

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 Циклофосфамід [1], який має високу протипухлинну активність, та високу кумуляцію токсичної дії.

Аналогом корисної моделі прийнято Циклофосфамід, який гальмує ріст пухлин: карцинома Герена-100%; карцинома РС-76,4%; саркома 45-75,2%; лімфосаркома Пліса-34,3% в дозі 1/20 ЛД<sub>50</sub> (п/ш, щури).

При цьому ЛД<sub>50</sub> Циклофосфаміду (підшкірно, щури) складає при одноразовому введенні 240мг/кг.

За прототип прийнято Циклофосфамід.

Хлофіден - фенол-о-хлорфенілфосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)аміну гальмує ріст пухлин: карцинома Герена-100%; карцинома РС-87,8%; саркома 45-95,2%; лімфосаркома Пліса-95,8%.

Як відомо, препарати з протипухлинною дією характеризуються високою токсичністю.

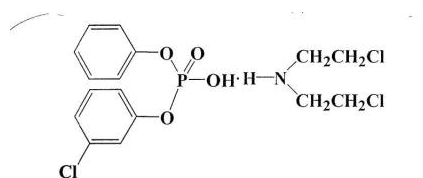
Для фенол-о-хлорфенілфосфорнокислої солі та ди(2-хлоретил)аміну ЛД<sub>50</sub> (підшкірно, щури) складає при одноразовому введенні 240 мг/кг.

Об'єкт, який підлягає удосконаленню. Циклофосфамід.

Характер удосконалень, що вноситься до об'єкту. Зниження токсичності (кумулятивної дії) при багаторазовому введенні зі збереженням та підвищенням протипухлинного ефекту на рівні чи  $\geq 50\%$  гальмування росту пухлин.

В основу корисної моделі поставлено задачу дослідити протипухлинну та протиметастазну дію сполуки фенол-о-фенілфосфорнокислої солі та ди(2-хлоретил)аміну з модифікованим носієм цитостатичних груп для забезпечення низької токсичності та кумуляції токсичної дії при багаторазовому введенні зі збереженням протипухлинної дії на рівні чи вище прийнятого критерію значущості гальмування росту пухлин та розвитку метастазів.

Поставлена задача вирішується тим, що в Циклофосфаміді замінений носій цитостатичних груп на залишок фенол-о-хлорфенілфосфорнокислої солі, що виключає наявність утворення акролеїну, як це має місце у Циклофосфаміді. Саме акролеїн призводить до високої кумуляції токсичної дії, нефро-, гепато-, уротоксичності та алопеції [2]. Цих ускладнень позбавлена фенол-о-хлорфенілфосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)аміну.



Феніл-о-хлорфенілфосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)аміну

Хлофіден є оригінальною сполукою, синтезованою в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Це кристалічна речовина білого кольору, без запаху, розчиняється у розчиннику - етиловий спирт, вода для ін'єкцій.

Приклади конкретного виконання.

Приклад 1. Синтез фенол-о-хлорфенілфосфорнокислої солі ди(2-хлоретил)аміну (Хлофідену)

В реактор завантажують 178,5г (1моль) хлористоводневої солі ди(2-хлоретил)аміну і розчиняють її при перемішуванні у 500мл води дистильованої. Розчин охолоджують до температури (5-6)°С і при перемішуванні та температурі (6-10)°С з крапельної лійки додають 202,4г (280мл, 2моль) триетиламіну. Потім в реакційну масу додають при перемішуванні та температурі, не вищій 13°С з крапельної лійки 330,1г (1моль) хлорангіриду фенол-хлорфенілфосфорної кислоти. Одержану реакційну суміш перемішують протягом 1 години. Утворений осад відфільтровують, висушують та перекристалізують з бензолу у співвідношенні 1:3. Одержують кінцевий продукт - фенол-о-фосфорнокислу сіль ди(2-хлоретил)аміну - білий кристалічний порошок з визодом (200-210)г (47-50)% та температурою топлення (106-110)°С.

Одержання ліофілізованої лікарської форми хлофідену.

В залежності від об'єму посуду, в якому виготовляється розчин хлофідену, зважують певну кількість препарату. Потім із розрахунку 1,25мл на 1 дозу (250мг) хлофідену додають спирт етиловий 95° та повільно нагрівають до температури не вище 40°С при постійному перемішуванні (краще на водяній бані). Після повного розчинення порошку препарату в спирті швидко при постійному перемішуванні додають воду для ін'єкцій із розрахунку 18,75мл на 1 дозу препарату.

Можна готувати розчин у мірному посуді. Тоді необхідно прив'язуватись до об'єму посуду і кількість води при розбавленні спиртового розчину препарату необхідно довести до мітки.

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

Сушку ведуть у звичайному режимі і закінчують при температурі на полках 40°С $\pm$ 2°С і залишковому тиску не більше 0,15мм рт.ст. (0,02кПа) протягом 3 годин.

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

Приклад 2. Визначення гострої токсичності та протипухлинної дії Хлофідену.

Таблиця 1

Сполука.	ЛД <sub>50</sub> (п/ш, щури), мг/кг	Індекс кумуляції, зворотності	Штами експериментальних пухлин. Відсоток гальмування пухлинного росту
----------	--	----------------------------------	--

		Токсичної дії (кумуляція токсичності)	Карцинома Герена	Лімфосаркома Пліса	Саркома 45
Феніл-о-хлорфеніл-фосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)-аміну (Хлофіден)	240,0	7,9	100,0	95,8	95,2
Циклофосфамід	240*	1	100,0	34,3	75,2

Вивчення параметрів гострої токсичності феніл-о-хлорфенілфосфорнокислої солі ди(2-хлоретил)аміну (Хлофіден) у порівнянні з Циклофосфамідом проведено в дослідях на білих нелінійних щурах з масою тіла (80-120)г. Термін вивчення гострої токсичності після введення досліджувальних розчинів складав 14 діб.

Кумуляція токсичної дії вивчена при багаторазовому введенні МПДп речовин (n=15). Індекс зворотності токсичної дії, який знаходиться в оборотній залежності до індексу кумуляції обчислювався за формулою:

$$\frac{\sum_{i=1}^n \frac{1}{IA_i}}{n} \text{ де МПД}_1$$

- максимально переносима доза при одноразовому введенні [3].

ЛД<sub>50</sub> Хлофідену та Циклофосфаміду при одноразовому підшкірному введенні однакові - 240мг/кг. Індеси зворотності токсичної дії відповідно - 7,9 та 1,0, що вказує на суттєве зменшення (7,9 разів) кумуляції токсичних властивостей у Хлофідену, в порівнянні з Циклофосфамідом.

Приклад 3. Вивчення протипухлинної дії Феніл-о-хлорфенілфосфорно-кислої солі ди(2-хлоретил)аміну (Хлофіден) у порівнянні з Циклофосфамідом [4, 5] проведено на білих нелінійних щурах (100,0±10,0)г. Штами експериментальних пухлин зберігались у банку штамів відділу онкофармакології Інституту фармакології та токсикології АМН України. Трансплантацію пухлин (карцинома Герена, карцинома РС, карцинома Р А, саркома 45, лімфосаркома Пліса, саркома Йенсена, саркома М-1) проводили шляхом підшкірного введення 30% пухлинної взвісі клітин на середовищі 189 в правий бік в об'ємі 0,4мл. Введення досліджувальних речовин починали через 24год. після трансплантації лімфосаркоми Пліса і через 4 доби після трансплантації інших пухлин. Лікувальний курс складався із 6 підшкірних введень через 48год. Результати експериментів враховувались через 24год. після закінчення курсу лікування. Критерієм оцінки був відсоток гальмування росту пухлин. За даними експерименту (табл.1), Феніл-о-хлорфенілфосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)аміну (Хлофіден) не поступається в активності Циклофосфаміду, а на ряді штамів перевищує Циклофосфамід (лімфосаркома Пліса, саркома 45).

Таким чином, вивчені столуки мають високу протипухлинну дію. При цьому у Хлофідена значно зменшена кумуляція токсичної дії у порівнянні з Циклофосфамідом (7,9 разів), відсутні нефро-, гепато- та уротоксичність, не виявляється алопеція. На ряді штамів експериментальних пухлин протипухлинна дія Хлофідену перевищує таку у Циклофосфаміду.

Приклад 4.

Вивчення протиметастазної дії Хлофідену проведено на мишах лінії С57/ В1/6 на епідермоїдній карциномі легенів, яка метастазує в цей орган [6]. Пухлину трансплантували в праве стегно в V=0,05мл-2·10<sup>5</sup> клітин. Визначали кількість метастазів у легенях та їх об'єм у порівнянні з контролем. В дозі 60мг/кг Хлофіден повністю гальмував розвиток метастазів в легенях та їх об'єм (100,0%; 100,0%).

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

Гетеротрансплантати пухлин людини одержані при оперативних втручаннях та біопсіях, трансплантувалися мишам лінії СВА під капсулу нирок за методом Богдена та співавторів [7] з подальшим введенням Хлофідену внутрішньочеревно. Хлофіден гальмував розвиток гетеротрансплантатів в дозі

47мг/кг: рак прямої кишки - 58,0%; рак молочної залози - 53,0%; рак матки -71,1%; рак шлунку - 47,0%; рак легенів - 34,7% при критерії значущості ≥25,0% у порівнянні з контролем (без лікування).

Приклад 6. Хлофіден високоефективний при нейроектодермальних пухлинах головного мозку II-IV ступенів анаплазії в умовах клініки, він призводить до збільшення тривалості життя хворих більш ніж у 2,5-3 рази. Ефективність Хлофідену виявлена в 65% випадків. Протипухлинна дія підтверджена даними динамічного дослідження, електрофізіологічними методами, даними аксіальної комп'ютерної томографії, радіонуклідної енцефалографії, морфологічними дослідженнями. Хлофіден ефективний також при пухлинах, локалізація яких викликає можливість оперативного втручання.

Приклад 7.

При подальшому клінічному вивченні (36 хворих з пухлинами молочної залози, прямої кишки, шлунку, легенів) Хлофіден виявив здатність стабілізувати пухлинні процеси III-IV ступенів, особливо при метастазах в головний мозок.

Таким чином, Феніл-о-хлорфенілфосфорнокисла сіль ди(2-хлоретил)аміну (Хлофіден) має суттєві переваги перед Циклофосфамідом щодо зниження кумулятивної дії та підвищення протипухлинного ефекту.

Дані щодо активності Хлофідену в експерименті та клініці передбачають доцільність використання препарату при пухлинній та метастатичній хворобі.

Література:

1. Цитостатическая терапия злокачественных образований. - ИЭПОР Украины. - К., 2000. - 293с.
2. Donald L., Hill Ph. D. A review of cyclophosphamide. - 1975. - 276p.
3. Ларионов Л.Ф. Химиотерапия злокачественных опухолей. - М.: Медгиз, 1962.-464с.
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. - 286с.

5. Шарикіна Н.І., Шляховенко В.О., Мосієнко В.С., Кулік Г.Л., Бардик Ю.В. "Доклінічні вивчення специфічної активності протипухлинних засобів". // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод рекомендації (за ред. акад. Стефанова О.В.) - Київ, 2001. - с.361-370.

6. Кудрявець Ю.І. - Інтерферон і фактор некрозу пухлин як модифікатори метастазування злоякісних новоутворень: Дис. д-ра біол. наук. - К. - 1999. -467с.

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 capsule assay // Cancer.-1981.- Vol., 48.- p.10-20.