнана механічною мішалкою зворотним холодильником та крапельною воронкою вносять 49,6г (0,25моль) Теофіліну та 222мл 50% водного розчину оцетової кислоти або такий же об'єм оцетокислого маточнику, попередньо нейтралізованого розрахованою кількістю їдкою калію. Суміш нагрівають до 55°C-60°C і при цій температурі додають 43,32г (0,27моль) бром у протягом 15 хвилин, після чого перемішують при цій же температурі протягом години.

Реакційну суміш охолоджують, осад відфільтровують, промивають в стакані 500мл води, знову відфільтровують і висушують у сушильній шафі при 110°C-120°C протягом 8 годин.

Друга стадія - одержання калієвої солі бромтеофіліну.

У літрову тригорлову колбу, яка обладнана механічною мішалкою, зворотним холодильником та крапельною воронкою, вносять 51,81г (0,2моль) 8-бромтеофіліну і 377мл ізопропилового спирту. Суміш при перемішуванні нагрівають до 75°C-80°C і додають при цій температурі протягом 15хв. розчин калію двоуглекислого - 20,02г (0,2моль) в 203мл води. Реакційну суміш витримують протягом години при температурі 85°C-90°C і гарячим відфільтровують. Фільтрат охолоджують до 7°C-10°C відфільтровують утворений осад, висушують при температурі 110°C-120°C протягом 3-4 год. і перекристалізовують з 65% ізопропилового спирту.

Бротеофін є безбарвна кристалічна речовина з температурою плавлення 328°C-334 °C.

Розроблена ліофілізована форма бротеофіну по 0,3г у флаконах ємністю по 20мл, активність якої аналогічна такій субстанції.

Третя стадія. Одержання ліофілізованої лікарської форми.

В залежності від об'єму посуду, в якому виготовляється розчин Бротеофіну, зважують певну кількість порошку препарату. Потім із розрахунку 1,25мл на одну дозу Бротеофіну (300мг.) добавляють спирт етиловий 95° та повільно нагрівають до температури не вище 40°C при постійному перемішуванні (краще на водяній бані). Після повного розчинення порошку препарату в спирті при постійному перемішуванні швидко добавляють воду для ін'єкцій із розрахунку 18,75мл на 1 дозу препарату.

Готовий розчин передають на стерильну фільтрацію, розлив і в подальшому на заморожування. Заморожування ведуть при температурі не вище - 40°C.

Висушування проводять у звичайному режимі і закінчують при температурі 40°C±2°C і залишковому тиску не більше 0,15мл. рт.ст. (0,02кПа) протягом 3 годин.

Склад розчинника: натрію хлориду - 8,1г; спирту етилового 95° - 100мл; води для ін'єкцій - до 1л.

Приклад 2. Визначення гострої токсичності та протипухлинної дії. Результати дослідів наведені в табл.

Таблица

Сполука	ЛД ₅₀ (г/ш, щури), мг/кг	Штами експериментальних пухлин		
		Лімфосаркома* Пліса	Саркома* 180	Лейкемія** С 388
Калієва сіль 8-бром-теофіліну (Бротеофін)	564,0	92,3	67,3	+31,0
Теофілін	355,0	34,3	39,9	-70,1

*Процент гальмування пухлинного росту;

** Збільшення терміну життя

Вивчення параметрів гострої токсичності калієвої солі 8-бромтеофіліну в порівнянні з Теофіліном проведено в дослідях на білих нелінійних щурах з масою тіла (80-120г) [3]. Терміни вивчення гострої токсичності після введення досліджуваних розчинів складає 14 діб.

ЛД₅₀ калієвої солі 8-бромтеофіліну та Теофіліну при одноразовому внутрішньочеревному введенні становить відповідно 564,0мг/кг та 355,0мг/кг.

Приклад 3. Вивчення протипухлинної дії калієвої солі 8-бромтеофіліну (Бротеофін) у порівнянні з Теофіліном проведено на білих нелінійних щурах (100,0±10,0) г. Штами експериментальних пухлин одержані з банку штамів відділу онкофармакології Інституту фармакології та токсикології АМН України. Трансплантацію пухлин проведено шляхом підшкірного введення пухлинної взвісі клітин на середовищі 199 в правий бік [4, 5]. Введення досліджуваних речовин починали через 24 год. після трансплантації лімфосаркоми Пліса, карциноми Уокера, лейкемії Р 388 і через 4 доби після трансплантації саркоми 45 [7]. Лікувальний курс складається із 6 внутрішньочеревних введень через 48 год. Результати експериментів враховувались через 24 год. після закінчення курсу лікування. Критерієм оцінки був відсоток гальмування росту пухлин [6, 7].

За даними експерименту (табл.1) калієва сіль 8-бромтеофіліну (Бротеофін) значно перевищує протипухлинну дію Теофіліну. Активність Бротеофіну є високою, та відповідає такій за існуючими критеріями відомих протипухлинних засобів [8, 9].

Таким чином, Бротеофін значно перевищує протипухлинну дію Теофіліну при зниженні токсичності в 1,3 рази (ЛД₅₀ Теофіліну та Бротеофіну становить відповідно 564мг/кг та 355мг/кг).

Приклад 4. Вивчення протиметастазної дії Бротеофіну проведено на мишах лінії С57/ В1/6 на епідермоїдній карциномі легенів, яка метастазує в цей орган [10]. Пухлину трансплантавали в праве стегно в V=0,05мл · 2 · 10⁵ клітин. Визначили кількість метастазів в легенях та їх об'єм в порівнянні з контролем. В дозах 150,0мг/кг та 180,0мг/кг Бротеофін гальмував розвиток метастазів та їх об'єм на 100%.

Приклад 5. Активність Бротеофіну на пухлинах людини в підкапсульному тесті.

Гетеротрансплантати пухлин людини, одержані при оперативних втручаннях та біопсіях, транспланталися мишам лінії СВА під капсулу нирок згідно з методом Богдена та співав. [7] і подальшим введенням Бротеофіну внутрішньочеревно. Бротеофін гальмував розвиток гетеротрансплантатів молочної залози на 38,8%, раку прямої кишки на 54,0% при критерії значущості > 25,0% в порівнянні з контролем.

Приклад 6. Вивчення клінічної ефективності Бротеофіну у хворих на злоякісні пухлини головного мозку показало, що 70% хворих мали клінічний ефект, 59% пацієнтів з них були оперовані і лікувались Бротеофіном.

Приклад 7. У хворих на рак молочної залози (21 хвора) курс введень Бротеофіну призводив до стабілізації пухлинного процесу - 61,9% хворих, зменшення метастазів - 14,3%.

Таким чином, модифікація структури Теофіліну у вигляді калієвої солі 8-бромтеофіліну призвела до значного зниження токсичності та підвищення протипухлинної дії Теофіліну.

Отримані результати обґрунтовують доцільність використання в клінічній практиці Бротеофіну, як ефективного засобу для лікування хворих з пухлинною та метастатичною хворобами.

Література:

1. Цитостатическая терапия злокачественных новообразований. - ИЭПОР Украины. - К., 2000. - 293 с.
2. Гаевая Л.В. Противоопухолевая активность и механизмы действия 8-замещенных теофилина. - Дис. работа на соискание ученой степени канд. биол. наук. - Киев, 1984. - 239 с.
3. Litchfield I.F., Wilcoxon F.M. A Simplified method of evaluating dose - effect experiments // I. Pharmacol. Exp. Therap. - 1949. - Vol. 96. №2. p.93-113.
4. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США (под редакцией З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина (СССР). А. Голдина, А. Кляйна (США).- М.: Медицина, 1979. - 286 с.
5. Шарикина Н.І., Шляховенко В.О., Мосієнко В.С., Кулік Г.І., Бардик Ю.В. "Доклінічні вивчення специфічної активності протипухлинних засобів" // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод рекомендації, (за рекомендацією академіка Стефанова О.В.) - Київ, 2001. - с.361-370.
6. Карацуба Т.А. "Антиметастатические свойства противоопухолевых средств клофидена, бротеофина, мебифона при опухолевой болезни (экспериментальные исследования). Дис. на соискание научной степени канд. биол. наук - 126 с. - Киев - 2005.
7. Bogden A.E., Yobb W.R., Lepage D.L., et.al. Chemotherapy responsiveness of human tumors as first transplant generation xenografts in the normal mouse six day sub renal capcule assay // Cancer. - 1981. - Vol., 48. - p. 10-20.